CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS DO GÊNERO
***Pleurotus* spp EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS**

ALEX SALVANY FELINTO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof^a Dr.^a **MARNEY PASCOLI CEREDA**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Fevereiro de 1999

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

.....
Felinto, Alex Salvany

Cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* spp. em resíduos agroindustriais / Alex Salvany Felinto. - Piracicaba, 1999.
77 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.
Bibliografia.

1. Cogumeio comestível 2. Cultivo 3. Mandioca 4. Resíduo industrial I. Título

CDD 641.658

ERRATAS

PÁGINA

- i – O sobrenome correto da Pro^{fa}. Dr^a. Marney é Cereda e não Careda.
- ii – Item 2.6.1.2. substituir "...Folhas De Mandioca" por "...Folha da Mandioca".
- iv – Na figura 1. substituir "Estruturabásica..." por "Estrutura básica..."
- v- Na tabela 7 substituir "principais..." por "Principais..."
- Na tabela 8 substituir "...Farelo..." por "...farelo..."
- vi – Substituir primeiro parágrafo por "O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial do uso de resíduos sólidos de agroindústrias de mandioca e cana-de-açúcar, como componente de substratos para o cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus* spp.. O bagaço de cana foi considerado padrão por ser tradicionalmente empregado como constituinte de substratos de cultivo. Foi avaliada a influência dos substratos na produtividade em condições de baixo controle ambiental."
- No final do terceiro parágrafo substituir "... cana-de-açúcar mais casca mais folha..." por "...cana-de-açúcar, casca e folha..."
- 1 – Substituir no primeiro parágrafo "... a partir chegada em São Paulo..." por "... a partir da chegada em São Paulo..."
- Substituir no terceiro parágrafo "... desenvolvimento em substratos os mais variados..." por "...desenvolvimento em variados substratos..."
- 2 – Substituir no segundo parágrafo "... o processo da industrialização desta raiz gera enormes quantidades de resíduos, fato este agravado pela prática de se concentrarem as indústrias em regiões..." por "... além da geração de resíduos no processo de industrialização desta raiz, observa-se a prática das indústrias se concentrarem em determinadas regiões..."
- Substituir o último parágrafo por "O objetivo desta pesquisa foi comparar o cultivo de dois cultivares de cogumelo comestível do gênero *Pleurotus* spp., utilizando substratos à base de resíduos agroindustriais de mandioca e cana-de-açúcar, comparando os resultados de produção."
- 3 – Substituir o primeiro parágrafo por "De acordo com os dados da produção mundial de cogumelos comestíveis, ocorreu um aumento da produção do *Pleurotus*..."
- Acrescentar no título da Tabela 1 "Produção mundial de cogumelos comestíveis" a frase "expressa em 1.000 t.", retirando da primeira linha da tabela "(1000 Ton)".
- 4 – Na linha 10 do segundo parágrafo substituir "A participação do *Pleurotus* spp. A produção mundial ..." por "A participação do *Pleurotus* spp. na produção mundial ...".
- No final do terceiro substituir a citação "Chang, 1980" por "Chang, 1984".
- 6 – No terceiro parágrafo substituir "... quando a produção nacional deste cogumelo reduz drasticamente, ..." por "... quando a produção nacional do mesmo é reduzida drasticamente, ...".
- 7 – Na linha 4 do primeiro parágrafo a palavra "conclui-se" deve começar com letra maiúscula.
- 8 – Na linha 7 do segundo parágrafo substituir a frase "Apesar disto a maioria ainda não foi estudada, apesar de poderem ser empregadas no cultivo..." por "Apesar da sua maioria não ter sido estudada, algumas destas podem ser empregadas em cultivos."
- 9 – Na segunda linha da página retirar do texto as seguintes citações "Capelari, 1986; Capelari & Maziero, 1990 e Martinez-Carrera et al. 1992".
- 10 – Retirar o parêntese do final do título do Item 2.4.
- 12 – Retirar do primeiro parágrafo a última frase, excluir o restante da página.
- 13 – Permanece apenas o segundo e o último parágrafo.
- 14 – Retirar no primeiro parágrafo a frase "A forma de preparo dos meios não difere daquela descrita para o preparo do BDA."
- 17 – Linha 7 do primeiro parágrafo leia-se "... , observa-se colônias visíveis, ...".
- Substituir no final do segundo parágrafo a citação "Chang & Hayes, 1978" por "Chang & Miles, 1989".
- 18 – Retirar um parêntese do final do primeiro parágrafo.
- 19 - Substituir o final do primeiro parágrafo por "... , mantendo-se a temperatura de 5 °C (Rajaratnam & Bano, 1987)."
- Na linha 3 do terceiro parágrafo substituir "... , no qual elevamos..." por "... elevando-se ...".
- 21 – No final do terceiro parágrafo leia-se "... de acordo com Rajaratnam & Bano (1987) e Bononi et al. (1995)."
- 22 – No primeiro parágrafo substituir "De acordo com Colauto (1994), vários recipientes ...".
- 23 – Na tabela 7 o Brasil produziu 2.542 x 10.000 t. em 1995.
- 24 – Inserir no primeiro parágrafo "De acordo com os dados da FAO, o Brasil aparece ...".
- na linha 7 do mesmo parágrafo substituir "... 11.274 KG/ha ..." por "... 11.274 Kg/ha ...".
- 25 – Retirar a primeira linha do primeiro parágrafo e substituir a última frase deste por "De acordo com Barbosa (1989), a composição química das raízes da mandioca é a seguinte:"
- 25/26 – Substituir a última frase do terceiro parágrafo da página 25 e o primeiro parágrafo da página 26 por "O teor de fécula, apesar das variações, pode chegar a níveis de até 35% da matéria fresca e a fração lipídica representa de 0.1 a 1.0%, composta por 35% de ácido palmítico, 3.1% de ácido esteárico, 39.0% de ácido oléico, 18.0% de ácido linoléico e 5.6% de ácido linolêrico (Oke² (1968), citado por Cereda (1994))."
- 27 – No último parágrafo substituir "O farelo de mandioca é um subproduto ..." por "O farelo de mandioca é um resíduo ...".
- 29 – Na linha 4 do primeiro parágrafo, substituir a citação "Sturion (1992)" por "Sturion (1994)".
- 32 – Na linha 6 do quarto parágrafo corrigir PH por pH.
- 34 – No primeiro parágrafo retirar a frase "Porém sabe-se que existem substratos mais produtivos que outros, em função da sua composição química mais adequada."
- 35 – No final do segundo parágrafo substituir a citação "Eira, 1995" por Eira & Minhoni, 1997".
- 36 – Inserir no final do primeiro parágrafo a citação "Eira & Minhoni (1997)."
- No segundo parágrafo substituir a última frase por "Neste local a temperatura é sempre inferior em relação ao resto da pilha (Chang & Miles, 1989)."
- 37 – Retirar a palavra "porém" da terceira linha do segundo parágrafo e substituir a primeira linha do terceiro parágrafo por "Consiste em tratamento térmico à temperaturas de 60 a 100 °C por até 5 a 8 horas, ...".
- 38 – Na linha 2 do segundo parágrafo substituir "pasaturizados" por "pasteurizados" e no primeiro item no final da página substituir "Crboxina" por "Carboxina".
- 39 – Na penúltima linha do segundo parágrafo substituir "substrato para termos..." por "...substrato para se ter ...".
- 40 – Na linha 8 do primeiro parágrafo substituir a palavra "ralação" por "relação".
- 41 – No primeiro parágrafo substituir "... manter a 95% Químio, Chang & Royse (1990) ..." por "...manter a 95%, Químio, Chang & Royse (1990) ...".
- 43 – Na final da linha 2 do último parágrafo retirar a palavra "se" e na última linha do mesmo parágrafo substituir "(Químio, Chang & Royse, 1990)" por "(Químio, Chang & Royse, 1990)".
- 45 – No primeiro parágrafo excluir a frase que inicia na linha 3 até a linha 6, e transferir a última frase deste parágrafo "Deve-se evitar a liberação ..." para o final no segundo parágrafo.
- 48 – Inserir no fim do terceiro parágrafo a citação "(Eira & Minhoni, 1997)".
- 49 – Inserir no final do primeiro parágrafo a citação "(Eira & Minhoni, 1997)" e no final do segundo parágrafo a citação "(Rajaratnam & Bano, 1988)".
- 51 – Inserir após o terceiro parágrafo a frase "A umidade inicial dos resíduos foi a seguinte: 11.38% para o farelo de mandioca, 47.84% para o bagaço de cana-de-açúcar, 56.10% para a casca da mandioca, 75.50% para a folha da mandioca fresca e 14.10% para a folha seca."
- Inserir ao final do quarto parágrafo a frase "A relação Carbono/Nitrogênio estimada dos resíduos foi de 149.7/1 para o farelo, 6.4/1 para a casca, 5.19/1 para a folha e 94.13/1 para o bagaço de Cana-de-açúcar."

- 52 - Na linha 7 do primeiro parágrafo retirar "... com um tampão de algodão...".
- 53 - No segundo parágrafo linha 1 substituir "... toda a superfície ..." por "... toda a superfície...".
- Na linha 5 substituir "Neste ponto foi retirado..." por "Após este tratamento foi retirado...".
- 59 - No terceiro parágrafo substituir a primeira frase por "Pela tabela 11 nota-se que quando se cultivou o *Pleurotus ostreatus*, não houve frutificação de 100% das unidades experimentais em qualquer substrato".
- Na tabela 11 substituir a coluna "Substrato" por "Substrato¹", retirar da nota explicativa "S1, S2, S3, S4, ...".
- 60 - Substituir o terceiro parágrafo por "Para as linhagens empregadas os substratos elaborados com farelo a 50% (substratos FaF e FaC) obtiveram os piores desempenhos, enquanto que os melhores resultados de velocidade de colonização, período de cultivo e número de unidades produtivas foram registradas nos substratos elaborados com bagaço de cana-de-açúcar (BCF, BFaF, BFaC, BF e BC). A exceção foi o substrato FaCF cultivado com *Pleurotus sajor-caju* que apresentou resultados satisfatórios, com relação ao número de unidades produtivas e período de cultivo".
- 61 - Na linha 5 do primeiro parágrafo retirar a frase "Isto indica que nas condições em que este experimento ...".
- Na linha 5 do segundo parágrafo substituir "... tiveram a tendência de apresentar-se mais compactados, ..." por "... observou-se uma tendência a maior compactação, ...".
- 62 e 63 - Nas tabelas 12 e 13 nas notas substituir a letra "a" por "***".
- 64 - No final do primeiro parágrafo inserir "Não ocorreu frutificação nos substratos onde verificou-se a ocorrência de contaminação fúngica visível ou ainda nos que apresentaram colonização de apenas 50% dos sacos inoculados, com exceção dos substrato BCF e BFaF inoculados com a *Pleurotus ostreatus*, que mesmo não colonizando totalmente um dos blocos, verificou-se frutificação".
- Na linha 4 do segundo parágrafo retirar "... variação de ...".
- 65 - Na linha 1 do segundo parágrafo substituir "Nas tabelas 14 e 13 ..." por "Nas tabelas 14 e 15...".
- 66 e 67 - Substituir nas colunas 3 e 4 as siglas PSSI e PSSF por Pi e Pf, respectivamente.
- 68 - Substituir as letras A, B, C, D, E, F, G, H e I por S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8 e S9.
- 69 - No primeiro parágrafo substituir PMO por Perda de Matéria Orgânica.
- Na linha 13 do primeiro parágrafo leia-se "Isto indica que para melhorar o desempenho do *Pleurotus ostreatus* nestes substratos deve ser feito um tratamento térmico mais severo, visto que esta linhagem é menos agressiva na colonização dos substratos, se comparada à linhagem do *Pleurotus sajor-caju*, como proposto por ...".
- No segundo parágrafo retirar a primeira frase "É possível observar ..." assim como a última frase "Segundo Sturion (1994), ...".
- 70 - Inserir a tabela com o Título: "Composição das matérias primas utilizadas"

Componentes	Bagaço de Cana-de-açúcar	Farelo	Casca	Folha
Umidade	47,84	11,38	56,10	75,50
Fibra	45,66	11,08	30,24	2,54
Nitrogênio	0,44	0,24	2,10	1,10
Carbono	41,42	35,92	13,44	5,71
Relação C/N	94,13	149,70	6,40	5,19
Cinza	2,11	0,83	1,45	1,77

Fonte: Cereda, 1994; Sturion, 1994; Barbosa, 1996; Eira & Minhoni, 1997

Inserir a frase "O bagaço de Cana-de-açúcar e o farelo da mandioca foram empregados como fonte de carbono, apesar do conteúdo deste nutriente no farelo estar na forma de amido, principalmente. A casca e a folha de mandioca foram empregados como fonte de nitrogênio. Nota-se que o teor de nitrogênio da casca é muito superior ao teor deste nutriente na folha da mandioca, sugerindo melhores condições deste resíduo em relação à folha para o cultivo de *Pleurotus* spp. Isto se confirma quando se observa nas tabelas 14 e 15 a EB% para os substratos BFaF e BFaC, assim como nos substratos FaF e FaC, para o *Pleurotus sajor-caju*. Para os substratos BF e BC o efeito foi contrário, ocorrendo valores maiores para os substratos com folha de mandioca na sua composição. Para a PMO% os substratos com folha sofreram uma degradação mais intensa comparando-se aos substratos com casca de mandioca na sua formulação.

71/72 - Substituir na segunda coluna das tabelas 16 e 17 as letras A, B, C, D, E, F, G, H e I, por S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8 e S9.

72 - Transferir a frase abaixo da tabela para a página seguinte.

75 - Acrescentar as seguintes citações na BIBLIOGRAFIA

- CÂMARA, G. M. S.; GODOY, O. P.; MARCOS FILHO, J.; LIMA, U.A. Mandioca- Produção, Pré-Processamento e Transformação Agroindustrial. **Série Extensão Agroindustrial- 4**. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, São Paulo. Coordenadoria da Indústria e Comércio, 1982, 80 p.
- CANOILAS, L. M. Enriquecimento proteico de resíduos da fabricação de farinha de mandioca pelo desenvolvimento de leveduras. Piracicaba, 1991, 110p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz- Universidade de São Paulo.
- COLAUTO, N. B. Efeito dos recipientes de contenção do substrato em termos de densidade, superfície, volume, massa e profundidade na produtividade de *Pleurotus sajor-caju*. Botucatu, 1994, 93 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.
- DANAI, O.; LEVANON, D.; SILANIKOVE, N. Cotton straw silage as a substrate for *Pleurotus* sp. Cultivation. **Mushroom Science**, V.12, n. 2, p. 81-89, 1989.
- FIDALGO, O. & GUIMARÃES, S.M.P.B.. A situação do cogumelo comestível no Brasil e no exterior. **Anais do 1º Encontro Nacional de Cogumelos Comestíveis**. Mogi das Cruzes, Instituto de Botânica, p. 7-23, 1980.
- FIGUEIREDO, A. A. & REGO, M. M. teor proteico e mineral em raízes e folhas de variedades de mandioca. **Boletim Técnico do Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar**, V. 5, p. 123-127, 1973.
- KAMRA, D.N. & ZADRAZIL, F. Influence of gaseous phase, light and substrate pretreatment on fruit-body formation, lignin degradation and *in vitro* digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus* spp. **Agricultural Wastes**, V. 18, n. 1, p. 1-17, 1986.
- KLING, S.H. *et al.* Aproveitamento industrial das folhas de mandioca. **Informativo do Instituto Nacional de Tecnologia**, V.9, n.11, p.13-18, 1975.
- MANSUR, M.; KLINBANSKY, M.; GUTIÉRREZ, I.; GONZÁLES, L. Evaluacion de parametros de proceso para la produccion de hongos del genero *Pleurotus* cultivados sobre paja de caña. **Boletim Geplacea**, V. 9 n. 8, p. 13-15, 1992.
- MELOTTI, L. Contribuição para o estudo da composição química e valor nutritivo dos resíduos da industrialização da mandioca. **Manihot utilisans**, POHL, no Estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, V. 29, n.2, p. 339-374, 1972.
- REUNIÃO TÉCNICA SOBRE TRATAMENTO E APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DA MANDIOCA. Botucatu, FCA-TPA/UNESP, 1988, 6p.
- RIBEIRO, C. A. F. & HORII, J.. **Utilização de diferentes resíduos agro-industriais na produção de *Pleurotus ostreatus***. Universidade de São Paulo, Departamento de Ciência e Tecnologia Agro-industrial, Piracicaba, 43 p. 1992.
- SILVA, M. A. A. Produção de proteína fúngica em raiz e folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Tese de Mestrado**- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz- USP, Piracicaba, 1978, 129 p.
- STAMETS, P. & CHILTON, J.S. **The mushroom cultivator**. Washington. Agarikon Press, 1983, 415 p.
- ZADRAZIL, F. Conversion of *Pleurotus*. In: CHANG, S.T. & HAYES, W. eds. **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York, Academic Press, 1978, 521-557.

