

EDSON KENJI KOHARI

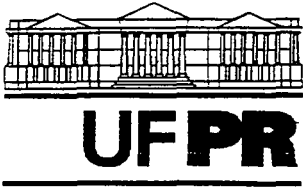
**PRODUÇÃO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus* EM RESÍDUOS
LIGNOCELULÓSICOS E AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO SUBSTRATO
EXAURIDO VISANDO SUA UTILIZAÇÃO COMO FERTILIZANTE ORGÂNICO**

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.
Curso de Pós-Graduação em Agronomia.
Área de Concentração Ciência do Solo.
Setor de Ciências Agrárias.
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José
Pereira de Campos Carvalho

CURITIBA

2000

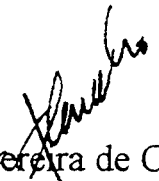


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE SOLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA: CIÊNCIA DO SOLO(MESTRADO) e
MONITORAMENTO, MODELAGEM E GESTÃO AMBIENTAL(DOUTORADO)
Rua dos Funcionários, 1540-Curitiba/PR-80035-050-Fone/Fax 41-350-5648
E-mail: pgcisolo@agrarias.ufpr.br

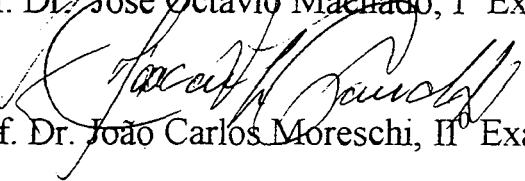
P A R E C E R

Os Membros da Comissão Examinadora, designados pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado, apresentada pelo candidato **EDSON KENJI KOHARI**, com o título: **"Produção do cogumelo comestível Pleurotus ostreatus, em resíduos lignocelulósicos e avaliação das características do substrato exaurido visando sua utilização como fertilizante orgânico"**, para obtenção do grau de Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo" do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, são de Parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Dissertação com o conceito **"A"**, completando assim, os requisitos necessários para receber o diploma de **Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo"**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", em Curitiba 21 de julho de 2000.


Prof. Dr. Francisco José Pereira de Campos Carvalho, Presidente.


Prof. Dr. José Octávio Machado, I^o Examinador.


Prof. Dr. João Carlos Moreschi, II^o Examinador.

OFEREÇO

Ao meu Pai FUJIO, à minha Mãe SHIROKO, aos meus irmãos NORIO, MIYUKI e MASSAO, à minha cunhada EMI e ao sobrinho IGOR.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente a todas as pessoas, que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho, e em especial:

Ao Professor Francisco José Pereira de Campos Carvalho, pela orientação estímulo e paciência.

Ao Professor Celso Luís Prevedello, pelo apoio e compreensão em momentos difíceis.

Aos membros da banca examinadora pela análise crítica e sugestões apresentadas para a melhoria da qualidade deste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro recebido na forma de bolsa de estudo.

À indústria de processamento de erva-mate Leão Junior, pela cessão do resíduo de infusão de erva-mate.

À JICA (Japan International Cooperation Agency), pela bolsa de estudo concedida pra a realização de estágio no Japão.

À Luci Kimie Okino e Marina Capelari, colegas do Instituto de Botânica de São Paulo, pela cessão do inóculo utilizado neste trabalho e pela intensa troca de informações.

Aos amigos Jorge Ferreira Kusdra (pela grande ajuda na parte estatística do trabalho e correção), sua esposa Eliana e filha Raíssa, pelo estímulo, paciência e demonstração de verdadeira amizade em momentos difíceis.

À Dra. Maria Angela Lopes de Almeida Amazonas, pela estágio proporcionado na EMBRAPA-Florestas.

Aos Professores e amigos Antônio Riyoei Higa e sua esposa Rosana; Roberto Tsuyoshi Hosokawa e Nelson Nakajima e esposa Akemi, pela amizade e experiência de vida.

Ao Dr. Atushi Sekiya, da Forestry and Forest Products Research Centre, Tsukuba-shi, Japão, que me orientou, durante o estágio no Japão.

Ao Professor Luíz Pereira Ramos, pela colaboração e ajuda.

Aos produtores japoneses de cogumelos pela calorosa acolhida proporcionada.

Aos produtores de cogumelos, Sr. Ono e família e Dulce Kanematsu, pelas visitas e troca de informação.

Aos técnicos de Laboratório Aldair, Roberto, Rui, Ana e Dona Helda, do Departamento de Solos pela ajuda e cooperação.

Aos técnicos da EMBRAPA-*Florestas* pela ajuda e cooperação.

Ao secretário do Curso de Pós-Graduação Gerson Novicki por mostrar-se sempre muito prestativo nos momentos que precisei.

Aos colegas do Curso, pelos momentos de estudos e descontração.

Aos meus Pais e Irmãos que sempre me compreenderam e me apoiaram nos momentos difíceis.

Enfim, a todos que, embora não citados, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS	vii
	LISTA DE TABELAS	viii
	RESUMO	x
	ABSTRACT	xi
1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS	4
2.2	COGUMELOS COMESTÍVEIS	9
2.2.1	<i>Pleurotus</i> spp.	14
2.3	FERTILIZANTES ORGÂNICOS	29
3	MATERIAL E MÉTODO	34
3.1	LINHAGEM	34
3.2	RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS.....	35
3.3	PREPARO DOS SUBSTRATOS	35
3.4	INOCULAÇÃO DOS SUBSTRATOS	37
3.5	AVALIAÇÕES	38
3.5.1	CRESCIMENTO MICELIAL	38
3.5.2	FRUTIFICAÇÃO	39
3.5.3	ATIVIDADE BIODEGRADADORA	40
3.5.3.1	PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA	40
3.5.3.2	DEGRADAÇÃO DE LIGNINA	41
3.5.3.3	DEGRADAÇÃO DE HOLOCELULOSE	42
3.5.3.4	SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA	43

3.5.3.5	ÍNDICE pH	43
3.5.3.6	NITROGÊNIO TOTAL	44
3.5.4	ANÁLISE DOS RESÍDUOS ISOLADAMENTE	44
3.5.5	ANÁLISE QUÍMICA DOS SUBSTRATOS	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1	CRESCIMENTO MICELIAL	48
4.2	FRUTIFICAÇÃO	53
4.2.1	EFICIÊNCIA BIOLÓGICA	55
4.2.2	PRODUTIVIDADE BIOLÓGICA	55
4.3	ATIVIDADE BIODEGRADADORA	56
4.3.1	PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA	57
4.3.2	DEGRADAÇÃO DE LIGNINA	59
4.3.3	DEGRADAÇÃO DE HOLOCELULOSE	61
4.3.4	SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA	63
4.3.5	ÍNDICE pH	64
4.3.6	NITROGÊNIO TOTAL	67
4.4	ANÁLISE DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO	70
4.6	ANÁLISE QUÍMICA DOS SUBSTRATOS EXAURIDO	72
5	CONCLUSÕES	82
	APÊNDICE	84
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE FIGURAS

