

**VERA MARIA CARVALHO SILVA SANTOS**

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA PRODUÇÃO DE  
*Pleurotus* spp. EM RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Santa Catarina, visando a obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia

Orientadora: Prof. <sup>a</sup> Dra. SANDRA APARECIDA FURLAN  
Co-orientadora: Prof. <sup>a</sup> Dra. MARGARIDA MATOS DE MENDONÇA

Florianópolis  
2000

Santos, Vera Maria Carvalho Silva.

Contribuição ao estudo da produção de *Pleurotus* spp. em resíduos lignocelulósicos / Vera Maria Carvalho Silva Santos. -- Florianópolis, 2000.

149p.;

Dissertação (Mestrado -- Biotecnologia) --Universidade Federal de Santa Catarina --UFSC.

1. Bioconversão. 2. Resíduos lignocelulósicos. 3. *Pleurotus* spp

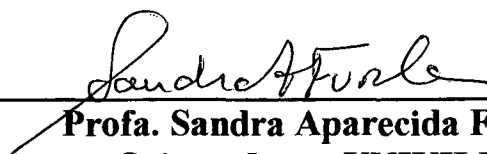
**"CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA PRODUÇÃO DE  
PLEUROTUS SPP. EM RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS"**

**POR**

**VERA MARIA CARVALHO SILVA SANTOS**

**Dissertação julgada e aprovada em sua  
forma final, pelo Orientador e membros  
da Comissão Examinadora.**

**Comissão Examinadora:**



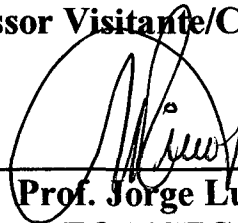
**Prof. Sandra Aparecida Furlan  
Orientadora - UNIVILLE**



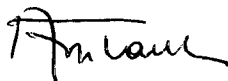
**Prof. Margarida Matos de Mendonça  
Co-orientadora - MIP/CCB/UFSC**



**Prof. Elisa Esposito  
Professor Visitante/CAPES/MIP/CCB**



**Prof. Jorge Luiz Ninow  
EQA/CTC/UFSC**



**Prof. Dra. Ana Maria Viana - BOT/CCB/UFSC  
Coordenadora do Programa de  
Pós-Graduação em Biotecnologia da UFSC**

**Florianópolis, julho de 2000**

Dedico este trabalho

Aos meus pais João e Elsa  
por TUDO,

Ao meu marido Cláudio  
e aos meus filhos Rafael e João Pedro  
pelo amor, carinho e compreensão  
em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

À Profa. Sandra Aparecida Furlan, pela orientação deste trabalho, amizade, exemplo de persistência, idealismo, integridade e competência.

À Profa. Margarida Matos De Mendonça pela co-orientação, incentivo e apoio técnico.

À pesquisadora Marina Capelari pelo fornecimento das culturas das linhagens estudadas.

À administração da Univille pela construção e disponibilização do Laboratório de Cultivo de Cogumelos, sem o qual este trabalho não teria sido concluído e pelo apoio consecutivo na superação dos inúmeros contratempos enfrentados.

Às amigas Regina Maria Miranda Gern, Andrea Schneider e Miguel e Carmen Muller pelo apoio profissional e estímulo.

Aos professores e pesquisadores da Univille: Mônica Lopes Gonçalves, Rogério Francisco dos Passos, Ozair de Souza, Mariane Bonatti e Elizabeth Wisbeck, pela amizade, apoio técnico e incentivo. Aos estagiários do Curso de Engenharia Ambiental da Univille, Rodrigo Dippe Cassou e Renata Pereira Araújo pela dedicação e valiosa colaboração na implantação dos experimentos. Aos funcionários da Univille, Marcus, Judith e Andrea, pelo prestimoso auxílio nas atividades de laboratório.

A todos os professores, servidores técnicos e alunos do Colégio Agrícola de Araquari pelo apoio, em especial aos professores José Oscar de Souza, Ivan Brognoli, Tânia Regina Schneider e Alberto Elvino Franke pela amizade e incentivo, colaboração na obtenção de substrato, pesquisa bibliográfica e auxílio na instalação do sistema de micro-aspersão.

Às colegas Gabriela Malvarez e Gladys Rogge do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, pelos alegres momentos compartilhados e pela sincera amizade.

Ao Marcus Vinicius Federico pela paciência e cooperação na superação das intempéries da informática e aos professores Maurício Sedrez Reis e Enori Carelli pelo apoio estatístico.

Aos vigias do extinto Centro de Desenvolvimento Biotecnológico, onde este trabalho foi iniciado, Sr. Pedro e Sr. Edmundo pelo auxílio no controle das condições ambientais de cultivo.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente participaram da execução deste trabalho e viabilizaram sua concretização.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	13
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	18
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS GERAIS.....	22
2.1. Objetivos específicos.....	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
3.1. Materiais lignocelulósicos.....	23
3.1.1. Palha de bananeira.....	25
3.1.2. Palha de arroz.....	26
3.2. Fungos da classe Basidiomicetos.....	27
3.2.1. Fungos do gênero <i>Pleurotus</i> spp.....	29
3.2.1.1. Morfologia e taxonomia.....	30
3.2.1.2. Principais espécies.....	31
3.2.1.3. Cultivo comercial.....	32
3.2.1.4. Volume de produção e mercado.....	33
3.2.1.5. Valor nutricional.....	33
3.3. Degradação de materiais lignocelulósicos.....	34
3.3.1. Biodegradação dos materiais lignocelulósicos.....	35
3.3.2. Utilização de fungos de gênero <i>Pleurotus</i> nos processos de biodegradação.....	36
3.4. Processo de produção de <i>Pleurotus</i> spp.....	44
3.4.1. Produção de inóculo (“spawn”).....	44
3.4.1.1. Suportes.....	44
3.4.1.2. Metodologia de preparo.....	45
3.4.2. Meios de cultivo para frutificação.....	46
3.4.2.1. Substratos.....	46
3.4.2.2. Pré-tratamentos.....	48

	<b>Página</b>
3.4.3. Inoculação.....	50
3.4.4. Métodos de cultivo.....	51
3.4.5. Condições de cultivo.....	53
3.4.5.1. Fatores físicos.....	53
a) Temperatura.....	53
b) Umidade relativa do ar.....	55
c) Luminosidade.....	55
d) Composição do ar.....	56
e) Potencial hidrogeniônico.....	57
f) Teor de umidade e tamanho das partículas do substrato.....	58
3.4.5.2. Fatores químicos.....	59
a) Carbono.....	59
b) Nitrogênio.....	59
c) Suplementação do substrato.....	60
3.4.5.3. Fatores biológicos.....	61
3.4.6. Parâmetros de produção.....	62
3.4.7. Colheita e pós-colheita.....	63
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>65</b>
4.1. Microrganismos e manutenção.....	65
4.2. Produção da matriz e do inoculante ou “spawn”.....	66
4.3. Preparo dos substratos lignocelulósicos.....	67
4.4. Inoculação.....	68
4.5. Condições de cultivo.....	68
4.6. Colheita.....	72
4.7. Metodologias usadas nos diferentes experimentos.....	73
4.7.1. Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial.....	73
a) Substrato TDA (trigo, dextrose e agar).....	73
b) Substrato palha de arroz.....	74
c) Substrato palha de bananeira.....	74

4.7.2. Avaliação do desempenho de linhagens e do uso de substratos alternativos para a produção de inóculo (“spawn”) através do crescimento micelial radial.....	74
4.7.3. Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para “spawn” e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato.....	75
4.7.4. Determinação da fração de inoculante a ser usada usada.....	76
4.7.5. Avaliação do nível de suplementação de substratos.....	76
4.7.6. Avaliação da influência do pré-tratamento do substrato nos índices de produção de <i>Pleurotus sajor-caju</i> .....	77
a) Palha de bananeira.....	77
b) Palha de arroz.....	78
4.8. Parâmetros avaliados durante os experimentos.....	79
4.8.1. Crescimento micelial radial.....	79
4.8.2. Frutificação.....	80
4.8.3. Degradação do substrato.....	80
4.9. Análise estatística.....	82
4.9.1. Avaliação de crescimento micelial.....	82
4.9.2. Avaliação da frutificação e degradação do substrato.....	82
5. RESULTADOS.....	83
5.1. Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial.....	83
a) Substrato TDA (trigo, dextrose e ágar).....	83
b) Substrato palha de bananeira.....	85
c) Substrato palha de arroz.....	87
5.2. Avaliação do desempenho de linhagens e do uso de substratos alternativos para a produção de inóculo (“spawn”) através do crescimento micelial radial.....	89
5.3. Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para “spawn” e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato.....	93
5.4. Determinação da fração de inóculo.....	100



	<b>Página</b>
5.5. Avaliação da suplementação de substratos .....	103
a) Palha de bananeira.....	103
b) Palha de arroz.....	107
5.6. Avaliação da influência do pré-tratamento do substrato.....	110
a) Palha de bananeira.....	110
b) Palha de arroz.....	113
6. DISCUSSÃO.....	116
6.1. Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial.....	116
a) Substrato TDA (trigo, dextrose e ágar).....	116
b) Substratos palha de bananeira e de arroz.....	116
6.2. Avaliação do desempenho de linhagens e do uso de suportes alternativos para a produção de inóculo (“spawn”) através do crescimento micelial radial.....	117
6.3. Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para “spawn” e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato.....	118
6.4. Determinação da fração de inóculo através da avaliação dos índices de produção e da degradação do substrato.....	121
6.5. Avaliação da suplementação de substratos através dos índices de produção e da degradação do substrato.....	122
a) Palha de bananeira.....	122
b) Palha de arroz.....	123
6.6. Avaliação da influência do pré-tratamento do substrato.....	125
a) Palha de bananeira.....	125
b) Palha de arroz.....	127
7. CONCLUSÕES.....	129
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	131
9. ANEXOS.....	141

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Diagrama esquemático da função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos através da morfogênese dos basidiomicetos. Fonte: RAJARATHNAM et al. 1992.....	36
<b>Figura 2.</b> Esquema representativo dos percentuais de degradação do substrato. Fonte: ZADRAZIL, 1974.....	37
<b>Figura 3.</b> Diagrama esquemático da contribuição de <i>Pleurotus</i> spp. na ecologia do ciclo de carbono, as aplicações e implicações do seu cultivo RAJARATHNAM et al. 1992.....	43
<b>Figura 4.</b> Esquema representativo da metodologia de cultivo em sacos de polietileno, técnica "Jun Cao". Ilustração adaptada de STAMETS, P. (1996).....	69
<b>Figura 5.</b> Incubação dos sacos, contendo composto inoculado, a 30 °C, na ausência de luz, para crescimento micelial.....	71
<b>Figura 6.</b> <i>Pleurotus</i> colhidos por unidade experimental e desidratação em estufa com circulação de ar.....	73
<b>Figura 7.</b> Crescimento micelial radial das 5 linhagens no 5 <sup>o</sup> dia após a inoculação em substrato TDA: 1. <i>P. ostreatus</i> CCB 001, 2. <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, 3. <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, 4. <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e 5. <i>P. ostreatus</i> CCB 615.....	83
<b>Figura 8.</b> Velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens <i>P. ostreatus</i> CCB 001, <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 em substrato TDA.....	84
<b>Figura 9.</b> Curvas de crescimento micelial radial das linhagens <i>P. ostreatus</i> CCB 001, <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 em substrato TDA.....	84
<b>Figura 10.</b> Velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens <i>P. ostreatus</i> CCB 001, <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 em substrato palha de bananeira.....	86
<b>Figura 11.</b> Curvas de crescimento micelial radial das linhagens <i>P. ostreatus</i> CCB 001, <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 em palha de bananeira.....	86
<b>Figura 12.</b> Velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens <i>P. ostreatus</i> CCB 001, <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 em substrato palha de arroz.....	88
<b>Figura 13.</b> Curvas de crescimento micelial radial das linhagens <i>P. ostreatus</i> CCB 001, <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 em palha de arroz.....	88
<b>Figura 14.</b> Velocidade média de crescimento micelial radial em grão de trigo (GT), arroz com casca (AC), arroz sem casca de segunda categoria (AS) e serragem com farelo de arroz (SF), das linhagens 1. <i>P. ostreatus</i> CCB 001, 2. <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, 3. <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, 4. <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e 5. <i>P. ostreatus</i> CCB 615.....	89

## Página

<b>Figura 15.</b> Crescimento micelial radial em (de cima para baixo) grão de trigo, arroz com casca, arroz sem casca de segunda categoria e serragem com farelo de arroz, das linhagens 1. <i>P. ostreatus</i> CCB 001, 2. <i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016, 3. <i>P. sajor-caju</i> CCB 019, 4. <i>P. ostreatus</i> CCB 230 e 5. <i>P. ostreatus</i> CCB 615.....	92
<b>Figura 16.</b> <i>Pleurotus sajor-caju</i> CCB 019, em fase de frutificação.....	94
<b>Figura 17.</b> <i>Pleurotus ostreatus</i> CCB 615, em fase de frutificação.....	94
<b>Figura 18.</b> Comportamento das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A): tempo emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo (dias).....	95
<b>Figura 19.</b> Comportamento das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de bananeira (B): tempo emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo (dias).....	95
<b>Figura 20.</b> Índices de produção das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A): rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica (PMO).....	98
<b>Figura 21.</b> Índices de produção das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de bananeira (B): rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica (PMO).....	98
<b>Figura 22.</b> Influência da fração de inóculo ( 5 e 10%) no comportamento de <i>P. sajor-caju</i> em palha de bananeira: tempo de emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo.....	101
<b>Figura 23.</b> Influência da fração de inóculo nos índices de produção de <i>P. sajor-caju</i> em palha de bananeira: Rendimento, Eficiência biológica e Perda de matéria orgânica.....	101
<b>Figura 24.</b> Ciclo de cultivo (emissão de primórdios, tempo de frutificação e tempo de cultivo total dias) de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%) e sem suplementação (T).....	104
<b>Figura 25.</b> Índices de produção (rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica), de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%) e sem suplementação (T).....	104
<b>Figura 26.</b> Ciclo de cultivo (emissão de primórdios, tempo de frutificação e tempo de cultivo total dias) de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de arroz, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%) e sem suplementação (T).....	108
<b>Figura 27.</b> Índices de produção (rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica), de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de arroz, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%) e sem suplementação (T).....	109

## Página

- Figura 28.** Rendimento de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor (V); imersão em hidróxido de cálcio (Ca); imersão em hipoclorito de sódio (H)..... 111
- Figura 29.** Eficiência biológica de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira submetida a diferentes tratamentos: Esterilização em autoclave (A); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor (V); imersão em hidróxido de cálcio (Ca); imersão em hipoclorito de sódio (H)..... 111
- Figura 30.** Rendimento de *P. sajor-caju*, em palha de arroz submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por vapor (V); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor + suplementação com sulfato de cálcio (VCa)..... 115
- Figura 31.** Eficiência biológica de *P. sajor-caju*, em palha de arroz submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por vapor (V); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor + suplementação com sulfato de cálcio (VCa)..... 115

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Potencial de biotransformação de palhas de cereais na produção de corpos frutíferos de <i>Pleurotus</i> e seu composto residual, no Brasil e no mundo. Fonte: (RAJARATHNAM et al. 1998).....	25
<b>Tabela 2.</b> Área plantada, Produção e Produtividade da cultura de banana em Santa Catarina e no Litoral Norte do estado de SC. INFORME CONJUNTURAL (1999).....	25
<b>Tabela 3.</b> Área plantada, Produção e Produtividade da cultura de arroz em Santa Catarina e no Litoral Norte do estado de SC. INFORME CONJUNTURAL (1999).....	27
<b>Tabela 4.</b> Valor nutricional comparativo das 3 espécies de cogumelos mais cultivadas. Fonte: ZADRAZIL, (1974).....	34
<b>Tabela 5.</b> Composição nutricional de <i>Pleurotus sajor-caju</i> cultivado em folhas de bananeira Fonte: STURION, (1994).....	34
<b>Tabela 6.</b> Composição e características do substrato, palha de bananeira, antes e após o cultivo de <i>P. sajor-caju</i> . Elaborada a partir de STURION (1994).....	38
<b>Tabela 7.</b> Percentagem inicial de elementos na palha de trigo e após 70 dias de frutificação de <i>Pleurotus</i> . Fonte: ZADRAZIL (1974).....	39
<b>Tabela 8.</b> Temperaturas utilizadas por diferentes autores para o crescimento micelial e frutificação de algumas espécies de <i>Pleurotus</i> .....	54
<b>Tabela 9.</b> Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em meio TDA.....	84
<b>Tabela 10.</b> Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em palha de bananeira.....	85
<b>Tabela 11.</b> Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em palha de arroz.....	87
<b>Tabela 12.</b> Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em diferentes suporte para produção de "spawn".	90
<b>Tabela 13.</b> Teores de umidade (%) e pH inicial apresentados pelos suportes grão de trigo (GT), arroz com casca (AC), arroz sem casca de segunda categoria (AS) e serragem suplementada com farelo de arroz (SF).....	91
<b>Tabela 14.</b> Número de fluxos apresentados pelas linhagens <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 usando-se suportes para "spawn", constituídos de grão de trigo (GT), arroz com casca (AC) e arroz sem casca de segunda categoria (AS) inoculados nos substratos em palha de arroz e palha de bananeira.....	93
<b>Tabela 15.</b> Comparação de médias das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e "spawns", (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B), segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para emissão de primórdios (dias).....	96
<b>Tabela 16.</b> Análise de variância do rendimento, eficiência biológica, perda de matéria orgânica e do tempo emissão de primórdios das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e "spawns", (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B).....	99

<b>Tabela 17.</b> Comparação de médias, das linhagens, <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 e <i>P. ostreatus</i> CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B): segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção e degradação do substrato.....	99
<b>Tabela 18.</b> Análise de variância do tempo de emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo da influência da fração de inóculo (5 e 10%) de <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 em palha de bananeira.....	100
<b>Tabela 19.</b> Comparação de médias dos testes da influência da fração de inóculo (5 e 10%), segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05% para os parâmetros de comportamento de cultivo.....	102
<b>Tabela 20.</b> Análise de variância do rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica da linhagem, da influência da fração de inóculo (5 e 10%) de <i>P. sajor-caju</i> CCB 019 em palha de bananeira .....	102
<b>Tabela 21.</b> Comparação de médias dos testes da influência da fração de inóculo (5 e 10%) segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05% para os parâmetros de produção e degradação do substrato.....	102
<b>Tabela 22.</b> Número de fluxos de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%).....	103
<b>Tabela 23.</b> Análise de variância – fator único dos testes de suplementação da palha de bananeira, para os parâmetros de comportamento de cultivo.....	105
<b>Tabela 24.</b> Comparação de médias dos testes de suplementação da palha de bananeira com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05% para os parâmetros de comportamento de cultivo.....	105
<b>Tabela 25.</b> Análise de variância – fator único dos testes de suplementação da palha de bananeira para os parâmetros de produção e degradação do substrato.....	106
<b>Tabela 26.</b> Comparação de médias dos testes de suplementação com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção e degradação do substrato.....	106
<b>Tabela 27.</b> Análise de variância – fator único da suplementação da palha de arroz para os parâmetros de comportamento de cultivo.....	108
<b>Tabela 28.</b> Comparação de médias dos testes de suplementação da palha de arroz, com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de ciclo.....	108
<b>Tabela 29.</b> Análise de variância – fator único da suplementação da palha de arroz para os parâmetros de produção e degradação do substrato.....	109
<b>Tabela 30.</b> Comparação de médias dos testes de suplementação da palha de arroz, com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção e degradação do substrato.....	109
<b>Tabela 31.</b> Número de fluxos e tempo de emissão de primórdios de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de bananeira, submetida a diferentes pré- tratamentos.....	112
<b>Tabela 32.</b> pH e teor de umidade (%) do substrato palha de bananeira submetida a diferentes pré-tratamentos.....	112

<b>Tabela 33.</b> Análise de variância – fator único dos diferentes pré-tratamentos da palha de bananeira para o rendimento e eficiência biológica.....	112
<b>Tabela 34.</b> Comparação de médias dos testes pré-tratamento da palha de bananeira segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção. ....	112
<b>Tabela 35.</b> Número de fluxos de <i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de arroz, submetida a diferentes pré-tratamentos.....	113
<b>Tabela 36.</b> Análise de variância – fator único dos diferentes pré-tratamentos da palha de arroz para o Rendimento e Eficiência biológica.....	114
<b>Tabela 37.</b> Comparação de médias dos testes pré-tratamento da palha de arroz, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção. ....	114

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo verificar a viabilidade de aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos, constituídos por palha de arroz e palha de bananeira, como substratos para o cultivo de *Pleurotus* spp. Dessa forma, procurou-se selecionar as linhagens e técnicas mais adaptadas aos substratos disponíveis e às condições climáticas da região, visando posterior cultivo comercial.

Foram testadas cinco linhagens de fungos do gênero *Pleurotus*, sendo três pertencentes à espécie *P. ostreatus*, uma da espécie *P. ostreatoroseus* e uma da espécie *P. sajor-caju*. Observou-se o desempenho das linhagens em relação ao crescimento micelial em meio de cultivo TDA (extrato de trigo, dextrose e ágar), em substratos para frutificação (palha de arroz e palha de bananeira) e em substratos para produção de “spawn” (grão de trigo, arroz com casca, arroz sem casca de segunda categoria e serragem de pinus suplementada com farelo de arroz). Os resultados obtidos revelaram que as linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 mostraram-se superiores às demais, em termos de velocidade de crescimento micelial, nos diversos substratos testados.

Foram conduzidos experimentos com a finalidade de avaliar o desempenho de frutificação das duas linhagens, selecionadas na etapa anterior (*P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615), analisando, comparativamente, seus desempenhos em termos de comportamento (tempo de emissão de primórdios, tempo de frutificação, tempo total de cultivo e número de fluxos) e em relação aos parâmetros de produção (rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica), nos substratos palha de arroz e palha de bananeira, utilizando os três tipos de “spawn” também selecionados na etapa anterior (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria). A linhagem *P. sajor-caju* apresentou melhor desempenho em todos os parâmetros comportamentais e de produção estudados: precocidade na emissão de primórdios (27 a 44 dias), número de fluxos (3 a 5), rendimento (95,1%), eficiência biológica (9,2%) e perda de matéria orgânica (67,2%).

O uso de arroz com casca como substrato alternativo ao grão de trigo para a produção de “spawn” não proporcionou alterações significativas na velocidade de crescimento micelial, ciclo, rendimento, eficiência biológica e perda de matéria



orgânica. No entanto, sua utilização pode ser recomendada, principalmente em função de sua maior disponibilidade na região e de seu menor custo.

Com a linhagem selecionada, *P. sajor-caju*, foram definidos na palha de bananeira e de arroz: a fração de inóculo de 10% (p/p), a suplementação do substrato com 5% de farelo de arroz (p/p), em termos de peso da matéria seca dos substratos, como os que mais favorecem a produção. Os resultados obtidos demonstram a viabilidade do uso de ambos os substratos para o cultivo de *Pleurotus*. spp.

Para a palha de arroz, o pré-tratamento recomendado, em função dos testes realizados, é a pasteurização por vapor quente, a 65 – 75 °C, por 2 h, com uso de suplementação com carbonato de cálcio a 5%. Para a palha de bananeira, os pré-tratamentos mais eficientes, dentre as condições testadas, foram a pasteurização por imersão em água a  $80 \pm 5$  °C, por 2 horas ou a imersão em solução de hidróxido de cálcio a 1%, por 12 horas.

A linhagem *P. sajor-caju* apresentou desempenho superior nos dois substratos, em todos os parâmetros de frutificação analisados, salientando-se a precocidade de sua produção e a melhor adaptação às condições climáticas da região, atingindo um rendimento máximo de 114,9% e uma eficiência biológica máxima de 11,3, em palha de bananeira. A utilização comercial da linhagem *P. ostreatus* poderá ser interessante em cultivos de inverno, necessitando, porém, de estudos mais aprofundados.

## ABSTRACT

With the objective of achieving a profitable use of lignocellulosic wastes consisting of rice straw and banana straw, the present work studied the viability of these materials as substrate for *Pleurotus* spp. cultivation, in order to convert them into microbial biomass of high nutritional value. Thus, the aim was to select the strains and techniques that were most adequate for the available substrates, considering the regional climatic conditions, to attend to commercial production.

Initially, five strains of *Pleurotus* were tested, three strains belonging to the specie *P. ostreatus*, one to the specie *P. ostreatoroseus* and one to the specie *P. sajor-caju*. The micelial growth of the strains was evaluated in a culture medium consisting of WDA (wheat extract, dextrose and agar), on the fruiting substrates (banana and rice straw) and on substrates for spawn production (rice grain with husks, rejected rice grain without husks and pinus sawdust supplemented with rice bran). The results achieved attested a higher mycelial growth rate of the strains *P. sajor-caju* CCB 019 and *P. ostreatus* CCB 615, on the different substrates tested.

Fruiting tests were accomplished with the strains previously selected (*P. sajor-caju* CCB 019 and *P. ostreatus* CCB 615). Their comparative fruiting performance, in terms of life cycle (time for primordia emission, fruiting time, total production time and number of flushes), and production parameters (yield, biological efficiency and organic matter loss), were observed on rice straw and banana straw, using the three types of spawn substrate (rice grain with husks, rejected rice grain without husks) previously selected. The strain *P. sajor-caju*, presented a better performance on all the fruiting parameters studied: primordia emission (27 to 44 days), number of flushes (3 to 5), yield (95.1%), biological efficiency (9.2%) and organic matter loss (67.2%).

The use of rice grain with husks as an alternative substrate to wheat grain for spawn production did not present significant changes neither on the mycelial growth, nor on the fruiting production parameters analysed, however it is possible to recommend its use as a spawn substrate, specially because of its greater availability and lower cost.

Factors related to the fruiting performance were defined for the selected strain *P. sajor-caju*: the inoculum ratio of 10% (w/w), and the substrate supplementation of 5%

provided higher increase of yield for both the substrates: banana and rice straw. The results obtained proved the use viability of rice straw and banana straw as substrates for cultivation of *Pleurotus*.

For rice straw the recommended pre-treatment is hot steam pasteurisation, at 65 – 75 °C, during 2 hours, with 5% of calcium carbonate as supplement. The most efficient pre-treatment of banana straw proved to be pasteurisation by immersion, in hot water, at  $80 \pm 5$  °C, for 2 hours or immersion in a 1% calcium hydroxide solution, for 12 hours.

The strain *P. sajor-caju* exhibited a higher performance in all fruiting parameters studied, with special emphasis on its precocity and adaptability to the climatic conditions, maximum yield of 114.9% and biological efficiency of 11.3% with banana straw. Commercial use of *P. ostreatus* may be interesting for winter cultivation, although thorough studies would be necessary.



*Pleurotus* spp.

Corupá-SC

Foto: Ilka Stamm Pasa

## 1. INTRODUÇÃO

Diversos países em desenvolvimento, tal como o Brasil, que tem sua economia baseada nas atividades agrícolas, desperdiçam cerca de metade de sua produção sob a forma de resíduos vegetais. O uso destes resíduos representa a otimização da produção agrícola, reduzindo o desperdício, canalizando-os de volta para o processo produtivo e aumentando seu valor agregado, mas também propicia a redução do seu volume, eliminando um possível impacto ambiental.

De acordo com o espectro agro-climático obtido pela Estação Meteorológica da UNIVILLE em 1997, a região Nordeste do Estado de Santa Catarina, tem características climáticas muito propícias para o desenvolvimento de *Pleurotus osteratus* (Shimeji) e *Pleurotus sajor caju* (Hiratake) sem a necessidade de elevados investimentos em ambientes climatizados. As condições regionais incluem uma temperatura média anual de 22° C e umidade relativa de ar anual média de 80,13 % comparáveis às da região de Mogi das Cruzes, considerada a região cujo clima é considerado como mais adequado, no país, para a produção de cogumelos e com maior produção nacional. Aliada às características ambientais favoráveis, pode-se salientar a grande disponibilidade de resíduos agrícolas, florestais e agroindustriais na região, representados neste trabalho pelas duas principais culturas: o arroz e a bananeira, cujas palhas podem ser inseridas nos processos de produção de cogumelos.

O cultivo comercial de *Pleurotus* pode representar uma alternativa econômica de elevada rentabilidade, na medida em que a tecnologia de produção esteja adaptada às condições regionais de clima e de disponibilidade de resíduos. Os fungos do gênero *Pleurotus*, devido à sua alta capacidade para colonizar os substratos e baixo custo de produção, apresentam grande potencial de inserção no modelo agrícola catarinense, com predominância da pequena propriedade rural e de mão-de-obra familiar, podendo contribuir para torná-la economicamente viável, através das estratégias de diversificação das atividades agrícolas, do beneficiamento dos produtos agrícolas na propriedade. Dentro deste contexto favorável, o objetivo deste trabalho foi a adaptação da tecnologia de produção de *Pleurotus* às condições climáticas e à disponibilidade de resíduos locais.

## 2. OBJETIVOS GERAIS :

- Adaptar a tecnologia de bioconversão de resíduos lignocelulósicos em cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* spp., às condições regionais do Nordeste Catarinense.

### 2.1 . OBJETIVOS ESPECÍFICOS :

- Selecionar as linhagens mais adaptadas às condições climáticas e aos substratos lignocelulósicos disponíveis na região.
- Pesquisar o uso de substratos alternativos para a produção de inóculo (“spawn”).
- Adequar o uso da palha de arroz e de bananeira à tecnologia de produção de *Pleurotus*.
- Determinar a fração de inóculo e a suplementação que proporcione maior produtividade.
- Selecionar metodologia de pré-tratamento do substrato que proporcione maior produtividade.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Materiais lignocelulósicos

Um terço de toda a biomassa produzida no planeta consiste em lignocelulose, também denominada vulgarmente de fibra. BASSHAM (1985) estima a produtividade mundial de biomassa seca produzida pela atividade fotossintética vegetal em 155,2 bilhões de toneladas/ano. Segundo TSAO (1986), 65% deste total é produzido nas florestas e 15 % gerado em pastos e áreas cultivadas, sendo que apenas 20% da produção é inserida em processos produtivos, especificamente produção de alimentos e de energia. RAJARATHNAM *et al.* (1998) estimam que somente 1,25 % da biomassa mundial produzida é usada efetivamente para a alimentação humana, mesmo assim com perdas de 9% nos processos de colheita, pós-colheita e beneficiamento.

Este material fibroso é geralmente, considerado como resíduo nos processos industriais de beneficiamento dos produtos agrícolas e sua presença é abundante nas palhas de trigo, arroz e milho, no bagaço oriundo da extração do caldo de cana-de-açúcar e na extração de óleos vegetais (PAULI, 1996). Somente em palhas de cereais são produzidas anualmente 2946 milhões de toneladas em todo o mundo, sendo que 81,8 milhões são geradas no Brasil, enquanto que os resíduos agrícolas produzidos pelas culturas não gramíneas representam 548 milhões de toneladas anuais, sendo 115,8 milhões gerados no Brasil (FAO, 1989, citado por RAJARATHNAM *et al.*, 1992). Significativas quantidades destes resíduos são usadas para combustão em diversas partes do mundo, destino que vem sendo alvo de crescente reprovação devido à poluição atmosférica resultante, além da enorme perda de energia. O importante potencial de uso desta imensa quantidade de resíduos como fonte de carbono renovável, pode contribuir decisivamente para o equilíbrio do seu ciclo, do qual dependem todos os seres vivos (RAJARATHNAM *et al.*, 1998).

Os principais componentes dos resíduos lignocelulósicos são a celulose, a hemicelulose e a lignina. O teor de nitrogênio nesses resíduos é, geralmente, muito baixo. A proporção percentual dos componentes, celulose, hemicelulose e lignina, assim como do teor de nitrogênio depende do tipo de material, idade e estágio vegetativo (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). Em geral, palhas de cereais apresentam teores de nitrogênio inferiores aos de diversos tipos de madeira. Na palha de trigo, substrato

tradicional do cultivo de *Pleurotus*, as proporções comumente encontradas são de 15,3 % de lignina, 29,8 % de hemicelulose e 37,7 % de celulose (ZADRAZIL, 1987).

A celulose constitui o polissacarídeo predominante nos resíduos vegetais, representando entre 30 a 60 % do seu peso seco total. Como polímero de D-glicose de elevado massa molar, a celulose é o principal componente das paredes celulares, responsável pela sustentação vegetal, possuindo uma estrutura cristalina altamente resistente (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo formado por curtas cadeias ramificadas, compostas de hexoses, pentoses, ácido urônico e açúcares menores, facilmente hidrolisáveis. Representa o segundo maior componente dos resíduos lignocelulósicos, chegando até 40 % do seu peso seco (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

A lignina pode representar até 25% de toda a biomassa lignocelulósica produzida no planeta e seu teor nos resíduos vegetais pode atingir até 40% de peso seco. Juntamente com a hemicelulose, envolve as fibras celulósicas, desempenhando as funções de cimentante e preservadora (PAULI, 1997). Esta ação é possível devido à estrutura tridimensional deste heteropolissacarídeo de fenilpropano, onde não existem ligações repetidas na construção dos blocos monoméricos. Desta forma, a lignina forma uma barreira física que dificulta a atividade dos inúmeros organismos possuidores de enzimas celulolíticas, limitando os sítios de ataque enzimático e impedindo a entrada de enzimas de maior peso molecular, devido ao reduzido tamanho dos capilares da biomassa, restringindo o ataque à superfície externa. Apesar do seu elevado potencial energético com valor calórico de  $= 7,1 \text{ Kcal.g}^{-1}$ , comparável ao do carvão e dos óleos, não se conhece qualquer organismo capaz de usá-la como única fonte de energia, o que contribui para aumentar o seu desperdício (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

A Tabela 1 elaborada por RAJARATHNAM *et al.* (1998) apresenta o potencial de biotransformação de palhas de cereais em corpos frutíferos de *Pleurotus* e em composto residual, no Brasil e no mundo, baseada na taxa de eficiência de bioconversão da espécie.



Tabela 1. Potencial de biotransformação de palhas de cereais em corpos frutíferos de *Pleurotus* e composto residual, no Brasil e no mundo.

	<b>Brasil</b>	<b>Mundial</b>
<b>População (x 1000)</b>	144.428	5.114.788
<b>Uso de 25% do total de palha de cereais (x 1000 ton)</b>	20.460	1.278.697
<b>Produção de corpos frutíferos (x 1000 ton peso seco)</b>	2.046	127.869
<b>Disponibilidade <i>per capita</i> (g peso seco/pessoa/dia)</b>	38.8	68.4
<b>Produção de composto residual (x 1000 ton)</b>	5.421	338.854

Fonte: (RAJARATHNAM *et al.*, 1998)

### 3.1.1. Palha de bananeira

A bananeira é uma cultura frutífera representativa na região norte do Estado de Santa Catarina por apresentar a maior produtividade e a maior concentração de área plantada, além de ser geradora de grande quantidades de massa verde (INFORME CONJUNTURAL, 1999). A Tabela 2 apresenta os dados relativos à área cultivada, produção e produtividade da cultura da banana no Estado de Santa Catarina e no Litoral Norte do estado.

Tabela 2. Área plantada, produção e produtividade da cultura de banana em Santa Catarina e no Litoral Norte do Estado de Santa Catarina.

<b>Cultura da banana</b>	<b>Estado de Santa Catarina</b>	<b>Litoral Norte Catarinense</b>
<b>Área (hectares)</b>	25.605	12.206
<b>Produção (toneladas)</b>	490.543	300.485
<b>Produtividade (ton/hectare)</b>	19.158	24.618

Fonte: Informe Conjuntural (1999).

Segundo STURION (1994), os resíduos da bananeira representam uma proporção equivalente a 40% do peso do fruto e que as folhas representam 15% da planta completa. Portanto, estima-se a quantidade de resíduo seco disponível no estado de Santa Catarina, em 196 mil toneladas e a de folha de bananeira seca em 29 mil toneladas.

De acordo com a mesma autora, a palha das folhas de bananeira apresenta relação C:N de 25:1, teor de proteína de 9,38 % , teor de fibra bruta de 32,3 %, com índices de

lignina de 15,37 %, de celulose de 34,13 % e de hemicelulose de 20,1 %. KIEHL (1985) apresenta os teores de 88,99% de matéria orgânica, 2,58% de nitrogênio e 0,19 % P<sub>2</sub> O<sub>5</sub>, para este resíduo.

Como planta semi-perene, a bananeira possui um sistema de renovação de folhas constante, sendo que as folhas senescentes e secas vão pendendo da planta, reduzindo a luminosidade, dificultando o arejamento, o desenvolvimento dos brotos, aumentando o ciclo cultural e servindo de fonte de inóculo e de *habitat* para diversos patógenos e insetos. Por representarem um problema cultural e fitossanitário, a tecnologia de produção recomenda o manejo do corte das folhas velhas, também chamado de desfolha, facilitando seu uso para agregar valor ao resíduo (LITCHEMBERG & HINZ, 1997).

Tradicionalmente, estas folhas e demais resíduos são dispostos no solo como cobertura morta, auxiliando na contenção da erosão, evitando a compactação do solo e devolvendo uma parte de nutrientes ao solo. No entanto, a incorporação ao solo de matéria orgânica não decomposta implica no processo de humificação, mobilizando intensa atividade microbiana, o que provoca temporariamente uma deficiência de nitrogênio, o qual é consumido pelos microrganismos em detrimento das plantas (MEDINA, 1990). As vantagens do uso das folhas como cobertura morta podem ser mantidas e a desvantagem da mobilização do nitrogênio eliminada, usando-se o composto residual da produção de cogumelos, que consiste nas próprias folhas, já parcialmente decompostas, no que diz respeito ao complexo lignocelulósico, fornecendo nutrientes diretamente assimiláveis (RAJARATHNAM & BANO, 1989).