AGRADECIMENTOS

A minha família, Walter, Lia, Alan, Gigi, Jonas, Katia e André, pelo amor, amizade e incentivo, além da minha nova família, Francisco, Geny, Renato e Rafael, por seu apoio nos momentos mais delicados do começo das nossas vidas;

A Fernanda, eterna companheira, sempre investindo na possibilidade de irmos além, pela compreensão e paciência;

A minha orientadora Prof^a Dr^a Marney Pascoli Careda, exemplo de caráter, pelo apoio incondicional nas iniciativas e dificuldades enfrentadas neste período;

Ao CONSELHO DE APERFEIÇOAMENTO DA PESQUISA E ENSINO SUPERIOR – CAPES pela bolsa de estudos, sem a qual seria inviável realizar este trabalho;

A todos professores e funcionários do Departamento de Agroindustrias, Alimentos e Nutrição, pela oportunidade de aprimoramento profissional oferecida;

Ao Coordenador do curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Prof. Dr Jorge Horii, pelo voto de confiança;

Ao Prof. Dr. Cláudio Rosa Gallo, pelo apoio nas horas difíceis e por ter cedido toda a estrutura e dependências do Setor de Microbiologia de Alimentos, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho;

Ao meu amigo Prof. Paulo Vertoni, orientador e cúmplice neste projeto;

Aos meus amigos de Piracicaba, Phillipe, Simão, Flávio e Mauro, pela felicidade compartilhada através da música, além mais um mundo de amizades que serão eternas;

Ao meu mestre de capoeira José de Almeida e todo o pessoal da Escola de Capoeira Raiz de Angola, comunidade que sempre terei ótimas lembranças;

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
RESUMO.....	vi
SUMMARY.....	vii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Situação do mercado mundial de cogumelos comestíveis.....	3
2.2. Situação do mercado interno de cogumelos comestíveis.....	5
2.3. Classificação botânica.....	8
2.4. Obtenção de matrizes e produção de semente ou “Spawn”.....	10
2.4.1. Preparo do meio de cultura.....	12
2.4.2. Obtenção de matrizes a partir de micélio.....	14
2.4.3. Obtenção de matrizes a partir dos esporos.....	16
2.4.3.1. Isolamento.....	16
2.4.3.2 Cultura monospórica.....	17
2.4.4. Conservação de culturas.....	18
2.4.5. Produção da semente ou “Spawn”.....	18
2.5. Métodos de cultivo.....	21
2.6. Substratos.....	22
2.6.1. A mandioca e seus resíduos	23
2.6.1.1- Composição da Raiz da Mandioca.....	24
2.6.1.2- Composição das Folhas De Mandioca.....	26
2.6.1.3- Resíduos da industrialização da mandioca.....	26
2.6.2. Bagaço de Cana-de-açúcar.....	28
2.7. Preparo do composto.....	30
2.8. Tratamento Térmico do Substrato.....	37
2.8. 1. Esterilização.....	37
2.8. 2. Pasteurização.....	37
2.8.3. Compostagem.....	38
2.8.4. Tratamento Químico.....	38
2.9. Inoculação.....	39
2.10. Condições de cultivo.....	39
2.10.1. Exigências físicas.....	40
2.10.2.Exigências nutricionais.....	42
2.11. Incubação.....	43
2.12. Frutificação.....	44
2.13. Colheita.....	45
2.14. Contaminações.....	46
2.14.1. Fungos Competidores.....	46

2.14.2. Pragas.....	48
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.1. Obtenção de Matrizes.....	50
3.2. Substratos.....	50
3.3. Inoculação e incubação para desenvolvimento miceliano.....	52
3.4. Frutificação e Colheita.....	53
3.5. Condições de cultivo.....	54
3.6. Parâmetros analisados durante o experimento.....	55
3.6.1. Comportamento das espécies em relação aos diferentes substratos.....	56
3.6.2. Cálculo do rendimento.....	56
3.6.3. Cálculo da perda de matéria orgânica.....	56
3.6.4. Análise estatística	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.1. Comportamento das linhagens - produtividade e período de cultivo.....	58
4.2. Perda de matéria orgânica (PMO%) e eficiência biológica (EB%).....	65
5. CONCLUSÕES.....	74
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Estrutura básica dos corpos de frutificação de basidiomicetos.....	9
2 Aspectos do processo de inoculação e incubação.....	55
3 Variação da temperatura na sala de cultivo	64
4 Eficiência Biológica comparada das diferentes linhagens	69
5 Aspectos da frutificação das linhagens estudadas.....	74

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Produção mundial de cogumelos comestíveis	3
2 Venda anual de cogumelos no CEAGESP entre 1986 e 1991	5
3 Venda de cogumelos nos entrepostos do CEAGESP entre julho e dezembro de 1994	6
4 Importação de Cogumelos em conserva	6
5 Importação de cogumelo dessecado ou desidratado	7
6 Meios de cultura para o cultivo de <i>Pleurotus spp</i>	13
7 principais países produtores de mandioca	23
8 Composição das raízes da mandioca	25
9 Composição do Farelo de mandioca	28
10 Produção de <i>Pleurotus sajor-caju</i> nos diferentes substratos durante o cultivo ...	58
11 Produção de <i>Pleurotus ostreatus</i> nos diferentes substratos durante o cultivo.....	59
12 Comportamento dos diferentes substratos inoculados com <i>Pleurotus sajor-caju</i>	62
13 Comportamento dos diferentes substratos inoculados com <i>Pleurotus ostreatus</i>	63
14 Peso seco do substrato inicial (Pi), Peso seco do substrato final (Pf), Perda de Matéria Orgânica (PMO), Peso fresco dos cogumelos colhidos (PCF), Peso seco dos cogumelos colhidos (PCS) e Eficiência Biológica (EB) dos diferentes substratos cultivados pelo <i>Pleurotus sajor-caju</i>	66
15 Peso seco do substrato inicial (Pi), Peso seco do substrato final (Pf), Perda de Matéria Orgânica (PMO), Peso fresco dos cogumelos colhidos (PCF), Peso seco dos cogumelos colhidos (PCS) e Eficiência Biológica (EB) dos diferentes substratos cultivados pelo <i>Pleurotus ostreatus</i>	67
16 Eficiência Biológica (EB %), Peso de Cogumelo Fresco (PCF) e Perda de Matéria Orgânica (PMO %) para <i>Pleurotus sajor-caju</i>	72
17 Eficiência Biológica (EB %), Peso de Cogumelo Fresco (PCF) e Perda de Matéria Orgânica (PMO%) para <i>Pleurotus ostreatus</i>	73

CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS DO GÊNERO *PLEUROTUS SPP.* EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Autor: ALEX SALVANY FELINTO

Orientador: Prof^a. Dr^a MARNEY PASCOLI CEREDA

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial do uso de resíduos sólidos do processamento industrial da mandioca, como componente de substratos para o cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus spp.*. Além destes resíduos foi empregado também o bagaço de cana-de-açúcar na formulação dos substratos por ser tradicionalmente empregado como constituinte de substratos de cultivo. Foram reproduzidas as condições de um cultivo comercial, onde avaliou-se a produtividade dos substratos.

As espécies *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus*, adquiridas de produtor comercial de sementes, foram usadas para a inoculação de nove substratos já umedecidos, acondicionados em sacos de polietileno e pasteurizados. Após a inoculação, os sacos foram fechados e incubados à temperatura ambiente em sala sem iluminação. Após a colonização dos substratos, estes foram levados para uma sala de cultivo, para a fase de frutificação. Depois de serem pendurados, os sacos foram abertos, efetuando-se então o controle de umidade ambiente através de sistema de aspersão. Esta fase também transcorreu à temperatura ambiente. O tempo de cultivo foi limitado a 100 dias.

Das linhagens empregadas o *Pleurotus sajor-caju* foi a única a produzir corpos de frutificação em pelo menos um saco de cada tratamento, além de apresentar a colonização mais rápida dos substratos empregados e menores perdas por contaminação. Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade do uso de resíduos da industrialização da mandioca como componentes de substratos para o cultivo do *Pleurotus spp.* Dos substratos empregados, o substrato à base de bagaço de cana-de-açúcar mais casca mais folha (1:1:1), foi o que apresentou a maior média de eficiência biológica, com valores próximos a 100%.

PLEUROTUS SPP. CULTIVATION IN AGROINDUSTRIAL WASTES

Author: ALEX SALVANY FELINTO

Adviser: Prof^a. Dr^a MARNEY PASCOLI CEREDA

SUMMARY

The purpose of the present study was to verify the feasibility of using Cassava's industrial processment wastes as substrate for *Pleurotus spp.* cultivation. Sugarcane bagasse was also used for preparing substrates, due to its traditional use on substrate mixture for *Pleurotus spp.* cultivation. Commercial cultivation condition was obtained, aiming to evaluate the substrates productivity.

Two *Pleurotus* strains, *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatus*, acquired from a comercial spawn producer, were used for inoculating nine diferent umidified, packed in polietilene bags and pasteurized substrates. After inoculation, the bags were closed and the incubation took place in a room without illumination. After the substrates colonization, the bags were sent to a cultivation room, and after being hanged, the bags were opened for the frutification phase. The relative Humidity was maintained by an irrigation system, and there was no temperature control. The cultivation period was limited for not more than 100 days.

Pleurotus sajor-caju was the only strain frutificating in, at least one bag by substrate inoculated. This strain has also showed less contamination and faster colonization of substrates. Obtained results have shown the feasibility of using cassava's industrial processing wastes as substrate mixture components for the *Pleurotus spp.* cultivation. From the employed substrates, the sugarcane bagasse added with cassava husks and leaves substrate presented the highest average for biological efficiency, reaching values near 100%.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de cogumelos comestíveis no Brasil vem sendo praticado desde o início do século, mas só a partir da década de 60 passou a se desenvolver, a partir chegada em São Paulo de imigrantes chineses que trouxeram toda a tecnologia do seu país de origem. Estes imigrantes instalaram-se na região de Mogi das Cruzes que possui características climáticas bastante favoráveis para esta prática, tornando esta região a maior produtora nacional.

A produção nacional de cogumelos comestíveis, antigamente representada apenas pelo *Agaricus bisporus* ("Champignon de Paris"), começa a ser compartilhada por novos cultivares de cogumelos, introduzidas a pouco mais de uma década, mas que apresentam potencial de ter seu cultivo aumentado em razão da maior facilidade de cultivo desses, que são menos exigentes em relação ao clima. São eles o *Pleurotus* spp. e o *Lentinus edodes* (Shiitake) que vem sendo produzidos comercialmente em alguns municípios do Estado de São Paulo.

Conhecido popularmente como "Hiratake", "Cogumelo Gigante" ou "Caetetuba", o *Pleurotus* spp é um gênero de cogumelo comestível que pode ser encontrado praticamente no mundo todo, inclusive nas matas brasileiras (Bononi et al, 1995). Atualmente este cogumelo vem atraindo o interesse crescente de agricultores por uma série de fatores, como a alta habilidade de colonização, que favorece o seu desenvolvimento em substratos os mais variados, além de permitir técnicas de cultivo mais simplificadas que as exigidas pelo "Champignon de Paris", sendo menos exigente com relação ao controle ambiental nos sistemas de cultivo comercial (Sturion, 1994).

Cada vez é maior a preocupação de pesquisadores em buscar novas alternativas de produção de alimentos, assim como o destino dos resíduos agroindustriais. É neste quadro que se insere o cultivo de cogumelos comestíveis, uma vez que estes resíduos podem ser empregados com sucesso no cultivo de cogumelos como o *Pleurotus* spp utilizando-se substratos de baixo custo, apresentando ainda a vantagem que seu substrato residual pode ser empregado de várias maneiras, como por exemplo, alimento para animais ou mesmo como fertilizante para o solo (Zadrazil & Grabbe, 1983).

O Brasil é um dos maiores países produtores de mandioca. Segundo dados da FAO, a produção do ano de 1997 foi de 24,35 milhões de toneladas, sendo superado apenas pela produção nigeriana, com 31,00 milhões de toneladas neste mesmo período. De acordo com Cereda (1994), o processo da industrialização desta raiz gera enormes quantidades de resíduos, fato este agravado pela prática de se concentrarem as indústrias em regiões. A maioria das 75 fecularias brasileiras processam quantidades superiores a 200 toneladas diariamente, algumas capazes de processar até 600 toneladas de raízes. Alguns resíduos sólidos como o bagaço ou farelo são motivos de sérios problemas para as indústrias que oneram o custo de produção com o transporte e tratamento em locais adequados. Geralmente este resíduo é distribuído gratuitamente para ser usado como alimentação animal, sem que se faça um melhor destino para este material.

Estima-se que em 1997 o Brasil tenha produzido 336,59 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, mantendo a primeira colocação entre os países produtores de cana-de-açúcar (FAO, 1997). O bagaço de Cana-de-açúcar é amplamente empregado na formulação de substratos de cultivo de cogumelos comestíveis, pelo baixo custo e grande disponibilidade.

O objetivo desta pesquisa foi estudar o cultivo de dois cultivares de cogumelo comestível do gênero *Pleurotus* spp, utilizando como substratos resíduos agroindustriais, comparando os resultados de produção dos substratos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Situação do mercado mundial de cogumelos comestíveis

A nível mundial observa-se pela tabela 1, o aumento da produção do *Pleurotus* spp. que passou de 32.000 toneladas ou 2,6% do total produzido em 1979, para 169.000 toneladas (7,7%), chegando a ocupar a quarta posição entre os cogumelos mais comercializados.

Tabela 1 . Produção mundial de cogumelos comestíveis

Espécies	1979		1984		1986	
	Produção (1000)Ton	%	Produção (1000)Ton	%	Produção (1000)Ton	%
<i>Agaricus</i> spp.	870	71,9	1022	68,7	1227	56,2
<i>Lentinus edodes</i>	170	14,0	234	15,8	314	14,4
<i>Volvariella volvacea</i>	49	4,4	65	4,3	178	8,2
<i>Pleurotus</i> spp.	32	2,6	32	2,1	169	7,7
Outras Espécies	89	7,1	135	9,1	424	13,5
TOTAL	1210	100	1488	100	2182	100

Fontes: Rajarathnam & Bano, 1987; Chang & Miles, 1984; Rajarathnam & Bano, 1988.

Mansur et al. (1992) confirmam que a produção de *Pleurotus* spp. que no início da década de 80 girava em torno de 40.000 toneladas/ano, passou a 340.000 toneladas/ano na década de 90, com a perspectiva de vir a ser o terceiro cultivo no mundo. Pela mesma tabela observa-se que a participação do *Agaricus* spp. diminuiu neste

mesmo período, passando de 71,9% da produção mundial em 1979, para 56,2% em 1986. Mesmo verificando-se um aumento 50% na produção, o “Champignon de Paris” passou a dividir lugar com novas espécies de cogumelo que começam a ser exploradas comercialmente, como o *Pleurotus* spp. que teve um aumento de 528% no mesmo período.

A participação do *Lentinus edodes*, popularmente conhecido como Shiitake, manteve-se constante, numa média de 14,5% da produção mundial. O aumento em produção acompanhou proporcionalmente o aumento da produção mundial de cogumelos comestíveis, com um aumento de 84,7% neste período, com uma produção de 170.000 toneladas em 1979, que elevou-se para 314.000 toneladas em 1986. Segundo Fermor (1993)¹, citado por Eira & Minihoni (1997) a evolução da produção mundial de cogumelos comestíveis entre 80/90 foi de 223,01 %, com um volume de 3.604.000 toneladas no início da década de 90. Neste período a espécie de maior crescimento em produção e consumo foi o *Pleurotus* spp., com 2.250,00 % na produção, que representa 900.000 toneladas no início da década de 90. A participação do *Pleurotus* spp. A produção mundial de cogumelos comestíveis elevou-se para 24,98 %, passando a ocupar a segunda posição entre os mais produzidos. O Shiitake aparece em terceiro com uma participação reduzida de 10,91 % do total, mesmo com um aumento de 218,33 % entre 80/90. Entretanto a maior redução na participação tem ocorrido com o *Agaricus bisporus*, que agora representa 39,51 % do total, continuando ainda como o cogumelo mais cultivado e consumido mundialmente (1.424.000 toneladas).

Os principais países produtores de *Pleurotus* spp. são Japão, Itália e Taiwan, embora também seja cultivado em outros países como Alemanha, Bélgica, China, Índia, Tailândia, Paquistão e Indonésia. Mais recentemente nos EUA, México, Canadá e Nigéria começou-se a cultivar este cogumelo (Chang, 1980; Chang & Miles, 1989).

¹ FERMOR, T. R. Applied aspects of composting and bioconversion of Lignocellulosic materials: Na overview. Internacional bioteridoration and Biodegradation, n. 31, p.87-106, 1993.

2.2 Situação do mercado interno de cogumelos comestíveis

A falta de informações na literatura impede que se tenha uma verdadeira estimativa do volume de cogumelos produzidos e comercializados no Brasil. Os poucos dados disponíveis são subestimados, e as referências constam apenas dos boletins de comercialização do CEAGESP (Centrais Gerais de Abastecimento do Estado de São Paulo) e das publicações de importações e exportações brasileiras registrados pela CACEX (Carteira de Comércio Exterior). Cresce a cada dia o volume de vendas feitas diretamente do produtor para estabelecimentos comerciais, além da venda direta em feiras livres, inviabilizando melhores estimativas.

Segundo dados dos boletins do CEAGESP, a região da grande São Paulo, compreendendo principalmente a região da alta mogiana, é responsável no mínimo por 95% do volume de vendas, sendo que o restante corresponde a outros municípios do próprio Estado de São Paulo. Sabe-se da existência de produtores de alguma expressão na região sul do país, porém sem dados oficiais. Um aumento da comercialização de cogumelos tem sido visto nos últimos anos, como é possível observar nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2 . Venda anual de cogumelos nos entrepostos do CEAGESP entre 1986 e 1991

Ano	1986	1987	1988	1989	1990	1991
Total (kg)	274.278	232.869	312.567	257.460	403.482	431.402
Grande SP	268.312	211.301	298.042	241.893	387.780	411.281
%	97,82	90,73	95,35	93,95	96,1	95,33

Fonte: Boletim Anual CEAGESP.

A tabela 2 mostra o volume de cogumelos frescos nos entrepostos do CEAGESP. Entre 1989 e 1990 o volume de vendas passou de 257.460 Kg para 403.482Kg, representando um crescimento de 56,71% nas vendas de cogumelos comestíveis. Este incremento se deve à participação de novos cultivares de cogumelos comestíveis.

Tabela 3. Venda mensal de cogumelos nos entrepostos do CEAGESP entre julho e dezembro de 1994.

Ano	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	Total
Total (kg)	55.665	70.554	65.208	57.750	56.329	67.021	372.527
Grande SP	53.414	67.479	62.057	56.584	55.015	66.310	360.859
%	95,96	95,64	95,17	97,98	97,67	98,94	96,86

Fonte: Boletim de comercialização mensal CEAGESP, 1994.

A tabela 3 mostra uma tendência de aumento mês a mês nas vendas de cogumelos comestíveis nos entrepostos do CEAGESP. Entre Julho e Dezembro de 1994, ocorreu um crescimento de 20,40% no volume de cogumelos comercializados, permanecendo inalterada a participação da Grande São Paulo em relação ao total comercializado.

Comparando os valores da tabela 2 com valores mais recentes apresentados na tabela 3, percebe-se a evolução recente pelo salto no volume de comercializações no CEAGESP. O total das vendas de cogumelos no segundo semestre de 1994 foi quase a igual à quantidade comercializada em 1989.

A tabela 4 refere-se à importação de *Agaricus spp.* cuja produção nacional continua a ser insuficiente para atender a demanda de consumo do mercado interno. A importação deste cogumelo é feita principalmente durante o verão, quando a produção nacional deste cogumelo reduz drasticamente, ocasionando uma alta nos preços deste produto.

Tabela 4. Importação de Cogumelos em conserva

ANO	Importação(kg)	País de Origem
1979	547	Taiwan e França
1980	660	Reino Unido e Hong Kong
1981	19	Reino Unido
1982	60	Hong Kong
1983	200	Hong Kong
1986	445	Japão, Itália, Hong Kong e Panamá
1987	452	Panamá, Argentina e Itália
1988	445	Japão, Itália e Hong Kong

Fonte: CACEX

A tabela 5 refere-se principalmente a importação de *Lentinus edodes* (Shiitake) do Japão e do *Boletus edulis* originários do Chile e Itália, comumente chamado de “Funghi Secchi”.

Tabela 5. Importação de cogumelo dessecado ou desidratado

ANO	Importação(kg)	Principais Países
1979	3.909	Chile e Japão
1980	3.989	Chile, Japão e Argentina
1981	4.682	Chile e Japão
1982	4.677	Chile e Japão
1983	3.728	Chile e Japão
1984	4.006	Chile, Panamá e Japão
1986	7.266	Chile, Panamá, Itália e Japão
1987	6.463	Chile, Panamá e Japão
1988	7.266	Chile, Panamá, Itália e Japão

Fonte : CACEX

A partir das tabelas 2,3,4 e 5, observa-se que o aumento nas vendas de cogumelos não é devido a um aumento no volume de importações, cujas proporções são muito pequenas em relação ao total de vendas, mas sim em função do aumento do volume de produção nacional. conclui-se que além do aumento da produção e consumo de cogumelos comestíveis em geral, o *Agaricus* spp., outros cogumelos comestíveis começam a ser apreciados pelos consumidores (*Lentinus edodes* e *Pleurotus* spp.). De acordo com Fidalgo & Guimarães (1985) somente estas três espécies de cogumelos são cultivadas, sendo que a primeira é responsável por cerca de 90% do total produzido e as outras duas pelo restante.

