**UTILIZAÇÃO DA FOLHA DA
BANANEIRA COMO SUBSTRATO PARA
O CULTIVO DE COGUMELOS
COMESTÍVEIS (*Pleurotus spp.*)**

GILMA LUCAZECHI STURION

Economista Doméstica

Orientadora: Profa. Dra. MARILIA OETTERER

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

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

junho - 1994

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - FCLQ/USP

Sturion, Gilma Lucazechi
S935u Utilização da folha da bananeira como substrato
para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus*
spp.). Piracicaba, 1994.
147p.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Cogumelo como alimento 2. Folha da bananeira co
mo substrato 1. Escola Superior de Agricultura Luiz de
Queiroz, Piracicaba

CDD 635.8

UTILIZAÇÃO DA FOLHA DA BANANEIRA COMO SUBSTRATO
PARA O CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS
(*Pleurotus* spp.)

GILMA LUCAZECHI STURION

Aprovada em: 15.06.1994

Comissão julgadora:

Profa. Dra. Marília Oetterer

ESALQ/USP

Profa.Dra. Vera Lúcia Ramos Bononi

IB/SP

Profa.Dra. Rahme Nelly Neder

ESALQ/USP

Profa.Dra. MARÍLIA OETTERER

Orientadora

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Marília Oetterer, pela orientação deste trabalho, amizade e exemplo de integridade e profissionalismo.

A Profa. Dra. Avany Correa Santos pelo incentivo.

A colega Márcia Regina Camargo Ranzani, presença constante e amiga, pela sugestão do tema deste trabalho, ajuda profissional e estímulo.

Ao técnico Haroldo Rodrigues Caroba pela valiosa colaboração na instalação do experimento e nas determinações químicas.

As pesquisadoras Rosana Maziero e Marina Capelari pelo incentivo e sugestões ao projeto.

Ao Instituto de Botânica pelo fornecimento das culturas das espécies estudadas.

Ao Prof. Cláudio Rosa Gallo do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da ESALQ, por ceder as instalações para o preparo da semente.

Aos departamentos de Agricultura, Genética e Horticultura da ESALQ, e a Companhia Agrícola e Industrial Santa Adelaide pelo fornecimento das matérias-primas dos substratos.

Aos professores da ESALQ, Quirino Augusto C. Carmello do departamento de Química pela realização das análises de minerais e Wilson Roberto Soares Mattos do departamento de Zootecnia pelas análises da fração fibrosa.

A pesquisadora Brigitte J. Feigl do Centro de Energia Nuclear na Agricultura-CENA, pela análise de carbono.

Aos Profs. Maria Cristina Stolf Nogueira e Roland Vencovsky pelas sugestões na análise dos resultados.

A digitadora Giovana Maria de Oliveira pela dedicação e competência.

A bibliotecária Beatriz Helena Giongo pela revisão das referências bibliográficas.

A Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo pela ajuda financeira.

A toda equipe do projeto "Aproveitamento de Resíduos da Bananicultura da Região do Vale do Ribeira", em especial ao Engenheiro Agrônomo Hermas Amaral Germek, pelo apoio e incentivo.

As colegas do Departamento de Economia Doméstica pelo estímulo e compreensão.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente participaram da execução deste trabalho e permitiram que ele se concretizasse.

SUMARIO

Página

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Generalidades.....	5
2.2. Método de cultivo.....	10
2.2.1. Preparo do inóculo.....	10
2.2.2. Substrato e pré-tratamento.....	12
2.2.2.1. Esterilização.....	15
2.2.2.2. Pasteurização.....	15
2.2.2.3. Tratamento em água quente.....	16
2.2.2.4. Fermentação.....	17
2.2.3. Semeadura e incubação.....	18
2.2.4. Acondicionamento do substrato inoculado.....	20
2.2.5. Formação dos primórdios e frutificação.....	20
2.2.6. Fatores que influenciam o crescimento e produção.....	21
2.2.6.1. Fatores físicos.....	22
2.2.6.1.1. Temperatura e umidade relativa.....	22

Página

2.2.6.1.2. Teor de água do substrato e tamanho de partículas da palha.....	25
2.2.6.1.3. Luz.....	26
2.2.6.1.4. Oxigênio e dióxido de carbono.....	28
2.2.6.1.5. Potencial hidrogeniônico.....	30
2.2.6.2. Fatores biológicos.....	31
2.2.6.3. Fatores nutricionais.....	34
2.2.6.3.1. Carbono.....	34
2.2.6.3.2. Nitrogênio.....	36
2.2.6.3.3. Vitaminas e sais minerais....	38
2.2.7. Colheita.....	39
2.2.7.1. Produtividade.....	41
2.3. Composição química dos corpos de frutificação..	42
2.3.1. Umidade.....	43
2.3.2. Carboidratos.....	43
2.3.3. Proteína.....	45
2.3.4. Lipídeos.....	47
2.3.5. Cinza.....	48
2.3.6. Vitaminas.....	49
2.3.7. Outros.....	50
2.4. Conservação pós colheita.....	51
2.5. Mudanças nos constituintes do substrato após frutificação.....	52

Página

2.5.1. Perda de matéria orgânica.....	52
2.5.2. Decomposição do substrato.....	54
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
3.1. Culturas.....	57
3.2. Produção do rizomicélio.....	57
3.3. Preparo dos substratos.....	59
3.4. Semeadura e incubação.....	61
3.5. Condições de cultivo.....	62
3.6. Colheita.....	64
3.7. Parâmetros analisados durante o experimento....	65
3.7.1. Composição química.....	65
3.7.1.1. Dos substratos.....	65
3.7.1.2. Dos cogumelos colhidos.....	65
3.7.2. Comportamento das espécies x substratos estudados.....	66
3.7.3. Cálculo da produtividade.....	66
3.7.4. Avaliação da extensão da degradação do substrato.....	67
3.8. Métodos analíticos.....	67
3.8.1. Umidade.....	67
3.8.2. Potencial hidrogeniônico (pH).....	68
3.8.3. Cinza.....	68
3.8.4. Extrato etéreo.....	68
3.8.5. Fibra bruta.....	68

Página

3.8.6. Fibra detergente neutro (FDN).....	69
3.8.7. Fibra detergente ácido (FDA).....	69
3.8.8. Celulose e lignina.....	69
3.8.9. Nitrogênio.....	70
3.8.10. Minerais.....	70
3.8.11. Carbono.....	70
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
4.1. Composição química do substrato inicial.....	72
4.2. Composição das espécies - produtividade e período de cultivo.....	77
4.3. Perda de matéria orgânica.....	100
4.4. Composição química dos corpos de frutificação..	120
5. CONCLUSÕES.....	133
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	135

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Produtividade média de <i>Pleurotus</i> spp. nos substratos testados.....	85
Figura 2. Teor de nitrogênio (%) e C:N nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual).....	112
Figura 3. Teor de cinza (%) nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual).....	114
Figura 4. Teor de macrominerais nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual).....	117
Figura 5. Teor de microminerais nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual).....	119
Figura 6. Teor de macrominerais nos substratos testados (inicial) e no cogumelo (corpo de frutificação).....	130
Figura 7. Teor de microminerais nos substratos testados (inicial) e no cogumelo (corpo de frutificação).....	131

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1.	Temperaturas recomendadas para o crescimento do micélio e frutificação de algumas espécies do <i>Pleurotus</i>	23
Tabela 2.	Composição centesimal e C:N das matérias primas utilizadas.....	73
Tabela 3.	Composição centesimal, pH e C:N dos substratos iniciais (matérias primas umedecidas e pasteurizadas).....	73
Tabela 4.	Composição centesimal da fração fibrosa dos substratos iniciais (matérias primas umedecidas e pasteurizadas).....	74
Tabela 5.	Composição de macro e microminerais dos substratos iniciais (matérias primas umedecidas e pasteurizadas).....	74
Tabela 6.	Comportamento do <i>Pleurotus</i> sp "Florida" (L ₁) nos substratos testados durante o período de cultivo.....	78
Tabela 7.	Comportamento do <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) nos substratos testados durante o período de cultivo.....	79
Tabela 8.	Comportamento do <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L ₃) nos substratos testados durante o período de cultivo.....	80
Tabela 9.	Período de cultivo e eficiência biológica (EB) do <i>Pleurotus</i> sp "Florida" (L ₁) nos substratos testados.....	89
Tabela 10.	Período de cultivo e eficiência biológica (EB) do <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) nos substratos testados.....	90
Tabela 11.	Período de cultivo e eficiência biológica (EB) do <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L ₃) nos substratos testados.....	91

Tabela 12.	Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de bananeira (PB) no cultivo do <i>Pleurotus</i> sp. "Florida" (L ₁), <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) e <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L ₃).....	101
Tabela 13.	Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de trigo (PT) no cultivo do <i>Pleurotus</i> sp. "Florida" (L ₁), <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) e <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L ₃).....	102
Tabela 14.	Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de bananeira + bagaço de cana (PBBC) no cultivo de <i>Pleurotus</i> sp. "Florida" (L ₁), <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) e <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L ₃).....	103
Tabela 15.	Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de bananeira + sabugo de milho (PBSM) no cultivo de <i>Pleurotus</i> sp. "Florida" (L ₁), <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) e <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L ₃).....	104
Tabela 16.	Composição centesimal da fração fibrosa dos substratos após período de frutificação de <i>Pleurotus</i> spp.....	105
Tabela 17.	Perda de matéria orgânica (PMO), eficiência biológica (EB) e % de redução da fração fibrosa nos diferentes substratos/espécies que frutificaram.....	106
Tabela 18.	Composição centesimal e C:N dos substratos após o período de frutificação de <i>Pleurotus</i> spp.....	110
Tabela 19.	Composição de macro e micro minerais dos substratos após período de frutificação de <i>Pleurotus</i> spp.....	115
Tabela 20.	Composição centesimal dos corpos de frutificação do <i>Pleurotus</i> sp. "Florida" (L ₁) de cada substrato testado.....	120
Tabela 21.	Composição centesimal dos corpos de frutificação do <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> (L ₂) de cada substrato testado.....	121

Tabela 22.	Composição centesimal dos corpos de frutificação do <i>Pleurotus sajor-caju</i> (L3) de cada substrato testado.....	121
Tabela 23.	Composição centesimal da fração fibrosa dos corpos de frutificação das espécies de <i>Pleurotus</i> cultivadas.....	124
Tabela 24.	Teor de macro e micro minerais nos corpos de frutificação das espécies de <i>Pleurotus</i> cultivadas.....	127

UTILIZAÇÃO DA FOLHA DA BANANEIRA COMO SUBSTRATO PARA
CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS (*PLEUROTUS* SPP.)

Autora: Gilma Lucazechi Sturion

Orientadora: Profa. Dra. Marília Oetterer

RESUMO

A grande produção de banana no Brasil gera uma excessiva quantidade de resíduos agrícolas, dentre os quais a folha de bananeira, que, por ser um material lignocelulósico de difícil degradação, causa problemas fitossanitários que prejudicam a cultura.

Visando o seu aproveitamento, o presente estudo teve como objetivos verificar a viabilidade de utilizá-la como único constituinte ou como um dos constituintes de um substrato para o cultivo de *Pleurotus* spp., comparando os resultados de produtividade com aqueles obtidos a partir da palha de trigo e, determinar a composição química dos corpos de frutificação.

As espécies *Pleurotus* sp. "Florida", *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus sajor-caju* foram inoculadas em grãos de trigo e após colonização foram semeados nos seguintes substratos macerados e pasteurizados: palha de bananeira, palha de trigo, palha de bananeira mais bagaço de cana (50:50) e palha de bananeira mais sabugo de milho (70:30). Os substratos semeados foram

acondicionados em sacos de polietileno (20x30 cm), fechados e incubados em sala de cultivo sem iluminação, a $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e com umidade relativa média de 90%. No período de frutificação, os sacos foram abertos e efetuou-se o controle da iluminação (12 h/dia) e da exaustão. O período total de cultivo estabelecido foi 100 dias.

Os resultados obtidos demonstraram que é viável o emprego de folha de bananeira como substrato para o cultivo de *Pleurotus* spp.. O referido substrato apresentou para todas as espécies estudadas, a maior média de eficiência biológica, sendo os valores próximos a 100% e menores períodos de cultivo encontrados para as espécies *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus* sp. "Florida".

Os resultados demonstraram também, que o tipo de substrato utilizado no cultivo tem influência sobre a composição química dos corpos de frutificação, principalmente no teor de proteína e minerais.

THE BANANA LEAF PLANT UTILIZATION AS SUBSTRATE FOR EDIBLE
MUSHROOMS CULTIVATION (*PLEUROTUS* SPP.)

Author: Gilma Lucazechi Sturion

Adviser: Prof. Dr. Marília Oetterer

SUMMARY

The great production of banana fruit in Brazil gives rise to excessively quantity of agriculture wastes include the banana leaf whose due to its lignocellulosic composition is difficult to degradate and could cause phytosanitary problems to the banana cultivation.

Aiming the making use of this waste, the present study had for objective to verify the feasibility of uses it as substrate without any other components or as one the substrate mixture components for the *Pleurotus* spp., cultivation comparing the results of productivity with those obtained from the wheat straw and to determine the chemical composition for the fruit bodies.

The species *Pleurotus* sp. "Florida", *Pleurotus ostreatoroseus* and *Pleurotus sajor-caju* were inoculated on wheat grains and after colonization were spawned in the following soaked and pasteurized substrates: banana straw, wheat straw, sugarcane bagasse added on

banana straw (50:50) and corn cob added on banana straw (70:30). After spawned the substrates were conditioned in polyethylene bags (20x30 cm), closed, and incubated in a cultivation room without illumination, at $24 \pm 1^\circ\text{C}$ and with an average relative humidity of 90%. On the frutification period, the bags were opened and the illumination (12h/day) and exhaustion control were effected. The total cultivation period established was 100 days.

The results obtained have shown that is feasible the use of banana plant leaf as substrate for *Pleurotus* spp. cultivation. This substrate presented for all studied species, the highest average for biological efficiency, being the values near 100% and lower cultivation periods were found for the species *Pleurotus ostreatoroseus* and *Pleurotus* sp. "Florida".

The results have shown that the kind of utilized substrate in cultivation has influence on bodies frutification chemical composition mainly in the protein and mineral contents.

1. INTRODUÇÃO

A Região do Vale do Ribeira é a maior produtora de banana do Estado de São Paulo sendo esta seu principal produto agrícola. A produção média anual de banana nos últimos 5 anos foi de 850 mil toneladas segundo dados fornecidos por OLIVEIRA¹. Considerando que o resíduo da bananeira representa 40% da produção do fruto e que as folhas representam 15% da planta completa, segundo IGLESIAS et al. (1987), estima-se que a quantidade de resíduo seco no Vale do Ribeira é de 340 mil toneladas e a de folha de bananeira seca, 50 mil toneladas. Essa quantidade excessiva de resíduos agrícolas sem ter um destino adequado, polui o ambiente gerando problemas fitossanitários que prejudicam a cultura.

As folhas de bananeira apresentam-se disponíveis durante o ano todo e permanecem no solo durante muito tempo nestas condições por se tratar de um resíduo lignocelulósico, ou seja, de difícil degradação. Quando secas apresentam características físicas semelhantes às das

¹ OLIVEIRA, J.A. (Divisão Regional Agrícola da Coordenadoria de Assistência Integral, Registro, SP.). Correspondência pessoal, 1992.

palhas tradicionalmente utilizadas no cultivo de cogumelos.

Alguns estudos realizados por TOLENTINO (1981), BIZARIA et al. (1987) e citados por RAJARATHNAM & BANO (1987) têm demonstrado a viabilidade de se cultivar cogumelos comestíveis utilizando diversos tipos de resíduos agrícolas como substratos, inclusive a folha de bananeira como único constituinte, ou como um dos constituintes deste e com resultados satisfatórios.

Considerando a escassez de dados sobre o assunto e a disponibilidade de resíduos agrícolas do Vale do Ribeira, torna-se importante o estudo para aproveitamento dos mesmos na produção de cogumelos.

Um estudo desse tipo atende também a sugestões de pesquisadores da área quanto a buscar novos substratos e aproximar a área de produção da matéria prima da área de cultivo, uma vez que o substrato é um dos responsáveis pelo elevado custo de produção de cogumelos.

Visando transferir a tecnologia de cultivo para áreas rurais, selecionou-se o gênero *Pleurotus* pelas razões a seguir:

a) Apresenta alta habilidade de colonização e pode crescer, à princípio, em substratos a base de qualquer resíduo agrícola;

b) Requer um nível mínimo de controle ambiental, uma vez que apresenta espécies que crescem bem em regiões sub-tropicais e tropicais;

c) Suas técnicas de cultivo são menos complexas do que as desenvolvidas para o cultivo do gênero *Agaricus* ("champignon" de Paris) que é o cogumelo mais cultivado e consumido no mundo;

d) No Brasil existem também espécies nativas comestíveis que, portanto, podem oferecer possibilidades de adaptação às nossas condições de cultivo;

e) Apresenta a possibilidade de aproveitamento do substrato residual de várias maneiras, sendo as mais citadas, a utilização como alimentos para animais e como fertilizantes para o solo devido a sua qualidade nutritiva e alta digestibilidade.

Os fatores ambientais são plenamente atendidos pela região do Vale do Ribeira, que apresenta temperaturas e umidades relativas dentro dos intervalos requeridos durante quase o ano todo, segundo informações fornecidas pela Estação Experimental de Pariquera-Açú da Secretaria de Energia e Saneamento do Estado de São Paulo.

Quando se estuda a viabilidade de cultivo de cogumelos em novos substratos, é importante estudar-se a composição química dos corpos de frutificação provenientes deste novo composto, pois, vários estudos têm comprovado que o valor nutricional do cogumelo varia conforme a composição do meio e condições de cultivo utilizadas.

Os objetivos desta pesquisa foram:

- estudar a viabilidade de se utilizar a folha da bananeira como único constituinte ou como um dos constituintes de um substrato para o cultivo de espécies de *Pleurotus* comparando os resultados de produtividade com aqueles obtidos a partir de um substrato tradicionalmente utilizado;
- determinar a composição química dos corpos de frutificação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

A presença de lignina é um dos fatores limitantes para o racional uso dos resíduos lignocelulósicos como alimentação animal ou como fonte de energia, visto que a mesma age como uma barreira privando o acesso das enzimas aos componentes polissacarídeos. Sua degradação pode ser efetuada biologicamente através de fungos selecionados proporcionando um melhor emprego dos resíduos agrícolas, segundo GALLI et al. (1991).

O cultivo de cogumelos é o único sistema de produção microbiológica que pode bioconverter a lignina, celulose e hemicelulose dos resíduos vegetais, de acordo com WOOD & SMITH (1987). É um processo biotecnológico economicamente rentável que produz alimento de alto valor nutritivo a partir de resíduos agro-industriais que têm baixo valor, ou seja, possibilita o aproveitamento mais eficiente dos materiais, além de reduzir o volume de resíduos ou acelerar o processo de decomposição destes.

Desta forma, o material resultante do cultivo de cogumelos comestíveis pode ainda ser utilizado como alimento para animais, fechando o ciclo de aproveitamento de matéria orgânica.

Os cogumelos são usados como alimento pelo homem há séculos sendo atualmente conhecidas cerca de 600 espécies que são comestíveis. Destas, apenas 20 são utilizadas comercialmente em todo o mundo, sendo que as mais consumidas são *Agaricus bisporus* e *Lentinus edodes*. O *Pleurotus* spp., que é cultivado predominantemente na Europa, América e países do Oriente, tem a perspectiva de ser o terceiro mais cultivado, considerando o aumento vertiginoso de produção, ano a ano segundo WOOD & SMITH (1987). A produção de *Pleurotus* spp. que no início da década de 80 era da ordem de 40 mil toneladas/ano, passou a 340 mil toneladas/ano na década de 90, de acordo com MANSUR et al. (1992).

Na América Tropical, 38 espécies de *Pleurotus* são conhecidas, das quais 31 são consideradas comestíveis e podem ser cultivadas numa ampla variedade de materiais, mas muito pouco se conhece sobre o cultivo das mesmas, (MARTINEZ-CARRERA, 1989 e MARTINEZ-CARRERA et al., 1992).

No Brasil, apenas 3 espécies são cultivadas sendo que o *Agaricus bisporus* é responsável por 90% da produção e o *Pleurotus ostreatus* e *Lentinus edodes*, pelo restante, segundo FIDALGO & GUIMARÃES (1985).

As condições de cultivo variam conforme o gênero estando o *Pleurotus* entre os recomendados, de acordo com RAJARATHNAM & BANO (1987), para ser cultivado em regiões sub-tropicais e tropicais.

O gênero *Pleurotus* pertence ao reino Fungi e à sub-divisão Basidiomycotina (MUCHOVEJ. & MUCHOVEJ, 1989). Seu hábitat natural são basicamente as florestas temperadas, tropicais e subtropicais, vivendo saprofiticamente, decompondo a madeira e outros resíduos vegetais.

O *Pleurotus* é por natureza um fungo degradador de madeira. Juntamente com outros basidiomicetos, que atacam os polissacarídeos das paredes celulares dos tecidos vegetais, formam um grupo denominado de "fungos de podridão branca", pois degradam tanto a lignina quanto a celulose e hemicelulose presentes no substrato. Os "fungos de podridão marrom" atacam somente a celulose deixando as moléculas de lignina intactas, ZADRAZIL & GRABBE (1983) e DUTTON et al. (1993).

Os corpos de frutificação do *Pleurotus* se caracterizam por um talo ou estipe excêntrica ou lateral que pode ser pequeno, longo (10-15 mm) ou mesmo estar ausente. Volva e anel são ausentes. Os corpos de frutificação parecem pétalas de flores, desenhando-se como conchas de ostras. A margem pode ser lisa, quebrada ou semi virada, dependendo da espécie. O tamanho varia com a

espécie e entre uma mesma espécie dependendo das condições de cultivo (climáticas ou nutricionais), sendo que o mínimo é de 2 a 3 cm e o máximo de 15 a 20 cm. Segundo ZADRAZIL & GRABBE (1983), o tamanho do píleo alcança de 5 a 15 cm em madeira e 30 cm ou mais em palhas.

A coloração característica das diferentes espécies também depende das condições de cultivo sendo que os corpos de frutificação podem ser de cor branca, creme, marrom claro a cinza claro ou escuro e azulado. Um exemplo da influência das condições de cultivo sobre a coloração é o caso do *Pleurotus ostreatoroseus* que quando crescido na faixa de temperatura de 18°C a 25°C e na sombra ou no escuro fica excessivamente de cor rosa, sendo que esta coloração desaparece quando sujeito à luz ou a temperaturas mais altas de 25°C a 28°C.

Muitas são as espécies cultivadas dentro do gênero *Pleurotus* e a mais popular, *Pleurotus ostreatus*, conhecida como "oyster mushroom", é cultivada também em resíduos vegetais a temperaturas baixas (aproximadamente 15°C), segundo STAMETS & CHILTON (1983) e ZADRAZIL & GRABBE (1983).

Atualmente há muitas espécies de interesse comercial que têm sido apontadas como apropriadas para cultivo em regiões sub tropicais e tropicais, dentre elas as descritas a seguir:

***Pleurotus* sp. "Florida"**, também conhecido como *Pleurotus pulmonarius* segundo GUZMAN et al. (1993), muito similar ao *Pleurotus ostreatus* mas com corpos de frutificação de estrutura menor e mais fina. Usualmente são de coloração branca, creme, marrom clara ou amarela, dependendo das condições de cultivo. De acordo com ZADRAZIL & GRABBE (1983), abaixo de 9°C, é marrom brilhante, a 25°C, é creme ou branca. Sua classificação como espécie ainda é controvertida pelos taxonomistas. É mais produtiva que o *Pleurotus ostreatus* e cresce em temperaturas mais altas sem requerer choque térmico para indução dos primórdios, segundo WOOD & SMITH (1987). É cultivada durante a estação quente na Europa.