1	CRESCIMENTO MICELIAL DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NOS DIFERENTES SUBSTRATOS	49
2	VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA DO AR NO PERÍODO DE FRUTIFICAÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) .	54
3	INFLUÊNCIA DO pH NA VELOCIDADE MICELIAL DOS SUBSTRATOS COLONIZADOS PELO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108)	72

LISTA DE TABELAS

1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA APROXIMADA DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADAS	11
2	AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADOS.....	12
3	COMBINAÇÃO DOS DIFERENTES RESÍDUOS NOS DIFERENTES TRATAMENTOS, EM PROPORÇÃO, CALCULADOS COM BASE DE PESO SECO DOS MATERIAIS	36
4	ANÁLISE QUÍMICA DA SERRAGEM DE <i>Pinus</i> spp., RESÍDUO DE INFUSÃO DE ERVA-MATE E FARELO DE ARROZ UTILIZADOS NO TRABALHO	46
5	VELOCIDADE MICELIAL, TOTAL DE DIAS PARA COMPLETAR O CRESCIMENTO NOS FRASCOS, PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA, EFICIÊNCIA E PRODUTIVIDADE BIOLÓGICA DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NOS DIFERENTES SUBSTRATOS	58
6	EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NO TEOR DE LIGNINA DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO, POSTERIORES À COLHEITA DOS COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA	59
7	EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NO TEOR DE HOLOCELULOSE DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO, POSTERIORES À COLHEITA COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA	62

8	EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NO TEOR DE SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO, POSTERIORES À COLHEITA DOS COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA	64
9	EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NO DE pH DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO E POSTERIORES À COLHEITA DOS COGUMELOS	65
10	EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108) NO TEOR DE NITROGÊNIO DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO, POSTERIORES À COLHEITA DOS COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA	68
11	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO LINEAR E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS AVALIADOS. INTERAÇÃO ENTRE 45 PARES DE PONTOS (9 TRATAMENTOS X 5 REPETIÇÕES)	71
12	TEORES DE MATÉRIA ORGÂNICA, LIGNINA, HOLOCELULOSE E SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108)	75
13	TEORES DE CARBONO TOTAL, MATÉRIA ORGÂNICA, NITROGÊNIO TOTAL E VALORES DE pH e C/N NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108)	76
14	TEORES DOS MACRONUTRIENTES (P, K, Ca E Mg) NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108)	79
15	TEORES DOS MICRONUTRIENTES (Fe, Mn, Cu E Zn) NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO <i>Pleurotus ostreatus</i> (CCB 108)	82

PRODUÇÃO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus* EM RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS E AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO SUBSTRATO EXAURIDO VISANDO SUA UTILIZAÇÃO COMO FERTILIZANTE ORGÂNICO ¹

Autor: Edson Kenji Kohari

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Pereira de Campos Carvalho

RESUMO

O presente trabalho foi executado com o objetivo de investigar a produção do fungo comestível *Pleurotus ostreatus* Jacq.(Fries) (CCB 108) em serragem de *Pinus* spp. e no resíduo de infusão de erva-mate (*Ilex paraguayensis* St. Hil.), e ainda, avaliar a degradação biológica e as características químicas visando a possibilidade de utilização do substrato exaurido, após a produção dos cogumelos, como fertilizante orgânico. Os parâmetros avaliados para a produção de cogumelos foram crescimento micelial, eficiência biológica e produção biológica. Para os estudos da degradação dos substratos foram analisados a perda de matéria orgânica, a degradação de lignina, a degradação de celulose, o teor de sais solúveis em água, teor de nitrogênio total e o pH. No substrato exaurido fez-se análises de macro e micronutrientes. Concluiu-se que, através da tecnologia de produção de cogumelos é possível aproveitar os resíduos lignocelulósicos de maneira mais racional na produção de *P. ostreatus* e o resíduo exaurido após a produção dos cogumelos pode ser utilizado na produção de fertilizante orgânico, devido a suas características químicas. Dessa forma, pode-se contribuir para a diminuição do impacto ambiental causado pelo manejo inadequado dos resíduos lignocelulósicos no meio ambiente.

¹ Dissertação de Mestrado em Agronomia - Área de Concentração Ciência do Solo
Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná
Curitiba - PR, Junho, 2000, 105 p.

PRODUCTION OF THE EDIBLE MUSHROOM *Pleurotus ostreatus* IN FOREST WASTES AND STUDIES OF CHARACTERISTICS OF THE SPENT MUSHROOM COMPOST TO POSSIBILITIES USE AS ORGANIC FERTILIZER¹

Author: Edson Kenji Kohari

Adviser: Prof. Dr. Francisco José Pereira de Campos Carvalho

ABSTRACT

The present work was performed in order to investigate the production of *Pleurotus ostreatus*, an edible mushroom, on *Pinus* spp. sawdust and mate tea (*Ilex paraguayensis* St. Hil.) leaf waste and yet to evaluate the reuse of the spent mushroom substrate as an organic fertilizer. The evaluated parameters were mycelial growth, efficiency and biological production. To substrate degradation were analysed for organic matter loss, lignin and holocellulose degradation, water soluble salts, total nitrogen and pH. The use of the present technology is possible for edible mushroom production on lignocellulosic wastes and yet reuse the spent mushroom compost as an organic fertilizer. This technology also contributes to diminish environmental impacts of lignocellulosic wastes use in the nature.

¹ M. Sc. Dissertation in Agronomy - Area of Concentration Soil Science
Section of Agrarian Science - Federal University of Parana
Curitiba - PR, June, 2000, 105 p.

1 INTRODUÇÃO

A geração de resíduos florestais e agrícolas no Brasil demonstra valores expressivos e crescentes ano a ano. Dessa forma, devido as enormes quantidades de resíduos gerados, deve-se considerar seriamente a sua utilização na cadeia produtiva, pois além de representarem um problema econômico através de seu desperdício, representam também sérios problemas ambientais (COSTA, 1994).

Os resíduos gerados pelas indústrias agroflorestais e alimentícias, são geralmente, ricos em matéria orgânica principalmente celulose, hemicelulose e lignina. Esses componentes, altamente resistentes à degradação biológica são responsáveis por graves problemas de poluição devido ao manejo inadequado pois são queimados, jogados em cursos d'água ou simplesmente desprezados (MAZIERO, 1990).

Somente na Região Sul, estima-se que a produção de serrados de pinus venha a atingir 8 milhões de metros cúbicos no ano 2000. O resíduo gerado então, somente na cadeia produtiva de indústrias madeireiras é estimado em 21 milhões de metros cúbicos por ano (TOMASELLI, 1997).