Cada vez é maior o consumo de cogumelos comestíveis no Brasil e no mundo. Isto se deve aos avanços da pesquisa sobre a biologia e produção dos fungos comestíveis em geral, resultando em aumento da produção, além de aumento da produtividade por

área, sendo que isto se traduz numa redução dos custos de produção e preço final destes cogumelos, tornando-os mais acessíveis ao público.

2.3 Classificação botânica

De acordo com Eira & Minhoni (1997), o *Pleurotus* spp. Apresenta a seguinte classificação botânica:

REINO: FUNGI
DIVISÃO: EUMYCOTA
SUBDIVISÃO: BASIDIOMYCOTA
CLASSE: HOMOBASIDIMYCETIDAE
SUBCLASSE: HIMENOMYCETES
ORDEM: AGARICALES
FAMÍLIA: TRICHOLOMATACEAE
GÊNERO: *Pleurotus*

O *Pleurotus* pertence a um gênero de fungo cosmopolita que tem por habitat natural as florestas temperadas, tropicais e subtropicais, vivendo saprofiticamente, decompondo a madeira de árvores caídas, havendo relatos de isolamento de cepas selvagens em países de todos os continentes. Na região da América tropical que concentra os países da Amazônia Legal, sabe-se da ocorrência natural de 38 espécies de *Pleurotus* spp., sendo que 31 destas são comestíveis. Apesar disto a maioria ainda não foi estudada, apesar de poderem ser empregadas no cultivo, com a vantagem de serem adaptadas aos climas regionais brasileiros. O consumo de cogumelos comestíveis por tribos indígenas amazônicas é relativamente comum, sendo que foi feita a identificação e isolamento em meio de cultura de algumas linhagens de *Pleurotus* spp., como o *Pleurotus ostreatoroseus*, que hoje em dia já está sendo produzido comercialmente em algumas

regiões de São Paulo, (Capelari, 1986; Capelari & Maziero, 1988; Maziero, 1990, Martinez-Carrera et al, 1992).

Os corpos de frutificação ou basidiocarpos dos cogumelos comestíveis são compostos de duas estruturas básicas: píleo ou chapéu e o estipe ou pé.

Figura 1- Estrutura básica dos corpos de frutificação de basidiomicetos

Os corpos de frutificação das diversas espécies de *Pleurotus spp.* apresentam uma farta variedade de cores como, branco, marrom, amarelo, salmão, cinza, preto e azul-escuro. O píleo possui a forma de concha, com tamanho variando entre 2 e 30 cm; o estipe é curto, de localização lateral em relação ao píleo, com dimensões variando de 1 a 10 cm de comprimento, com 1 a 3 cm de diâmetro, podendo também estar ausente. A coloração das lamelas variam de tonalidades esbranquiçadas até violeta e cinza. A margem do píleo pode ser lisa, quebrada ou levemente serrilhada ou denteada, dependendo da espécie. Normalmente frutifica em cachos (Zadrazil, 1978; Rajarathnam & Bano, 1987).

No gênero *Pleurotus* são encontradas várias espécies comestíveis, entre elas o *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-caju*, *P. eous*, *P. cornucopiae*, etc. A cor do píleo ou chapéu difere para cada uma destas espécies, assim como a temperatura de

frutificação, necessidades nutricionais, tempo de incubação, etc. O *P. ostreatus*, por exemplo, possui coloração cinza e a temperatura para a produção varia entre 15 e 18°C, para a maioria das suas linhagens. Já o *P. sajor-caju*, que possui coloração cinza puxando para o marrom, tem como melhor temperatura para frutificação entre 22 e 25°C. O *P. eous* e o *P. ostreatoroseus*, ambos com píleo cor de rosa a salmão, também frutificam a temperaturas mais elevadas, ou seja, entre 22 e 25°C, o mesmo ocorrendo com o *P. ostreatus* “Florida”, que possui o píleo branco. A maioria das espécies e linhagens utilizadas para o cultivo no Brasil são originárias da Europa e da Ásia (Bononi et al., 1995). Sabe-se também que é muito difícil considerar a coloração dos corpos de frutificação como característica para a classificação das espécies de *Pleurotus*. O resultado de vários trabalhos indicaram que a cor é uma característica extremamente variável no gênero *Pleurotus* spp. Dependendo das condições de cultivo (temperatura, luminosidade, tipo de substrato, concentração de oxigênio e CO₂) os corpos de frutificação de uma mesma linhagem de *P. ostreatus* podem ser brancos, creme, marrom, marrom escuro, cinza claro, cinza escuro e até tons azulados. Além disso outro sério problema com relação à diferenciação e identificação das diferentes espécies entre si, é o intercruzamento das espécies bastante comum, gerando descendentes viáveis, o que cria sérios problemas taxonômicos (Rajaratnhan & Bano, 1987).

2.4 Obtenção de matrizes e produção de semente ou “Spawn”)

A reprodução dos fungos na natureza ocorre de duas maneiras:

- Reprodução sexuada, é feita através dos esporos, produzidos em estruturas denominadas basídios, localizados nas lamelas, que são estruturas escuras que ficam na parte inferior do chapéu do cogumelo (píleo). Quando atingem a maturidade, estes esporos são liberados para o ambiente, sendo transportados pelo vento ou pela água da chuva. Ao encontrar um local favorável, rico em matéria orgânica e umidade, estes começam a germinar e se desenvolver, produzindo hifas que formarão o chamado

“micélio primário”. Caso as hifas sejam compatíveis, podem vir a se fundirem originando o “micélio secundário”. Este “micélio secundário” é uma estrutura binucleada originária dos núcleos provenientes dos esporos pais, sendo que este micélio irá crescer, multiplicar-se, e produzir novos cogumelos (Chang & Miles, 1989).

- Reprodução assexuada - segundo Bononi et al. (1995), na natureza a reprodução assexuada ocorre por proliferação de qualquer parte do cogumelo, ou seja, do micélio secundário sobre restos orgânicos, como troncos de árvores caídas nas matas. Por exemplo, quando um animal ou homem quebra um cogumelo, esses fragmentos, caindo em local favorável, poderão dar origem a novas colônias, com características genéticas idênticas ao material de origem.

Já o cultivo artificial do *Pleurotus* spp. segue uma série de operações, que compreende: obtenção de inóculo, produção de micélio em grãos, preparo do substrato, tratamento térmico, inoculação do substrato com grãos colonizados pelo micélio (“Semente” ou “Spawn”), “Corrida do Micélio” ou colonização do substrato, frutificação e colheita. Cada etapa tem grande importância na produtividade do cultivo, mas as duas primeiras fases devem ser cercadas de cuidados, pois utilizando-se uma “semente” que não possua boas características de colonização do substrato e frutificação, não será possível obter uma boa produção, mesmo mantendo-se as condições de cultivo ideais para o seu desenvolvimento (Flegg, Spencer & Wood, 1985). O inóculo para o substrato de cultivo consta de micélio do fungo desenvolvido sobre grãos e/ou palhas de cereais ou ainda pó de serra estéreis, acondicionados em frascos de vidro ou sacos de polietileno. De uma maneira geral, a preparação do inóculo é muito exigente quanto aos métodos de assepsia no laboratório, esterilização dos materiais a serem utilizados, bem como do meio de cultura, além da necessidade de mão-de-obra qualificada, sendo portanto realizada por poucos laboratórios. Estas empresas realizam seleção para obter uma linhagem com maior produção e uniformidade dos corpos de frutificação, produtividade mais elevada, precocidade, resistência a pragas e doenças, etc. (Eira & Minhoni, 1997).

2.4.1 Preparo do meio de cultura

A cultura inicial para este substrato intermediário pode ser obtida pela inoculação asséptica de basidiósporos ou tecido do corpo de frutificação em desenvolvimento, em meio de cultura como Batata-Dextrose-Agar ou Malte-Agar (Zadrazil & Grabbe, 1983; Rajarathnam & Bano, 1987). Bononi et al.(1995), descrevem um método prático de preparo do meio Batata-Dextrose-Agar (BDA), que é o meio mais utilizado:

- cozinhar 140 g de batata inglesa em 500 ml de água destilada, amassar e coar em algodão ou gaze;
- dissolver 20 g de ágar ou gelatina branca sem sabor em 500 ml de água destilada, cozinhando em banho-maria, mexendo sempre;
- juntar os dois líquidos adicionando 20 g de dextrose previamente dissolvida no mínimo de água possível, completando o volume até 1.000 ml;
- distribuir o meio em frascos tipo pirex, tendo o cuidado de não ultrapassar a metade da sua capacidade total do frasco (Erlenmeyer), de 250 ml. Tampar com algodão hidrófobo, recobrimdo o tampão com papel alumínio;
- proceder a esterilização em autoclave a 121°C por 30 minutos, devendo-se descartar frascos que tenham sofrido alterações na aparência (caramelização) durante o processamento;
- depois que os frascos esfriarem até 40 - 45°C, transferir para placas-de-petri previamente esterilizadas, vertendo aproximadamente 20 ml de meio por placa. Esta operação deve ser feita sob condições assépticas, de preferência em uma câmara de fluxo laminar, um aparelho que possui circulação interna de ar, purificado através de inúmeros filtros de elevada capacidade de retenção de microorganismos, além de esporos e partículas de poeira. Este aparelho possui também lâmpada ultravioleta de alta capacidade germicida. Por ser um equipamento caro, sua aquisição nem sempre é possível, podendo ser obtidos resultados extremamente satisfatórios com uma boa limpeza no local de

trabalho e sempre trabalhar perto de uma chama, seja uma simples lamparina a álcool, ou chama de gás. Depois de solidificados, devem ser utilizados o mais rapidamente possível, sendo que podem ser conservados em geladeira por até 40 dias. Todos os instrumentos necessários (vidrarias), assim como o ágar e até o meio BDA semi pronto, podem ser comprados em lojas de produtos químicos.

O meio BDA, apesar de ser comumente empregado, deve ser encarado com reservas, uma vez que já foi percebida a deterioração de linhagens mantidas por muito tempo neste meio, na qual a cultura após uma série de transferências, não consegue mais colonizar um substrato. Segundo Rajarathnam & Bano (1987), este fato se deve, provavelmente, a um envenenamento do micélio pela glucose presente no meio. Para evitar este tipo de problema são encontrados na literatura referências ao emprego de outros meios de cultura.

Bononi et al.(1995), citam mais alguns meios de cultura que podem ser utilizados, que estão na tabela 6. Os autores comentam que o modo de preparo destes meios é semelhante ao modo de preparo do BDA descrito anteriormente.

Tabela 6 : Meios de cultura para o cultivo de *Pleurotus* spp.

BDA Levedura	Malte Peptona Ágar	Extrato de Malte Levedura Ágar
300g filtrado de batata	20 g extrato de malte	20 g extrato de malte
10 g dextrose	5 g grãos de trigo	2 g extrato de levedura
2 g extrato de levedura	5 g peptona ou neopeptona	20 g ágar
20 g ágar	2 g extrato de levedura	1000 ml água destilada
1000 ml água destilada	20 g ágar	-----
-----	1000 ml água destilada	----

Fonte : BONONI *et al.* (1995)

A expressão da produtividade de uma linhagem de *Pleurotus* spp. em colonizar rapidamente substratos e conseqüente produção é dependente de inúmeros fatores, sendo

que o meio de cultura empregado pode ser um fator de seleção para o micélio, favorecendo ou prejudicando seu desenvolvimento. Desta forma, ao se empregar um meio de cultura cuja constituição seja semelhante ao substrato a ser utilizado posteriormente para a produção da semente ou “Spawn”, estará sendo fornecido ao micélio condições ideais para que ele possa se desenvolver rapidamente, reduzindo o tempo de adaptação após a inoculação. Pensando assim, Eira & Minihoni (1997) utilizam os meios de cultura Milho-Dextrose-Ágar, Bagaço-Dextrose-Ágar e o Serragem-Dextrose-Ágar, em cujo preparo utiliza-se 200 a 400 g de milho (grão ou quirera), bagaço de cana-de-açúcar pasteurizado ou serragem, preparado com 12g de ágar e 10g de dextrose. A forma de preparo dos meios não difere daquela descrita para o preparo do BDA. No caso do meio de serragem, o extrato, antes de acrescentar ágar ou dextrose, deve ter o pH corrigido para 6,0 com uma solução de carbonato de cálcio a 5%. Bononi et al., (1995) recomenda o uso de uma solução de ácido clorídrico 1 molar para acidificar e hidróxido de sódio 1 molar para alcalinizar, utilizando fita medidora de pH para controlar a variação.

Para reduzir as contaminações microbianas quando ocorrerem em altas taxas emprega-se antibióticos como a estreptomicina (0,10g/l), numa diluição em 5ml de água destilada e esterilizada, adicionada ao meio de cultura já esterilizado, antes de verter para as placas. Utilizando Sulfato de gentamicina (0,10g/l), fazer a incorporação ao meio antes de autoclavar (Eira & Minihoni, 1997; Bononi et al., 1995).

2.4.2 Obtenção de matrizes a partir de micélio

Neste processo estará sendo obtido uma matriz por via assexuada, ou seja, este material terá as mesmas características genéticas da linhagem utilizada para a produção do corpo de frutificação empregado no isolamento.

Para isto deve-se selecionar um cogumelo sadio e com textura firme, que não tenha sido molhado recentemente para evitar contaminantes que possam ser trazidos pela água, que necessita estar fresco (até 48 horas após a colheita, se muito bem armazenados) e ainda que seja obtido de uma cultura de boa produtividade (que apresente boas características de rapidez de colonização do substrato empregado e boa produção de corpos de frutificação). Deve-se proceder uma rápida lavagem do cogumelo numa solução de água sanitária numa diluição a 10% em água destilada ou fervida, enxaguando-o em seguida com água destilada. Retira-se então uma película da superfície com a ajuda de um estilete previamente flambado, ou apenas divide-se o cogumelo, retirando-se então pequenos pedaços do tecido interno do cogumelo (micélio) com uma pinça também flambada, que é colocado no centro da placa-de-petri com meio de cultura. Quando se faz este tipo de isolamento é recomendável inocular o maior número possível de placas, em razão da elevada taxa de contaminação que ocorre nas placas.

Deve-se descartar toda placa que tiver um crescimento diferente daquele típico deste cogumelo, que é um branco cotonoso, sem manchas ou pontuações. Pode-se também fazer transferências de material de placas com início de contaminação para outras com meio de cultura esterilizado, visando purificar a cultura em isolamento. Vale ressaltar a necessidade de se trabalhar o mais perto possível de uma chama, para reduzir as chances de contaminantes presentes no ar terem contato com o meio. Estas placas devem ser então levadas para uma estufa e colocadas em posição invertida (o meio de cultura fica para cima e o micélio para baixo), onde serão mantidas no escuro a 25°C.

Em aproximadamente 15 dias as placas devem estar totalmente tomadas pelo micélio. Após a obtenção da cultura pura, sem contaminantes, transferir o material para os tubos de ensaio com meio inclinado, veda-se com algodão ou filme de PVC para evitar a contaminação e perda de umidade. Se depois de uma semana em temperatura ambiente não for observado o aparecimento de contaminantes e o micélio tiver crescido em todo o meio, armazenar em geladeira a 4°C, para que a atividade metabólica seja reduzida,

diminuindo o seu desenvolvimento, o que eleva o tempo de conservação das culturas (Chang & Miles, 1989; Bononi et al., 1995; Eira & Minihoni, 1997).

2.4.3 Obtenção de matrizes a partir dos esporos

Empregando esta técnica é possível obter matrizes geneticamente diferentes do material de origem., sendo uma ferramenta importante para se obter novas linhagens a serem empregadas em programas de melhoramento genético.

2.4.3.1 Isolamento

Neste método após a coleta do cogumelo faz-se a retirada do estipe. Coloca-se este sobre um papel de filtro ou papel manteiga dentro de uma placa-de-petri (este material deve ter sido previamente esterilizado), cobrindo-o em seguida para evitar a entrada de contaminantes. Em pouco tempo o cogumelo irá liberar uma enorme quantidade de esporos no meio, afinal esta é uma característica do gênero *Pleurotus*. A emissão de esporos, ao contrário da maioria dos cogumelos comestíveis, começa logo após a formação do corpo de frutificação, sendo que em 1 a 4 horas pode-se obter uma considerável quantidade de esporos. Cortar pedaços de mais ou menos 2 centímetros quadrados do papel coberto de esporos, colocando-o no frasco com 100 ml de água destilada esterilizada.

O plaqueamento é feito colocando-se 1ml da suspensão em uma placa de Petri vertendo o meio a seguir (semeadura em profundidade), ou 0,1ml da suspensão em placa com o meio já solidificado (semeadura em superfície). Uma outra técnica que pode ser usada é a transferência direta dos esporos para as placas com meio solidificado com o agulhas ou estilete flambado. Pode-se também utilizar pequenos pedaços das lamelas para inocular as placas com meio solidificado. Incubar a 25°C por 7 a 10 dias e depois de obter-se uma cultura pura (cultura multispórica), fazer a transferência para tubos de ensaio

com meio inclinado (Rajaratnam & Bano, 1987; Bononi et al., 1995; Eira & Minihoni, 1997).

2.4.3.2 Cultura monospórica

Após obter-se a suspensão de esporos como descrita anteriormente, retira-se 1ml da suspensão e transfere-se para um tubo de ensaio com 9 ml de água destilada e esterilizada, agitando em seguida para diluir homogeneamente a amostra (diluição 1/10). Transferir desta diluição 1ml para outro tubo com 9 ml de água destilada e esterilizada (diluição 1/100). Repetir o procedimento até a diluição 1/10.000. O plaqueamento é feito com semeadura em superfície ou em profundidade, utilizando amostras de todas as diluições. Após 5 a 10 dias de incubação a 25 °C, observa-se colônias visíveis, após a germinação dos esporos. Esta diluição é feita de maneira a facilitar a visualização e isolamento de culturas monospóricas que, quando colocadas em contato com outras podem se cruzar, originando novas linhagens. Para que isto ocorra é preciso que elas sejam compatíveis entre si e de todos os cruzamentos possíveis, apenas 25% terão compatibilidade.

Na prática pode-se verificar se ocorreu cruzamento simplesmente observando pelo fundo da placa a linha formada nas margens dos micélios analisados. Se não for observado crescimento nesta faixa (formação da “linha de lise”), significa que as hifas não se fundiram, o que é sinal da incompatibilidade entre as hifas. Outro teste para observar a ocorrência da fusão das hifas é a observação no microscópio de partes de micélio. Se realmente houve a fusão vê-se a formação de estruturas denominadas de grampos de conexão. Acontece que mesmo as linhagens que se fundiram originando o micélio secundário devem ser testadas para verificação da sua capacidade produtiva a nível de campo (Chang & Hayes, 1978; Rajaratnam & Bano, 1987; Eira & Minihoni, 1997).