### **3.1.2. Palha de arroz**

A cultura do arroz é representativa no Estado pela significativa área plantada, como pode ser observado na Tabela 3, onde são apresentados a área cultivada, produção e a produtividade da cultura do arroz, no Estado de Santa Catarina e no Litoral Norte do estado.

Tabela 3. Área plantada, produção e produtividade da cultura de arroz em Santa Catarina e no Litoral Norte do Estado.

<b>Cultura do arroz</b>	<b>Estado de Santa Catarina</b>	<b>Litoral Norte Catarinense</b>
<b>Área (hectares)</b>	113.256	21.260
<b>Produção (toneladas)</b>	693.408	129.686
<b>Produtividade(ton/hectare)</b>	6.122	6.100

Fonte: Informe Conjuntural (1999)

Apesar de ser uma cultura anual, com ciclo de apenas de 100 a 150 dias (ARROZ IRRIGADO, 1997), portanto produtora de reduzida massa verde, sua área plantada justifica uma abordagem do uso de seus resíduos, principalmente, por apresentar até duas colheitas, sendo que nos demais meses do ano o agricultor fica ocioso e sem renda (AGENDA 21, 1997).

Segundo KOSARIC *et al.* (1983) a palha de arroz apresenta a seguinte composição: 32 a 53% de celulose, 21 a 24 % de hemicelulose e 12 a 25% de lignina. Outros dados de composição da palha de arroz são fornecidos por KIEHL (1985), sendo seu teor de matéria orgânica 54,34 %, de nitrogênio 0,78%, de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 0,59%, de K<sub>2</sub>O, 0,41% e a relação C:N de 39:1.

Esta matéria-prima lignocelulósica é deixada no solo pela colheitadeira, contribuindo para o condicionamento físico do solo e reposição de nutrientes. No entanto, na cultura do arroz irrigado, a característica de anaerobiose dos solos complica o processo de decomposição, diminuindo os benefícios da palha na bioestrutura do solo, assim como impede o aproveitamento do nitrogênio devido à sua redução. Por estas razões PRIMAVESI (1980) sugere que para cada dois anos de cultivo de arroz irrigado, o solo seja cultivado por um ano com uma cultura a seco. Por outro lado, a incorporação da palha ao solo, é temida devido à disseminação de sementes de capim-arroz (*Echinochloa crusgallii*), planta invasora de difícil controle.

### **3.2. Fungos da Divisão Basidiomicetos**

A classe dos Basidiomicetos engloba aproximadamente 16.000 espécies de fungos. É uma classe de grande importância econômica, por abranger fungos parasitas, como as

ferrugens (Uredinales) e os carvões (Ustilaginales), fungos degradadores de madeira (Polyporaceae – Aphyllophorales), como as “orelhas de pau” e os fungos comestíveis (Agaricales), que sustentam atividade industrial, como é o caso do Champignon e do Shiitake (LACAZ *et al.*, 1970).

Sua estrutura característica é o basídio (do grego = pequeno pedestal ou base pequena), onde se prendem externamente os basidiosporos. O basídiocarpo, também denominado de corpo frutífero, têm sua forma variável de acordo com o grupo, sendo, portanto, a base para a classificação sistemática dentro da classe. O ciclo de vida dos Basidiomicetos apresenta duas fases distintas. A fase assexuada é caracterizada pelo crescimento do micélio primário, sempre septado e do micélio secundário apresentando septos perfurados por poros, denominados de “doliporos” (dolium = jarro), em função da sua forma de barril. Nesta fase, a reprodução assexual pode se realizar por gemulação, fragmentação, conídios, artrosporos e oídios, sendo caracterizada pela fusão de células vegetativas não diferenciadas sexualmente (LACAZ *et al.*, 1970).

A reprodução sexuada se inicia pela plasmogamia, ou seja, fusão de hifas do micélio primário, seguindo-se uma longa fase dicariótica, a dicariofase, ou micélio secundário. Em seguida, ocorre a cariogamia, no probasídio e a meiose e mitose, em que o zigoto se divide duas vezes, formando quatro núcleos haplóides. Estes núcleos encaminham-se para 4 protuberâncias do basídio, os esterigmas, passando um núcleo para cada esterigma e formando quatro basidiosporos haplóides (MILES & CHANG, 1997).

O cultivo de fungos comestíveis no Brasil teve início na década de 50, tendo sido o agrônomo Oscar Molena, o primeiro produtor, que a partir de 1952 iniciou o primeiro cultivo comercial no município de Atibaia, Estado de São Paulo (MOLENA, 1986). Na década de 60, chineses, japoneses e coreanos estabeleceram-se na região de Mogi das Cruzes-SP, impulsionando o cultivo comercial.

Atualmente, a região de Mogi das Cruzes ainda é responsável por cerca de 50% da produção nacional de cogumelos comestíveis. A produção brasileira é estimada em pouco mais de 5000 toneladas/ano, das quais 50% são consumidos “in natura” e o restante destina-se à indústria de conserva, sendo o “champignon” (*Agaricus spp.*) responsável por 90 % deste mercado (GRANDI *et al.*, 1990).

### 3.2.1. Fungos do gênero *Pleurotus* spp.

O gênero *Pleurotus* abriga diversas espécies, sendo todas fungos comestíveis da classe dos Basidiomicetos, conhecidos vulgarmente como cogumelo ostra, devido à sua forma. No Brasil são também chamados de cogumelo caetetuba, cogumelo gigante ou fungi. Trata-se de uma espécie cosmopolita, ocorrendo naturalmente em florestas temperadas, subtropicais e tropicais, podendo ser saprofítico ou parasita em plantas previamente debilitadas, decompondo madeira e outros resíduos vegetais (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1984).

\* Juntamente com outros fungos, formam um grupo denominado de “fungos de podridão branca”, por produzirem um micélio branco e degradarem tanto a lignina como a celulose. Para tanto, possuem um complexo enzimático lignocelulotítico único, que os habilita a decompor substratos indisponíveis para a grande maioria dos organismos (KURTZMAN, 1979). Este fato caracteriza-o como decompositor primário de substratos, conferindo-lhe um enorme potencial para a degradação de resíduos. Na medida em que executam essa tarefa, produzem biomassa microbiana, que representa alimento saboroso e de elevado valor nutricional. A produção de *Pleurotus* envolve duas fases distintas, sendo a primeira caracterizada pelo crescimento micelial, através de divisão celular. Este período dura de 20 a 30 dias e deve transcorrer sem iluminação. Após a colonização do substrato pelo micélio e em função da presença de luz, maior aeração e às vezes choque térmico, ocorre a indução dos primórdios frutíferos, que são pequenas saliências de cerca de um milímetro, que em 3 a 4 dias podem ser colhidos.

✧ Segundo ZADRAZIL (1974), CHANG & HAYES (1978) e CHANG & QUIMIO (1984), os fungos do gênero *Pleurotus* apresentam algumas vantagens de cultivo em relação aos do gênero *Agaricus* e outros cogumelos comestíveis: se adaptam a ampla diversidade de substratos; os substratos não necessitam de processo de pré-fermentação (compostagem); apresentam crescimento mais rápido; são mais agressivos na competição com organismos competidores; têm capacidade de crescimento numa grande amplitude térmica, podendo ser cultivados em todo o território nacional porque toleram temperaturas elevadas; requerem uma tecnologia de produção menos complexa e apresentam um ciclo

produtivo reduzido, características que são desejáveis e determinantes na viabilidade técnica e econômica de um cultivo comercial.

### 3.2.1.1. Morfologia e taxonomia

O gênero *Pleurotus* spp. abriga 39 espécies conhecidas (EGER, 1978), sendo que as mais conhecidas são as espécies *Pleurotus ostreatus* (Shimeji) e *Pleurotus sajor caju* (Hiratake).

Segundo ZADRAZIL (1978), os corpos frutíferos do cogumelo representam o objetivo da produção, sendo que os de *Pleurotus* spp. se caracterizam por apresentarem um talo ou estipe, excêntrica ou lateral, de intensidade variável conforme as condições de cultivo horizontal (menor) ou vertical (maior). Também em função das condições de cultivo, o estipe pode ser pequeno ou longo (10 -15 mm) ou até mesmo estar ausente. Os corpos de frutificação se parecem com pétalas de flores, desenhando-se como conchas de ostra. Sua margem pode ser lisa, quebrada ou semi-virada dependendo da espécie e maturidade fisiológica. O tamanho varia conforme a espécie e as condições de cultivo, sendo que o mínimo é de 2 a 3 cm e o máximo de 15 a 30 cm. Segundo ZADRAZIL (1974), o píleo atinge tamanho entre 5 e 15 cm em madeira e até 30 cm em substrato composto de palhas vegetais. A coloração característica das diferentes espécies também varia de acordo com as condições de cultivo, sendo que os corpos de frutificação podem ser de cor branca, creme, marron claro a cinza claro e azulado. Um exemplo das condições de cultivo sobre a coloração é o caso da espécie *Pleurotus ostreatusroseus*, que quando cultivada na faixa de temperatura de 18 a 25°C, na sombra ou no escuro, se apresenta excessivamente rosa, sendo que esta coloração desaparece quando sujeito à luz ou a temperaturas mais altas (25 - 28 °C).

A variabilidade da cor do píleo e dos esporos em função das diferentes condições de cultivo vem causando polêmica entre os taxonomistas (EGER, 1978). Nesse sentido, existe controversia quanto à classificação de *P. sapindus*, *P. pulmonaris*, *P. salignus* e *P. columbinus*, devido às diferenças de coloração do píleo, sendo que EGER (1978) afirma que todos eles, quando cultivados sob as mesmas condições, apresentam as mesmas características, devendo ser portanto, classificados como *Pleurotus ostreatus*, uma vez que esta é a denominação mais antiga.

Também, MAZIERO *et al.* (1992) comentam a confusão existente entre *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus florida*, afirmando que a tendência é de se considerar as divergências de cor como variedades de uma mesma espécie. Dessa forma, o cogumelo de píleo branco seria conhecido como *Pleurotus ostreatus* variedade *florida* e o de cor marron claro - acinzentado seria chamado simplesmente de *P. ostreatus*.

### 3.2.1.2. Principais espécies

Dentro do gênero *Pleurotus*, muitas são as espécies cultivadas, sendo *Pleurotus ostreatus* a mais popular. Atualmente existem muitas espécies de interesse comercial, que têm sido apontadas como apropriadas para o cultivo em regiões subtropicais e tropicais (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984), dentre elas as descritas a seguir:

⇒ *Pleurotus sajor-caju* é um saprófita da madeira *Euphorbia royleana* encontrada na base do Himalaia. Produz corpos frutíferos parecidos com os de *Pleurotus* sp. "florida" de tonalidade marron. Foi inicialmente cultivado em folhas de bananeira, palha de trigo e bagaço de cana-de-açúcar por BISARIA *et al.* (1987) e em resíduos de bicho da seda por MADAN (1989). Trata-se de um cogumelo que possui aroma e sabor muitíssimo agradáveis e elevada capacidade de colonização saprofítica. É muito cultivado na Índia, frutificando em temperaturas altas.

⇒ *Pleurotus* sp. "florida" também conhecido como *P. pulmonaris* segundo STURION (1994). Na verdade, como relatado anteriormente, é muito similar a *P. ostreatus*, sendo considerada como uma variedade do mesmo, apenas com corpos de frutificação menores e de estrutura mais fina. Usualmente, são de coloração branca, creme, marron clara ou amarela, dependendo das condições de cultivo. Segundo ZADRAZIL (1978), abaixo de 9 °C é marron brilhante e a 25 °C se apresenta em cor branca ou creme. É mais produtiva que *P. ostreatus* e cresce em temperaturas mais altas, sem requerer choque térmico para indução dos primórdios frutíferos. É cultivada nos EUA e na Europa durante a estação quente.

⇒ *Pleurotus ostreatusroseus* foi descoberto por pesquisadores na Índia, onde é mais popular, crescendo em madeira morta de *Shorea robusta*. Os corpos frutíferos são de coloração rosea, textura carnosa e saborosos. Medem aproximadamente 5 a 10 cm de

diâmetro e encontram boa aceitação no mercado. É um cogumelo nativo do Brasil, com sua dispersão ocorrendo ao longo da Floresta Atlântica, conforme relatado por BONONI *et al.* (1995). BONONI *et al.* (1991) cultivaram esta espécie em bagaço de cana-de-açúcar, obtendo produtividades baixas quando comparadas com *P. sajor-caju* e *P. florida*, fato, que desencoraja seu cultivo comercial.

### 3.2.1.3. Cultivo comercial

Com a finalidade de produzir alimento, aproveitando resíduos, os cogumelos do gênero *Pleurotus* vêm sendo cultivados desde o início do século 20. ZADRAZIL (1978) descreve a evolução das técnicas de cultivo. Inicialmente, foram cultivados em toras e troncos por FALCK em 1917, depois em serragem por BLOCK em 1958 e KEDYK em 1959 e em composto residual de outros cogumelos por BLOCK em 1959. A produção em grande escala, em substrato de palha, foi idealizada por BANO & SRIVASTAVA em 1962 e SCHANEL *et al.* em 1966. Posteriormente, foi implantada a produção industrial de micélio e corpos frutíferos, desenvolvida por JUNKOVÁ em 1971, HELTAY *et al.* em 1971 e KURTZMAN & ZADRAZIL em 1984.

O cultivo comercial de diversas espécies de *Pleurotus* já é tradicional na Europa, Ásia e América do Norte, tendo se expandido nas regiões tropicais e subtropicais durante as décadas de 80 e 90, especialmente na Índia, México, Austrália e diversos países da África. As diferenças geográficas, climáticas e de matéria-prima disponível, dificilmente permitem a transferência de tecnologia de uma região para outra, criando uma demanda de pesquisas sobre técnicas e espécies que se adaptem às necessidades locais, sem a necessidade de controle ambiental e tecnologias onerosas (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1984).

No Brasil, o cultivo de *Pleurotus* foi introduzido por volta de 1980, a partir de uma linhagem proveniente da Europa, usando-se como substrato o bagaço de cana-de-açúcar, material que passava a existir com abundância em função da produção de álcool combustível (MAZIERO *et al.*, 1992). Apesar de produzido empiricamente no Brasil nos últimos 10 anos, faltam dados especificando detalhes de produção, comportamento de variedades e produtividade quando cultivado em condições ambientais não controladas (BONONI *et al.*, 1991).



### 3.2.1.4. Volume de produção e mercado

CHANG & MILES (1991) observaram um incremento superior a 400% na produção mundial de *Pleurotus*, na década de 80, passando este fungo a representar 24% da produção mundial de cogumelos comestíveis. MANZUR (1992) relatou uma produção mundial de 40 mil toneladas/ano no início da década de 80, passando para 340 mil toneladas/ano no final da referida década. De 1990 a 1994, a produção mundial anual diminuiu de 900 mil toneladas para 797 mil toneladas, decréscimo de 11,4% em função da estabilização entre a oferta e a demanda (MILES & CHANG, 1997). A China foi responsável por 82% desse total de produção. No Brasil não existe estimativa definida de produção, no entanto, a comercialização de *Pleurotus* no CEAGESP é de cerca de 50 toneladas/ano. O cultivo comercial de *Pleurotus* para exportação apresenta perspectivas promissoras e seu consumo interno pode ser incrementado com base na divulgação de suas excelentes qualidades gastronômicas, nutricionais e medicinais, aliadas ao seu reduzido custo de produção e precocidade (BONONI *et al.* 1995).

### 3.2.1.5. Valor nutricional

Existem variadas opiniões expressas em relação ao verdadeiro valor nutricional dos cogumelos. Historicamente, os cogumelos têm sido equacionados por alguns autores como equivalentes a um “bife vegetal”, enquanto outros os consideram de valor nutritivo não significativo. Os problemas aparecem em função da grande diversidade de cogumelos existentes e da dificuldade de comparação de resultados obtidos por diferentes grupos de pesquisa sobre uma mesma espécie, devido às inúmeras variáveis que afetam sua composição nutricional. A desuniformidade de valores pode ser oriunda de diferenças de linhagem, condições ambientais, composição de substrato, métodos de cultivo, idade, estado fisiológico e, por último, metodologias de amostragem e de análise, aliadas à adoção de unidades de medida diversas, como base em peso fresco e peso seco (CRISAN, 1978).

De uma maneira geral, os cogumelos comestíveis contém entre 85 e 95% de água em sua composição e quando desidratados para comercialização apresentam um peso que equivale a 5 - 20% do seu peso fresco inicial. Na composição do peso seco, os carboidratos

(60%) estão presentes em maior concentração, seguidos das proteínas (25%) e dos lipídeos (5%), sendo o restante considerado como cinzas (10%), incluindo diversos minerais (RAJARATHNAM *et al.*, 1998). Na Tabela 4, pode-se comparar as composições das três espécies de cogumelos mais cultivadas no mundo.

Tabela 4. Valor nutricional comparativo das três espécies de cogumelos mais cultivadas.

Espécies	Amostra	Umidade (%)	Proteína Bruta %	Lípídeos %	Carboidratos Total Livre %		Fibra %	Cinza %	Valor energético (Kcal)
<i>P. ostreatus</i>	Fresca	90,8	30,4	2,2	57,6	48,9	8,7	9,8	345
<i>P. ostreatus</i>	Seca	10,6	27,4	1,0	65	567	8,3	6,6	356
<i>L. edodes</i>	Fresca	90,5	15,5	7,0	73,1	65	7,5	5,5	390
<i>L. edodes</i>	Seca	16,5	11,5	1,55	81,5	72,8	10,8	6,1	352
<i>A. hisporus</i>	Fresca	88,9	24,9	2,3	62,5	53,5	9,0	10,3	344
<i>A. bisporus</i>	Seca	90,1	27,8	3,9	52,6	46	6,6	15,7	337

Fonte: ZADRAZIL, (1974)

Para *Pleurotus sajor-caju* cultivado em folhas de bananeira e em sacos plásticos, STURION (1994) determinou a composição nutricional nos corpos frutíferos, apresentada na Tabela 5. ORTEGA *et al.* (1997), constataram a presença majoritária do potássio, em relação aos demais elementos minerais.

Tabela 5. Composição nutricional de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em folhas de bananeira

N %	Proteína %	Extrato etéreo %	Fibra Bruta %	Cinza %	Matéria seca %	Celulose %	Lignina %	Hemi-celulose
4,35	19,07	0,88	11,66	6,88	93,12	15,36	0,90	23,43
Macrominerais (%)				Microminerais (mg/Kg)				
P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn	
0,38	1,22	0,02	0,07	7	27	16	27	

Fonte: STURION, (1994)

### 3.3. Degradação dos materiais lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos são insolúveis em água, implicando na vantagem de sua fermentação sólida. Apesar da necessária hidratação do substrato com uma fina camada de água na superfície das partículas, o substrato não chega a formar uma mistura fluida. Os teores de água no substrato em fermentações sólidas devem permanecer entre 1:1 e 1:10 (substrato:água). A biodegradação, através da fermentação sólida, apresenta diversas vantagens em relação aos cultivos submersos, dentre as quais: menor volume de

fermentador (sem o excesso de água); gastos menores com energia para esterilização; aeração facilitada; menor custo em equipamentos e manutenção para promover a agitação e homogenização; baixos custos de recuperação do produto e desidratação; meio mais adequado para a degradação fúngica da lignina e meio menos favorável à contaminação bacteriana (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

Os resíduos agrícolas, florestais e agro-industriais, sendo biomassa lignocelulósica representam, portanto, uma fonte abundante e renovável de substratos que podem ser convertidos em biomassa microbiana de elevado valor nutricional. Segundo DOELLE (1996), uma tecnologia de fermentação desenvolvida a partir de materiais lignocelulósicos resultando múltiplos produtos, sem efluentes poluentes no solo, na água e no ar, fica inserida na categoria de tecnologias integradas. A utilização destes recursos desperdiçados se apresenta como o melhor sistema para combater a subnutrição e a fome, principalmente, quando envolve o tratamento e o melhoramento dos resíduos (DOELLE, 1996).

Sendo a celulose e a hemicelulose componentes de diversos processos produtivos industriais, torna-se necessário o pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos de forma a permitir sua hidrólise para o aproveitamento das frações. Este pré-tratamento pode ser químico, físico ou biológico. Um pré-tratamento ideal deve ser acompanhado da redução do teor de lignina, com a redução da estrutura cristalina da celulose e o aumento da superfície de contato das enzimas, no caso do tratamento biológico. Os tratamentos químicos, à base de NaOH e solventes, apesar de eficientes apresentam sérias implicações ambientais e os tratamentos físicos, por explosão a vapor representam enorme gasto de energia (PAULI, 1997).

### **3.3.1. Biodegradação dos materiais lignocelulósicos**

✧ A possibilidade de tratamento biológico depende de organismos que possuam complexos enzimáticos lignocelulolíticos específicos, os quais são encontrados apenas em espécies de Basidiomicetos. Os cogumelos, através do seu complexo lignocelulolítico formado por celulasas, ligninases, peroxidases, laccases, proteases, manganases e fenol oxidases dentre outras enzimas, possuem a capacidade de degradar a lignina, retirando seus grupos metaoxílicos e fazendo a ruptura das ligações éster, liberando substâncias mais

solúveis e expondo as cadeias restantes à ação das demais enzimas (GARZILLO *et al.*, 1992, 1994; BUSWELL & CHANG 1994; ORTEGA *et al.*, 1997 e GHOSH *et al.*, 1998).

RAJARATHNAM *et al.* (1992) elaboraram um esquema ilustrativo, onde se observa a função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos através da morfogênese dos basidiomicetos (Figura 1).

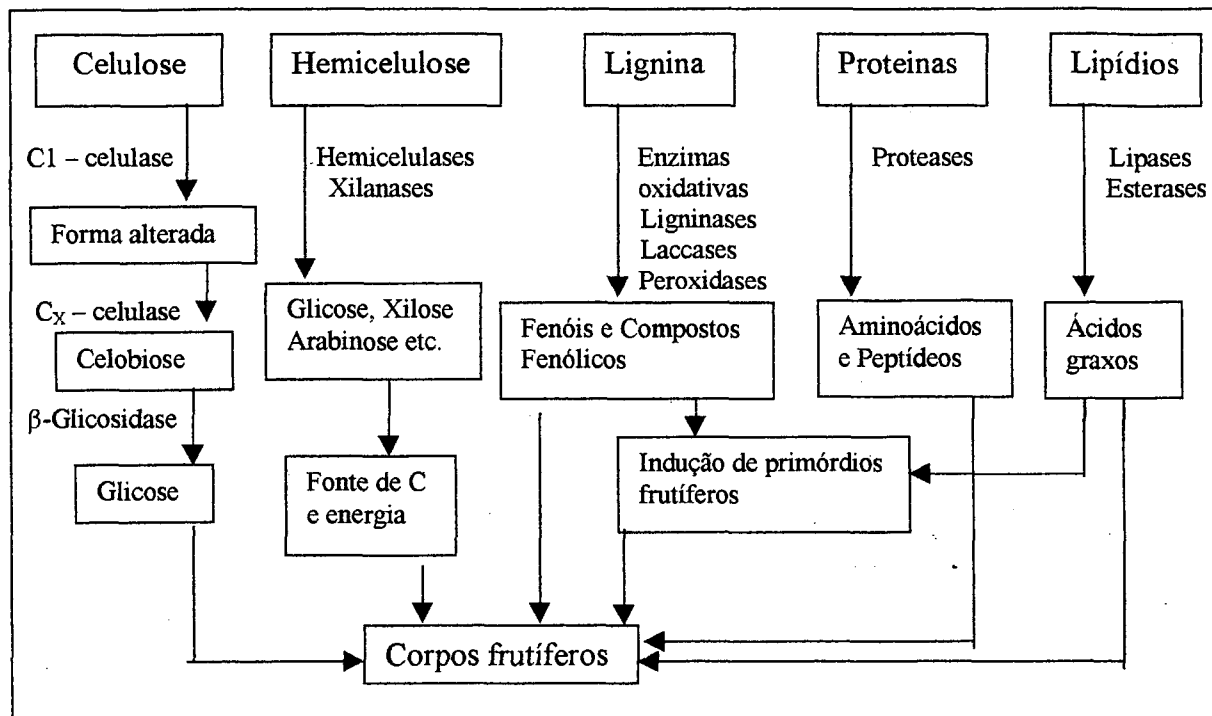


Figura 1: Diagrama esquemático da função desempenhada pelas enzimas degradadoras de materiais lignocelulósicos através da morfogênese dos basidiomicetos.

Fonte: RAJARATHNAM *et al.*, 1992.

### 3.3.2. Utilização de fungos do gênero *Pleurotus* nos processos de biodegradação

A degradação dos substratos lignocelulósicos por cogumelos do gênero *Pleurotus* ocorre conforme descrito na Figura 2 (ZADRAZIL, 1974). A produção de corpos frutíferos representa 10% do peso seco original do substrato (1 Kg de palha seca = 1 kg de cogumelos frescos). Cerca de 50% do substrato é liberado na forma de CO<sub>2</sub> e 20% na forma de água. Após a colheita, aproximadamente 20% do peso seco original é transformado em composto residual.

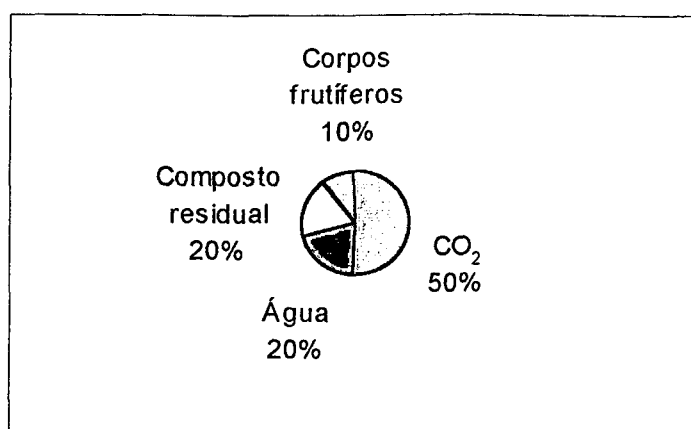


Figura 2: Esquema representativo dos percentuais de degradação do substrato.  
Fonte: ZADRAZIL, 1974

✱ Segundo RAJARATHNAM *et al.* (1992), durante o processo de colonização da palha e frutificação ocorre a liberação de compostos de carbono pela ação de enzimas lignocelulíticas, reduzindo a relação C:N e degradando o complexo lignocelulósico em cerca de 80 %. ORTEGA *et al.* (1997) investigaram a degradação em resíduos lignocelulósicos de cana-de-açúcar, registrando taxas de 59,2, 56 e 51,9% de degradação da hemicelulose, lignina e celulose, respectivamente. Ao estudarem a capacidade de degradação lignocelulósica da biomassa composta por pseudocaules de bananeira, pelas linhagens *P. sajor-caju* e *P. ostreatus*, GHOSH *et al.* (1998) constataram uma maior afinidade enzimática para a degradação da hemicelulose, obtendo taxas de 31 e 40%, respectivamente, seguidas pela celulose (12,4 e 17,5%) e finalmente pela lignina (6 e 10%). STURION (1994), após testes realizados com *P. sajor-caju* cultivado em folhas de bananeira, relatou percentagens elevadas de redução da celulose, da hemicelulose e da lignina de 89,08%, 88,9% e 83,89%, respectivamente. Paralelamente à decomposição, a autora observa que o substrato é enriquecido com açúcares livres, aminoácidos, vitaminas e outros produtos biologicamente ativos. A concentração dos elementos orgânicos e, especialmente, inorgânicos é incrementada, além de sofrerem transformações para formas mais solúveis. A Tabela 6 foi elaborada a partir do trabalho de STURION (1994) e apresenta as alterações do substrato palha de bananeira, após o cultivo de *P. sajor-caju*.

Tabela 6. Composição e características do substrato palha de bananeira, antes e após o cultivo de *P. sajor-caju*.

Composição	Palha de Bananeira	Composto Residual do Cultivo de Cogumelos
C	37.89	33.53
N	1.5	1.38
C:N	25.26	24.21
Proteína (Nx 6.25)	9.38	10.22
Extrato etéreo (%)	2.25	0.86
Fibra bruta (%)	32.32	19.05
Cinza (%)	9.07	5.19
Umidade (%)	14.7	80.06
FDN – Fibra detergente neutro (%)	71.95	31.63
FDA – Fibra detergente ácido (%)	51.37	29.4
Lignina (%)	15.37	9.31
Celulose (%)	34.13	15.65
Hemicelulose (%)	20.1	2.23

Fonte: Elaborada a partir de STURION (1994)

As taxas de conversão de *Pleurotus* são impressionantes, apresentando índices de 0,111g/g, os quais são superiores aos de bovinocultura de leite (0,048), avicultura postura (0,048), suinocultura (0,031) e bovinocultura de corte (0,03), perdendo apenas para a avicultura de corte (0,113) (RAJARATHNAM *et al.*, 1998). Este fato é bem exemplificado quando observa-se o caso da palha de bananeira, a qual apresenta 9,38 % de proteína. Sua colonização por *Pleurotus* gera corpos frutíferos com 19,5 % de proteína e um composto residual apresentando 10,2 % de proteína (STURION, 1994).

A digestibilidade das proteínas “in vitro” é aumentada em 70% e o teor de proteína bruta de 25% para 30 - 40% (ZHANG, 1995). O aumento dos percentuais de elementos após 70 dias de frutificação de *Pleurotus* em palha de trigo foi demonstrada por ZADRAZIL (1974) e é apresentada na Tabela 7. A única exceção ocorre no caso do fósforo, em função de sua intensa metabolização nos corpos frutíferos.

Tabela 7: Percentagem inicial de elementos na palha de trigo e após 70 dias de frutificação de *Pleurotus*

Composição de bioelementos em %	Palha de trigo	Palha de trigo, 70 dias após o tratamento com <i>Pleurotus</i>
N	0.556	0.860
K	1.020	1.175
P	0.160	0.080
Ca	0.158	1.460
Mg	0.053	0.488
Cinzas	6.33	21.16

Fonte: ZADRAZIL (1974)

A degradação dos substratos lignocelulósicos por fungos do gênero *Pleurotus*, sob condições controladas, apresenta inúmeras aplicações e implicações biotecnológicas (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). Basicamente, obtém-se o micélio, consequência do crescimento vegetativo, os corpos frutíferos, oriundos da reprodução sexuada e o composto residual, sendo que cada um pode ser desmembrado em diversos subprodutos, incrementando seu valor agregado.

O crescimento do micélio representa a primeira alteração do substrato, à medida em que as enzimas lignocelulolíticas o vão colonizando. Este processo de hidrólise da celulose e da lignina apresenta perspectivas biotecnológicas promissoras em diversos campos (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). A ação das enzimas fúngicas na biodegradação e biorremediação de compostos xenobióticos poluentes pode ser tanto na mineralização de clorofenóis (ZEDDEL *et al.*, 1993), como no processo de detoxificação onde são formados compostos menos tóxicos, ou adsorvidos em compostos húmicos do solo, ficando imobilizados devido a um "turnover" muito lento (JOHNSON & LAMAR, 1996). O uso de *Pleurotus* na biorremediação de solos contaminados tem sido relatado, recentemente, por diversos autores, para diferentes hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (BOGAN *et al.*, 1999; KOTTERMAN *et al.*, 1999; EGGEN *et al.*, 1999; RODRIGUEZ *et al.*, 1999; HARMSSEN *et al.*, 1999 e SHIN *et al.*, 1999). CIHANGIR *et al.* (1999) comprovaram o potencial de uso de *Pleurotus* na remoção e/ou biorremediação de solos contaminados com metais pesados, em função da sua elevada capacidade de adsorção desses elementos. A descoloração de águas residuais com compostos fenólicos e ácido cianídrico, o tratamento de águas residuais da produção de papel Kraft, contendo compostos clorados e a

degradação ou biotransformação de poliestirenos, DDT, Lindane, antraceno e atrazina são citados por RAJARATHNAM *et al.* (1998). O uso do composto residual de *Pleurotus* para degradação de pentaclorofenol (PCP) provou ser mais eficiente do que o micélio de diversos fungos (CHUI *et al.*, 1998). Sua capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico foi também citada na bibliografia por ZADRAZIL (1993).

A produção de biopolímeros de elevada viscosidade tem aplicações nas indústrias de alimentos, cosméticos e na recuperação de óleos. Linhagens de *Pleurotus* testadas apresentaram produção igual ao das linhagens industriais do fungo *Sclerotium rolfssii*, usando teores menores de nitrogênio na fermentação (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). Os autores relatam também que o extrato micelial protéico de *Pleurotus ostreatus*, contendo quitinase e glucanase se mostrou eficiente no amaciamento de estipes de cogumelos *Pleurotus*, *Lentinula* e *Agaricus*. Além disso, o tratamento de fibras de linho com linhagens de *Pleurotus* se apresentou como uma alternativa ao tratamento térmico e ao uso de NaOH, não afetando as fibras de celulose e permitindo a obtenção de um produto de boa qualidade.

A frutificação é a fase em que o processo enzimático é mais intenso. Através da ação das enzimas catabólicas, os nutrientes vão sendo extraídos do substrato e pela ação das enzimas anabólicas vão sendo metabolizados nos cogumelos. É dessa forma que ocorre a bioconcentração de metais pesados presentes no substrato. Acumulação de cádmio, mercúrio, zinco, cobre, selênio e chumbo tem sido reportada por diversos autores, descritos por RAJARATHNAM *et al.*, (1992), em diferentes substratos. A utilização de espécies de *Pleurotus* como indicadores de poluição por metais pesados se apresenta como uma alternativa prática para diversos materiais. No entanto, este fato alerta para um cuidado especial em relação à escolha de substrato para frutificação.

O potencial de uso medicinal dos corpos frutíferos é vasto. Existem diversos trabalhos comprovando seus efeitos terapêuticos através da produção de metabólitos secundários (GUNDE-CIMERMAN *et al.*, 1999). Estudos com substâncias como a pleurotina, de ação antibiótica, a lecitina, útil como fator de coagulação sanguínea (RAJARATHNAM *et al.*, 1998), polissacarídeos (GAO *et al.*, 1999), como o Pleuran  $\beta$  D - glucano, proteínas que agem na inibição de tumores (MORITA, 1999) e na estimulação do sistema imunológico (ZHANG *et al.*, 1993). Conhece-se ainda a ação preventiva de diversos polissacarídeos nas doenças cardíacas e arteriosclerose, através da redução da



absorção do colesterol e aumento na sua taxa de fracionamento catabólico (BODEK *et al.*, 1990, 1991, 1994, e 1996, BORCH-ERS *et al.* 1999).

Uma emulsão líquida formulada com cêras, óleos, suco cítrico e suco de cogumelo se manteve estável sem antioxidantes ou estabilizantes por três meses, sendo relatada sua ação estimulante do crescimento capilar (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). KWOK *et al.* (1992) relatam a produção de toxinas de *Pleurotus ostreatus*, com comprovada ação nematicida em *Panagrellus redivivus*. Seu uso no controle da séria doença do tomateiro causada por *Fusarium oxysporium lycopersici*, descortinam seu potencial de uso em outras áreas.

A delignificação biológica de madeiras e palhas para a produção de papel é muito usada na China. Segundo RAJARATHNAM *et al.* (1992), apesar do processo ser menos oneroso do que o tratamento químico e não causar problemas ambientais, ainda se apresenta lento. Estudos genéticos vêm sendo realizados na Alemanha, Suécia, Estados Unidos e Cuba, visando a obtenção de linhagens que degradem a lignina com uma velocidade maior e que não apresentem enzimas celulolíticas. O pré-tratamento fúngico dos materiais lignocelulósicos tem garantido uma economia de 50% no processo físico, melhorando as qualidades do papel produzido (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

O composto residual tem apresentado aplicação na nutrição animal (DAS-P, 1995). KAKKAR (1998) relata a utilização do composto residual na substituição de 50 a 100% da palha comum na alimentação de bubalinos, obtendo taxas de conversão elevadas. Seu uso também é relatado na alimentação de ovinos (YAMAKAWA, 1992), bovinos (KARUNANANDAA, 1995; ZADRAZIL & PUNIYA, 1996; ADARNOVIC *et al.*, 1998), aves e caprinos (ZHANG, 1995), todos com taxas de conversão significativas.

RAJARATHNAM *et al.* (1986) e ZADRAZIL (1994) relatam o uso do composto residual da palha de arroz como adubo orgânico, como substrato para cultivo de outros cogumelos como os do gênero *Agaricus* (decompositores secundários) e na produção de sílica nativa através das cinzas, para uso em células fotoelétricas.

BIZARIA *et al.* (1990) comprovaram incrementos na produção de biogás (metano) de 21,5% usando composto residual de bagaço de cana-de-açúcar e de 38,8% usando composto residual de palha de arroz. As enzimas C<sub>1</sub>- celulase, C<sub>x</sub> – celulase e β - D-

glicosidase, extraídas do composto residual, foram eficientes na sacarificação de resíduos de papel e de algodão.