A Região de Curitiba concentra as principais indústrias de erva-mate no Brasil. Somente em uma indústria, é gerado mensalmente 35 toneladas de massa seca de resíduo de infusão de erva-mate, sendo este totalmente descartado.

Dentre os processos que utilizam microrganismos para a transformar estes resíduos lignocelulósicos em produtos úteis, a produção de cogumelos é particularmente a mais efetiva (CHANG, 1996). Neste processo, são produzidos alimentos (os cogumelos) com alto valor nutricional, ricos em proteínas, fibras, sais

minerais, vitaminas e com baixos teores de lipídeos e carboidratos (ATTHASANPUNNA & CHANG, 1994). Além disso, os cogumelos possuem compostos bioativos com propriedades medicinais reconhecidas pelas culturas orientais, principalmente China e Japão (JONG & DONOVICK, 1989).

O cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* é um fungo xilófago, saprófita e agente primário da decomposição da madeira, possuindo a habilidade de quebrar a cadeia de celulose e lignina, sem uma prévia preparação química ou biológica como a fermentação (ZADRAZIL, 1978).

No Brasil, este fungo é conhecido como "cogumelo gigante", "caetetuba", ou ainda "hiratake" ou "shimeji" pela colônia japonesa, e o seu cultivo concentra-se principalmente na região metropolitana de São Paulo. Atualmente, ele é produzido em substrato composto por serragem de eucalypto suplementado com farelo de arroz e farelo de milho. No Japão, a forma comercializada como shimeji é produzida em substrato à base de serragem de coníferas como *Pinus* spp. e *Criptomeria japonica* devido ao seu baixo custo e suplementado com resíduo de soja e farelos de arroz e trigo.

Após o cultivo dos cogumelos, o substrato exaurido pode ser utilizado como ração animal (ORTEGA-CERRILLA *et al.*, 1986; GAMBLE *et al.*, 1994), fertilizante orgânico (WANG *et al.*, 1984a; CHANG, 1980), condicionador do solo (WANG, *et al.*, 1984b; ATTHASANPUNNA & CHANG, 1994), substrato para plantas ornamentais (CHONG & RINKER, 1994), substrato para mudas de hortaliças (WANG *et al.*, 1984b) e ainda, de acordo com MILES & CHANG (1997), o composto exaurido também pode ser utilizado em processos de bioremediação e limpeza de águas e solos contaminados com poluentes orgânicos.

Se a espécie cultivada for *Pleurotus* spp., o substrato exaurido tem grande potencial para ser utilizado como substrato para mudas ou no tratamento de solos infestados de nematóides pois, segundo THORN & BARRON (1984) e BARRON & THORN (1986), este gênero possui a capacidade de predação dos nematóides, podendo ser utilizado no controle biológico destes.

Justificativa e Objetivos:

Devido aos grandes volumes de resíduos florestais gerados nesta região, principalmente de *Pinus* spp. e do resíduo de erva-mate, aliado ao grande aumento da procura do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (shimeji) e de alimentos orgânicos, faz-se necessária a busca de alternativas práticas e rentáveis para o aproveitamento desses materiais. Dessa forma, além do aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos na produção de alimentos, o resíduo exaurido após o cultivo de *P. ostreatus* possui ainda atributos químicos, físicos e biológicos importantes que não podem ser desprezados.

Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram:

- verificar a viabilidade da utilização da serragem de *Pinus* spp. e resíduo de infusão de erva-mate, disponíveis em grande quantidade na Região Metropolitana de Curitiba na produção do cogumelo *Pleurotus ostreatus* e,
- avaliar as características do substrato exaurido após a produção dos cogumelos visando o aproveitamento na produção de composto orgânico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

A crescente geração de resíduos é um dos problemas mais graves no mundo inteiro. É um problema que se agrava cada vez mais devido ao grande aumento populacional, principalmente pela necessidade de aumento na produção de alimentos e energia. Conseqüentemente, há um aumento do volume de resíduos gerados, que causam danos ao homem e ao meio ambiente (MAZIERO, 1990).

Estes resíduos são ricos em matéria orgânica, principalmente por celulose, hemicelulose e lignina e por isso são denominados "lignocelulósicos". Sua composição pode variar de acordo com o material, possuindo de 10 a 20% de lignina, 20 a 30 % de hemicelulose e 50% ou mais de celulose (CHANG, 1980).

A celulose, de acordo com RAJARATHNAM *et al.* (1992), é o biopolímero mais abundante no planeta e o principal componente da parede celular das células vegetais. É um polímero linear de D-glucose ligadas por ligações glucosídicas β 1,4.

A hemicelulose é um conjunto de polissacarídeos da parede celular que estão associados com a celulose e tecidos lignificados. É composta por vários açúcares como, hexoses, pentoses, ácidos urônicos e outros açúcares mais simples (RAJARATHNAM *et al.*, 1992).

A lignina é o segundo polímero mais abundante da biosfera, só ficando atrás da celulose. É um polímero de alto peso molecular, amorfo, tridimensional, heterogêneo, altamente interligado e de estrutura complexa (LIN & DENCE, 1992). Ela é sintetizada a partir de três precursores fenilpropanóides

monoméricos: álcool sinapil, álcool coniferil e álcool cumaril. Estas unidades monoméricas são geralmente encontradas formando ligações covalentes (éter ou ester) com os polissacarídeos da parede celular (HARTLEY & FORD¹ citado por CAPELARI, 1996). Estas ligações são altamente resistentes a degradação química e poucos são os microrganismos que conseguem utilizar esta substância para a sua nutrição (MASON² citado por MAZIERO, 1990).

De acordo com SOUZA (1997), os resíduos agrícolas e florestais de maior importância econômica para o Brasil são o bagaço de cana-de-açúcar, a casca de arroz e a serragem de madeiras. Devido aos valores expressivos destes resíduos deve-se considerar a sua utilização na cadeia produtiva.

Gera-se, anualmente 3 milhões de toneladas de casca de arroz, 60 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar e em torno de 23 milhões de toneladas de resíduos florestais (serrarias) (SOUZA, 1997).

O setor agrícola já utiliza boa parte da casca de arroz, principalmente na produção de energia através da queima e na cama de aviários, currais e estábulos. O bagaço de cana-de-açúcar é utilizado quase que totalmente pelas usinas de açúcar e álcool, na geração de energia (SOUZA, 1997).

Na indústria madeireira, os resíduos são constituídos principalmente por serragem, costaneiras, pontas, lascas, cascas e maravalhas. Somente a serragem gerada anualmente, constitui 6,3 milhões de toneladas que é utilizada principalmente na geração de energia pela queima, na cama de aviários ou como complemento orgânico para o solo (SOUZA, 1997)..