2.4.4 Conservação de culturas

Depois de isolada e testada, uma linhagem deve ser conservada viável pelo maior tempo possível. Para tanto deve-se inocular esta linhagem em tubos de ensaio com meio inclinado e vedado com filme PVC ou em tubos de ensaio com tampa hermética, uma vez que o tubo oferece menor superfície de exposição ao ressecamento e contaminação em comparação com as placas-de-petri, aumentando o tempo de conservação do micélio no meio. Nesta condição pode-se utilizar diretamente o micélio desenvolvido nestes tubos para a produção de semente. A conservação das linhagens deve ser feita sob refrigeração em temperaturas entre 4 e 7°C, sendo que periodicamente as culturas devem ser testadas em cultivo para verificar a qualidade do material, fazendo a transferência de material para novos tubos com meio, quando necessário (Chang & Miles, 1989; Eira & Minihoni, 1997)).

Em teoria, as transferências não devem ser muito frequentes, para diminuir os riscos de contaminações ou erros técnicos que podem levar a degeneração da linhagem. Os sintomas degenerativos mais freqüentemente detectados são setores de crescimento retardado, micélio fino e com aparência fraca, ou um micélio com crescimento de formato diferente do normal, no qual o micélio fica parecido com flocos de algodão. Um micélio de crescimento retardado necessita de mais tempo para colonizar substratos, o que favorece a contaminação microbiana. Existem outras técnicas de conservação que também são empregadas como o congelamento em nitrogênio líquido, assim como a liofilização das culturas, mas que irão onerar o custo de manutenção das culturas (Rajaratnam & Bano, 1987; Bononi et al., 1995; Eira & Minihoni, 1997).

2.4.5 Produção da semente ou “Spawn”

A maior parte das sementes produzidas emprega grãos de cereais como trigo, sorgo, centeio, arroz, painço e milho. Mas também pode-se usar serragem, palha de

cereais, como arroz ou trigo e até bagaço de cana-de-açúcar. Estes dois tipos de substrato são preparados de forma diferente e possuem vantagens e desvantagens. uma vez que a semente preparada com grãos de cereais atinge o ponto ideal para inocular mais rapidamente que a outra (20 a 25 dias no primeiro caso e 50 a 60 dias no outro), mas o tempo de armazenamento da semente pronta é muito maior para a semente preparada com serragem ou palha, perto de 6 meses para a semente a base de palha e 1 mês para a semente a base de grãos, mantendo-se a temperatura de 5°C, (Rajarathnam &Bano, 1987).

Para o preparo da semente utiliza-se vidros de boca larga com capacidade para 500 ml previamente esterilizados. No caso de se empregar grãos de cereais, este devem ser cozidos por 15 minutos após começar a ferver. Depois de escorrer o excesso de líquido, adiciona-se carbonato de cálcio e gesso na proporção de 1 a 3 % do peso seco dos grãos, sendo que a proporção entre eles é de uma parte de carbonato de cálcio para quatro de gesso. Pode-se também apenas adicionar 1 % de carbonato de cálcio. Com os grãos ainda quentes, colocar em cada frasco aproximadamente $\frac{3}{4}$ do seu volume. É importante que os frascos utilizados tenham sido esterilizados previamente. Veda-se com tampa e algodão e autoclava-se a 120°C por uma hora uma única vez ou por 30 minutos duas vezes consecutivas com intervalo de 24 horas (Bononi et al,1994; Eira & Minhoni, 1997)).

Segundo Eira & Minhoni (1997), no caso da produção de semente a partir da serragem ou bagaço, deve-se misturar 5 % de farelo de soja, seguido de umedecimento, no qual levamos a umidade do substrato para 70 %. Neste grau de encharcamento quando aperta-se o substrato com as mãos, apenas umas gotas da água brota entre os dedos. Acrescer 1 % de carbonato de cálcio a mistura, colocar nos frascos, ocupando $\frac{2}{3}$ do volume destes, vedar com a tampa e algodão e autoclavar a 120°C por uma hora ou por 30min, duas vezes consecutivas com intervalo de um dia entre os tratamentos.

Os frascos assim obtidos estão prontos para serem inoculados com culturas puras produzidas anteriormente. É recomendável inocular os frascos o mais breve possível, para evitar o crescimento de contaminantes que possam ter sobrevivido ao tratamento térmico. A inoculação deve ser feita no máximo 24 horas após a esterilização. Nesta operação transfere-se assepticamente para os frascos, pequenos pedaços de micélio crescido em meio de cultura (cerca de 0,5 cm²/frasco). Agora os frascos inoculados serão incubados no escuro a 25°C aproximadamente, sendo que em 15 a 30 dias as paredes dos frascos estarão visivelmente brancas pelo crescimento do micélio no substrato. Deve-se eliminar todos os frascos que tiverem crescimento com outra coloração diferente da branca e todo cuidado com a assepsia do local de incubação é importante, sendo que as contaminações mais usuais são causadas por fungos dos gêneros *Penicilium* e *Aspergillus*, causando manchas verde-escuras. Durante o crescimento do micélio, deve-se agitar os frascos ao redor do 5º e 9º dia de incubação para promover um melhor espalhamento do micélio pelo substrato (Rajarithnam & Bano, 1987; Chang & Miles, 1989; Bononi et al., 1995).

A própria semente pode servir de inóculo para a produção de mais semente, bastando transferir um pouco dos grãos ou outro substrato qualquer onde o micélio esteja se desenvolvendo, para novos frascos com grãos ou substrato esterilizado. Não se deve repetir esta prática por mais de duas vezes, pois a viabilidade diminui com a multiplicação contínua, além do aumento da probabilidade de contaminação, segundo Eira & Minihoni(1997).

A semente pronta pode ser armazenada em geladeira por até 4 meses a 4°C, bastando retirar da geladeira antes de usá-la, porém é preferível usar a semente o mais brevemente possível, uma vez que com o decorrer do tempo de armazenamento, a produtividade tende a declinar de acordo com Rajarithnam & Bano (1987) Bononi et al. (1995).

2.5 Métodos de cultivo

Segundo Ribeiro & Horii (1992), a cada nova identificação de cogumelos comestíveis, interessantes sob os aspectos nutricionais e sensoriais, passa a existir a necessidade de se constituir embasamentos tecnológicos adequados para a exploração desse fungo em cultura artificial. Inúmeras pesquisas para o cultivo em escala comercial vêm sendo realizadas pelo mundo todo desde a metade deste século.

O cultivo de cogumelos comestíveis pode ser classificado em cinco categorias (Rajaratnam *et al.*, 1992):

- a) Cultivo em toras de madeira. Ex.: *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus* e *Auricularia politricha*;
- b) Cultivo em garrafas. Ex.: *Flammulina velutipes* e *Pleurotus ostreatus*;
- c) Cultivo em caixas. Ex.: *Pholiota nameko* e *Pleurotus ostreatus*;
- d) Cultivo em camas. Ex.: *Agaricus bisporus* e *Volvariella volvacea*;
- e) Cultivo em sacos de polietileno. Ex.: *Pleurotus*, *Auricularia* e *Coprinus*.

No cultivo de *Pleurotus*, os sacos de polietileno transparentes têm se mostrado ideais por três principais razões (Rajaratnam & Bano, 1987):

- Não haver qualquer necessidade de irrigação durante a fase de crescimento miceliano, devido à impermeabilidade deste material;
- As partes expostas pela abertura do saco fornecem ótima superfície para o desenvolvimento do cogumelo;
- O restrito número de orifícios executados permite maior crescimento dos cogumelos.

De acordo com Colauto (1994). Vários recipientes são utilizados em diversos métodos de cultivo para crescimento e frutificação do micélio. Dentre eles, os sacos de polietileno têm as seguintes vantagens em relação aos outros:

- Proporcionar maior assepsia;
- Melhor controle de patógenos;
- Não necessita de irrigação do substrato;
- Mais fácil remoção para a indução de primórdios;
- Oferece ampla superfície de exposição após a remoção;
- Apresenta maior rendimento.

2.6 Substratos

O substrato é um dos itens mais importantes responsáveis pelo elevado custo do cultivo de cogumelos no Brasil. Além do preço e da dificuldade de obtenção, deve-se adicionar os problemas relacionados com o transporte da matéria-prima até o local de cultivo (Sturion, 1994). A melhor maneira para se reduzir o custo da produção de cogumelos no Brasil é encontrar substitutos para os substratos tradicionalmente utilizados e aproximar a área de produção da matéria-prima à área de cultivo, de acordo com Fidalgo & Guimarães (1985). O tipo e a disponibilidade de resíduos ligno-celulósicos de qualquer região em particular, dependem de fatores tais como clima e ambiente, uso e desuso, cultura da população e do tipo e natureza da tecnologia regional (Rajaratnam et al., 1992).

Segundo Maziero (1990), deve-se tomar cuidado para que a matéria-prima a ser utilizada não tenha sofrido a ação de decomposição de outros microorganismos tanto no campo antes da colheita, como durante o transporte ou armazenamento. O *Pleurotus* spp. é um decompositor primário, ou seja, degrada os elementos estruturais do resíduo; se estes

já foram degradados antes, a colonização por parte do fungo será dificultada, facilitando o ataque dos microorganismos competidores, reduzindo a produtividade.

De acordo com Rajarathnam & Bano (1987), as espécies de *Pleurotus* possuem a capacidade de colonizar uma grande diversidade de resíduos ligno-celulósicos com baixos teores de nitrogênio, sem a necessidade de compostagem, resultando em:

- Bioconversão do substrato em corpos de frutificação comestíveis, de sabor e aroma agradáveis e de peculiar importância nutritiva e medicinal;
- Biotransformação do substrato, principalmente através da degradação de polissacarídeos, melhorando sua digestibilidade.

2.6.1 A mandioca e seus resíduos

Vê-se que atualmente o cultivo da mandioca encontra-se distribuído por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, notadamente entre os países do terceiro mundo, chegando a ser considerada base alimentar de povos da África, Ásia e América Latina, como observa-se pela tabela 7 obtida nos boletins de produção da FAO.

Tabela 7. Principais países produtores de mandioca

	89-91	1992	1993	1994	1995	1996	1997
MUNDO	12.398*	15.305	15.432	15.247	16.414	16.689	16.619
Nigéria	1.150	2.132	2.100	2.100	3.140	3.150	3.100
Congo, R Dem.**	1.294	2.021	2.083	1.960	1.890	1.880	1.880
Indonésia	1.350	1.651	1.679	1.500	1.544	1.700	1.610
Tailândia	1.513	2.035	2.426	1.909	1.816	1.720	1.720
Brasil	2.431	2.191	2.186	2.401	2.4584	2.458	2.450

Fonte : FAO.

*- Produção em (x 10.000 Tons)

** - República Democrática do Congo

O Brasil aparece em segundo lugar entre os maiores produtores mundiais, com uma produção anual de 24.354×10^3 toneladas em 1997, sendo responsável por 14,74 % do total, sendo superado pela Nigéria com uma produção de 31×10^6 toneladas de raízes. O Brasil perdeu a liderança para a Nigéria a partir de 1995. Entre 1992 e 1997 a produção nacional teve um aumento de 11,82%, enquanto a Nigéria teve um aumento de 45,40% neste mesmo período. Isto é devido ao aumento da produtividade de 10.660 para 11.274 KG/ha (5,75%), além do aumento da área cultivada de $2,0 \times 10^6$ para $2,7 \times 10^6$ ha (35%) de área cultivada.

2.6.1.1 Composição da raiz da mandioca

A raiz da mandioca, de um modo geral, é constituída por uma película externa suberificada ou periderme, de coloração branco-acinzentada ou marrom-avermelhada; a entrecasca ou córtex, geralmente branca e espessa, rica em uma substância leitosa (látex) que pode conter o princípio venenoso da mandioca e, finalmente, um cilindro central volumoso de cor branca, rósea ou amarelada, onde se acumula o amido, denominado de polpa. O cilindro central pode apresentar também, certa quantidade do princípio venenoso (compostos cianogênicos), com menor intensidade em relação à acumulada na casca.

O amido é armazenado em células parenquimatosas do lenho e em raízes vasculares do xilema; as paredes dessas células tornam-se delgadas, de modo que o teor de celulose das raízes da mandioca é inexpressivo. No centro da raiz encontram-se fibras, formadas por feixes do xilema, constituindo feixes que atravessam a raiz no sentido de seu comprimento. De um modo geral, as cascas e as fibras compreendem 15 a 20% do peso bruto das raízes tuberosas. As fibras, porém, tornam-se mais grossas a medida que a planta envelhece, o que determina uma queda no teor de amido, (Câmara et al., 1982). A composição das raízes pode variar muito de autor para autor devido a inúmeros fatores como as condições ambientais em que a planta se desenvolveu, cultivar utilizado, idade da

como as condições ambientais em que a planta se desenvolveu, cultivar utilizado, idade da planta, além de diferenças de metodologia de análise. Em termos gerais, podemos afirmar que, do ponto de vista nutricional, a mandioca é um alimento puramente energético, considerando-se o baixo teor de proteínas e elevado conteúdo em carboidratos que apresentam as raízes. Barbosa (1989), apresenta a composição química de raízes da mandioca na tabela 8.

Tabela 8. Composição das raízes da mandioca

COMPONENTES	PORCENTAGEM
Umidade	60.00-65.00
Amido	21.00-33.00
Proteínas	1.00-1.50
Gorduras	0.18-0.24
Fibras	0.70-1.06
Cinzas	0.60-0.90

Fonte: BARBOSA(1989).

Barbosa (1989) determinou os teores de ácido cianídrico, carboidratos e proteína em folhas e raízes de dez cultivares de mandioca, durante o segundo ciclo vegetativo da cultura. Na determinação do teor de carboidratos ácido-digeríveis, as médias de cada cultivar variaram de 34,61 a 43,30% da matéria fresca, sendo o menor 32,78% e o maior 46,72% de carboidratos ácido-digeríveis, não havendo diferença estatística entre estes valores.

Os componentes mais importantes da mandioca são os carboidratos, dos quais o amido constitui a quase totalidade da matéria seca. A fração não amilácea dos carboidratos é de 3,10%, dos quais 0,93% corresponde a glicose, 0,43% a frutose e maltose, 1,7% de sacarose e 0,01% de rafinose. Assim sendo, a raiz de mandioca é considerada altamente calórica, gerando aproximadamente 1500 cal/kg. O teor de fécula, apesar das variações,

encontra-se variações de concentração de 0.1 a 1.0% do peso das raízes, composta por 35% de ácido palmítico, 3.1% de ácido esteárico, 39.0% de ácido oléico, 18.0% de ácido linoleico e 5.6% de ácido linolênico (Oke², 1968, citado por Cereda, 1994).

2.6.1.2 Composição das Folhas De Mandioca

Figueiredo & Rego (1973), comparando o teor protéico e mineral de raízes e folhas de 7 variedades de mandioca, encontraram nas ramas 14 a 15% de proteína na matéria seca, aproximadamente oito vezes maior que nas raízes, enquanto que o teor mineral (ferro, cobre, zinco e manganês) das raízes foi bem maior que o das folhas. Segundo os autores, o baixo teor protéico encontrado nestas análises pode ter sido decorrente de uma colheita tardia do material.

Silva (1978), estudando a composição química da mandioca, encontrou na literatura que suas folhas frescas contém em média 77% de umidade, 8,2% de proteína bruta, 3,3% de carboidratos solúveis, 1,2% de gordura, 7,8% de fibra bruta, os constituintes minerais óxido de cálcio, ácido fosfórico e óxido férrico, e as vitaminas ácido ascórbico, caroteno, B1, B2 e niacina.

Kling et al. (1976), visando o aproveitamento industrial das folhas de mandioca, fizeram inicialmente um estudo sobre seu teor e qualidade protéica, tendo encontrado um teor protéico médio de 28,92%, sendo a proteína, em relação aos aminoácidos essenciais, rica em lisina e deficiente apenas em metionina, resultado semelhante ao encontrado por outros autores.

2.6.1.3 Resíduos da industrialização da mandioca

Segundo o relatório da REUNIÃO TÉCNICA SOBRE TRATAMENTO E APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS DE MANDIOCA (1988), são

²OKE, O.L. Cassava as food in Nigeria. *World Rev. Nutr. Dietetics*, 96, p.227-50, 1968

obtidos os seguintes resíduos durante o processamento da farinha de mandioca: Casca (7 a 19%), crueira (3 a 4%), descarte (7 a 10%), varredura (resíduo equivalente ao produto final sedimentado nos pisos, maquinários e estrutura física da indústria, com porcentagem variada), água de lavagem da raiz e manipueira, água de prensa ou água residual (30%). Na extração da fécula, para a produção de polvilho doce e/ou azedo, foram identificados os seguintes resíduos: Casca (7 a 10%), descarte (1%), farelo (resíduo celulósico, energeticamente não esgotado, com mais de 100% do peso da matéria-prima em virtude de absorção de água) e água residual.

A casca marrom, em termos técnicos, corresponde à periderme que varia entre 2 e 5% do peso total das raízes, sendo constituída de uma fina camada celulósica, de coloração marrom clara ou escura. A casca é um resíduo que apresenta 48,28% de umidade, 41% de fibras, 4% de cinzas, 3% de lipídios, 0,64% de nitrogênio, além de elementos minerais, como Ferro (5538 ppm), Potássio (430 ppm) e Cálcio (280 ppm), (Motta, 1985).

O descarte é produzido durante a operação de seleção da matéria-prima, com a finalidade de não forçar o ralador e tem composição semelhante à raiz de mandioca, sendo apenas mais fibroso por conter o pedúnculo. Sua qualidade depende do cultivar e da idade da raiz, apresentando-se em média com 55-60% de umidade. A crueira é constituída de pedaços de raízes e casca separados por peneiras antes do forno, no processamento de farinha de mandioca. A produção e composição destes resíduos depende da composição da matéria-prima e do tipo de equipamento empregado (Cereda, 1994).

O farelo de mandioca é um subproduto de fabricação da fécula ou amido. É constituído de uma polpa fibrosa residual, ainda com um teor elevado de amido, podendo servir como material forrageiro a ser incorporado em rações balanceadas, segundo Scholz

(1971). Na tabela 9 encontra-se a composição do farelo de mandioca determinada por Melotti (1972).

Tabela 9. Composição do farelo de mandioca

Componentes	Farelo de mandioca
Matéria seca	89.83
Proteína bruta	1.64
Etrato estéril	0.48
Fibra bruta	9.70
Matéria mineral	1.48
Extrato não nitrogenado	76.56
Cálcio	0.42
Fósforo	0.02
Celulose	9.82
Cinza	1.04
Sílica	0.43
Nutrientes digeríveis totais	74.83

Fonte : MELOTTI ,1972.