Pleurotus sajor-caju é um saprófito da madeira *Euphorbia royleana* e produz corpos de frutificação similares aos do *Pleurotus* sp. "Florida", de tonalidade marrom. Foi primeiramente cultivado experimentalmente em palha e pseudo caule de bananeira, segundo ZADRAZIL & GRABBE (1983) e também frutifica em temperaturas altas.

Pleurotus ostreatoroseus foi descoberto por pesquisadores na Índia onde é mais popular, crescendo em madeira morta de *Shorea robusta* durante a estação das chuvas em 1980. Esta espécie já havia sido reportada em 1848 e 1977; os corpos de frutificação são de coloração róseas, textura carnosa, segundo GUPTA et al. (1982). Esta

espécie foi identificada no Brasil por CAPELARI² citada por BONONI et al. (1991).

Tanto o *Pleurotus* sp. "Florida" como o *Pleurotus sajor caju*, além do *Pleurotus ostreatus* vêm sendo cultivados no Brasil há mais de 10 anos, de acordo com BONONI et al. (1991).

2.2. Método de cultivo

2.2.1. Preparo do inóculo

Segundo RAJARATHNAM & BANO (1987) embora muitos autores têm usado o meio de cultura composto de batata, dextrose e ágar (BDA) para o cultivo de *Pleurotus*, o meio de cultura malte-ágar é o preferido.

A semente ou "spawn" é o veículo de dispersão do micélio no substrato e sua preparação é a fase mais crítica do cultivo e deve ser realizada sob rigorosa assepsia. Esta semente constitui-se, na maioria dos casos, de grãos de cereais cozidos (trigo, arroz, cevada, etc) que após esterilização são inoculados com o fungo. Após a colonização total dos grãos estes servirão de inóculo para a colonização do substrato.

Os grãos são os mais utilizados porque proporcionam o dobro em superfície semeada quando comparada

² CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 37. Ouro Preto, 1986. Abstract. Ouro Preto, 1986. p. 286.

com a de outros substratos, tais como palhas e serragens, uma vez que se tem mais pontos de contato, MANSUR et al. (1992).

O conteúdo de umidade dos grãos de trigo geralmente está em torno de 11% e a umidade ótima para a produção do "spawn" está entre 49 e 54%. Para aumentar o teor de umidade do grão, este é umedecido através de fervura em água durante 15 minutos. Outra técnica utilizada, segundo MADAN et al. (1987), é a maceração em água na proporção de 3:1 durante 12 horas, seguida de fervura em água durante 5 minutos.

Após a fervura e drenagem do excesso de água, os grãos são colocados em frascos de vidro ou sacos de polietileno, quando se incorpora a estes ainda quentes, carbonato de cálcio e sulfato de cálcio na proporção de 1 a 3% do peso seco do grão, mantendo a relação de 4 partes de carbonato de cálcio para uma parte de sulfato de cálcio (BONONI & TRUFEN, 1986). Segundo ZADRAZIL & GRABBE (1983) e ELLIOT (1985), acredita-se que este procedimento além de alterar o pH evita que os grãos grudem uns aos outros facilitando o escoamento dos frascos durante o manuseio. O pH deve ser neutro ou ligeiramente alcalino (MOLENA, 1986), ou estar entre 6,5 e 7,5 de acordo com ZADRAZIL & GRABBE (1983).

Os frascos são fechados com tampa de rosca e uma película de gaze é colocada entre a boca do frasco e a

tampa. Tudo é esterilizado em autoclave durante 1 hora a 121°C, para destruição das bactérias termofílicas. ZADRAZIL & GRABBE (1983) recomendam 121°C a 135°C por 2 a 3 horas. Após resfriamento à temperatura ambiente os grãos contidos em cada frasco são inoculados com 1cm² do malte-agar colonizado pelo micélio, em câmara de fluxo laminar.

A seguir, os frascos são incubados a 25°C e o micélio leva de 11 a 14 dias para colonizar toda a superfície dos grãos. Durante a incubação deve-se agitar os vidros 2 vezes (5º e 9º dias) para acelerar a colonização, segundo STAMETS & CHILTON (1983) e distribuir o micélio mais uniformemente nos grãos (ZADRAZIL & GRABBE, 1983).

2.2.2. Substrato e pré-tratamento

Segundo RAJARATHNAM & BANO (1987) o cultivo de *Pleurotus* spp. vem sendo avaliado em diversos resíduos agrícolas tais como palha de arroz, palha de trigo, pseudo-caule e folhas da bananeira, resíduo de algodão, de papel, folhas de chá, serragem, sabugo de milho, madeiras e polpa de café. Contudo, o cultivo em escala comercial tem sido mais viável em palhas de trigo e de arroz, sabugo de milho e resíduo de algodão.

No México, de acordo com MARTINEZ-CARRERA (1989) espécies de *Pleurotus* vêm sendo cultivadas comercialmente em polpa de café e na Guatemala em palha de

trigo mais bagaço de citronela.

De acordo com BIZARIA et al. (1987), resíduos misturados promovem um suprimento mais balanceado de nutrientes do que resíduos não misturados. Podem também conferir maior consistência e aglutinação melhorando o contato entre o substrato e o micélio.

Misturas com sabugo de milho foram estudadas por ROYSE & SCHISLER (1987), SUN & YU (1987) e misturas com bagaço de cana por MAZIERO (1990) e BONONI et al. (1991).

BIZARIA et al. (1987) estudaram a eficiência biológica do cultivo do *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas, dentre eles a palha de bananeira e a palha de bananeira misturada com palha de trigo ou palha de arroz.

Vale destacar que bons resultados foram registrados por TOLENTINO (1981) e KWAN & CHANG (1981) quando cultivaram *Volvariella volvacea* em folha de bananeira.

O substrato é um dos itens mais importantes responsáveis pelo elevado custo do cultivo de cogumelo no Brasil. A palha de arroz, um dos substratos mais utilizados, tem preço elevado e muitas vezes chega aos produtores com umidade excessiva e deteriorada, características que reduzem sua produtividade acentuadamente. Além do preço e da dificuldade de obtenção, deve-se adicionar os problemas relacionados com o

transporte. FIDALGO & GUIMARÃES (1985) afirmam que a solução para baixar 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.

Deve-se cuidar para que a matéria a ser utilizada não tenha sofrido ação de decomposição de outros microrganismos tanto no campo antes da colheita, como durante o transporte ou armazenamento. O *Pleurotus* 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 o que facilitará o ataque dos microrganismos competidores, diminuindo a produtividade.

Antes de ser inoculado, qualquer substrato deve ser picado em partículas de aproximadamente 5cm de acordo com ZADRAZIL & KURTZMAN (1982) e ser umedecido com água para apresentar umidade inicial próxima de 70%. Em seguida, para eliminar ou reduzir os contaminantes que podem competir com o crescimento do cogumelo e o colonizar mais rapidamente, recomenda-se que o substrato seja pré-tratado através de uma ou mais das 4 técnicas a seguir, apresentadas pelos pesquisadores acima citados.

2.2.2.1. Esterilização

Esta técnica consiste em autoclavar o substrato a 121°C por pelo menos uma hora e resfriá-lo até a temperatura ambiente antes da inoculação. O substrato fica absolutamente livre de contaminantes. Este método é, entretanto, anti-econômico em escala comercial. Outra desvantagem apresentada por MAZIERO (1990) é que se houver uma fonte de contaminação, não haverá nenhum organismo competidor presente no substrato e o contaminante terá o seu desenvolvimento favorecido, pois altas temperaturas de tratamento do substrato possibilitam a liberação de glicose e outras substâncias solúveis em água, que serão fontes de alimento.

2.2.2.2. Pasteurização

Este tratamento térmico elimina possíveis microrganismos competidores do *Pleurotus* e também a macro e microbiota existente com potencial de risco para o cultivo. O substrato é sujeito a temperaturas de 60° a 100°C por uma ou duas horas (dependendo do tipo de substrato), sendo depois de resfriado, inoculado. Este processo é o mais utilizado em cultivos em grande escala e o período e a temperatura deste são muito variáveis. Ainda não foi estabelecido nenhum padrão definitivo, pois dos vários

trabalhos realizados para a produção de *Pleurotus* nos mais diferentes substratos, praticamente nenhum reproduz o outro, ou seja, cada autor realiza o processo de uma forma e com temperatura e tempo diferentes, MAZIERO (1990). ZADRAZIL, (1978) recomenda a pasteurização a 80-100°C durante 3 horas.

2.2.2.3. Tratamento em água quente

Esta técnica envolve o mergulho do substrato em água quente ($65 \pm 5^\circ\text{C}$) por 10 minutos. Segundo RAJARATHNAM & BAND (1989) esta técnica apresenta as seguintes vantagens:

- a. Ajuda a penetração da água nas camadas mais profundas;
- b. Destrói as formas resistentes como o esclerócio do *Sclerocium rolfsii*;
- c. Ajuda a amaciar a celulose, auxiliando na quebra das ligações cruzadas entre as fibrilas;
- d. Melhora o acesso das enzimas produzidas pelo *Pleurotus*;
- e. Apresenta ativa colonização micelial, intensa e grossa, seguida de frutificação antecipada de 2 a 3 dias em relação aos substratos não tratados.

O excesso de água é drenado e descartado e contém parte dos açúcares solúveis, outros nutrientes e

compostos fenólicos, o que aumenta a especificidade do substrato para o crescimento do fungo (ZADRAZIL & GRABBE, 1983).

Deve-se ressaltar aqui que o crescimento do *Pleurotus* não é inibido pelos compostos fenólicos pois de acordo com RAJARATHNAM & BANO (1987) estes microrganismos têm a capacidade de produzir enzimas oxidativas que podem metabolizá-los. Deve-se ressaltar também que a presença de compostos fenólicos no substrato pode inibir o crescimento de outros microrganismos, podendo este fato ser considerado um fator de proteção contra competidores.

2.2.2.4. Fermentação

Aqui, o substrato úmido é deixado fermentar em condições controladas, com a introdução das bactérias *Streptomyces thermovulgaris* e *Pseudomonas* spp. O substrato pode também fermentar naturalmente por poucos dias, com frequentes revolvimentos. Este tipo de tratamento não é desejável para o cultivo de *Pleurotus*, segundo RAJARATHNAM & BANO (1987), pois os substratos compostados apresentam alto teor de nitrogênio. De acordo com ZADRAZIL (1978), a fermentação causa a perda de matéria orgânica (8 a 15%), e não é necessária para o cultivo do *Pleurotus*. Ainda, segundo DANAI et al. (1989) a compostagem causa além da perda de matéria orgânica um aumento na proporção de

lignina.

Embora, segundo ZADRAZIL (1980b), o *Pleurotus sajor-caju* colonize tanto substrato esterilizado, como pasteurizado (60-90°C) e fermentado em palha de trigo, de acordo com WOOD & SMITH (1987), o método de aquecimento é o mais recomendado. Alguns pesquisadores sugerem ainda tratamento do substrato com fungicidas (ROYSE & SCHISLER, 1987; ROYSE & ZAKI, 1991 e LELLEY & NIEHRENHEIM, 1991) bem como o emprego de suplementos orgânicos e inorgânicos para melhorar a produtividade, (BAND et al., 1978; HOUDEAU et al., 1991). BAND et al. (1978), demonstraram que a suplementação de substrato com pó de semente de algodão após período de incubação aumenta a produtividade e o teor de nitrogênio dos corpos de frutificação além de melhorar as características organolépticas dos mesmos (aroma, sabor e textura mais tenra).

2.2.3. Semeadura e incubação

Após o tratamento térmico do substrato, este é resfriado a 20°C-25°C e pode ser semeado. Os grãos de cereais colonizados-"spawn", produzidos por técnicas estéreis são utilizados como inóculo. O inóculo pode ser aplicado manualmente ou mecanicamente. Segundo ZADRAZIL & KURTZMAN (1982), a quantidade de inóculo pode variar de 0,5 a 5,0% do peso úmido do substrato.

O inóculo deve ser bem distribuído no substrato para que haja o maior número possível de pontos de crescimento, resultando numa rápida colonização e reduzindo as chances de contaminação.

O substrato inoculado é incubado a temperaturas de 25^o-30^oC para o crescimento do micélio. De acordo com RAJARATHNAM & BANO (1988), espécies como *Pleurotus* sp. "Florida" requerem um mínimo de 20-30 dias para o crescimento micelial. Segundo ZADRAZIL & KURTZMAN (1982), em temperaturas entre 25^o e 33^oC, o substrato está totalmente permeado pelo micélio depois de 10, 18 e 20 dias, respectivamente, ao se utilizar o *Pleurotus saior-caju*, o *Pleurotus* sp. "Florida" e o *Pleurotus ostreatus*.

Para outros pesquisadores como STAMETS & CHILTON (1983), o período de incubação do *Pleurotus* sp. "Florida" em palha de trigo é de 7 a 14 dias; MADAN et al. (1987) no cultivo *Pleurotus saior-caju* em diferentes substratos obteve o crescimento micelial no período de 2 a 3 semanas de incubação e BONONI et al. (1991), 47 dias para *Pleurotus ostreatoroseus* utilizando o bagaço de cana como substrato.

Subsequente ao aparecimento dos primórdios o substrato é pulverizado com água para manter a umidade e os primórdios amadurecem dentro de 3 dias.

2.2.4. Acondicionamento do substrato inoculado

Os sacos de polietileno transparentes são os ideais para o cultivo do *Pleurotus*. RAJARATHNAM & BAND (1987) apresentam três razões para isso:

a. As camas não necessitam de qualquer umedecimento durante o período de semeadura;

b. Os blocos expostos pelos cortes no saco depois de semeado oferecem uma superfície máxima para frutificação;

c. O número restrito de orifícios no saco permite o máximo crescimento dos corpos de frutificação, ao contrário das grandes superfícies cujo problema é o aparecimento de muitos primórdios que não chegam ao tamanho máximo.

Caixas de madeira ou de plástico, prateleiras ou camas, blocos prensados e recobertos por lâminas plásticas ou de papel alumínio, ou contêineres especiais descritos por ZADRAZIL (1978) podem ser também utilizados para o processo.

2.2.5. Formação dos primórdios e frutificação

Segundo ZADRAZIL & KURTZMAN (1982) após a colonização total do composto pelo micélio, procede-se a mudança das condições de crescimento com a exposição do

mesmo (abertura dos sacos), para que haja entrada de ar (diminuindo a concentração de CO_2 e aumentando a de O_2), luz e umidade o que estimulará a formação dos primórdios. Se as condições não forem ótimas pode não ocorrer a frutificação.

De acordo com WOOD & SMITH (1987) um abaixamento de temperatura de $5^{\circ}C$ durante 2 dias induziu o aparecimento dos primórdios em estudo realizado com *Pleurotus ostreatus*. Isso pode não ocorrer com outras espécies.

O aparecimento dos primórdios dos corpos de frutificação varia de 7 a 14 dias após a abertura dos sacos segundo STAMETS & CHILTON (1983) e MADAN et al. (1987). Depende da espécie e condições de cultivo e ocorre de 2 a 3 semanas após a colonização, de acordo com WOOD & SMITH (1987).

2.2.6. Fatores que influenciam o crescimento e produção.

Embora o cultivo de cogumelos possa parecer simples, uma série de fatores devem ser considerados para manter a produção e se obter uma produtividade ótima.

2.2.6.1. Fatores físicos

2.2.6.1.1. Temperatura e umidade relativa

A semelhança do que ocorre para outros cogumelos, a temperatura é um fator vital para a cultura de *Pleurotus*. Geralmente a maioria das espécies são cultivadas a temperaturas de 20° a 30°C. Em estudo realizado por SOHI & UPADHYAY (1989), o *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus* sp. "Florida" mostraram ótimo crescimento micelial a temperatura de 30°C seguidos de 25°, 20° e 15°C.

Segundo UPADHYAY & VIJAY (1991) na Índia tradicionalmente se cultiva espécies de *Pleurotus* principalmente em palha de trigo e palha de arroz durante o verão quando a temperatura (24°-28°C) é mais favorável ao crescimento micelial e frutificação dessas espécies.

Estas espécies podem ser chamadas de cogumelos sub-tropicais, ao passo que a maioria das espécies de *Agaricus* e *Volvariella* são conhecidas como cogumelos de clima temperado e tropical, respectivamente. As espécies de *Pleurotus* cultivadas em climas subtropicais, crescem à temperatura ambiente, reduzindo os custos referentes à manutenção artificial de temperatura.

Tanto para a elaboração da semente como para o crescimento do micélio, uma ampla faixa de temperatura tem sido utilizada pelos produtores. Segundo RAJARATHNAM &

BAND (1987) a temperatura ideal para um crescimento rápido do micélio é a de 28°C. A 20°C, o crescimento é lento. Para uma ótima frutificação, a faixa requerida é de 22° a 25°C, dependendo das espécies. Segundo MAZIERO (1990), pode haver morte do micélio se o intervalo entre 10°C a 40°C não for respeitado. As temperaturas utilizadas por alguns pesquisadores para o crescimento do micélio e sua frutificação podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1. Temperaturas utilizadas para o crescimento do micélio e frutificação de algumas espécies do *Pleurotus*.

Espécies	Temperaturas (°C)		Referência bibliográfica
	Crescimento do micélio	Frutificação	
<i>P. sp.</i> "Florida"	20 a 30	25	MAZIERO (1990)
	20 a 25	21 a 26	SOHI & UPADHYAY (1989) WOOD & SMITH (1987)
	---	26 a 27	ZADRAZIL (1978)
<i>P. sajor-caju</i>	25 a 32	25 a 30	MAZIERO (1990)
	---	25 a 30	WOOD & SMITH (1987)
	30	21 a 26	SOHI & UPADHYAY (1989)
<i>P. ostreatoroseus</i>	3,6 a 31,2	3,6 a 31,2	BONONI, et al. (1991)
	---	20 a 30	GUPTA et al. (1982)

Segundo RAJARATHNAM & BAND (1987), em espécies como *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus sajor-caju*, o crescimento micelial foi deficiente em temperaturas menores que 16°C por mais de 8 horas,

durante o inverno. As células miceliais são aparentemente incapazes de utilizar a água disponível no substrato, devido a baixa temperatura ambiente. Além disso os corpos de frutificação que são produzidos se apresentam desidratados.

Sendo os cogumelos constituídos de cerca de 90% de água, a umidade do substrato é um importante fator para o crescimento adequado do mesmo. Deve-se destacar que o fungo não conta com sistema de proteção contra perda de umidade, conseqüentemente a perda de água de seus tecidos para o meio ambiente dá-se facilmente. Segundo trabalhos citados por MAZIERO (1990), a umidade relativa do ar necessária durante o período de frutificação é de 80 a 85% para o *Pleurotus sajor-caju*, e de 75 a 85% para *Pleurotus* sp. "Florida". STAMETS & CHILTON (1983) recomendam para espécies de *Pleurotus* 90 a 100% de umidade relativa durante o período de crescimento do micélio e 95% na fase de crescimento dos primórdios. ZADRAZIL & GRABBE (1983) recomendam 80 a 95% de umidade relativa nas duas fases e BONONI & TRUFEM (1986), 85%.

Esses teores de umidade relativa do ar previnem a desidratação do substrato e dos corpos de frutificação.

2.2.6.1.2. Teor de água do substrato e tamanho de partículas da palha.

O teor de água do substrato é um dos fatores vitais que influem no crescimento e produção de espécies de *Pleurotus*. Na maioria dos casos a produção é boa em substratos contendo de 70 a 75% de água, segundo ZADRAZIL & BRUNNERT (1981), ZADRAZIL & KURTZMAN (1982), STAMETS & CHILTON (1983) e RAJARATHNAM & BAND (1987).

O excesso de água no substrato dificulta a troca gasosa, pode causar o aumento da formação do micélio aéreo e pode também afetar a degradação de lignina; na falta, há aumento da tensão da água e o grau de entumescimento do substrato é baixo, ZADRAZIL & BRUNNERT (1981).

O tamanho das partículas varia de acordo com o material empregado como substrato. ZADRAZIL & KURTZMAN (1982) recomendam que o substrato seja reduzido a partículas de 5 cm. RAJARATHNAM & BAND (1987) mostram que o tamanho das partículas têm relação direta com o teor da água; partículas de palha de arroz de 2 a 3 cm com 75% de água são ideais para o cultivo de *Pleurotus*. Se as partículas forem menores com o mesmo teor de água, o espaço para o ar ficará reduzido e a produção não será boa. Com partículas maiores, há prejuízo de produção devido ao grande espaço intermediário entre as palhas, o que expõe o

substrato a desidratação.

O teor de água acima de 80%, em palhas picadas em partículas de 2 a 3 cm de comprimento, aumenta a atividade de água do substrato oferecendo condições para o crescimento de bactérias, seguida de contaminação secundária por fungos.

2.2.6.1.3. Luz

A luz não é um fator crítico no crescimento do *Pleurotus*. Alguns métodos de cultivo de cogumelos envolvem a utilização de cavernas ou túneis. O *Pleurotus* desenvolve-se normalmente à sombra ou em luz difusa. Algumas espécies de *Pleurotus* de coloração branca tornam-se opacas e escuras quando expostas à luz intensa. Segundo RAJARATHNAM & BAND (1987) a causa deste escurecimento dos corpos de frutificação pode ser a consequente liberação de fenoloxidasas que oxidam fenóis e formam melanoidinas.

Segundo VOLLAND-NAIL (1981), se a luz não é necessária à germinação dos esporos ou ao crescimento do micélio de *Pleurotus*, ela é, por outro lado, indispensável para a obtenção dos carpóforos normais como já foi demonstrado para *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus* sp. "Florida", *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus cornucopiae*. Em seu trabalho onde cultivou "*Pleurotus* du Quebec", o autor concluiu que entre 100 e

1000 lux os carpóforos são normais, com 50 lux, há um alongamento das estipes e 2000 lux é indesejável.

De acordo com KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) os resultados de estudos sobre o efeito da luz na formação dos primórdios são controvertidos, onde valores de 40 a 2000 lux são recomendados ou utilizados. O único ponto consensual é o da necessidade de luz para o desenvolvimento normal dos corpos de frutificação. Desta forma sugere-se o emprego de tubos de luz fluorescentes comuns, arranjados de modo que a superfície mais pobremente iluminada tenha luz suficiente para se poder fazer uma leitura de papel impresso comum.

Segundo STAMETS & CHILTON (1983), o melhor tipo de luz é a que oferece pelo menos 140 microwatts por 10 nanômetros por lúmen do espectro azul (440-495 nm) e temperatura de cor de 5500 a 6500^oK. Essa temperatura de cor, durante 12 horas/dia fornece a quantidade adequada de luz azul para promover a formação dos primórdios em *Pleurotus* e outras espécies fotossensíveis.

Quanto ao tempo de fornecimento de luz, ZADRAZIL (1978) cita estudo realizado para verificar o efeito da duração da luz no desenvolvimento dos corpos de frutificação de *Pleurotus ostreatus*. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se a luz do dia durante 12 horas/dia. De acordo com WOOD & SMITH (1987), a maioria dos produtores fornece luz fluorescente durante 12 horas/dia.