¹ HARTLEY, R.D.; FORD, C.W. Phenolic constituents of plant cell walls and wall biodegradability. In: Lewis, N.G.; Paice; M.G. **Biogenesis and biodegradation of plant cell polymers**, ACS Symposium Series, v. 399, p.137-145, 1989.

² MASON, C.F. **Decomposição**. São Paulo, EPU: EDUSP (Temas de Biologia, 18), 1980.

Na Região Metropolitana de Curitiba, o resíduo é gerado principalmente pelas indústrias madeireiras especializadas no desdobramento de madeira de *Pinus spp.*. Somente nesta região, é gerado diariamente uma quantidade muito grande de serragem, aparas e sobras do desdobramento. As sobras de maior porte são queimadas na própria serraria, na secagem da madeira serrada ou são comercializadas para essa finalidade. A serragem, devido ao seu elevado teor de umidade é totalmente desprezada, constituindo grande problema pois, além de não possuir valor comercial, ocupam um grande volume no pátio dessas serrarias (KOHARI, 1997).

Outra fonte de resíduos lignocelulósicos de grande importância são aqueles provenientes dos restos de culturas e do beneficiamento dos produtos agrícolas. Normalmente estes resíduos são simplesmente deixados no campo para que ocorra o processo de decomposição e a reposição natural dos nutrientes, sendo porém demorada (SOUZA, 1997).

A intensa industrialização agrícola e florestal gera também uma quantidade imensa de resíduos e subprodutos de pouco valor comercial. Estes restos vegetais e animais e os subprodutos das agroindústrias são normalmente desprezados e depositados de maneira inadequada ou simplesmente queimados, sendo um importante fator de poluição ambiental (KOHARI *et al.*, 1997) e, quando utilizadas como cobertura morta, sofrem um processo de decomposição natural que é demorada.

Uma indústria de Curitiba gera em torno de 35 toneladas de massa seca mensais do resíduo de infusão de erva-mate. Este é composto principalmente por folhas e talinhos de erva-mate queimados e triturados, de onde fora extraído o xarope. O resíduo é completamente descartado pela indústria (KOHARI, 1997).

Na natureza, esses materiais são degradados por bactérias e fungos, embora poucas espécies de bactérias são capazes de degradar completamente paredes celulares lignificadas.

De acordo com ZIMMERMANN³ citado por CAPELARI (1996), para a completa decomposição da lignina é necessária uma complexa interação de bactérias e fungos.

A degradação bacteriana de lignina ocorre principalmente em condições aeróbias. Em anaerobiose, a degradação é lenta e limitada a compostos de lignina de baixo peso molecular. As principais bactérias estudadas que atuam na degradação de lignina pertencem aos gêneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Beijerinckia*, *Aeromonas* e *Erwinia*. Os actinomicetos também tem capacidade de degradar compostos aromáticos relacionados com a lignina, porém a eficiência de degradação é baixa quando comparada com os fungos de podridão branca.

Os principais actinomicetos estudados são *Streptomyces*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter* e *Thermomonospora* (ZIMMERMANN citado por CAPELARI, 1996).

Os mais eficientes degradadores naturais de lignina são os fungos de podridão branca. Dependendo do tipo de podridão causada, eles podem ser divididos em três grupos: fungos de podridão branca, fungos de podridão parda e fungos de podridão "mole" (RYPACEK⁴ citado por CAPELARI (1996). De acordo com CAPELARI (1996), essa classificação deriva da coloração e do aspecto que

³ ZIMMERMANN, W. Minireview. Degradation of lignin by bacteria. *Journal of Biotechnology*, v. 13, p. 119-130, 1990.

⁴ RYPACEK, V. *Biologie holzzerstörenden Pilze*. VEB Gustav Fisher : Verlag, Jena, 1966.

as madeiras adquirem em fases avançadas de degradação. Nos fungos de podridão branca a maioria pertence a classe dos basidiomicetos. Estes degradam celulose, hemicelulose e lignina. Sendo os únicos capazes de metabolizar completamente a molécula de lignina a CO^2 e água. Os fungos de podridão parda são basidiomicetos e ascomicetos, nesta podridão a madeira adquire coloração amarronzada e consistência quebradiça. Na podridão parda, os polissacarídeos são degradados porém a lignina é apenas modificada. Os causadores da podridão "mole" são principalmente ascomicetos e deuteromicetos que colonizam madeiras com excessiva umidade (RYPACEK citado por CAPELARI, 1996).

Além dessa capacidade de degradação do complexo celulose-lignina, em áreas industrializadas onde os solos são freqüentemente contaminados com uma grande quantidade de poluentes, como compostos à base de petróleo, metais pesados, pesticidas, policlorofenóis ou resíduos radioativos, os fungos do gênero *Pleurotus* spp. tem a habilidade de reduzir hidrocarbonetos complexos em compostos elementares que não são tóxicos ao meio ambiente (STAMETS, 1995).

Estes sub-produtos das atividades agrícolas, florestais ou industriais normalmente não tem grande valor comercial ou alimentar na sua forma original. Quando são queimados, jogados em cursos d'água ou dispostos em locais inadequados ocasionam graves problemas de poluição. Entretanto, se houver um processo onde seja possível o aproveitamento desses materiais na produção de alimentos e o retorno do material já decomposto e mineralizado ao solo, os problemas de poluição seriam minimizados (MAZIERO, 1990).

De acordo com CHANG & MILES (1984) cerca de 2,5 bilhões de toneladas de palha de cereais são produzidos anualmente no mundo e se um quarto dessa quantidade fosse destinada à produção de cogumelos comestíveis poderia-se suprir durante um ano a população de 4,4 bilhões de pessoas (FAO PRODUCTION YEARBOOK, 1985) com uma dieta diária "per capita" equivalente a 197g de cogumelo fresco; além da produção, ao final do processo de 190 milhões de toneladas de fertilizante orgânico.

A produção de cogumelos é particularmente uma forma efetiva de tecnologia em que, além de solucionarmos o problema ambiental, agrega-se valores aos resíduos lignocelulósicos, transformando-os em alimento muito saudável, rico em proteínas, sais minerais, fibras, vitaminas e baixa caloria. Eles podem ser cultivados em uma ampla variedade de resíduos lignocelulósicos e o substrato exaurido pode ainda ser utilizado como ração animal ou condicionador do solo (ATTHASANPUNNA & CHANG, 1994 e CHANG, 1980). Além disso, o resíduo exaurido pode ser utilizado na biorremediação de compostos com hidrocarbonetos complexos transformando-os em compostos elementares que não são tóxicos ao meio ambiente (STAMETS, 1993).

2.2 COGUMELOS COMESTÍVEIS

De acordo com BONONI *et al.* (1995), o termo cogumelo, em português, pode ser utilizado como sinônimo de fungo, porém de uma forma geral, é utilizado para designar um tipo macroscópico com formato de guarda chuva. Tecnicamente, segundo CHANG & MILES (1997), os cogumelos são corpos de

frutificação distintos que comumente ocorrem em fungos da classe Basidiomycetes e, algumas vezes, na classe dos Ascomycetes.