2.6.2 Bagaço de Cana-de-açúcar

De acordo com dados da FAO, estima-se que em 1997 o Brasil tenha produzido 336,59 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, o que representa um aumento de 3,27% em relação à safra de 1996, quando estima-se que tenha sido produzidas 325,92 milhões de toneladas. Neste período a área cultivada cresceu 1,0%, passando de 4,82 milhões de hectares cultivados, para 4,87 milhões de hectares. A produtividade nacional passou de 67,5 toneladas por hectare para 69,0 toneladas por hectare, representando um aumento de 2,2%.

Denomina-se bagaço-de-cana o resíduo da industrialização da Cana-de-açúcar. Nas usinas, a maior parte do bagaço produzido é empregado como combustível, sendo queimado para o funcionamento das caldeiras.

Usinas eficientes sob o ponto de vista energético, produzem 2 toneladas (peso seco) de bagaço excedente para cada 100 toneladas (peso fresco) de cana-de-açúcar moídas. Seus teores de celulose, hemicelulose e lignina são, respectivamente, 42, 37 e 15% (Rajaratnam & Bano, 1989). Sturion (1992), obteve os seguintes valores para a composição do bagaço de Cana-de-açúcar, no que se refere ao teor de celulose, hemicelulose e lignina,: 34,13; 20,10 e 15,37%, respectivamente. Esta variação pode se dar por diferenças na forma de industrialização, grau de maturidade do material, idade da planta, cultivar, ou até mesmo por diferenças analíticas.

Segundo Bononi et al.,(1995) o substrato mais utilizado para o cultivo de *Pleurotus* spp. no Brasil é o bagaço de cana-de-açúcar. Entretanto, de acordo com Eira & Minhoni (1997), este substrato é muito pobre em nutrientes, devendo ser feita uma complementação com farelos de cereais como arroz e soja, ou palha de leguminosas na proporção de 10 a 20 % do peso seco do composto.

Diwakar & Munjal (1989) avaliaram a produtividade de espécies de *Pleurotus* spp. em vários resíduos lignocelulósicos, obtendo uma eficiência Biológica de 50 % empregando *Pleurotus ostreatus* para colonizar um substrato de bagaço-de-cana sem suplementação. Maziero (1990) avaliando a produtividade de *Pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos, obteve uma eficiência biológica de 7 % empregando bagaço sem suplementação. Ao fazer uma mistura de bagaço com outros substratos numa proporção de 1:1, os valores obtidos foram os seguintes: 15,37% com folhas de alface, 21,97 com resíduos de algas marinhas, 25,48% com polpa de café, 37,61 % com palha de trigo, 60,08 % com folhas de rami e 87,11 % misturado com resíduos de soja (casca da semente e gravetos).

Sturion (1994) testando a viabilidade de produzir cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* spp. em substratos à base de folhas de bananeira, estudou a colonização de três linhagens de *Pleurotus* spp. em diferentes substratos. Para uma mistura de palha

de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar na proporção de 1:1, obteve-se valores de eficiência biológica da ordem de 48,29 % com a linhagem de *Pleurotus sajor-caju*, 58,54 % quando empregou-se *Pleurotus ostreatoroseus* e 78,51 % empregando *Pleurotus sp.* “Florida”.

2.7 Preparo do composto

De acordo com Ribeiro & Horii (1992), o preparo do composto envolve uma série de tratamentos que visam sustentar o crescimento dos cogumelos, através do fornecimento de condições adequadas ao desenvolvimento e o atendimento das suas exigências nutricionais.

- Carbono

As diferentes fontes de carbono disponíveis na natureza provêm tanto as necessidades energéticas como também as estruturais, para as células fúngicas. Os fungos são extremamente versáteis na utilização dos compostos de carbono (Chang & Miles, 1989).

O *Pleurotus spp.* com a sua capacidade degradatória, logo após a inoculação, começa a utilizar os açúcares (1 a 2% do peso seco) disponíveis no substrato, para então passar a utilizar o carbono dos polissacarídeos. As principais fontes de carbono em resíduos vegetais são os polissacarídeos e a lignina da parede celular. A celulose é constituída de moléculas de glicose, e as hemiceluloses de arabinose, galactose, manose, xilose e ácidos urônicos. Existe um consenso entre os pesquisadores que a glucose, galactose, manose e frutose favorecem mais o crescimento miceliano, ao contrário da arabinose e a xilose (Rajarathnam & Bano, 1989; Kurtzman & Zadrazil, 1982).

De acordo com Rajarathnam & Bano (1989), os resíduos ligno-celulósicos possuem como característica baixo conteúdo de nitrogênio. Ocorrendo variações em função da fonte do material, idade ou estágio de crescimento. Como o próprio nome sugere, são constituídos basicamente de:

- Celulose

A celulose é um polissacarídeo predominante em resíduos vegetais, constituindo entre 30 e 60% do peso seco. É o maior componente da parede celular, formado por ligações glicosídicas β -(1,4), com peso molecular de aproximadamente $5,0 \times 10^5$ u.m.a. Devido à insolubilidade e à complexidade de sua estrutura cristalina e da superfície lamelar, a degradação enzimática deste polímero é complexa.

- Hemicelulose

A hemicelulose constitui cerca de 40% do peso seco dos tecidos vegetais, sendo seu segundo maior constituinte. São compostas por várias hexoses, pentoses ácidos urônicos e outros monômeros glicídicos. Em princípio são cadeias curtas e ramificadas de heteropolissacarídeos, formadas por hexanas e pentosanas facilmente hidrolisadas. D-Xilose e L-Arabinose são os maiores representantes das pentosanas, enquanto que D-Glicose, D-Manose e D-Galactose são os maiores constituintes das hexanas.

- Lignina

Uma considerável parte da atividade fotossintética destina-se à produção de lignina. Constitui cerca de 40% da energia solar armazenada nas plantas ($7,1 \text{ Kcal g}^{-1}$), representando importante papel no ciclo do carbono. Trata-se de um heteropolímero de unidades de fenilpropano, altamente ramificado. Os organismos e os mecanismos pelos

quais a macromolécula de lignina é degradada são excepcionais. No tecido vegetal, a lignina funciona como preservativo e cimento entre as fibras individuais, unindo as fibras de celulose e hemicelulose formando uma bainha protetora contra os microorganismos.

A lignina possui uma estrutura mais complexa que as anteriores, constituindo-se basicamente de unidades de fenil-propano com anel de benzeno ligado a um grupo hidroxila e um ou dois grupos metoxílicos. As ligações presentes nesta molécula são altamente resistentes a degradação química, sendo poucos os microorganismos que como o *Pleurotus*, conseguem utilizar esta substância para sua nutrição (Maziero, 1990).

Segundo Rajarathnam et al, (1987), durante o crescimento do micélio há um aumento no conteúdo de monossacarídeos redutores e após a frutificação há uma redução, sendo que a perda desses açúcares redutores provavelmente esteja associada à necessidade de energia para a formação dos corpos de frutificação. Outras fontes de carbono que podem ser utilizados no metabolismo deste fungo são compostos poliméricos como os lipídeos e proteínas além dos óleos e ceras presentes nos resíduos vegetais.

- Nitrogênio

A madeira, substrato natural do *Pleurotus*, possui um baixo conteúdo de nitrogênio, portanto, teoricamente, a necessidade deste nutriente não deveria ser muito elevada (Sturion, 1994). Segundo Danai et al, (1989), teores de 1 a 1,5 % deste elemento são os mais indicados para o crescimento deste fungo. De acordo com Maziero (1990), a utilização de compostos químicos nitrogenados como sais de amônia, nitratos e a uréia, promove a liberação de íons que integravam as moléculas, o que pode alterar o PH do meio se este não for metabolizado na mesma taxa do nitrogênio, uma vez que estará ocorrendo acúmulo deste íon. Com relação a utilização de fontes orgânicas de nitrogênio a autora comenta que existe um consenso de que pelo menos a peptona reconhecidamente proporciona um melhor crescimento miceliano quando comparado com outras fontes de

nitrogênio orgânico. Em relação aos aminoácidos, resultados satisfatórios são proporcionados com a adição de asparagina, serina, ácido aspártico e alanina (Kurtzman & Zadrazil, 1982).

- Relação carbono-nitrogênio

Existe um equilíbrio entre estes dois elementos que devem ser fornecidos seguindo a relação C:N de 50:1 ou maior (50 a 80:1), durante a fase de crescimento. Numa relação C:N muito baixa, o excesso de nitrogênio irá reprimir a degradação da lignina, o que irá retardar o desenvolvimento do micélio, favorecendo as contaminações. Na fase de frutificação, uma relação C:N mais baixa é recomendável (Zadrazil, 1978; Chang & Miles, 1989).

- Sais Minerais e vitaminas

Fósforo, potássio, foram estudados na nutrição de *Pleurotus ostreatus* por Manu-Tawiah & Martin (1988); seus resultados mostraram que o cogumelo se desenvolve em presença de baixas concentrações de fósforo e potássio (0,22 e 0,28 g/l respectivamente) porém não se desenvolvem na ausência destes nutrientes. Estes resultados são confirmados por Kurtzman & Zadrazil (1982). Com relação ao cálcio e o magnésio, estes autores recomendam a dosagem de 0,98 e 0,049 mg/l como a que fornece melhor produção, e a melhor forma de fornecê-los é na forma de sulfato de cálcio e de magnésio, uma vez que na forma de cloreto de cálcio ou magnésio, ocorre uma inibição do crescimento do fungo. Estes autores comentam que em relação as vitaminas, mesmo com o aumento do crescimento miceliano pelo fornecimento destes elementos, principalmente a tiamina, não existe a necessidade da adição destes elementos em substratos não esterilizados, pois os microrganismos presentes no meio sintetizam estes elementos nas quantidades desejadas.

A escolha do substrato a ser utilizado num cultivo comercial é feita de acordo com a disponibilidade e custo de aquisição desta matéria-prima, dando preferência a materiais disponíveis nas proximidades, em razão dos custos de transporte e que, se possível, não possuam problemas de sazonalidade. Porém sabe-se que existem substratos mais produtivos que outros, em função da sua composição química mais adequada. Caso o substrato escolhido não ofereça boa produtividade, deve-se corrigir com outros nutrientes de forma a torná-lo mais favorável ao desenvolvimento da cultura (Bononi et al, 1995).

Rajarithnam & Bano (1987), comentam que este tipo de incremento favorece o crescimento do fungo, porém, dosagens maiores não significam aumento de produtividade, além de encarecerem o custo de produção e aumentarem as taxas de contaminação.

Deve-se fazer a adição de alguma fonte de calcário visando a correção do pH do composto, uma vez que o pH da maioria dos resíduos ligno-celulósicos possuem uma certa acidez e os fungos necessitam de um pH próximo de 6,0. As fontes mais empregadas para isso são o bicarbonato de cálcio, a cal hidratada e o calcário dolomítico, sendo que este último tem a vantagem de também estar fornecendo magnésio para o composto. Em relação ao peso seco do substrato, adicionar de 2 a 5 % destes produtos ao composto, em função de maior ou menor acidez da matéria-prima.

A disposição destes no local de compostagem deve ser feita em camadas. Inicialmente coloca-se uma camada de bagaço de 0,30m de altura, seguida de uma fina camada de calcário e outra de farelo ou palha com 0,05m. Repetir esta sequência até chegar a uma pilha de aproximadamente 1m de altura, com 1,2m de largura. O comprimento da pilha é função da quantidade de composto produzido (Colauto, 1994; Bononi et al., 1995).

Depois de misturar os diversos materiais, o composto deve ser umedecido até que todo o substrato fique com aproximadamente 70% de umidade. Nesse caso, ao ser apertado entre as mãos não escorrerá água do composto, mas apenas brotarão gotículas entre os dedos. Não deve-se encharcar o composto, pois estará sendo reduzida a disponibilidade de oxigênio no interior do composto, o que dificultará o desenvolvimento da flora microbiana responsável pela fermentação, favorecendo o desenvolvimento de contaminantes. O substrato assim produzido não terá condições de ser produtivo. Durante todo o processo de compostagem deve-se fazer regas constantes, visando a manutenção da umidade da pilha.

A compostagem para o *Pleurotus* é muito menos intensa que aquela utilizada para a produção de *Agaricus*, sendo que seu principal objetivo é a degradação de açúcares solúveis e compostos menores e parcialmente a celulose, hemicelulose e lignina, melhorando a sua digestibilidade (Rajaratnam & Bano, 1987). Segundo Maziero (1990), o processo de compostagem do substrato para o cultivo do *Pleurotus* tem uma finalidade diferente da compostagem para o cultivo do *Agaricus*, pois a fermentação até pode ser dispensada quando o substrato estiver livre de substâncias que possam propiciar um rápido crescimento de outros microorganismos. Dependendo do tipo de substrato utilizado, esta fase terá maior ou menor duração. Quando utiliza-se um substrato muito rico em nutrientes, este processo pode chegar a quase duas semanas. Caso o substrato seja pobre em nutrientes, essa etapa se resumirá a uma hidratação do composto, que não precisará de mais que dois dias para poder ser processado termicamente (Eira, 1995; Bononi et al., 1995).

No caso de substratos ricos a compostagem tem uma duração de vários dias nos quais far-se-ão algumas viragens do composto. Vários processos de degradação microbiana do composto estarão ocorrendo com sucessões de populações microbianas durante o processo. Pode-se facilmente acompanhar o andamento, verificando o aumento de temperatura no interior da pilha, que pode chegar a até 70°C dependendo da

intensidade da ação microbiana. O acompanhamento da temperatura do composto é indispensável para se controlar o andamento do processo. Logo após a formação da pilha, verifica-se um rápido aumento na temperatura que é explicado pelas reações de degradação do substrato que produzem calor. Esta é uma fase onde ocorre fermentação aeróbica em função do oxigênio disperso no meio. Porém este oxigênio vai sendo consumido, dando origem às zonas de anaerobiose na pilha. Nestes locais observa-se então o desenvolvimento de uma população microbiana indesejável, uma vez que a fermentação anaeróbica favorece a perda de nitrogênio na forma de amônia, que é volátil.

A região onde mais ocorre este tipo de problemas é aquela que fica na parte de baixo do meio do composto. Outra região problemática é aquela camada superficial do composto que, em função da maior exposição ao ressecamento, não ocorre reações de degradação do substrato. A temperatura é sempre baixa em relação ao resto da pilha (Chang & Miles, 1989).

Algum tempo depois do início da compostagem, todo oxigênio dissolvido no meio terá sido consumido resultando então no cessar da atividade da população microbiana, que será sentida por uma queda na temperatura do composto. Neste momento deve-se fazer o revolvimento da pilha, pois desta forma será incorporado mais oxigênio na pilha, além de promover uma homogeneização das diferentes zonas do composto, onde ocorrem diferentes intensidades de degradação do substrato, de modo que o composto esteja igualmente processado ao final da compostagem. Geralmente estas viragens são feitas a cada 3 dias, pois é mais ou menos este o tempo necessário para que todo oxigênio dissolvido na pilha tenha sido consumido, sendo que este processo continua até que não mais observemos a elevação da temperatura da pilha após o revolvimento, onde poderemos observar a presença de microrganismos termofílicos (desenvolvem-se em temperaturas próximas a 50°C) como o fungo *Humicola spp.*, que indica que o composto está pronto para sofrer o tratamento térmico (Chang & Miles, 1989).

2. 8 Tratamento Térmico do Substrato

Recomenda-se que o substrato seja submetido a um tratamento térmico, visando a redução ou eliminação dos microorganismos contaminantes presentes nas matérias-primas, o que permitirá uma colonização mais rápida do substrato.

2. 8. 1 Esterilização

Neste tratamento faz-se a autoclavagem do substrato à temperaturas de 121 °C por cerca de uma hora, assegurando a esterilidade do substrato. Apesar da alta eficiência na redução de contaminantes, este método, porém, é antieconômico quando efetuado em escala comercial (Rajarithnam et al., 1992). Outra desvantagem é dada pela quebra de macromoléculas, produzindo nutrientes prontamente assimiláveis, o que favorece a contaminação (Quimio, Chang & Royse, 1990). Maziero (1990) comenta que se houver uma fonte de contaminação, não haverá nenhum microorganismo competidor presente no substrato e o contaminante também terá o seu desenvolvimento favorecido.

2. 8. 2 Pasteurização

Consiste em tratamento térmico à temperaturas inferiores (60 a 100 °C por 5 a 8 horas), conseguido por aquecimento a vapor direto ou em recipientes próprios, ou ainda por imersão em água quente. Este método tem como vantagens o menor custo e a menor solubilização de nutrientes efetuada pela ação da temperatura, além do melhor controle de contaminações (Kamra & Zadrazil, 1986; Quimio, Chang & Royse, 1990; Rajarithnam et al., 1992).

2.8.3 Compostagem

Consiste na fermentação prévia da matéria-prima pela flora microbiana natural ou inoculada no substrato. O substrato pode permanecer fermentando por poucos dias, sendo frequentemente revirado. Este processo esgota os nutrientes prontamente disponíveis e hidrolisa substâncias de difícil degradação, proporcionando estabilidade microbiológica e seletividade ao substrato (Zadrazil & Grabbe, 1983; Flegg, Spencer & Wood, 1987). Entretanto, segundo Zadrazil & Brunnert (1981) e Rajarathnam & Bano (1987), este tratamento não é desejável para o cultivo do *Pleurotus*, uma vez que a fermentação causa perda de matéria orgânica (8 a 15%), um aumento no teor de nitrogênio e de lignina.

Apesar do *Pleurotus sajor-caju* ser capaz de colonizar substratos esterilizados, pasateurizados e até substratos fermentados, o processamento por aquecimento é o mais recomendado, apresentando as melhores performances de produção de corpos de frutificação (Flegg, Spencer & Wood, 1987; Silanikove, Danai & Levanon, 1988; Químio, Chang & Royse, 1990).

2.8.4 Tratamento Químico

Este método baseia-se na aplicação de produtos químicos ao substrato, de acordo com Rajarathnam & Bano (1987), podendo-se empregar inúmeros produtos para controlar principalmente os fungos competidores presentes no meio de cultivo.

- Embebição do substrato em suspensão aquosa de Crboxina a 5 mg/l por 18 horas;
- Fumigação com Brometo de Metila a 64 mg/l por 48 horas;
- Fumigação com Etil Formato a 600 mg/l por 10 minutos;
- Embebição em solução aquosa de amônia a 1000ppm;
- Embebição em solução aquosa de formaldeído a 800ppm

Tal técnica porém é considerada de difícil aplicação pela dificuldade em limitar a dose a níveis adequados, sem causar prejuízo ao desenvolvimento do cogumelo inoculado (Rajaratnam et al., 1992).

2. 9 Inoculação

Após o tratamento térmico dado ao substrato procede-se a inoculação, que deve ser feita imediatamente após o resfriamento deste, quando do acondicionamento nas embalagens. A quantidade de inóculo utilizada não afeta diretamente a produtividade de cogumelos; porém, o uso de altas concentrações iniciais de inóculo reduz o efeito da competição dos microorganismos presentes no substrato de acordo com Zadrazil & Grabbe, (1983). Kurtzman & Zadrazil, (1982) recomendam utilizar de 0,5 a 5,0% do peso do substrato úmido. Recomenda-se utilizar 2 a 5g de inóculo por 100g de substrato seco para inóculo em cereais e 10g por 100g de substrato seco, para inóculo em palha (Rajaratnam & Bano, 1987). A distribuição do inóculo deve ser a melhor possível pelo substrato para termos o maior número de pontos de crescimento, de forma a promover a rápida colonização do meio.