Extratos altamente condensados de lignina policarboxilada solubilizada mostraram-se eficientes na inibição do vírus do mosaico do fumo, por bloquear seu ciclo replicativo. Do mesmo modo, sua administração oral comprovou ser eficiente na terapia do vírus da imunodeficiência humana (HIV), assim como promoveu a seroconversão do antígeno HBe no anticorpo HBe em pacientes portadores de hepatite B crônica, sem efeitos colaterais (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). Um resumo da contribuição dos fungos do gênero *Pleurotus* na ecologia do ciclo de carbono, as aplicações e implicações do seu cultivo são demonstrados na Figura 3 (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

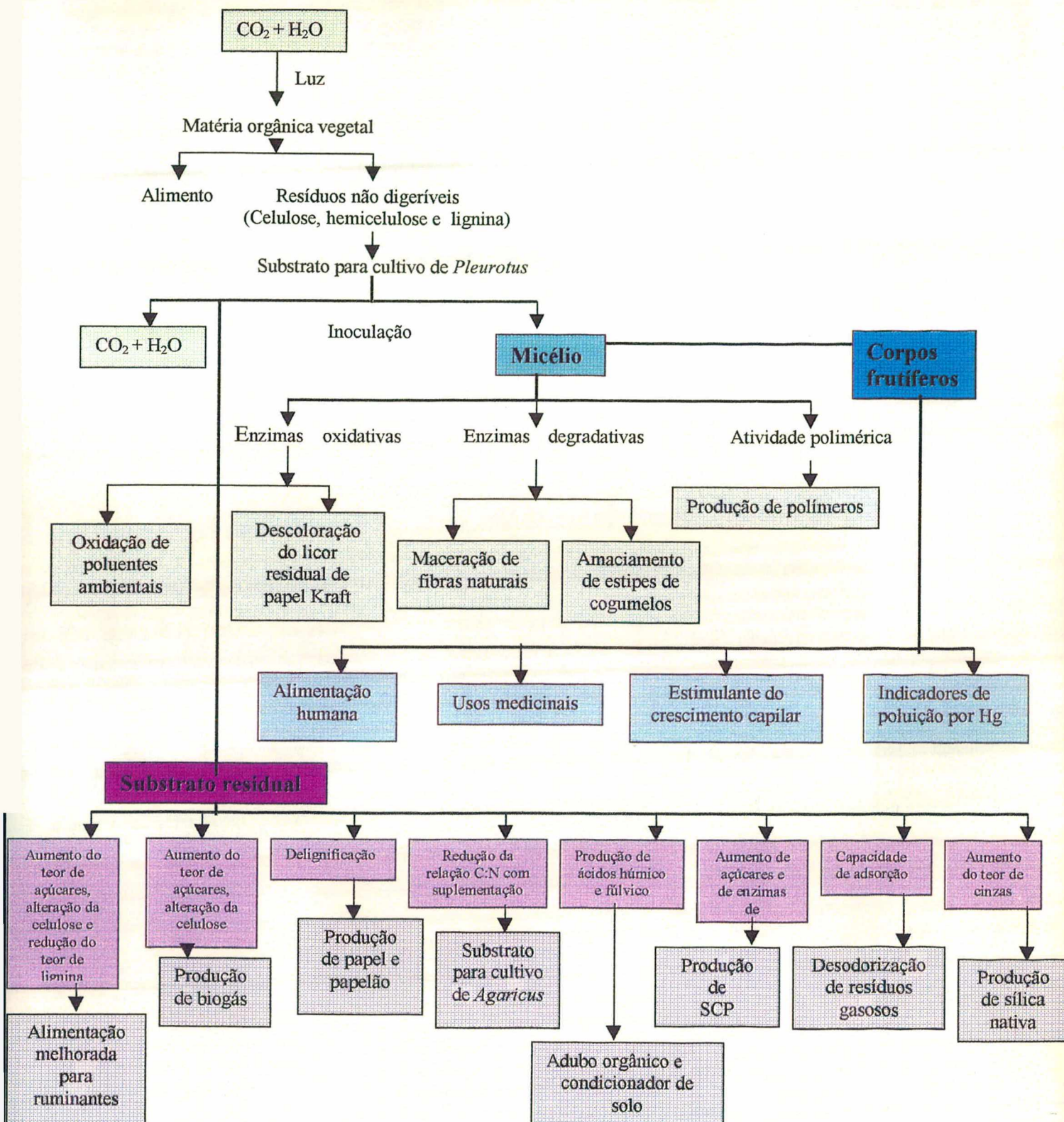


Figura 3. Diagrama esquemático da contribuição de *Pleurotus* spp. na ecologia do ciclo de carbono, as aplicações e implicações do seu cultivo. Fonte: RAJARATHNAM *et al.*, 1992.

### 3.4. Processo de produção de *Pleurotus* spp.

#### 3.4.1. Produção de inóculo (“spawn”)

O inóculo ou “spawn” é o veículo de dispersão do micélio no substrato e sua preparação é a fase mais crítica do cultivo, devendo ser realizada sob condições de absoluta assepsia (CHANG, 1984). Segundo o autor, na China e na Tailândia, é muito utilizado o “spawn natural”, que consiste em usar o micélio viável do composto residual de uma produção, como fonte de inóculo da produção seguinte. No entanto, de acordo com KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), este procedimento acarreta transtornos de contaminação e baixa produtividade. O inóculo líquido, preparado através de cultura submersa, é muito eficiente, porém seu uso é restrito a experimentos em escala laboratorial devido ao elevado custo. Finalmente, o inóculo à base de grãos colonizados vem sendo o mais usado em escala industrial (CHANG & MILES, 1993).

##### 3.4.1.1. Suportes

Os materiais utilizados como suporte para produção do inóculo consistem normalmente de grãos de cereais cozidos (trigo, arroz, cevada etc), que após a esterilização são inoculados com o fungo. Uma vez colonizados totalmente pelo fungo, os grãos podem servir de inóculo para o substrato. Os grãos representam o meio mais utilizado, por proporcionarem o dobro de superfície semeada quando comparado com outros substratos, tais como palha e serragem (CHANG, 1984). O autor descreve ainda a metodologia de utilização de folhas residuais de chá como suporte. SOCCOL (1994) testou o uso de bagaço de mandioca como suporte para “spawn”, obtendo uma colonização do substrato pelo micélio 15 dias após a inoculação.

RAJARATHNAM & BANO (1988) relatam o cultivo comercial de *P. flabelatus* e *P. sajor-caju*, na Índia, usando suporte consistindo de palha autoclavada. Este suporte, após inoculado, serviu como “spawn” para palhas não submetidas a qualquer tratamento térmico. O uso de frações de inóculo elevadas, de até 10% do peso úmido de substrato, visa aumentar a população de *Pleurotus* de tal forma que os microrganismos contaminantes não

tenham chance de se desenvolver, compensando a ausência de tratamento térmico do substrato. Segundo os autores, as grandes quantidades de inóculo utilizadas seriam economicamente inviáveis, se preparadas usando grãos como suporte.

### 3.4.1.2. Metodologia de preparo

Para se produzir o “spawn”, deve-se partir de uma cultura pura, também chamada de matriz. Esta pode ser originada de esporos ou de cultura de tecidos. É interessante o isolamento periódico da linhagem, a partir dos corpos frutíferos, de forma a evitar a degeneração e senescência das características genéticas, evitando comprometer as qualidades comercial e de cultivo da mesma (EGER, 1978).

De acordo com ZADRAZIL (1978), existem três tipos básicos de meios de cultivo utilizados para produção de “spawn”: BDA (extrato de batata, dextrose e ágar), TDA (extrato de trigo, dextrose e ágar) e meio completo. Este último consiste em extrato de malte, farinha de soja, peptona,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ , extrato de levedura e agar. Algumas variantes, como o meio EMA (extrato de malte) e a mistura de meio BDA com palha também têm sido utilizadas (CHANG, 1984). Trabalhos realizados por FURLAN *et al.* (1997) comparam diversos meios, elegendo o meio TDA como sendo o mais adequado para o crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus*. Segundo RAJARTHANAM & BANO (1988), os meios mais utilizados têm sido BDA, TDA e EMA (Extrato de malte e ágar).

Da cultura pura, o fungo passa para a inoculação dos grãos. O suporte sólido de grão de trigo, o mais usado tradicionalmente, apresenta um teor de umidade de em torno de 11% e a umidade ótima para a produção de “spawn” está entre 49 e 54 % (STURION, 1994). Segundo a autora, para aumentar o teor de umidade do grão, deve-se umedecê-lo em água através da fervura durante 15 minutos. Carbonato de cálcio e sulfato de cálcio, são adicionados aos grãos, na proporção de 1 a 3% do peso seco do grão, mantendo a relação de quatro partes de carbonato de cálcio para uma parte de sulfato de cálcio (STOLLER, 1987). Segundo o autor, este procedimento evita que os grãos se aglomerem, facilitando depois o manuseio, além de ainda alterar o pH, uma vez que este deve ser ligeiramente alcalino (MOLENA, 1986).

Em seguida, os frascos ou sacos são fechados e esterilizados em autoclave, durante 15 a 20 min, a 121 °C e 1 atm. Este tempo pode variar em função do volume de material a ser autoclavado (CHANG, 1978).

Após resfriamento à temperatura ambiente, os grãos devem ser inoculados em câmara de fluxo laminar, a partir da cultura pura. A fração de inóculo utilizada varia de um trabalho para outro. VIRMOND *et al.* (1996) utilizaram 5 discos de ágar com micélio de 8 mm de diâmetro para inocular sacos contendo 250 g de grãos de trigo, enquanto que ZADRAZIL & GRABBE (1983) utilizaram frações de inóculo de 1 cm<sup>2</sup> por frasco.

### 3.4.2. Meios de cultivo para frutificação

#### 3.4.2.1. Substratos

Os fungos comestíveis do gênero *Pleurotus* são os mais versáteis em colonizar e degradar uma enorme diversidade de substratos. Os materiais lignocelulósicos podem variar de palha de cereais, resíduos de plantas leguminosas, resíduos de plantas oleaginosas (torta), resíduos de plantas perenes (café, côco), resíduos industriais do beneficiamento de frutas (citrus, maçã, uva), destilarias, madeireiras, além dos resíduos de plantas florestais (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). O substrato tradicional usado na Europa é a palha de trigo e, no oriente, a palha de arroz.

Os países de clima tropical e subtropical vêm procurando adaptar o seu cultivo às condições locais e a seus substratos específicos. CHANG *et al.* (1981) testaram resíduos de algodão e de folhas de chá. BISARIA *et al.* (1986) avaliaram o desempenho de *P. sajor-caju* em palha de trigo, de sorgo, de milho, folhas de bananeira, de mangueira e de neem, sementes de algodão e frutos de ficus. MADAN *et al.* (1987) testaram as folhas e caules de amoreira e mamona, enquanto UPADHYAY & SOHI (1988) usaram resíduo da indústria de suco de maçã. Mais recentemente, a procura por substratos alternativos e disponíveis nos trópicos continua, tendo sido usados os mais variados substratos como: palha de trigo, cevada, sabugo de milho, resíduos de soja e feijão, folhas de bananeira e palha de capim (*Paspalum* sp) (NKAKYEKORERA, 1993); resíduos de papel, cinamomo e lantana (SHARMA, 1994); palha de milho e bagaço de cana-de-açúcar (KLIBANSKY, 1993); lixo

orgânico, sabugo de milho, resíduos da indústria de suco de manga (JWANNY, 1994); palha de ervilha, diversas plantas nativas da Índia e resíduos de sericicultura (PATRABANSHI & MADAN, 1995 e 1997); palhas de trigo, sorgo soja e amendoim (YILDIZ *et al.*, 1997) e folhas e frutos de coqueiro (THOMAS *et al.*, 1998). CHANG *et al.* (1981), BISARIA *et al.* (1986), NKAKYEKORERA, (1993), JWANNY, (1994) e PATRABANSHI & MADAN, (1995) testaram a palha de arroz.

No Brasil, MAZIERO (1990) e BONONI *et al.* (1991) avaliaram o uso de bagaço de cana-de-açúcar, STURION (1994) testou folhas e pseudocaule de bananeiras suplementadas com sabugo de milho e bagaço de cana-de-açúcar, enquanto que BARBOSA *et al.* (1996) testaram o uso da mistura de bagaço de mandioca e de cana-de-açúcar, em várias proporções. URBEN (1998) testou com sucesso *Brachiaria decumbens* e *Andropogon*, suplementados com farelo de arroz e gesso. DIAS & GONTIJO (1999) em estudos preliminares avaliaram o uso da palha de feijão como sendo promissor.

O substrato é um dos fatores de produção que eleva o custo final de produção dos cogumelos. Apesar de se tratar de resíduos, as quantidades envolvidas são consideravelmente grandes e, muitas vezes, os substratos disponíveis se apresentam inadequados em função do excesso de umidade ou deterioração. No caso de *Pleurotus*, agindo como decompositor primário, KURTZMAN & ZADRAZIL (1984) afirmam que seu crescimento é dificultado e a produtividade comprometida se o substrato tiver sido deteriorado pela ação de outros microrganismos, facilitando posteriormente o desenvolvimento de microrganismos competidores. Em função disso, os autores recomendam que substratos que contenham carboidratos livres sejam pré-tratados através de um processo de fermentação ou de lavagem. Além do preço, facilidade de obtenção e qualidade, deve-se avaliar ainda os problemas de transporte, que oneram a produção.

### 3.4.2.2. Pré-tratamentos

O tratamento do substrato, por uma ou mais técnicas apresentadas a seguir, pretende: extrair e remover os componentes solúveis do substrato (açúcares livres e compostos fenólicos) que incentivam a proliferação de outros microrganismos; amaciar as fibras, facilitando o ataque enzimático de *Pleurotus*; eliminar ou reduzir os agentes competidores, contaminantes e patogênicos, que podem reduzir a colonização do substrato e a produtividade. Os materiais lignocelulósicos normalmente contêm uma percentagem alta de inóculo de microrganismos selvagens, os quais crescem rapidamente quando o substrato é hidratado, inibindo e competindo com os fungos de podridão branca pela colonização do substrato (ZADRAZIL, 1986). Assegurar o monocultivo de um basidiomiceto num substrato lignocelulósico é, portanto, um dos maiores desafios das fermentações sólidas.

A esterilização permite alcançar a eliminação destas populações. Esta técnica consiste em autoclavar o substrato a 121 ° C e 1 atm, por 1 a 2 horas e resfriá-lo à temperatura ambiente, antes da inoculação. O substrato fica totalmente livre de contaminantes. Porém, este processo apresenta limitações econômicas ao uso em escala industrial, sendo usado sobretudo em nível de experimentos em laboratório. ZADRAZIL & KURTZMAN (1984) apresentam esta técnica como uma variação do Método Till. Outra desvantagem ressaltada por MAZIERO & ZADRAZIL (1994) é que havendo alguma contaminação posterior no substrato, não haverá organismo competidor que possa restringir o crescimento do contaminante. Por outro lado, este processo libera grande quantidade de açúcares solúveis e outras substâncias, que serão fontes de alimento prontamente assimiláveis.

As palhas vegetais, constituindo o substrato lignocelulósico mais utilizado comercialmente, são, na maioria das vezes, pasteurizadas, resfriadas e em seguida inoculadas. Na pasteurização ocorre a morte seletiva das populações de microrganismos termosensíveis. As populações microbianas não exterminadas representam reduzida competição para o crescimento do micélio de *Pleurotus* durante os primeiros 15 dias de cultivo. Durante este período, o micélio deve colonizar todo o substrato, ou os fungos contaminantes o farão (RAJARATHNAM & BANO, 1988).



Existem várias técnicas de pasteurização, basicamente divididas em pasteurização submersa e a vapor. A pasteurização a vapor é o método mais usado para se conseguir reduzir possíveis microrganismos competidores. O substrato é submetido a temperaturas de 60 a 100° C durante algumas horas, dependendo do volume de substrato a ser tratado. Esta técnica foi aplicada em escala industrial inicialmente por JUNKOVÁ 1970 e ZADRAZIL 1974. Mais tarde, desenvolveu-se um sistema mecanizado de tratamento contínuo de substrato (ZADRAZIL & KUTZMAN, 1984). Neste tipo de tratamento, o substrato já sai tratado, embalado nos sacos e inoculado. A pasteurização interfere na qualidade do substrato, o qual sofre alterações, liberando açúcares solúveis e fenóis. Portanto, a temperatura a ser usada e o tempo de tratamento dependerão do tipo de substrato utilizado, devendo ser adaptados para cada uma das variantes (ZADRAZIL, 1974). MAZIERO & ZADRAZIL (1994) conduziram trabalhos avaliando os efeitos dos pré-tratamentos nos substratos, relatando que o tratamento conduzido a 25°C apresentou colonização primária por *Coprinus sp.* e outros competidores, além de valores de pH mais elevados. Com algumas exceções, as maiores taxas de crescimento foram obtidas com tratamentos entre 60 e 90°C e a maior velocidade de colonização e taxa de crescimento, foram obtidas em palha esterilizada. RAJARATHNAM & BANO (1989) descrevem algumas vantagens deste método, tais como: melhora da penetração de água nas camadas internas; destruição de formas resistentes como esclerócios de *Sclerocium rolfsii*; ajuda a amaciar a celulose, acelerando a quebra das ligações cruzadas; facilita o acesso das enzimas do fungo; ativa a colonização micelial, podendo antecipar a frutificação em 2 a 3 dias. Uma adaptação rústica desta técnica foi feita em Uganda (África) para facilitar a operação, colocando o substrato em sacos de ráfia, os quais são inseridos em recipientes com reduzida quantidade de água, que é aquecida durante 2 a 6 horas, sendo que o vapor permeia pelo interior do substrato (NKAKYEKORERA, 1993).

A pasteurização por imersão apresenta a vantagem de excluir a necessidade de hidratação da palha como mais uma etapa do tratamento. KURTZMAN (1979) e BANO *et al.* (1979) desenvolveram este método, usando a imersão das palhas de trigo e arroz em água quente (65 – 80° C) por 10 minutos a 2 horas. O excesso de água é drenado, juntamente com grande parte dos açúcares solúveis e compostos fenólicos, liberados do substrato.

O uso de uma fermentação prévia também é uma técnica testada. Trata-se de um processo usado no cultivo de fungos do gênero *Agaricus*, sendo uma modificação do processo de compostagem. Neste caso, o substrato úmido é deixado fermentar em condições controladas com a inoculação das bactérias *Streptomyces thermovulgaris* e *Pseudomonas* spp. De acordo com ZADRAZIL (1978), este processo não é recomendado para *Pleurotus*, uma vez que os microrganismos envolvidos causam uma perda de matéria orgânica de cerca de 8 a 15 %, assim como um aumento na proporção de lignina. Outro exemplo é o caso da fermentação da polpa de café, logo após a extração dos grãos, através da flora microbiana nativa. Este método é usado para o cultivo de *Pleurotus* no México, onde a fermentação livre é conduzida durante 5 a 10 dias, acelerando o crescimento do micélio, reduzindo o teor de cafeína e aumentando a produção de corpos frutíferos (MARTINEZ, 1985).

O uso de fungicidas foi também testado por diversos autores. Sucesso foi obtido no controle de *Sclerotium rolfsii* usando brometo de metila, carboxin e água quente, formaldeído e amônia líquida. O controle de *Penicillium digitatum* pelo uso de benomyl foi eficiente em palha, incrementando o desenvolvimento de espesso micélio de *Pleurotus* (RAJARATHNAM *et al.*, 1992). NALLATHAMBI & MARIMUTHU (1996) estudaram a produção de celulasas, a velocidade de colonização do substrato e a produção de corpos frutíferos, em função dos tratamentos químicos com cardendazil e formaldeído, com os pre-tratamentos por vapor e com água quente. Os tratamentos químicos proporcionaram melhor desempenho em todos os parâmetros.

### 3.4.3. Inoculação

A inoculação ou semeadura é feita no substrato após o tratamento térmico e o devido resfriamento a 20 - 25° C. No caso da adoção de inóculo preparado em palha as proporções recomendadas por RAJARATHNAM & BANO (1988) são em torno de 10% de peso úmido. BANO *et al.* (1978), usando "spawn" preparado em palha de arroz suplementada com 1% de pó de feijão cavalo, recomendam frações de 10 a 15% do peso úmido do substrato.

Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), a fração de inóculo, em grão, deve ficar entre 0,5 e 5,0 %, podendo chegar a 10% do peso úmido do substrato. Em frações mais elevadas ocorre aumento excessivo nos teores de dióxido de carbono, com a conseqüente redução do teor de oxigênio, provocando a paralização do crescimento e, em casos mais extremos, a morte do micélio. Os grãos colonizados (“spawn”) são aplicados manualmente ou mecanicamente.

#### 3.4.4. Métodos de cultivo

O primeiro cultivo comercial de *Pleurotus* foi realizado no início do século em toras de madeira, por FALCK em 1917, conforme citado anteriormente. Posteriormente, diversos sistemas de produção foram introduzidos, inclusive em escala industrial, por HELTAY em 1971, ZADRAZIL & SCHNEIDERREIT em 1972, KALBERER & VOGEL em 1974 e por KURTZMAN em 1979, citados por ZADRAZIL & KURTZMAN (1984), URBEN (1998).

Os autores citam diversos tipos de acondicionamento para cultivo de *Pleurotus spp.* No processo em túnel o substrato é colonizado em massa, dentro de túneis, com ar ventilado e condições ambientais de temperatura, umidade e composição de ar controladas. Após a fase de colonização pelo micélio, o substrato é transferido para os sacos plásticos onde se processa a fase de frutificação. URIARTT (1998) descreve a técnica de cultivo em sacos plásticos, denominada “Jun Cao”, a qual surgiu na China, em 1983, adaptando o uso de palhas de capim como substrato, em alternativa ao tradicional cultivo em toras. Segundo RAJARATHNAM & BANO (1988), o uso de sacos de polietileno transparentes (70 x 100 cm ; 30 kg) é a forma de acondicionamento mais recomendada para o cultivo de *Pleurotus*. Para esta afirmação, os autores apresentam três justificativas: não é necessário o umedecimento durante a semeadura; as áreas de substrato expostas pelos cortes no plástico, após o crescimento micelial, oferecem uma superfície ideal para a frutificação; o número restrito de orifícios no saco permite um crescimento máximo dos corpos de frutificação, ao contrário das grandes superfícies, onde se forma grande número de primórdios que não chegam a evoluir, competindo por nutrientes e espaço com os corpos frutíferos a serem formados.

O método de cultivo em “containers”, idealizado por ZADRAZIL (1974), pode ser realizado com o substrato na horizontal, como no caso do cultivo de *Agaricus*, apesar de não manter satisfatoriamente a ventilação, luminosidade, temperatura e composição do ar adequados, prejudicando a produção e a qualidade dos corpos frutíferos. No caso de “containers” verticais, essa dificuldade é minimizada, porém o estipe se torna mais lateral. O substrato, que pode vir diretamente do túnel já colonizado, ou ser inoculado diretamente no “container”, é acondicionado em cilindros plásticos ou em formas removíveis de 2m de altura por 70 cm de diâmetro. A estrutura é sustentada por um cilindro central, fixado em base de metal. O filme plástico é mantido durante a fase de colonização e retirado para a formação dos corpos frutíferos. BANO *et al.* (1978) adaptaram o método de cultivo em cilindros para estruturas de cultivo, ou seja, sem o “container”, utilizando cilindros de amianto perfurados, com quatro linhas de orifícios, de um centímetro, espaçados de 10 cm.

ZADRAZIL & KURTZMAN idealizaram também, em 1984, o método de cultivo em bandejas verticais, teladas nas laterais, as quais favorecem a circulação de ar e a entrada de luz.

Recipientes de barro são utilizados nos países orientais comercialmente e nos Estados Unidos, em cultivos domésticos, por “hobby”, sendo comercializados por firmas especializadas. Os potes, com substrato inoculado, são fechados com filme plástico para o crescimento micelial, o qual é retirado para a frutificação (ABATE, 1996).

### 3.4.5. Condições de cultivo

#### 3.4.5.1. Fatores físicos

##### a) Temperatura

A temperatura é um fator vital na regulação do crescimento e na produtividade da maioria das espécies de cogumelos. Aliás, a própria distribuição geográfica das espécies se dá em função deste parâmetro. As espécies de cogumelos cultivados são classificadas em relação às temperaturas ideais para frutificação em: temperadas (até 20 ° C, ex: *Agaricus* spp.); subtropical (20 – 30 ° C, ex: *Pleurotus* spp.) e tropical (acima de 30 ° C, Ex: *Volvariella* spp.). Os basidiomicetos são, em sua maioria, organismos mesófilos, que apresentam temperatura ótima de crescimento entre 20 e 30 ° C. Em geral, a amplitude térmica requerida para o crescimento micelial é bem maior do que a necessária para a frutificação. O limite térmico letal foi determinado por ZADRAZIL (1978) como sendo igual a uma exposição a 40°C, por mais de 48 horas. MAZIERO (1990) também adverte contra temperaturas fora da faixa de 10 a 40° C, de forma a evitar a morte do micélio.

A velocidade de crescimento micelial das espécies de *Pleurotus* está diretamente relacionada à temperatura. Temperaturas inferiores a 15° C promovem crescimento micelial linear; entre 15 e 20 °C, a taxa de crescimento aumenta, voltando a decair entre 20 e 30°C. KURTZMAN e ZADRAZIL (1978). Em condições comerciais de cultivo, a temperatura ideal para o crescimento micelial pode ser ligeiramente ultrapassada.

Os autores comentam também a necessidade de choque térmico para a indução da formação de primórdios em *P. ostreatus*, não sendo a mesma necessária nas outras espécies de *Pleurotus*. PATRABANSH & MADAN (1995) relatam o cultivo de *P. sajour-caju* em temperatura de 4,5 ° C, sob condições de umidade relativa do ar de 50%, salientando a grande amplitude térmica em que esta espécie pode ser cultivada. Diversos autores têm procurado definir a amplitude térmica e a temperatura ideal para o crescimento e a produtividade de diversas espécies de *Pleurotus*, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8. Temperaturas (° C) utilizadas por diferentes autores para o crescimento micelial e a frutificação de algumas espécies de *Pleurotus*.

Espécie	Crescimento micelial (° C)	Frutificação (° C)	Referência bibliográfica
<i>P. ostreatus</i>	20 – 25	21 – 26	SOHI & UPADHYAY(1989) citados por STURION (1994)
	30	26 - 27	ZADRAZIL (1978)
	20 –30	25	MAZIERO (1990)
	-	18 - 20	ZERVAKIS & BALIS (1992)
	30	-	FURLAN <i>et al.</i> (1997)
<i>P. sajor-caju</i>	-	25 – 30	WOOD & SMITH (1987) citados por STURION (1994)
	30	21 -26	SOHI&UPADHYAY (1989) citados por STURION (1994)
	25 – 32	25 - 30	MAZIERO (1990)
	-	10 - 25	PATRABANSH & MADAN (1995)
	-	22	ZERVAKIS & BALIS (1992)
<i>P. ostreatoroseus</i>	-	20 -30	GUPTA (1978) citados por STURION (1994)
	3,6 –31,2	3,6 – 31,2	BONONI (1991)

A combinação interdependente da temperatura com a umidade relativa do ar (URA) afeta o crescimento e a produtividade dos fungo do gênero *Pleurotus*. Por exemplo, em temperaturas elevadas entre 28 e 31°C, ocorre o crescimento micelial mas a frutificação normal é prejudicada devido à reduzida URA. Esta interrelação entre temperatura e umidade relativa é também responsável pela “desidratação fisiológica”, que ocorre em condições de temperaturas baixas (<16°C) por mais de 8 horas, independentemente da disponibilidade de água do substrato, originando corpos frutíferos finos e desidratados

devido à aparente incapacidade do micélio em utilizar a água do substrato (RAJARATHNAM & BANO, 1998).

### **b) Umidade relativa do ar (URA)**

Sendo cerca de 90% do peso dos cogumelos composto por água e não dispondo os fungos de um sistema de proteção contra a perda hídrica, torna-se evidente a suma importância da manutenção da taxa de umidade relativa do ar adequada, para evitar a desidratação do substrato e dos corpos frutíferos. O cultivo de *Pleurotus* em palha, em bandejas horizontais, não se mostrou promissor devido aos bolsões de ar formados, levando à intensa desidratação dos corpos frutíferos (RAJARATHNAM & BANO, 1998).

Inúmeras amplitudes de umidade relativa do ar têm sido propostas para as diversas espécies e linhagens:

*Pleurotus* spp.: 80 – 95 % (ZADRAZIL & GRABBE, 1992)

85% (BONONI & TRUFEN, 1986)

*P. sajor-caju* : acima de 80 – 85% (JANDAIAK & KAPOOR, 1976)

*P. flabellatus* : 70 – 80% (BANO *et al.*, 1979).

KURTZMAN & ZADRAZIL (1987) consideram que um mínimo de 80 a 90% parece ser um teor ideal para suportar bem uma frutificação intensa na maioria dos casos e como limites mínimo e máximo de umidade relativa do ar, sugere os teores de 65% e 95%, respectivamente.

### **c) Luminosidade**

Desde que os primeiros métodos de cultivo foram desenvolvidos, o cultivo de cogumelos tem sido feito em cavernas e túneis, prezando as condições de luz difusa e sombra. Apesar da luz não ser necessária para a germinação de esporos e crescimento micelial, sua presença durante a fase de frutificação é essencial para a formação de corpos frutíferos normais (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984). Fungos do gênero *Pleurotus* apresentam fototropismo positivo para a formação de primórdios, sendo a luz um fator de

indução que depende de um mínimo de 15 minutos de fotoperíodo. Fotoperíodo reduzido causa um alongamento e redução do diâmetro do estipe, acompanhado da redução do tamanho do píleo. Com a exposição à luz solar intensa, existe a tendência dos corpos frutíferos escurecerem, depreciando seu valor comercial, provavelmente devido à liberação de fenoxidases que oxidam fenóis formando melanoidinas (RAJARATHNAM & BANO, 1998). STAMETS & CHILTON (1983) determinaram a iluminação ideal como sendo aquela que oferece pelo menos 140 microwatts, por 10 nanômetros, por lúmen de espectro azul (440 – 495 nm). Esta qualidade de luz, durante 12 horas/dia, fornece a quantidade de luz azul necessária para promover a formação dos primórdios de *Pleurotus* e outras espécies fotosensíveis. TRUKHONOVETS (1991) correlacionou os índices biométricos dos corpos frutíferos de *Pleurotus ostreatus* com a intensidade luminosa, verificando que com menos de 80 lux os estipes se apresentavam curtos e o diâmetro do píleo reduzido e que valores entre 100 e 140 lux forneceriam a intensidade luminosa promotora de melhor taxa de relação píleo/estipe (1,8 – 2,0).

De acordo com KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), existe bastante controvérsia com relação aos valores quantitativos necessários para promover uma frutificação normal, os quais chegam a variar de 40 até 1000 lux. Os autores sugerem que, na prática de cultivo, 12 horas/dia de luz solar ou luz fluorescente (ricas em luz azul) sejam usadas. No segundo caso, a disposição dos tubos deverá garantir a leitura de papel impresso comum na superfície mais pobremente iluminada.

#### **d) Composição do ar**

As duas fases de cultivo são afetadas de forma diferente por este fator, sendo que o crescimento micelial se dá em condições de semi-anaerobiose e a fase de formação de corpos frutíferos é necessariamente, aeróbia (ZADRAZIL & SCHLIEMANN, 1977).

O crescimento micelial de *Pleurotus* spp. é inibido por concentrações de CO<sub>2</sub> superiores a 36% e estimulado por concentrações de 16 a 22%, taxa mais elevada entre os cogumelos, contribuindo como vantagem seletiva da espécie (ZADRAZIL, 1975). Ao contrário, a taxa de oxigênio requerida para a morfogênese e frutificação é a menor entre os cogumelos, apesar de só ocorrerem com disponibilidade pronunciada de oxigênio.



ZADRAZIL & PUNIYA (1995), correlacionaram as taxas de degradação de lignina e o aumento da digestibilidade da palha de trigo com a concentração de oxigênio e dióxido de carbono. Concentrações de 0-30% de dióxido de carbono, associadas a níveis de 20% de oxigênio promoveram maior eficiência ao processo de degradação.

A ausência de uma composição do ar adequada, foi um dos motivos pelos quais, o cultivo em bandejas verticais não obteve sucesso. Sob condições de aeração insuficiente e elevados teores de CO<sub>2</sub>, a frutificação não é normal, as deformações são similares às que ocorrem sob insuficiência de luz, ou seja, formação de estipes longos e finos, com redução do píleo. Concentrações de oxigênio inferiores a 20% afetam negativamente a perda de matéria orgânica, a degradação de lignina e o aumento de digestibilidade do substrato (RAJARATHNAM & BANO, 1998). MAZIERO (1990) alerta para taxas de 1 a 2 % de CO<sub>2</sub> como causa de formação de massas miceliais ramificadas que não se transformam em corpos frutíferos. Em função disso, ZADRAZIL & KURTZMAN (1984) idealizaram o sistema de cultivo de *Pleurotus* em bandejas verticais, cobertas lateralmente por tela em ambos os lados, promovendo a aeração adequada e facilitando o manejo e a colheita.

A espessura do polietileno usado nos sacos de cultivo afeta as trocas gasosas. RAJARATHNAM & BANO (1987) recomendam sacos com 50 µm de espessura, propiciando uma aeração de 1,31%. Espessuras maiores reduzem a aeração, ocasionando fermentação anaeróbia, redução de crescimento micelial, atração de insetos e contaminação. Taxas de aeração maiores causam a desidratação do substrato e redução na produção. Para casas de cultivo, os autores recomendam a alocação de janelas em posições opostas para permitir ventilação adequada ao crescimento dos corpos frutíferos.

#### **e) Potencial hidrogeniônico**

A composição original do substrato e a atividade metabólica do organismo são fatores determinantes para a definição do pH ideal de cultivo. Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), o pH inicial ideal para as espécies do gênero *Pleurotus*, estaria entre 5,0 e 6,0, similar ao da madeira, seu substrato natural. FURLAN *et al.* (1997) determinaram esse intervalo como sendo de 5,0 a 6,4 para *Pleurotus ostreatus*. O metabolismo de *Pleurotus* spp. possui uma característica auto-reguladora do pH do substrato, ou seja, a

tendência é de que o pH final se estabilize no valor do pH ótimo, independentemente do valor do pH inicial (SRIVASTAVA & BANO, 1970 e ZADRAZIL, 1978). Segundo os autores, este valor ideal de pH varia de acordo com o substrato e o microrganismo. As espécies de *Pleurotus* chegam a alcançar pH final de 4,0, devido à secreção de ácido oxálico. O decréscimo do pH confere precocidade à emissão dos primórdios, além de concorrer para manter condições seletivas para *Pleurotus*, com vantagens sobre os contaminantes. RAJARATHNAM E & BANO (1987) relatam o aumento do pH (~9,0) em palha de arroz submersa em água por 20 horas, resultando no incremento da população bacteriana, seguida do crescimento de fungos invasores.

O uso de soluções tampão em fermentações sólidas é complicado, uma vez que os tampões orgânicos são metabolizados e os inorgânicos são frequentemente tóxicos ou também metabolizáveis. Por outro lado, seu poder tamponante é de mais ou menos uma unidade de pH, contribuindo para limitar seu uso. Os íons carbonato e bicarbonato são os tampões mais utilizados, por terem a capacidade de liberar CO<sub>2</sub> e ácido, à medida em que o pH cai. O carbonato de cálcio tem a vantagem adicional de ser razoavelmente insolúvel e, portanto, ser solubilizado à medida em que o pH decresce (RAJARATHNAM E & BANO, 1987).

#### **f) Teor de umidade e tamanho das partículas do substrato**

O teor de umidade e o tamanho das partículas do substrato, são dois fatores correlacionados, que afetam o crescimento micelial e, logo, a produtividade.

De acordo com ZADRAZIL & KURTZMAN (1984), antes de ser inoculado, qualquer substrato deve ser picado, reduzindo o tamanho das partículas a cerca de 2 a 6 cm. Partículas menores podem causar a compactação do substrato, causando problemas de aeração e temperatura. Partículas maiores irão atrasar a colonização do substrato.

Palha de arroz triturada (partículas de 2 – 3 cm) com 75% de umidade mostrou-se ideal para a o cultivo de *Pleurotus sajor-caju*. Teores de umidade acima de 80% no substrato permitiram o crescimento bacteriano, acompanhado de contaminação fúngica por *Coprinus* e *Pluteus* (RAJARATHNAM & BANO, 1987).

ZADRAZIL & PUNIYA (1996) determinaram o tamanho ideal das partículas, que proporciona maior incremento de digestibilidade e redução de lignina, com a finalidade de uso do composto residual para alimentação animal, como sendo de 0,3 a 10 mm.

A água é essencial para a colonização do substrato, assim como para aumentar e agilizar a degradação da lignina. ZADRAZIL & KUTZMAN (1982) recomendam um teor inicial de umidade do substrato entre 65 e 75 %.

### 3.4.5.2. Fatores químicos

#### a) Carbono

Este elemento é o componente majoritário dos substratos e a forma em que se apresenta irá influenciar no crescimento do fungo. Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), os resíduos vegetais apresentam a maior quantidade de carbono nos polissacarídeos e na lignina da parede celular e essa quantidade varia em função do tipo de substrato. À medida em que o carbono é retirado dos compostos, vai sendo metabolizado pelo fungo que o libera posteriormente na forma de CO<sub>2</sub>, em proporções equivalentes a 50 % do peso do substrato. Os autores, também afirmam que imediatamente após a inoculação, inicia-se o crescimento de *Pleurotus*, utilizando inicialmente os açúcares disponíveis no substrato, que correspondem a 1 a 2 % do peso seco. Estes açúcares são liberados em maior quantidade em função do tratamento térmico do substrato. Em seguida, seu complexo enzimático entra em ação e tem início a degradação dos polissacarídeos (ZADRAZIL, 1974).

#### b) Nitrogênio

A madeira, substrato natural de crescimento de *Pleurotus*, não apresenta elevados teores de nitrogênio, o que leva a presumir que suas exigências com relação a esse nutriente não sejam muito elevadas. No entanto, o nitrogênio é um fator de crescimento muito importante para todos os organismos, estando envolvido na formação de ácidos nucleicos e proteínas, além de ser, nos fungos, essencial para a formação de quitina nas membranas celulares (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984). Diversos trabalhos têm sido realizados para

determinar a influência do nitrogênio no crescimento micelial e na frutificação de *Pleurotus*. Segundo DANAI *et al.* (1989) citado por STURION (1994), o teor de 1,0 a 1,5 % de nitrogênio seria um teor ótimo para o crescimento do fungo. A adição de nitrogênio pode ser prejudicial durante o desenvolvimento do micélio porque eleva o pH, favorecendo competidores e reduzindo, conseqüentemente, a produtividade.