De acordo com LINCOFF⁵ e KENDRICK⁶, citados por CHANG (1996) aproximadamente 50% dos cogumelos conhecidos são comestíveis, 18% medicinais, 10% venenosos e os 22% restantes permanecem com suas propriedades ainda indefinidas. Porém, o mais importante de tudo, é o papel decompositor dos fungos na natureza, pois sem eles a reciclagem da matéria orgânica na natureza estaria prejudicada, dificultando as diversas formas de vida (STAMETS, 1995; BONONI *et al.*, 1995).

Estima-se que haja ao redor de 200.000 espécies de fungos, sendo que destes 2.000 possuem potencial para serem comestíveis, porém somente 25 são comumente utilizados na alimentação humana. Os mais cultivados atualmente são *Agaricus spp.* (37,7%), *Lentinula edodes* (16,8%), *Pleurotus spp.* (16,3%), *Auricularia spp.* (8,5%), *Volvariella volvacea* (6,1%) e *Flammulina velutipes* (4,7%) CHANG & MILES (1984). Destas, somente *Agaricus* e *Pleurotus* são cultivadas no mundo inteiro (CHANG, 1996).

Nutricionalmente, os cogumelos constituem excelente fonte alimentar e sua composição varia com a espécie e também com o tipo de substrato utilizado no seu cultivo (BONONI *et al.*, 1990; STURION *et al.*, 1995). A tabela 1 adaptada, mostra a composição química aproximada dos principais cogumelos cultivados, com base de peso seco, segundo CRISAN & SANDS (1978) e LI & CHANG (1982).

⁵ LINKOFF, G.H. **Guide to mushrooms**. New York: Simon and Schuster, 1981.

⁶ KENDRICK, B. **The fifth kingdom**. Waterloo: Mycologue Publication, 1985.

Como pode ser visto na tabela 1, os cogumelos tem um alto teor de proteínas. Se comparado com outros alimentos, os cogumelos só possuem teor de proteína menor que a soja, dentre os vegetais, e se compara com os produtos de origem animal (BONONI *et al.*, 1995).

TABELA 1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA APROXIMADA DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADAS.*

Espécie	Proteínas (N X 4,38)	Gorduras	Carboidratos	Fibras	Cinzas	Valor energético
<i>Agaricus bisporus</i>	23,9-34,8	1,7-8,0	44,0-53,5	8,0-10,4	7,7-12,0	328-368
<i>Auricularia sp.</i>	4,2	8,3	82,5	19,8	4,7	351
<i>Falmmulina velutipes</i>	17,6	1,9	73,1	3,7	7,4	378
<i>Lentinula edodes</i>	13,4-17,5	4,9-8,0	67,5-78,0	7,3-8,0	3,7-7,0	387-392
<i>Pleurotus ostreatus</i>	10,5-30,4	1,6-2,2	57,6-81,2	7,5-8,7	6,1-9,8	345-367
<i>Volvariella volvacea</i>	25,9	2,4	-	9,3	8,8	276

* Elaborada conforme os dados de Crisan e Sands (1978) e Li & Chang (1982). Os dados foram convertidos em porcentagem de peso seco e o valor energético em Kcal por 100 gramas de peso seco.

Quanto a qualidade, os cogumelos contêm todos os nove aminoácidos essenciais para o homem (tabela 2 adaptada de CHANG *et al.*, 1989) e alguns não essenciais; contêm também minerais, como cálcio, potássio, iodo e fósforo; e vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, ácido ascórbico e vitaminas do complexo B (BONONI *et al.*, 1995).

TABELA 2 AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADOS ¹.

Aminoácidos	<i>A. bisporus</i>	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>V. volvacea</i>
Leucina	7,5	7,9	6,8	4,5
Isoleucina	4,5	4,9	4,2	3,4
Valina	2,5	3,7	5,1	5,4
Triptofano	2,0	nd	1,3	1,5
Lisina	9,1	3,9	4,5	7,1
Treonina	5,5	5,9	4,6	3,5
Fenilalanina	4,2	5,9	3,7	2,6
Metionina	0,9	1,9	1,5	1,1
Histidina	2,7	1,9	1,7	3,8

¹ Elaborada conforme os dados de Chang *et al.* (1989). Os dados foram convertidos em gramas de aminoácidos por 100 gramas de proteínas, nd = não determinado.

Uma outra característica muito importante dos cogumelos, em geral, é a de possuírem compostos bioativos com propriedades medicinais, reconhecidas pelas culturas orientais, principalmente China e Japão (JONG & DONOVICK, 1982). Vários terpenóides, triterpenóides e polissacarídeos vem sendo isolados de basidiocarpos e micélio de "reishi", *Ganoderma lucidum* (NISHITOBA *et al.*, 1985; SONE *et al.*, 1985; NISHITOBA, 1987; NISHITOBA *et al.*, 1988; KAWAGISHI *et al.*, 1989; JONG & BIRMINGHAM, 1992; MIZUNO *et al.*, 1997); "songhan lingzhi", *Ganoderma tsugae* (JONG & BIRMINGHAM, 1992; WANG *et al.*, 1993; MIZUNO *et al.*, 1997); polissacarídeos com atividades antitumorais de "kofukitake", *Ganoderma applanatum* (USUI *et al.*, 1981); de "shiitake", *Lentinula edodes* (CHIHARA *et al.*, 1969; CHIHARA *et al.*, 1970; MAEDA & CHIHARA, 1971; HAMURO & CHIHARA, 1973); de *Tricholoma* sp. (LIU *et al.*, 1995); do brasileiro "himematsutake", *Agaricus*

blazei (KAWAGISHI *et al.*, 1989; MIZUNO *et al.*, 1990); complexos polissacarídeos-proteína com atividade imunomodulatória e antitumoral de "kawaratake", *Coriolus versicolor*, PSK para SAKAGAMI & TAKEDA (1993) e PSP para YANG *et al.* (1993).

PSK é amplamente prescrito, no Japão, para o tratamento de câncer do órgão digestivo, enquanto que PSP é descrito por eliminar a função imunossupressiva associada com a quimio e radioterapia utilizadas no tratamento de câncer (MILES & CHANG, 1997).

Em recentes estudos, de acordo com GUNDE-CIMERMAN *et al.* (1995), *Pleurotus ostreatus* e espécies correlatas produzem naturalmente Lovastatin® (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzymeA-reductase), uma droga aprovada pela agência que controla medicamentos nos Estados Unidos (FDA) em 1987, para tratamento de altas taxas de colesterol no sangue.