2.2.6.1.4. Oxigênio e dióxido de carbono

As proporções de O_2 e CO_2 no ar são de grande importância durante o cultivo de cogumelos e variam conforme o estágio de cultivo. Durante o desenvolvimento do micélio, de acordo com ZADRAZIL (1978), todas as espécies por ele estudadas se desenvolveram mais rapidamente em concentrações mais altas de CO_2 apresentando como limite 22% do volume de ar. Este autor destaca também que as altas taxas de CO_2 no substrato servem como defesa do *Pleurotus* contra outros microrganismos que não crescem ou não sobrevivem em condições de semi anaerobiose.

Esse efeito benéfico do CO_2 no crescimento micelial não anula a importância do oxigênio, sendo que este deve estar presente no substrato embora o crescimento micelial se dê em condições semi anaeróbicas, ZADRAZIL (1978).

De acordo com ZADRAZIL (1978) e ZADRAZIL & KURTZMAN (1982), se o crescimento micelial se dá bem em condições semi anaeróbicas, a produção dos primórdios se desenvolve em condições definitivamente aeróbicas. Uma alta taxa de CO_2 na fase de frutificação leva à deformação semelhante a que ocorre no caso da falta de luz, ou seja, formação de estipes longas e espessas e redução do píleo. Segundo MAZIERO (1990) taxas de 1 a 2% de CO_2 formam massas miceliais ramificadas que não se transformam em corpos de

frutificação.

STAMETS & CHILTON (1983), recomendam 28000ppm de CO₂ para estimular o crescimento micelial e até 600 ppm para a formação dos primórdios.

A espessura dos sacos de polietileno utilizados no cultivo de *Pleurotus* afetam a troca gasosa. RAJARATHNAM & BANO (1987) recomendam sacos de polietileno de 50u de espessura para o crescimento micelial e frutificação. Quando sacos de mais de 50u foram usados, houve fermentação seguida de ramificação pobre de micélio na parte central do substrato. Os autores destacam também que 1,31% de aeração levam a uma ótima produtividade. Uma menor aeração causa a fermentação anaeróbica com consequente atração de insetos e contaminação do substrato; enquanto que uma maior taxa de aeração leva à desidratação do substrato seguida de redução na produção.

As diferentes espécies respondem diferentemente a mesma espessura de sacos. O *Pleurotus sajor-caju* coloniza palha picada (mais tardiamente, 7-10 dias) em sacos de polietileno de 50u de espessura, sem orifícios, o que não ocorre com o *Pleurotus flabellatus*. Na fase de formação dos primórdios, orifícios de 1 cm de diâmetro em intervalos de 7 cm em ambos os lados apresentam ótimos resultados. Para casas de cultivo, os autores recomendam a construção de janelas em posições opostas para que haja uma boa ventilação,

assegurando a máxima formação de primórdios e alta conversão do substrato.

2.2.6.1.5. Potencial hidrogeniônico

De acordo com KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), para cada espécie de *Pleurotus*, há um valor de pH, não havendo um consenso no valor ótimo. Segundo estes autores o intervalo aparentemente melhor é 5,0-6,0 que é o mesmo encontrado na madeira, hábitat natural do *Pleurotus*. Segundo RAJARATHNAM & BANO (1987) o pH ótimo para o cultivo de *Pleurotus sajor-caju* está entre 6,5 e 7,0.

Durante a colonização do substrato pelo micélio do *Pleurotus*, o substrato pode tornar-se ácido devido a excreção do ácido oxálico que serve para eliminar alguns contaminantes naturais, de acordo com RAJARATHNAM & BANO (1989). Outros compostos podem influenciar na mudança do pH, além do ácido oxálico, quando se trata de "fungos de podridão branca", segundo DUTTON et al. (1993).

Deve-se monitorar o pH e se for necessária alguma correção, esta deve ser feita durante o crescimento micelial com carbonato de cálcio.

2.2.6.2. Fatores biológicos

Como fatores biológicos entende-se o efeito de microrganismos sobre o cultivo. Segundo RAJARATHNAM & BAND (1988) o conhecimento sobre a interação dos microrganismos com *Pleurotus* é limitado. De acordo com esses autores, os contaminantes mais comuns que aparecem nos substratos são os relacionados a seguir.

O *Sclerotium rolfsii* (coloração marrom) é um competidor bastante conhecido em palha de arroz e tem a habilidade de produzir grandes quantidades de ácidos orgânicos tornando o substrato ácido. Dependendo do período em que aparece e intensidade de contaminação, pode reduzir a produtividade em 80 a 96%. Um tratamento preconizado para destruição do *Sclerotium rolfsii* é a pasteurização pela imersão da palha em água quente. Outros métodos empregam reagentes químicos. A fumigação com brometo de metila é altamente econômica, mas necessita de edificação especial para aplicação do gás em escala comercial e é restritivo a este microrganismo.

Trabalhos *in vitro* citados por RAJARATHNAM & BAND (1989), relatam que o *Sclerotium rolfsii* pode ser efetivamente controlado pela imersão da palha em solução de Carboxin (10 mg/l), formaldeído (800 ppm) e solução de amônia (1000 ppm) antes da inoculação ou semeadura. Porém quando se emprega o cultivo em sacos plásticos, o

folmaldeído e a amônia devem sofrer neutralização para expelir os resíduos químicos que podem interferir com o crescimento do *Pleurotus*.

O *Coprinus fimetarius* é o mais destrutivo e frequentemente observado nas áreas mais secas não colonizadas pelos cogumelos. Recomenda-se para o seu controle, um cuidado intensivo durante a pasteurização e um maior percentual de sementes na inoculação do substrato.

O *Penicillium digitatum* é um competidor ativo que cresce diretamente no substrato durante o período de incubação em regiões não colonizadas onde falta H₂O. Esse contaminante provoca um ligeiro aumento de pH e pode reduzir a produtividade dependendo da intensidade da contaminação, de 32 a 51%. Seu controle eficiente *in vitro* foi constatado através do uso de benomyl numa proporção de 25ppm (do princípio ativo) em água onde a palha foi imersa por 18 horas. Nessa concentração, o emprego de benomyl favoreceu o crescimento do cogumelo e acima de 150ppm provocou anormalidades nos corpos de frutificação.

De acordo com KIMATI (1978) o benomyl cujo nome comercial é Benlate, é um fungicida benzimidazolico, metil N (1-butilcarbonil) benzemidozol - 2 - carbonato, eficiente no controle de numerosos fungos. Seus riscos de toxidez são baixos (LD₅₀, para ratos é de 9590 mg/kg) e, de maneira geral, não representam problemas de fitotoxidez.

No controle de espécies de *Trichoderma*,

STAMETS & CHILTON (1983) sugerem o emprego direto de bicarbonato de sódio ou em solução o qual inibe o desenvolvimento desse fungo pela elevação do pH.

O *Pleurotus flabellatus* aparece em palhas maceradas (sem nenhum tratamento térmico) e podem reduzir a produtividade de 10 a 100%.

O *Mucor javanicus* aparece no verão.. É um competidor fraco afetando a produção em 10%. Está associado a ambientes com elevada temperatura e o *Pluteus* spp. ocorre em áreas mais secas não ocupadas pelo micélio e não afeta a produção.

LELLEY & NIEHRENHEIM (1991) estudaram o efeito de 3 tipos de fungicidas (Benlate, Fermentar Forte e *Sportak Alpha*) recomendados para proteção contra *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., etc. em diferentes concentrações, aplicados na água de embebição de palha de trigo sem nenhum tratamento prévio. Os autores observaram que estes tratamentos influenciaram positivamente no crescimento micelial do *Pleurotus*, principalmente quando empregados em concentrações de 100 a 250 ppm, e aumentaram a produtividade em alguns casos, significativamente. Constataram também que não houve nenhuma deformação nos corpos de frutificação podendo ser recomendados para o cultivo comercial.

KHANNA et al. (1992) cultivaram espécies de *Pleurotus* em palha de trigo, entre elas *Pleurotus Florida* e

constatarem que o filtrado das culturas apresentaram atividade antifúngica contra 7 tipos de competidores comuns a estas espécies.

A má vedação da casa de cultivo permite a entrada de inúmeros ácaros, insetos e mesmo ratos sendo fundamental, portanto que o ambiente seja adequadamente telado. A higienização antes e após exaurida a produção é obrigatória e a desinfecção pode ser feita por vapor d'água por um período de 3 a 4 horas e após, pelo emprego de melchol, formol, lysoforme ou outros produtos similares, segundo BONONI & TRUFEM (1986).

2.2.6.3. Fatores nutricionais

Além dos fatores patológicos e ambientais, o fator nutricional é vital para determinar a extensão do crescimento do fungo no substrato, a habilidade do cogumelo em competir com outros organismos, o tempo para a produção dos corpos de frutificação e a qualidade da produção.

2.2.6.3.1. Carbono

De acordo com RAJARATHNAM & BANO (1989) este fungo inicia seu crescimento imediatamente após a inoculação utilizando primeiro os açúcares disponíveis do substrato, que geralmente compreendem de 1 a 2% do peso

seco, e depois passam a utilizar o carbono dos polissacarídeos, como demonstrado pela secreção de enzimas celulolíticas, algum tempo depois da inoculação.

A fonte principal de carbono de um resíduo vegetal se constitui nos polissacarídeos e na lignina da parede celular.

A celulose é constituída de moléculas de glicose e as hemiceluloses de arabinose, galactose, manose, xilose e ácidos urônicos. Há um consenso entre os pesquisadores de que a arabinose e a xilose favorecem menos o crescimento, enquanto que a glucose, galactose, manose e frutose favorecem mais.

A lignina possui a estrutura mais complexa. Constitui-se basicamente de unidades de fenil-propano com um anel de benzeno ligado a um grupo hidroxila e um ou dois grupos metoxílicos. As ligações presentes nesta molécula são altamente resistentes à degradação química, portanto, poucos são os microrganismos que conseguem utilizar esta substância, (MASON, 1980).

Segundo RAJARATHNAM & BAND (1989), pouco se conhece sobre o sistema enzimático para a degradação da lignina e as oxigenases e fenoloxidasas parecem ser importantes enzimas para a sua biodegradação.

O ataque inicial da lignina é feito através das enzimas pelos "fungos de podridão branca", resultando na perda de grupos metoxílicos e ruptura de ligações éster,

causando uma degradação parcial das substâncias mais solúveis.

Em estudos realizados por GALLI et al. (1991), espécies de *Pleurotus* tiveram o mesmo comportamento em relação a produção de lacase a partir da degradação de resíduos agrícolas. A produção foi aumentada a partir do 39 dia, alcançando o máximo depois de 7 dias e então declinou rapidamente.

2.2.6.3.2. Nitrogênio

A madeira, substrato natural do *Pleurotus*, não possui um teor muito alto de nitrogênio. Portanto, teoricamente, a necessidade deste nutriente por parte deste fungo não deveria ser muito grande. Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) não há um consenso entre os pesquisadores sobre a influência deste nutriente no crescimento e frutificação do *Pleurotus*.

Segundo DANAI et al. (1989), o teor de 1,0 a 1,5% de nitrogênio é ótimo para o crescimento do *Pleurotus*.

De acordo com RAJARATHNAM & BANO (1988), a adição de nitrogênio durante o desenvolvimento do micélio parece ser prejudicial porque eleva o pH, favorecendo competidores e conseqüentemente diminuindo a produtividade.

Quando se utiliza sais de amônia, nitratos e uréia, há liberação do íon que integrava a molécula e este

pode mudar o pH do meio se não for metabolizado na mesma taxa que o nitrogênio, pois ocorrerá um acúmulo deste íon (MAZIERO, 1990). A adição desses elementos pode reduzir a degradação dos componentes do substrato, se convertidos em amônia que é tóxica ao micélio (RAJARATHNAM & BANO, 1989). As diferentes espécies respondem diferentemente a essas adições. No caso de fontes orgânicas, a peptona proporciona um melhor crescimento.

Quanto aos aminoácidos, a presença da asparagina, serina, ácido aspártico e alanina proporcionam resultados satisfatórios (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1982).

Na fase de crescimento do micélio a relação C:N deve ser alta. Segundo MAZIERO (1990), a presença de muito nitrogênio reprime a degradação da lignina e conseqüentemente retarda ou até mesmo cessa o crescimento do micélio. Em seu estudo onde verificou a potencialidade de diversos resíduos agrícolas concluiu que a baixa produtividade de alguns substratos estava relacionada com uma relação C:N menor ou igual a 29:1; ZADRAZIL (1978) recomenda uma relação C:N igual ou superior a 50:1.

Na fase do desenvolvimento dos corpos de frutificação uma relação C:N mais baixa, parece ser mais favorável.

ZADRAZIL (1980b) pesquisando a influência de suplementação de palha de trigo no cultivo de *Pleurotus sajor-caju* após o período de incubação demonstrou

um aumento na produtividade de até 50% quando adicionou nitrato de amônia e até 300% no caso do uso de alfafa e farinha de soja como suplementos.

Existem opiniões divergentes sobre a propriedade do *Pleurotus* fixar nitrogênio.

Vários pesquisadores citados por KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) e RAJARATHNAM & BAND (1989) têm afirmado que espécies de *Pleurotus* fixam nitrogênio atmosférico, baseados em estudos que demonstram que corpos de frutificação apresentam um teor mais alto que os observados nos substratos nos quais cresceram.

Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), os organismos que são inequivocadamente conhecidos como fixadores de nitrogênio são os procariotos, isto é, bactérias e algas azuis. Estes mesmos pesquisadores questionam a possibilidade de um eucarioto fixar nitrogênio, alegando que mesmo em substratos tratados a quente, bactérias endospóricas podem sobreviver podendo então serem elas as responsáveis pela fixação do nitrogênio e não o *Pleurotus*.

2.2.6.3.3. Vitaminas e sais minerais

Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), não há necessidade da adição de vitaminas em substratos não esterilizados, pois os demais microrganismos presentes as

sintetizam normalmente.

Estudos apresentados por estes mesmos autores revelam que o sulfato de magnésio e o fosfato de potássio dehidrogenado, apresentam um maior efeito no crescimento do *Pleurotus*; e o sulfato de magnésio, sulfato de zinco e cloreto férrico são necessários para a máxima produção de proteína bruta nos corpos de frutificação.

2.2.7. Colheita

Os corpos de frutificação estarão desenvolvidos em 4 ou 5 dias e devem ser colhidos antes da liberação dos esporos, pois neste estágio a sua consistência é mais túrgida e se mantém viável comercialmente por um período mais longo. Após a liberação dos esporos, inicia-se a fase de senescência do cogumelo e a sua durabilidade será diminuída. O estágio ideal da colheita é aquele onde se observa que as margens dos cogumelos ainda não estão totalmente planas, segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) e RAJARATHNAM & BANQ (1987).

De acordo com HAUSEN et al. (1974) alguns estudos comprovam a habilidade de esporos de *Pleurotus* germinarem e se desenvolverem em tecido mucoso de humanos; segundo ZADRAZIL (1980b) a liberação dos esporos pode causar alergia aos trabalhadores responsáveis pela colheita dos cogumelos. Consequentemente recomenda-se uma ventilação

adequada e o uso de máscaras com filtros para proteção

Deve-se considerar também que pela liberação em massa dos esporos estes podem germinar quando caem sobre outros corpos de frutificação tornando o aspecto do fungo não propício para a comercialização.

O período de colheita varia de 28 a 35 dias segundo STAMETS & CHILTON (1983). Esta variação depende das espécies estudadas e das condições de cultivo e pode ser ainda maior conforme pôde-se constatar nos trabalhos citados a seguir: para CALZADA et al. (1987) o período foi de 30 dias, para SINGT et al. (1989) e LEONG (1982) foi de 35 dias, para BIZARIA et al. (1987) 40 dias, MADAN et al. (1987) e HOUDEAU et al. (1991) 42 dias e para LELLEY e NIEHRENHEIN (1991), 49 dias.

Segundo STAMETS & CHILTON (1983) e WOOD & SMITH (1987), sob condições ideais de crescimento o ciclo total de cultivo de espécies de *Pleurotus* é de aproximadamente 70 dias. Este período foi registrado em experimentos realizados em diversos resíduos agrícolas por MADAN et al. (1987), BIZARIA et al. (1987), CALZADA et al. (1987), KULKARNI (1989), LELLEY & NIEHRENHEIM (1991), BONONI et al. (1991) e MANSUR et al. (1992).

2.2.7.1. Produtividade

A produção de *Pleurotus* depende das propriedades genéticas das espécies de fungos, da qualidade e estrutura do substrato e das condições da cultura (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1982). A produtividade é usualmente expressa como eficiência biológica (E.B.) que é definida como o peso fresco dos corpos de frutificação por quilo do substrato seco, segundo STAMETS & CHILTON (1983).

$$EB = \frac{\text{peso fresco de cogumelos}}{\text{peso seco de substrato inicial}} \times 100$$

Segundo MAZIERO (1990), a precisão do índice EB é discutível, pois o conteúdo de água dos corpos de frutificação pode variar de acordo com a umidade relativa do ar e do composto, mas o autor recomenda a utilização da mesma por ser a mais empregada pelos pesquisadores permitindo a comparação dos resultados com os de outros trabalhos.

Outro índice para avaliar de maneira mais precisa a produtividade (P), de acordo com ZADRAZIL & KURTZMAN (1982), RAJARATHNAM & BANO (1989) e MAZIERO (1990) pode ser expressa em termos de peso seco de cogumelos produzidos com relação ao peso seco do substrato utilizado.

$$P = \frac{\text{peso seco de cogumelos}}{\text{peso seco do substrato}} \times 100$$

BIZARIA et al. (1987) preferiram utilizar como base de cálculo o peso seco dos corpos de frutificação, para a determinação da produtividade ou eficiência biológica porque o conteúdo da matéria seca dos cogumelos cultivados nos diferentes substratos variou significativamente (de 7,09% a 11,6%).

A relação entre a produtividade de corpos de frutificação (P) e a perda de matéria orgânica (PMO) do substrato durante o crescimento e desenvolvimento do fungo provem informações sobre a economia do metabolismo fúngico ou condições de crescimento, segundo ZADRAZIL (1980b). O coeficiente de produtividade pode indicar a diferença entre tratamentos empregados em substratos.

2.3. Composição química dos corpos de frutificação.

Segundo CRISAN & SANDS (1978), mudanças significativas na composição química ocorrem com a espécie, idade ou estágio de desenvolvimento do corpo de frutificação. A composição varia também com o tempo de espera para a realização das análises assim como as diferentes porções do mesmo corpo de frutificação. O tipo de substrato utilizado no cultivo também tem influência sobre a composição química do cogumelo, principalmente no

conteúdo de proteína, minerais e nos constituintes do aroma e sabor (CHANG et al., 1981).

Dados sobre o valor nutricional de cogumelos comestíveis são de difícil comparação porque muitos dos trabalhos não apresentam informações suficientes sobre as espécies, métodos de cultivo e métodos de análises, variáveis estas que afetam diretamente a composição química dos corpos de frutificação, de acordo com BANO & RAJARATHNAM (1982).

2.3.1. Umidade

Os corpos de frutificação, em média, contém cerca de 90% de água, de acordo com LAU (1982) e BANO & RAJARATHNAM (1988). Desvios significativos deste valor são reflexos das condições de cultivo tal como teor de água no substrato, temperatura ambiente e umidade relativa. O cogumelo seco comercializado apresenta de 10,0 a 12,0% de umidade, segundo CRISAN & SANDS (1978).

2.3.2. Carboidratos

De acordo com BANO & RAJARATHNAM (1988) os carboidratos representam o maior constituinte das espécies de *Pleurotus*, variando de 46,6 a 81,8% da matéria seca. Contém 4,2% de carboidratos solúveis, 1,7% de pentosanas e

32,3% de hexonas na base seca. Entre os carboidratos poliméricos estão o glicogênio (composto utilizado para estocagem de energia e presente no *Pleurotus flabellatus* em uma proporção de 8,9%) e a quitina, um polímero de N-acetilglucosamina, componente estrutural da parede celular fúngica e que é também considerado como sendo o maior constituinte do conteúdo de fibra do cogumelo. É este nitrogênio da quitina que contribui para o alto teor de proteína normalmente determinado por análises padrões que empregam o fator de conversão $N \times 6,25$, de acordo com CRISAN & SANDS (1978).

Muitos estudos vêm sendo realizados para caracterizar os componentes de polissacarídeos solúveis em água dos corpos de frutificação de espécies de *Pleurotus*, devido a sua habilidade de inibir o crescimento de tumores. Atividades contra a formação de tumores de cogumelos comestíveis, dentre eles, o *Pleurotus ostreatus*, foram investigadas por MORI et al. (1987), através de alimentação a ratos com dietas contendo de 10 a 30% de corpos de frutificação quando observaram uma redução do desenvolvimento destes. ZHUANG et al. (1993) analisaram a atividade contra tumor de frações de polissacarídeos isolados de proteínas dos corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* e constataram a retração do tumor em rato, assim como o prolongamento da vida em 2,3 a 2,6 vezes quando comparado ao controle.

De um modo geral os cogumelos apresentam grande quantidade de fibra variando de 3,0 a 32,0%, segundo CRISAN & SANDS (1978), de 5,0 a 15,0% segundo LAU (1982) e de 7,5 a 27,6% segundo BAND & RAJARATHNAM (1982). Estudos realizados por KURASAWA et al. (1982) sobre o conteúdo de fibra em 26 espécies de cogumelos comestíveis obtiveram como resultados médios em base seca: 11,4% de celulose, 21,4% de hemicelulose, 2,9% de lignina, 3,7% de substâncias pécnicas, 9,7% de fibra bruta e um total de fibra dietética de 39,4%. Para o *Pleurotus ostreatus*, os autores encontraram 11,6%, 27,8%, 2,0%, 6,1%, 8,0% e 47,5%, de cada um destes componentes, respectivamente.

2.3.3. Proteína

O teor de proteína bruta do cogumelo varia de 8,9 a 38,7% na base seca de acordo com BAND & RAJARATHNAM (1982), e de 15,0 a 50,0% segundo LAU (1982), em média 19,8% segundo MAZIERO (1990), valores estes obtidos com o fator de conversão $N \times 4,38$. De acordo com CRISAN & SANDS (1978) e BAND & RAJARATHNAM (1988), o fator de conversão $N \times 6,25$ utilizado para a maioria dos alimentos para o cálculo de proteína bruta é baseado na premissa de que a maioria das proteínas contém 16% de nitrogênio e considerando-se também que cerca de 100% desse nitrogênio é digerível. Outros pesquisadores indicam uma digestibilidade

provável de 60 a 70% da proteína de cogumelo. Esta redução no coeficiente de digestibilidade pode ser parcialmente explicada pelo fato de que os cogumelos contém uma quantidade significativa de nitrogênio não protéico na forma de glucosaminas na parede celular quitinosa. Uma boa aproximação do teor de proteína bruta de cogumelo pode ser obtida usando-se o fator de conversão igual a $N \times 4,38$ que representa 70% de $N \times 6,25$.

Quando comparada à proteína do ovo, as espécies de *Pleurotus* são limitantes em aminoácidos sulfurados (metionina e cistina), aromáticos (fenilalanina e tirosina) e em leucina, segundo BANO & RAJARATHNAM (1988). Cerca de 1/5 do nitrogênio total está na forma de aminoácidos livres sendo a alanina, o ácido glutâmico e a glutamina os predominantes no "pool" de aminoácidos livres.

Além da composição química da matéria prima utilizada como substrato, a adição de compostos orgânicos e inorgânicos tem um efeito significativo no conteúdo de proteína dos corpos de frutificação das espécies de *Pleurotus*. BANO et al. (1978) observaram que a suplementação da palha de arroz com pó de semente de algodão, após o crescimento micelial, produziu corpos de frutificação com teores mais altos de proteína quando comparados com os produzidos em palha de arroz sem suplementação, no cultivo de *Pleurotus flabellatus*. Resultados semelhantes foram obtidos por Rajarathnam et

al. ³, citados por BANO & RAJARATHNAM (1988). ZADRAZIL (1980b) também observou um aumento no teor de nitrogênio dos corpos de frutificação do *Pleurotus sajor-caju* quando o substrato foi suplementado após período de incubação com alfafa e farinha de soja. O mesmo efeito foi observado por Bano & Rajarathnam⁴ citados por BANO & RAJARATHNAM (1988).