A relação C : N na fase de crescimento micelial de *Pleurotus* deve ser alta, enquanto que durante a fase de frutificação pode ser bem menor. Segundo MAZIERO (1990), o excesso de nitrogênio inibe a degradação da lignina, retardando ou até cessando o crescimento micelial. Ao avaliar o potencial de diversos resíduos agrícolas para o cultivo de *Pleurotus*, a autora estabeleceu a correlação entre a reduzida produtividade de alguns substratos, com relações C : N menores ou iguais a 29:1. ZADRAZIL (1974) recomenda uma relação C : N inicial maior ou igual a 50 : 1.

### **c) Suplementação do substrato**

A suplementação do substrato com nutrientes tem demonstrado ser capaz de incrementar a produtividade, desde que realizada no tempo adequado e na concentração e natureza favorável do suplemento. Em geral, a suplementação nitrogenada realizada antes da inoculação resulta na contaminação do substrato, quando não esterilizado. Suplementações à base de nitrogênio após a inoculação, além de aumentar a produção de corpos frutíferos, também melhora suas características de sabor, textura e conteúdo protéico (RAJARATHNAM *et al.*, 1986).

Fontes orgânicas de nitrogênio como tortas de algodão, soja e levedura apresentam aumentos de produtividade, enquanto que fontes inorgânicas, como a uréia, inibem o crescimento micelial, provavelmente devido à amonificação (ZADRAZIL, 1980). ZADRAZIL & KURTZMAN (1984), estudando a suplementação de substratos com proteína de soja e alfafa, observaram um aumento proporcional de produtividade e de decomposição do substrato em função das quantidades adicionadas. Puderam comprovar também um aumento dos teores de nitrogênio nos corpos frutíferos. Pesquisando a suplementação da palha de trigo, ZADRAZIL (1980) constatou aumentos de produtividade

de até 50 % com a adição de nitrato de amônia e de até 300 % com a adição de alfafa e farinha de soja.

Inúmeros compostos têm sido utilizados com o intuito de incrementar o desenvolvimento micelial e de aumentar a produtividade. BANO (1978) e HOUDEAU (1991) demonstraram que a suplementação do substrato com pó de semente de algodão, após o período de incubação, aumenta a produtividade e o teor de nitrogênio nos corpos frutíferos, além de melhorar as características organolépticas dos mesmos. A adição de fontes orgânicas de nitrogênio, como soja e alfafa, têm mostrado aumento no crescimento micelial, porém sem incremento na produtividade (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1984). Estes autores também comprovaram que a suplementação do substrato com carvão; licor sulfítico, glicose e outros açúcares, apresenta efeito negativo na produtividade. O uso de cloreto de manganês não acelerou a degradação da lignina, mas a suplementação de serragem com farelo de trigo provou ser eficiente no crescimento micelial (GARZILLO *et al.*, (1992) e VIRMOND *et al.*, (1996).

Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), não há necessidade da adição de vitaminas em substratos não esterilizados, pois os demais microrganismos presentes as sintetizam normalmente. Quanto aos aminoácidos, a presença de asparagina, serina, ácido aspártico e alanina, proporcionam melhores resultados do que os demais. Os autores apresentaram estudos revelando um aumento no crescimento de *Pleurotus*, em função da adição de sulfato de magnésio e fosfato de potássio dehidrogenado.

### 3.4.5.3. Fatores biológicos

Tendo em vista que o cultivo de *Pleurotus* é relativamente recente e sua indústria ainda não adquiriu grandes proporções, deve-se considerar que muito pouco se sabe sobre suas interações com outros microrganismos e animais. Este conhecimento é essencial para melhor entender e aprimorar as técnicas de cultivo. A eliminação microbiana total do substrato pode parecer interessante, mas a sua presença pode representar a fixação de nitrogênio por diversas bactérias e a presença de diversos microrganismos antagonistas dos competidores, contaminantes e pragas que podendo ser aliados no seu controle (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984).

Segundo RAJARATHNAM & BANO (1988), são exemplos disso, bactérias (*Bacillus thuringiensis*) e fungos (*Beauveria bassiana*) que parasitam diversos insetos. Alguns fungos (*Arthrobotrys robusta*) predadores de nematóides parasitas de cogumelos (*Ditylenchus myceliophagus*) CAMPOS (1994) e nematóides da família Tetradonematidae, que parasitam Dipteros (Sciaridae) que se alimentam de cogumelos (AGUILLERA, 1994).

#### 3.4.6. Parâmetros de produção

CHANG *et al.* (1981) cultivou *P. sajor-caju* em palha de arroz, resíduos de algodão, palha de arroz e resíduos de algodão misturados, na proporção (1:1) e por último, resíduos de algodão com folhas de chá (1:1), obtendo as respectivas eficiências biológicas 177,4, 79,2, 104,9 e 73,22 (taxa de conversão peso seco do substrato em peso fresco de corpos frutíferos).

BISARIA *et al.* (1986) avaliaram o desempenho de *P. sajor-caju* em palha de arroz, de trigo, de sorgo, de milho, folhas de bananeira, de mangueira e de neem, sementes de algodão e frutos de ficus. Os melhores resultados foram obtidos com a palha de arroz suplementada com sementes de algodão (1,45 Kg de corpos frutíferos secos/Kg de substrato seco), seguido da folha de bananeira (1,25 Kg/Kg) e de palha de arroz (1,24 Kg/Kg). MADAN *et al.* (1987) cultivaram *P. sajor-caju*, comparando as taxas de conversão de palha de arroz pura (1,08 Kg/Kg) e misturada com folhas e caules de amoreira (1,01 Kg/Kg) e de mamona (0,89 Kg/Kg).

PATRABANSH & MADAN (1995) também testaram *P. sajor-caju* em diversos substratos, obtendo melhores resultados com *Saccharum munja* (sarkanda) [1,37 Kg/Kg] e *Oriza sativum* (arroz) (1,19 Kg/Kg), seguidos por palhas de milho (0,89 Kg/Kg) e ervilha (0,88 kg/kg). A palha de arroz misturada com lixo orgânico foi testada por JWANNY (1994) para crescimento de *Pleurotus ostreatus*, com resultados de 1,19 Kg/Kg, na proporção de 1:1 e 1,11Kg/Kg na proporção de 3:1. Mais recentemente, PATRABANSH & MADAN (1997), cultivaram *P. sajor-caju* em palha de arroz, resíduos de sericicultura, *Populus deltoides* e em *Eupatorium adenophorum*, os três últimos substratos foram misturados com palha de arroz nas proporções de 1:1 e 1:2. Os melhores índices de conversão foram de 1,22 Kg/Kg na palha de arroz, seguido por 1,02 Kg/Kg em *Populus*

*deltoides* e *Eupatorium adenophorum*, ambos na proporção de 1:2 com a palha de arroz. Foram testados ainda por THOMAS *et al.* (1998) diversos resíduos da plantação de côco para crescimento de *P. sajor-caju*, sendo que a melhor taxa de conversão obtida foi de 0,59Kg/Kg em palha das folhas. YILDIZ *et al.* (1997) cultivaram *Pleurotus ostreatus* var *salignus* em palhas de sorgo, amendoim, soja e trigo, conseguindo respectivamente 0,34, 0,74, 0,65, e 0,52 Kg/Kg de eficiência biológica.

Em trabalhos realizados por grupos de pesquisadores brasileiros, MAZIERO (1990) determinou a produtividade de diferentes linhagens, observando valores muito baixos para as linhagens de *P. sajor-caju* e de *P. ostreatus*. Para as duas linhagens de *P. ostreatus*, foram obtidos rendimentos de 1,92 e 27,01 % e eficiência biológica de 1,57 e 3,23%. Já para a linhagem de *P. sajor-caju* testada, os valores de rendimento e eficiência biológica foram de 40,69 e 6,11 %, respectivamente. Já STURION (1994), ao cultivar *P. sajor-caju* em palha de bananeira, obteve rendimento de 83,89 %.

#### 3.4.7. Colheita e pós-colheita

A colheita dos corpos frutíferos se dá cerca de 3 a 4 dias após a emissão dos primórdios. O ponto certo de colheita é de difícil reconhecimento e coincide com o momento que antecede a maturidade fisiológica, na qual ocorre na esporulação, quando as margens do píleo se apresentam planas (STURION, 1994). A emissão de esporos não é interessante, por serem ativadores de reações alérgicas, representarem redução na produtividade pela perda do peso, depreciação da qualidade dos corpos frutíferos pela alteração da textura, aumento da fragilidade e redução da vida útil, prejudicando a comercialização. Apesar de ainda não haver registro de doenças viróticas no gênero *Pleurotus*, é de se supor que elas existam, à semelhança de outros cogumelos e que os esporos possam ser veículos de disseminação, com potencial para comprometer todo o cultivo (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984). Portanto, de forma prática, o ponto de colheita deve ser quando o píleo ainda apresenta encurvamento de suas margens para baixo e as lamelas já estão bem formadas.

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são mais delicados e sensíveis do que os do gênero *Agaricus* e, por isso, deterioram-se mais rapidamente. Uma vez deteriorados, podem

causar severas intoxicações gastro-intestinais. Formas de aumentar sua vida útil e melhorar sua conservação para comercialização são vitais para estimular seu cultivo comercial, assim como o hábito de consumi-lo (STAMETS, 1996).

A vida útil "in natura" dos cogumelos desse gênero é de aproximadamente 5 dias, após os quais algumas das características desejáveis para a comercialização como textura e cor são drasticamente prejudicadas (STAMETS, 1996).

O método de conservação tradicionalmente utilizado para os cogumelos do gênero *Pleurotus* é a desidratação a 45-65°C, com circulação de ar, podendo ser reidratados quando imergidos em água por 1 a 2 horas. No entanto, os cogumelos reidratados perdem um pouco da textura original. SUGUNA (1995) determinou os parâmetros ideais para a desidratação com circulação de ar como sendo: temperatura de 50°C, com taxa de circulação de ar de 35 m<sup>3</sup>/min e, em desidratador solar, por 7 horas, com temperatura ambiente entre 29 e 32° C. Em ambos os casos permitindo o armazenamento à temperatura ambiente por 5 meses, mantendo as características desejáveis de cor, valor nutritivo e reidratação. Os cogumelos desidratados podem ser comercializados na sua forma natural ou na forma de pó para sopas, misturados a especiarias etc. Alguns produtores esterilizam os cogumelos desidratados, de forma a aumentar o período de armazenamento, assegurando a eliminação de bactérias e ovos de insetos. Após a desidratação, os cogumelos devem ser embalados hermeticamente e, de preferência, congelados até serem usados. Geralmente sua vida útil é de cerca de um ano ( KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984).



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Microrganismos e manutenção

As linhagens de *Pleurotus* usadas neste trabalho foram cedidas pela Dra Marina Capelari do Centro de Cultivo de Basidiomicetos da Universidade de São Paulo (CCB/USP). Os números que acompanham as linhagens abaixo representam seus respectivos registros na coleção do CCB/USP.

<b>Espécie</b>	<b>Linhagem</b>
<i>Pleurotus ostreatus</i>	CCB 001
<i>Pleurotus ostreatoroseus</i>	CCB 016
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	CCB 019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	CCB 230
<i>Pleurotus ostreatus</i>	CCB 615

As linhagens foram repicadas, sob câmara de fluxo laminar contínuo (VECO), para tubos de ensaio contendo meio TDA, 1 litro de extrato de trigo, 20 g de dextrose e 15 g de ágar), conforme definido por VIRMOND *et al.* (1996). O extrato de trigo foi preparado por infusão de 500 g de grãos de trigo, previamente lavados, em 1 litro de água deionizada. Após 10 min de fervura, a mistura foi filtrada em gaze e adicionados a dextrose e ágar. O meio TDA foi esterilizado em autoclave (QUIMIS, Q-190-22) a 121°C, durante uma hora. Após resfriamento do meio e transferência para a superfície do ágar inclinado, os tubos foram mantidos em estufa microbiológica (WTB, Binder) à temperatura de 30°C. Quando o micélio colonizou toda a superfície do meio, foram adicionados 2 ml de óleo mineral, previamente autoclavado a 121°C, durante uma hora, com o objetivo de cessar o desenvolvimento micelial em função da ausência de disponibilidade de oxigênio. O armazenamento foi feito em geladeira a 4°C.

## 4.2. Produção da matriz e do inoculante ou “spawn”

### Produção da matriz

Da cultura pura, em tubos de ensaio, o fungo foi transferido para placas de Petri, contendo meio TDA, preparado conforme descrito no item anterior. Uma vez colonizada toda a superfície do ágar pelo micélio foram retirados discos de ágar de 8 mm de diâmetro que serviram para colonizar outras placas de Petri e o substrato para produção de “spawn”. O crescimento micelial foi realizado em estufa microbiológica (WTB, Binder), a 30°C, na ausência de luz.

### Produção do inoculante (“spawn”)

O substrato utilizado para o crescimento micelial constituiu-se de grãos de trigo. Aos grãos lavados, adicionou-se água deionizada, na proporção 1:2, grãos/ água, (p/v). Os grãos foram, em seguida, fervidos durante 10 minutos, sendo o extrato drenado. Após secagem, em temperatura ambiente, durante 24 horas em bandejas cobertas, foram, então, adicionados 3,5 g de CaCO<sub>3</sub> e 13 g de CaSO<sub>4</sub> por Kg de grão seco (metodologia desenvolvida no CDB - Centro de Desenvolvimento Biotecnológico, não publicada). Esta metodologia foi utilizada em todos os experimentos de frutificação, à exceção dos experimentos de pré-tratamento do substrato.

Para os experimentos de pré-tratamento do substrato, foi utilizada a metodologia proposta por MADAN *et al.* (1987), por representar a possibilidade de testar uma alternativa de preparo de inóculo e por não implicar em comparações com os experimentos anteriores, além do fato de representar uma metodologia já publicada. Neste caso, para o preparo do substrato foi adicionada água aos grãos de trigo, 1:2 (grão de trigo : água). Os mesmos ficaram em imersão por 12 horas, sendo, em seguida, fervidos por 5 min. Após a drenagem da água e resfriamento do grãos, foram adicionados 2% (p/p) de CaCO<sub>3</sub> e 4% (p/p) de CaSO<sub>4</sub> por Kg de grão seco. A diferença entre a metodologia usada e aquela proposta por MADAN *et al.* (1987) consistiu na substituição dos recipientes de vidro por sacos plásticos para o acondicionamento e crescimento do micélio.

Após a hidratação e suplementação, os grãos foram, então, embalados em sacos de polietileno de (200 x 300mm) em quantidades de 500g em cada saco e esterilizados em autoclave (QUIMIS, Q-190-22) a 121°C e 1 atm, durante 1 h. Em seguida, cada saco foi

inoculado com 5 discos de ágar de 8mm de diâmetro colonizados pelo micélio, conforme metodologia de MADAN *et al.* (1987) modificada. Para ambas as metodologias utilizadas, o teor de umidade apresentado nos grãos ficou entre 45 e 55% (p/p). O crescimento micelial foi realizado em estufa microbiológica (WTB, Binder) a 30°C, conforme descrito por MAZIERO (1990) na ausência de luz, durante 15 dias.

#### 4.3. Preparo dos substratos lignocelulósicos

Os resíduos agrícolas utilizados como matéria-prima na produção dos substratos foram escolhidos em função da disponibilidade regional e consistiram de folhas de bananeira, em estágio de senescência, secas e assim denominadas palha de bananeira (B). O material foi cedido pelo Colégio Agrícola Senador Carlos Gomes de Oliveira / UFSC, localizado em Araquari-SC e por produtores da região de Pirabeiraba, município de Joinville-SC. Foram ainda utilizados resíduos do cultivo do arroz irrigado, deixados no campo pela colheitadeira, consistindo em folhas e caules e denominados palha de arroz (A). O material foi cedido por produtores da região da Vila Nova, município de Joinville-SC.

Os substratos secos foram triturados em partículas de 2 a 5 cm, em triturador (Trapp), embalados em sacos de ráfia e hidratados por imersão em água, em tambores de plástico com tampa e capacidade de 150 L, por 12 horas, de acordo com MADAN *et al.* (1987). Os sacos foram mantidos imersos, através da pressão feita por blocos de concreto de 2Kg. Após a drenagem dos sacos de ráfia, os substratos apresentaram teor de umidade médio de 75% (p/p). Em seguida, os substratos foram dispostos em bandejas e embalados em sacos de polietileno autoclaváveis, transparentes, de 40 x 30 cm, com espessura de 50 µ. O substrato contido em cada saco apresentou peso úmido médio em torno de 800 g.

Para o cálculo da quantidade total de palha necessária para cada experimento, estabeleceu-se em média 200 g de matéria seca de substrato para cada unidade experimental (saco de polietileno). Os sacos de polietileno foram fechados com respiro de espuma, fixados com fita crepe, de forma a permitir trocas gasosas moderadas e evitar contaminação externa. Em seguida, os sacos foram esterilizados em autoclave (QUIMIS, Q-190-22) a 121°C e 1 atm, por 1 h, resfriados à temperatura ambiente, sob radiação UV,

durante 30 minutos e inoculados. A determinação do potencial hidrogeniônico dos substratos sólidos foi realizada através da lixiviação dos seus sais usando água deionizada, determinando-se o pH da solução resultantes após a drenagem, através de 1 pHmetro de bancada Metler Toledo.

No experimento de avaliação da influência do pré-tratamento de substrato em palha de arroz, foram preparadas unidades experimentais pesando 100 g de substrato seco, devido à limitação quanto à quantidade disponível e à dificuldade de nova obtenção da matéria prima, naquela época.

#### **4.4. Inoculação**

As inoculações transcorreram em câmara de fluxo laminar contínuo (VECO), usando-se inoculante "spawn" preparado em substrato composto de grãos de trigo, conforme descrito no item 3.2. A percentagem de inóculo usada foi de 10% em relação ao peso seco do substrato, exceto nos experimentos que visavam o estudo desse parâmetro. A homogeneização do inóculo no substrato foi realizada através do revolvimento manual dos sacos.

#### **4.5. Condições de cultivo**

A metodologia de cultivo adotada nos experimentos foi a técnica "Jun Cao" de cultivo em sacos plásticos, descrita por URIARTT (1998) e ideal para o cultivo em palhas, proporcionando maior produtividade e precocidade. A metodologia completa de cultivo em sacos de polietileno é apresentada na Figura 4, sendo que nos experimentos realizados neste trabalho partiu-se de culturas puras em tubos de ensaio, as quais haviam sido previamente isoladas no CCB-USP.

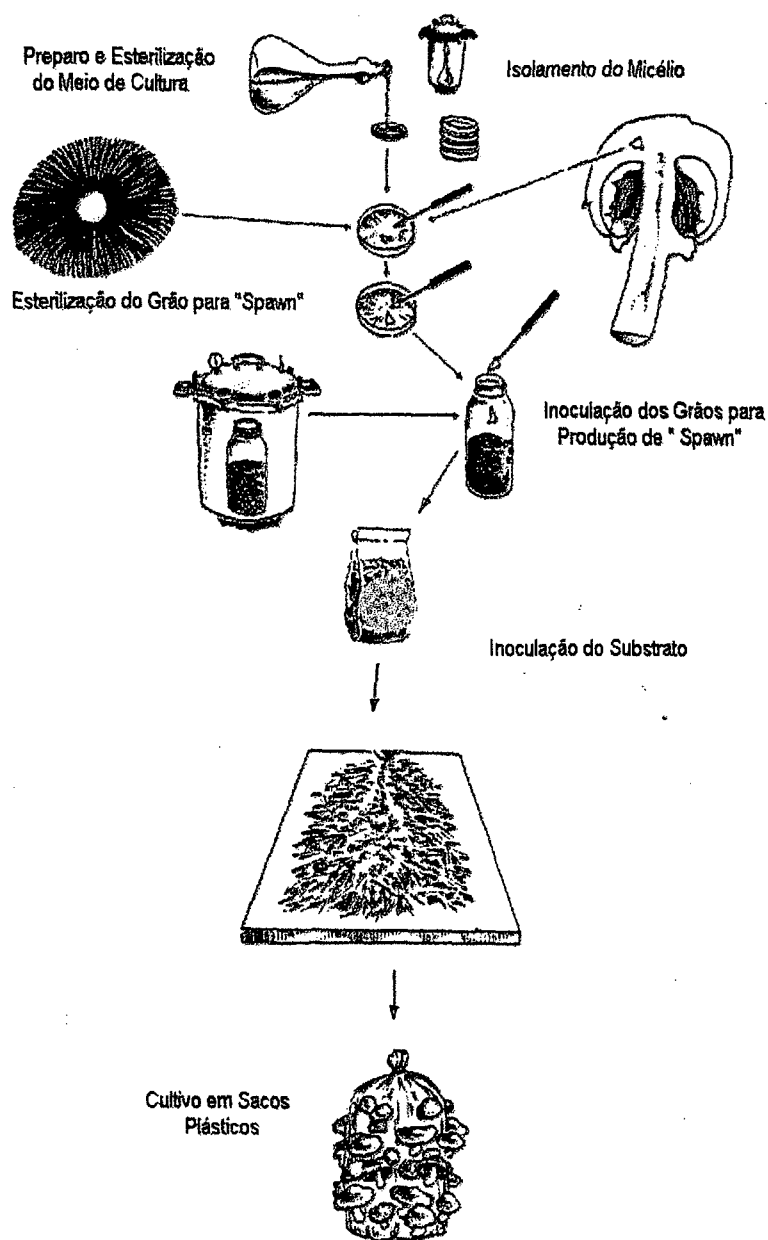


Figura 4. Esquema representativo da metodologia de cultivo em sacos de polietileno, técnica "Jun Cao".  
Ilustração adaptada de STAMETS (1996)

Os experimentos iniciais foram realizados no Centro de Desenvolvimento Biotecnológico - CDB (Joinville - SC), em uma câmara de incubação com 8 m<sup>2</sup>, com controle automático de temperatura através de um sistema de ar quente forçado, três prateleiras instaladas nas paredes laterais, a 50, 100 e 150 cm do solo. Uma outra câmara de 16 m<sup>2</sup> foi utilizada para a frutificação, também equipada com controlador automático de temperatura, através de aparelho de ar condicionado de 10.000 BTU, um sistema de irrigação composto por 4 microaspersores e 16 prateleiras instaladas nas paredes laterais e no centro, a 10, 60, 110 e 160 cm do solo. O sistema de iluminação era composto por 4 lâmpadas fluorescentes, de 20 watts cada. Foi mantida a temperatura de 30°C na câmara de incubação e de 25°C na câmara de frutificação, conforme recomendado por STURION (1994). Foram realizados nestas condições os experimentos de seleção de linhagens e de substratos para produção de inoculantes "spawn", substratos para frutificação, determinação da fração de inóculo e da suplementação. A manutenção de umidade relativa do ar, na câmara de frutificação, em torno de 80 - 95 %, conforme metodologia recomendado por (ZADRAZIL & GRABBE, 1992), foi obtida através dos microaspersores e complementada por duas pulverizações diárias, realizadas com pulverizador costal de 20 L, da marca Jacto.

Os experimentos finais foram realizados na Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE (Joinville - SC), em câmara de cultivo de 16 m<sup>2</sup>, dispondo de controle automático de iluminação e de temperatura (aparelho de ar condicionado de 7.500 BTU), um sistema de manutenção de umidade composto por dois umidificadores elétricos de 5 L e 12 prateleiras instaladas nas paredes laterais e no centro, a 20, 70 e 120 cm do solo. Seu sistema de iluminação dispunha de 6 lâmpadas fluorescentes, de 20 watts cada, 4 dispostas de forma vertical nas laterais das prateleiras e mais 2 lâmpadas no teto, fornecendo conjuntamente, uma intensidade luminosa média de 500 lux, portanto, no valor intermediário da faixa de 40 - 1000 lux, citada por KURTZMAN & ZADRAZIL (1982). Esta câmara foi utilizada concomitantemente para incubação e frutificação, cobrindo-se as prateleiras ocupadas pelos sacos em fase de incubação com uma lona plástica preta e utilizando temperatura média de 25 °C ( $\pm 2$  °C). Portanto, em função de não se dispor de uma câmara para a incubação independente, a mesma foi conduzida a 25°C, nos experimentos finais de avaliação dos pré-tratamentos de substrato,

Na Figura 5 pode-se observar a câmara de incubação, onde os sacos, contendo composto inoculado, foram dispostos nas prateleiras, a 30 °C, na ausência de luz, para crescimento micelial.



Figura 5. Incubação do composto miceliado, a 30 °C, na ausência de luz, para crescimento micelial

Após 20 dias de incubação, foi realizada a indução dos primórdios através da perfuração do plástico com 4 orifícios de 0,5 cm, de cada lado dos sacos, com a finalidade de reduzir o teor de dióxido de carbono. Paralelamente à exposição do composto miceliado à luz por um período de 12 horas por dia, a temperatura foi reduzida para 25°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) nos experimentos em que a incubação foi realizada a 30 °C. Nos experimentos de avaliação do pré-tratamento do substrato a temperatura de 25°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) foi mantida durante todo o processo de frutificação. A troca de ar no ambiente foi garantida pelo funcionamento do aparelho de ar condicionado durante 4 horas por dia. A umidade relativa do ar durante a frutificação foi mantida em um nível médio de 85%. Quando observada a desidratação dos substratos, os mesmos foram pulverizados com água deionizada. Assim que ocorreu a emissão de primórdios, os sacos foram completamente abertos para propiciar a frutificação. No intervalo entre fluxos, o substrato foi recoberto com o plástico de forma a evitar a desidratação e ocorrência de contaminações.

Antes da implantação de cada experimento e na finalização, a câmara foi desinfetada com "lysoform" diluído em água (1:1) e pulverizado em todas as superfícies. No decorrer do período de cultivo a sala foi higienizada com hipoclorito comercial (0,5 % de cloro ativo).

#### 4.6. Colheita

Foi estabelecido o limite de 100 dias de cultivo, procedendo-se a colheita dos cogumelos produzidos neste período, após cada fluxo. A determinação do ponto de colheita foi realizada de forma visual, conforme descrito por STURION (1994), quando houve a percepção de que as margens do píleo se apresentavam planas, o que significa que o cogumelo alcançou sua maturidade e se encontra na fase precedente à liberação de esporos. Após este estágio se inicia a fase de senescência. O procedimento de colheita seletiva não foi adotado, sendo todos os corpos frutíferos de cada fluxo colhidos, quando os de maior tamanho atingiam o estágio precedente à esporulação, independentemente do tamanho dos demais. Os corpos frutíferos foram colhidos com bisturi, colocados em bandejas, identificando-se cada unidade experimental e pesados em balança semi-analítica, marca Mettler, PM, 4.800 para determinação do peso úmido. Em seguida, foram desidratados a 45 °C durante 24 horas em estufa (Shellab, 1370 FX) com circulação de ar forçada, sendo o seu peso seco determinado. Frutificação de *Pleurotus* colhidos por unidade experimental e sua desidratação em estufa com circulação de ar são mostrados na Figura 6.





Figura 6. *Pleurotus* colhidos por unidade experimental e desidratação em estufa com circulação de ar.

#### 4. 7. Metodologia utilizada nos diferentes experimentos

##### 4.7.1. Seleção de linhagens através da avaliação da velocidade de crescimento micelial radial

Foram usados para a avaliação do crescimento micelial, 5 repetições para as 5 linhagens e avaliados através das medidas de crescimento micelial radial. A incubação foi realizada a 30 °C, em estufa com circulação de ar forçada (Shellab, 1370 FX).

##### a) Substrato TDA

Para a realização deste experimento foi utilizado o meio TDA (trigo, dextrose e ágar), preparado conforme descrito no item 3.1. Após a esterilização, 30 ml do meio foi vertido em placa de Petri e resfriado em câmara de fluxo laminar (VECO) por 1h, sob luz UV. As placas foram, então, inoculadas no centro, com um disco de ágar de 8 mm de diâmetro, colonizado com as linhagem de *Pleurotus*.

### **b) Substrato palha de arroz**

Neste experimento foram usadas placas de Petri, contendo palha de arroz triturada e hidratada, conforme descrito no item 3.3. O substrato foi esterilizado nas placas de Petri e resfriado em câmara de fluxo laminar (VECO) por 1h, sob luz UV. As placas foram, então, inoculadas no centro, com um disco de agar de 8 mm de diâmetro, colonizado com a linhagem do fungo a ser testada.

### **c) Substrato palha de bananeira**

Neste experimento foram usadas placas de Petri, contendo palha de bananeira, triturada e hidratada, conforme descrito no item 3.3. O substrato foi esterilizado nas placa de Petri e resfriado em câmara de fluxo laminar (VECO) por 1h, sob luz UV. As placas foram, então, inoculadas no centro, com um disco de ágar de 8 mm de diâmetro, colonizado com a linhagem do fungo a ser testada.

#### **4.7.2. Avaliação do desempenho de linhagens e do uso de substratos alternativos para a produção de inóculante ("spawn") através do crescimento micelial radial**

Estes testes foram realizados em placas de Petri, contendo 30 - 40 g de substrato. As placas foram esterilizadas em autoclave (QUIMIS, Q-190-22) a 121° C e 1 atm, por 1 h, resfriadas em câmara de fluxo laminar (VECO) por 1h, sob luz UV e inoculadas no centro com um disco de ágar de 8 mm de diâmetro, colonizado com a linhagem do fungo a ser testada.

Além do grão de trigo, suporte comumente utilizado (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984), foram testados, para cada linhagem, três substratos diferentes, escolhidos em função do custo e da disponibilidade na região. Os mesmos foram tratados conforme descrito a seguir:

⇒ grão de trigo (GT)

Aos grãos lavados, adicionou-se água deionizada, na proporção 1:2 (grãos: água). Os grãos foram, em seguida, fervidos por 10 minutos e o extrato drenado. Foram, então, adicionados 3,5 g de  $\text{CaCO}_3$  e 13 g de  $\text{CaSO}_4$  por Kg de grão (peso seco). O teor de umidade e pH apresentados após esterilização foram respectivamente, 52% e 6,18.

⇒ grão de arroz com casca (AC)

Aos grãos lavados, adicionou-se água deionizada, na proporção 1:2 (grãos: água). Os grãos foram, em seguida, fervidos por 1 h e drenados. Foram adicionados 3,5 g de  $\text{CaCO}_3$  e 13 g de  $\text{CaSO}_4$  por Kg de grão (peso seco). O teor de umidade e pH apresentados após esterilização foram respectivamente, 53% e 5,88.

⇒ grão de arroz, de segunda categoria, sem casca (AS)

Os grãos foram lavados e colocados em imersão em água deionizada, na proporção 1:1 (grãos: água), por 1 h, sendo em seguida, drenados. Foram adicionados 3,5 g de  $\text{CaCO}_3$  e 13 g de  $\text{CaSO}_4$  por Kg de grão (peso seco). O teor de umidade e pH apresentados após esterilização foram respectivamente, 44% e 6,64.

⇒ serragem de pinus suplementada com 20 % de farelo de arroz (SF).

A serragem foi hidratada com água deionizada, 1:3 (p/p) e em seguida, acrescida de 20% (p/p) de farelo de arroz. O teor de umidade e pH apresentados após esterilização foram respectivamente, 63,4% e 6,06.

#### **4.7.3. Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para “spawn” e substratos para frutificação usando-se índices de produção e degradação do substrato**

O desempenho das estirpes no que se refere a produção de corpos frutíferos foi avaliado apenas para as duas espécies previamente selecionadas (*P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615), em função do crescimento micelial. Os testes foram realizados utilizando-se dois substratos (palha de arroz – A e palha de folha de bananeira – B) e três

tipos de semente (grão de trigo – GT, arroz com casca – AC e arroz de segunda categoria – AS).

Os experimentos foram realizados em quintuplicata e os parâmetros comportamentais avaliados foram a precocidade, ou seja, o número de dias da inoculação até a emissão de primórdios, tempo de frutificação, ou seja, dias desde a emissão de primórdios até a última colheita e tempo total de cultivo para cada tratamento.

Para a avaliação dos parâmetros de produção, foram adotados os conceitos de rendimento (R) e eficiência biológica (EB). A extensão da degradação do substrato foi determinada através da perda de matéria orgânica (PMO).

#### **4.7.4. Determinação da fração de inoculante a ser usada**

Nos estudos relativos à fração de inóculo foram usadas as proporções de 5 % (I) e 10 % (T) em relação ao peso seco do substrato. O inóculo consistiu de grãos de trigo colonizados com o micélio do fungo selecionado, *P. sajor-caju* CCB 019 e foi preparado segundo metodologia descrita no item 3.2.

Os parâmetros de ciclo avaliados foram precocidade (tempo de emissão de primórdios), tempo de frutificação e tempo total de cultivo para cada tratamento.

Para a avaliação dos parâmetros de produção, foram adotados os conceitos de rendimento (R) e eficiência biológica (EB). A extensão da degradação do substrato foi determinada através da perda de matéria orgânica (PMO). O experimento foi realizado em quintuplicata.

#### **4.7.5. Avaliação do nível de suplementação dos substratos**

Nos tratamentos de suplementação das palhas de arroz e de bananeira foi usada a fração de inóculo de 10%. O inóculo foi preparado segundo metodologia descrita no item 3.2. e os experimentos foram conduzidos de modo a se testar três nutrientes, em dois níveis de concentração.

O substratos, foram tratados conforme descrito no item 3.3, constituindo o tratamento (T) testemunha ou controle. Nos demais tratamentos a palha foi suplementada

com farelo de arroz a 5% (F1) ou a 10% (F2), com nitrato de amônia a 0,5% (N1), ou a 1,0 % (N2); com extrato de levedura a 1% (Y1) ou a 5% (Y2), todos os suplementos calculados na base de peso seco do substrato. Para cada tratamento foram realizadas 5 repetições.

Os parâmetros de ciclo avaliados foram a precocidade (tempo de emissão de primórdios), tempo de frutificação e tempo total de cultivo para cada tratamento.

Para a avaliação dos parâmetros de produção, foram adotados os conceitos de rendimento (R) e eficiência biológica (EB). A extensão da degradação do substrato foi determinada através da perda de matéria orgânica (PMO).

#### **4.7.6. Avaliação da influência do pré-tratamento do substrato nos índices de produção de *Pleurotus sajor-caju***

A esterilização em autoclave é um método eficiente para garantir um ótimo crescimento da monocultura fúngica, porém em escala comercial se torna inviável por ser um processo excessivamente oneroso (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1984). Torna-se necessário, portanto, testar métodos alternativos que possam ser usados com sucesso em cultivos comerciais. As palhas de bananeira e arroz receberam 5% (p/p) de suplementação com farelo de arroz.

##### **a) Palha de bananeira**

Foram testados cinco pré-tratamentos de substrato, sendo o tratamento em autoclave considerado como testemunha. As alternativas de pré-tratamento foram selecionadas em função da maior facilidade em se adaptar a cultivos comerciais em nível de pequeno produtor. A pasteurização por imersão representa uma técnica adaptada de KURTZMAN (1979) e BANO *et al.* (1979). Os parâmetros da pasteurização a vapor foram elaborados em função da metodologia descrita por NKAKYEKORERA (1993). O uso da imersão em soluções de hidróxido de cálcio e hipoclorito de sódio é sugerido por RAJARATNAM & BANO (1988).

- ⇒ Esterilização em autoclave a 121 °C e 1 atm , por 1 hora (A);
- ⇒ Pasteurização por imersão em água quente a 65 - 75 °C, por 2 horas (I);
- ⇒ Pasteurização por vapor quente a 95°C por 4h (V);
- ⇒ Imersão em hidróxido de cálcio (1%) por 12 horas (Ca);
- ⇒ Imersão em hipoclorito de sódio (5 %) por 12 horas (H).

No tratamento em autoclave, o substrato foi submetido a imersão em água por 12 horas, conforme descrito no item 3.3. Os tratamentos de pasteurização foram realizados em latão de 200 litros, onde o substrato foi colocado, após acondicionamento em sacos de ráfia, dentro de uma estrutura metálica cilíndrica, fechada com tela de arame, com malha igual a 1 cm. Como fonte de calor foi usado um fogareiro industrial, colocado na base do latão. No tratamento por imersão utilizou-se o mesmo recipiente, onde a água foi colocada até 20 cm da borda superior e os sacos de ráfia, contendo substrato, foram mantidos imersos através da pressão exercida por blocos de concreto de 2Kg. Na pasteurização a vapor, o latão recebeu água até a altura de 20 cm do fundo, sendo o substrato depositado sobre o suporte metálico, localizado a 25 cm do fundo, evitando assim a imersão. O monitoramento da temperatura foi realizado com termômetros colocados a 40 cm da borda do latão, suspensos por barbante, de modo a não encostar nas estruturas metálicas. Os experimentos de frutificação foram conduzidos por 60 dias.

Cada unidade experimental foi representada por um saco de polietileno contendo 200g (peso seco) de substrato. Para cada tratamento foram realizadas 4 repetições.

Os parâmetros comportamentais avaliados foram precocidade (tempo de emissão de primórdios), tempo de frutificação e tempo total de cultivo para cada tratamento.

Para a avaliação dos parâmetros de produção, foram adotados os conceitos de rendimento (R) e eficiência biológica (EB).