No passado, a indústria de cogumelos concentrou-se principalmente na produção de cogumelos frescos, enlatados e secos como fonte de alimento. Em 1991, o valor da produção mundial de cogumelos foi estimado em 8,5 bilhões de dólares. Entretanto, no mesmo ano 1,2 bilhões de dólares foi estimado ter sido gerado dos produtos derivados de cogumelos. PSK somente, foi reportado ser a droga anticâncer mais vendida no Japão em 1987, tendo vendas anuais que totalizaram 358 milhões de dólares (PAI *et al.*, 1990) e foi responsável por 25,2% do total de drogas anticâncer comercializadas neste país.

No Brasil, o principal cogumelo conhecido e cultivado é o "champignon de Paris" (*Agaricus bisporus*). Seu cultivo iniciou-se em 1953 em Mogi das Cruzes (SP), com a vinda de imigrantes de Taiwan (BONONI *et al.*, 1995). Atualmente, a maior produção concentra-se na região de Jundiaí, responsável por 1/4 da

produção nacional e responsável por 1000 toneladas anuais segundo o produtor Sr. VASONE⁷.

Antigamente, os materiais utilizados como substratos consistiam de palha de arroz e esterco de cavalo, porém vem sendo substituídos por materiais mais baratos e disponíveis como o bagaço de cana e o esterco de galinha (BONONI *et al.*, 1995).

2.2.1 *Pleurotus* spp..

O gênero *Pleurotus* pertence ao grupo de fungos saprófitas de zonas temperadas, subtropicais e tropicais, muito freqüentes nas matas brasileiras. Seu modo de vida é como decompositor primário da matéria vegetal, principalmente de madeiras, sendo então facilmente encontrado em florestas de todo o mundo (BONONI *et al.*, 1995).

A taxonomia do gênero *Pleurotus* é ainda confusa e foi baseada na morfologia e afinidades entre as espécies, até as décadas passadas (EGER, 1978). Atualmente, técnicas mais avançadas estão sendo adotadas, como estudos bioquímicos e de biologia molecular. Estudos de eletroforéticos de isoenzimas e análise de DNA estão sendo adotadas na sistemática de fungos na tentativa de esclarecer a taxonomia (RAJARATHNAM & BANO, 1987; TOYOMASU & MORI, 1987; CAPELARI⁸, informação pessoal). De acordo com

⁷ Sr. VASONE. Visita a produção de champignons no município de Cabreúva, SP. Cabreúva, 2000. Entrevista concedida a Edson Kenji Kohari, em 19 de Janeiro de 2000.

⁸ Doutora Marina Capelari, Pesquisadora do Instituto de Botânica de São Paulo, atualmente está conduzindo um trabalho de pesquisa que envolve o estudo da taxonomia de fungos do gênero *Pleurotus*.

⁹ HOLMES, S. **Outline of plant classification**. London: Longman, 1983.

HOLMESⁱ citado por MAZIERO (1990), a espécie *Pleurotus ostreatus* apresenta a seguinte classificação biológica:

REINO: Fungi

DIVISÃO: Eumycota

SUBDIVISÃO: Basidiomycotina

CLASSE: Hymenomycetes

ORDEM: Aphyllophorales

FAMÍLIA: Polyporaceae

GÊNERO: *Pleurotus*

ESPÉCIE: *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) Kummer.

A grande habilidade desse fungo crescer e frutificar em vários tipos de resíduos lignocelulósicos e amplitude de temperaturas, segundo RAJARATHNAM & BANO (1989), pode ser atribuída a sua capacidade de secretar enzimas celulolíticas, hemicelulolíticas, lignocelulolíticas e proteolíticas. Além dessas enzimas, segundo TOMATTI *et al.* (1991) e PALMIERI *et al.* (1993), este gênero secreta fenoloxidasas, peroxidases, catalases e lacases, enzimas responsáveis pela oxidação dos compostos fenólicos presentes nestes resíduos, transformando-os em compostos menos tóxico ao fungo.

De acordo com RAJARATHNAM & BANO (1989), as celulasas degradam a celulose à celobiose, e outra enzima, a beta-glucosidase, degrada a celobiose a glucose. As xilanases, arabinases e manases (hemicelulasas) degradam a hemiceluloses produzindo xilose, arabinose, manose e glucose.

KEREM & HADAR (1993) sugerem que uma peroxidase acética, uma peroxidase neutra e uma veratril oxidase são as enzimas produzidas pelo gênero *Pleurotus*, responsáveis pela degradação da lignina. KIRK *et al.*(1981) considera

porém, as enzimas do grupo das lacases e Mn-peroxidases as mais importantes produzidas pelos fungos de podidão branca e utilizadas no metabolismo degradativo da lignina.

Muitas são as espécies cultivadas dentro do gênero *Pleurotus*, sendo que, antes de ser cultivado, este cogumelo fazia, e ainda faz, parte dos fungos coletados nas florestas da Europa pelos "gourmets" no preparo de pratos especiais (MAZIERO, 1990).

Dentre os cogumelos do gênero *Pleurotus*, todas as espécies conhecidas são comestíveis, e várias são comercialmente cultivadas, sendo a espécie *P. ostreatus*, a mais popular e mais cultivada. Esta espécie é típica de regiões temperadas, possuindo píleo de coloração escura azul-acinzentada e necessita de temperatura mais baixas para frutificação (15-17°C) sendo, no Brasil, produzida normalmente no inverno e por ser a espécie preferida para a comercialização. *P. ostreatus* "florida" e *P. pulmonarius* frutificam com temperaturas mais altas (22-25°C), têm coloração branca e amarronzada, respectivamente; sendo seu cultivo no Brasil mais adequado nos meses de verão. *P. eryngii* é produzido no Japão (KOHARI, 1999) e *P. flabellatus* na Tailândia (CHANG, 1984) não sendo cultivadas ainda no Brasil (CAPELARI, 1996).

Os principais produtores de *Pleurotus* são China, Coréia do Sul, Itália, Japão, Taiwan, Alemanha e França (OLIVIER *et al.*, 1991). Mas também são cultivados em menor escala em alguns países da África como Quênia, Zimbábue e África do Sul (OKHUDYA & ETUGO, 1992), e Estados Unidos (ROYSE, 1992).

Em 1990, a produção mundial de *Pleurotus* spp. alcançou um milhão de toneladas métricas, sendo responsável por 24% da produção mundial de cogumelos comestíveis (ROYSE, 1992).