2.10 Condições de cultivo

Mesmo com a elevada capacidade de colonizar os mais diversos substratos em condições climáticas as mais diversas, é preciso garantir um bom desempenho do cogumelo comestível em sistemas comerciais de cultivo. Para tanto, é necessário levar em consideração alguns fatores essenciais para que o *Pleurotus* spp. possa expressar o máximo de suas características genéticas no tocante a rápida colonização dos substratos e elevada produção de corpos de frutificação.

2.10.1 Exigências físicas

a) Temperatura: A temperatura é um fator vital na velocidade de crescimento das espécies de cogumelo. De fato, a distribuição geográfica das várias espécies é baseada principalmente na temperatura. Em geral, as faixas ótimas de temperatura para o crescimento miceliano são largas e para a frutificação são mais estreitas. Nestas bases, classifica-se as espécies cultivadas, em função de seus requerimentos para a frutificação, em espécies de clima temperado (até 20 °C; exemplo *Agaricus*), subtropical (20 - 30 °C; exemplo *Pleurotus*) e tropical (acima de 30 °C; exemplo *Volvariella*) (Rajaratnam et al., 1992). Uma generalização que pode ser feita em relação à temperatura é que a variação de temperatura para a frutificação é menor que a variação permitida para a colonização de substratos (Chang & Miles, 1989).

A temperatura ideal para a incubação varia de acordo com a espécie, mas em geral deve ser mantida em torno de 25 – 28 °C, sendo que quanto menor for a oscilação de temperatura nesta fase, melhor será o desenvolvimento do micélio (Bononi et al., 1995). Segundo a autora, mesmo resistente à variações de temperatura, em baixas temperaturas, como 4 – 5 °C, o micélio da maioria das espécies cessa praticamente toda a sua atividade, entrando em uma espécie de “estado de dormência”, e acima de 35 – 40 °C, pode ser até letal para certas espécies. Zadrazil & Brunnert (1983), investigaram o crescimento do *Pleurotus*, através do estudo das alterações ocorridas no substrato; verificaram que a temperatura não exerce efeito sobre o desenvolvimento, na faixa compreendida entre 21 e 30 °C. Quimio, Chang & Royse (1990) recomendam temperaturas entre 20 e 28 °C para a frutificação de *Pleurotus ostreatus*.

b) Umidade relativa: O papel da umidade relativa, tanto do substrato como a do ambiente é, principalmente, o de prevenir a dessecação do substrato e dos cogumelos

(Rajaratnam et al., 1992). Segundo Stamets & Chilton (1983), durante o período de desenvolvimento miceliano deve-se manter a umidade relativa entre 90 e 100%, enquanto que na fase de frutificação manter a 95 %. Quimio, Chang & Royse (1990) recomendam umidade relativa, para crescimento miceliano e frutificação entre 80 e 95%. Maziero (1990) recomenda a manutenção da umidade relativa no período de frutificação entre 80 a 85% para o *Pleurotus sajor-caju* e de 75 a 85% para *Pleurotus sp.* "Florida".

c) Luminosidade: De acordo com Chang & Miles (1984), as exigências de luminosidade para o *Pleurotus* são diferentes para os vários estágios de desenvolvimento. O desenvolvimento miceliano não necessita de luz, sendo mais recomendado locais escuros para o período de incubação. A formação de primórdios e o desenvolvimento dos corpos de frutificação, entretanto, necessitam de luminosidade. Para o período de formação é necessária uma intensidade luminosa de 2000 lux por mais de 12 horas. Para o desenvolvimento dos corpos de frutificação a exigência é de uma iluminação na faixa de intensidade de 50 a 500 lux. Segundo os mesmos autores a cor do píleo está intimamente relacionada com a intensidade de luz, sendo que com o aumento da intensidade luminosa percebe-se um escurecimento gradual da coloração do píleo. Se for muito reduzida, então a coloração destes será pálida e em condições extremas existe a ocorrência de estiolamento do estipe (Bononi et al, 1995).

Entretanto as recomendações da literatura são confusas tanto no que se refere à intensidade luminosa, quanto também o tempo de exposição. Geralmente, em câmaras de cultivo existe a necessidade de se proceder iluminação artificial empregando-se para a iniciação de frutificação lâmpadas fluorescentes comuns, por períodos que podem variar de 2 a 4 horas, até 12 horas por dia, com uma intensidade luminosa que pode variar de 40 a 2000 lux. Usualmente recomenda-se que numa sala de cultivo deve ser possível ler pelo menos as manchetes de um jornal (Kurtzman & Zadrazil, 1982; Quimio, Chang & Royse, 1990).

d) Tamanho das partículas de substrato: O efeito da granulometria reflete diretamente no balanço água-ar do substrato, em função da porosidade proporcionada. O tipo (macro e microporos) e o volume de poros determinam a capacidade de retenção de água, bem como a difusibilidade dos gases no substrato (Rajaratnam & Bano, 1989).

2.10.2 Exigências nutricionais

a) pH: A microflora presente no substrato é distintamente influenciada pelo pH inicial. Valores abaixo de 7,0 geralmente são ótimos para o desenvolvimento do micélio, porém, a maioria dos fungos consegue se desenvolver em valores de pH acima de 7,0. Para que ocorra melhor crescimento miceliano, o pH do substrato deve situar-se entre 6,5 e 7,0 com o decorrer da colonização, o pH cai podendo atingir valores próximos a 4,0. Pesquisas já demonstraram claramente que os valores ótimos de pH para a frutificação podem ser diferentes que os de crescimento. Durante o seu desenvolvimento o pH do meio pode ser alterado em função da liberação de metabólitos produzidos pelo fungo, como ácidos orgânicos, principalmente o ácido oxálico. Este ácido atua como inibidor de crescimento de competidores. Entretanto substratos excessivamente tamponados ou que tenham o seu pH periodicamente corrigido com a adição de ácidos ou bases, poderão não frutificar, pois o valor de pH exigido para as reações metabólicas necessárias para a frutificação podem não ter sido atingido. Geralmente ao se preparar o substrato de cultivo, faz-se a correção do pH com a adição de 2 % de carbonato de cálcio ou 4 % de cal hidratada, para que a redução do pH não seja excessiva. Deve-se monitorar o pH e se for necessária alguma correção, esta deve ser feita durante o crescimento micelial com carbonato de cálcio (Zadrazil & Grabbe, 1983; Rajaratnam & Bano, 1989; Chang & Miles, 1989; Sturion, 1994).

b) Oxigênio e dióxido de carbono: A concentração de oxigênio e o dióxido de carbono são muito importantes para o bom desenvolvimento dos cogumelos comestíveis. Estes elementos possuem características distintas para o metabolismo dos cogumelos

comestíveis, variando em suas fases de desenvolvimento. Em geral, o requerimento de O_2 é maior durante a frutificação, devido à intensidade do metabolismo requerida para a produção do corpo de frutificação (Rajarathnam et al., 1992).

Muitas espécies de cogumelos do gênero *Pleurotus* possuem requerimento de O_2 menor do que o de muitos outros fungos, desenvolvendo-se melhor em altos níveis de CO_2 (até 22%). Este fato confere uma grande vantagem deste em relação aos fungos competidores presentes no substrato que sobreviveram ao processo de tratamento térmico, uma vez que cria-se um meio seletivo para os microorganismos (Rajarathnam et al., 1992).

Kamra & Zadrazil (1986) estudaram a influência destes dois elementos na frutificação de *Pleurotus*, quando submetidos à diferentes atmosferas. Verificaram que atmosferas contendo oxigênio puro ou em diferentes misturas com CO_2 e N_2 não surtiram efeito na formação de corpos de frutificação.

c) Açúcares e compostos fenólicos: Substratos ricos em compostos fenólicos afetam prejudicialmente o crescimento, enquanto que substratos ricos em açúcares facilitam a contaminação (Rajarathnam et al., 1992).

2.11 Incubação

O substrato inoculado deve ser mantido em local escuro a temperaturas entre 22 e 25°C, até que o micélio o tenha colonizado totalmente. Nessa ocasião, o substrato se apresenta-se esbranquiçado, devido à colonização pelo micélio, o que é conseguido dentro de 20 a 30 dias, dependendo do substrato utilizado e dos fatores ambientais (Ribeiro & Horii, 1992). Após este período são dadas as condições para que ocorra a frutificação. Caso esteja sendo utilizado sacos de polietileno, estes devem ser mantidos fechados nesta fase de crescimento (Químio, Chang & Royse, 1990). Segundo Bononi et al., (1995),

alguns produtores perfuram os sacos para que a colonização seja mais rápida. Como o *Pleurotus* resiste bem a altas taxas de CO₂ e como o perfuramento dos sacos significa maior probabilidade de contaminação, pois expõe o composto antes deste ser colonizado, recomenda-se que não seja feito o perfuramento dos sacos, salvo em condições de controle eficiente do nível de contaminação do local de incubação.

Deve-se fazer um monitoramento da temperatura dos sacos com composto, pois é normal que ocorra uma elevação da temperatura principalmente no centro da massa. Se houver um aumento excessivo da temperatura, em função da atividade metabólica do fungo e dos contaminantes, poderá ocorrer o retardamento do crescimento do micélio ou até a morte deste, sem esquecer do estímulo a germinação de esporos resistentes ao tratamento térmico. Desta forma, deve-se evitar o empilhamento dos sacos, assim como a utilização de embalagens com grandes quantidades de substrato (Maziero, 1990; Bononi et al., 1995).

2.12 Frutificação

O local adequado à frutificação deve oferecer ventilação necessária para o desenvolvimento dos basidiocarpos, conseguida pela construção de janelas no topo das paredes, promovendo boa iluminação. A umidade relativa (80 a 90%) é mantida pela impermeabilização das paredes e pela aspersão de água, uma vez que se ressecado, o micélio morre, não produzindo mais (Quimio, Chang & Royse, 1990).

No caso de cultivo em sacos de polietileno, estes devem apresentar aberturas adequadas para que o micélio tenha acesso direto às condições de frutificação, para que ocorra a indução e para que os cogumelos possam eclodir. Podemos também retirar todo o saco plástico, sendo obrigatório um rígido controle da umidade do ar (Quimio, Chang & Royse, 1990; Bononi et al., 1995).

Ao entrar em contato com o ar fresco (menor concentração de CO_2 , maior concentração de O_2), luz e umidade, haverá o estímulo para o início da formação dos primórdios. Estes, após 4 a 5 dias já estarão no ponto de colheita, devendo ser colhidos quando as margens dos chapéus estiverem planas, antes de começar a liberação de esporos pois a partir daí começa a ocorrer a senescência do cogumelo, diminuindo a sua durabilidade. Deve-se evitar a liberação dos esporos, pois além de causar alergia nos trabalhadores (recomenda-se o uso de mascaras com filtro), com a deposição dos esporos sobre outros cogumelos, perde-se em valor comercial devido a má aparência resultante e envelhecimento dos cogumelos mais desenvolvidos (Maziero, 1990; Bononi et al., 1995).

2.13 Colheita

A colheita dos cogumelos pode ser feita em qualquer estágio do seu desenvolvimento, variando em função das exigências de mercado. Porém os cogumelos não devem apresentar esporulação, pois isto diminui a aceitabilidade do produto no mercado. O ponto de maturação é atingido quando os cogumelos se encontram totalmente expandidos, em forma de pétalas ou concha, agrupados em cachos ou não, com pedúnculo curto ou alongado, variando de acordo com a espécie e das condições de cultivo. Geralmente, o ponto de máximo desenvolvimento do corpo de frutificação é determinado pelas características das margens, que se desenrolam, até que depois de se abrirem tornam-se aplainadas ao final do seu desenvolvimento. O estágio ideal para a colheita se dá pouco antes das margens tornarem-se totalmente plainas, atingido em 4 a 5 dias após o início do desenvolvimento.

A colheita estende-se por um período que pode variar 28 a 49 dias, sendo influenciado por inúmeros fatores tais como substrato empregado, temperatura ambiente, linhagem escolhida e taxa de inoculação. Durante este período a frutificação se dá na forma de fluxos, com colheitas semanais (Stamets & Chilton, 1983; Calzada et al., 1987; Madan et al., 1987; Rajarathnam & Bano, 1987).

2.14 Contaminações

As doenças que afetam os cogumelos comestíveis podem ser causadas por fungos, bactérias ou vírus. Além destes, que são parasitas propriamente ditos, há ainda a considerar um certo número de fungos que, embora não sendo parasitas do cogumelo, ocorrem no composto, reduzindo a quantidade de alimento disponível ou produzindo substâncias tóxicas que retardam ou impedem o seu desenvolvimento. Estes, devido a forma característica de atuação, são preferivelmente definidos como “competidores”.

2.14.1 Fungos Competidores

Embora não possam ser considerados como agentes de doenças uma vez que não são parasitas de cogumelos cultivados, são responsáveis por enormes decréscimos na produção por concorrerem com o cogumelo cultivado pelo espaço físico e o alimento existente no composto. Tais fungos têm a capacidade de produzir uma quantidade enorme de esporos, desde os primeiros estágios de seu desenvolvimento, possuindo, portanto, uma grande habilidade de disseminação no ambiente. Nos locais onde esses contaminantes são encontrados, o cogumelo não se desenvolve ou tem seu crescimento consideravelmente retardado.

De acordo com Rajarathnam & Bano, (1988), o *Sclerotium rolfsii* é um fungo competidor muito comum em palha de arroz e tem a capacidade de produzir grandes quantidades de ácidos orgânicos, acidificando o substrato, e o resultado do seu ataque pode reduzir a produtividade em 80 a 96%, dependendo do período em que aparece e intensidade do ataque. Um bom método para destruir este contaminante é a pasteurização do composto mergulhando-o em água quente.

Pode-se fazer o controle deste contaminante com a aplicação de produtos químicos, como a fumigação com brometo de metila numa proporção de 64mg/l (atmosfera) que é muito efetiva e econômica, necessitando, porém, de local próprio para a sua aplicação. Outros produtos testados *in vitro* mostram que este microrganismo pode ser efetivamente controlado pela imersão do substrato em solução de Carboxin (10mg/l), formaldeído (800 ppm) e solução de amônia (1.000ppm) antes da inoculação, sendo que tanto o formaldeído quanto a amônia necessitam ser neutralizados para que os resíduos químicos não interfiram no desenvolvimento do micélio.

O *Penicillium digitatum* é um competidor ativo que se desenvolve diretamente no substrato durante o período de incubação, podendo ocorrer em áreas do substrato que estejam encharcadas, onde não ocorre crescimento miceliano. Inicialmente este se apresenta como pequenas manchas esbranquiçadas que evoluem para manchas azul esverdeadas, com aspecto pulverulento.

Este contaminante causa uma pequena elevação de pH e se a contaminação for intensa a perda de produtividade pode ser de 32 a 51%. *In vitro* seu controle é feito com o uso de benomyl (benlate) numa concentração de 25ppm de princípio ativo diluído em água, imergindo o substrato nesta solução por 18 horas. Concentrações acima de 150ppm causaram crescimento anormal dos corpos de frutificação (Rajaratnam & Bano, 1988).

O *Mucor javanicus* é um contaminante que ocorre comumente durante os meses de verão quando as temperaturas chegam a 35°C, surge nos primeiros 2 a 4 dias de incubação e produz uma enorme quantidade de esporângios. Este fungo não é um competidor forte e dependendo do vigor da semente, em pouco tempo o micélio abafa e elimina este fungo. As perdas resultantes do ataque deste fungo competidor não ultrapassam a 10%, sendo que o seu efeito maior é sentido por um atraso de 3 a 4 dias no início da frutificação dos primórdios (Rajaratnam & Bano, 1988).

2.14.2 Pragas

Diversas pragas podem invadir os galpões ou câmaras de cultivo. Estas além de causar prejuízos diretos, alimentando-se do micélio ou dos basidiocarpos, são ainda os maiores responsáveis pela disseminação de doenças fúngicas, bacterianas ou de competidores. Quando não são percebidas e combatidas em tempo hábil, as pragas podem causar prejuízos consideráveis. O controle preventivo e o saneamento ambiental constituem, sem dúvida, os métodos que oferecem melhores resultados.

A- Insetos: As pragas mais comuns em cultivos comerciais segundo Eira & Minihoni, (1997), são os coleópteros e algumas moscas (ordem diptera), podendo ser encontrados nos cultivos também alguns hemípteros. Dentre os coleópteros a praga mais voraz dos cogumelos é a “joaninha” da família *Erotilidae*. Tanto as larvas como os indivíduos adultos se alimentam diretamente do corpo de frutificação, cavando galerias no meio dos cogumelos, o que deprecia muito o valor comercial do produto. Outros coleópteros de ocorrência natural no cultivo de cogumelos pertencem às famílias *Staphylinidae*, *Anobiidae* e o inseto *Lagria villosa*.

As moscas de ocorrência mais comum no cultivo na FCA/UNESP - Botucatu são as das famílias *Cecydomyidae* e *Drosophilidae*. Estas moscas são muito pequenas, o que dificulta a visualização destas nos corpos de frutificação. Este fato gera muitos problemas uma vez que depois de algum tempo de armazenamento dos cogumelos colhidos, os ovos depositados por estes insetos eclodem, surgindo estas moscas dentro das embalagens, depreciando a aparência do produto.

A melhor medida preventiva para se evitar a entrada nos locais de cultivo é cobrir todo o local com tela, de forma a vedar o ambiente. O cheiro dos cogumelos atrai os insetos e qualquer fresta é suficiente para que estes possam entrar. Além disso um processamento térmico mal feito pode deixar que larvas, ovos ou pupas de insetos

creçam, passando a infestar o substrato. Os populares “tatuzinhos” (*Armadillium vulgare* Latr.) também são comumente encontrados, alimentando-se do composto e do rizomicélio. Mas os danos mais característicos ocorrem nos píleos, onde encontramos pequenos buracos. No processo de esterilização, facilmente elimina-se estes, sendo que também são extremamente sensíveis a um grande número de inseticidas.

B- Animais roedores: Os ratos e camundongos podem acarretar sérios danos à cultura do cogumelo, pois quando infestam os galpões de cultivo, constroem grandes galerias no composto e também atacam os próprios cogumelos. Recomenda-se o uso de iscas envenenadas para eliminá-los.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no setor de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Agroindústrias, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" USP, em Piracicaba - São Paulo.

3.1 Obtenção de Matrizes

As matrizes obtidas junto a firma Flora Speciosa, no município de São Pedro, SP, especializada na produção e comércio de semente de cogumelos comestíveis, se referem a uma linhagem de *Pleurotus sajor-caju* e outra de *Pleurotus ostreatus*, denominadas aqui como L1 e L2 . O vigor de colonização desta semente é assegurado, por testes constantes de produtividade em substratos, em processo de reisolamentos das linhagens em estoque. As sementes são produzidas sobre grãos de milho cozido, e acondicionadas em sacos de polipropileno de alta densidade. Após um processo de autoclavagem a 121°C durante uma hora e meia, estes sacos com substratos são inoculados em condições assépticas com micélio do fungo desenvolvido em meio de cultura.