#### **b) Palha de arroz**

O substrato, palha de arroz, seco, foi triturado como descrito no item 3.3. e suplementado com 5% de farelo de arroz. Foram testados quatro pré-tratamentos, sendo o tratamento em autoclave considerado como testemunha. As alternativas de pré-tratamento

foram selecionadas em função de sua maior facilidade em se adaptar a cultivos comerciais a nível de pequeno produtor. A pasteurização por imersão representa uma técnica adaptada de KURTZMAN (1979) e BANO *et al.* (1979). Os parâmetros da pasteurização a vapor foram elaborados em função da metodologia descrita por NKAKYEKORERA (1993). A suplementação com carbonato de cálcio foi adotada em função de diversos autores que comentam sua influência no aumento de produção (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1984; CHANG & QUIMIO, 1985; RAJARATHNAM & BANO, 1988; ZERVAKIS & BALIS, 1992).

- ⇒ Esterilização em autoclave a 121 °C e 1 atm , por 1 hora (A);
- ⇒ Pasteurização por vapor quente a 65-75°C, por 2h (V);
- ⇒ Pasteurização por imersão a 65-75°C, por 1h (I);
- ⇒ Pasteurização por vapor quente a 65-75°C, por 2h, com adição de CaCO<sub>3</sub> a 5% (VCa).

No tratamento em autoclave o substrato foi submetido a imersão em água por 12 horas. Os tratamentos de pasteurização por vapor e por imersão foram realizados conforme descrito no item anterior, para a palha de bananeira.

Cada unidade experimental foi representada por um saco de polietileno contendo 100g (peso seco) de substrato. Os experimentos foram realizados em quintuplicata.

Os parâmetros comportamentais avaliados foram precocidade (tempo de emissão de primórdios), tempo de frutificação e tempo total de cultivo para cada tratamento.

Para a avaliação dos parâmetros de produção, foram adotados os conceitos de rendimento (R) e eficiência biológica (EB).

#### **4.8. Parâmetros avaliados durante os experimentos**

##### **4.8.1. Crescimento micelial**

O crescimento micelial foi avaliado diariamente em placas de Petri, segundo metodologia usada por MAZIERO (1990) e descrita a seguir. Após a inoculação do disco

de ágar no centro das placas, foram inscritas nas tampas duas retas perpendiculares, cuja interseção coincidia com o centro do inóculo. As medidas foram realizadas do centro do inóculo até o limite de crescimento do micélio. Portanto, para cada placa de Petri obteve-se quatro registros de crescimento por amostragem. Para se obter o valor do crescimento diário em cada placa foi realizada a média dos quatro registros da placa. O valor do crescimento diário de cada linhagem foi obtido pela média das 5 replicatas. Assim que a placa havia sido totalmente colonizada, cessavam-se as medidas. No experimento de teste de substrato para inoculante foi avaliada de forma subjetiva a densidade micelial, classificando-se o micélio como tênue, pouco denso e denso.

#### 4.8.2. Frutificação

Os parâmetros comportamentais avaliados na frutificação foram:

- ⇒ tempo para emissão dos primórdios;
- ⇒ tempo de frutificação;
- ⇒ número de fluxos colhidos;
- ⇒ peso seco e úmido de cada fluxo.

A metodologia de colheita e de determinação do peso úmido e seco foram descritas no item 3.6. A eficiência biológica é o parâmetro mais utilizado para avaliar a produção de corpos frutíferos em relação ao substrato. Sua definição original, segundo CHANG (1981), seria a correlação da conversão do substrato seco em corpos frutíferos frescos. De acordo com BISARIA (1986) este conceito foi alterado para representar a conversão de substrato seco em corpos frutíferos secos, sob o argumento de que o teor de umidade dos corpos frutíferos varia significativamente em função das condições de cultivo, provocando conseqüentes variações no seu peso seco percentual, de 7,09% a 11,06%. Estas variações tornam complicadas as comparações de produção entre experimentos na base do peso fresco dos corpos frutíferos, razão pela qual foi adotada, neste trabalho, a definição de eficiência biológica proposta por BISARIA (1986), ou seja, peso seco dos corpos frutíferos/peso seco do substrato. A relação proposta por CHANG (1981) foi usada, neste



trabalho, como rendimento (R) ou seja: peso fresco dos corpos frutíferos pelo peso seco do substrato.

A eficiência biológica (EB) e o rendimento (R), ambos expressos em percentagens, são calculados conforme as equações (1) e (2), respectivamente.

$$EB = \frac{\text{Peso da matéria seca de cogumelos}}{\text{Peso da matéria seca do substrato}} \times 100 \quad (1)$$

$$R = \frac{\text{Peso da matéria fresca de cogumelos}}{\text{Peso da matéria seca do substrato}} \times 100 \quad (2)$$

#### 4.8.3. Degradação do substrato

A perda de matéria orgânica (PMO) é um parâmetro através do qual pode-se verificar a eficiência da atividade decompositora dos microrganismos estudados. A composição final do substrato é alterada pela remoção seletiva dos nutrientes pelo fungo. Segundo RAJARATHNAM & BANO (1989), esta remoção não ocorre somente em função da formação dos corpos frutíferos, como também da perda de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O através do metabolismo do fungo.

A determinação da degradação do substrato foi realizada de acordo com RAJARATHNAM & BANO (1989), baseando-se na perda de matéria orgânica (PMO), que é calculada através da diferença entre o peso seco do substrato inicial e o peso seco do substrato residual, conforme equação 3. A determinação do peso seco do substrato inicial, constituiu-se de duas unidades experimentais (sacos plásticos com substrato), preparadas conforme as demais, autoclavadas e submetidas à secagem a 105° C por 24 h, em estufa com circulação de ar forçado (Shellab, 1370 FX). O peso seco do substrato residual foi

obtido, após transcorrida a frutificação, desidratando-se o substrato através de secagem em estufa conforme descrito acima.

$$\% \text{ PMO} = \frac{\text{Peso seco do substrato inicial} - \text{Peso seco do substrato residual}}{\text{Peso seco do substrato inicial}} \times 100 \quad (3)$$

#### 4.9. Análise estatística

##### 4.9.1. Avaliação do crescimento micelial

Nos experimentos de seleção de linhagens através da velocidade média de crescimento micelial radial em meio TDA (trigo, dextrose e agar), palha de arroz e palha banana, assim como a avaliação do desempenho de linhagens e do uso de suportes alternativos para a produção de inóculo (“spawn”). Esta velocidade média foi estimada através do coeficiente angular das curvas de crescimento de cada linhagem. O coeficiente angular foi obtido pela regressão linear simples, das médias de crescimento micelial contra o tempo em dias, num intervalo de 95% de confiança. A comparação entre as velocidades médias de crescimento micelial radial, foi realizada através da intercessão dos intervalos de confiança, ao nível de significância de 0,05%.

##### 4.9.2. Avaliação da frutificação

Na análise dos resultados dos índices de produção e da degradação do substrato nos experimentos de frutificação, avaliando o desempenho de linhagens, substratos para “spawn”, substratos para frutificação, a fração de inóculo, suplementação e o pré-tratamento do substrato, foi usado o teste estatístico ANOVA para fator único, num intervalo de 95% de confiança. A comparação de médias dos experimentos foi realizada pelo Teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial

#### a) Substrato TDA (trigo, dextrose e ágar)

A Figura 7 mostra, em fotografia, o crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615, no 5<sup>o</sup> dia após a inoculação.

Como pode ser observado na Figura 8 e na tabela 9, as velocidades médias de crescimento micelial das linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 (0,68 cm/dia) e *P. ostreatus* CCB 615 (0,67 cm/dia) foram as maiores em relação às demais, porém, sem diferença significativa entre elas. Elas foram seguidas pela linhagem *P. ostreatus* CCB 230 (0,53 cm/dia) e, finalmente, pelas linhagens *P. ostreatus* CCB 001 (0,48 cm/dia) e *P. ostreatoroseus* CCB 016 (0,47 cm/dia), também sem diferença significativa entre elas. Na Figura 9, o no anexo A1 são apresentadas as curvas de crescimento micelial das diferentes linhagens. As linhagens *P. ostreatus* CCB 001 e *P. ostreatoroseus* CCB 016, avaliadas neste trabalho, além da baixa velocidade de crescimento micelial, apresentaram uma formação de micélio muito tênue.



Figura 7. Crescimento micelial radial das 5 linhagens no 5<sup>o</sup> dia após a inoculação. 1. *P. ostreatus* CCB 001, 2. *P. ostreatoroseus* CCB 016, 3. *P. sajor-caju* CCB 019, 4. *P. ostreatus* CCB 230 e 5. *P. ostreatus* CCB 615.

Tabela 9. Velocidade média de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em meio TDA.

Linhagem	Nº registro	Velocidade média de crescimento micelial radial	Coefficiente de determinação	Intervalo para 95% de confiança para a velocidade média de crescimento micelial	Equação da reta
<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,479	0,996	$0,456 < V < 0,502$	$C(t) = 0,479 t - 0,061$
<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,469	0,994	$0,442 < V < 0,496$	$C(t) = 0,469 t - 0,039$
<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,675	0,983	$0,593 < V < 0,756$	$C(t) = 0,676 t - 0,23$
<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,527	0,981	$0,471 < V < 0,583$	$C(t) = 0,527 t - 0,029$
<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,668	0,985	$0,592 < V < 0,744$	$C(t) = 0,668 t - 0,13$

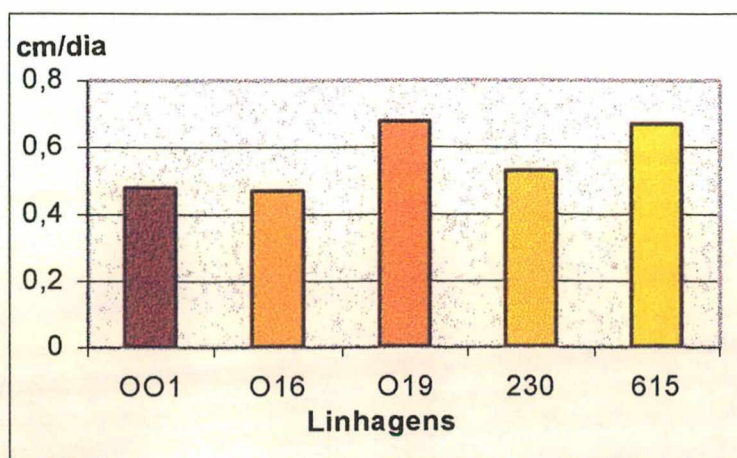


Figura 8. Velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 em substrato TDA.

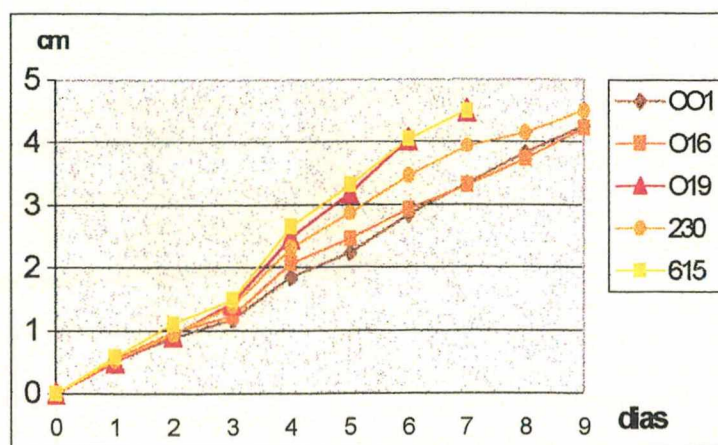


Figura 9. Crescimento micelial radial diário das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 em substrato TDA.

### b) Substrato palha de bananeira

A Figura 10 e a Tabela 10 apresentam a velocidade média de crescimento micelial radial das cinco linhagens de *Pleurotus* avaliadas em substrato composto de palha de bananeira. O comportamento das linhagens neste substrato comprova os resultados observados em meio TDA. As linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 (0,63 cm/dia) e *P. ostreatus* CCB 615 (0,60 cm/dia), novamente, apresentaram velocidades médias de crescimento micelial mais elevadas, sem diferença significativa ambas. Como pode ser observado na Figura 11 e anexo A2, a linhagem *P. ostreatus* CCB 230, apesar de apresentar uma velocidade de crescimento micelial inferior no início do cultivo, colonizou toda a superfície da placa, em oito dias. As demais linhagens apresentaram crescimento micelial muito lento, sem terem colonizado a superfície total da placa, fato que ocorreu em meio TDA.

Tabela 10. Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em palha de bananeira.

Linhagem	Nº registro	Velocidade média de crescimento micelial radial	Coefficiente de determinação	Intervalo para 95% de confiança para a velocidade média de crescimento micelial	Equação da reta
<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,373	0,947	$0,180 < V < 0,379$	$C(t) = 0,373 t - 0,421$
<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,102	0,925	$0,101 < V < 0,456$	$C(t) = 0,102 t - 0,209$
<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,629	0,909	$0,503 < V < 0,685$	$C(t) = 0,629 t - 0,302$
<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,541	0,929	$0,386 < V < 0,625$	$C(t) = 0,541 t - 0,515$
<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,602	0,960	$0,514 < V < 0,691$	$C(t) = 0,602 t - 0,051$

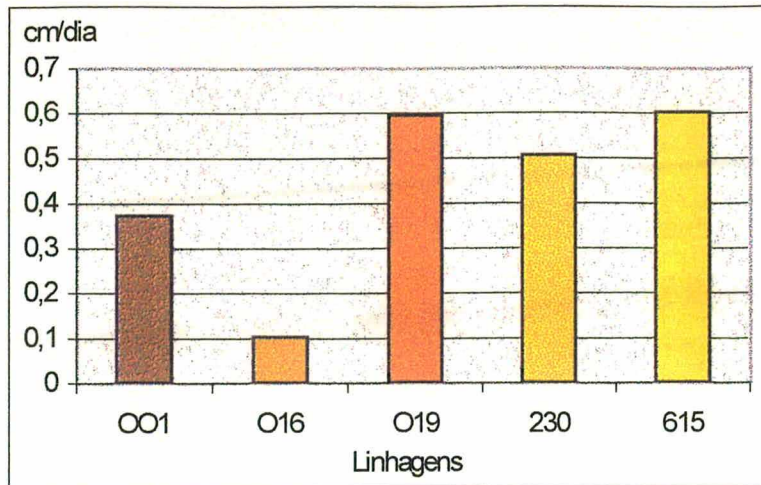


Figura 10. Velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 em substrato palha de bananeira

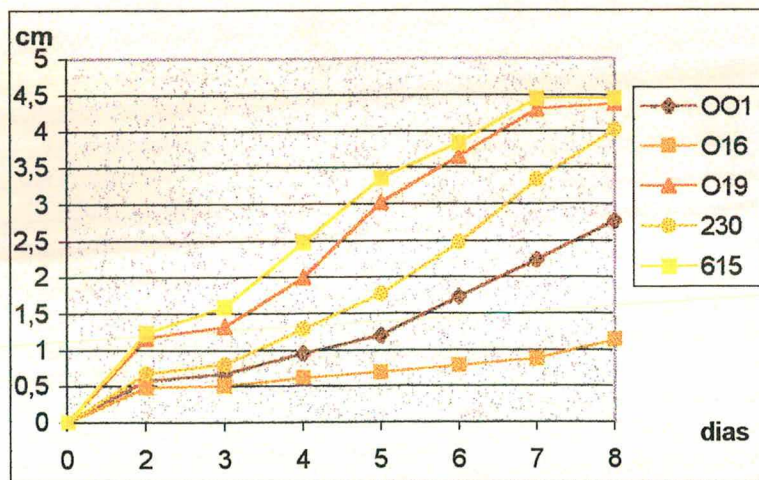


Figura 11. Curvas de crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 em palha de bananeira.

### c) Substrato palha de arroz

A Figura 12 e a Tabela 11 apresentam as velocidades médias de crescimento micelial radial das cinco linhagens de *Pleurotus* em substrato composto de palha de arroz. Neste substrato, o comportamento das linhagens comprova os resultados apresentados em meio TDA. As linhagens *P. ostreatus* CCB 615 (0,59 cm/dia) e *P. sajor-caju* CCB 019 (0,61cm/dia), novamente, apresentaram maior velocidade média de crescimento micelial, em relação às demais, alternando-se na curva de crescimento, conforme Figura 13 e anexo A3, não havendo, no entanto, diferença significativa entre elas. As demais linhagens apresentaram um crescimento micelial muito lento, sem terem colonizado a superfície total das placas nos nove dias de observação, fato que ocorreu em meio TDA.

Tabela 11. Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em palha de arroz.

Linhagem	Nº registro	Velocidade média de crescimento micelial radial	Coeficiente de determinação	Intervalo para 95% de confiança para a velocidade média de crescimento micelial	Equação da reta
<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,286	0,87	0,182 < V < 0,324	$C(t) = 0,280 t - 0,286$
<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,278	0,66	0,112 < V < 0,373	$C(t) = 0,278 t - 0,494$
<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,605	0,98	0,483 < V < 0,637	$C(t) = 0,605 t - 0,459$
<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,337	0,93	0,254 < V < 0,389	$C(t) = 0,337 t - 0,154$
<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,588	0,96	0,407 < V < 0,571	$C(t) = 0,588 t - 0,301$

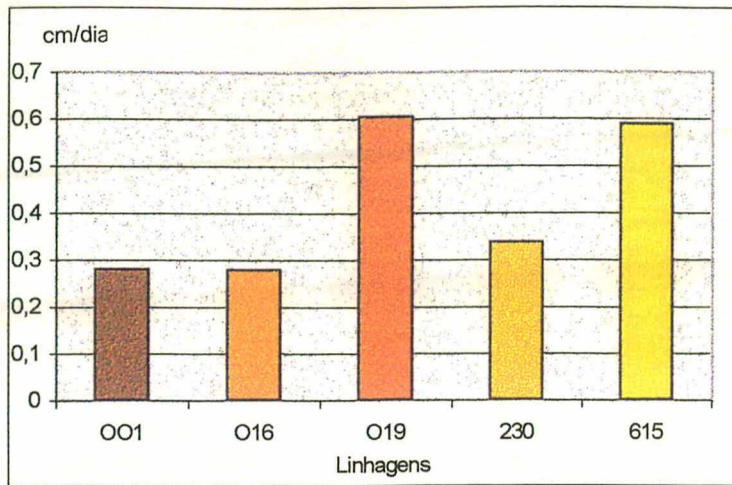


Figura 12. Velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 em substrato palha de arroz

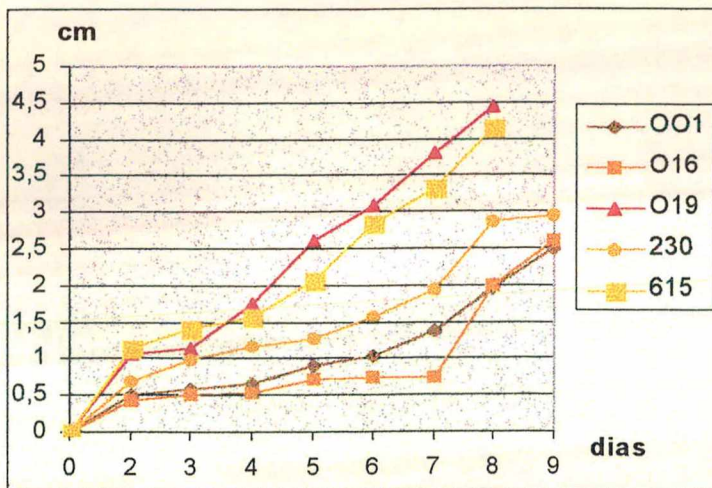


Figura 13. Curvas de crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 em palha de arroz.



## 5.2. Avaliação do desempenho de linhagens e do uso de suportes alternativos para a produção de inóculo (“spawn”) através do crescimento micelial radial

A Figura 14 e a Tabela 12 apresentam a velocidade média de crescimento micelial radial das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615 nos substratos grão de trigo, arroz com casca, arroz sem casca de segunda categoria e serragem suplementada com farelo de arroz. A maior velocidade média de crescimento micelial (0,67 cm/dia) foi constatada com a linhagem *P. sajor-caju* CCB 019, no suporte contendo arroz com casca. No entanto, a diferença encontrada para a velocidade média de crescimento micelial das diferentes linhagens, não foi considerada significativa. Os substratos grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria não apresentaram diferença significativa nas velocidades de crescimento micelial proporcionadas. A serragem suplementada com farelo de arroz foi o substrato que proporcionou o crescimento micelial mais lento e mais tênue, para todas as linhagens.

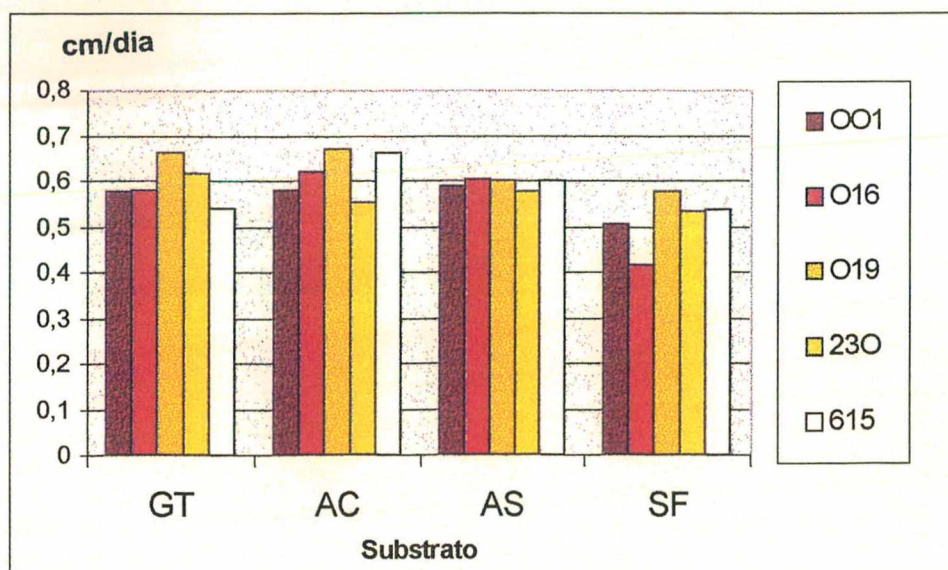


Figura 14. Velocidade média de crescimento micelial radial em grão de trigo (GT), arroz com casca (AC), arroz sem casca de segunda categoria (AS) e serragem suplementada com farelo de arroz (SF), das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615.

Tabela 12. Velocidade de crescimento micelial radial, coeficiente de determinação, intervalo de confiança e equação da reta das linhagens em diferentes suporte para produção de "spawn".

Substrato	Linhagem	Nº registro	Velocidade média de crescimento micelial radial	Coeficiente de determinação	Intervalo para 95% de confiança para a velocidade média de crescimento micelial	Equação da reta
Grão de trigo	<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,575	0,921	0,056 <V < 1,21	C(t) = 0,575 t - 0,147
	<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,582	0,907	0 <V < 1,28	C(t) = 0,582 t - 0,191
	<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,661	0,933	0,185 <V < 1,285	C(t) = 0,661 t - 0,086
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,615	0,859	0 <V < 1,51	C(t) = 0,615 t - 0,288
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,543	0,957	0,204 <V < 1,00	C(t) = 0,543 t - 0,065
Arroz com casca	<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,581	0,907	0,013 <V < 1,036	C(t) = 0,581 t - 0,117
	<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,619	0,865	0,026 <V < 1,213	C(t) = 0,619 t - 0,191
	<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,670	0,938	0,246 <V < 1,095	C(t) = 0,670 t - 0,023
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,554	0,824	0 <V < 1,169	C(t) = 0,554 t - 0,179
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,661	0,929	0,214 <V < 1,108	C(t) = 0,661 t - 0,089
Arroz sem casca de 2ª categoria	<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,589	0,945	0,364 <V < 0,815	C(t) = 0,589 t - 0,039
	<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,602	0,933	0,347 <V < 0,857	C(t) = 0,469 t - 0,135
	<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,599	0,947	0,376 <V < 0,823	C(t) = 0,599 t - 0,059
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,578	0,949	0,368 <V < 0,788	C(t) = 0,578 t - 0,119
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,599	0,957	0,398 <V < 0,799	C(t) = 0,599 t - 0,051
Serragem com farelo	<i>P. ostreatus</i>	CCB 001	0,506	0,964	0,352 <V < 0,66	C(t) = 0,506 t - 0,071
	<i>P. ostreatoroseus</i>	CCB 016	0,417	0,917	0,22 <V < 0,616	C(t) = 0,417 t - 0,082
	<i>P. sajor-caju</i>	CCB 019	0,575	0,966	0,405 <V < 0,745	C(t) = 0,575 t - 0,046
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 230	0,533	0,963	0,368 <V < 0,698	C(t) = 0,533 t - 0,129
	<i>P. ostreatus</i>	CCB 615	0,536	0,970	0,388 <V < 0,685	C(t) = 0,536 t - 0,019

A maior densidade de micélio foi observada em suporte composto de arroz sem casca, de segunda categoria, seguido do grão de trigo, como pode ser observado na Figura 15 e nos anexos A4 e A5, sendo que a linhagem *P. sajor-caju* CCB 019 se mostrou mais densa em relação às demais.

O teor de umidade inicial e o pH inicial dos substratos não foram padronizados, uma vez que os pré-tratamentos utilizados foram elaborados para este experimento em função de suas características específicas, granulométricas e de textura, tendo em vista a indisponibilidade de bibliografia que relatasse seu uso. Seus valores podem ser observados na Tabela 13. A menor taxa de contaminação (8%) foi apresentada pelo substrato composto de arroz sem casca de segunda categoria.

Tabela 13. Teores de umidade (%) e pH inicial apresentados pelos suportes grão de trigo (GT), arroz com casca (AC), arroz sem casca de segunda categoria (AS) e serragem suplementada com farelo de arroz (SF)

<b>Suporte</b>	<b>pH</b>	<b>Teor de umidade (%)</b>
<b>Grão de trigo (GT)</b>	6,18	51,6
<b>Arroz com casca (AC)</b>	6,64	53,1
<b>Arroz sem casca de Segunda categoria (AS)</b>	6,58	44,75
<b>Serragem suplem. Com farelo de arroz</b>	6,06	63,4

Alguns substratos apresentaram problemas de desidratação, sendo que as taxas de 20% e 15% foram apresentadas, respectivamente, pelos substratos grão de trigo e arroz sem casca de segunda categoria, com teores de umidade de 44,7% e 51,6%, sendo estes, os teores mais baixos de umidade observados. A maior incidência de desidratação de substrato ocorreu com as linhagens que apresentaram crescimento micelial menos denso (CCB 001 e CCB 016).

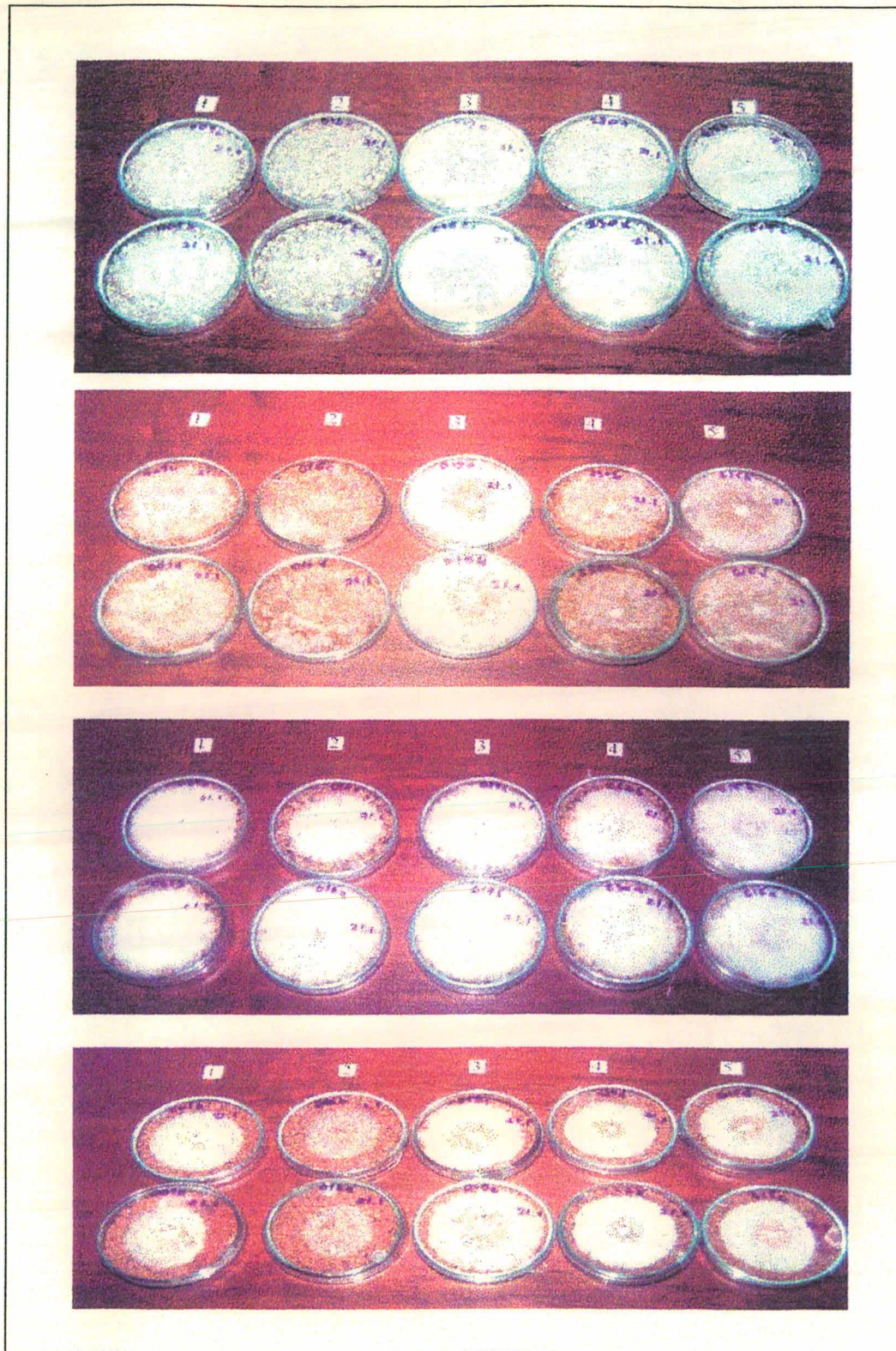


Figura 15. Crescimento micelial radial (de cima para baixo) em grão de trigo, arroz com casca, arroz sem casca de segunda categoria e serragem suplementada com farelo de arroz, das linhagens *P. ostreatus* CCB 001, *P. ostreatoroseus* CCB 016, *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus* CCB 230 e *P. ostreatus* CCB 615.

### 5.3. Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para "spawn" e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato

As linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615, em fase de frutificação são apresentadas nas Figuras 16 e 17. As Figuras 18 e 19 e anexo A6 apresentam o comportamento das linhagens testadas em substrato palha de arroz (A) e palha de bananeira (B), respectivamente. Os valores apresentados representam a média das cinco unidades experimentais de cada teste (linhagem / substrato / tipo de "spawn").

Analisando-se as Tabelas 14 e 15 e as Figuras 18 e 19, observa-se que a linhagem *P. sajor-caju* CCB 019 apresentou melhor desempenho em todos os parâmetros comportamentais analisados: maior número de fluxos (5), maior precocidade na emissão de primórdios (27 a 44 dias), maior tempo de frutificação (41-63 dias) nos dois substratos e nos três tipos de "spawn".

Tabela 14. Número de fluxos apresentados pelas linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 usando-se suportes para "spawn", constituídos de grão de trigo (GT), arroz com casca (AC) e arroz sem casca de segunda categoria (AS) inoculados nos substratos em palha de arroz e palha de bananeira.

Linhagem "spawn"	<i>P. sajor-caju</i> CCB 019			<i>P. ostreatus</i> CCB 615		
	GT	AC	AS	GT	AC	AS
P. Arroz	3	5	4	1	1	1
P. Bananeira	3	4	4	1	1	1

O tipo de suporte sólido usado para a produção de "spawn" não influenciou significativamente no tempo de emissão de primórdios, conforme fica demonstrado na Tabela 15, 16 e anexo A6. Porém, tanto o período de frutificação como o tempo total de cultivo da linhagem *P. sajor-caju* CCB 019, foram influenciados pelo tipo de grão, sendo inferiores no suporte grão de trigo.

Já a linhagem *P. ostreatus* CCB 615 demonstrou um comportamento tardio, com emissão de primórdios entre 87 e 92 dias após a inoculação, apresentando um único fluxo. Seu ciclo não mostrou ser dependente do tipo de substrato de frutificação, nem do suporte sólido utilizado para "spawn", uma vez que seu comportamento foi muito similar nos dois substratos e para os três tipos de inóculo, não apresentando diferenças significativas.

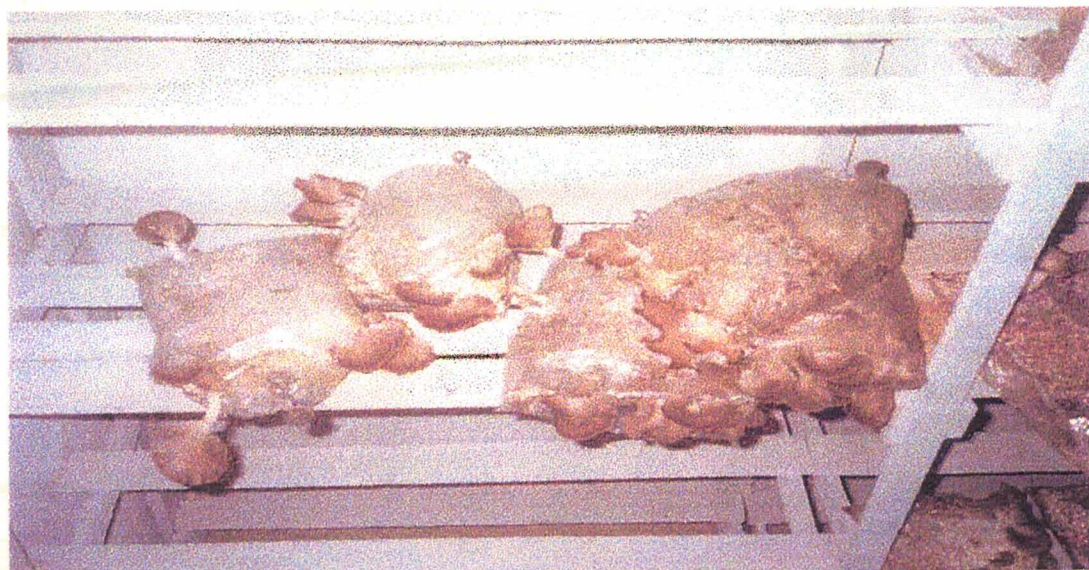


Figura 16. *Pleurotus sajor-caju* CCB 019, em fase de frutificação.



Figura 17. *Pleurotus ostreatus* CCB 615, em fase de frutificação.

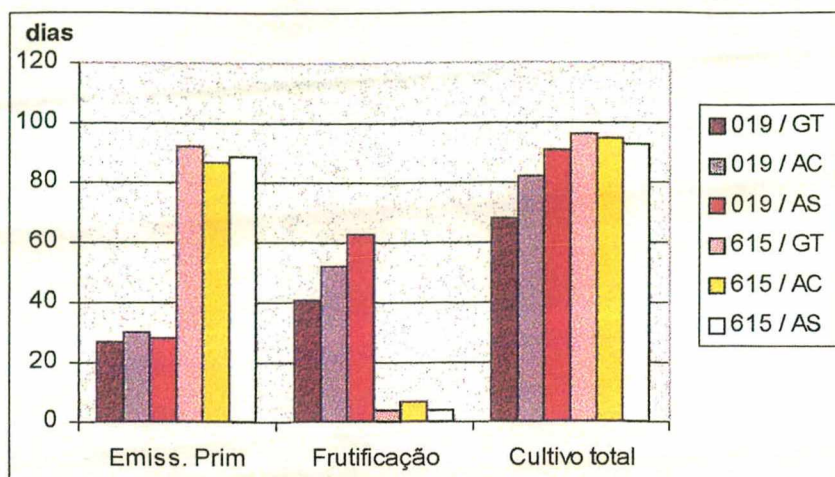


Figura 18. Comportamento das linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615, e dos suportes grão de trigo(GT), arroz com casca (AC) e arroz sem casca de segunda categoria (AS), em **substrato palha de arroz (A)**: tempo emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo (dias).

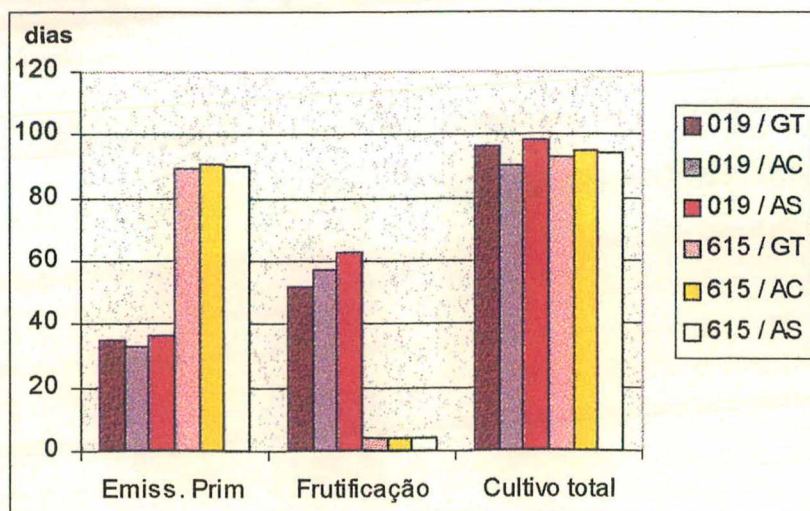


Figura 19. Comportamento das linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e dos suportes grão de trigo(GT), arroz com casca (AS) e arroz sem casca de segunda categoria (AS), em **substrato palha de bananeira (B)**: tempo emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo (dias).