No Brasil, *Pleurotus* começou a ser produzido na década de 70, na forma de "hiratake"⁹, mas de maneira incipiente e artesanal, pois apesar de ter um sabor bem suave e que adapta-se bem ao paladar do povo brasileiro, essa forma possui um tempo de prateleira muito restrito, além de ser pouco conhecido pela população. CAPELARI (1986) isolou *Pleurotus ostreatusroseus* nativo da Floresta Tropical Atlântica e, a partir deste isolado, BONONI *et al.* (1991) cultivaram pela primeira vez este cogumelo no Brasil. De acordo com estas autoras, esse cogumelo teve boa aceitação no mercado devido suas características morfológicas e seu sabor agradável, tendo porém, produtividade muito pequena quando comparada com outras espécies de *Pleurotus* cultivadas por MAZIERO *et al.* (1992) no Brasil.

O grande aumento de produção do *Pleurotus* só aconteceu na década de 90, devido ao intenso trabalho de divulgação e a produção de uma forma com cogumelos colhidos menores, o "shimeji"¹⁰, mais chamativos e que se mantêm por mais tempo na geladeira. Outro fator que alavancou o cultivo é o fato que os cogumelos são considerados alimentos naturais, isto é, seu cultivo baseia-se no uso de produtos naturais, não havendo a necessidade de utilização de produtos químicos ou defensivos agrícolas.

De acordo com o Professor Shu Ting Chang¹¹, durante um curso sobre tecnologias de cogumelos, em 1997, *Pleurotus spp.* é o mais indicado para o início de um cultivo, pois possuem ciclos de produção muito rápidos, são

¹⁰ Forma de cogumelo comercializado em estágio adulto com pileo aberto e individualizados.

¹¹ Forma de cogumelo comercializado em cachos, com cogumelos no estágio jovem, pequenos, compridos e geralmente com coloração cinza escura.

¹² Curso de Biodiversidade e Biotecnologia de Cogumelos Comestíveis e Medicinais - *CNPFFlorestas*, realizado de 07 à 19/09/1997, em Colombo - PR.

adaptados a grande amplitudes de temperatura e crescem em vários tipos de resíduos lignocelulósicos.

No Japão, durante um estágio de três meses, sobre o cultivo e utilização de novas tecnologias de produção de cogumelos comestíveis, KOHARI (2000) constatou que um ciclo de produção em um grande produtor de *P. ostreatus*, shimeji, durava 28 dias. É um sistema de produção totalmente automatizado e de alto nível tecnológico onde é produzido diariamente 1000 kilogramas de cogumelos frescos.

No Brasil, na região de Mogi das Cruzes - SP, a produção de shimeji é baseada no sistema japonês, com adaptações, e com um custo muito mais baixo que no Japão, tendo porém um ciclo mais longo, demorando cerca de 35 dias e um rendimento muito menor (KOHARI, 1999).

2.2.1.1 NECESSIDADES NUTRICIONAIS

Para o cultivo de *Pleurotus*, teoricamente, qualquer material lignocelulósico é passível de utilização, e vários têm sido testados experimentalmente, principalmente com matéria-prima local, visando sempre a diminuição dos custos e o aproveitamento de resíduos lignocelulósicos. Dentre os materiais testados tem-se: casca de árvores decíduas e resinosas (IMBERNOM *et al.*, 1977), bagaço de cana-de-açúcar com ou sem suplementos (ALUM & KHAN, 1989; MAZIERO, 1990; MARTÍNEZ-CARRERA *et al.*, 1990; BONONI *et al.*, 1991; ABE *et al.*, 1992; CEDANO *et al.*, 1993), bagaço de *Agave tequilana* (GUZMÁN-DÁVALOS *et al.*, 1987), casca de arroz (ZADRAZIL, 1980; MEHTA & JANDAİK, 1989), caules de junco e girassol (ZADRAZIL, 1980), folhas e caules de bananeira (RANZANI *et al.*,

1996), palhas de arroz; (CHANG *et al.*, 1981; KHANNA & GARCHA, 1981; SINGH, 1981; BEIG & JANDAİK, 1989 e MEHTA & JANDAİK, 1989), palha de cevada (ZADRAZIL, 1978; RINKER, 1989), palhas de feijão e soja (PAL & PAUL, 1985), palha de trigo (ZADRAZIL & SCHNEIDERREIT, 1972; IMBERNOM *et al.*, 1977; ZADRAZIL, 1978; BEIG & JANDAİK, 1989), plantas aquáticas (SINGH *et al.*, 1989), resíduos de algodão (CHANG *et al.*, 1981; TAN, 1981; LEONG, 1984), resíduos de folhas de óleos essenciais (MARTINEZ-CARRERA *et al.*, 1986), sabugo de milho; IMBERNOM *et al.*, 1977; BEIG & JANDAİK, 1989; MEHTA & JANDAİK, 1989), serragem de *Populus* spp. (EUGENIO & ANDERSON, 1968), serragem de *Eucalyptus* spp. (KOHARI, 1999), serragem de *Pinus* spp. (ISHIGAMI *et al.*, 1986; KOHARI *et al.*, 1997; KOHARI, 2000).

A procura de um substrato mais produtivo é a principal finalidade destas pesquisas, bem como a suplementação destes substratos é também verificada com igual importância.

HAN *et al.* (1976) e HO & HAN (1979) utilizaram o farelo de arroz como suplementação de serragem para melhorar a produtividade.

Segundo IMBERNOM *et al.* (1977), quando é utilizado cascas de madeiras como substrato, deve-se suplementar com palha de trigo ou sabugo de milho para que se obtenha uma maior produtividade, pois quando utiliza-se somente a casca a produtividade é muito baixa.

PLATT *et al.* (1983) cita a utilização de extrato de resíduo de algodão como suplementação da palha de trigo com aumento de produtividade.

A suplementação de farelo de arroz e farelo de alfafa, segundo VISSCHER (1989) melhora a produtividade em substratos a base de palha de trigo e, para algumas linhagens o farelo de alfafa é melhor que o de arroz.

LI-SHING-TAT & JELEN¹² citados por MAZIERO (1990), suplementaram o substrato a base de cavacos de *Populus* spp. com soro residual da produção de queijo tipo "cottage". Entretanto, a presença deste resíduo levou a um alto índice de contaminação devido ao alto teor de nitrogênio.

No Brasil, na região de Mogi das Cruzes, utiliza-se principalmente a serragem de *Eucalyptus* spp. complementada com uma mistura de partes iguais, defarelo de arroz, farelo de trigo e fubá, na proporção de 4:1, na produção de shimeji em garrafas (KOHARI, 1999).

No Japão, KOHARI (2000) constatou alta produtividade de *Pleurotus ostreatus* em serragem de coníferas suplementadas com 20% da mistura farelo de arroz, farelo de trigo e resíduo de soja, que, segundo o produtor entrevistado é a proporção ideal para o cultivo do "shimeji".

Nos últimos anos têm-se procurado testar vários resíduos com a finalidade de se utilizar matéria prima da própria região onde será cultivado o cogumelo, diminuindo o preço de custo (MAZIERO, 1990). Deve-se sempre adequar as tecnologias já existentes, de acordo com as características de cada região, para a diminuição do custo de produção.