Consequentemente os cogumelos não devem ser considerados como única fonte de proteína mas como um item da alimentação de dietas de baixa caloria, servindo como proteína complementar, sendo incluídos no grupo de vegetais de alto teor protéico.

2.3.4. Lipídeos

O teor de lipídeos em diferentes espécies de *Pleurotus* varia de 2 a 8% em base seca, segundo CRISAN & SANDS (1978) e, em média contém 2,85% de gordura, segundo BANO & RAJARATHNAM (1982) BANO E RAJARATHNAM (1988). O maior constituinte é o ácido olêico (79,4%) seguido do palmítico (14,3%) e ácido linolêico (6,3%). Esqualeno e ergosterol (livre e esterificado) e ubiquinona-7 também estão presentes.

As concentrações relativamente altas de ácidos graxos insaturados, linolêico em particular, tornam

³ RAJARATHNAM, S.; BANO, Z.; PATHWARDHAN, M.V.; Nutrition of mushroom *Pleurotus flabellatus* during its growth on paddy straw substrate. The Journal Horticultural Science, England, 61:223, 1986.

⁴ BANO, Z. & RAJARATHNAM, S. Studies on the cultivation of *Pleurotus sajor-caju*, The Mushroom Journal, United Kingdom, 115:243, 1982.

as espécies de *Pleurotus* adequadas do ponto de vista nutricional por estes constituintes da dieta não serem sintetizados pelo corpo humano e contribuírem com a diminuição no nível de colesterol.

2.3.5. Cinza

Os corpos de frutificação geralmente contém de 5 a 10% de cinza na base seca, segundo LAU (1982). Potássio (2%) e fósforo (0,75%) são os maiores constituintes nas espécies de *Pleurotus*; magnésio (0,15%) representa o terceiro mineral em quantidade e o cálcio (0,12%) e ferro (0,05%) estão em baixa concentração, sendo que o ferro presente está na forma disponível, de acordo com BAND & RAJARATHNAM (1988).

A presença de metais pesados nos corpos de frutificação pode ser atribuída a contaminação dos substratos ou a seletividade do fungo a certos metais.

Dos metais pesados o zinco é o que aparece em maiores quantidades em todas as espécies de *Pleurotus* embora possa estar contido nas palhas em baixa quantidade. Isto indica a tendência destes fungos de acumular este elemento nos corpos de frutificação, porém estas quantidades estão aquém do nível de tolerância para estes metais prescritos pela "Food and Agriculture Organization", segundo BAND & RAJARATHNAM (1982).

Estudo realizado por BRUNNERT & ZADRAZIL (1983) demonstrou a habilidade de fungos lignocelulolíticos em acumular altos níveis de cádmio e mercúrio, dentre eles, *Pleurotus flabellatus*, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju*. Os dados revelaram também que as espécies que acumulam percentual maior de metais pesados são as que promovem maior taxa de degradação do substrato. O teor de cobre nunca excede àquele do substrato e o mercúrio e o cádmio podem ocorrer se o substrato estiver contaminado com estes metais.

2.3.6. Vitaminas

As concentrações de tiamina (2mg/100g), niacina (40mg/100g) e riboflavina (4mg/100g) em base seca, nas espécies de *Pleurotus* são, de acordo com LAU (1982) definitivamente superiores às encontradas em outros gêneros. O *Pleurotus* contém todas as vitaminas em grandes quantidades, com exceção do ácido ascórbico, quando comparado com outros vegetais. São boas fontes de riboflavina e ácido fólico (vitamina construtora do sangue que controla a anemia perniciosa). Além do mais, segundo BAND & RAJARATHNAM (1982), 70% dos esteróis presentes em espécies de *Pleurotus* são representados pelo ergosterol que pode ser transformado em vitamina D sob luz ultravioleta.

2.3.7. Outros

O valor energético do *Pleurotus sajor-caju* é de 336 Kcal/100g em peso seco calculado pelos índices de conversão de 2,62, 8,37 e 3,48, respectivamente, para proteína bruta, lipídeos e carboidratos uma vez que estes componentes não são 100% digeríveis nos cogumelos (proteína 70%; lipídeos 90% e carboidratos 95%), de acordo com CRISAN & SANDS (1978).

Segundo BAND & RAJARATHNAM (1988), baseando-se nas recomendações de que a ingestão diária de ácidos nucleicos não deve ultrapassar 4g, dos quais somente 2g podem ser provenientes de proteína unicelular, o consumo diário de 200 a 250g de *Pleurotus* fresco por pessoa não traz problemas de ordem nutricional como é o caso das leveduras e das algas. Quanto a presença de ácidos orgânicos, o *Pleurotus* contém traços dos ácidos láctico e succínico enquanto que os ácidos fórmico e acético são dominantes. Os compostos químicos que podem contribuir para o aroma e sabor, que representam os fatores mais importantes de indução ao largo consumo de cogumelos comestíveis, são o ácido glutâmico (realçador de sabor), os ácidos graxos de cadeia curta e os carboidratos.

2.4. Conservação pós colheita

O *Pleurotus* é comercializado seco ou fresco. Não se recomenda a conservação em salmoura devido a alteração do sabor pela grande quantidade de solução salina que pode ficar entre as lamelas.

Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), o processo de secagem pode ser ao sol ou em estufas de ventilação forçada, em temperaturas variando de 45° a 60°C. A reidratação é feita através da maceração por pelo menos uma hora; a textura do cogumelo hidratado não é a mesma do fresco, mas é mais firme do que a do produto enlatado. A liofilização possibilita um produto mais volumoso e com textura mais firme após a reidratação, quando comparado com o processo de secagem em estufa.

A forma mais comum de se comercializar o *Pleurotus* é no estado fresco pois este não necessita ser submetido ao branqueamento uma vez que não sofre oxidação.

Segundo MARTINEZ-CARRERA et al. (1989), à temperatura de 21°-25°C, considerando-se os padrões comerciais de aparência, consistência, presença de bolor e deformação das bordas do píleo, a durabilidade dos cogumelos foi de apenas um dia, com ou sem plásticos embalando-os. Embalados em sacos plásticos e armazenados a 8°C, o tempo de armazenamento resfriado aumentou para 4 dias e, a 5°C, aumentou para 8 dias.

2.5. Alterações nos constituintes do substrato após frutificação.

De acordo com RAJARATHNAM & BANO (1989) há uma variação no grau de degradação do substrato tanto em experimentos com espécies diferentes como com a mesma espécie, crescendo em substratos iguais ou diferentes. Estas diferenças nas habilidades relativas das espécies de *Pleurotus* são atribuídas a interação entre o genoma (material genético hereditário) e fatores físico-ambientais, químicos e biológicos. Uma degradação máxima de um substrato deve eventualmente aumentar a solubilidade do mesmo e, portanto aumentar a eficiência da conversão de biomassa.

2.5.1. Perda de matéria orgânica

Segundo RAJARATHNAM & BANO (1989), com o crescimento e frutificação do *Pleurotus* em substratos lignocelulolíticos, uma diminuição paralela na matéria orgânica é efetivada. Isso ocorre devido a perda de CO₂ e H₂O durante o metabolismo do fungo e também remoção dos materiais do substrato para a construção dos corpos de frutificação. Estas perdas, em geral, são maiores durante a frutificação do que durante a incubação (desenvolvimento do micélio) uma vez que estão associadas com a atividade

anabólica da construção dos corpos de frutificação. O cálculo da perda da matéria orgânica através da diferença entre o peso seco do substrato inicial e substrato residual, avalia a extensão da degradação do substrato (ZADRAZIL, 1980b).

O aumento de biomassa produzido em condições favoráveis é alto e pode ser correlacionado com uma perda comparável de matéria seca do substrato. O crescimento e produção de corpos de frutificação do *Pleurotus ostreatus* (600 a 700g de cogumelos frescos por quilo de palha seca) em resíduo de algodão leva a uma diminuição de cerca de 50% do substrato, segundo Platt⁵ et al. citado por RAJARATHNAM & BANO (1989).

De acordo com Zadrazil⁶ citado por ZADRAZIL (1978), os corpos de frutificação no caso de *Pleurotus* sp. "Florida", *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* e *Pleurotus eryngii*, representam 10% em peso seco, do peso seco da palha original, ou seja, 1Kg de palha seca é igual a 1kg de cogumelo fresco. Cerca de 50% do substrato é liberado como CO₂ e cerca de 20% como água de decomposição. Após a colheita, cerca de 20% do peso original permanece como substrato residual.

⁵ PLATT, M; CHET, I.; HEMS, Y. Growth of *Pleurotus ostreatus* on cotton straw. The Mushrooms Journal, United Kingdom, 120: 425, 1982.

⁶ ZADRAZIL, F. Die zersetzung des Stroh - zelulose - lignin - komplexes mit *Pleurotus* "Florida" und dessen Nutrizung. Z.P. falnzenerähr. Bodenkd. 138: 263-78. 1975.

2.5.2. Decomposição do substrato

O grau de decomposição do substrato pode ser avaliado através da medida das substâncias solúveis em água liberadas ou açúcares liberados. Segundo estudos apresentados por RAJARATHNAM & BANO (1989), há um aumento progressivo das substâncias solúveis em água durante o cultivo de *Pleurotus flabelattus* em palha de arroz e palha de trigo sendo que o substrato residual apresentou 4 vezes mais açúcares solúveis que a palha não degradada.

De acordo com esses mesmos autores há uma tendência de aumento no teor de nitrogênio aminoacídicos no substrato residual devido a atividade de proteases e em estudos *in vitro* durante fermentação sólida, este aumento justifica-se pela perda do CO₂.

Constatou-se também uma diminuição progressiva dos compostos fenólicos com o aumento do período de incubação, devido a atividade das enzimas oxidativas, secretadas pelo *Pleurotus* e que degradam os fenóis.

De um modo geral o pH do substrato diminui durante essa degradação que pode ser explicada pela secreção do ácido oxálico pelo *Pleurotus*. Estudos mostraram uma queda no pH de 7,0 para 5,1 no cultivo de *Pleurotus* sp. "Florida" e para 4,2 no de *Pleurotus flabellatus* em palha de trigo e palha de arroz.

A diminuição no teor de celulose do substrato depende da espécie cultivada e da quantidade produzida. Estudos com *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus flabellatus* apresentados por RAJARATHNAM & BAND (1989) demonstraram que a diminuição no teor de celulose encontrada foi maior durante a frutificação devido a alta taxa metabólica do cogumelo nesta fase de construção dos corpos de frutificação.

Zadrazil⁷ citado por RAJARATHNAM & BAND (1989) demonstrou em estudo realizado com *Pleurotus* em palha de trigo que as quantidades absolutas de - celulose, hemicelulose e complexos de lignina não foram alteradas durante o crescimento micelial e frutificação.

A degradação da lignina por *Pleurotus* spp. através da lacase, é maior durante a fase de colonização do substrato pelo micélio. A quebra da lignina permite a liberação de celulose e hemicelulose nesta primeira fase do ciclo de vida facilitando o acesso das mesmas para a degradação enzimática. Segundo RAJARATHNAM & BAND (1989), a diminuição no teor de lignina do substrato pode ser de 40 a 50% durante a fase do crescimento micelial.

De acordo com RAJARATHNAM & BAND (1989), um relativo aumento de cinza durante o cultivo é observado devido a constante utilização da matéria orgânica mas a quantidade final pode-se dizer que permanece a mesma, uma

⁷ ZADRAZIL, F. The ecology and industrial production of *P. ostreatus*, *P. "Florida"*, *P. cornucopie* and *P. eryngii*, Mushroom Science, Braunschweig, 9 (3): 621, 1976.

vez que uma fração vai para a construção dos corpos de frutificação. Segundo Zadrazil⁸, citado por esses mesmos autores, tem sido observado uma diminuição no teor de fósforo, potássio, cálcio, manganês e ferro em palha de arroz ou de trigo, no cultivo de *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus* sp. "Florida". Esses elementos entram na construção de corpos de frutificação e participam como grupos prostéticos em reações enzimáticas.

Desta forma o substrato residual do gênero *Pleurotus* apresenta-se mais solúvel, possuindo altas quantidades de açúcares, aminoácidos livres e cinza e menores quantidades de lignina, celulose e hemicelulose que o substrato não degradado. Possui também uma variedade de enzimas degradadoras. Dependendo do substrato usado, das condições de cultivo e da produtividade, o substrato residual pode ter diversas aplicações, dentre as quais, as mais citadas pelos pesquisadores estão: alimento para animais ruminantes e fertilizante para o solo devido a qualidade nutritiva do mesmo e alta digestibilidade; geração de biogás e composto para cultivo de *Agaricus* ou de proteína unicelular.

⁸ ZADRAZIL, F. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*. Mushroom Science, Braunschweig, 9 (3): 621, 1976.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Culturas

As espécies estudadas foram 001 - *Pleurotus* sp. "Florida", 016 - *Pleurotus ostreatoroseus* e 020 - *Pleurotus sajor-caju*, denominadas aqui como L₁, L₂ e L₃, respectivamente. As referidas espécies foram fornecidas pela Seção de Micologia do Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, sediado na cidade de São Paulo.

O micélio das culturas em tubo foi inoculado em 12 placas de Petri (4 de cada espécie) contendo meio de malte-ágar, preparado segundo MARTINELLI⁹. Após um período de 10 dias em estufa de incubação B.O.D - "Biological Oxygen Demand" a 25±1°C as placas estavam completamente colonizadas.

3.2. Produção do rizomicélio - "Spawn" ou semente.

O preparo do "spawn" foi executado de acordo com método apresentado por BONONI & TRUFEM (1986), a seguir

⁹ MARTINELLI FILHO, A. Microbiologia de Alimentos 1. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, s.d.t., 248p.

descrito:

- Ferveu-se grãos de trigo durante 15 minutos em água na proporção de 3 partes de água para 1 de grão de trigo;

- Após drenagem, os grãos foram distribuídos em vidros de 500ml de modo a ocuparem 75% do volume do frasco (aproximadamente 300g de grão hidratado por vidro);

- Acrescentou-se aos grãos ainda quentes, 2% do peso seco de carbonato de cálcio e sulfato de cálcio numa proporção de 4:1;

- Os frascos cobertos com 2 camadas de gaze e fechados com meia rosca para manter as trocas gasosas, foram esterilizados em autoclave vertical à 121°C por 1 hora;

- Preparou-se 18 frascos, sendo 6 para cada espécie. O grão de trigo, após tratamento apresentou umidade de 57% e pH igual a 6,9.

- Após a esterilização os frascos foram deixados à temperatura ambiente até esfriar e inoculados em câmara de fluxo laminar contínuo, com pedaços de aproximadamente 1cm² de malte-ágar colonizado pelo micélio das espécies de *Pleurotus* em estudo;

- Os frascos após inoculação foram fechados e incubados em estufa B.O.D. a 25±1°C, tendo sido agitados a cada 3 dias para melhor distribuição do inóculo;

- Após 15 dias de incubação, os frascos

estavam completamente colonizados pelo micélio.

- O "spawn" foi armazenado sob refrigeração a $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para posterior inoculação nos substratos em estudo.

O preparo do inóculo e do "spawn" foram realizados no Setor de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da ESALQ-USP em Piracicaba, SP.

3.3. Preparo dos substratos

Os resíduos agrícolas utilizados como matéria prima na composição dos substratos foram:

- folha de bananeira, designada palha de bananeira (PB), cedida pelo Departamento de Horticultura da ESALQ/USP - Piracicaba, SP; colhida verde e seca ao ar livre, protegida da chuva.

- palha de trigo (PT), que consistiu dos restos da planta do trigo após a colheita dos grãos, cedida pelo Departamento de Agricultura da ESALQ/USP - Piracicaba, SP; colhida e seca em casa de vegetação.

- bagaço de cana (BC) cedido pela Companhia Agrícola e Industrial Santa Adelaide - Dois Córregos - SP. Foi acrescentado à palha da bananeira na proporção de 50% por ser largamente utilizado no Brasil como substrato no cultivo de cogumelos comestíveis, ter grande disponibilidade e baixo custo (MAZIERO, 1990; MANSUR et al.

1992 e GUZMAN, 1993).

- sabugo de milho (SM), cedido pelo Departamento de Genética da ESALQ/USP - Piracicaba, SP. Foi acrescentado à palha da bananeira na proporção de 30% que é a mais comum em substratos misturados com esse resíduo (ROYSE & SCHISLER, 1987 e SUN & YU, 1987).

Os substratos estudados foram:

- 100% de palha de bananeira (PB);
- 100% de palha de trigo (PT);
- 50% de palha de bananeira + 50% de bagaço de cana, em peso seco (PBBC);
- 70% de palha de bananeira + 30% de sabugo de milho em peso seco (PBSM).

As palhas de PB, PT e o SM foram moídos em moinho de faca. Da moagem da PB e PT resultaram fragmentos de 5 a 10cm conforme utilizado em cultivos comerciais, de acordo com ROYSE & ZAKI (1991) para palha de trigo, e do SM, partículas semelhantes ao grão de feijão. O BC foi utilizado como se apresentava. Essas matérias primas foram amostradas para determinação da unidade inicial.

Para o cálculo da quantidade total de palha de cada substrato a ser utilizada, estabeleceu-se em média, 200g de matéria seca de substrato para cada unidade experimental.

Com o percentual em base seca dos materiais efetuou-se os cálculos para quantificar a água necessária a

ser adicionada a cada substrato de modo que estes apresentassem cerca de 75% de umidade após hidratação.

A umidificação dos substratos, já misturados, foi realizada através da maceração por 12 horas ("overnight"), de acordo com MADAN et al. (1987) em latões de alumínio de 120l cobertos com plástico. A quantidade de água utilizada na maceração foi igual a quantidade de água calculada para atingir 75% de umidade multiplicada por 3,5 de modo que as palhas ficassem totalmente embebidas.

Após drenagem em escorredor de alumínio, as palhas foram submetidas à pasteurização em vapor fluente. O processo foi desenvolvido em autoclave vertical fechada mas sem pressão, para atingir a temperatura de 90°C.

No final de 1 hora o substrato foi retirado e colocado em sala higienizada, espalhado sobre filme de polietileno desinfetado com hipoclorito de sódio a 2,5% e deixado a temperatura ambiente até esfriar. Os substratos umidificados e pasteurizados foram designados de substrato inicial (si).

3.4. Semeadura e Incubação

Os substratos tratados foram distribuídos em sacos de polietileno de 20x30cm, transparentes, com espessura de 50µ. O peso médio dos sacos com o substrato tratado foi de 900g, preservando-se aproximadamente 200g de

matéria-seca. A inoculação foi feita simultaneamente ao preenchimento dos sacos. A quantidade de semente inoculada foi de 6,0% do peso úmido do substrato (aproximadamente 54g). Cada substrato PB, PT, PBBC e PBSM, foi inoculado com as espécies de *Pleurotus* L₁, L₂ e L₃, obtendo-se um total de 60 sacos, 5 para cada tipo de combinação substrato-espécie. Os sacos inoculados foram fechados com arame plastificado e arranjados em blocos casualizados de modo que cada um dos 5 blocos contivessem as 12 combinações substrato-espécie que foram arranjados sobre uma mesa em sala de cultivo, com condições ambientais controladas.

3.5. Condições de cultivo

A sala de cultivo, localizada no Departamento de Economia Doméstica - ESALQ/USP - Piracicaba, SP, possui 5,27m de comprimento x 2,90m de largura (15,28 m²) e 2,12 de altura. A janela de 2,00m de largura x 0,25m de altura, é telada. Os sacos foram distribuídos em uma mesa de 1,40m de largura x 2,80m de comprimento (3,92m²) e 0,90 de altura coberta com plástico branco e localizada na área próxima à janela.

A sala foi higienizada com "lysoform", produto a base de solução em água de formaldeído-formol (37%) e N - Dodecilbenzeno sulfonato de sódio grau técnico (12%). O produto foi utilizado sem diluição, 5 horas antes

do início da elaboração dos sacos. Durante o cultivo, a higienização da sala foi feita com hipoclorito comercial (0,5% de cloro ativo).

No decorrer do período de incubação, a sala foi mantida no escuro (a entrada da iluminação natural foi impedida através da colocação de um plástico preto na janela). Na época de indução dos primórdios e frutificação, a sala passou a receber iluminação por um período de 12 horas/dia de acordo com STAMETS & CHILTON (1983) através de 3 lâmpadas fluorescentes - Extra luz do dia - de 20Watts cada, de 7,5 RS - CLT-8 (5000⁹K).

Considerando que a luminária foi instalada ao centro da mesa de cultivo numa distância de 1,22m e que cada lâmpada, com as especificações citadas, fornece 1100 lúmens de acordo com PHILIPS¹⁰, e sendo o lux a relação lúmen e m², a mesa de cultivo recebeu 825,0 lux sem considerarmos os fatores de perda de iluminamento para as condições do local e a entrada de iluminação natural.

Neste período de frutificação os sacos que não se apresentaram totalmente colonizados foram cobertos com plástico de cor preta para melhor desenvolvimento do micélio).

A temperatura foi mantida através de ar condicionado de 10.000 BTU e a umidade relativa através de um umidificador de ambiente. A água utilizada no

10 Setor técnico de iluminação da PHILIPS - SP. Comunicação pessoal. Setembro, 1992.

umidificador foi destilada e deionizada. De acordo com o registro de um termohigrômetro, a temperatura média durante o período de incubação e frutificação foi de $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e a de indução dos primórdios foi de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$; a umidade relativa variou de 77,5 a 95% sendo a média durante todo o período de cultivo igual a 90%. A quantidade de CO_2 durante a frutificação foi controlada através de um exaustor de 25 cm de diâmetro e motor 1/25CV. que foi ligado 2 vezes ao dia durante 1 hora. O ar condicionado também proporcionou neste período a troca de ar durante 12 horas/dia. Durante o período de frutificação, os sacos foram pulverizados com água destilada e deionizada, 4 vezes ao dia, e o chão mantido úmido, durante a exaustão.

No período de incubação os sacos foram mantidos fechados. Após 20 dias, fez-se 2 orifícios de 0,5cm de cada lado nos sacos que ainda não estavam totalmente colonizados, para aeração dos mesmos. Os sacos totalmente colonizados foram abertos.

3.6. Colheita

Estabeleceu-se o limite de 100 dias de cultivo visando-se a observação da máxima produção e procedendo-se a colheita de todos os fluxos neste período.

Os corpos de frutificação colhidos foram pesados em balança eletrônica, secos em estufa de

circulação de ar forçado a temperatura de $55 \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, pesados novamente, moídos em moinho de facas para obtenção da granulometria necessária para cada tipo de análise, embalados em sacos de polietileno e armazenados, em vidros hermeticamente fechados, sob refrigeração a $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Procedeu-se da mesma forma com amostras do substrato inicial e do substrato final sendo que o tempo de permanência na estufa de circulação de ar forçada variou de 48 a 72 horas, conforme a carga do equipamento e umidade do material.

3.7. Parâmetros analisados durante o experimento

3.7.1. Composição química

3.7.1.1. Dos substratos: As análises realizadas para caracterização química da matéria prima e dos substratos, antes e após a umidificação, pasteurização e após frutificação foram: nitrogênio, carbono (exceto matéria prima), extrato etéreo, fibra bruta, celulose, hemicelulose, lignina, macro e micro minerais, umidade e pH (exceto após frutificação).