Tabela 15. Comparação de médias das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e "spawns", (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B), segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para emissão de primórdios (dias).

Variáveis	Comparação entre tratamentos	Emissão de primórdios (dias)	
		Diferença de médias	d.m.s
Linhagem	A019GT x A615GT	64,75*	3,59277
	A19AC x A615AC	57,65*	3,53371
	A019AS x A615AS	62*	3,53371
	B019GT x B615GT	44,25*	3,34983
	B019AC x B615AC	57,6*	3,67746
	B019AS x B615AS	54,8*	3,59277
Substrato de frutificação	A019GT x B019GT	7,25*	3,59277
	A19AC x B019AC	3,2*	3,1849
	A019AS x B019AS	7,2*	3,34983
	A615GT x B615GT	3,25	3,53371
	A615AC x B615AC	3,75*	3,53371
	A615AS x B615AS	1,4	3,1849
Substratos para "spawn"	A019GT x A19AC	2,7	3,34983
	A019GT x A019AS	1,2	3,34983
	B019GT x B019AC	1,8	3,1849
	B019GT x B019AS	2,8	3,1849

\*Diferença significativa

Os parâmetros de produção são apresentados nas Figuras 20 e 21 e anexo A7 para os substratos palha de arroz (A) e palha de bananeira (B), respectivamente. A análise de variância e comparação de médias nas Tabelas 16 e 17. Os melhores rendimentos foram apresentados pela linhagem *P. sajor-caju* CCB 019, no substrato A (palha de arroz), inoculado com "spawn" preparado em arroz de segunda categoria (95,1%) e arroz com casca (93,2 %), enquanto que a maior eficiência biológica (9,2 %) foi obtida quando o "spawn" foi feito com arroz com casca, no referido substrato e com a mesma linhagem. A maior perda de matéria orgânica (67,2 %) foi obtida quando o "spawn" foi feito grão de trigo, com a mesma linhagem e no substrato palha de bananeira.

Os índices de produção apresentados pela linhagem CCB 019 foram significativamente superiores aos da linhagem CCB 615. No entanto, ao se comparar os mesmos índices proporcionados pelos substratos para frutificação, a palha de arroz apresentou desempenhos maiores.



O suporte grão de trigo proporcionou maior rendimento e eficiência biológica para a linhagem CCB 019, na palha de bananeira, porém na palha de arroz, esses índices foram os menores. Salienta-se, portanto, o comportamento invertido, em termos de rendimento, da linhagem *P. sajor-caju*, nos substratos para frutificação, em relação ao tipo de suporte usado para "spawn". Para a linhagem CCB 615, o suporte composto por grão de trigo apresentou rendimentos superiores. -

Os níveis de perda de matéria orgânica foram similares em todos os testes.

De uma maneira geral, a perda de matéria orgânica foi maior na linhagem *P. sajor-caju* CCB 019 e no substrato palha de bananeira, o que pode ser observado nas Figuras 20 e 21 e Tabela 16.

Das 60 unidades experimentais (30 de cada substrato), 90% das unidades do substrato palha de bananeira frutificaram, enquanto que na palha de arroz apenas 80 % frutificaram. Das 6 unidades não frutificadas na palha de arroz, 4 foram descartadas por contaminação, fato que não ocorreu na palha de bananeira. Com relação às linhagens, apenas duas unidades experimentais do total de 30 de *P. sajor-caju* CCB 019 não frutificaram, apesar de haver colonização do substrato pelo micélio. Das quatro unidades experimentais contaminadas todas pertenciam à linhagem *P. ostreatus* CCB 615, sendo que três delas foram inoculadas com "spawn" preparado em arroz sem casca de segunda categoria. Este suporte sólido para "spawn" é composto de grãos e pedaços de grãos de arroz, contendo maior quantidade de carboidratos solúveis o que pode ter favorecido o desenvolvimento de microrganismos contaminantes.

Com relação aos substratos testados para frutificação, apesar do substrato B (palha de bananeira) ter apresentado índices de produção inferiores aos do substrato A (palha de arroz), os experimentos subsequentes foram conduzidos em ambos os substratos, por dois motivos: diferença de rendimento insignificante entre a média global nos dois substratos e grande disponibilidade regional.

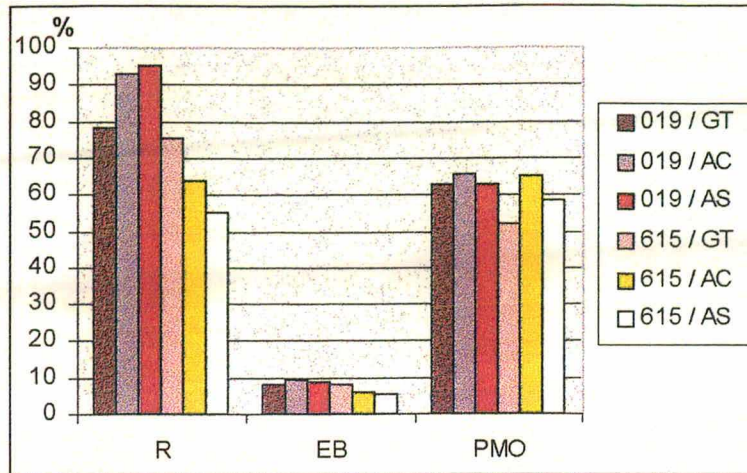


Figura 20. Índices de produção das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em substrato palha de arroz (A): rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica (PMO).

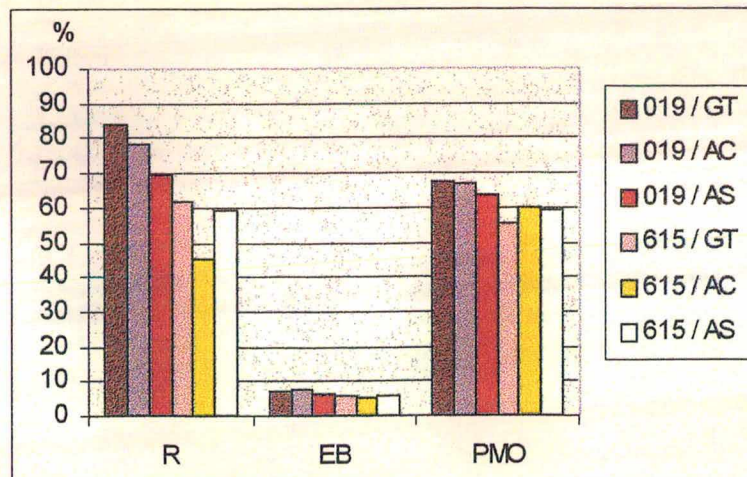


Figura 21. Índices de produção das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em substrato palha de bananeira (B): rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica (PMO).

Tabela 16. Análise de variância do rendimento, eficiência biológica, perda de matéria orgânica e do tempo emissão de primórdios das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B).

Parâmetro Avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Rendimento	Entre grupos	10729,6	11	975,42	5,347	4,2E-05	2,044
	Dentro dos grupos	7114,5	39	182,42			
	Total	17844,1	50				
Eficiência Biológica	Entre grupos	96,4115	11	8,7646	3,875	0,00081	2,044
	Dentro dos grupos	88,1949	39	2,2614			
	Total	184,606	50				
Perda de Matéria Orgânica	Entre grupos	681,729	11	61,975	4,522	0,000210	2,044
	Dentro dos grupos	534,426	39	13,703			
	Total	1216,16	50				
Tempo de Emissão de Primórdios	Entre grupos	41913,8	11	3810,3	78,6	4,3E-23	2,044
	Dentro dos grupos	1888,85	39	48,432			
	Total	43802,6	50				

Tabela 17. Comparação de médias, das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B); segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção e degradação do substrato.

Variáveis	Comparação entre tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)		Perda de Matéria Orgânica (%)	
		Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
Linhagem	A019GT x A615GT	2,658	6,18116	0,1889	0,68821	7,98*	1,91106
	A19AC x A615AC	29,08*	7,06356	3,548*	0,79464	0,42	1,69411
	A019AS x A615AS	40,07*	7,29498	3,475*	0,80716	4,28*	1,87964
	B019GT x B615GT	21,58*	6,70887	1,42*	0,74696	9,11*	1,99938
	B019AC x B615AC	33,2*	6,8581	2,76*	0,79464	1,28	1,78184
	B019AS x B615AS	9,59*	6,70887	0,86*	0,74696	4,33*	1,87964
Substrato de frutificação	A019GT x B019GT	5,58	6,50125	1,015*	0,72385	4,82*	1,93596
	A19AC x B019AC	14,5*	6,50125	1,654*	0,74696	0,85	1,69411
	A019AS x B019AS	25,99*	7,06356	2,22*	0,77634	0,83	1,69411
	A615GT x B615GT	15,8*	6,70887	2,25*	0,77634	3,71*	1,69411
	A615AC x B615AC	18,89*	0,80123	0,452	0,76358	4,82*	1,87964
	A615AS x B615AS	4,5	0,72215	0,395	0,68821	0,79	1,69411
Subst. spawn	A019GT x A19AC	15,1*	6,18116	2,59*	0,72385	3,12*	1,87964
	A019GT x A019AS	17,1*	6,8581	0,5	0,68821	0,34	1,69411
	B019GT x B019AC	5,2	6,18116	0,32	0,68821	0,85	1,69411
	B019GT x B019AS	14,45*	6,8581	0,71*	0,68821	3,64*	1,87964

\*Diferença significativa

#### 5.4. Determinação da fração de inóculo

O comportamento do cultivo (tempo de emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo) de *P. sajor-caju* em palha de bananeira é apresentado na Figura 22, anexo A8 e nas Tabelas 18 e 19. A fração de inóculo de 10% (em relação ao peso seco do substrato) promoveu maior período de frutificação (mais 13 dias). Com relação à emissão de primórdios não houve diferença significativa apesar de se ter constatado precocidade de 11 dias em relação à fração de inóculo de 5%, fato que quando traduzido em parâmetros de cultivo comercial torna-se relevante. O tempo total de frutificação não variou significativamente.

Na Figura 23, anexo A8 e Tabelas 20 e 21 pode-se observar que a fração de inóculo de 10% (em relação ao peso seco do substrato) não proporcionou incremento no rendimento e na eficiência biológica em relação à fração de inóculo de 5% apesar de se constatar diferença de médias de 25,8 e 21,9% respectivamente. A perda de matéria orgânica foi praticamente igual nas duas frações de inóculo.

Tabela 18. Análise de variância do tempo de emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo da influência da fração de inóculo (5 e 10%) de *P. sajor-caju* CCB 019 em palha de bananeira.

Parâmetro Avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Emissão de Primórdios	Entre grupos	302,5	1	302,5	3,0463	0,1190	5,3176
	Dentro dos grupos	794,4	8	99,3			
	Total	1096,9	9				
Tempo de Frutificação	Entre grupos	462,4	1	462,4	4,7449	0,0610	5,3176
	Dentro dos grupos	779,6	8	97,45			
	Total	1242	9				
Tempo total de cultivo	Entre grupos	16,9	1	16,9	1,3795	0,2739	5,3176
	Dentro dos grupos	98	8	12,25			
	Total	114,9	9				

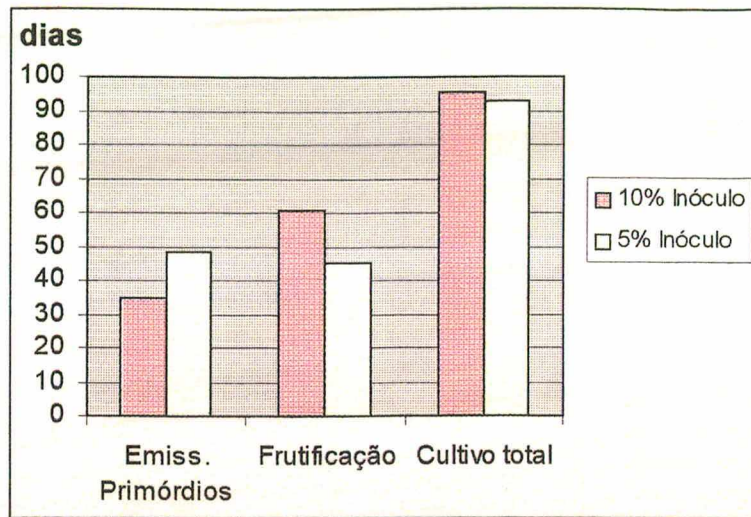


Figura 22. Influência da fração de inóculo (5 e 10%) no comportamento de *P. sajor-caju* em palha de bananeira

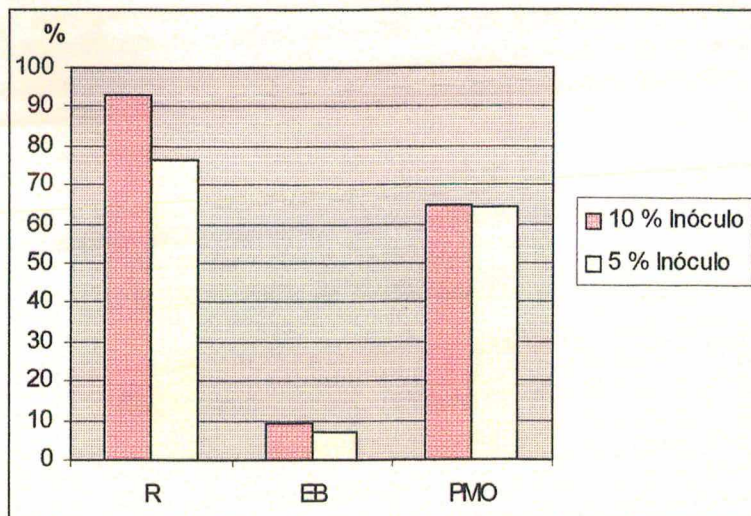


Figura 23. Influência da fração de inóculo (5 e 10%) nos índices de produção de *P. sajor-caju* em palha de bananeira.

Tabela 19. Comparação de médias dos testes da influência da fração de inóculo (5 e 10%), segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05% para os parâmetros de comportamento de cultivo.

Comparação entre tratamentos	Emissão de Primórdios (dias)		Tempo de Frutificação (dias)		Tempo de Cultivo Total (dias)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
T-I	11	11,49	13,6*	11,38	2,6	4,035

\* Diferença significativa

Tabela 20. Análise de variância do rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica da linhagem, da influência da fração de inóculo (5 e 10%) de *P. sajor-caju* CCB 019 em palha de bananeira.

Parâmetro Avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Rendimento	Entre grupos	944,8204	1	944,820	1,7208	0,237537	5,987374
	Dentro dos grupos	3294,251	6	549,041			
	Total	4239,07	7				
Eficiência Biológica	Entre grupos	8,5747	1	8,57476	2,7280	0,137205	5,317645
	Dentro dos grupos	25,145	8	3,1432			
	Total	33,7206	9				
Perda de Matéria Orgânica	Entre grupos	2,4309	1	2,43049	0,7296	0,417843	5,317645
	Dentro dos grupos	26,6487	8	3,3311			
	Total	29,0792	9				

Tabela 21. Comparação de médias dos testes da influência da fração de inóculo (5 e 10%) segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05% para os parâmetros de produção e degradação do substrato.

Comparação entre tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)		Perda Matéria Orgânica (%)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
T-I	17	33,1	1,85	2,04	0,98	2,1

## 5.5. Avaliação da suplementação dos substratos

### a) Palha de bananeira

O ciclo de cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%), é apresentado na Figura 24, anexo A9 e nas Tabelas 23 e 24, com os valores de emissão de primórdios, tempo de frutificação e tempo de cultivo total para os diversos meios de cultivo avaliados. Não foram constatadas diferenças significativas em relação ao comportamento de cultivo dos diferentes meios de cultivo. No entanto, foi obtida precocidade nos meios de cultivo F2 e Y1, os quais proporcionaram emissão de primórdios, em média 7 e 6 dias antes da testemunha T, respectivamente. Os meios F1 e N2 também apresentaram precocidade em relação a T. Os maiores números médios de fluxos foram observados nos meios F1 e Y2, com 5 fluxos, como mostra a Tabela 22.

Os parâmetros de produção obtidos para cada meio de cultivo são apresentados na Figura 25 e anexo A9, com a respectiva análise de variância e comparação de média nas Tabelas 25 e 26. Com exceção dos meios N2 e Y2, os demais meios conduziram a um aumento no rendimento, em relação ao experimento testemunha T (R=93 %), sendo os maiores índices registrados nos meios Y1 (114,9%) e F1 (109,8%). Os valores mais elevados de eficiência biológica foram obtidos nos meios suplementados com extrato de levedura a 1%-Y1 (11,1 %), com farelo de arroz a 5% -F1 (10,7%) e a 10% -F2 (10,2%). A perda de matéria orgânica mais elevada foi proporcionada pelo tratamento com farelo de arroz a 10%-F2 (73,5%).

Tabela 22. Número médio de fluxos de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes: farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%); nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%) e extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%).

Número de fluxos						
T	F1	F2	N1	N2	Y1	Y2
4	5	4	4	4	4	5

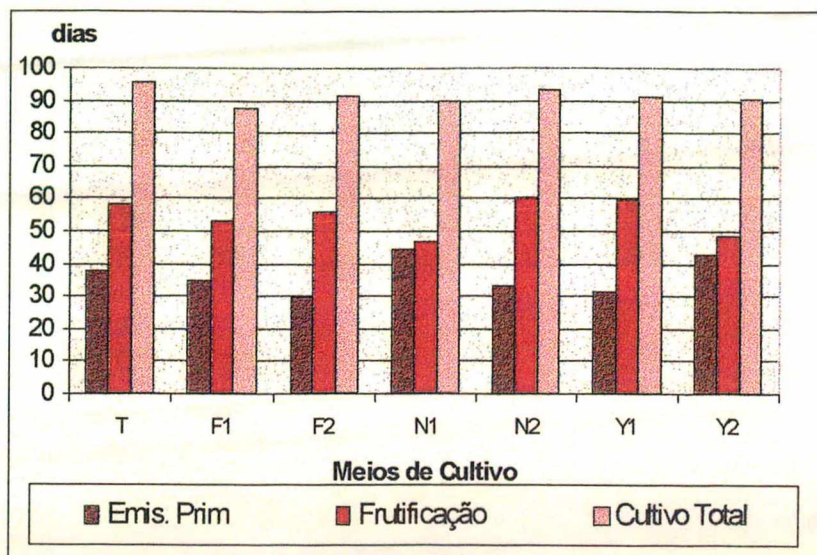


Figura 24. Ciclo de cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes

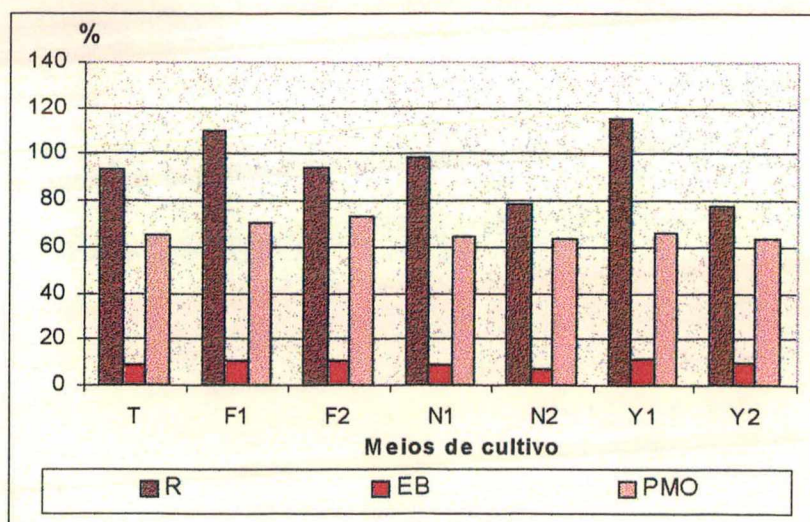


Figura 25. Índices de produção de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, suplementada com diferentes fontes de nutrientes.



Tabela 23. Análise de variância – fator único dos testes de suplementação da palha de bananeira, para os parâmetros de comportamento de cultivo.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Emissão de Primórdios	Entre grupos	885,68	6	147,614	1,182	0,348	2,508
	Dentro dos grupos	2995,8	24	124,828			
	Total	3881,5	30				
Tempo de Frutificação	Entre grupos	902,6	6	150,448	0,927	0,493	2,508
	Dentro dos grupos	3892,6	24	162,194			
	Total	4795,3	30				
Tempo de Cultivo Total	Entre grupos	179,50	6	29,9176	0,646	0,69	2,508
	Dentro dos grupos	1111,3	24	46,3056			
	Total	1290,8	30				

Tabela 24. Comparação de médias dos testes de suplementação da palha de bananeira com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05% para os parâmetros de comportamento de cultivo.

Comparação entre tratamentos	Emissão de Primórdios (dias)		Tempo de Frutificação (dias)		Tempo de Cultivo Total (dias)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
T-F1	2,7	14,5849	4,8	16,6252	7,5	10,088
T-F2	7,6	16,1189	0,8	16,6252	6,8	9,9695
T-N1	7,2	15,3194	11,4	17,9978	4,2	9,3305
T-N2	4,2	15,3194	2,2	17,9978	4,2	8,8831
T-Y1	6,4	15,7891	1,86	17,4624	4,6	9,6165
T-Y2	5	14,5849	9,6	17,4624	4,6	9,8174

Tabela 25. Análise de variância – fator único dos testes de suplementação da palha de bananeira para os parâmetros de produção e degradação do substrato.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Rendimento	Entre grupos	5476,3	6	912,722	3,886	0,007	2,490
	Dentro dos grupos	5870,6	25	234,827			
	Total	1134	31				
Eficiência Biológica	Entre grupos	40,768	6	6,79468	2,881	0,029	2,508
	Dentro dos grupos	56,592	24	2,358			
	Total	97,360	30				
Perda da matéria orgânica	Entre grupos	370,17	6	61,6953	7,459	0,000	2,508
	Dentro dos grupos	198,49	24	8,27075			
	Total	568,6	30				

Tabela 26. Comparação de médias dos testes de suplementação com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção e degradação do substrato.

Comparação entre tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)		Perda de Matéria Orgânica (%)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
T-F1	16,8007	21,6559	1,68	2,2154	4,99*	3,9433
T-F2	7,374	21,0117	1,23	2,17007	8,42*	4,0642
T-N1	5,814	20,0043	0,14	2,10552	0,78	3,9433
T-N2	14,926	20,0043	1,72	2,24973	1,29	4,0642
T-Y1	21,9065	22,1082	2,06	2,24973	1,62	3,75424
T-Y2	15,72	21,0117	0,78	2,00457	0,81	3,75424

\*Diferença significativa

## b) Palha de arroz

O ciclo de cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz é apresentado na Figura 26, anexo A10, e nas Tabelas 27 e 28, com os valores de tempo de emissão de primórdios (dias), tempo de frutificação (dias) e tempo de cultivo total (dias) para os diversos meios testados. Pode-se observar que a emissão de primórdios, nos diferentes meios, ocorreu praticamente simultaneamente. Os meios F1 (farelo de arroz – 5%), N2 (nitrato de amônia – 1%) e Y1 (extrato de levedura – 1%) apresentaram um período de frutificação mais prolongado, assim como mais dias de cultivo total, apesar de não serem significativamente diferentes dos demais. O número médio de fluxos (3) foi igual para todos os meios, com e sem suplementação.

Como pode ser observado através da análise da Figura 27, anexo A10 e Tabelas 29 e 30, todos os testes de suplementação usando a palha de arroz como substrato levaram a um aumento nos índices de produção em relação à testemunha T, porém, sem diferença significativa. Os maiores índices de rendimento foram registrados nos meios suplementados com farelo de arroz (F1 e F2) e nitrato de amônia (N1 e N2), com ganhos de aproximadamente 19% em relação à testemunha T. Os meios suplementados com extrato de levedura (Y1 e Y2), apresentaram os menores aumentos de rendimento, de 11,4 e 12,8%, respectivamente, em relação à testemunha. Os melhores resultados em termos de eficiência biológica foram apresentados pelos tratamentos N2 (9,8%) e Y1 (9,5%), com ganhos da ordem de 20 e 16,5 %, respectivamente, significativamente maiores do que a testemunha (T). A perda de matéria orgânica apresentada pelos meios suplementados foi superior à observada na palha de arroz não suplementada (T) sendo os meios Y1 e N2 significativamente maiores do que a testemunha.

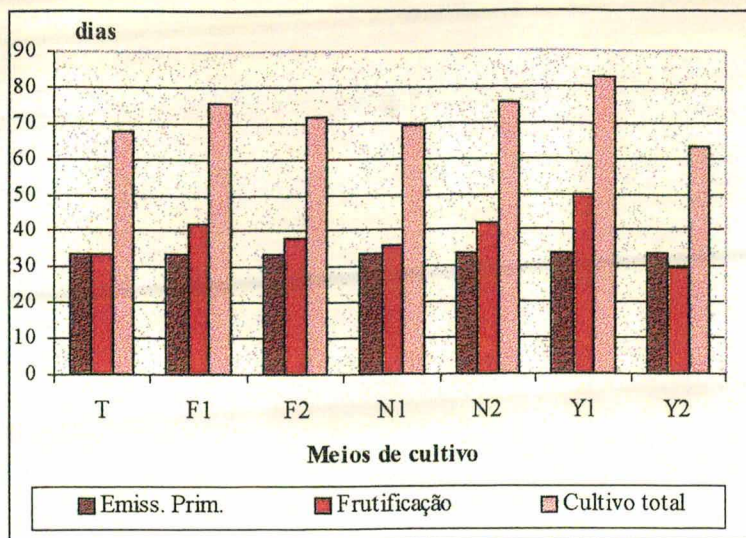


Figura 26. Ciclo de cultivo (emissão de primórdios, tempo de frutificação e tempo de cultivo total dias) de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz.

Tabela 27. Análise de variância – fator único da suplementação da palha de arroz para os parâmetros de comportamento de cultivo.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Emissão de Primórdios	Entre grupos	0,9714	6	0,1619	0,47222	0,82302	2,44526
	Dentro dos grupos	9,6	28	0,34286			
	Total	10,571	34				
Tempo de Frutificação	Entre grupos	1243,1	6	207,19	4,15687	0,00414	2,44526
	Dentro dos grupos	1395,6	28	49,8429			
	Total	2638,7	34				
Tempo de Cultivo Total	Entre grupos	1185,0	6	197,514	3,92005	0,00574	2,44526
	Dentro dos grupos	1410,8	28	50,3857			
	Total	2595,8	34				

Tabela 28. Comparação de médias dos testes de suplementação da palha de arroz, com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de ciclo.

Comparação entre tratamentos	Emissão de Primórdios (dias)		Tempo de Frutificação (dias)		Tempo de Cultivo Total (dias)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
T-F1	0,4	0,82748	8,4	9,97708	8	10,0313
T-F2	0,4	0,80287	4,4	9,6803	4	9,73287
T-N1	0,2	0,76437	1,8	9,21617	1,6	9,26622
T-N2	0,2	0,76437	4,4	9,21617	4,2	9,26622
T-Y1	0,4	0,84477	13,6*	10,1855	13,2*	10,2408
T-Y2	0	0,80287	6,8	9,6803	6,8	9,73287

\* Diferença significativa

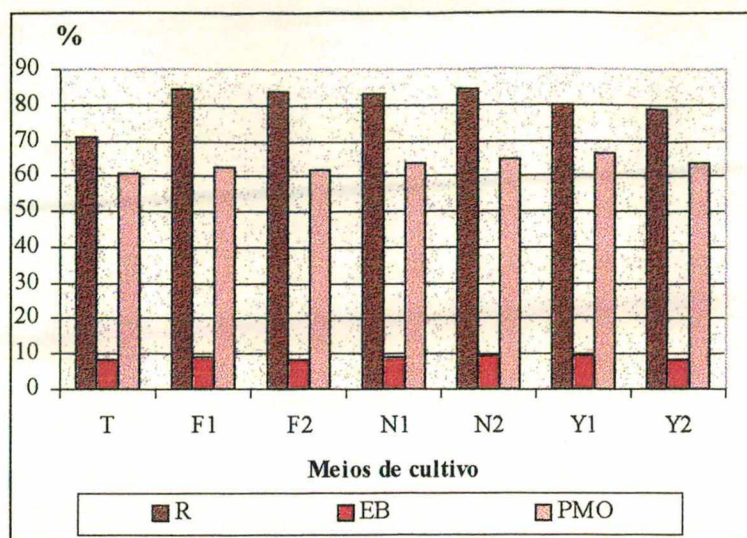


Figura 27. Índices de produção (rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica), de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz.

Tabela 29. Análise de variância – fator único da suplementação da palha de arroz para os parâmetros de produção e degradação do substrato.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Rendimento	Entre grupos	726,10	6	121,017	1,03	0,426	2,474
	Dentro dos grupos	3046,2	26	117,162			
	Total	37723	32				
Eficiência Biológica	Entre grupos	12,626	6	2,10447	2,429	0,053	2,474
	Dentro dos grupos	22,522	26	0,86626			
	Total	35,149	32				
Perda da matéria orgânica	Entre grupos	98,971	6	16,4953	2,880	0,025	2,445
	Dentro dos grupos	160,35	28	5,72688			
	Total	259,32	34				

Tabela 30. Comparação de médias dos testes de suplementação com a testemunha T, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção e degradação do substrato.

Comparação entre tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)		Perda de Matéria Orgânica (%)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s
T-F1	13,702	15,2966	0,668	1,3153	1,592	3,3819
T-F2	12,992	14,8416	0,458	1,27618	1,074	3,2813
T-N1	12,41	14,13	0,708	1,21499	2,836	3,12398
T-N2	13,356	14,13	1,62*	1,21499	3,814*	3,12398
T-Y1	9,0795	15,6161	1,3505*	1,34277	5,472*	3,45254
T-Y2	7,5445	14,8416	0,3045	1,27618	2,306	3,2813

\*Diferença significativa

## 5.6. Avaliação da influência do pré-tratamento do substrato

### a) Palha de bananeira

Nas Figuras 28 e 29 e no anexo A11 pode-se observar o rendimento e a eficiência biológica de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira, submetida aos tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor (V); imersão em hidróxido de cálcio (Ca) e; imersão em hipoclorito de sódio (H). Entre os tratamentos testados, a pasteurização por imersão em água a  $80 \pm 5^\circ\text{C}$  por 2 horas (I) e a imersão em solução de hidróxido de cálcio a 1% (Ca), foram os dois que se destacaram, tanto em termos de rendimento como de eficiência biológica.

O número de fluxos emitidos pode ser observado na Tabela 31 e coincide com os resultados obtidos nos índices de produção, sendo maior nos tratamentos que apresentaram melhor rendimento e eficiência biológica (I e Ca). É interessante salientar o número de fluxos elevado do tratamento com hipoclorito de sódio, em relação aos seus índices de produção inferiores aos demais tratamentos. Os valores de pH e teor de umidade (%) do substrato palha de bananeira submetida aos diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 32.

No tratamento com hipoclorito de sódio (H), a colonização do substrato pelo micélio foi muito lenta e este se apresentou tão pouco denso que após a retirada do plástico para a frutificação os blocos se desmancharam, inviabilizando a avaliação da PMO. Os corpos frutíferos, além de desidratados, também se apresentaram brancos, ao contrário dos demais, que apresentaram a coloração castanho claro.

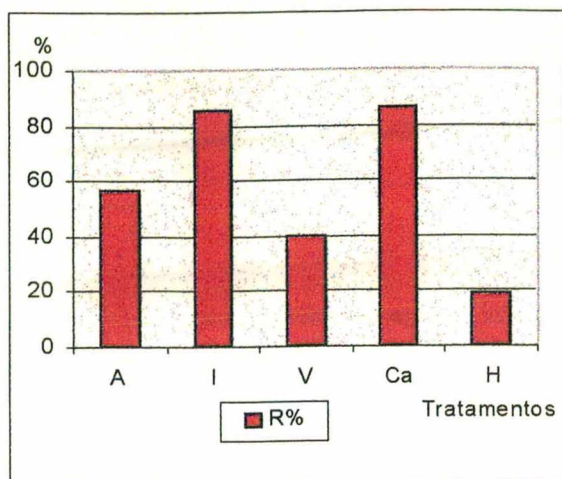


Figura 28. Rendimento (R) de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor (V); imersão em hidróxido de cálcio (Ca); imersão em hipoclorito de sódio (H).

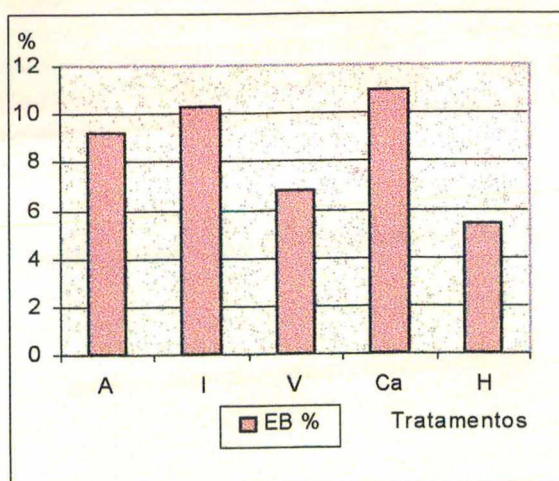


Figura 29. Eficiência biológica (EB) de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor (V); imersão em hidróxido de cálcio (Ca); imersão em hipoclorito de sódio (H).

Tabela 31. Número de fluxos e tempo de emissão de primórdios de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, submetida a diferentes pré- tratamentos

<i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de bananeira.	Tratamento do substrato				
	A	I	V	Ca	H
Número de fluxos	3	5	3	5	4
Tempo de emissão de primórdios (dias)	24	30	30	31	34

Tabela 32. pH e teor de umidade (%) do substrato palha de bananeira submetida a diferentes pré-tratamentos

Tratamento	A	I	V	Ca	H
PH	6,29	7,17	6,42	10,33	7,72
Umidade (%)	77,3	80,2	72,8	76,7	72,8

Tabela 33. Análise de variância – fator único dos diferentes pré-tratamentos da palha de bananeira para o rendimento e eficiência biológica.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Rendimento	Entre grupos	87,32	4	21,830	17,66	1,25E-05	3,05
	Dentro dos grupos	18,54	15	1,2361			
	Total	105,86	19				
Eficiência Biológica	Entre grupos	13558,35	4	3389,5	28,99	6,68E-07	3,05
	Dentro dos grupos	1753,47	15	116,89			
	Total	15311,83	19				

Tabela 34. Comparação de médias dos testes pré-tratamento da palha de banana segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção.

Comparação entre tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s.
A x V	16,47*	8,413995	16,47*	1,675528
A x CA	29,83*	8,821574	29,83*	1,756692
A x I	28,85*	8,413995	28,85*	1,675528
A x H	37,5*	8,821574	37,5*	1,756692
CA x I	20,95*	8,413995	20,95*	1,675528
V x H	37,445*	8,413995	37,445*	1,675528

\*Diferença significativa



### b) Palha de arroz

Como pode ser observado através das Figuras 30 e 31, anexo A11 e das Tabelas 36 e 37, o melhor desempenho em termos de rendimento (76,0%) e de eficiência biológica (8,8%) foi verificado no substrato tratado por pasteurização a vapor, suplementado com 5% de carbonato de cálcio (VCa), apresentando-se significativamente superior em relação ao substrato submetido à pasteurização a vapor (V), sem suplementação.

Os valores obtidos no tratamento em autoclave ( $R = 74,5$  e  $EB = 8,1$ ) foram mais elevados do que os proporcionados pela pasteurização por vapor ( $R = 49,4$  e  $EB = 6,3\%$ ) e por imersão ( $R = 35,8$  e  $EB = 4,6\%$ ). O tratamento submetido à pasteurização a vapor, com suplementação do substrato com 5% de carbonato de cálcio, superou o tratamento por esterilização em autoclave, porém sem diferença significativa entre ambos ( ).

O comportamento de cultivo de *P. sajor-caju*, nos diferentes pré-tratamentos da palha de arroz, apresentou tempo de emissão de primórdios relativamente uniforme. O número de fluxos emitidos pode ser observado na Tabela 35 e coincide com os resultados obtidos nos índices de produção, sendo maior nos tratamentos que apresentaram melhor rendimento e eficiência biológica ( VCa e A).

Tabela 35. Número de fluxos de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz, submetida a diferentes pré-tratamentos.

<i>Pleurotus sajor-caju</i> em palha de arroz.	Tratamento do substrato			
	A	V	I	Vca
Número de fluxos	4	3	3	4
Tempo de emissão de primórdios (dias)	24	22	22	21

Tabela 36. Análise de variância – fator único dos diferentes pré-tratamentos da palha de arroz para o Rendimento e Eficiência biológica.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Rendimento	Entre grupos	5799,1	3	1933,04	16,93	3,21E-05	3,238
	Dentro dos grupos	1826,7	16	114,17			
	Total	7625,8	19				
Eficiência Biológica	Entre grupos	52,892	3	17,63	19,15	1,52E-05	3,238
	Dentro dos grupos	14,728	16	0,920			
	Total	67,621	19				

Tabela 37. Comparação de médias dos testes pré-tratamento da palha de arroz, segundo o teste de Duncan ao nível de significância de 0,05%, para os parâmetros de produção.