3.2 Substratos

Foram avaliados como substrato subprodutos da cultura e industrialização da mandioca, assim como o bagaço de cana-de-açúcar.

- Folha de mandioca (F): obtidas na região de cultivo de Santa Maria da Serra, SP. As folhas foram colhidas verdes e secas à sombra com revolvimentos diários, durante 7 dias, visando a eliminação de compostos cianogênicos, de acordo com Barbosa (1989);

- Casca e Farelo de mandioca (C e Fa): são resíduos sólidos oriundos do descascamento e prensagem das raízes raladas, respectivamente, obtidos na Indústria de fécula Fleishmann-Royal, Conchal, SP.

- Bagaço de cana-de-açúcar (B): é um resíduo oriundo do processamento da Cana-de-açúcar, para a produção de álcool e açúcar, obtido na Usina Costa Pinto, Piracicaba, SP.

Além do processo de secagem das folhas de mandioca, os resíduos não sofreram nenhum tipo de processamento. Para a formulação dos substratos empregou-se as mesmas proporções de cada resíduo, em base seca. Utilizou-se como referencial a relação carbono-nitrogênio estimada dos resíduos disponíveis em literatura, de forma que estas proporções obtidas estivessem numa faixa adequada de relação carbono/nitrogênio nos diferentes substratos (Câmara et al, 1982; Cereda, 1994; Eira & Minihoni, 1997).

Foram testados neste experimento, os seguintes substratos:

S ₁	BFaCF	Bagaço de Cana + Farelo + Casca + Folha	1:1:1:1
S ₂	BCF	Bagaço de Cana + Casca + Folha	1:1:1
S ₃	FaCF	Farelo + Casca + Folha	1:1:1
S ₄	BFaF	Bagaço de Cana + Farelo + Folha	1:1:1
S ₅	BFaC	Bagaço de Cana + Farelo + Casca	1:1:1
S ₆	FaF	Farelo + Folha	1:1
S ₇	FaC	Farelo + Casca	1:1
S ₈	BF	Bagaço de Cana + Folha	1:1
S ₉	BC	Bagaço de Cana + Casca	1:1

Depois de determinada a umidade inicial de todos os resíduos, obteve-se os substratos pela mistura dos diferentes resíduos, sendo adicionada água destilada até que os substratos atingissem aproximadamente 75% de umidade, sendo que esta quantidade de água variou em função da umidade inicial e da capacidade de retenção de água que difere entre os resíduos. Foram acondicionados 1.000 gramas dos substratos úmidos sem suplementação em sacos de polietileno com capacidade de 1 litro e dimensões de 20 x 30 cm com 50 μ m de espessura. Estes substratos foram fechados com um tampão de algodão e submetidos à pasteurização em vapor fluente por 1 h 30 min em autoclave vertical.

3.3 Inoculação e incubação para desenvolvimento miceliano

O trabalho de inoculação e incubação foi realizado em laboratório do setor de Microbiologia de Alimentos, da ESALQ/USP. Antes da inoculação foi feita a higienização do laboratório com a aplicação de hipoclorito de sódio a 2,5%. A inoculação foi realizada após o tratamento térmico e o resfriamento dos sacos com substratos. Cada substrato foi inoculado com as espécies de *Pleurotus* L1 e L2. Foram efetuadas quatro repetições para cada tratamento, perfazendo um total de 72 sacos. A distribuição do inóculo no substratos foi a mais uniforme possível, visando ter-se o maior número de pontos de crescimento, de forma a promover a rápida colonização do meio. Cada saco plástico resfriado à temperatura ambiente, foi inoculado com 2,0 % de semente em relação ao peso do substrato úmido, o que representou aproximadamente 20 gramas de semente por saco.

Para o fechamento dos sacos empregou-se seções de cano de PVC de uma polegada e 2 centímetros de comprimento colocados por fora dos sacos, sendo fechados com algodão, de forma a permitir a respiração. Estes sacos foram colocados sobre uma mesa previamente higienizada arranjados em blocos casualizados, de modo que cada um dos 4 blocos contivesse as 18 combinações substrato-espécie. No período de incubação à temperatura ambiente, que durou aproximadamente 30 dias, a sala foi mantida no escuro,

até o micélio ter colonizado toda superfície dos sacos. Nessa ocasião, o substrato se apresentava esbranquiçado, devido à colonização pelo micélio, variando o tempo de colonização com o substrato utilizado. Foi anotado o tempo decorrido para a total colonização dos diferentes substratos, assim como a ocorrência de contaminação, servindo de padrão para avaliação. No período de incubação os sacos foram mantidos fechados, sendo abertos após a colonização dos substratos. Os sacos que apresentaram contaminação severa nem foram abertos, sendo dispensados

3. 4 Frutificação e Colheita

Quando o micélio colonizou toda a superfície do substrato, iniciou-se a fase de frutificação. No cultivo de *Pleurotus ostreatus*, foi necessário um choque térmico, como estímulo para induzir a frutificação, de acordo com Eira & Minhoni (1997). Este choque térmico foi obtido colocando-se os sacos contendo o substrato inoculado em refrigerador (5 ± 1 °C) por 2 dias. Neste ponto foi retirado o saco de polietileno para a permitir a frutificação.

Os corpos de frutificação foram colhidos quando apresentavam o máximo desenvolvimento, verificado pelo início do desenrolamento das margens do píleo, ocasião em que foi anotado o tempo decorrido para a primeira e subseqüentes colheitas. Os substratos ficaram submetidos às condições de frutificação até que não mais se observasse produção, limitando-se o tempo de cultivo em 100 dias (30 dias de incubação e 70 dias para produção). Os corpos de frutificação colhidos, foram pesados em balança eletrônica para cálculo de rendimento. Após, a secagem em estufa com circulação de ar forçado a temperatura de 55 ± 5 °C, por 24 horas, foram pesados novamente, para obtenção do peso seco destes materiais. A mesma técnica foi empregada para determinar o peso seco dos diferentes substratos antes e após o cultivo.

3. 5 Condições de cultivo

Os cogumelos foram cultivados no Departamento de Agroindustrias, Alimentos e Bebidas - ESALQ/USP - Piracicaba, SP. A sala de cultivo tinha 5,37 m de comprimento, 3.75 m de largura e 2,50m de altura. As duas janelas com 2,00 m de largura e 0,50 de altura, foram teladas, e uma delas coberta com plástico preto. Os sacos foram pendurados em varais colocados a 2 metros de altura, em dois níveis, sendo cada camada relativa a uma linhagem. Os tratamentos inoculados com *Pleurotus sajor-caju* foram pendurados em nível superior e os tratamentos com *Pleurotus ostreatus*, no inferior.

A sala foi higienizada com a aplicação de solução de Hipoclorito de Sódio no chão, paredes e teto. Em seguida aplicou-se “lysoform”, produto à base de solução em água de formaldeído- formol (37%) e N - Dodecilbenzeno sulfonato de sódio grau técnico (12%). Este produto foi aplicado sem diluição, um dia antes do início desta fase do experimento.

Para a manutenção da umidade ambiente empregou-se um sistema de aspersão com nebulizadores. Não foi feito controle de iluminação, uma vez que a luminosidade natural da sala era adequada.

Um termohigrômetro foi usado para registrar a temperatura/umidade e um termômetro de máxima e mínima, para medir a variação da temperatura dentro da sala de cultivo, efetuando-se duas medições diárias, uma no período da manhã e outra à tarde.

A figura 2-A mostra a sala onde foi feita a inoculação dos substratos, onde vê-se como procedeu-se esta etapa. Na figura 2-B, observa-se os sacos inoculados arranjados em blocos durante a fase de incubação.

A

B

Figura 2. Aspectos do processo de inoculação e incubação

3.6 Parâmetros analisados durante o experimento

3.6.1 Comportamento das espécies em relação aos diferentes substratos

Foram determinados os pesos secos e úmidos dos substratos iniciais e finais, assim como dos corpos de frutificação colhidos. Anotou-se o tempo de incubação gasto para a colonização, aparecimento de primórdios e o período de frutificação dos diferentes tratamentos. Registrou-se também o número de colheitas feitas em cada repetição dos tratamentos, além da ocorrência de contaminação nos substratos, indicando a quantidade de unidades produtivas em cada substrato.

3.6.2 Cálculo do rendimento

A produtividade dos substratos pode ser expressa de várias formas. Dos cogumelos obtidos em cada tratamento, determinou-se o peso fresco dos cogumelos (PFC) em balança eletrônica para cálculo da Eficiência Biológica (EB), segundo fórmula proposta por Rajarathnam & Bano (1989):

$$EB \% = \frac{PFC}{P_i} \times 100$$

P_i – Peso seco do substrato inicial

3.6.3 Cálculo da perda de matéria orgânica

Segundo Rajarathnam & Bano (1989), o cálculo da perda de matéria orgânica (P.M.O.) dos substratos, visa avaliar a extensão da degradação do substrato e foi determinada pela diferença entre o peso seco do substrato inicial (P_i) do peso seco do

substrato residual ou final (Pf). O peso seco do substrato inicial (Pi) foi determinado pela média de amostras colhidas de cada saco inoculado.

$$PMO\% = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

3.6.4 Análise estatística

O delineamento experimental foi o de blocos completos inteiramente casualizados, utilizando o teste de Tukey, com $p < 0,05$ de nível de significância, de acordo com Gomes, (1990). As análises estatísticas foram efetuadas através do SAS (Statistical Analysis System) desenvolvido pelo SAS Institute Incorporation.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento das linhagens - produtividade e período de cultivo

O número de unidades experimentais produtivas, período de cultivo e o número de fluxos colhidos são apresentados nas tabelas 10 e 11.

Tabela 10. Produção de *Pleurotus sajor-caju* nos diferentes substratos durante o cultivo

Substrato 1	Unidades Produtivas	Incubação(dias)		Primórdios (dias)	Frutificação (dias)	Cultivo Total (dias)	Fluxos Colhidos
		fechados	Abertos				
BFaCF	3/4	32 a 37	15 a 28	47 a 65	5 a 14	58 a 70	1 a 2
BCF	4/4	25 a 30	15 a 19	40 a 49	19 a 40	64 a 86	2 a 4
FaCF	4/4	30 a 37	25 a 29	57 a 64	15 a 31	75 a 89	2 a 3
BFaF	2/4	40 a 60	0 a 21	57	5 a 6	62 a 63	1
BFaC	4/4	36 a 40	15 a 22	54 a 58	25 a 27	70 a 83	2 a 4
FaF	1/4	20 a 66	0 a 34	47 a 54	3 a 7	50 a 61	1
FaC	1/4	37 a 90	0 a 30	67 a 94	5 a 15	82 a 99	2
BF	3/4	30 a 63	0 a 17	57 a 74	5 a 52	63 a 99	1 a 3
BC	3/4	40 a 66	0 a 25	55 a 91	4 a 30	63 a 99	1 a 2

BFaCF	Bagão de Cana + Farelo + Casca + Folha
BCF	Bagão de Cana + Casca + Folha
FaCF	Farelo + Casca + Folha
BFaF	Bagão de Cana + Farelo + Folha
BFaC	Bagão de Cana + Farelo + Casca
FaF	Farelo + Folha
FaC	Farelo + Casca
BF	Bagão de Cana + Folha
BC	Bagão de Cana + Casca

Os dados foram escritos em intervalos para se ter uma noção da variação encontrada dentro de cada substrato.

Na tabela 10 observa-se que quando se cultivou o *Pleurotus sajor-caju*, o substrato BCF, o FaCF e o BFaC frutificaram em todas as quatro unidades experimentais, contra 75% nos substratos BFaCF, BF e BC (três unidades produtivas em quatro inoculadas), 50% no substrato BFaF (duas unidades produtivas em quatro inoculadas) e 25% nos substratos FaF e FaC (apenas uma unidade produtiva das quatro inoculadas).

Tabela 11. Produção de *Pleurotus ostreatus* nos diferentes substratos durante o cultivo

Substrato	Unidades Produtivas	Incubação		Primórdios (dias)	Frutificação (dias)	Cultivo Total (dias)	Fluxos
		fechados	abertos				
BFaCF	0/4	43 a 67	0 a 43	0	0	0	0
BCF	3/4	55 a 69	5 a 15	60 a 84	12 a 31	76 a 97	2 a 3
FaCF	0/4	44 a 58	0 a 39	0	0	0	0
BFaF	2/4	50 a 90	0 a 4	57 a 94	5 a 19	83 a 99	1 a 2
BFaC	2/4	57 a 76	0 a 10	67 a 83	16 a 17	70 a 99	2
FaF	0/4	40 a 56	0 a 34	0	0	0	0
FaC	0/4	53 a 70	0 a 30	0	0	0	0
BF	1/4	55 a 69	0 a 30	70 a 87	7 a 9	77 a 94	1
BC	2/4	50 a 76	15 a 27	65 a 91	6 a 8	73 a 99	1 a 2

S ₁	BFaCF	Bagaço de Cana + Farelo + Casca + Folha
S ₂	BCF	Bagaço de Cana + Casca + Folha
S ₃	FaCF	Farelo + Casca + Folha
S ₄	BFaF	Bagaço de Cana + Farelo + Folha
S ₅	BFaC	Bagaço de Cana + Farelo + Casca
S ₆	FaF	Farelo + Folha
S ₇	FaC	Farelo + Casca
S ₈	BF	Bagaço de Cana + Folha
S ₉	BC	Bagaço de Cana + Casca

Pela tabela 11 nota-se que quando se cultivou o *Pleurotus ostreatus*, em nenhum substrato houve frutificação de 100% das unidades experimentais. O substrato BCF apresentou frutificação em três das quatro unidades experimentais ou 75% dos sacos, os substratos BFaF, BFaC e BC frutificaram em duas das quatro unidades experimentais ou 50% dos sacos inoculados, 25% no BF e não verificou-se frutificação nos substratos BFaCF, FaCF, FaF e FaC.

Observou-se frutificação em 35 das 72 unidades experimentais, ou seja, em 48,61%, sendo que das unidades produtivas, 71,43% foram obtidas nos substratos inoculados com *Pleurotus sajor-caju* (25 das 35 unidades produtivas). Das 36 unidades experimentais inoculadas com esta linhagem, verificou-se a frutificação em 25 dos sacos, ou seja, 69,44%. Para a segunda linhagem estudada, em 36 sacos inoculados, observou-se frutificação em somente 10 (27,78%).

Das duas tabelas conclui-se que o substrato BCF apresentou a maior porcentagem de unidades produtivas (87,5%), sendo que as mais baixas foram observadas para os substratos FaF e FaC (12,5%).

Para as linhagens empregadas os substratos elaborados com farelo a 50% (substratos FaF e FaC), obtiveram os piores desempenhos, enquanto que as melhores performances foram registradas nos substratos elaborados com bagaço de cana-de-açúcar (BCF, BFaF, BFaC, BF e BC). Esta avaliação refere-se à velocidade para colonização dos substratos, número de unidades produtivas e produtividade dos substratos.

A aparência dos cogumelos colhidos manteve-se conforme as características das linhagens empregadas, com coloração acinzentada para o *Pleurotus sajor-caju* e cinza escuro para o *Pleurotus ostreatus*. O tamanho do píleo variou de 3 a 12 cm, sendo que os maiores foram obtidos no substrato BFC inoculados com o *Pleurotus sajor-caju*. A consistência dos cogumelos produzidos era firme, permitindo a manipulação sem ocorrer quebras das bordas dos corpos de frutificação.

Assim como a produtividade, é importante avaliar o período de cultivo quando se pensa na viabilização econômica deste cultivo. Para os sacos inoculados com *Pleurotus sajor-caju*, o período de cultivo ficou dentro dos padrões da literatura de

aproximadamente 70 dias. Para os substratos inoculados com o *Pleurotus ostreatus*, o tempo de colonização foi mais longo, elevando o tempo de cultivo. De acordo com Quimio; Chang & Royse (1990) o período de cultivo em condições adequadas é de 70 dias, sendo 30 a 40 dias relativos ao tempo de colonização do substrato e o restante referente ao período de frutificação. Isto indica que nas condições em que este experimento foi realizado a primeira linhagem mostrou-se mais adequada que a segunda, apesar da primeira linhagem também estar acima do padrão da literatura. De acordo com Rajarathnam & Bano (1987) uma das causas mais comuns para o retardamento do período de cultivo se deve ao atraso no tempo de colonização do substrato, sendo que este fato pode ser devido a inúmeros fatores, tais como:

1. Perda de vigor da cultura de *Pleurotus*;
2. Baixa taxa de inoculação;
3. Inóculo contaminado;
4. Elevado teor de umidade dos substratos;
5. Compactação excessiva dos substratos;
6. Tratamento térmico deficiente;

A taxa de inoculação ficou dentro dos padrões de literatura, além de ter empregado semente de produtor idôneo. Portanto a causa provável deste fraco desempenho deve ser função do elevado teor de umidade dos substratos ou excesso de compactação aliado a um tratamento térmico deficiente. Nos substratos em que foi empregado o farelo de mandioca, tiveram a tendência de apresentar-se mais compactados, em função do elevado teor de amido deste resíduo. Com o tratamento térmico as partículas constituintes destes substratos ficaram mais agregadas, reduzindo o teor de oxigênio disponível para a respiração do micélio inoculado, dificultando a colonização dos mesmos.