3.7.1.2. Dos cogumelos colhidos: as análises realizadas foram: nitrogênio, extrato etéreo, fibra bruta,

celulose, hemicelulose, lignina, macro e micro minerais e umidade. As 12 amostras, uma de cada combinação substrato/linhagem, eram compostas dos corpos de frutificação homogeneizados das unidades produtivas.

3.7.2. Comportamento das espécies x substratos estudados:

3.7.2.1. Peso seco e úmido do substrato inicial (si) e substrato residual (sr = substrato no final do cultivo);

3.7.2.2. Avaliação visual da colonização e contaminação;

3.7.2.3. Tempo (dias) para o aparecimento dos primórdios e período de frutificação;

3.7.2.4. Número de fluxos colhidos por linhagens x substratos;

3.7.2.5. Peso seco e úmido dos corpos de frutificação de cada fluxo.

3.7.3. Cálculo da produtividade

A produção de biomassa, ou seja, a conversão dos resíduos lignocelulósicos em corpos de frutificação comestíveis, expresso usualmente como eficiência biológica (EB) foi determinada de acordo com RAJARATHNAM & BAND

(1989) e MAZIERO (1990) através da seguinte fórmula:

$$EB = \frac{\text{peso fresco de cogumelos}}{\text{peso seco do substrato inicial}} \times 100$$

3.7.4. Avaliação da extensão da degradação do substrato

Esta avaliação foi realizada segundo RAJARATHNAM & BANO (1989) e se baseia na perda de matéria orgânica (PMO) que é determinada através da diferença entre o peso seco do substrato inicial (Pi) do peso seco do substrato residual (Pr). A % de PMO foi determinada através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ PMO} = \frac{\text{PMO}^*}{\text{peso seco do substrato inicial}} \times 100$$

* PMO = Pi-Pr

3.8. Métodos analíticos

3.8.1. Umidade

Foi calculada pela perda da matéria depois de seca, segundo o método da A.O.A.C. (1970), (SILVA, 1981).

3.8.2. Potencial hidrogeniônico (pH)

A determinação eletrométrica do pH foi realizada através de potenciômetro, de acordo com LARA et al. (1976).

3.8.3. Cinza

Foi calculada pelo peso da amostra após incineração até peso constante a 550-600°C segundo o método da A.O.A.C. 942.05, (HELRICH, 1990).

3.8.4. Extrato etéreo

Foi estimado por gravimetria depois de contínua extração em éter no equipamento tipo "Goldfish" e evaporação até secagem, segundo o método da A.O.A.C. 920.39, descrito em HELRICH (1990).

3.8.5. Fibra bruta

Foi estimada como o peso do resíduo seco que permanece após digestão ácida e alcalina, segundo o método da A.O.A.C. (1980) descrito por LAU (1982).

3.8.6. Fibra detergente neutro (FDN)

Segundo o método para determinação dos constituintes da parede celular (celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada) de VAN SOEST & WINER (1967).

3.8.7. Fibra detergente ácido (FDA)

Segundo o método para determinação da fração lignocelulósica da A.O.A.C. 973.18 apresentado por HELRICH (1990). Conhecendo-se o percentual dos constituintes da parede celular FDN e FDA (que é constituída na sua totalidade de lignocelulose) do material calculou-se a fração de hemicelulose, apenas pela diferença entre as frações.

3.8.8. Celulose e lignina

Nos substratos a lignina foi determinada pelo emprego de permanganato na fração FDA e, a celulose, através de incineração em mufla a 500°C, segundo o método descrito por SILVA (1981).

Nos cogumelos a celulose foi determinada pelo emprego de ácido sulfúrico na fração FDA e, a lignina, através da incineração em mufla a 500°C de acordo com HARRIS (1970) e KURASAWA et al. (1982).

3.8.9. Nitrogênio

Foi determinado pelo método semi-micro-Kjeldahl descrito por SILVA (1981). A proteína bruta da matéria prima e substrato foi calculada através do teor de nitrogênio usando-se o fator de conversão $N \times 6,25$. A proteína bruta do cogumelo foi determinada através do teor de nitrogênio usando-se o fator de conversão $N \times 4,38$ segundo CRISAN & SANDS (1978).

3.8.10. Minerais

As amostras foram analisadas segundo o método de SARRUGE & HAAG (1974). A quantificação do cálcio, manganês, fósforo, ferro, cobre, magnésio e zinco foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica e a do potássio por fotometria de chama.

3.8.11. Carbono

Foi determinado pelo método da combustão - via seca, com a utilização do analisador CARMOGRAPH - 12A - "WOSTHOFF". Na combustão da amostra sob o fluxo de oxigênio, o CO_2 e CO são liberados e enviados para um segundo forno onde a reação com CuO completa a oxidação do CO. Os gases, então, são enviados a uma célula com

hidróxido de sódio e a diferença entre a condutividade elétrica da solução de hidróxido de sódio de referência e a carbonatada com CO_2 é registrada em mg de carbono.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição química do substrato inicial

Comparando-se os dados das Tabelas 2 e 3 que mostram a composição centesimal das matérias primas utilizadas e dos substratos iniciais, pôde-se observar as alterações ocorridas antes e após o tratamento de maceração e pasteurização. Como o esperado houve uma diminuição dos teores de proteína bruta e cinza e um aumento de extrato etéreo com excessão do PBBC e fibra bruta, de acordo com ZADRAZIL & KURTZMAN (1982).

A alteração na composição química após tratamento provocou um aumento na relação C:N de 4,82% para o PB, e de 17,46% para o PT e uma diminuição de 2,10% para o PBBC e 2,7% para o PBSM, devido a perda de sólidos solúveis e compostos voláteis. A elevação da relação C:N foi positiva considerando-se que o *Pleurotus* não coloniza e frutifica bem substratos com baixa relação C:N (ZADRAZIL, 1978). Os substratos PBBC e PBSM não foram prejudicados por contarem com esta relação mais adequada quando comparados com os outros 2 substratos.

Tabela 2 - Composição centesimal¹ e C:N das matérias primas utilizadas.

Matéria Prima ²	C (%)	N (%)	C:N	Proteína (Nx6,25) (%)	Extrato Etéreo (%)	Fibra Bruta (%)	Cinza (%)	Umidade (%)
PB	37,89	1,50	25,26	9,38	2,25	32,32	9,07	14,70
PT	33,44	1,77	18,89	11,07	1,97	32,76	8,57	12,61
SM	37,52	0,73	51,39	4,55	0,71	33,48	2,09	11,87
BC	40,85	0,70	58,35	4,38	0,50	41,73	2,11	47,84
PBBC	37,62	0,89	42,26	5,55	2,47	40,44	3,61	30,03
PBSM	39,11	1,15	34,00	7,22	2,44	34,87	6,21	12,67

¹ média de duas repetições

² PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; BC = bagaço de cana; SM = sabugo de milho; PBSM = PB+SM (70:30, em peso seco); PBBC = PB+BC (50:50, em peso seco).

Tabela 3. Composição centesimal¹, pH¹ e C:N dos substratos iniciais (matérias primas umedecidas e pasteurizadas).

Substrato Inicial ²	C (%)	N (%)	C:N	Proteína (Nx6,25) (%)	Extrato Etéreo (%)	Fibra Bruta (%)	Cinza (%)	pH	Umidade (%)
PB	37,61	1,42	26,48	8,88	3,53	36,32	7,39	7,0	82,62
PT	35,58	1,60	22,19	10,02	2,32	35,78	7,25	7,0	80,95
PBBC	36,49	0,88	41,37	5,51	2,30	40,93	3,90	6,3	82,20
PBSM	36,71	1,11	32,99	6,95	3,20	35,60	5,16	7,4	78,53

¹ média de 2 repetições

² PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC = palha de bananeira+bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM = palha de bananeira+sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Tabela 4. Composição centesimal¹ da fração fibrosa dos substratos iniciais (matérias primas umedecidas e pasteurizadas).

Substrato Inicial ³	FDN (%)	FDA (%)	Lignina ² (%)	Celulose (%)	Hemicelulose (%)
PB	71,95	51,85	15,37	34,13	20,10
PT	76,67	49,20	10,40	35,21	27,07
PBBC	80,73	55,30	14,35	39,13	25,43
PBSM	77,44	49,32	10,70	36,97	28,12

¹ média de 2 repetições

² lignina em KMnO_4

³ PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC = palha de bananeira+bagaco de cana (50:50, em peso seco); PBSM = palha de bananeira+sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Tabela 5. Composição de macro e microminerais¹ dos substratos iniciais (matéria primas umedecidas e pasteurizadas).

Substrato Inicial ²	Macrominerais (%)				Microminerais (ug/g)			
	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
PB	0,07	1,07	1,12	0,28	18	224	794	26
PT	0,15	0,61	0,24	0,11	169	146	38	144
PBBC	0,04	0,54	0,49	0,12	20	304	342	29
PBSM	0,05	0,69	0,82	0,17	21	176	512	24

¹ média de 2 repetições

² PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC = palha de bananeira+bagaco de cana (50:50, em peso seco); PBSM = palha de bananeira+sabugo de milho (70:30 em peso seco).

As Tabelas 3, 4 e 5 demonstram que os substratos utilizados atendem às exigências nutricionais das espécies testadas no que se refere aos teores de nitrogênio, fibra e minerais.

Os teores de nitrogênio estão dentro da faixa recomendada por DANAI et al. (1989) ou seja, de 1,0 a 1,5% com exceção do PBBC que está um pouco abaixo de 1%. Nos substratos PB e PT, o teor de nitrogênio foi responsável pela menor relação C:N. Pode-se observar que nos substratos misturados, onde as matérias primas sabugo de milho e bagaço de cana foram acrescentadas à palha de bananeira, a relação C:N aumentou sensivelmente devido ao fato desses resíduos apresentarem teor de nitrogênio baixo (Tabela 3).

No caso da utilização dos resíduos PB e PT colhidos diretamente no campo, esta relação pode aumentar uma vez que no estágio de senescência, muitos nutrientes são perdidos.

Pelas recomendações feitas por ZADRAZIL (1978) e MAZIERO (1990) constatou-se que não há um consenso entre os pesquisadores no que se refere a relação C:N ótima para o *Pleurotus*. Os dados obtidos sobre a produtividade neste experimento, no entanto, confirmam que esta relação não foi um fator determinante.

Na Tabela 3 observa-se também que os valores de pH do substrato inicial estão próximos de 7,0 de acordo com RAJARATHNAM & BANU (1988) com exceção do PBBC (6,3) e

a umidade em torno de 80%. O teor de água presente no substrato após o tratamento foi superior ao recomendado pela maioria dos pesquisadores (de 70 a 75%) mas está de acordo com ZADRAZIL & GRABBE (1983).

Na Tabela 4 observa-se que a palha de bananeira é constituída predominantemente por celulose (34,13%) seguida da hemicelulose (20,10%) e lignina (15,37%) sendo o valor desse último elemento significativamente superior ao encontrado na palha de trigo (10,40%). O acréscimo de bagaço de cana à palha de bananeira aumentou os teores de celulose e hemicelulose do substrato. O PBSM apresenta a composição centesimal da fração fibrosa semelhante a do PT.

No que se refere aos minerais, observa-se na Tabela 5, que os mais importantes, para o cultivo do *Pleurotus* citados por KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), fósforo, potássio, magnésio, ferro e zinco, estão presentes em maiores quantidades no PB quando comparadas com o PT, com excessão dos minerais fósforo e zinco.

A mistura das matérias primas ocasionaram a diluição de minerais tornando as misturas mais pobres nesses elementos.

4.2. Comportamento das espécies - produtividade e período de cultivo.

O número de unidades experimentais produtivas, o período de cultivo, o número de fluxos e a eficiência biológica média das diferentes espécies podem ser observados nas Tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6. Comportamento do *Pleurotus* sp. "Florida" (L1) nos substratos testados durante o período de cultivo.

Comportamento	Substrato ¹			
	PB	PT	PBBC	PBSM
Unidades Produtivas	5/5	5/5	5/5	2/5
Período de Incubação (dias)				
Saco Fechado	15 a 20	15 a 20	20 a 62	20
Saco Aberto	34 a 41	29 a 68	18 a 29	30 a 33
Primórdios (dias para aparecimento)	51 a 59	44 a 87	45 a 89	50 a 53
Período de frutificação (dias)	3 a 28	11 a 42	4 a 35	2 a 18
Período total de cultivo (dias)	57 a 85	84 a 98	81 a 93	55 a 68
Nº de fluxos	1 a 3	1 a 4	1 a 3	1 a 2
Eficiência Biológica ² (%)	87,39 (±7,00) ³	69,71 (±22,69) ³	78,51 (±18,25) ³	24,98 (±17,52) ³

¹ PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC= palha de bananeira + bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM= palha de bananeira + sabugo de milho (70:30 em peso seco).

² Média de 5 sacos

³ Desvio padrão da média

Tabela 7. Comportamento do *Pleurotus ostreatoroseus* (L₂) nos substratos testados durante o período de cultivo.

Comportamento	Substrato ¹			
	PB	PT	PBBC	PBSM
Unidades Produtivas	4/5	3/5	3/5	2/5
Período de Incubação (dias)				
Saco Fechado	20	15 a 60	15 a 60	19 a 20
Saco Aberto	9 a 15	0 a 14	0 a 22	0 a 10
Primórdios (dias para aparecimento)	29 a 35	14 a 64	23 a 60	17 a 30
Período de frutificação (dias)	21 a 43	20 a 54	38 a 50	36 a 44
Período total de cultivo (dias)	56 a 76	54 a 95	61 a 99	53 a 79
Nº de fluxos	4 a 5	3 a 5	4 a 5	4 a 5
Eficiência Biológica ² (%)	93,00 (+26,21) ³	38,32 (+28,01) ³	58,54 (+23,99) ³	21,80 (+18,26) ³

¹ PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC= palha de bananeira + bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM= palha de bananeira + sabugo de milho (70:30 em peso seco).

² Média de 5 sacos

³ Desvio padrão da média

Tabela 8. Comportamento do *Pleurotus sajor-caju* (L3) nos substratos testados durante o período de cultivo.

Comportamento	Substrato ¹			
	PB	PT	PBBC	PBSM
Unidades Produtivas	3/5	4/5	4/5	3/5
Período de Incubação (dias)				
Saco Fechado	20	15 a 20	20 a 60	20 a 62
Saco Aberto	14 a 34	03 a 14	0 a 16	10 a 20
Primórdios (dias para aparecimento)	34 a 54	18 a 65	34 a 63	40 a 72
Período de frutificação (dias)	46 a 51	14 a 60	32 a 60	20 a 50
Período total de cultivo (dias)	82 a 100	42 a 94	67 a 95	90 a 93
Nº de fluxos	4 a 5	2 a 6	1 a 3	3 a 5
Eficiência Biológica ²	50,33 (+20,94) ³	43,27 (+15,18) ³	48,29 (+16,18) ³	19,15 (+10,82) ³

¹ PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC= palha de bananeira + bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM= palha de bananeira + sabugo de milho (70:30 em peso seco).

² Média de 5 sacos

³ Desvio padrão da média

Na Tabela 6 observa-se que o PB, o PT e o PBBC apresentaram frutificação em 100% das unidades produtivas colonizadas com o *Pleurotus* sp. "Florida" contra 40% quando o substrato foi o PBSM. Quando o *Pleurotus ostreatoroseus* foi empregado para o cultivo observa-se na Tabela 7 que o PB teve 80% de sacos que

frutificaram contra 60% no PT e PBBC e apenas 40% para o PBSM. No cultivo do *Pleurotus sajor-caju*, o PT e o PBBC apresentaram 80% dos sacos com frutificação, contra 60% no PB e PBSM (Tabela 8).

O percentual de unidades experimentais que frutificaram do total de 60 sacos foi de 61% sendo que dos 39% que não apresentaram frutificação, 47% encontram-se no substrato PBSM.

Os corpos de frutificação apresentaram cor característica de cada espécie, ou seja, creme para o *Pleurotus* sp. "Florida", rosa para o *Pleurotus ostreatoroseus* e cinza escuro para o *Pleurotus sajor-caju*. O tamanho do píleo variou de 4 a 10 cm; a consistência era resistente, podendo ser manipulados com relativa facilidade, sem ocorrer quebras do produto.

Para o cálculo da eficiência biológica média de cada substrato/espécie considerou-se a soma da eficiência biológica obtida por todas unidades experimentais produtivas e dividiu-se por 5, pois o fator de perdas é passível de ocorrer em cultivos comerciais e deve ser computado.

No cultivo do *Pleurotus* sp. "Florida", na Tabela 6, o PB apresentou 87,39% de eficiência biológica média e o PT, 69,71%, ambas com todas as unidades experimentais produtivas. O período de incubação, e o de frutificação foi menor para o PB, de 51 a 59 e de 3 a 28

dias, respectivamente, quando comparada com o do PT, de 44 a 87 e de 11 a 42 dias, respectivamente. Consequentemente o período de cultivo do PB foi menor (de 57 a 85 dias) que o do PT (de 84 a 98 dias).

Quanto às misturas, o PBBC teve uma produtividade média significativamente superior ao PBSM, 78,51 e 24,98% respectivamente, mas foi inferior ao PB quando se compara a produtividade média e superior no período de cultivo, sendo este semelhante ao do PT.

Não se pôde comparar o período de cultivo do PBBC e do PBSM devido a diferença de produtividade e o número de unidades produtivas desses 2 substratos para essa espécie.

Na Tabela 7 tem-se os resultados obtidos para *Pleurotus ostreatoroseus*. Observa-se que o PB apresentou uma produtividade significativamente superior (93,0%) ao PT (38,32%), maior número de unidades produtivas e com período de cultivo inferior (56 a 76 dias para o PB e 54 a 95 para o PT).

No que se refere às misturas, mais uma vez o PBBC apresentou a produtividade superior ao PBSM ou seja 58,54% e 21,80%, respectivamente. A diferença no período de cultivo entre esses substratos não foi considerada em função da baixa produtividade e número de unidades produtivas do PBSM para essa espécie. Quando comparado ao PB, o PBBC teve a produtividade mais baixa e o período de

cultivo mais longo (de 61 a 99 dias).

Embora com técnicas diferentes de cultivo, um único trabalho encontrado sobre a produtividade do *Pleurotus ostreatoroseus* deve ser registrado. BONONI et al. (1991) no cultivo dessa espécie em bagaço de cana compostada e pasteurizada obtiveram baixa eficiência biológica (4,9%), em 98 dias de cultivo quando comparada com outras espécies de *Pleurotus* e também aos resultados deste experimento.

A Tabela 8 mostra a produtividade média e o período de cultivo do *Pleurotus sajor-caju* nos diferentes substratos. Observa-se que também para esta espécie, a produtividade do PB (50,33%) foi superior a do PT (43,27%), mesmo com um menor número de unidades produtivas. Das 5 unidades experimentais para PB nesta espécie, somente 3 frutificaram enquanto que para PT, 4 frutificaram. Embora o período de incubação do PB tenha sido inferior ao do PT, o período de frutificação foi mais lento levando a um período total de cultivo de 82 a 100 dias, superior ao do PT que foi de 42 a 94 dias.

Quanto às misturas, a produtividade do PBBC (48,29%) foi superior ao do PBSM (19,15%) mas o período de cultivo foi similar. Nesta espécie pode-se dizer que o PB e PBBC tiveram produtividade aproximada mas o PBBC foi melhor no que se refere a um menor período de cultivo.

Ao contrário dos resultados obtidos neste

estudo, BIZARIA et al. (1987) encontraram alto índice de produtividade quando cultivaram *Pleurotus sajor-caju* em palha de bananeira como único substrato ou quando misturada com palha de trigo ou com palha de arroz, ou seja, 10,25%, 11,66% e 10,98%, respectivamente; considerando a percentagem de conversão biológica a relação do peso seco dos corpos de frutificação e o peso seco do substrato inicial, e o valor ótimo de produtividade igual ou maior a 10%, que corresponde a 100% de eficiência biológica.

Na Figura 1 encontra-se a produtividade média (expressa em eficiência biológica) das espécies e substratos testados. O gráfico mostra que o substrato PB apresentou a maior eficiência biológica média para todas as espécies e que o PBBC foi superior ao PT e PBSC para todas as espécies. O substrato PBSC apresentou a menor produtividade em todas as espécies estudadas.

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBBC=PB+bagaço de cana; PBSM=PB+sabugo de milho

L1=*P. sp. "Florida"*
 L2=*P. ostreatoroseus*
 L3=*P. sajor-caju*

Figura 1. Produtividade média de *Pleurotus* spp. nos substratos testados

A produtividade ideal é a que apresenta uma eficiência biológica em torno de 100%. Os resultados obtidos neste experimento sugerem que este valor pode ser alcançado em um cultivo comercial através do emprego da palha de bananeira como substrato para as espécies *Pleurotus* sp. "Florida" e *Pleurotus ostreatoroseus*. Mas considerando-se que dentre as duas espécies apontadas, o cultivo do *Pleurotus* sp. "Florida" em palha de bananeira apresentou o menor valor de desvio-padrão da média (Tabelas 6, 7 e 8), sugerindo que as condições de cultivo empregadas foram mais adequadas, assim, o estudo desta espécie em escala piloto seria o mais indicado. FLEGG (1985) trabalha com desvios-padrão da média de até 15% quando considera o rendimento dos substratos. O estudo do cultivo do *Pleurotus ostreatoroseus* em palha de bananeira merece a continuidade a nível de laboratório com parâmetros físicos mais adequados a esta espécie.

Considerando-se que o objetivo das misturas PBBC e PBSM foi aumentar a relação C:N, pôde-se observar que mesmo tendo-se alcançado uma relação mais elevada, o que se pensa favorecer o crescimento do *Pleurotus*, neste experimento não pôde ser constatado, principalmente na mistura com sabugo de milho para todas as espécies estudadas.

Uma das razões para isso é a diluição dos nutrientes uma vez que tanto o bagaço de cana como o sabugo

de milho são mais pobres no que se refere ao teor de nitrogênio e cinza.

O sabugo de milho embora tenha sido acrescentado em menor proporção à palha de bananeira, apresentou baixa produtividade que não se justifica somente pelo empobrecimento do substrato com sua adição, mas também pelo fato de que este alterou de forma significativa a estrutura do substrato que ficou muito mais compactada, o que pode ter influenciado na troca gasosa durante o cultivo. Além do mais, alguns trabalhos já constataram a não adequabilidade deste resíduo para cultivo de cogumelos comestíveis.

ROYSE & SCHISLER (1987) cultivaram *Pleurotus sajor-caju* em palha de trigo misturada com sabugo de milho (70:30) e obtiveram 37% de eficiência biológica quando esse substrato não foi suplementado. SUN & YU (1989) cultivaram *Pleurotus Florida* e *Pleurotus sajor-caju* em sabugo de milho esterilizado e fermentado e constataram um crescimento micelial vagaroso e fraco tendo uma produtividade 70% mais baixa do que a obtida com o substrato, constituído de casca de semente de algodão, utilizado no mesmo experimento. Os referidos autores justificaram estes resultados pela inferioridade do sabugo de milho quanto a presença de nutrientes requeridos pela espécie em sua composição e também pela sua estrutura física que pode ter dificultado a aeração tão importante

para o crescimento e desenvolvimento do fungo.

Além da alta produtividade, o período de cultivo também é importante para a viabilização econômica de instalações comerciais.

O período de cultivo, segundo WOOD & SMITH (1987), sob condições ideais de crescimento é de 70 dias aproximadamente, sendo 30 a 40 dias correspondentes ao tempo de colonização do substrato e o restante referente à frutificação.