Comparação entre tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)	
	Diferença de médias	d.m.s	Diferença de médias	d.m.s.
Vca x A	1,5	16,0169	0,7	1,43822
V x A	25,1*	16,0169	1,85*	1,43822
A x I	38,7*	16,797	3,5*	1,50826
Vca x V	26,6*	16,797	2,55*	1,50826
Vca x I	40,2*	17,2831	4,2*	1,55192

\*Diferença significativa

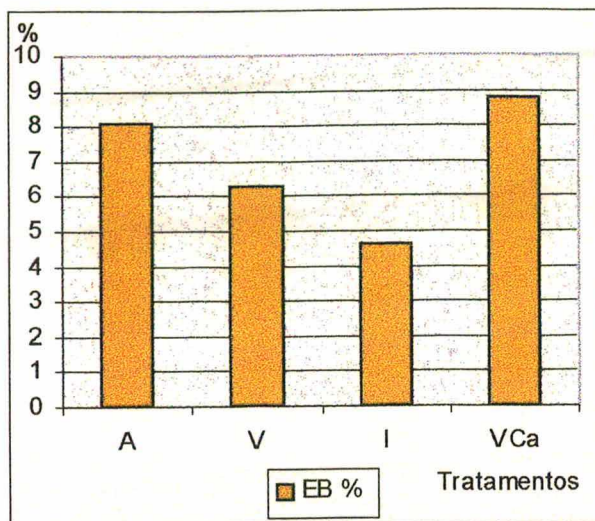


Figura 30. Rendimento de *P. sajor-caju*, em palha de arroz submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por vapor (V); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor + suplementação com sulfato de cálcio (VCa).

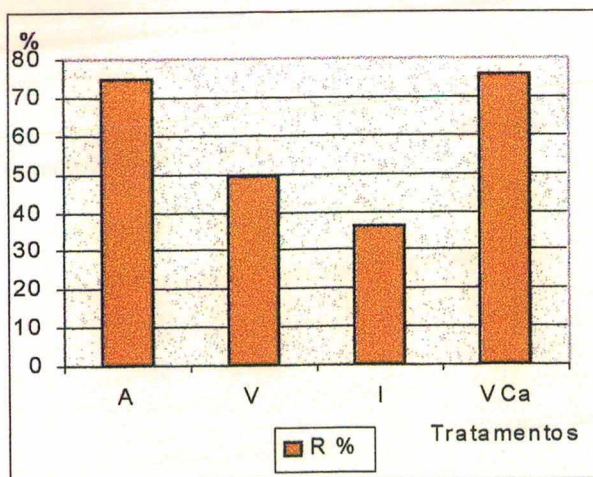


Figura 31. Eficiência biológica de *P. sajor-caju*, em palha de arroz submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por vapor (V); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor + suplementação com sulfato de cálcio (VCa).

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial

#### a) Substrato TDA (trigo, dextrose e ágar)

A velocidade média e o perfil de crescimento micelial radial muito semelhantes das linhagens de *P. sajor-caju* e *P. ostreatus*, apresentados neste experimento estão de acordo com os resultados de MAZIERO (1990), ao comparar o crescimento micelial de *P. ostreatus*, com *P. sajor-caju* e *Pleurotus* sp “Florida”, a 25 °C, que constatou apenas uma ligeira superioridade de *P. ostreatus*, seguido por *P. sajor-caju* e, finalmente, *Pleurotus* sp “Florida”. No entanto, ao incubar as linhagens a 30 °C a autora não observou diferenças significativas, porém *P. sajor-caju* apresentou crescimento micelial ligeiramente inferior às demais linhagens. Também KHAN & SIDDIQUI (1989) compararam o crescimento de várias linhagens de *Pleurotus*, a 25 °C, em meio composto por ágar malte. Os autores constataram um crescimento mais rápido para as linhagens de *P. ostreatus*, seguidas por *P. sajor-caju* e *Pleurotus* sp “Florida”.

#### b) Substratos palha de bananeira e palha de arroz

Ao contrário da palha de bananeira, onde a linhagem *P. ostreatus* CCB 001 apresentou um desempenho melhor do que a linhagem *P. ostreatoroseus* CCB 016, na palha de arroz as duas linhagens apresentaram perfil de crescimento semelhante, completando a colonização da placa ao mesmo tempo. A velocidade média de crescimento micelial das linhagens em palha de bananeira foi semelhante ou superior à velocidade observada em palha de arroz.

## 6.2. Avaliação do desempenho de linhagens e do uso de suportes alternativos para a produção de inóculo ("spawn") através do crescimento micelial radial

A maior velocidade média de crescimento micelial constatada com a linhagem *P. sajor-caju* CCB 019, no suporte contendo arroz com casca, pode estar relacionada com a maior afinidade dessa linhagem, com substratos contendo elevado teor de lignina. Segundo MADAN *et al.* (1987), a identificação desta espécie foi feita por JANDAİK & KAPOOR (1976), que isolaram uma linhagem que crescia naturalmente em tronco de *Euphorbia royleans* Boiss, na região do Himalaia. Os mesmos autores relatam que seu cultivo em troncos de *Ficus canica* foi feito por KHAN & KHATOON (1989).

O crescimento micelial mais lento e mais tênue, para todas as linhagens, na serragem suplementada com farelo de arroz é confirmado por testes de colonização de *Pleurotus* em diferentes substratos, conduzidos por MAZIERO (1990). Todos os substratos compostos por serragem apresentaram crescimento micelial lento e pouco denso, com exceção da serragem do tambeiro (*Alchornea triplinervea*) e da falsa seringueira (*Ficus elastica*). A baixa concentração de carboidratos solúveis, de nutrientes e o elevado teor de lignina, conferem à madeira uma maior resistência ao ataque fúngico, sendo, portanto, degradada mais lentamente, quando comparada com os demais substratos vegetais. No entanto, a principal fonte de resistência da madeira tem sido frequentemente atribuída à presença de substâncias tóxicas presentes no cerne, que inibem o desenvolvimento micelial, o que pode ter ocorrido com a serragem de pinus utilizada.

A menor taxa de contaminação apresentada pelo substrato composto de arroz sem casca de segunda categoria, pode ser consequência de seu baixo pH inicial e baixo teor de umidade inicial, quando comparado com os demais. Segundo ZADRAZIL (1978), o pH baixo concorre para garantir uma vantagem seletiva para *Pleurotus* em relação aos agentes contaminantes. Da mesma forma, o teor de umidade mais elevado dos demais substratos, variando de 51,6% a 63,4 % também pode ter favorecido a contaminação. A maior taxa de contaminação foi de 20%, ocorrendo no substrato composto de grão de trigo.

A maior incidência de desidratação de substrato nas linhagens que apresentaram crescimento micelial menos denso, sugere que a presença de micélio sobre o substrato pode contribuir para a manutenção do teor de umidade.

A diferença não significativa entre as velocidades de crescimento micelial proporcionadas pelos substratos grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria, testados para “spawn”, conduziram à decisão de testar o desempenho dos mesmos na frutificação, descartando-se somente o substrato serragem com farelo de arroz.

Em função da velocidade de crescimento mais elevada apresentada pelas linhagens *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615, nos substratos de frutificação (palha de bananeira e de arroz), em relação às demais e da diferença não significativa entre suas velocidades nos suportes para “spawn”, estas duas linhagens foram selecionadas como possuidoras de maior potencial para os trabalhos posteriores de frutificação, visando a conversão dos resíduos lignocelulósicos constituídos de palha de arroz e palha de bananeira, em biomassa microbiana de elevado valor nutricional.

### **6.3. Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para “spawn” e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato**

O período de cultivo é importante para a viabilização econômica de uma exploração comercial, sendo interessante que a linhagem comercial seja precoce na emissão de primórdios e de ciclo curto. O período de cultivo, segundo STURION (1994), sob condições ideais de crescimento, é de aproximadamente 70 dias, dos quais os primeiros 30 a 40 dias correspondem ao tempo de colonização do substrato pelo micélio e os demais são referentes à frutificação. Neste trabalho, a linhagem *P. sajor-caju* se comportou dentro dos padrões observados pela autora.

Já o atraso da linhagem *P. ostreatus* na emissão de primórdios foi o responsável pelo longo ciclo de cultivo apresentado, uma vez que o tempo de frutificação foi curto (4 a 7 dias). Este atraso, apesar do desenvolvimento do micélio ter sido intenso e de acordo com o previsto pela literatura, de 15 a 20 dias, pode ter ocorrido em função da temperatura de

cultivo adotada ter sido superior ao recomendado por ZERVAKIS & BALIS (1992), e muito próxima do limite máximo recomendado por ZADRAZIL (1978), SOHI & UPADHYAY(1989) e MAZIERO (1990). Outra possibilidade, pode ter sido a insuficiência do choque térmico necessário para a indução de primórdios. A redução da temperatura foi de 5°C, o que pode não ter caracterizado um choque térmico para a linhagem *P. ostreatus*. As demais alterações nas condições ambientais exigidas nesta fase, foram todas realizadas (luz, abertura dos sacos para entrada de oxigênio, circulação de ar para retirada de gás carbônico e aumento da umidade do ar através de pulverização ou do uso de umidificadores de ambiente).

Os resultados obtidos estão de acordo com os de ZERVAKIS & BALIS (1992) em relação à maior precocidade de *P. sajor-caju* e ao ciclo tardio de *P. ostreatus*, apesar dos valores obtidos pelos autores terem sido maiores em relação *P. sajor-caju* e menores para o ciclo de *P. ostreatus*. Os autores cultivaram quatro linhagens de *Pleurotus*, entre as quais *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*, em palha de trigo e sabugo de milho, suplementados com carbonato de cálcio e farelo de trigo, em temperaturas de 15 e 22 °C. A emissão de primórdios de *P. sajor-caju* variou de 39 a 48 dias, sendo mais precoce em palha de trigo e a 22 °C. Para *P. ostreatus*, a emissão de primórdios ficou entre 48 e 61 dias sendo mais retardada em palha de trigo, a 15 °C.

STURION (1994) registrou dados de ciclos ligeiramente tardios no cultivo de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira, obtendo o aparecimento de primórdios entre 34 e 54 dias, com 46 a 51 dias de frutificação e 82 a 100 dias de período total de cultivo, com 4 a 5 fluxos. O atraso na emissão de primórdios é explicado pela autora como consequência da temperatura de cultivo limitante, a qual estaria no limite mínimo recomendado por MAZIERO (1990), para a linhagem.

MAZIERO (1990) determinou a produtividade de diferentes linhagens, observando valores muito baixos, apesar de confirmar a maior produtividade e precocidade da linhagem *P. sajor-caju* em relação a *P. ostreatus*. Para duas linhagens de *P. ostreatus* foram obtidos rendimentos de 1,92 e 27,01 % e eficiência biológica de 1,57 e 3,23% . Já para a linhagem de *P. sajor-caju* testada, os valores de rendimento (R) e eficiência biológica (EB) foram de 40,7 e 6,1 %, respectivamente.

Os resultados obtidos neste trabalho são similares aos de STURION (1994), em trabalho realizado com *P. sajor-caju*, em palha de bananeira, obtendo rendimento de 83,89%.

No entanto, estes resultados são inferiores aos reportados por PATRABANSH & MADAN (1995), que registraram rendimento de 119,8% e eficiência biológica de 11,2% cultivando *P. sajor-caju* em palha de arroz e aos apresentados por BISARIA *et al.* (1986), que avaliaram o desempenho de *P. sajor-caju* em palha de arroz e folhas de bananeira, obtendo índices de eficiência biológica de 1,24 Kg/Kg e 1,25 Kg/Kg respectivamente, os quais são citados como recordes.

Apesar de inferiores, os valores obtidos sugeriram um bom potencial para produção comercial, especialmente quando idealizada sob a perspectiva do uso de suplementação.

A variação da PMO normalmente está relacionada com a composição química diferenciada dos substratos, que pode oferecer substâncias mais ou menos degradáveis, variando também o seu teor apresentado. ZADRAZIL & BRUNNERT (1981) correlacionaram o aumento da perda de matéria orgânica com o aumento do período de incubação que precede a emissão de primórdios. Ao aumentarem o tempo de incubação de *P. sajor-caju* em palha de trigo, obtiveram aumento proporcional na degradação do substrato. Neste trabalho, esta correlação não foi verificada, uma vez que *P. ostreatus* apresentou um período de incubação de 87 a 92 dias, contra 27 a 36 dias de *P. sajor-caju*, observando-se uma PMO ligeiramente inferior.

RAJARATHNAM & BANO (1989) constataram em seus estudos que uma maior capacidade de degradação dos substratos lignocelulósicos, coincide com um maior rendimento. No presente estudo esta correlação também não foi estabelecida nem para o rendimento, nem para a eficiência biológica.

Pelos resultados obtidos neste trabalho e em função da temperatura média anual da região estar inserida na amplitude térmica ideal para o desenvolvimento de *P. sajor-caju* CCB 019, a referida linhagem foi selecionada para a realização dos experimentos posteriores de suplementação e tratamento de substratos. A linhagem *P. ostreatus* CCB 615 poderá ter potencial de utilização comercial durante o período de inverno, em condições de temperaturas mais baixas, possivelmente reduzindo seu ciclo através da indução de emissão de primórdios com um choque térmico mais acentuado.



O preparo de "spawn" para cultivo comercial de *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615, poderá ser realizado em substrato composto de grão de trigo ou de arroz com casca. O menor custo e a maior disponibilidade do segundo deve favorecer o seu uso preferencial.

#### **6.4. Determinação da fração de inóculo através da avaliação dos índices de produção e da degradação do substrato**

As percentagens de inóculo de 5% e 10% em relação ao peso seco do substrato, usadas neste experimento, correspondem a 1,25 e 2,5% do peso úmido do substrato, respectivamente, levando em consideração que o substrato apresentou 75% de umidade.

A proporção de inóculo utilizada em relação ao substrato, deve ser suficiente para permitir que o micélio colonize rapidamente todo o substrato, antes que os agentes contaminantes o façam. Sua distribuição homogênea no substrato é outro fator decisivo na colonização do substrato, devendo haver o maior número possível de pontos de crescimento.

Ao comparar os resultados obtidos neste trabalho, com os apresentados por STURION (1994), ao cultivar *P. sajor-caju* em palha de bananeira, pode-se observar que o rendimento obtidos pela autora, de 83,89 % maior do que os obtidos neste trabalho, quando se usou a fração de inóculo de 5%. No entanto, ao se usar a fração de inóculo de 10% (peso seco), obteve-se índices superiores aos da autora. A PMO de 59,45 % foi inferior aos valores obtidos neste experimento. É interessante salientar que a fração de inóculo, usado pela autora, foi muito elevada, de 6 %, em relação ao peso úmido do substrato, o que equivale a 25 % de inóculo em relação ao peso seco do substrato, valor este superior ao que comumente é recomendado. Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), a quantidade de inóculo deve variar de 0,5 a 5,0% do peso úmido do substrato, quando se utiliza "spawn" de grãos, podendo chegar eventualmente a 10 %.

As baixas frações de inóculo utilizadas neste trabalho representam, portanto, uma economia significativa na quantidade de "spawn" utilizada, fator este que pode ser muito interessante, especialmente, quando transferido para o caso de um cultivo comercial.

RAJARATHNAM & BANO (1988) descrevem o cultivo comercial de *P. flabellatus*, em palha de arroz, usando “spawn” em palha, na proporção de 10% em relação ao peso úmido do substrato. Esta metodologia também representa uma alternativa para a redução do custo do “spawn” preparado, que poderá ser averiguada em estudos posteriores.

### **6.5. Avaliação da suplementação de substratos através dos índices de produção e da degradação do substrato**

#### **a) Palha de bananeira**

Em estudo relatado por RAJARATHNAM & BANO (1988), sobre as alterações ocorridas nos constituintes da palha durante os diferentes estágios de crescimento de *Pleurotus*, foi observado que teores de nitrogênio significativamente maiores do que de carboidratos eram metabolizados durante a formação dos corpos frutíferos, sugerindo que o nitrogênio pode ser um fator promotor do incremento da produtividade. O uso de suplementos ricos em nitrogênio pode, portanto, justificar a elevação do rendimento em relação ao teste da testemunha.

Os resultados obtidos são superiores aos reportados por STURION (1994), que ao cultivar *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, obteve 83,89% de rendimento e 59,45 % de perda de matéria orgânica. No entanto, BISARIA *et al.* (1987) relatam índices de produção superiores para o cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em folha de bananeira, obtendo 125% de rendimento e 10,25% de eficiência biológica. Quando o substrato, folha de bananeira, foi misturado com palha de sorgo, os resultados foram inferiores para o rendimento (112%) e incrementados para a eficiência biológica (11%).

A elevação do rendimento em relação à testemunha (T), de 18,1 e 23,6 % com o uso da suplementação com farelo de arroz a 5% (F1) e extrato de levedura a 1% (Y1), respectivamente, no cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira, justifica a recomendação desta prática. Sendo o custo de suplementação com farelo de arroz significativamente inferior ao do extrato de levedura e não sendo os índices de produção significativamente diferentes, pode-se recomendar o uso de farelo de arroz a 5% (p/p), na suplementação da palha de bananeira, para o cultivo comercial de *Pleurotus sajor-caju*

## b) Palha de arroz

Os resultados obtidos neste trabalho, usando concentrações de 0,5 (N1) e 1,0 % (N2) de nitrato de amônia, estão de acordo com os obtidos por ZADRAZIL (1980), que ao cultivar *P. sajor-caju* em palha de trigo, suplementada com nitrato de amônia, obteve aumentos na eficiência biológica, usando concentrações de 0,25% e 0,75%. No entanto, ao aumentar a concentração de nitrato de amônia para 1,25%, o autor constatou uma redução na eficiência biológica. A comparação entre os resultados, sugere que o limite máximo da concentração do nitrato de amônia como suplemento pode estar em torno de 1,0%. Os valores de eficiência biológica, obtidos pelo autor, usando a suplementação com nitrato de amônia foram baixos (variando de 2,93 % a 5,03 %) quando comparados com os valores obtidos neste trabalho, com os meios N1(8,89 %) e N2 (9,8 %).

Em estudos usando suplementação com fontes orgânicas de nutrientes, o autor obteve resultados superiores àqueles obtidos pela suplementação com nitrato de amônia. Os índices de eficiência biológica apresentados para as fontes orgânicas foram elevados, variando de 7,21 a 11,51% para o farelo de soja e de 7,48 a 11,89% usando farelo de alfafa. Os suplementos foram fornecidos em concentrações crescentes de 5 até 40%. Os incrementos na eficiência biológica, na perda de matéria orgânica e no aumento do teor de nitrogênio nos corpos frutíferos foram proporcionais ao aumento da concentração do farelo de soja e do farelo de alfafa. Neste trabalho, esta correlação entre o aumento da concentração do suplemento com os aumentos da eficiência biológica e da perda de matéria orgânica não se confirmou para os suplementos orgânicos usados, sendo observada somente no meio suplementado com o nitrato de amônia.

RAJARATNAM & BANO (1988) constataram a preferência do gênero *Pleurotus* spp. por fontes orgânicas de nitrogênio em detrimento das fontes inorgânicas. Ao suplementarem a palha de arroz com nitrato de amônia, no cultivo de *P. flabellatus*, antes da inoculação, não conseguiram frutificação e com o farelo de arroz foram produzidos 385 g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco. Realizando a mesma suplementação após a colonização do substrato, "spawn run", os índices obtidos com o farelo de arroz foram de 435 g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco, contra 370 g de cogumelos frescos obtidos com nitrato de amônia. No presente estudo, os índices de produção dos meios

suplementados com farelo de arroz e com nitrato de amônia, não apresentaram diferenças significativas.

RINKER (1987), testando a influência da suplementação das palhas de trigo e cevada com farelo de canola e resíduo de cervejaria, na produção de *P. ostreatus*, confirma o aumento da eficiência biológica em todas as concentrações utilizadas, apesar da redução no tamanho dos corpos frutíferos. Esta última observação não foi constatada neste trabalho.

Os resultados obtidos neste trabalho foram inferiores aos relatados por BISARIA *et al.* (1987) que, cultivando *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz, obtiveram rendimento de 124% e quando usaram sementes de algodão como suplemento conseguiram um rendimento de 148%, rendimentos estes considerados recordes. No entanto, ao suplementarem a palha de arroz com frutos de ficus e folhas de neem, o rendimento foi reduzido para 99 e 93 %, respectivamente.

Em função de todos os experimentos de suplementação terem conduziram a uma elevação no rendimento, porém sem diferenças significativas, e sendo o custo de suplementação com o farelo de arroz menor e não sendo os índices de produção significativamente diferentes dos outros tratamentos, pode-se recomendar o seu uso, na suplementação da palha de arroz, para o cultivo comercial de *Pleurotus sajor-caju*. A concentração de 5% deverá ser preferida, pois proporcionou índices de produção ligeiramente superiores à concentração de 10%, além de ser menos onerosa.

Apesar dos índices de produção obtidos neste trabalho, se mostrarem inferiores àqueles obtidos por BISARIA *et al.* (1987), os mesmos podem ser considerados promissores, quando comparados com os valores obtidos por ZADRAZIL (1980) e RAJARATNAM & BANO (1988). Paralelamente, o aproveitamento da palha de arroz para a produção de *Pleurotus sajor-caju* pode representar uma alternativa economicamente viável para agregar valor aos resíduos da cultura do arroz irrigado e proporcionar uma renda alternativa para o produtor durante o período de entre-safra.

## 6.6. Avaliação da influência do pré-tratamento do substrato

### a) Palha de bananeira

Os dois tratamentos, pasteurização por imersão (I) e imersão em hidróxido de cálcio (Ca), resultaram em índices significativamente superiores àqueles obtidos usando-se substrato esterilizado em autoclave. RAJARATHNAM *et al.* (1992) determinam o objetivo do pré-tratamento do substrato como sendo o de permitir o crescimento rápido e denso do micélio, inibindo, seletivamente, o desenvolvimento de fungos competidores, pela nutrição proporcionada pelo substrato. Segundo os autores, o pré-tratamento deve promover a extração e remoção dos compostos solúveis que favorecem a contaminação e tornar as fibras de celulose mais acessíveis à ação das enzimas degradativas, fato que pode ter ocorrido nos tratamentos I e Ca, uma vez que ambos foram submetidos à imersão.

A maior precocidade na emissão de primórdios apresentada no tratamento em autoclave, conferida pela esterilização é justificada por MAZIERO & ZADRAZIL (1994), fazendo uma correlação com o pH do substrato. As palhas autoclavadas adquirem geralmente um pH próximo da neutralidade (~ 6,8) e o crescimento micelial implica na secreção de exoenzimas, polissacarídeos, antibióticos e diversos ácidos orgânicos, principalmente o ácido oxálico, os quais reduzem o pH. Como a emissão de corpos frutíferos é favorecida quando o pH está em torno de 5,5, é mais fácil e mais rápido para o fungo, reduzir o pH de substratos esterilizados. De fato, o pH da palha autoclavada foi o que apresentou valores mais baixos de (pH =6,29) e os dois tratamentos com emissão de primórdios mais tardia (31 e 34 dias), foram justamente os que adquiriram pH mais elevado: tratamento com hidróxido de cálcio (Ca), com pH de 10,33 e tratamento com hipoclorito de sódio (H), com pH de 7,72.

O baixo desempenho do tratamento a vapor, pode estar relacionado ao menor teor de umidade apresentado pelo substrato (72,8%), inibindo o crescimento do micélio, apesar do substrato ter sido submetido ao vapor por 4 horas. Este inconveniente poderá ser evitado, submetendo previamente o substrato à imersão, para promover uma hidratação mais eficiente, aumentando, provavelmente os índices de rendimento e eficiência biológica. RAJARATHNAM & BANO (1988) recomendam um teor de umidade mínimo de 75% para um perfeito crescimento do micélio.

Comparando os valores médios de rendimento com os de eficiência biológica, pode-se observar que os primeiros são proporcionalmente inferiores. A influência de um teor de umidade relativa do ar reduzido, provocado pela manutenção da temperatura em 25 °C, no inverno, pelo ar condicionado, durante a noite, sem a compensação dos umidificadores, pode ter sido a causa de um menor teor de umidade nos corpos frutíferos. Desta forma, os valores da eficiência biológica poderão expressar melhor o potencial de desempenho de cada tratamento, uma vez que consiste na relação entre o peso seco dos corpos frutíferos e o peso seco do substrato, justificando a adoção do conceito de eficiência biológica elaborado por BISARIA (1986).

A ausência de pigmentação nos corpos frutíferos do tratamento com hipoclorito de sódio, pode ser atribuída à toxidez dos resíduos, bloqueando seu processo de formação e inibindo o crescimento do micélio, podendo ser também a causa dos baixos índices de produção apresentados.

RAJARATHNAM & BANO (1988) cultivaram *P. flabellatus* em palha de arroz, submetida a diversos tratamentos, usando imersão em formaldeído, seguida de lavagens em soluções de hidróxido de cálcio e uréia para retirada de resíduos do formaldeído, sendo que a maior produção de corpos frutíferos frescos (300g/Kg de substrato seco) foi obtida com o tratamento por imersão em formaldeído (800 ppm), seguido de permeação com solução de hidróxido de cálcio (0,004%), realizando o controle de *S. rolfsii*. Os autores testaram também a imersão em amônia líquida seguida de lavagem em diversos ácidos, entre eles o ácido clorídrico, obtendo uma produção de 210 g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco. Os resultados obtidos foram considerados sem viabilidade comercial, especialmente em função do custo elevado dos tratamentos.

Neste experimento, buscou-se avaliar tratamentos menos onerosos, que pudessem se adaptar ao cultivo comercial. Os resultados obtidos na palha de bananeira levam à recomendação de adoção do tratamento de pasteurização por imersão em água a  $80 \pm 5^\circ\text{C}$  por 2 horas (I) ou a imersão em solução de hidróxido de cálcio a 1% (Ca), que resultaram nos rendimentos respectivos de 853 e 862 g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco.

## b) Palha de arroz

O rendimento de 74,5% e a eficiência biológica de 8,1%, do tratamento feito em autoclave (A) é considerado baixo, quando comparado com o índice de 1,22 Kg/Kg, obtido em palha de arroz autoclavada e inoculada com *P. sajor-caju*, por PATRABANSH & MADAN (1997). A temperatura de incubação (25 °C) utilizada neste experimento pode ter sido a causa dos índices de produção mais baixos, quando comparados com os valores obtidos nos experimentos de suplementação. O fato de a temperatura ter sido 5 °C menor, em função da disponibilidade de somente uma câmara para incubação e frutificação, promoveu um menor crescimento micelial, logo, uma menor colonização do substrato, resultando em menores índices de produção. Os demais fatores (temperatura, aeração e luz) foram mantidos inalterados.

ZERVAKIS & BALIS (1992), cultivando *P. sajor-caju* em palha de trigo, suplementada com 20% de farelo de trigo e 0,6% de carbonato de cálcio obtiveram, após esterilização em autoclave, rendimento de 114%. HOUDEAU *et al.* (1991) relatam o uso de 10% de carbonato de cálcio como suplemento na palha de trigo. O incremento significativo dos índices de produção proporcionado pelo tratamento a vapor com carbonato de cálcio em relação ao vapor sem este suplemento, pode estar relacionado com as observações de ZADRAZIL (1974), com relação ao crescimento micelial em função do pH do substrato. Segundo o autor, em condições de pH inicial do substrato elevado, o crescimento micelial é acelerado, de forma a permitir uma rápida acidificação, situando o pH na sua faixa mais favorável, de 5,0 a 6,0. De fato, a colonização do substrato submetido a este tratamento (Vca) foi extremamente rápida, apresentando-se totalmente branco já na primeira semana após a inoculação, além de formar um micélio muito denso.

Baixos índices, similares aos do tratamento por imersão (360g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco), foram obtidos por BANO *et al.* (1978), com *P. flabellatus* em palha de arroz (460 g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco), tratada por imersão a 65°C, por 15 minutos.

RAJARATHNAM & BANO (1988) relatam testes realizados com *P. flabellatus*, comparando os efeitos dos tratamentos da palha de arroz com vapor a 60°C e por imersão a

60°C, durante períodos de 10 e 20 minutos. Os autores não obtiveram formação de corpos frutíferos no primeiro tratamento e no segundo a produção foi de 440 g de cogumelos frescos por Kg de substrato seco, obtendo o controle do crescimento de *S. rolfsii*. Nos pré-tratamentos de substrato realizados neste experimento não foi observado o desenvolvimento de microrganismos contaminantes.

Em função dos resultados obtidos, o tratamento da palha de arroz recomendado para a produção de *P. sajor-caju*, deverá ser a pasteurização por vapor quente, a 65-75°C por 2h, com suplementação de carbonato de cálcio a 5%, o qual resultou em 760 g de cogumelo fresco por Kg de substrato seco.

Os resultados apresentados nos itens 4.4. e 4.5. não apresentaram diferenças significativas para o teste T de Student, com o nível de significância de 95%. Atribui-se esses resultados aos elevados desvios padrões apresentados em alguns dos testes realizados, que ocorreram, provavelmente, devido ao número baixo de amostras (repetições) e também ao fato de se estar trabalhando com organismos vivos. Desvios padrões da mesma ordem de grandeza foram também relatados por STURION (1994) em substrato composto por palha de bananeira.



## 7. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos durante a condução dos experimentos deste trabalho, pode-se concluir que:

1. as linhagens *Pleurotus sajor-caju* CCB 019 e *Pleurotus ostreatus* CCB 615 apresentaram, em todos os substratos avaliados, maior crescimento micelial, em relação às demais linhagens testadas na pré-seleção em placas de Petri;
2. a linhagem *Pleurotus sajor-caju* CCB 019 apresentou crescimento micelial vigoroso, precocidade na emissão de primórdios (23 a 35 dias) e maiores índices de produção em relação à linhagem *Pleurotus ostreatus* CCB 615, além de apresentar suas exigências térmicas inseridas na faixa de amplitude das condições regionais, representando, portanto, uma linhagem apta para a produção comercial, sem necessidades de estruturas de climatização.
3. a linhagem *Pleurotus ostreatus* CCB 615 apesar de possuir um ciclo produtivo tardio, em relação a *Pleurotus sajor-caju* CCB 019 para a emissão de primórdios (diferença de 54 dias a mais), apresenta elevado crescimento micelial e bom potencial de produção de corpos frutíferos.
4. a palha de bananeira apresentou, de um modo geral, índices de produção superiores àqueles obtidos em palha de arroz, atingindo valores máximos de rendimento e eficiência biológica de 114,9% e 11,3 %, respectivamente;
5. o preparo de “spawn” para cultivo comercial poderá ser realizado em substrato composto de grão de trigo ou de arroz com casca, sem prejuízos significativos na produção. O menor custo e maior disponibilidade do segundo deve favorecer o seu uso preferencial, tanto para a inoculação do substrato composto de palha de arroz, quanto de palha de bananeira;

6. a fração de inóculo de 10% em relação ao peso seco do substrato, sem suplementação, proporcionou um bom desempenho produtivo (R=93,0%, EB=9,0%).

7. em função de proporcionar um bom desempenho na produção de corpos frutíferos, apresentar baixo custo e haver disponibilidade de obtenção em quantidades relevantes na região, pode-se recomendar o uso de farelo de arroz na suplementação das palhas de arroz (R=84,4%) e de bananeira (104,8%), a uma concentração de 5%, para o cultivo comercial de *Pleurotus sajor-caju*;

8. os pré-tratamentos da palha de bananeira recomendados para a produção de *P. sajor-caju* foram a pasteurização por imersão em água a  $80 \pm 5^\circ\text{C}$  por 2 horas ou a imersão em solução de hidróxido de cálcio a 1% por 12 horas;

9. na palha de arroz, o pré-tratamento recomendado para a produção de *P. sajor-caju*, foi a pasteurização por vapor quente, a  $65-75^\circ\text{C}$  por 2h, suplementada com carbonato de cálcio a 5%.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, D. - **Cultivation of the oyster mushroom in traditional brick pots.** *Mycologist* 9 (4): 179-181. 1996

ADARNOVIC, M.; GRUBIC, G.; MILENKOVIC, I, JOVANOVIC, R.; PROTIC, R.; SRETENOVIC, L.; STOICEVIC, L. - **The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding.** *Animal Feed and Technology*, 71: (3-4) 357-362. 1998

AGENDA 21 - Secretaria da Agricultura e Meio Ambiente – SAMA./Governo de Joinville – SC. 266 p. 1997

AGUILLERA, M. M. - **Controle biológico de insetos com nematóides.** In. *4º Simpósio de Controle Biológico.* Apostila 9p. Gramado- RS. 1994

ARROZ IRRIGADO. - **Recomendações Técnicas de Pesquisa para o Sul do Brasil.** 4 ed. Itajaí – SC: EPAGRI/ EMBRAPA – CPACT/IRGA, 80 p. 1997

ATLAS; R.M. - **Enumeration and estimation of microbial biomass.** in: Burns, R.E.; SLATER, J.H. *Experimental Microbial Ecology*, 84-102. Blackwell Scientific Publications. 1982

BANO,Z.; RAJARATHNAM,S.; NAGARAJA,N. - **Some aspects on the cultivation of *Pleurotus flabellatus* in India.** Mushroom Science X (Part II) *Proceedings of the Tenth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi*, França, p. 597-608. 1978.

BARBOSA,M.C.S., SOCCOL, C.R., TODESCHINI. M.L., FLORES,T. - **Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in cassava waste.** Em: Seminário de Hidrólise Enzimática. 1996

BASSHAM, J. A. - *Biotechnology and Bioengineer Symposium* No 5. 9. 1975

BIZARIA, R., MADAN,M., BISARIA,S. - **Biological Efficiency and Nutritive Value of *Pleurotus sajor-caju* Cultivated on Diferent Agro-wastes.** *Biological Wastes*. 19 : 239-255. 1987

BHATTI, M.A.;PERWAZ, N.Z.; MUHAMMAD, D.; MUKHDUM, M.I. RIAZ, R.A.; KHAN, S.M. - **Effect of blanching and storage conditions on the chemical composition of oyster mushrooms.** *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 32 (3): 201-206. 1990

BODEK,P.; OZDIN,L.; GINTER,E.; JURCOVICOVA, M.; KUNIAK,L - **Hypolipemic action of *Pleurotus ostreatus* and crude fiber and fungal polyssaccharide isolated from it on Syrian hamsters with hyperlipoproteinemia.** *Ceskoslovenska Gastroenterologie a Vyziva* 44 (2): 99-106. 1990

BODEK,P.;GINTER,E.; JURCOVICOVA, M.; KUNIAK, L. - **Cholesterol lowering effect of the mushroom *Pleurotus ostreatus* in hereditary hypercholesterolemic rats.** *Annals of Nutrition & Metabolism* 35 (4): 191-195. 1991

BODEK. P.; OZDIN, L.; - **Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on composition and distribution of lipoproteins in rats fed high-cholesterol and low cholesterol diet.** *Biologia*, Bratislava, 49/3: 405-410. 1994

BODEK. P.; OZDIN, L.; KUNIAK, L. - **Mechanism of hypocholesterolemic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats: reduction of cholesterol absorption and increase of plasma cholesterol removal.** *Z Ernährungswiss* 33: 44-50. 1994

BODEK,P.; OZDIN,L.; MIKUS,M. - **Dietary oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) accelerates plasma cholesterol turnover in hypercholesterolaemic rat.** *Physiological Research* 44 (5): 287-291. 1996

BOGAN,B.W.; LAMAR, R.T.; - **Surfactant enhancement of white-rot fungal PAH soil remediation.** . *Int. In Situ On-Site Bioremediation Symposium, 5 th.* 8, 81-86. 1999

BONONI,V.L.; MAZIERO,R.; CAPELARI,M. - ***Pleurotus ostreatoroseus* cultivation in Brazil.** *Science and Cultivation of Edible Fungi*, Maher, Rotterdam,. 1991.

BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; & TRUFEM, S.F.B. - **Cultivo de cogumelos comestíveis,** São Paulo; Ícone. 1995

BORCH-ERS,A.T.; STERN, J.; HACKMAN, R.M.; KEEN, C.L.;GERSHWIN,M.E.- **Mushrooms, tumors and immunity.** *Proc. Soc. Exp. Biological Medicine.* 221 (4), 281-293. 1999

BUSWELL, J.A.; CHANG. S.T. - **Biomass and extracellular hydrolytic enzyme production by six mushroom species grown on soybean waste.** *Biotechnology Letters*, Vol 16. No. 12, 1317-1322. 1994

CAMPOS,V.P.- **Controle biológico de fitonematoides com fungos predadores.** In. 4<sup>o</sup> *Simpósio de Controle Biológico.* Apostila. 12p. Gramado- RS. 1994

CHANG,S.T. & HAYES,W.A. - **The biology and cultivation of edible mushrooms.** *Academic Press, INC.* 810 p. 1978

CHANG, S.T.; LAU, W.; CHO, K.Y. - **The Cultivation and Nutritional Value of *Pleurotus sajor-caju*.** *European Journal of applied Microbiology and Biotechnology*12: 58 – 62. 1981

CHANG, S.T. - **Mushroom spawn.** em CHANG, S.T. & QUIMIO, T.H., *Tropical Mushrooms*. Hong Kong, The Chinese Univ. Press, 31-46 eds. 1984

CHANG, S.T. & MILES, P.G. - **Mushrooms: trends in production and technology development.** *Genetic Engineering and Biotechnology Monitor*. 41 42: 73 – 81. 1992

CHIU, S. W., CHING, M. L., FONG, K. L., MOORE, D. - **Spent oyster mushroom substrate performs better than many mushroom mycelia in removing the biocide pentachlorophenol.** *Mycological Research*. 102 (12), 1553 – 1562. 1998

CIHANGIR, N.; SAGLAM, N.- **Removal of cadmium by *Pleurotus sajo-caju* basidiomycetes.** *Acta Biotchnology* 19 (21), 171-177. 1999

CRISAN, E.V. & SANDS, A. - **Nutricional Value** In: CHANG, S. T. & HAYES, W. A. (1978) **The Biology and cultivation of edible mushrooms.** *Academic Press, INC.* Cap. 6 137-165. 1978

DAS-P; KARIM. M. N. - **Mass balance and thermodynamic description of solid state fermentation of lignocellulosics by *Pleurotus ostreatus* for animal feed.** *Journal of Industrial Microbiology*. 15 (1): 25-31. 1995

DIAS, E.S.; GONTIJO, C.R.L. - **Cultivo de cogumelos comestíveis (“Shiitake” e “Hiratake”).** *Boletim de Extensão*. UFLA. 35p. 1999

DOELLE, H. W. **Joint venture capital investment for clean technologies and their problems in developing countries** (1996) *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 12. 445-450. 1996

EGER, G. - **Biology and breeding of *Pleurotus*.** In. *The Biology and cultivation of Edible Mushrooms*, CHANG, S.T. & HAYES, W.A. Academic Press, 819p (497-520) 1978

EGGEN, T. ARANEDA, E. VETHE, O.; SVEUM, P. - **Degradation of aged creosoto-contaminated soil by *Pleurotus ostreatus*.** *Int. In Situ On-Site Bioremediation Symposium*, 5 th. 8, 99-104. 1999

FURLAN, S.A.; VIRMOND, L.J.; MIERS, D.A.; BONATTI, M.; GERN R.M.M.; JONAS, R. - **Mushroom strains able to grow at high temperatures and low pH values.** *World Journal of Microbiology Biotechnology* 13. 1997

GARZILLO, A.M.V; DI PAOLO, E.; BURLA, G.; BUONOCORE, V. - **Differently-induced extracellular phenol oxidases from *Pleurotus ostreatus*.** *Phytochemistry*. vol 31, No 11, 3685-3690. 1992

GARZILLO, A.M.V.; Di PAOLO, S.; RUZZI, M.; BUONACORE, V.- **Hydrolytic properties of extracellular cellulases from *Pleurotus ostreatus*.** *Applied Microbiology and Biotechnology*. 42. 476-481. 1994

GAO, J., ZHUO, J., HUANG, Y., - Isolation, purification and characterization of polysaccharide from the fruit body of *Pleurotus cornucopiae*. Food and feed Chemistry. Vol. 131, n. 22, 19 – 25. 1999

GHOSH, M.; MUKHERJEE, R.; NANDI, B. - Production of extracellular enzymes by two *Pleurotus* species using banana pseudostem biomass. *Acta Biotechnology*. 18 (3), 243-254. 1998

GRANDI, R.A.P.; GRANDI, A.C.; MAZIERO, R. - Fungos contaminantes (competidores) no cultivo de cogumelos comestíveis. *Hoechnea* 17 (2) 103-109. 1990

GOTHANDAPANI, L.; PARVATHY, K.; KENNEDY, Z. J. - Evaluation of different methods of drying on the quality of oyster mushroom (*Pleurotus* sp) *Proc. Int. Drying Symposium, 10<sup>th</sup>*. B 1449-1456. 1996

GUNDE-CIMERMAN, N. - Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr) P. Karst. (Agaricales s. l., Basidiomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*. 1 (1), 69-80p. 1999

HARMSSEN, J.; VAN DER TOORN, A.; HEERSCHE, J.; RIEDTRA, D.; VAN DER KOOIJ, A. - Use of residual substrate from mushroom farms to stimulate biodegradation of poorly available PAH. *Int. In Situ On-Site Bioremediation Symposium, 5<sup>th</sup>*. 8, 87-92. 1999

HOUDEAU, G.; OLIVIER, J. M.; LIBMOND, S.; BAWADIKJI, H. - Improvement of *Pleurotus* cultivation. *Science and Cultivation of Edible Fungi*. 549 – 554. 1991

HUSHER, J.; CESAROV, S.; DAVIS, C.M.; FLETCHER, T.S.; MBUTHIA, K.; RICHEY, L.; SPAEKS, R.; TURPIN, L. A.; MONEY, N.P. - Evaporative cooling of mushrooms. *Mycologia* 91; (2) 351-352. 1999

INFORME CONJUNTURAL; - Instituto CEPA/SC Ano XVII; N<sup>o</sup> 728 de 4 / 1999

JOHNSON, C. R. & LAMAR, R.T. - Binding of pentachlorophenol to humic substances in soil by the action of white rot fungi. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 29, 7, 1143-1148. 1997

JWANNY, E.W.; RASHAD, M.M.; ABDU, H.M. - Solid state fermentation of agricultural wastes into food through *Pleurotus* cultivation. em *Applied Biochemistry and Biotechnology*. vol. 50. 1995

KAAL, E. E. J. ; FIELD, J. A. & JOYCE, T. W. - Increasing ligninolytic enzyme activities in several white-rot basidiomycetes by nitrogen sufficient media. *Bioresource Technology* 53; 133-139. 1995

KAKKAR, V.K.; DHANDA, S. - Comparative evaluation of wheat and paddy straw for mushroom production and feeding residual straws to ruminants. *Bioresource Technology* 66: (2) 175-177. 1998

KARUNANANDAA, K; VARGA, G.A. - Colonization of crop residues by white rot fungi: Cell wall monosaccharides, phenolic acids, ruminal fermentation characteristics and digestibility of cell wall fiber componentes in vitro. *Animal, Feed Science and Technology* 63: (1-4) 273-288. 1996

KHAN, S. M. & SIDDIQUI, M.A. - Some studies on the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) on lignocellulosic by-products of textile industry. *Mushroom Science*. 12 (2): 121-128. 1989

KHAN, S. M. & SIDDIQUI, M. A. - Oyster mushroom cultivation on soft woods of Swat Valley, Pakistan. *Mushroom Science* 12 (2): 31-34. 1989

KIEHL, E.J. - Fertilizantes orgânicos. *Ed. Agronômica Ceres Ltda. São Paulo – SP.* 492p. 1985

KLIBANSKY, M.M.; MANZUR, M.; GUTIERREZ, I., GONZÁLEZ, L. - Production of *Pleurotus ostreatus* mushrooms on sugar cane agrowastes. *Acta Biotechnology*. 13 71-78. 1993

KOSARIC, N., WIECZORECK, A.; COSENTINO, G.P., MAGEE R.J., PRENOSIL, J.E. - Ethanol fermentation. *Biotechnology* n°3 Verlag Chemie Weinheim Deerfield Beach, Florida, BASEL, p 261- 385. 1983

KOTTERMAN, M.; VANLIESHOUT, J.; GROTENHUIS, T.; FIELD, J. - Development of white-rot fungi technology for PAH degradation. *Int. In Situ On-Site Bioremediation Symposium, 5 th.* 8, 69-74. 1999

KURTZMAN, JR. J.R. - Mushrooms: single cell protein from cellulose. *Annual Reports on Fermentation Processes*, vol. 3 305-339. 1979

KURTZMAN, JR. R.H. & ZADRAZIL, F. - Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms. *Em Tropical Mushrooms*, Hong Kong, The Chinese Univ. Press., Chang, S.T. & Quimio, T.H. eds 1984, 493 p. 1984

KWOK, O.C.H.; PLATTNER, R.; WEISLEDER, D.; WICKLOW, D. T. - A nematocidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL3526. *Journal of Chemical Ecology* 18(2): 127-136. 1992

LACAZ, C. S.; MINANI, P. F.; PURSHIO, A.- O grande mundo dos fungos. *Ed. universidade de São Paulo / Poligono.* 248 p. 1970

LAL, N.; PANDA, T. - Studies on protein enrichment in sawdust by *Pleurotus sajor-caju*. *Bioprocess Engineering* 12 163-165, 1995

LEONG, P.C. Utilization of cotton waste substrate with temperature treatment for the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus*) in Singapore. *J. Prim., Ind.*, 8 (1), 21. 1980

- LITCHEMBERG, L.A.; HINZ, R.H. - **Banana: Tratos culturais.** *Boletim Informativo SBF - Sociedade Brasileira de Fruticultura.* Ano XVI. No:2 Junho. 1997
- MADAN, M.; VASUDEVAN, P.; & SHARMA, S. - **Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on Different Agro-wastes.** *Biological Wastes.* 22: 241 – 250. 1987
- MANDAL, S.; SHRIVASTAV, A.K.; SINGH, R. - **Effect of biodegradation of quail dropping through fungal fermentation on its chemical composition and metabolizable energy in quail diets.** *Indian Journal of Poultry Science.* 29 (3): 239-244. 1995
- MARTINEZ, D.; GUZMAN, G.; SOTO, C. - **The effect of fermentation of coffee pulp in the cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* in Mexico.** *Mushroom Newsletter Trop.* 6, 21, 1985
- MAZIERO, R. - **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus spp.*** Tese (mestrado) USP, São Paulo, 136p. 1990
- MAZIERO, R.; BONONI, V.L.; CAPELARI, M. - **Cultivo e produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. *florida* em Mogi das Cruzes, SP, Brasil.** *Hoehnea* 19 (1/2); 1-7, fig 1 tab. 1992
- MAZIERO, R. & ZADRAZIL, F. - **Effects of different heat pre-treatments of wheat straw on its microbial activity and colonization by different tropical and subtropical edible mushrooms.** In: *World Journal of Microbiology & Biotechnology.* 10, 374-380, 1994
- MEDINA J. C. - **Banana: Cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos.** cap :1; ITAL – Campinas. 1990
- MILES, P.G. & CHANG, S.T.- **Mushroom Biology, Concise basic and current developments.** *World Scientific Publishing Co.* 194 p. 1997
- MOLENA, O. - **O moderno cultivo de cogumelos.** Ed Nobel. São Paulo, 170p. 1986
- MORITA, A.; IZUMO, K.; KIDO, K.; SAKA, T.; AOKI, N. - **Anti-tumor protein from *Pleurotus cornucopiae* and c-DNA encoding the protein.** *Chemical Abstracts, I-Pharmacology, vol. 131, No 26, p 71.* 1999
- NALLATHAMBI, P. & MARIMUTHU, T. - **Effect of various substrate treatment on enzyme activities of *Pleurotus spp.* in correlation with yield.** *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 24 (3): 167-171. 1994
- NKAKYEKORERA, F.N. - **Mushroom biotechnology in Uganda.** *Symposium on Biotechnology and Bioconversion in Africa.* Dakar, Senegal. 1993
- ORTEGA, G. M.; MARTINEZ, E.; OTERO, M. A.; GONZALEZ, A. L.; TORRES, E.; ALVAREZ, I. - **Study of bromatological and physicochemical composition of**



- substrate and fruiting bodies in edible mushroom production. *Rev. Deriv. Cana Azucar*31 (3), 42 – 48. (Spanish) 1999
- PATRABANSH,S.;MADAN, M.; - The microbial conversion of different agricultural residues and its biological efficiency. *Acta Biotechnology*,15. 131-135. 1995
- PATRABANSH,S.;MADAN, M.; - Studies on Cultivation, Biological Efficiency and Chemical Analysis of *Pleurotus Sajor-caju* (FR.) SINGER on Different Agro-wastes. *Acta Biotechnology*,17 : 2. 107-122. 1997
- PAULI,G. - Emissão Zero: a busca de novos paradigmas: o que os negócios podem oferecer à sociedade. EDIPUCRS, Porto Alegre.312p. 1996
- PAULI,G. - Upzising, how to create more income, create more jobs and eliminate pollution. *Special advanced edition for the Third World Congress on Zero Emissions*. 1997
- PRIMAVESI,A. - Manejo ecológico do solo: agricultura em regiões tropicais. São Paulo, Nobel. 541p. 1980
- RAJARATHNAM, S. & BANO, Z. - *Pleurotus* mushrooms; Part. 1B: Pathology, in vitro, in vivo growth requirements, and world status. *Food Science and Nutrition*, 26 (3): 243-311. 1992
- RAJARATHNAM, S.; & BANO,Z. - *Pleurotus* mushrooms; Part. III: Bio transformations of natural lignocellulosic wastes: comercial applications amd implications *Critical Reviews in Food and Science*, 18 (1): 31 –113. 1989
- RAJARATHNAM,S.; SHASHIREKA,M. N. & BANO, Z. - Biopotentialities of Basidiomycetes. *Advances in Applied Microbiology*, vol. 37: 233 – 361. 1972
- RAJARATHNAM,S.; SHASHIREKA, M. N. & BANO, Z. - Biodegradative and Biosynthetic Capacities of Mushrooms: Present and Future Strategies. *Critical Reviews inBiotechnology*, 18 (2&3): 91 – 236. 1998
- RINKER, D. L. - Response of the oyster mushroom to supplementation prior to pasteurization. *Mushroom Science XII* (Part II)187- 198. 1970
- RODRIGUEZ,R.V.; MONTALVO, P.C.; DENDOOVEN, L.; ESPARZA,G. - Degradation of benzo[a]pyrene in soil by white rot fungi. *Int. In Situ On-Site Bioremediation Symposium*, 5 th. 8, 93-98. 1999
- ROYSE, D.J. - Recycling of spent skiitake substrate por production of the oyster mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, *Applied Microbiology Biothcnology*,38: 179- 182. 1992.
- SAVOIE, J.M.;MINVIELLE,N.;CHALOUX, N. - Estimation of wheat straw quality for edible mushroom production and effects of a growth regulator. *Biosource Technology*, 48 149-153. 1994

- SCRASE, R. - **Cultivating mushrooms- from pure culture to spawn production**, em: *Mycologist*, vol 9, Part 2. 1995
- SHARMA, O.P.; VATS, S.K.; SOOD, R.P.; GULATI, A. - **Lantana camara L.- A lignocellulosic substrate for cultivation of *Pleurotus sajor-caju***, *Biosource Technology*, **48**, 49-58. 1994
- SHIN, K. S.; LEE, Y.J. - **Depolymerization of lignosulfonate by peroxidase of white-rot basidiomycetes**. *Biotechnology Letters*. 21 (7) 585-588. 1999
- SHIRATA, A.; SUGAYA, K.; TAKASUGI, M.; MONDE, K. - **Isolation and biological activity of toxins produced by a Japanese strain of *Pseudomonas tolaasi*, the pathogen of bacterial rot of cultivated oyster mushroom**. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 61 (5): 493-502. 1996
- SOCOL, C.R. - **Contribuição ao estudo da fermentação no estado sólido de mandioca por *Rhizopus* e basidiomicetos do gênero *Pleurotus***. Tese apresentada ao Departamento de Tecnologia Química do setor de Tecnologia da UFPr para o concurso público de Professor Titular em Biotecnologia e Tecnologia de alimentos. Curitiba. 204. 1994
- STOLLER, B.B. - **Some practical aspects of making mushroom spawn**. 170- 184 1992)
- STÖLZER, S.; & GRABBE, K. - **Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi**. *Science and Cultivation of Edible Mushrooms*. 141 – 146. 1991
- STURION, G.L. - **Utilização de folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*)**. Tese (mestrado). USP, Piracicaba, SP, , 147. 1994
- STAMETS P. & CHILTON, J. S. - **The mushroom cultivator *Olympia***, *Agarikon Press*, 415p. 1983
- SUGUNA, S.; USHA, M.; SREENARAYANAN, V. V.; RAGHUPATHY, R. GOTHANDAPANI, L. - **Dehydration of mushrooms by sun-drying, thin-layer drying, fluidized bed drying and solar cabinet drying**. *Journal of Food Science and Technology*. 32 (4): 284-288. 1995
- THOMAS, G.V.; PRABBU, S.R.; REENY, M.Z.; BOPAIAH, B.M. - **Evaluation of lignocellulosic biomass from coconut palm as substrate for cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer**. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 14: (6) 879 – 889. 1998
- TRUKHONOVETS, V.V. - **Effect of illumination intensity on the biometrical indices of fruit bodies of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr) Kumm.** *Ukrayins'kyi Botanichnyi Zhurnal* 48 (2): 67-72. 1991
- TSAO, G.T. - **Structures of cellulosic materials and their hydrolysis by enzymes**. Em: *Biotechnology and Applied Microbiology*, Alani, D.J. & Moo-Young, M. (ed.) New York, Elsevier Applied Science Publishers, 205: 212. 1986.

UPADHYAY, R. C. & SOHI, H.S. - Apple pomace – A good substrate for the cultivation of edible mushrooms. *Current Science*, Vol 57. 1189 – 1190. 1988

URBEN, A.F.; (Ed) - **Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais.** Brasília: Cenargen. 1998

URIARTT, A.O.; - O cultivo de cogumelos pela técnica “Jun-Cao”. Em: URBEN, A.F.; (Ed) **Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais.** Brasília: Cenargen. 1998.

UNIVILLE - Estação Meteorológica, Dep. de Geografia, EPAGRI- CLIMER. 1997

VIRMOND, L.J.; MIERS, D.A.; GERN, R.M.M. BONATTI, M.; FURLAN, S.A. JONAS, R., - **Avaliação da suplementação de serragem para crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus*.** XI SINAIFERM. 1996

YAMAKAWA, A-M; ABE, H; OKAMOTO-M. - **Effects of incubation with edible mushrooms, *Pleurotus ostreatus*, on voluntary intake and digestibility of rice straw by sheep.** *Animal Science and Technology* 63. (2) :129-133. 1992

YILDIZ, A.; KARAKAPLAN, M. & AYDIN, F. - **Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum. var. salignus (Pers. ex Fr.) Konr. et Maubl.: cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores.** *Food Chemistry* Vol. 61, No. 1/2 pp. 127 – 130. 1998

ZADRAZIL, F. - **The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*.** *Mushroom Science IX* (Part I) Proceedings of the Ninth International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi, Tokyo. 1984

ZADRAZIL, F. - **Influence of CO<sub>2</sub> concentration on the mycelium growth of three *Pleurotus* species.** *European Journal applied Microbiology*. 1, 327-335. 1975

ZADRAZIL, F. - **Cultivation of *Pleurotus*.** Em *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*, eds Chang, S.T. & Hayes, W.A. pp. 521- 557. New York; Academic Press. 1978

ZADRAZIL, F. - **Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing.** *European Jor. of Applied Microbiology and Biotechnolog.* 9, 31-35. 1980

ZADRAZIL, F. & GRABBE, K. - **Edible Mushrooms.** em, *International Training Program*, GBF, 145 – 187. 1983

ZADRAZIL, F. & PUNIYA, A.K. - **Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi** *Bioresource Technology* 54 (1): 85-87. 1996

ZADRAZIL, F. & KURTZMAN, JR. R. H. - The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. em. CHANG, S. T. & QUIMIO, T. H. *Tropical Mushrooms*. Hong Kong, the Chinese Univ. Press. 493p 277-278. 1984

ZHANG, C. K.; GONG, F.; LI, D. S. - A note on the utilization of spent mushroom composts in animal feeds. *Biosource Technology*. **52** (1) 89-91. 1995

ZEDDEL, A.; MAJCHERCZYK, A.; HÜTTERMANN, A. - Degradation of polichlorinated biphenyls by *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* in a solid state fermentation. *Toxicological and Environmental Chemistry*, vol 40, 255-266. 1993.

ZERVAKIS, G. & BALIS, C. - Comparative study on the cultural characters of *Pleurotus* species under the influence of different substrates and fruiting temperatures, *Micology neotropical Applied*. **5**: 39-47. 1992.

**8. ANEXOS**

**A1: Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial em meio TDA.**

**Crescimento micelial radial em meio TDA.**

Dia	<i>P. ostreatus</i> CCB 001		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019		<i>P. ostreatus</i> CCB 230		<i>P. ostreatus</i> CCB 615	
	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0,525	0,143	0,55	0,0375	0,515	0,0105	0,525	0,0234	0,585	0,0347
2	0,8825	0,0244	0,9775	0,0471	0,935	0,0418	0,9425	0,059	1,105	0,0938
3	1,1825	0,0908	1,24	0,067	1,4325	0,0429	1,385	0,0428	1,4875	0,0476
4	1,85	0,1789	2,076	0,231	2,48	0,0326	2,3195	0,0464	2,656	0,0535
5	2,242	0,2127	2,465	0,2464	3,18	0,0481	2,865	0,0675	3,3175	0,0391
6	2,8457	0,2604	2,9205	0,2137	4,04	0,0978	3,467	0,0543	4,047	0,023

**Análise de variância do crescimento micelial radial em TDA.**

Dia	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
1	Entre grupos	2,021485	4	0,505371	27,62988	6,76E-08	2,866081
	Dentro dos grupos	0,365815	20	0,018291			
	Total	2,3873	24				
2	Entre grupos	0,139538	4	0,034884	10,35529	0,000104	2,866081
	Dentro dos grupos	0,067375	20	0,003369			
	Total	0,206913	24				
3	Entre grupos	0,334962	4	0,083741	22,42427	3,72E-07	2,866081
	Dentro dos grupos	0,074688	20	0,003734			
	Total	0,40965	24				
4	Entre grupos	2,021485	4	0,505371	27,62988	6,76E-08	2,866081
	Dentro dos grupos	0,365815	20	0,018291			
	Total	2,3873	24				
5	Entre grupos	4,205774	4	1,051443	45,96123	8,28E-10	2,866081
	Dentro dos grupos	0,457535	20	0,022877			
	Total	4,663309	24				
6	Entre grupos	6,746806	4	1,686701	66,66181	2,82E-11	2,866081
	Dentro dos grupos	0,506047	20	0,025302			
	Total	7,252853	24				

A2: Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial em palha de arroz.

Crescimento micelial radial em palha de arroz.

Dia	<i>P. ostreatus</i> CCB 001		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019		<i>P. ostreatus</i> CCB 230		<i>P. ostreatus</i> CCB 615	
	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,505	0,04108	0,43	0,04472	1,07	0,10216	0,68875	0,08169	1,15	0,165831
3	0,58	0,04809	0,5	0,04677	1,1502	0,12284	0,99325	0,45339	1,4	0,212132
4	0,6685	0,03823	0,54375	0,05484	2,605	0,29549	1,15925	0,28256	1,56875	0,173656
5	0,895	0,14432	0,725	0,17766	2,605	0,29549	1,28063	0,17901	2,0875	0,142156
6	1,0427	0,15871	0,745	0,35812	3,075	0,43804	1,56875	0,17366	2,85	0,48766
7	1,375	0,22009	0,73333	0,33942	3,81	0,32142	1,9309	0,34686	3,32	0,586675
8	1,975	0,2351	1,99	0,3975	4,438	0,2876	2,86	0,3746	4,136	0,2517
9	2,5	0,1864	2,61	0,2746			2,96	0,2135		

Análise de variância do crescimento micelial radial em palha de arroz.

Dia	Fonte da variação	SQ		gl	MQ	F	valor-P	F crítico
		Entre grupos	Dentro dos grupos					
2	Entre grupos	2,127427		4	0,531857	54,17835	3,97E-10	2,895106
	Dentro dos grupos	0,186519		19	0,009817			
	Total	2,313946		23				
3	Entre grupos	2,898342		4	0,724585	15,73296	7,75E-06	2,895106
	Dentro dos grupos	0,87505		19	0,046055			
	Total	3,773391		23				
4	Entre grupos	8,762534		4	2,190634	63,25363	1,03E-10	2,895106
	Dentro dos grupos	0,658018		19	0,034633			
	Total	9,420552		23				
5	Entre grupos	16,9851		4	4,246274	80,08321	1,28E-11	2,895106
	Dentro dos grupos	1,007442		19	0,053023			
	Total	17,99254		23				
6	Entre grupos	22,17531		4	5,543828	43,47254	2,62E-09	2,895106
	Dentro dos grupos	2,422972		19	0,127525			
	Total	24,59828		23				
7	Entre grupos	28,14615		4	7,036536	52,58553	2,37E-09	2,964711
	Dentro dos grupos	2,274792		17	0,133811			
	Total	30,42094		21				

A3: Seleção de linhagens através da velocidade de crescimento micelial radial em palha de bananeira.

Crescimento micelial radial em palha de bananeira.

Dia	<i>P. ostreatus</i> CCB 001		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019		<i>P. ostreatus</i> CCB 230		<i>P. ostreatus</i> CCB 615	
	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP	Cresc Médio	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,57	0,02679	1,16	0,05	1,16	0,057554	0,68	0,05	1,24	0,123238
3	0,68	0,05811	1,32	0,037914	1,32	0,209613	0,8	0,051655	1,59	0,152428
4	0,95	0,2351	2	0,152684	2	0,369396	1,28	0,169282	2,48	0,257026
5	1,2	0,3326	3,02	0,236775	3,02	0,372743	1,77	0,307438	3,35	0,116458
6	1,73	0,63023	3,65	0,249625	3,65	0,494659	2,46	0,19632	3,83	0,185742
7	2,23	0,86873	4,3	0,31225	4,3	0,147267	3,33	0,155958	4,45	0,057009

Análise de variância do crescimento micelial radial em palha de bananeira.

Dia	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
2	Entre grupos	2,439263	4	0,609816	122,7774	2,7E-13	2,895106
	Dentro dos grupos	0,09437	19	0,004967			
	Total	2,533633	23				
3	Entre grupos	4,147106	4	1,036776	66,56176	6,57E-11	2,895106
	Dentro dos grupos	0,295947	19	0,015576			
	Total	4,443053	23				
4	Entre grupos	11,66704	4	2,91676	45,78668	1,69E-09	2,895106
	Dentro dos grupos	1,210362	19	0,063703			
	Total	12,8774	23				
5	Entre grupos	26,32511	4	6,581276	80,14092	1,27E-11	2,895106
	Dentro dos grupos	1,560305	19	0,082121			
	Total	27,88541	23				
6	Entre grupos	33,25564	4	8,31391	51,44788	6,21E-10	2,895106
	Dentro dos grupos	3,070375	19	0,161599			
	Total	36,32602	23				
7	Entre grupos	34,77776	4	8,694441	43,64591	1E-08	2,964711
	Dentro dos grupos	3,386469	17	0,199204			
	Total	38,16423	21				



**A4: Avaliação do desempenho das linhagens e do uso de substratos alternativos para a produção de inóculo ("spawn") através do crescimento micelial radial.**

Crescimento micelial radial em suporte de grão de trigo.

DIA	<i>P. ostreatus</i> CCB 001 **		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016 *		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019 ***		<i>P. ostreatus</i> CCB 230 **		<i>P. ostreatus</i> CCB 615 ***	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,58	0,10518	1,485	0,38673	2,03	0,13393	1,3	0,05	1,75	0,50187
5	3,07625	0,31052	3,03	0,61477	3,71	0,15572	3,086	0,30089	2,96	0,61661
7	3,96	0,153	4,035	0,46084	4,49	0	4,3	0,4618	3,71875	0,54136

Densidade de micélio: \* Micélio tênue

\*\* Micélio pouco denso

\*\*\* Micélio denso

Escala visual subjetiva de avaliação da densidade micelial

Crescimento micelial radial, em suporte de arroz com casca.

DIA	<i>P. ostreatus</i> CCB 001 **		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016 *		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019 ***		<i>P. ostreatus</i> CCB 230 **		<i>P. ostreatus</i> CCB 615 ***	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,615	0,12068	1,485	0,28972	2,3675	0,11977	1,22	0,21243	2,0125	0,10308
5	3,261	0,14002	3,45333	0,19502	3,955	0,07786	3,19	0,20809	3,71875	0,11792
7	3,952	0,19895	4,22	0,10583	4,49	0	3,737	0,25465	4,4875	0,025

Densidade de micélio: \* Micélio tênue

\*\* Micélio pouco denso

\*\*\* Micélio denso

Escala visual subjetiva de avaliação da densidade micelial

**A5: Avaliação do desempenho das linhagens e do uso de substratos alternativos para a produção de inóculo (“spawn”) através do crescimento micelial radial.**

**Crescimento micelial radial em suporte de arroz sem casca de segunda categoria.**

DIA	<i>P. ostreatus</i> CCB 001 ***		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016 **		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019 ***		<i>P. ostreatus</i> CCB 230 **		<i>P. ostreatus</i> CCB 615 ***	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,8125	0,3503	1,615	0,19252	2,12	0,04108	1,63	0,11646	2,15	0,18143
5	3,44	0,11258	3,303	0,2877	3,59	0,06275	3,19	0,09618	3,495	0,29887
7	4,2	0,19843	4,36667	0,07638	4,47	0,06708	3,947	0,12163	4,475	0,05
8	4,5	0	4,5	0	4,5	0	4,5	0	4,5	0

Densidade de micélio: \* Micélio tênue      \*\* Micélio pouco denso      \*\*\* Micélio denso  
Escala visual subjetiva de avaliação da densidade micelial

**Crescimento micelial radial, em suporte de serragem de pinus suplementada com farelo de arroz.**

DIA	<i>P. ostreatus</i> CCB 001 **		<i>P. ostreatoroseus</i> CCB 016 *		<i>P. sajor-caju</i> , CCB 019 **		<i>P. ostreatus</i> CCB 230 **		<i>P. ostreatus</i> CCB 615 ***	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,565	0,06982	1,145	0,19316	2,08	0,0542	1,55	0,09682	1,81875	0,05154
5	2,802	0,12352	2,445	0,47447	3,406	0,16315	2,8125	0,09682	3,05125	0,14494
7	3,442	0,07463	2,64	0,188	4,061	0,31101	3,545	0,09583	3,65125	0,06713
8	3,989	0,14851	3,38	0,075	4,49	0,25731	4,2375	0,15877	4,25875	0,0425

Densidade de micélio: \* Micélio tênue      \*\* Micélio pouco denso      \*\*\* Micélio denso  
Escala visual subjetiva de avaliação da densidade micelial

**A6: Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para "spawn" e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato**

Comportamento das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e "spawns", (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B) : tempo emissão de primórdios, tempo de frutificação e período total de cultivo (dias)

	EMIÇÃO DE PRIMÓRDIOS		FRUTIFICAÇÃO		CULTIVO TOTAL		NÚMERO DE FLUXOS	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
A019 / GT	27	5,656854249	40,5	19,33045956	67,5	23,95133956	3	0,816496581
A019 / AC	29,6	4,50555213	52,2	5,357238094	81,8	5,215361924	5	0,547722558
A019 / AS	28,4	6,14817046	62,6	7,402702209	91	8,602325267	4	1,095445115
A615 / GT	91,75	7,410578025	4	0	95,75	7,410578025	1	0
A615 / AC	87,25	6,501602367	7,25	1,876388375	94,5	6,726812024	1	0,144337567
A615 / AS	89	7,071067812	4	0	93	7,071067812	1	0
B019 / GT	34,25	19,17246289	52	18,22086716	96,25	3,5	3	0,5
B019 / AC	32,8	3,834057903	57	12	89,8	10,75639345	4	0,836660027
B019 / AS	35,6	0,547722558	62,8	5,89067059	98,4	5,899152482	4	0,836660027
B615 / GT	88,5	2,516611478	4	0	92,5	2,516611478	1	0
B615 / AC	91	1,154700538	4	0	95	1,154700538	1	0
B615 / AS	90,4	0,894427191	4	0	94,4	0,894427191	1	0

Substratos para frutificação: A = Palha de arroz, B = Palha de bananeira

Linhagens: *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus*, CCB 615

Suporte para "spawn": GT = Grão de trigo, AC = Arroz com casca, AS = Arroz sem casca de segunda categoria

**A7: Avaliação do desempenho de linhagens, substratos para “spawn” e substratos para frutificação através dos índices de produção e da degradação do substrato**

Índices de produção das linhagens, *P. sajor-caju* CCB 019 e *P. ostreatus* CCB 615 e “spawns”, (grão de trigo, arroz com casca e arroz sem casca de segunda categoria), em palha de arroz (A) e palha de bananeira (B) : rendimento, eficiência biológica e perda de matéria orgânica (PMO).

Substratos Linhagens e suportes	RENDIMENTO			EFIC. BIOLÓGICA			PMO		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
A019 / GT	78,025	9,61677874	8,2675	2,215015049	62,5975	6,163204659			
A019 / AC	93,16	14,98235045	9,228	1,129579568	65,718	3,501573932			
A019 / AS	95,136	12,40037419	8,76	1,450068964	62,932				
A615 / GT	75,3675	3,2154458	8,0775	1,081925	52,184	7,447142405			
A615 / AC	64,0825	22,167	6,1325	1,92427	65,29	5,28755			
A615 / AS	55,06	0,36769	5,86	0,04949	58,64	4,0305			
B019 / GT	83,91	3,704	7,16	0,33747	67,2	1,2756			
B019 / AC	78,642	13,85251493	7,574	1,704194825	66,568	0,8497176			
B019 / AS	69,138	22,14748564	6,54	1,939677808	63,764	3,305999093			
B615 / GT	62,0275	8,0772	5,8275	1,06227	55,564	1,7169			
B615 / AC	45,2025	16,921	4,805	1,9759	59,646	4,216910006			
B615 / AS	59,538	5,582980387	5,68	0,843000593	59,436	3,319906625			

Substratos para frutificação: A = Palha de arroz, B = Palha de bananeira

Linhagens: *P. sajor-caju* CCB 019, *P. ostreatus*, CCB 615

Suporte para “spawn”: GT = Grão de trigo, AC = Arroz com casca, AS = Arroz sem casca de segunda categoria

**A8: Determinação da fração de inóculo através dos índices de produção e da degradação do substrato**

Influência da fração de inóculo no comportamento de *P. sajor-caju* em palha de bananeira

Tratamento	Números de fluxos		Emissão de primórdios (dias)		Tempo de Frutificação (dias)		Tempo de Cultivo Total (dias)			
	Varição	Média	DP	Varição	Média	DP	Média	DP		
T	3 a 4	3,8	0,447	22 a 47	37,4	14,06	57,8	13,16	95,2	2,68
I	2 a 5	3,2	1,095	48 a 50	48,4	0,894	44,2	4,66	92,6	4,16

Influência da fração de inóculo nos índices de produção de *P. sajor-caju* em palha de bananeira

Tratamento	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)		Perda Matéria Orgânica (%)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T	93,026	22,9	9,028	1,94	65,08	1,46
I	76,292	19,7	7,176	1,59	64,1	2,12

Fração de inóculo: I =5%

T=10%

**A9: Avaliação da suplementação de palha de bananeira**

Ciclo de cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira.

Meios de Cultivo	Emiss.Prim (dias)		Frutificação (dias)		Cultivo Total (dias)		Número de Fluxos
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
T	37,4	14,06	57,8	13,160	95,2	2,68	Média 3,8
F1	34,6	13,04	53	15,13	87,6	5,13	4,6
F2	29,8	13,00	58,6	21,25	88,4	34,8	4,2
N1	44,6	4,219	46,4	6,58	91	6,96	4,2
N2	33,2	13,21	60	17,6	93,2	6,26	3,6
Y1	31	5,13	59,67	7,63	90,67	16,3	4,3
Y2	42,4	1,67	48,2	8,72	90,6	7,92	5,2

Índices de produção de *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira.

Meios de Cultivo	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)		PMO (%)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T	93,026	22,906609	9,028	1,9374261	65,086	1,4652747
F1	109,82667	50,756846	10,746667	4,6977674	70,07	34,017883
F2	100,4	11,739925	10,258	2,5769497	73,5	2,0827026
N1	98,84	8,3403387	9,168	0,7192148	64,322	2,0570051
N2	78,1	24,615986	7,334	3,4156856	63,794	17,23491
Y1	114,93	7,6319826	11,08	0,753901	66,423333	4,7515997
Y2	77,306	14,18251	9,858	1,2626639	64,6	2,8568024

Sem suplementação (T).

Farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%);

Nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%)

Extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%)

**A10: Avaliação da suplementação de palha de arroz**

Ciclo de cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz, suplementada

Meios de Cultivo	Emiss. Prim (dias)		Frutificação (dias)		Cultivo Total (dias)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T	33,8	0,447	33,8	0,546	67,6	1,682
F1	33,4	0,548	42,2	0,419	75,6	0,947
F2	33,4	0,548	38,2	0,751	71,6	0,861
N1	33,6	0,548	35,6	0,486	69,2	3,438
N2	33,6	0,548	42	0,492	75,6	2,586
Y1	33,5	0,895	49,5	0,648	83	1,483
Y2	33,5	0,447	29,5	0,784	63	1,814

Índices de produção de *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz

Meios de Cultivo	Rendimento(%)		Eficiência Biológica(%)		Perda de Matéria Orgânica(%)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T	70,76	8,903	8,182	0,567	60,872	1,74
F1	84,4	11,810	8,85	1,071	62,464	3,22
F2	83,7	11,456	8,64	0,941	61,946	3,57
N1	83,17	11,722	8,89	0,825	63,708	1,67
N2	84,12	6,914	9,802	0,365	64,686	1,73
Y1	79,84	14,12	9,53	1,21	66,27	0,77
Y2	78,86	8,03	8,47	1,02	63,77	2,71

Sem suplementação (T).

Farelo de arroz: F1 (5%) e F2 (10%);

Nitrato de amônia: N1 (0,5%) e N2 (1,0%)

Extrato de levedura Y1 (1%) e Y2 (5%)

**A11: Avaliação do pré-tratamento de palha de bananeira e palha de arroz**

Rendimento e eficiência biológica de *P. sajor-caju*, em palha de bananeira submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor (V); imersão em hidróxido de cálcio (Ca); imersão em hipoclorito de sódio (H).

Pré Tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)	
	Média	DP	Média	DP
A	56,42	10,19	9,2	1,19
I	85,25	11,83	10,275	1,15
V	39,93	11,71	6,775	1,03
Ca	86,23	11,29	10,9	0,80
H	18,97	8,69	5,425	1,31

Rendimento e eficiência biológica de *P. sajor-caju*, em palha de arroz submetida a diferentes tratamentos: esterilização em autoclave (A); pasteurização por vapor (V); pasteurização por imersão (I); pasteurização por vapor + suplementação com sulfato de cálcio (VCa).

Pré Tratamentos	Rendimento (%)		Eficiência Biológica (%)	
	Média	DP	Média	DP
A	74,48	15,06	8,1	0,98
V	49,38	8,82	6,25	0,92
I	35,82	5,73	4,64	0,49
VCa	76,04	10,9	8,802	1,27