Tabela 12. Comportamento dos diferentes substratos inoculados com *Pleurotus sajor-caju*

Substrato	Unidade	Fechado	Aberto	Primórdio	Frutificação	Cultivo total	Nº fluxos
BFaCF	1	32	15	47	11	58	2
	2 ^a	32	-	-	-	-	-
	3	37	19	56	14	70	2
	4	37	28	65	5	70	1
BCF	1	25	15	40	40	80	2
	2	30	15	45	19	64	2
	3	30	12	42	30	82	3
	4	30	19	49	37	86	4
FaCF	1	35	25	60	15	75	2
	2	30	27	57	31	88	2
	3	37	25	62	22	84	2
	4	35	29	64	25	89	3
BFaF	1	40	17	57	6	63	1
	2*	60	-	-	-	-	-
	3 ^a	60	21	-	-	-	-
	4	40	17	57	5	62	1
BFaC	1	36	22	58	25	83	2
	2	40	15	55	15	70	2
	3	36	18	54	18	72	3
	4	40	15	55	27	82	4
FaF	1*	38	-	-	-	-	-
	2	20	34	54	7	61	1
	3*	60	-	-	-	-	-
	4	20	27	47	3	50	1
FaC	1	37	30	67	15	82	2
	2 ^a	50	-	-	-	-	-
	3*	90	-	-	-	-	-
	4	90	4	94	5	99	2
BF	1	30	17	47	52	99	3
	2	41	17	58	5	63	1
	3*	63	-	-	-	-	-
	4	41	4	45	38	83	3
BC	1*	40	-	-	-	-	-
	2	66	25	91	4	95	1
	3	50	19	69	30	99	2
	4	50	5	55	8	63	1

* contaminação fúngica visível - ^a ≤ 50% colonização visível

Tabela 13. Comportamento dos substratos inoculados com o *Pleurotus ostreatus*

Substrato	Bloco	Fechado	Aberto	Primórdio	Frutificação	Cultivo total	Nº fluxos
BFaCF	1*	43	-	-	-	-	-
	2	55	43	-	-	-	-
	3*	55	-	-	-	-	-
	4*	67	-	-	-	-	-
BCF	1	56	10	66	31	97	3
	2 ^a	55	5	60	16	76	2
	3*	57	-	-	-	-	-
	4	69	15	84	12	96	2
FaCF	1 ^a	44	39	-	-	-	-
	2*	44	-	-	-	-	-
	3*	49	-	-	-	-	-
	4*	58	-	-	-	-	-
BFaF	1*	80	-	-	-	-	-
	2	55	2	57	19	76	2
	3*	50	-	-	-	-	-
	4 ^a	90	4	94	5	99	1
BFaC	1*	70	-	-	-	-	-
	2*	63	-	-	-	-	-
	3	57	10	67	17	84	2
	4	76	7	83	16	99	2
FaF	1 ^a	40	34	-	-	-	-
	2*	45	-	-	-	-	-
	3*	45	-	-	-	-	-
	4*	56	-	-	-	-	-
FaC	1*	53	-	-	-	-	-
	2*	53	-	-	-	-	-
	3	64	30	-	-	-	-
	4 ^a	70	-	-	-	-	-
BF	1*	55	-	-	-	-	-
	2*	69	-	-	-	-	-
	3	57	30	87	9	94	1
	4	55	15	70	7	77	1
BC	1 ^a	50	27	88	6	94	1
	2	63	2	65	8	73	1
	3*	76	-	-	-	-	-
	4	76	15	91	8	99	2

* contaminação fúngica visível - ^a ≤ 50% colonização visível

Percebe-se pela tabelas 12 e 13 que para todos os substratos, o atraso relativo para o aparecimento dos primórdios foi o responsável pelo longo período de cultivo das duas linhagens estudadas.

Uma das causas para o retardamento do início da frutificação pode ser a ocorrência de temperaturas altas ou baixas demais para o desenvolvimento miceliano. Neste experimento a temperatura não pode ser considerada como limitante, uma vez que a variação de temperatura variou numa faixa adequada a este propósito, conforme é possível observar na figura 3.

Figura 3. Variação da temperatura na sala de cultivo

4.2 Perda de matéria orgânica (PMO%) e eficiência biológica (EB%)

Durante seu ciclo de vida, o *Pleurotus* é responsável pela decomposição dos substratos através do consumo dos nutrientes presentes no meio. A atividade decompositora dos cogumelos comestíveis pode ser observada pelo cálculo da perda de matéria orgânica.

Nas tabelas 14 e 13, são mostrados dados relativos a perda de matéria orgânica e eficiência biológica das linhagens em relação aos diferentes substratos. Estes valores compreendem a média das 4 unidades experimentais.

Tabela 14: Peso seco do substrato inicial (Pi), Peso seco do substrato final (Pf), Perda de matéria orgânica (PMO), Peso fresco dos cogumelos colhidos (PCF), Peso seco dos cogumelos colhidos (PCS) e Eficiência Biológica (EB) dos diferentes substratos cultivados pelo *Pleurotus sajor-caju*.*

Substrato ¹	umidade	PSSI	PSSF	PMO%	PCF	PCS	E.B.%
BFaCF	78,73	212,77	111,94	47,39 ^{ab}	68,38	5,76	32,14 ^{abc}
BCF	74,29	257,13	99,11	61,46 ^a	244,59	22,29	95,12 ^a
FaCF	79,22	207,78	102,78	50,53 ^{ab}	128,08	11,52	61,64 ^{abc}
BFaF	79,36	206,45	107,32	48,02 ^{ab}	76,77	7,44	37,33 ^{abc}
BFaC	78,90	211,05	111,87	46,99 ^{ab}	168,52	13,94	79,85 ^{ab}
FaF	81,18	188,23	128,07	31,96 ^b	20,99	1,96	11,15 ^c
FaC	80,30	197,05	130,61	33,72 ^b	56,30	5,38	28,57 ^{abc}
BF	76,15	238,55	116,31	51,24 ^{ab}	206,61	18,35	86,61 ^{ab}
BC	78,85	211,48	129,8	38,62 ^{ab}	37,61	3,44	17,78 ^{bc}

(*) Os valores com letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$)

1- Substratos

BFaCF	Bagaço de Cana + Farelo + Casca + Folha
BCF	Bagaço de Cana + Casca + Folha
FaCF	Farelo + Casca + Folha
BFaF	Bagaço de Cana + Farelo + Folha
BFaC	Bagaço de Cana + Farelo + Casca
FaF	Farelo + Folha
FaC	Farelo + Casca
BF	Bagaço de Cana + Folha
BC	Bagaço de Cana + Casca

Tabela 15: Peso seco do substrato inicial (Pi), Peso seco do substrato final (Pf), Perda de matéria orgânica (PMO), Peso fresco dos cogumelos colhidos (PCF), Peso seco dos cogumelos colhidos (PCS) e Eficiência Biológica (EB) dos diferentes substratos cultivados pelo *Pleurotus ostreatus* *

Substrato	Umidade	PSSI	PSSF	PMO%	PCF	PCS	EB%
BfaCF	79,98	200,20	124,36	37,88 ^a	0,00	0,00	0,00 ^a
BCF	73,23	267,70	138,04	48,43 ^a	91,58	9,03	34,21 ^a
FaCF	81,22	187,80	121,57	35,27 ^a	0,00	0,00	0,00 ^a
BfaF	78,67	213,30	136,33	36,09 ^a	22,64	2,13	10,61 ^a
BfaC	77,39	226,10	169,45	25,06 ^a	44,96	4,23	19,89 ^a
FaF	80,53	194,70	137,23	29,52 ^a	0,00	0,00	0,00 ^a
FaC	79,68	203,20	162,46	20,05 ^a	0,00	0,00	0,00 ^a
BF	75,52	244,80	129,27	47,19 ^a	52,92	5,09	21,62 ^a
BC	79,48	205,20	142,74	30,44 ^a	21,63	2,07	10,62 ^a

(*) Os valores com letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$)

1- Substratos

BFaCF	Bagaço de Cana + Farelo + Casca + Folha
BCF	Bagaço de Cana + Casca + Folha
FaCF	Farelo + Casca + Folha
BFaF	Bagaço de Cana + Farelo + Folha
BFaC	Bagaço de Cana + Farelo + Casca
FaF	Farelo + Folha
FaC	Farelo + Casca
BF	Bagaço de Cana + Folha
BC	Bagaço de Cana + Casca

Na figura 5 é possível observar as diferenças na produtividade expressa em Eficiência Biológica, do *Pleurotus sajor-caju* L1 e *Pleurotus ostreatus* L2.

Figura 5 - Eficiência Biológica comparada do *Pleurotus sajor-caju* L1 e *Pleurotus ostreatus* L2

A PMO foi mais acentuada para os substratos inoculados com *Pleurotus sajor-caju*, se comparado com o *Pleurotus ostreatus*. Para o *Pleurotus sajor-caju* a degradação apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) nos substratos experimentais, mesmo com a elevada variância dentro das amostras, que está de acordo com a literatura (Platt, Hadar & Chet, 1984; Flegg, Spencer & Wood, 1987; Rajarathnam & Bano, 1989). Para o *Pleurotus ostreatus* não foi observada diferença significativa entre os nove substratos experimentais. Este fraco desempenho se deve ao elevado número de sacos que apresentaram problemas de contaminantes (Principalmente fungos do Gênero *Trichoderma* e *Pennicilium*). Tais contaminantes são indicadores de um possível excesso de umidade nos substratos, fato este que está de acordo com informações da literatura (Zadrazil & Brunnert, 1981; Kamra & Zadrazil, 1986; Flegg, Spencer & Wood, 1987) e elevada carga microbiana residual, sobrevivente do tratamento térmico. Isto indica que para melhorar o desempenho desta linhagem nestes substratos, deve ser feito um tratamento térmico mais severo, como proposto por Kamra & Zadrazil (1986), Quimio, Chang & Royse (1990) e Eira & Minihoni (1997).

É possível observar que a PMO não esteve diretamente relacionada diretamente com a Eficiência Biológica. Segundo Rajarathnam & Bano (1989) a PMO é oriunda da perda de água e CO_2 , do metabolismo dos microorganismos e não somente da remoção de substâncias para a formação de corpos de frutificação. Nos substratos inoculados com o *Pleurotus ostreatus*, onde não ocorreu frutificação, verificou-se Perda de Matéria Orgânica (PMO), mesmo sendo inferior aos valores obtidos nos substratos que apresentaram frutificação. Segundo Sturion (1994), a variação da PMO está relacionada com a composição química diferenciada dos substratos que podem oferecer substâncias com maior ou menor degradabilidade pelos microorganismos estudados.

Para o *Pleurotus sajor-caju*, notou-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os substratos experimentais, sendo encontradas as melhores médias de Eficiência Biológica

nos substratos BCF, BF e BFaC (95,10; 85,48 e 80,18). As menos favoráveis foram obtidas nos substratos BC e FaF (17,89 e 11,31), mostrando uma fraca performance dos substratos elaborados com farelo a 50% do peso seco. No *Pleurotus ostreatus*, não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os substratos experimentados.

Estes valores de EB superam os obtidos por Barbosa (1996), que empregando uma linhagem de *Pleurotus sajor-caju* verificou a maior EB (69%) empregando Farelo de mandioca suplementado com grãos moídos de soja, com uma taxa de 10 % de inóculo em relação ao peso seco do substrato. Tal proporção de inóculo é muito alta, sendo inviável para uma aplicação comercial, segundo Eira & Minhoni (1997).

Pelas condições experimentais de baixo controle ambiental a que foram impostos, o *Pleurotus sajor-caju* apresentou uma melhor performance, superando o *Pleurotus ostreatus* em PMO e EB, para todos os substratos avaliados, evidenciando o potencial de utilização desta espécie de cogumelo comestível para cultivo neste tipo de sistema de produção, empregando-se estes substratos.

Tabela 16. Eficiência Biológica (EB %), Peso de Cogumelo Fresco (PCF) em gramas e Perda de Matéria Orgânica (PMO %) para *Pleurotus sajor-caju*

	Substrato	Bloco 1	Bloco 2	Bloco 3	Bloco 4	Média
EB%	A	44,81	0,00	35,44	48,30	32,14
	B	77,30	82,52	118,87	101,81	95,12
	C	68,23	48,39	74,24	55,72	61,64
	D	68,40	0,00	0,00	80,94	37,33
	E	59,44	75,73	84,52	99,71	79,85
	F	0,00	16,03	0,00	28,57	11,15
	G	69,83	0,00	0,00	44,46	28,57
	H	126,83	106,67	0,00	112,94	86,61
	I	0,00	41,11	19,58	10,45	17,78
PCF	A	95,35	0,00	75,41	102,76	68,38
	B	198,75	212,19	305,64	261,78	244,59
	C	141,76	100,54	154,25	115,77	128,08
	D	140,65	0,00	0,00	166,43	76,77
	E	125,44	159,82	178,39	210,43	168,52
	F	0,00	30,18	0,00	53,78	20,99
	G	137,60	0,00	0,00	87,60	56,30
	H	302,55	254,46	0,00	269,43	206,61
	I	0,00	86,93	41,40	22,11	37,61
PMO%	A	52,78	30,62	50,97	55,19	47,39
	B	55,04	59,88	65,56	65,34	61,46
	C	51,48	47,91	50,65	52,09	50,53
	D	51,88	45,37	41,20	53,62	48,02
	E	42,78	48,66	45,12	51,42	46,99
	F	16,60	36,97	14,82	59,46	31,96
	G	52,03	22,50	17,96	42,39	33,72
	H	61,35	49,33	33,36	60,93	51,24
	I	32,46	50,09	39,55	32,40	38,62

Tabela 17. Eficiência Biológica (EB %), Peso de Cogumelo Fresco (PCF) em gramas e Perda de Matéria Orgânica (PMO %) para *Pleurotus ostreatus*

	Substrato	Bloco 1	Bloco 2	Bloco 3	Bloco 4	Média
EB%	A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	B	68,60	28,37	0,00	39,87	34,21
	C	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	D	0,00	31,50	0,00	10,95	10,61
	E	0,00	0,00	43,59	35,95	19,89
	F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	G	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	H	0,00	0,00	59,72	26,74	21,62
	I	12,28	10,36	0,00	19,82	10,62
PCF	A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	B	183,64	75,94	0,00	106,74	91,58
	C	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	D	0,00	67,20	0,00	23,36	22,64
	E	0,00	0,00	98,55	81,29	44,96
	F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	G	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	H	0,00	0,00	145,65	66,03	52,92
	I	25,20	20,75	0,00	40,57	21,63
PMO%	A	29,43	44,99	43,31	33,80	37,88
	B	56,84	44,84	38,38	53,68	48,43
	C	34,72	26,41	43,08	36,86	35,27
	D	23,20	43,97	28,55	48,62	36,09
	E	10,32	14,65	53,38	21,86	25,06
	F	33,22	24,28	14,61	42,11	29,52
	G	12,19	17,89	27,50	22,62	20,05
	H	27,47	24,10	70,21	65,63	47,19
	I	39,77	33,85	14,24	33,90	30,44

Na figura 5 vê-se os corpos de frutificação das linhagens estudadas, sendo 5-A o basidiocarpo do *Pleurotus sajor-caju* e 5-B *Pleurotus ostreatus*.

Figura 5. Aspectos da frutificação das linhagens estudadas

5. CONCLUSÕES

Nas condições em que este experimento foi desenvolvido, pode-se concluir que:

5.1. Para as linhagens estudadas, o substrato elaborado à base de bagaço de cana-de-açúcar, casca e folha de mandioca apresentou a maior produtividade, com eficiência biológica média superior a todos os outros substratos;

5.2. Os valores de eficiência biológica, próximos a 100% e com menor período de cultivo foram encontrados neste mesmo substrato para a linhagem de *Pleurotus sajor-caju*, sendo esta a mais indicada para um cultivo nestes padrões, uma vez que a mesma mostrou-se melhor adaptada a estas condições de cultivo;

5.3. De maneira geral as formulações empregando-se farelo a 50% do peso seco do substrato (substratos farelo+folha e farelo+casca), apresentaram as menores porcentagens de unidades produtivas das unidades inoculadas, em função de elevadas taxas de contaminação, além de apresentarem maior tempo de cultivo e as menores médias de eficiência biológica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, M.A. Teores de ácido cianídrico, carboidrato e proteína, em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), durante o segundo ciclo vegetativo. Viçosa, 1989. 38p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- BARBOSA, M.C.S. Aproveitamento de resíduos lignocelulósicos agrícolas e agroindustriais do estado do Paraná para a produção de fungos comestíveis do gênero *Pleurotus*. Curitiba, 1996. 117p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná.
- BONONI, V.L.R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995. 206 p.
- CALZADA, J.F.; LEON, R.; ARRIOLA, M. C.; ROLZ, C. Growth of mushrooms on wheat straw and coffee pulp: strain selection. *Biological Wastes*, v. 20, n 3, p. 217-226, 1987.
- CANOILAS, L.M. Enriquecimento proteico de resíduos da fermentação de farinha de mandioca pelo desenvolvimento de leveduras. Piracicaba, 1991. 110p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo.
- CEREDA, M.P. (Coord.) **Resíduos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Paulicéia, 1994. 174 p.
- CHANG, S.T. A new look at cultivated mushrooms. *Bioscience*. V. 34, n. 6, p.358-362, 1984.

- CHANG, S.T.; MILES, P.G. **Edible mushrooms and their cultivation**. Boca Raton, CRC Press, 1989. 345 p.
- DIWAKAR, B.; MUNJAL, R.L. Cultivation of *Pleurotus* species on different agricultural residues. **Indian Phytopathology**. V. 42, n. 4, p. 492-495, 1989.
- EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. (Coord.) **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. Botucatu: FEPAF, 1997. 115 p.
- FAO. **Production Yearbook**. Roma, 1994. v. 49, p. 93-94.
- FAO. **Production Yearbook**. Roma, 1997. v. 51, p. 88-89.
- FLEGG, P.B.; SPENCER, D.M.; WOOD, D.A. **The biology and technology of cultivated mushroom**. Chichester: John Wiley, 1987. 347 p.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990 467p.
- ISHIGAMI, D.; YOKOMIZO, N.K.S.; FOSCO MUCCI, E.S. Utilização de resíduos da madeira de *Pinus* na produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Quel. **Boletim Técnico do Instituto Florestal**. v. 40-A, n. 1, p. 108-115, 1986.
- KAMRA, D.N.; ZADRAZIL, F. Influence of gaseous phase, light and substrate pretreatment on fruit-body formation, lignin degradation and *in vitro* digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus spp.* **Agricultural Wastes**, v.18, n.1, p.1-17, 1986.
- KURTZMAM, Jr. R.H.& ZADRAZIL, F. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms. In: CHANG, S.T.& QUIMIO, T.H. eds. **Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods**. Hong Kong, The Chinese University Press, 1982. p. 299-348.

- MADAN, P.; VASUDEVA, P.; SHARMA, S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on different wastes. **Biological Wastes**. V. 22, n. 4, p. 241-250, 1987.
- MANU-TAWIAH, W. & MARTIN, A.M. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* mushroom in peat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. V. 37, n.9, p.833-838, 1986.
- MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus sp.*** São Paulo, 1990. 136 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- PLATT, M.W.; HADAR, Y.; CHET, I. Fungal activities involved in lignocellulose degradation by *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Technology**, v.20, n.2, p. 150-154, 1984.
- QUIMIO, T. H.; CHANG, S.T.; ROYSE, D.J.. **Technical guidelines for mushroom growing in the tropics**. Rome: FAO, 1990. 155 p.
- RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms: I.A. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, n.2, p.157-223, 1987.
- RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms: III. Biotransformation of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.28, n.1, p.157-223, 1989.
- RAJARATHNAM, S. et al. Biopotencialities of basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**. V.37, p. 233-361, 1992.
- SILANIKOVE, N.; DANAI, O.; LEVANON, D. Composted cotton straw silage as a substrate for *Pleurotus sp.* cultivation. **Biological Wastes**. v. 25, n. 3, p. 219-226, 1988.
- STURION; G. L. **Utilização da folha da bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*)** Piracicaba, 1994. 147p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo.

- VIEGAS, A.P. **Estudos sobre a mandioca**. Campinas: IAC/BRASCAN NORDESTE, 1976. 214p.
- ZADRAZIL, F.; BRUNNERT, H. Investigation of physical parameters important for the solid state fermentation of straw by white rot fungi. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v.11, n.3, p.183-188, 1981.
- ZADRAZIL, F. & GRABBE, K. Edible mushrooms. In: REHN, H.J. & REED, G. eds. **Biotechnology**. Weinheim, Verlag Chemie, 1983. v.3, p.145-87.