Analisando-se o intervalo de dias relativos a esses períodos nas Tabelas 6, 7 e 8, dos substratos/espécies que apresentaram produtividade próxima de 100%, somente o cultivo do *Pleurotus ostreatoroseus* na palha de bananeira alcança esses quesitos. Cumpre ressaltar que o intervalo de dias foi adotado porque a média não seria um valor real uma vez que computar-se-ia também os valores referentes às unidades experimentais que tiveram baixa produtividade e portanto baixo período de cultivo.

Se considerarmos o comportamento e os problemas relacionados à baixa colonização e contaminação saco a saco de todas as espécies nos diferentes substratos nas Tabelas 9, 10 e 11, nota-se que no substrato PB houve maior uniformidade para o *Pleurotus* sp. "Florida" e *Pleurotus ostreatoroseus*, principalmente no tempo para formação dos primórdios.

Tabela 9. Período de cultivo e eficiência biológica (EB) do *Pleurotus* sp. "Florida" (L₁) nos substratos testados.

Substrato ¹	Incubação (dias)		Primórdios (dias)	Frutificação (dias)	Cultivo total (dias)	Nº de Fluxos colhidos	EB	
	Bloco	sacos fechados						após abertura
PB	1º	15	36	51	28	79	3	90,57
	2º	15	38	53	7	60	1	88,02
	3º*	20	34	54	23	77	2	104,33
	4º ^a	20	34	54	3	57	1	61,69
	5º	18	41	59	26	85	3	92,35
PT	1º	20	36	56	28	84	2	75,04
	2º* ^a	20	52	72	20	92	2	23,33
	3º	18	41	59	36	95	4	114,65
	4º	15	29	44	42	86	3	122,97
	5º* ^a	19	68	87	11	98	1	12,56
PBBC	1º	30	25	55	26	81	3	89,01
	2º	20	25	45	33	78	3	118,98
	3º	20	29	49	35	84	3	108,34
	4º	62	27	89	4	93	1	57,60
	5º	59	18	77	4	81	1	18,65
PBSM	1º ^a	20				--	--	--
	2º* ^a	88				--	--	--
	3º	20	30	50	18	68	2	89,48
	4º*	20	33	53	2	55	1	35,46
	5º ^a	88				--	--	--

* contaminação fúngica visível - ^a < 50% de colonização visível

¹ PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo; PBBC=palha de bananeira+bagaco de cana (50:50, em peso seco); PBSM=palha de bananeira+sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Tabela 10. Período de cultivo e eficiência biológica (EB) do *Pleurotus ostreatoroseus* (L2) nos substratos testados.

Substrato ¹	Incubação (dias)		Primórdios (dias)	Frutificação (dias)	Cultivo total (dias)	Nº de Fluxos colhidos	EB	
	Bloco	sacos fechados						após abertura
PB	1º	20	10	30	41	71	5	130,16
	2º ^{*a}	20	15	35	21	56	4	69,87
	3º [*]	20	13	33	43	76	5	127,05
	4º ^{*a}	80	--	--	--	--	--	--
	5º	20	09	29	43	72	5	137,91
PT	1º	15	-1	14	54	68	5	148,30
	2º [*]	20	14	34	20	54	3	28,91
	3º ^a	83	--	--	--	--	-	--
	4º ^a	60	04	64	31	95	4	14,41
	5º ^{*a}	20	--	--	--	--	-	--
PBBC	1º ^{*a}	83	--	--	--	--	--	--
	2º	15	08	23	38	61	4	105,24
	3º [*]	20	22	42	50	92	5	92,03
	4º ^a	90	--	--	--	--	--	--
	5º	60	00	60	39	99	4	95,43
PBSM	1º [*]	30	5	35	44	79	4	93,92
	2º ^a	80	--	--	--	--	--	--
	3º [*]	19	-2	17	36	53	5	15,11
	4º ^a	80	--	--	--	--	--	--
	5º ^{*a}	80	--	--	--	--	--	--

* contaminação fúngica visível - ^a < 50% de colonização visível

¹ PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC=palha de bananeira+bagaco de cana (50:50, em peso seco); PBSM=palha de bananeira+sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Tabela 11. Período de cultivo e eficiência biológica (EB) do *Pleurotus sajor-caju* (L3) nos substratos testados.

Substrato ¹	Incubação (dias)		Primórdios (dias)	Frutificação (dias)	Cultivo total (dias)	Nº de Fluxos colhidos	EB
	Bloco	sacos fechados					
PB	1Q*	49	5	54	46	100	69,51
	2Q ^a	60	--	--	--	-	--
	3Q ^a	20	--	--	--	-	--
	4Q	20	16	36	46	5	93,85
	5Q	20	14	34	51	5	88,31
PT	1Q	15	3	18	24	4	86,35
	2Q ^a	81	--	--	--	-	--
	3Q	18	5	23	37	6	58,91
	4Q*	20	12	32	14	2	19,46
	5Q ^a	20	14	34	60	-	51,63
PBBC	1Q ^a	20	--	--	--	-	--
	2Q	60	3	63	32	2	80,23
	3Q*	20	14	34	60	3	48,85
	4Q ^a	60	0	60	17	1	26,54
	5Q	20	16	36	56	3	85,84
PBSM	1Q ^a	62	10	72	21	3	20,23
	2Q ^a	20	--	--	--	-	--
	3Q	20	20	40	50	5	16,39
	4Q ^a	20	--	--	--	-	--
	5Q	62	10	72	20	3	59,16

* contaminação fúngica visível - ^a < 50% de colonização visível

¹ PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo; PBBC=palha de bananeira+bagço de cana (50:50, em peso seco); PBSM=palha de bananeira+sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Observa-se na Tabela 9 que para todos os substratos, o atraso relativo para o aparecimento dos primórdios foi o responsável pelo longo período de cultivo do *Pleurotus* sp. "Florida". A razão para esse atraso, uma vez que o crescimento do micélio foi próximo do que prevê a literatura, ou seja, de 15 a 20 dias, pode ser o "choque frio" necessário para a indução dos primórdios. O abaixamento da temperatura foi de apenas $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ o que pode não caracterizar um choque térmico para essa espécie. ZADRAZIL (1978) afirma que esse "choque frio" necessário para o *Pleurotus ostreatus* não é para o *Pleurotus* sp. "Florida" e outras espécies. No que se refere as outras mudanças nas condições ambientais exigidas nesta etapa, todas foram providenciadas (luz, abertura dos sacos para entrada de O_2 , circulação de ar para retirada de CO_2 e aumento de umidade através de pulverização). A retaliação do micélio exposto, que é uma medida de indução dos primórdios, recomendada por RAJARATHNAM & BANO (1987) também foi adotada.

Uma outra razão diz respeito, segundo STAMETS & CHILTON (1973), a possível degeneração dessa espécie.

Deve-se lembrar que mesmo a palha de trigo tendo menores teores de lignina em sua composição, o que poderia facilitar o crescimento do micélio e a formação dos corpos de frutificação, uma vez que este elemento funciona como barreira para a quebra da celulose e hemicelulose

segundo BANO et al. (1978), não apresentou os melhores resultados neste experimento.

Na Tabela 10 observa-se que o *Pleurotus ostreatoroseus* apresentou um período de cultivo dentro do estabelecido pela literatura, no substrato PB e para a maioria das unidades experimentais produtivas dos outros substratos, sendo a frutificação, a etapa mais longa. Esse fato pode ser justificado pelo maior número de fluxos obtidos com essa espécie, para a maioria das unidades experimentais produtivas.

De acordo com a Tabela 11, o período de cultivo do *Pleurotus sajor-caju* foi longo, sendo o atraso no aparecimento dos primórdios o responsável, com excessão do substrato PT que comportou-se como o esperado. A temperatura pode ter sido um fator limitante para um melhor desempenho dessa espécie para todos os substratos estudados, pois a empregada nesse experimento foi a mínima do intervalo recomendado por WOOD & SMITH (1987) e MAZIERO (1990).

Segundo Sharma & Jandaik¹¹ citados por KHAN & SIDDIQUI (1989), o maior crescimento micelial do *Pleurotus sajor-caju* em palha de trigo foi obtido em 20 dias e Sharma & Jadaik¹² citados pelo mesmos autores

¹¹ SHARMA, A.D. & JANDAIK, C.L. Effect of spawn running duration, on yield and some quality parameters of oyster mushroom (*P. sajor-caju*). Indian Mushroom Journal, New Delhi, 9 (1-2): 7, 1983.

¹² SHARMA, A.D. & JANDAIK, C.L. Yield potential and economics of *Pleurotus* spp. cultivation on wheat straw under solan conditions. Indian Mushroom Journal, New Delhi, 7 (1-2): 11, 1981.

demonstraram que o aparecimento dos primórdios ocorreu a 29 dias e a 1ª colheita depois de 32 dias de incubação.

As Tabelas 9, 10 e 11 mostram também que a baixa produtividade ou a não frutificação podem estar relacionadas com a não ou parcial colonização ou colonização lenta do substrato pelas espécies e também por contaminação.

Quando o substrato apresentou baixa colonização ou seja, colonização visível menor ou igual a 50%, (no total, 11 unidades experimentais) a produção foi muito baixa ou nenhuma, o mesmo ocorrendo quando a baixa colonização foi seguida de contaminação fúngica visível (ao todo 14 unidades experimentais). No caso dos substratos somente contaminados, das 10 unidades experimentais com contaminação fúngica visível, 5 unidades apresentaram baixa eficiência biológica (de 15,11 a 48,85%) e outras, eficiência biológica de 69,51 a 127,05%. Deve-se destacar que estes substratos foram tratados com benomyl, a 25 ppm do princípio ativo de acordo com RAJARATHNAM & BAND (1988) e com bicarbonato de sódio conforme STAMETS & CHILTON (1983). A contaminação predominante foi consequência do crescimento de colônias que foram isoladas e identificadas como *Trichoderma* spp. O tratamento acima mencionado ajudou na reversão do quadro de contaminação da maioria das unidades experimentais atingidas.

O número de unidades não ou parcialmente

colonizadas, não ou parcialmente colonizadas e contaminadas ou somente contaminadas, foi similar para o PB (8 unidades) e PT (9 unidades) sendo a maior incidência para os 2 substratos nas espécies *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus sajor-caju*.

Dentre as misturas, o PBBC teve o menor número de unidades experimentais com problemas de baixa colonização e/ou contaminação (6 unidades) quando comparado a todos os outros substratos sendo a maior incidência também nas espécies *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus sajor-caju*.

O PBSM apresentou alto índice de unidades com baixa colonização e/ou contaminação (12 unidades) sendo a maior incidência no *Pleurotus ostreatoroseus* seguido do *Pleurotus* sp. "Florida" e *Pleurotus sajor-caju*.

A causa da contaminação e consequente baixa produtividade podem ser atribuídas ao crescimento lento do micélio ou a não ou parcial colonização do substrato, que por sua vez podem ser provocadas, segundo STAMETS & CHILTON (1983) pela linhagem degenerada ou inviável, qualidade inferior do "spawn", pelo substrato contaminado, amônia residual da compostagem, umidade do substrato acima de 75%, falta de oxigênio para o micélio, temperatura ou pH inadequados e ataque de moscas ou mosquitos.

As culturas utilizadas eram viáveis, não senescentes uma vez que apresentaram um micélio rizomórfico

segundo classificação de STAMETS & CHILTON (1983), tanto na reprodução da cultura como no preparo do "spawn", embora essas características não garantam que a cultura não esteja em vias de degeneração. Não havia excesso de amônia no substrato, uma vez que não houve compostagem e as condições ambientais estavam de acordo com o recomendado na literatura.

O pH pode ter sido um fator determinante da contaminação e baixa produtividade, pois o PBBC substrato cujo pH era igual a 6,3 apresentou o menor número de unidades com problemas relacionados a baixa ou lenta colonização e/ou contaminação sendo que o PBSM cujo pH foi 7,4, foi o que apresentou o maior número de unidades experimentais com esses problemas.

Essas observações estão de acordo com ZADRAZIL (1978) que realizou um estudo variando os valores do pH de 4 a 7 e obteve o maior crescimento micelial do *Pleurotus Florida* com o pH na faixa 5,5 a 6,5; acima desses valores o crescimento foi inibido. DANAI et al. (1989), também obtiveram uma eficiência biológica de 164 a 184% no cultivo desta mesma espécie em palha de algodão compostado e com pH 5,0-6,0. Entretanto o pH até 7,0, encontrado no substrato PB e PT é considerado um fator não limitante de acordo com RAJARATHNAM & BAND (1987).

A umidade do substrato, que neste experimento esteve ao redor de 80%, também parece não ter sido um fator

limitante uma vez que obteve-se altos e baixos índices de produtividade em substratos com o mesmo teor.

Este teor de umidade foi empregado em diversos estudos, com bons resultados de produtividade.

BAND et al. (1978) realizaram vários experimentos onde verificaram a melhor percentagem de inoculação e o melhor substrato para o cultivo de *Pleurotus flabellatus*, sendo que em todos os casos os autores utilizaram substratos com 80% de umidade.

LEONG et al. (1978) cultivaram *Pleurotus flabellatus* e *Pleurotus florida* em resíduo de algodão com 80-90% de umidade e obtiveram 96,1 a 129,7% de eficiência biológica, respectivamente.

ROYSE & SCHISLER (1987) cultivaram *Pleurotus sajor-caju* em palha de trigo e sabugo de milho com 80% de umidade e conseguiram 73 e 88% de eficiência biológica quando esses substratos foram suplementados.

Segundo STAMETS & CHILTON (1983), a umidade ideal (70-75%) do composto é aquela que "libera um pouco de água entre os dedos quando este é espremido firmemente". Este, embora não seja um parâmetro científico de avaliação, foi considerado neste experimento a nível de observação por ser empregado em alguns estudos e constatou-se que os substratos apresentavam-se aparentemente mais secos, mesmo com 80% de umidade.

STAMETS & CHILTON (1983) lembram também que o

substrato pode ser heterogêneo no que se refere ao teor de umidade, apresentando bolsões mais densos e úmidos dificultando o crescimento de micélio e favorecendo o crescimento de microrganismos competidores naquelas áreas.

No que se refere a heterogeneidade do substrato, é importante lembrar que principalmente na palha de bananeira, a presença do pecíolo da folha, em maior quantidade em algumas unidades experimentais pode ter contribuído para a colonização lenta do mesmo e também favorecido a contaminação.

Na elaboração das misturas assim como na distribuição das sementes, procurou-se homogeneizar os substratos, mas deve-se destacar que o processo foi realizado manualmente. A não homogeneidade na mistura e no espalhamento do "spawn" podem provocar o crescimento irregular do micélio.

Quanto a estrutura dos substratos, o sabugo de milho misturado a palha da bananeira provocou uma maior compactação do substrato, o que pode ter dificultado a troca gasosa no meio, dificultando o crescimento do micélio por falta de oxigênio, como já foi mencionado. Deve-se ressaltar aqui que em um estudo realizado por COLAUTO (1994) onde verificou-se a influência dos diferentes recipientes de contenção do substrato à base de bagaço de cana no cultivo de *Pleurotus sajor-caju*, constatou-se que a produtividade diminuiu com o aumento da densidade do

substrato.

Pelas características dos corpos de frutificação, pode-se dizer que a quantidade de luz assim como de CO_2 durante o período de frutificação estavam adequadas pois os mesmos não apresentaram nenhum tipo de deformidade característica das condições inadequadas de cultivo apresentadas por ZADRAZIL (1978) ou seja, estipe aumentada, tamanho do píleo reduzido ou mesmo o crescimento de cachos causado pela pouca exposição a luz e insuficiente ventilação.

No tratamento do substrato utilizou-se a temperatura de 90°C o que pode ter eliminado uma grande parte da macro e microbiota presente tornando-o mais vulnerável no início do cultivo a qualquer microrganismo que tenha conseguido sobreviver e/ou a qualquer presente no ar. Isto pode explicar porque neste experimento o *Trichoderma* spp. foi o contaminante predominante.

O *Trichoderma*, em contraste a muitos fungos competidores, não é completamente dependente de nutrientes solúveis porque é capaz de decompor o componente celulose dos substratos lignocelulósicos. Entretanto é incapaz de destruir a camada de lignina que cobre as fibras celulósicas da palha. Além disso, a ligação lignina-celulose é provavelmente, segundo STÖLZER & GRABBE (1991) parcialmente destruída por tratamento térmico a 85°C ou autoclavagem que pode ser a razão para o abundante

crescimento deste fungo em palha com este tipo de tratamento.

4.3. Perda de matéria orgânica (PMO)

A constituição final do substrato usado é alterado pela remoção seletiva dos nutrientes do *Pleurotus*.

A perda de matéria orgânica, durante o processo de decomposição é um parâmetro através do qual pode-se verificar a atividade decompositora dos microrganismos em estudo.

As Tabelas 12, 13, 14 e 15 mostram os dados relativos a perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) dos substratos no cultivo das espécies estudadas. Os dados relativos a composição centesimal da fração fibrosa dos substratos após o período de frutificação podem ser observados na Tabela 16. Para se verificar a possível relação entre a PMO e a EB, assim como entre a PMO e a redução da fração fibrosa utilizou-se os dados da Tabela 17, que mostra os mesmos dados, considerando os valores médios apenas dos sacos que frutificaram.

Tabela 12. Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha da bananeira (PB) no cultivo do *Pleurotus* sp "Florida" (L₁), *Pleurotus ostreatoroseus* (L₂) e *Pleurotus sajor-caju* (L₃).

Unidade experi- mental ¹	Peso seco do Substrato (g)		Peso do Cogumelo (g)		PMO (%)	EB
	Inicial ²	Final	Fresco	Seco		
PBL ₁ (1)	214,13	80,92	193,94	19,66	62,21	90,57
PBL ₁ (2)	214,80	77,71	189,07	12,37	63,82	88,02
PBL ₁ (3)	200,33	73,77	209,00	17,56	63,18	104,33
PBL ₁ (4)	202,04	112,99	124,65	9,57	44,08	61,69
PBL ₁ (5)	204,20	92,05	188,58	16,96	54,92	92,35
PBL ₂ (1)	214,03	86,86	278,60	27,78	59,42	130,17
PBL ₂ (2)	223,74	94,31	156,33	16,21	57,85	69,87
PBL ₂ (3)	199,43	87,94	253,38	23,23	55,91	127,05
PBL ₂ (4)	190,81	169,25	0,00	0,00	11,30	0,00
PBL ₂ (5)	189,65	85,10	261,56	26,33	55,13	137,91
PBL ₃ (1)	213,03	88,92	148,07	14,66	58,26	69,51
PBL ₃ (2)	222,27	170,68	0,00	0,00	23,21	0,00
PBL ₃ (3)	226,56	178,13	0,00	0,00	21,38	0,00
PBL ₃ (4)	211,91	88,13	198,87	23,54	58,41	93,85
PBL ₃ (5)	211,83	81,19	187,06	21,56	61,67	88,31

¹ unidade experimental = substrato/espécie/bloco

PBL₁ = palha de folha de bananeira + *P. sp.* "Florida".

PBL₂ = palha de folha de bananeira + *P. ostreatoroseus*.

PBL₃ = palha de folha de bananeira + *P. sajor-caju*.

² peso seco inicial do substrato = peso seco inicial + peso seco do "spawn"

Tabela 13. Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de trigo (PT) no cultivo do *Pleurotus* sp. "Florida" (L₁), *Pleurotus ostreatoroseus* (L₂) e *Pleurotus sajor-caju* (L₃).

Unidade experimental ¹	Peso seco do Substrato (g)		Peso do Cogumelo (g)		PMO (%)	EB
	Inicial ²	Final	Fresco	Seco		
PTL ₁ (1)	201,31	84,95	151,07	12,02	57,80	75,04
PTL ₁ (2)	200,14	89,82	46,69	3,71	55,12	23,33
PTL ₁ (3)	197,92	73,51	226,91	18,55	62,86	114,65
PTL ₁ (4)	199,00	69,81	244,72	22,89	64,92	122,97
PTL ₁ (5)	195,95	85,27	24,61	2,74	56,48	12,56
PTL ₂ (1)	213,94	86,84	317,28	29,76	59,41	148,30
PTL ₂ (2)	199,55	113,15	57,69	5,60	43,30	28,91
PTL ₂ (3)	213,28	115,22	0,00	0,00	45,98	0,00
PTL ₂ (4)	205,75	105,03	29,65	2,22	48,96	14,41
PTL ₂ (5)	219,07	121,34	0,00	0,00	44,34	0,00
PTL ₃ (1)	213,80	105,37	184,62	18,16	50,44	86,35
PTL ₃ (2)	203,59	114,21	0,00	0,00	43,91	0,00
PTL ₃ (3)	204,24	113,13	120,32	11,02	44,61	58,91
PTL ₃ (4)	215,92	117,61	42,02	3,70	45,54	19,46
PTL ₃ (5)	209,90	100,27	108,38	9,82	52,23	51,63

¹ unidade experimental = substrato/espécie/bloco

PTL₁ = palha de trigo + *P. sp.* "Florida".

PTL₂ = palha de trigo + *P. ostreatoroseus*.

PTL₃ = palha de trigo + *P. sajor-caju*.

² peso seco inicial do substrato = peso seco inicial + peso seco do "spawn"

Tabela 14. Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de bananeira + bagaço de cana (PBBC) no cultivo do *Pleurotus* sp. "Florida" (L₁), *Pleurotus ostreatoroseus* (L₂) e *Pleurotus sajor-caju* (L₃).

Unidade experi- mental ¹	Peso seco do Substrato (g)		Peso do Cogumelo (g)		PMO (%)	EB
	Inicial ²	Final	Fresco	Seco		
PBBCL ₁ (1)	225,11	59,50	200,37	15,75	73,57	89,01
PBBCL ₁ (2)	188,58	58,64	224,37	16,65	68,91	118,98
PBBCL ₁ (3)	204,18	57,73	221,21	19,75	71,73	108,34
PBBCL ₁ (4)	171,62	84,43	98,86	7,09	50,81	57,60
PBBCL ₁ (5)	194,10	94,71	36,20	2,98	51,21	18,65
PBBCL ₂ (1)	206,84	145,60	0,00	0,00	29,61	0,00
PBBCL ₂ (2)	207,68	99,31	218,57	19,25	52,18	105,24
PBBCL ₂ (3)	226,27	85,07	208,23	17,90	62,41	92,03
PBBCL ₂ (4)	228,35	156,24	0,00	0,00	31,58	0,00
PBBCL ₂ (5)	208,47	86,64	198,95	14,87	58,44	95,43
PBBCL ₃ (1)	185,78	134,34	0,00	0,00	27,69	0,00
PBBCL ₃ (2)	192,51	90,40	154,46	11,34	53,04	80,23
PBBCL ₃ (3)	205,72	87,54	100,50	10,28	57,45	48,85
PBBCL ₃ (4)	199,04	101,10	52,82	5,34	49,21	26,54
PBBCL ₃ (5)	202,91	74,33	174,19	14,32	63,91	85,84

¹ unidade experimental = substrato/espécie/bloco

PBBCL₁ = Palha da Bananeira + bagaço de cana + *P. sp. "Florida"*.

PBBCL₂ = Palha de Bananeira + Bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.

PBBCL₃ = Palha de Bananeira + Bagaço de cana + *P. sajor-caju*.

² peso seco inicial do substrato = peso seco inicial + peso seco do "spawn"

Tabela 15. Perda de matéria orgânica (PMO) e eficiência biológica (EB) do substrato palha de bananeira + sabugo de milho (PBSM) no cultivo do *Pleurotus* sp "Florida" (L₁), *Pleurotus ostreatoroseus* (L₂) e *Pleurotus sajor-caju* (L₃).

Unidade experimental ¹	Peso seco do Substrato (g)		Peso do Cogumelo (g)		PMO (%)	EB
	Inicial ²	Final	Fresco	Seco		
PBSML ₁ (1)	209,10	152,11	0,00	0,00	27,26	0,00
PBSML ₁ (2)	211,57	156,60	0,00	0,00	25,98	0,00
PBSML ₁ (3)	231,57	67,44	207,23	19,44	70,88	89,48
PBSML ₁ (4)	290,48	83,69	103,01	10,23	71,19	35,46
PBSML ₁ (5)	196,76	155,59	0,00	0,00	20,91	0,00
PBSML ₂ (1)	195,84	90,43	183,93	18,26	53,83	93,92
PBSML ₂ (2)	212,80	161,33	0,00	0,00	24,19	0,00
PBSML ₂ (3)	221,29	113,73	33,44	3,82	48,61	15,11
PBSML ₂ (4)	227,79	199,29	0,00	0,00	12,52	0,00
PBSML ₂ (5)	177,62	153,97	0,00	0,00	13,32	0,00
PBSML ₃ (1)	192,98	119,18	39,04	4,95	38,24	20,23
PBSML ₃ (2)	201,40	146,06	0,00	0,00	27,48	0,00
PBSML ₃ (3)	227,94	80,15	37,37	3,72	64,84	16,39
PBSML ₃ (4)	206,15	165,06	0,00	0,00	19,93	0,00
PBSML ₃ (5)	205,72	94,84	121,71	13,08	53,90	59,16

¹ unidade experimental = substrato/espécie/bloco

PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp.* "Florida".

PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.

PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

² peso seco inicial do substrato = peso seco inicial + peso seco do "spawn"

Tabela 16. Composição centesimal¹ da fração fibrosa dos substratos após período de frutificação de *Pleurotus* spp.

Substrato Espécie ³	FDN (%)	FDA (%)	Lignina ² (%)	Celulose (%)	Hemicelulose (%)
PBL ₁	34,13	28,76	6,51	13,09	5,36
PBL ₂	36,03	33,05	4,47	18,09	2,98
PBL ₃	31,63	29,40	9,31	15,69	2,23
PTL ₁	48,26	42,21	10,31	20,05	6,05
PTL ₂	61,78	47,33	10,75	29,44	14,45
PTL ₃	58,22	44,88	8,93	28,59	13,35
PBBCL ₁	42,55	39,08	8,65	23,12	3,47
PBBCL ₂	57,95	48,73	2,63	35,37	9,22
PBBCL ₃	48,93	43,00	7,69	27,48	5,93
PBSML ₁	36,00	31,47	9,59	16,21	4,54
PBSML ₂	46,29	37,63	1,49	25,82	8,66
PBSML ₃	42,61	35,38	8,92	20,29	7,23

¹ média em função das unidades produtivas e 2 repetições.

² lignina KMnO₄.

³ PBL₁ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sp* "Florida".

PBL₂ = Palha de Folha de Bananeira + *P. ostreatoroseus*.

PBL₃ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sajor-caju*.

PTL₁ = Palha de Trigo + *P. sp* "Florida".

PTL₂ = Palha de Trigo + *P. ostreatoroseus*.

PTL₃ = Palha de Trigo + *P. sajor-caju*.

PBBCL₁ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sp* "Florida".

PBBCL₂ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.

PBBCL₃ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sajor-caju*.

PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp* "Florida".

PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.

PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

Tabela 17. Perda de matéria orgânica¹ (PMO), eficiência biológica¹ (EB) e % de redução da fração fibrosa¹ nos diferentes substratos / espécies que frutificaram.

Substrato/ P M O Espécie ² (%)	% de Redução de			E B	
	Lignina	Celulose	Hemicelulose		
PBL ₁	57,64	57,64	76,09	73,91	87,39
PBL ₂	57,07	70,92	46,99	85,42	116,25
PBL ₃	59,45	60,57	87,08	88,90	83,89
PTL ₁	59,45	0,86	43,05	77,65	47,71
PTL ₂	50,56	0,00	16,38	46,62	63,87
PTL ₃	48,21	14,13	18,80	50,68	54,08
PBBCL ₁	63,25	39,72	40,91	86,35	78,50
PBBCL ₂	57,67	81,67	9,61	63,74	97,56
PBBCL ₃	58,13	46,41	29,77	76,68	60,36
PBSML ₁	71,03	10,37	56,15	83,85	62,47
PBSML ₂	51,22	13,93	30,16	69,20	54,51
PBSML ₃	52,33	16,64	45,12	74,28	31,92

¹ média dos sacos que frutificaram

² PBL₁ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sp* "Florida".

PBL₂ = Palha de Folha de Bananeira + *P. ostreatoroseus*.

PBL₃ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sajor-caju*.

PTL₁ = Palha de Trigo + *P. sp* "Florida"

PTL₂ = Palha de Trigo + *P. ostreatoroseus*.

PTL₃ = Palha de Trigo + *P. sajor-caju*.

PBBCL₁ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sp* "Florida".

PBBCL₂ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.

PBBCL₃ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sajor-caju*.

PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp* "Florida".

PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.

PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

A PMD não esteve relacionada com a eficiência biológica. Segundo RAJARATHNAM & BANO (1989) a PMD ocorre devido a perda de CO_2 e H_2O durante o metabolismo dos microrganismos e não somente da remoção de materiais para a construção dos corpos de frutificação.

Observa-se na Tabela 17 que a maior PMD esteve relacionada com a maior perda de celulose e hemicelulose em todos os substratos, com excessão do PBL₂ e do PBBC L₂ e L₃.

A variação da PMD está relacionada com a composição química diferenciada dos substratos que podem oferecer substâncias mais ou menos facilmente degradáveis pelos microrganismos estudados.

A variação do tamanho das partículas do substrato também é fator limitante na taxa de decomposição do mesmo pois são resultantes de diferentes partes do resíduo vegetal e portanto compostos de diferentes tecidos com diferentes propriedades físico-químicas, de acordo com MAZIERO (1990).

Deve-se considerar também que a composição química da lignina especialmente o conteúdo de coumaril álcool, conifenil álcool, sinapil álcool e a qualidade dos polissacarídeos explicam as diferentes preferências das espécies pelos constituintes dos substratos segundo ZADRAZIL (1980 a).

Deve-se ressaltar que ao considerar-se a PMD

saco a saco nas Tabelas 12, 13, 14 e 15, observou-se uma perda superior a 60% para a maioria (10) das unidades experimentais que cultivaram o *Pleurotus* sp. "Florida". Isso pode ser devido ao período de incubação desse microrganismo (média de 59,23 dias) que foi superior ao das outras espécies (34 dias para *Pleurotus ostreatoroseus* e 44 dias para o *Pleurotus sajor-caju*), em todos os substratos. Estudo citado por RAJARATHNAM & BANO (1989) demonstrou que no cultivo de *Pleurotus* sp. "Florida" e *Pleurotus cornicopiae*, a PMO foi dobrada em todos os substratos quando o tempo de incubação foi dobrado.

ZADRAZIL & BRUNNERT (1981) constataram também que aumentando o tempo de incubação, ocorreu um aumento na degradação do substrato, quando cultivaram *Pleurotus sajor-caju* em palha de trigo.

De acordo com RAJARATHNAM & BANO (1989) frequentemente se constata que a maior redução dos componentes lignocelulósicos está em consonância com a maior produtividade. Neste experimento isto só foi constatado para todas as espécies no substrato PB.

O mesmo foi observado por SINGH et al. (1989) no cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em folhas *Adhatoda vasica* e *Ipomoea fistulosa* onde também se relacionou a maior degradação desses 3 componentes à maior produtividade.

As diferentes espécies de *Pleurotus*

degradaram diferentes quantidades de celulose, hemicelulose e lignina, demonstrando uma tendência de degradar mais a hemicelulose do que a celulose. Estas constatações estão de acordo com RAJARATHNAM & BAND (1989).

A habilidade das espécies de *Pleurotus* em degradar a lignina e diminuir seu conteúdo no substrato foi observada.

Segundo RAJARATHNAM & BAND (1989), a degradação da lignina ocorre no período de crescimento do micélio, ou seja, na fase vegetativa do fungo. A quebra da lignina leva à exposição da celulose e hemicelulose, facilitando o acesso das enzimas que podem degradar esses elementos ainda na primeira fase do ciclo de vida do fungo.

A maior perda de lignina foi registrada nos substratos onde este elemento estava presente em maior quantidade, ou seja, no PB (de 50 a 70%) e PBBC (40 a 80%). Estes valores estão de acordo com dados apresentados por RAJARATHNAM & BAND (1989). Deve-se destacar também que o *Pleurotus ostreatoroseus* foi a espécie que apresentou maior atividade lignolítica degradando 70,92% da lignina presente no PB e 81,67% no PBBC. Entretanto, nestes substratos, uma menor quantidade de celulose foi degradada.

ZADRAZIL & BRUNNERT (1981) constataram que o conteúdo de água tem efeito sobre a degradação da lignina. Neste experimento não se pôde estabelecer uma relação pois os teores de umidade dos substratos eram similares.

Na Tabela 18 encontram-se os dados sobre a composição centesimal e C:N dos substratos após o período de frutificação de *Pleurotus* spp.

Tabela 18. Composição centesimal¹ e C:N¹ dos substratos após o período de frutificação de *Pleurotus* spp.

Substrato Espécie ²	C (%)	N (%)	C:N	Proteína (Nx6,25) (%)	Extrato Etéreo (%)	Fibra Bruta (%)	Cinza (%)	Umidade (%)
PBL ₁	31,83	1,63	19,47	10,22	0,79	11,19	15,89	78,83
PBL ₂	32,75	1,48	22,13	9,25	1,20	17,04	14,51	80,02
PBL ₃	33,53	1,38	24,21	8,57	0,86	19,09	5,19	80,06
PTL ₁	36,39	2,45	14,85	15,31	1,25	16,95	16,34	79,23
PTL ₂	31,43	1,88	16,67	11,78	1,50	27,31	11,90	80,34
PTL ₃	32,07	1,86	17,24	11,64	1,13	26,57	11,89	78,13
PBBCL ₁	32,97	1,36	24,15	8,53	0,78	18,91	10,46	84,90
PBBCL ₂	34,28	0,99	34,63	6,21	1,43	31,10	7,06	80,29
PBBCL ₃	33,96	1,41	24,08	8,78	0,56	23,93	7,89	83,11
PBSML ₁	32,40	1,66	19,46	10,41	1,45	13,92	13,14	79,11
PBSML ₂	33,54	1,26	26,51	7,91	1,27	21,22	10,32	75,30
PBSML ₃	33,18	1,64	20,23	10,25	1,32	17,80	10,91	80,70

¹ média em função das unidades experimentais produtivas e 2 repetições

- ²
- PBL₁ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sp* "Florida".
 - PBL₂ = Palha de Folha de Bananeira + *P. ostreatoroseus*.
 - PBL₃ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sajor-caju*.
 - PTL₁ = Palha de Trigo + *P. sp* "Florida".
 - PTL₂ = Palha de Trigo + *P. ostreatoroseus*.
 - PTL₃ = Palha de Trigo + *P. sajor-caju*.
 - PBBCL₁ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sp* "Florida".
 - PBBCL₂ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.
 - PBBCL₃ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sajor-caju*.
 - PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp* "Florida".
 - PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.
 - PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

A Figura 2 compara os dados do teor de nitrogênio e C:N dos substratos iniciais e dos substratos após o período de frutificação.

Observa-se que houve um aumento do teor de nitrogênio no substrato residual com excessão do PBL₃, quando comparou-se com o teor do substrato inicial. Esse aumento variou conforme o substrato e espécie de 4 a 37%.

Esse aumento diferenciado de nitrogênio também foi constatado por BIZARIA et al. (1987) quando estudou o cultivo do *Pleurotus sajor-caju* em diversos resíduos agrícolas.

A espécie *Pleurotus* sp. "Florida" mostrou uma maior tendência a acumular esse elemento. A presença de micélio contribui de forma significativa nesses valores, assim como a possível habilidade dessas espécies em fixar nitrogênio ou a presença de bactérias fixadoras, (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1982; BANO & RAJARATHNAM, 1988).

A Figura 2 mostra também que a relação C:N foi diminuída em função do maior consumo pelos corpos de frutificação, dos componentes polissacarídeos e da lignina, provocando uma considerável diminuição do teor de carbono, e perda de CO₂ durante o metabolismo dos microrganismos.

L1=*P. sp. "Florida"*
 L2=*P. ostreatoroseus*
 L3=*P. sajor-caju*

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBC=PB+bagaço de cana; PBM=PB+sabugo de milho

Figura 2. Teor de Nitrogênio (%) e C:N nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual)

No que se refere ao teor de cinza, houve um aumento significativo em todos os substratos residuais com excessão do PBL₃ (Figura 3). O mesmo foi constatado por RAJARATHNAM et al. (1979) no cultivo de *Pleurotus flabellatus* em palha de arroz (de 37,5%) e, por autores, citados por RAJARATHNAM & BANO (1989), no cultivo de *Pleurotus* sp. "Florida" em palha de trigo (de 70,08%) e no cultivo de *Pleurotus ostreatus* em palha de arroz (de 18,0%). Segundo esses autores o relativo aumento dos teores de cinza, da inoculação até o fim da colheita, deve-se a constante utilização da matéria orgânica.

Estudos complementares devem ser realizados para verificar as verdadeiras causas do aumento dos teores de cinza no substrato residual, uma vez que a perda de matéria orgânica durante o cultivo foi constatada mas não pode ser empregada como justificativa, pois os teores de cinza foram determinados sobre a matéria seca tanto no início como no fim do período de cultivo.

L1=*P. sp. "Florida"*
 L2=*P. ostreatoroseus*
 L3=*P. sajor-caju*

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBBC=PB+bagaço de cana; PBSM=PB+sabugo de milho

Figura 3. Teor de cinza (%) nos substratos testados antes (Inicial) e após frutificação (residual)

Na Tabela 19 estão relacionados os dados relativos a composição de macro e micro minerais dos substratos após o período de frutificação.

Tabela 19 - Composição de macro e micro minerais¹ dos substratos após período de frutificação de *Pleurotus* spp..

Substrato Espécie ²	Macro minerais (%)				Micro minerais (ug/g)			
	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
PBL ₁	0,08	1,41	2,53	0,51	11,0	822,5	1294,0	35,0
PBL ₂	0,03	0,61	1,22	0,24	4,0	381,0	680,0	9,0
PBL ₃	0,05	0,96	1,94	0,41	6,5	662,0	982,0	29,5
PTL ₁	0,23	0,92	1,23	0,32	7,0	849,0	87,0	87,0
PTL ₂	0,21	0,84	1,09	0,25	6,0	597,5	60,5	57,5
PTL ₃	0,19	0,73	1,03	0,25	5,0	481,5	44,5	68,5
PBBCL ₁	0,08	0,69	1,82	0,38	11,5	1050,0	704,5	39,5
PBBCL ₂	0,03	0,54	1,74	0,29	10,5	967,0	569,5	18,0
PBBCL ₃	0,09	0,77	1,74	0,32	9,5	1122,0	596,0	47,0
PBSML ₁	0,07	1,37	1,93	0,51	12,0	723,0	1139,0	46,0
PBSML ₂	0,03	0,54	0,59	0,20	3,0	364,0	524,0	11,0
PBSML ₃	0,07	1,26	1,79	0,44	10,5	794,0	995,0	44,5

¹ média em função das unidades produtivas e duas repetições.

² PBL₁ = palha de folha de bananeira + *P. sp.* "Florida".

PBL₂ = palha de folha de bananeira + *P. ostreatoroseus*.

PBL₃ = palha de folha de bananeira + *P. sajor-caju*.

PTL₁ = palha de trigo + *P. sp.* "Florida".

PTL₂ = palha de trigo + *P. ostreatoroseus*.

PTL₃ = palha de trigo + *P. sajor-caju*.

PBBCL₁ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sp.* "Florida".

PBBCL₂ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.

PBBCL₃ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sajor-caju*.

PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp.* "Florida".

PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.

PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

A comparação dos resultados das determinações de macro minerais, dos substratos iniciais e dos substratos após período de frutificação, na Figura 4, demonstra que houve um aumento dos elementos P, K, Ca, Mg, com as seguintes excessões: o P diminuiu nos substratos/espécies PBL₂, PBL₃ e PBBCL₂ e PBSML₂; o K no PBL₂, PBL₃ e PBSML₂; o Ca no PBSML₂ e o Mg no PBL₂.

Segundo ZADRAZIL (1978) no processo de degradação do substrato há uma ligeira diminuição de N, P e K, conforme constatado somente para as excessões acima citadas, neste experimento.

Quanto ao aumento significativo dos teores de Ca e Mg, o mesmo foi constatado por RAJARATHNAM & BANO (1989) no cultivo de espécies de *Pleurotus* em palha de trigo.

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBBC=PB+bagaço de cana; PBSM=PB+sabugo de milho
 L1=P. sp. "Florida"
 L2=P. *ostreatoroseus*
 L3=P. *sajor-caju*

Figura 4. Teor de macrominerais nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual)

A Figura 5 compara os resultados das determinações de microminerais dos substratos iniciais e após período de frutificação e demonstra que houve um aumento significativo nos teores de Fe em todos os substratos/espécies assim como do Mn com exceção do PBL₂. Um aumento, embora não tão expressivo, também foi constatado em estudo apresentado por RAJARATHNAM & BANO (1989) no cultivo de espécies de *Pleurotus* em palha de arroz. Cabe ressaltar aqui, assim como o foi na discussão dos resultados sobre os teores de cinza no substrato residual, a importância de se realizar estudos adicionais no sentido de se verificar as causas dos teores desses elementos serem tão superiores aos encontrados no substrato inicial.

O Cu diminui em todos os substratos/espécies e o Zn em todos os substratos/espécies PT, PBL₂, PBBCL₂ e PBSML₂. Essa redução dos minerais deve estar relacionada com a utilização dos mesmos nos corpos de frutificação e também na participação de grupos prostéticos em reações enzimáticas (RAJARATHNAM & BANO, 1989).

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBBC=PB+bagaço de cana; PBSM=PB+sabugo de milho

L1=P. sp. "Florida"
 L2=P. *ostreatoroseus*
 L3=P. *sa/or-ca/u*

Cu inicial Cu residual Fe inicial Fe residual
 Mn inicial Mn residual Zn inicial Zn residual

Figura 5. Teor de microminerais nos substratos testados antes (inicial) e após frutificação (residual)

4.4. Composição Química dos Corpos de Frutificação

As Tabelas 20, 21 e 22, mostram a composição centesimal dos corpos de frutificação das espécies estudadas nos diferentes substratos.

Tabela 20. Composição centesimal¹ dos corpos de frutificação do *Pleurotus* sp. "Florida" (L₁) de cada substrato² testado.

Constituintes (%)	L ₁			
	PB	PT	PBBC	PBSM
Nitrogênio	5,51	5,06	3,96	4,49
Proteína (Nx4,38)	24,13	22,17	17,38	19,68
Extrato etéreo	1,54	1,68	1,63	1,86
Fibra bruta	9,96	13,50	11,69	11,59
Cinza	8,06	7,54	7,49	7,53
Matéria Seca	94,03	94,37	93,05	94,33

¹ média de 2 repetições

² PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC= palha de bananeira + bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM= palha de bananeira + sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Tabela 21. Composição centesimal¹ dos corpos de frutificação do *Pleurotus ostreatoroseus* (L₂) de cada substrato² testado.

Constituintes (%)	L ₂			
	PB	PT	PBBC	PBSM
Nitrogênio	4,40	5,77	3,97	4,49
Proteína (Nx4,38)	19,29	25,26	17,38	19,68
Extrato etéreo	1,04	0,80	1,19	1,04
Fibra bruta	21,25	15,61	23,83	21,62
Cinza	6,57	7,36	6,42	6,32
Matéria Seca	92,89	92,74	94,30	93,11

¹ média de 2 repetições

² PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC= palha de bananeira + bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM= palha de bananeira + sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Tabela 22. Composição centesimal¹ dos corpos de frutificação do *Pleurotus sajor-caju* (L₃) de cada substrato² testado.

Constituintes (%)	L ₃			
	PB	PT	PBBC	PBSM
Nitrogênio	4,35	5,82	4,42	4,40
Proteína (Nx4,38)	19,07	25,51	19,35	19,29
Extrato etéreo	0,88	1,12	1,21	1,06
Fibra bruta	11,66	9,19	9,97	10,73
Cinza	6,88	7,90	6,31	6,02
Matéria seca	93,12	94,01	93,70	93,73

¹ média de 2 repetições

² PB = palha de folha de bananeira; PT = palha de trigo; PBBC= palha de bananeira + bagaço de cana (50:50, em peso seco); PBSM= palha de bananeira + sabugo de milho (70:30 em peso seco).

Os maiores teores de proteína bruta foram encontrados nos corpos de frutificação das 3 espécies cultivadas no substrato PT (de 22,17% a 25,51%) seguido do PB (de 19,07% a 24,13%), PBSM (de 19,29% a 19,68%) e PBBC (de 17,38% a 19,35%). Os valores estão próximos ao valor médio citado por MAZIERO (1990) para cogumelos comestíveis (19,8%), e são similares aos observados por BISARIA et al. (1987) quando estudaram a composição química do *Pleurotus sajor-caju* cultivado em folha de bananeira, e aos encontrados por GUPTA et al. (1982) quando cultivaram *Pleurotus ostreatoroseus* em palha de arroz.

O teor de proteína bruta dos corpos de frutificação parece estar relacionado com o teor de nitrogênio no substrato inicial. O substrato PT inicial é o que apresentou maior teor de nitrogênio (1,60%) seguido do PB (1,42%). Nas misturas PBBC e PBSM os teores de nitrogênio no substrato inicial foram 38 e 22%, respectivamente, mais baixos que no PB e os teores de proteína nos corpos de frutificação foram 28 e 18,5% menores que no PB, confirmando a habilidade que o *Pleurotus* tem de colonizar resíduos vegetais com baixo teor de nitrogênio e produzir corpos de frutificação com alto teor de nitrogênio segundo RAJARATHNAM & BAND (1987).

Quanto a composição lipídica, os resultados foram similares quando se compara os teores nos diferentes substratos para a mesma espécie, conforme o observado por

BIZARIA et al. (1987). Quando se compara os valores entre as espécies nota-se que o *Pleurotus* sp. "Florida" apresentou valores significativamente superiores (de 1,54% a 1,86%) ao das outras espécies que apresentaram por sua vez aproximadamente 1%. Considerando que alguns componentes do aroma e sabor estão na fração lipídica, de acordo com BAND & RAJARATHNAM (1988), o *Pleurotus* sp. "Florida" tende a apresentar um sabor mais acentuado.

Os valores de fibra bruta expressam praticamente somente a quantidade de celulose presente nos corpos de frutificação e os resultados demonstram principalmente que o *Pleurotus ostreatoroseus* é o que apresenta maior percentual principalmente quando cultivado nos substratos com palha de bananeira.

Quando a composição centesimal da fração fibrosa dos corpos de frutificação é considerada na Tabela 23, observa-se que os corpos de frutificação são constituídos predominantemente de hemicelulose e celulose, variando a quantidade de cada constituinte conforme a espécie.

Tabela 23. Composição centesimal¹ da fração fibrosa dos corpos de frutificação das espécies de *Pleurotus* cultivadas.

Substrato Espécie ³	FDN (%)	FDA (%)	Celulose (%)	Lignina ² (%)	Hemicelulose (%)
PBL ₁	39,36	14,08	13,80	0,02	25,28
PBL ₂	34,17	23,39	22,41	0,12	10,77
PBL ₃	40,07	16,64	15,36	0,90	23,43
PTL ₁	37,94	10,62	10,18	0,30	27,31
PTL ₂	39,23	17,97	16,74	---	21,26
PTL ₃	33,01	9,50	9,46	---	23,51
PBBCL ₁	41,92	13,01	12,88	---	28,91
PBBCL ₂	46,67	24,17	23,90	0,04	22,50
PBBCL ₃	37,43	13,85	13,27	0,10	23,58
PBSML ₁	41,85	11,90	9,45	0,11	29,95
PBSML ₂	45,42	22,62	21,06	0,54	22,80
PBSML ₃	38,93	16,31	15,44	0,11	22,61

¹ média de 2 repetições

² Lignina - H₂SO₄ 72% (p/p)

³ PBL₁ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sp.* "Florida".

PBL₂ = Palha de Folha de Bananeira + *P. ostreatoroseus*.

PBL₃ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sajor-caju*.

PTL₁ = Palha de Trigo + *P. sp.* "Florida".

PTL₂ = Palha de Trigo + *P. ostreatoroseus*.

PTL₃ = Palha de Trigo + *P. sajor-caju*.

PBBCL₁ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sp.* "Florida".

PBBCL₂ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.

PBBCL₃ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sajor-caju*.

PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp.* "Florida".

PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.

PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

As espécies *Pleurotus* sp. "Florida" e *Pleurotus sajor-caju* são constituídos predominantemente de hemicelulose (de 25,28% a 29,95% e de 22,61% a 23,58% respectivamente); e, o *Pleurotus ostreatoroseus*, quando cultivado no substrato PB é constituído predominantemente de celulose, no PT de hemicelulose, e no PBBC e no PBSM, essas porções são similares. Contudo, o *Pleurotus ostreatoroseus* tem uma tendência em acumular mais celulose que as outras espécies, em todos os substratos testados. A presença de lignina nos corpos de frutificação não foi significativa.

Os dados sobre a composição da fração fibrosa nos corpos de frutificação se relacionaram com a PMO durante o cultivo que foi maior em hemicelulose seguida da celulose.

Os resultados obtidos por essas espécies nos substratos estudados, nas condições deste experimento, foram superiores no que se refere a celulose e hemicelulose aos encontrados em estudos realizados por KURASAWA et al. (1982) sobre a fração fibrosa de 26 espécies de cogumelos comestíveis adquiridos no comércio. Os valores médios encontrados por esses pesquisadores foram 11,4% de celulose, 21,4% de hemicelulose e 2,9% de lignina, sendo esta última bem superior às percentagens encontradas neste estudo que foram todas inferiores a 1%.

No que se refere aos teores de cinza nos corpos de frutificação, observa-se nas Tabelas 20, 21 e 22, que os resultados variaram de 6,02% a 8,06% e estão na faixa citada por LAU (1982) que é de 5 a 10%.

Analisando-se a Tabela 24, que mostra o teor de macro e microminerais, observa-se que as quantidades encontradas nos corpos de frutificação variaram conforme o substrato/espécie.

Tabela 24 - Teor de macro e microminerais¹ nos corpos de frutificação das espécies de *Pleurotus* cultivadas.

Substrato ² / Espécie	Macro minerais (%)				Micro minerais (mg/Kg)			
	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
PBL ₁	0,63	1,99	0,01	0,13	15	101	18	74
PBL ₂	0,67	2,14	0,52	0,18	17	82	22	97
PBL ₃	0,38	1,22	0,02	0,07	7	27	16	26
PTL ₁	0,95	1,38	0,01	0,15	11	104	3	69
PTL ₂	1,12	1,53	0,08	0,18	16	107	11	163
PTL ₃	0,99	1,91	0,01	0,17	14	51	6	47
PBBCL ₁	0,70	2,83	0,06	0,18	11	74	9	74
PBBCL ₂	0,61	1,07	0,24	0,14	19	68	11	95
PBBCL ₃	0,70	0,99	0,04	0,13	12	175	12	35
PBSML ₁	0,63	2,98	0,32	0,15	18	92	19	78
PBSML ₂	0,67	2,45	0,14	0,16	11	82	11	125
PBSML ₃	0,64	1,99	0,02	0,13	17	561	32	38

¹ média de 2 repetições

² PBL₁ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sp.* "Florida".

PBL₂ = Palha de Folha de Bananeira + *P. ostreatoroseus*.

PBL₃ = Palha de Folha de Bananeira + *P. sajor-caju*.

PTL₁ = Palha de Trigo + *P. sp.* "Florida".

PTL₂ = Palha de Trigo + *P. ostreatoroseus*.

PTL₃ = Palha de Trigo + *P. sajor-caju*.

PBBCL₁ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sp.* "Florida".

PBBCL₂ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. ostreatoroseus*.

PBBCL₃ = Palha de Bananeira + bagaço de cana + *P. sajor-caju*.

PBSML₁ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sp.* "Florida".

PBSML₂ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. ostreatoroseus*.

PBSML₃ = Palha de Bananeira + Sabugo de milho + *P. sajor-caju*.

No que se refere aos macro minerais, de acordo com LAU (1982) e STRMISKOVA et al. (1992), o potássio aparece em maior quantidade (0,99 a 2,98%) seguido do fósforo (0,38 a 0,99%) e do magnésio (0,07 a 0,18%).

O potássio, fósforo e magnésio (neste último somente nos corpos de frutificação cultivados na palha de trigo), estiveram presentes nos corpos de frutificação em maior quantidade do que no substrato inicial. O mesmo foi constatado por BAND & RAJARATHNAM (1988) para o fósforo no cultivo de espécies de *Pleurotus* em palha de arroz; o substrato inicial apresentou 1200 mg/100 g em base seca desse elemento e os teores encontrados nos corpos de frutificação do *Pleurotus eous*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus flabellatus* e *Pleurotus ostreatus* foram 1410, 1850, 1550 e 1348 mg/100g, respectivamente.

O cálcio aparece em pequenas concentrações (0,01 a 0,52%), conforme o constatado também por CHANG et al. (1981) e LEONG (1982).

Quanto aos microminerais, o ferro aparece em maior quantidade, com excessão dos corpos de frutificação da espécie *Pleurotus ostreatoroseus*, onde o zinco é o predominante entre os elementos estudados, mostrando uma maior tendência a bioconcentração dessa espécie. O cobre é o terceiro elemento presente em termos de quantidade, e não excede o teor do substrato inicial de acordo com BRUNNERT & ZADRAZIL (1983), seguido do manganês.

As Figuras 6 e 7 comparam os teores de macro e micro minerais presente nos substratos testados e no cogumelo e demonstram que os minerais que estavam presentes nos substratos iniciais estiveram também nos corpos de frutificação, com exceção do cálcio que esteve presente em quantidades mínimas.

A Figura 7 mostra também que o zinco é o único micromineral que aparece em quantidades superiores às encontradas nos substratos iniciais (com exceção dos substratos/espécies PBL₃, PTL₁, PTL₃), confirmando a tendência desses fungos em acumular este elemento nos corpos de frutificação, de acordo com BANO & RAJARATHNAM (1988) e VETTER (1993). O mesmo ocorreu em estudo realizado por Bano¹³ citado por LEONG (1982) quando utilizou palha de arroz com teor inicial de zinco de 20,7 ppm no cultivo de espécies de *Pleurotus* e obteve nos corpos de frutificação do *Pleurotus eous*, *Pleurotus florida* e *Pleurotus sajor-caju* teores de 82,7, 111,4 e 129,0 ppm, respectivamente.

Devido a capacidade de bioconcentração de metais pesados dos basidiomicetos constatada em diversos experimentos, sugere-se o monitoramento periódico dos metais pesados dos corpos de frutificação quando se for variar as condições de cultivo.

¹³ BANO, Z.; NAGARAJA; VIBHAKAR, K.V.; KAPUR, D.P. Mineral and metal contents in the sporophores of *Pleurotus* species. Mushroom New letter for the Tropics, 2 (2): 3-7. 1981.

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBBC=PB+bagaço de cana; PBSM=PB+sabugo de milho

L1=*P. sp. "Florida"*
 L2=*P. ostreatoroseus*
 L3=*P. sa/or-ca/u*

Substrato x espécie
 Figura 6. Teor de macrominerais nos substratos testados (Inicial) e no cogumelo (corpo de frutificação)

PB=palha de folha de bananeira; PT=palha de trigo
 PBBC=PB+bagaço de cana; PBSM=PB+sabugo de milho

L1=*P. sp. "Florida"*
 L2=*P. ostreatoroseus*
 L3=*P. sajor-caju*

Substrato x espécie

Figura 7. Teor de microminerais nos substratos testados (inicial) e no cogumelo (corpo de frutificação)

Os resultados obtidos confirmam que o tipo de substrato utilizado no cultivo tem influência sobre a composição química dos corpos de frutificação, principalmente no teor de proteína e minerais, de acordo com CRISAN & SANDS (1978), CHANG et al. (1981) e BANO & RAJARATHNAM (1988).

Uma variação significativa na composição centesimal e no teor de minerais em função de variação do substrato, também foi constatado por FADISI & EKUERE (1993), em escleródios de *Pleurotus tuber-regium* cultivados em palha de bananeira, bagaço de milho, resíduos de algodão e palha de arroz.

5. CONCLUSÕES

Considerando-se as condições deste experimento, pode-se concluir que:

- 5.1. É viável o emprego da folha de bananeira como substrato para o cultivo do *Pleurotus* spp. não tendo sido comprovada a necessidade de se fazer as misturas com bagaço de cana ou sabugo de milho;
- 5.2. Para todas as espécies estudadas, o substrato palha de bananeira apresentou eficiência biológica média superior a obtida pelo substrato palha de trigo;
- 5.3. O substrato palha de bananeira mais bagaço de cana apresentou, também para todas as espécies estudadas, eficiência biológica média superior as obtidas pelos substratos palha de trigo e palha de bananeira mais sabugo de milho, sendo este último o que apresentou menor produtividade;
- 5.4. Os valores de eficiência biológica, próximos a 100% e com menor período de cultivo foram encontrados na palha de bananeira para as espécies *Pleurotus ostreatoroseus* e

Pleurotus sp. "Florida", sendo esta última a mais indicada para um estudo em escala piloto uma vez que as condições de cultivo lhe foram mais adequadas.

5.5. O tipo de substrato utilizado no cultivo tem influência sobre a composição química dos corpos de frutificação, principalmente no teor de proteínas e minerais;

5.6. A espécie *Pleurotus ostreatoroseus* foi a que mostrou a maior tendência no acúmulo de zinco determinando a necessidade de um monitoramento de metais pesados em novos experimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAND, Z.; RAJARATHNAM, S.; NAGARAJA, N. Some aspects on the cultivation of *Pleurotus flabellatus* in India. **Mushroom Science**, Braunschweig, 10 (2): 597-608, 1978.
- BAND, Z. & RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushroom as a nutritional food. In: CHANG, S.T. & QUIMIO, T.H. eds. **Tropical mushrooms**. Hong Kong, The Chinese University Press, 1982. p. 363-80.
- BAND, Z. & RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushrooms. Part II. Chemical composition, preservation, and role as human food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, 27 (2): 87-158, 1988.
- BIZARIA, R.; MADAN, M.; BIZARIA, V.S. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor caju* cultivated on different agro wastes. **Biological Wastes**, Essex, 19 (4): 239-55, 1987.
- BONONI, V.L.R. & TRUFEM, S.F.B. **Cogumelos comestíveis**. 3.ed. São Paulo, Icone, 1986. 83p.

- BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M.
Pleurotus ostreatoroseus cultivation in Brasil. **Mushroom Science**, Braunschweig, 13 (2): 531-2, 1991.
- BRUNNERT, H. & ZADRAZIL, F. The translocation of mercury and cadmium into the fruiting bodies of six higher fungi. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 17 (6): 358-64, 1983.
- CALZADA, J.F.; LEON, R.; ARRIOLA, M.C.; ROLZ, C. Growth of mushrooms on wheat straw and coffee pulp: strain selection. **Biological Wastes**, Essex, 20 (3): 217-26, 1987.
- CHANG, S.T.; LAU, D.W.; CHO, K.Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 12: 58-62, 1981.
- 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. 93p. (Mestrado - Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP).

- CRISAN, E.V. & SANDS, A. Nutritional value. In: CHANG, S.T. & HAYES, W.A., eds. **The biology and cultivation of edible mushrooms.** Academic Press, New York, 1978. p. 137-68.
- DANAI, O.; LEVANON, D.; SILANIKOVE, N. Cotton straw silage as a substrate for *Pleurotus* sp. cultivation. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 81-9, 1989.
- DUTTON, M.V.; EVANS, C.S.; ATKEY, P.T.; WOOD, D.A.. Oxalate production by basidiomycetes, including the white - rot species *Coriolus versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 39 (1): 5-10, 1993.
- ELLIOTT, T.J. Spawn - making and spawns. In: FLEGG, P.B.; SPENCER, D.M.; WOOD, D.A. eds. **The biology and technology of the cultivated mushroom.** New York, John Wisley & Sons, 1985. p. 131-39.
- FADISI, I. & EKUERE, V.U. Studies on *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer: cultivation, proximate composition and mineral contents of sclerotia. **Food Chemistry**, Ibadan, 48 (3), 255-58, 1993.

- FIDALGO, O. & GUIMARÃES, S.M.P.B. A situação do cogumelo no Brasil e no exterior. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE COGUMELOS COMESTÍVEIS, 1. Mogi das Cruzes, 1980. **Anais**. São Paulo, Instituto de Botânica, 1985. p.7-23.
- FLEGG, P.B. Methods of experimentation. In: FLEGG, P.B.; SPENCER, D.M.; WOOD, D.A., ed. **The biology and tecnologia of the cultivated mushroom**. New York, John Wiley & Sons, 1985. p. 231-9.
- GALLI, E.; TOMATI, U.; GRAPELLI, A.; DILENA, G.; PIETROSANTI, W. Solid state degradation of agricultural wastes by *Pleurotus* species. **Mushroom Science**, Braunschweig, 13 (2): 705-8, 1991.
- GUPTA, S.; MISRA, P.S.; PATHAK, M.C.; SING, M.S. Cultivation and nutritive value of pink mushroom. **Fitoterapia**, Milano, 53: 57-61, 1982.
- GUZMAN, G.; MATA, G.; SALMONES, D.; SOTO-VELAZCO, C.; GUZMAN-DAVALOS, L.. **El cultivo de los hongos comestibles**. Xalapa, Instituto Politécnico Nacional, 1993. 245 p.
- HARRIS, L.E. **Os métodos químicos e biológicos empregados na análise de alimentos**. Gainesville, University of Florida, 1970. 150p.

- HAUSEN, B.M.; SCHULZ, K.H.; NOSTER, U. Allergic disease caused by the spores of an edible fungus, *Pleurotus Florida*. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 219-26, 1974.
- HELDRICH, K. ed. **Official methods of analysis**. 15 ed. Washington, Association of Official Analytical Chemists, 1990. iv.
- HOUDEAU, G.; OLIVIER, J.M.; LIMOND, S.; BAWADIKJI, H. Improvement of *Pleurotus* cultivation. **Mushroom Science**, Braunschweig, 13 (2): 549-54, 1991.
- IGLESIAS, M.B.; DIAZ, S.O.; GARCIA, M.C.; SANCHES, M.T. Aproveitamento de resíduos de platanera I. Producción en las Islas Canarias, sus características y alternativas de utilización. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, 27 (1): 24-30, 1987.
- KHAN, S.M. & SIDDIQUI, M.A. Some studies on the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) on ligno-cellulosic by-products of textile industry. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 121-28, 1989.
- KHANNA, P.K.; BHANDARI, R.; SONI, G.L.; GARECHA, H.S. Evaluation of *Pleurotus* spp. for growth, nutritive value and antifungal activity. **Indian Journal of Microbiology**, Ludhiana, 32 (2): 197-200, 1992.

- KIMATI, H. Fungicidas. In: GALLI, F, coord. **Manual de fitopatologia**. 2 ed. São Paulo, Ceres, 1978. V. 1, cap. 18. p. 357.
- KWAN, H.S. & CHANG, S.T. Biochemical studies of cotton waste compost during the cultivation of *Volvariella volvacea*. **Mushroom Science**, Braunschweig, 11 (2): 585-94, 1981.
- KULKARNI, R.K. Cultivation of *Pleurotus* species on cotton waste. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 129-33, 1989.
- KURASAWA, S.I.; SUGAHARA, T.; HAYASHI, J. Studies on dietary fibre of mushrooms and edible wild plants. **Nutrition Reports International**, Los Altos, 26 (2): 167-73, Aug., 1982.
- KURTZMAN, 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.

- LARA, A.B.W.H.; coord. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. In: REBOCHO, D.D.E., ed. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 2 ed. São Paulo, 1976. V. 1, 371 p.
- LAU, O. Methods of chemical analysis of mushrooms. In: CHANG, S.T. & QUIMIO, T.H., eds. **Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods**. Hong Kong, The Chinese University Press, 1982, p. 87-116.
- LELLEY, J. & NIEHRENHEIM, U. Substrate treatment by fungicides in the oyster mushrooms production. **Mushroom Science**, Braunschweig, 13, (1): 373-78, 1991.
- LEONG, P.C. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on cotton waste substrate in Singapore. In: CHANG, S.T. & QUIMIO, T.H., eds. **Tropical mushrooms**. Honk Kong, The Chinese University Press, 1982. p. 349-61.
- MADAN, M.; VASUDEVAN, P.; SHARMA, S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on different wastes. **Biological Wastes**, Essex, 22, (4): 241-50, 1987.
- MANSUR, M.; KLIBANSKY, M.; GUTIÉRREZ, I.; GONZALES, L.; Evaluacion de parametros de processo para la producción de hongos del genero *Pleurotus* cultivados sobre paja de caña. **Boletín Geplacea**, México, 9, (8): 13-5, ago., 1992.

- MARTINEZ-CARRERA, D. Past and future of edible mushroom cultivation in Tropical America. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (1): 795-805, 1989.
- MARTINEZ-CARRERA, D.; SOBAL, M.; MORALES, P.; LARQUE-SAAVEDRA, A. Projects of edible mushroom cultivation in developing countries. **Food Laboratory News**, Puebla, 8 (3): 21-33, 1992.
- MASON, C.F. **Decomposição**. São Paulo, EPU/EDUSP, 1980. 63p. (Temas de Biologia).
- MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* spp.** São Paulo, 1990. 136p. (Mestrado - Instituto de Biociências/USP).
- MOLENA, O. **O moderno cultivo de cogumelos**. São Paulo, Nobel, 1986. 157p.
- MORI, K.; TOYOMASUT, T.; NANBA, H.; KURODA, H. Antitumor action of fruit bodies of edible mushrooms orally administred to mice. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (1): 653-60, 1987.
- MUCHOVEJ, J.J. & MUCHOVEJ, R.M.C. **Noções básicas de micologia**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1989. 155p.

- RAJARATHNAM, S. & BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms; Part 1A: Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, 26 (2): 157-223, 1987.
- RAJARATHNAM, S. & BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms; Part 1B: Pathology, in vitro and in vivo growth requirements, and world status. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, 26 (3): 243-311, 1988.
- RAJARATHNAM, S. & BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms; Part 3: Biotransformations of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, 28 (1): 31-113. 1989.
- RAJARATHNAM, S.; WANKHEDE, D.B.; PATWARDHAN, M.V.. Some chemical and biochemical changes in straw constituents during growth of *Pleurotus flabellatus* (Berks & Br) Sacc. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 8 (1/2): 125-134. 1979.
- ROYSE, D.J. & SCHISLER, L.C. Yield and size of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* as effected by delayed-release nutrient. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 26: 191-194, 1987.

- ROYSE, D.J. & ZAKI, S.A. Yield stimulation of *Pleurotus flabellatus* by dual nutrient supplementation of pasteurized wheat straw. **Mushroom Science**, Braunschweig, 13 (2): 545-7, 1991.
- SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, Departamento de Química/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1974. 55p.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos; métodos químicos e biológicos**. Viçosa, Imprensa Universitária Federal de Viçosa, 1981. 166p.
- SINGH, A.; VASUDEVAN, P.; MADAN, M. Effect of mushroom cultivation (*Pleurotus sajor-caju*) on substrates from two non-conventional plants, *Adhatoda vasica* neer and *Ipomoea Fistulosa mart ex choicy*. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 7-13, 1989.
- SOHI, H.S. & UPADHYAY, R.C. Effect of temperature on mycelial growth of *Pleurotus* species and their yield performance on selected substrates. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 49-56, 1989.
- STAMETS, P. & CHILTON, J.S. **The mushroom cultivator**. Washington, Agarikon Press, 1983. 415p.

- STÖLZER, S. & GRABBE, K. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. **Mushroom Science**, Braunschweig, 13 (1): 141-6, 1991.
- STRMISKOVA, G.; STRMISKA, F.; DUBRAVICKY, J. Mineral composition of oyster mushrooms. **Nahrung**, Bratislava, 36 (2): 210-12, 1992.
- SUN, P.J. & YU, J.J. The cultivation of *Pleurotus* mushrooms on unsterilized substrates in the field. **Mushroom Science**, Braunschweig, 12 (2): 219-28, 1989.
- TOLENTINO, P.R. Mushroom culture utilizing tobacco waste. **Mushroom Science**, Braunschweig, 11 (2): 577-84, 1981.
- WOOD, D.A. & SMITH, J.F. The cultivation of mushrooms. In: NORRIS, J.R. & PETTIPHER, G.L. eds. **Essays in agricultural and food microbiology**. New York, John Wiley & Sons, 1987. p. 309-43.
- UPADHYAY, R.C. & VIJAY, B. Cultivation of *Pleurotus* species during winter in India. In: MAHER (ed) **Mushroom Science**, Braunschweig, 13 (2): 533-36, 1991.
- VAN SOEST, P.J. & WINER, R.H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of Plant cell wall constituents. **Journal of Association of Official Analytical Chemistry**, Washington, 50 (1): 50-5, 1967.

- VETTER, J. Toxic elements in certain higher fungi. **Food Chemistry**, Budapest, 48 (2): 207-8, 1993.
- VOLLAND-NALL, P. Action de la lumiere sur la fructification du *Pleurote* du Quebec. **Mushroom Science**, Braunschweig, 11 (2): 511-22, 1981.
- ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In: CHANG, S.T. & HAYES, W.A. eds. **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York, Academic Press, 1978. 521-57.
- ZADRAZIL, F. Conversion of different plant waste into feed by basidiomycetes. **European Journal Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 9: 243-48, 1980a.
- ZADRAZIL, F. Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 9: 31-35, 1980b.
- ZADRAZIL, F. & BRUNNERT, H. Investigation of physical parameters important for the solid state fermentation of straw by white rot fungi. **European Journal Applied Microbiology and Biotechnology**. Berlin, 11 (3): 183-8. 1981.
- ZADRAZIL, F. & GRABBE, K. Edible mushrooms. **Biotechnology**, Weinheim, (3): 145-87, 1983.

ZADRAZIL, F. & KURTZMAN, Jr. R.H. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In: CHANG, S.T. & QUIMIO, T.H. eds. *Tropical mushrooms*. Hong Kong, The Chinese University Press, 1982. p. 277-98.

ZHUANG, C.; MIZUNO, T.; SHIMADA, A.; ITO, H.; SUZUKI, C.; MAYUZUMI, Y.; OKAMOTO, H.; MA, Y.; LI, J. Antitumor protein-containing polysaccharides from a chinese mushroom *Fengweigu* or *Houbitake*, *Pleurotus sajor-caju* (Fr.). *Sings. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Tokio, 57 (6): 901-6, 1993.