2.2.1.2 CARBONO

A principal fonte de carbono e, conseqüentemente de energia de um resíduo vegetal são os polissacarídeos e a lignina da parede celular. Outros

¹³ LI -SHING-TAT, B.; JELEN, P. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on aspen wood shavings with cheese whey supplementation. In: Wuest, P.J.; Royse, D.J.; Beelman, R.B. **Cultivating edible fungi**. Amsterdam, Elsevier, 1987.

compostos poliméricos como lipídeos e proteínas também são utilizados por *Pleurotus* (MAZIERO, 1990).

KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) discutem trabalhos realizados por vários autores sobre a habilidade do *P. ostreatus* em utilizar vários tipos de carboidratos como fonte primária de carbono. Há um consenso nos resultados demonstrando que a arabinose e xilose favorecem menos o crescimento, enquanto que a glicose, galactose manose e frutose favorecem mais.

Segundo RAJARATHNAN *et al.* (1992), durante o crescimento do micélio há um aumento no conteúdo de monossacarídeos redutores e após a frutificação há uma redução. A perda destes açúcares provavelmente está associada á necessidade de energia para a formação dos corpos de frutificação.

Outras fontes de carbono que podem ser utilizadas pelo *Pleurotus* são os óleos e ceras, também presentes nos resíduos vegetais. Porém, de acordo com KURTZMAN (1976a e 1976b), os óleos e ceras são estimulantes em concentrações bem baixas.

Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), os ácidos carbônicos podem ser utilizados como fonte de carbono pelo *Pleurotus*, mas segundo os resultados obtidos, contribuem pouco no crescimento do fungo na fase micelial.

2.2.1.3 NITROGÊNIO

Uma fonte de nitrogênio é essencial para a síntese de proteínas, purinas, pirimidinas e polissacarídeos que constituem a parede celular de muitos fungos (CHANG & MILES, 1989).

A madeira, substrato natural do *Pleurotus*, não possui um conteúdo de nitrogênio muito alto. Portanto, teoricamente a necessidade deste nutriente por parte do fungo não deveria ser muito grande (MAZIERO, 1990). Mesmo assim, vários autores realizaram estudos para verificar a influência no crescimento e na produção dos corpos de frutificação. KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) citam os trabalhos de SRIVASTAVA & BANO (1970), HASHIMOTO & TAKAHASHI (1976), JANDAİK & KAPOOR (1976) e HONG (1978) e concluíram que, de acordo com os resultados apresentados não existe consenso, devido provavelmente a problemas de metodologia. De qualquer forma, alguns dados podem ser retirados como:

. Sais de amônia, nitratos e uréia: quando se utiliza um sal como fonte de nitrogênio, há a liberação do íon podendo ocorrer uma mudança de pH do meio.

A uréia, fosfato de amônia, tartarato de amônia e nitrato de potássio foram as que apresentaram melhores resultados.

. Fontes orgânicas: a peptona foi para todos os autores a que proporcionou melhor crescimento quando comparada com as demais fontes de nitrogênio orgânico. Quanto aos aminoácidos, asparagina, serina, ácido spártico e alalina foram as que proporcionaram os melhores crescimentos.

2.2.1.4 VITAMINAS

Estudos realizados adicionando-se vitaminas (ácido ascórbico, biotina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, inositol, niacina, perodoxamina, peridoxina, riboflavina e tiamina) aos substratos foram realizados por JANDAİK & KAPOOR (1976a) e HASHIMOTO & TAKAHASHI (1976), os quais verificaram que todas as

vitaminas testadas proporcionaram um maior crescimento micelial, mas foi a tiamina a que apresentou melhor resultado.

KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) preconizam a não necessidade de utilização da tiamina ou de outras vitaminas em substratos não estéreis, pois os microrganismos presentes as sintetizam naturalmente. Em substratos estéreis, em que a serragem é utilizada como substrato-base, não é necessário a adição de vitaminas pois essas já são incorporadas no substrato através de complementos nitrogenados como farelo de arroz ou trigo, resíduo de soja, que as contém em grande quantidade (YAMANAKA, 1991; KOHARI, 2000).

2.2.1.5 SAIS MINERAIS

HONG¹³, citado por KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) estudou o efeito de vários sais minerais no crescimento de *Pleurotus*, e verificou que o sulfato de magnésio e o fosfato de potássio dehidrogenado foram os que apresentaram maior efeito.

KURTZMAN & ZADRAZIL (1982) citam também, que além do aumento do crescimento micelial, o cloreto de sódio, de magnésio e de cálcio também estimularam o início da formação dos corpos de frutificação.

¹⁴ HONG, J.S. Studies on the physio-chemical properties and the cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, v. 21, p. 1-40, 1978.

2.2.2 FATORES AMBIENTAIS

2.2.2.1 TEMPERATURA

A influência da temperatura, tanto no crescimento quanto na produção dos corpos de frutificação depende da espécie e das linhagens utilizadas, ou seja, cada espécie ou linhagem deve se encontrar dentro de uma temperatura ideal para o bom funcionamento e metabolismo do fungo.

De qualquer forma, há um intervalo de crescimento micelial que varia de 10 a 40°C; a temperaturas superiores o fungo normalmente morre e, a temperaturas inferiores ocorre a paralização do crescimento em *Pleurotus* (CHANG *et al.*, 1978).

BLOCK *et al.*, (1959), obtiveram um bom crescimento do micélio do *P. ostreatus* no intervalo de 22 a 31°C. A 37°C, o micélio cresceu, mas de forma anormal, enquanto que a 17°C não houve crescimento micelial.

Segundo ZADRAZIL & SCHNEIDERREIT¹⁴ citado por MAZIERO (1990), o intervalo de 20 a 30°C é o que se obteve os melhores resultados no crescimento. Acima de 30°C parece haver um efeito nocivo sobre o crescimento do micélio, que foi confirmado por ZADRAZIL (1978).

KOHARI (2000) observou em um sistema de cultivo de *P. ostreatus*, no Japão, que a temperatura ideal utilizada era em torno de 22°C, pois de acordo com o produtor, o sistema é mantido nessa temperatura por motivos de ordem

¹⁵ ZADRAZIL, F.; SCHNEIDERREIT, M. Die Grundlagen für die Inkulturmahme einer bisher nicht kultivierten *Pleurotus* - Art. *Champignon*, v. 12, p. 25-32, 1972.

econômica, não havendo diferença se este fosse mantido na temperatura de 25°C.

Em *P.ostreatus*, a temperatura de 40°C é letal, quando exposto por mais de 24 horas (ZADRAZIL, 1978). Já *P. sajor-caju*, resiste a temperatura de 45°C por algumas poucas horas (ZADRAZIL & KURTZMAN, 1982).

Também a formação de primórdios a temperatura varia de acordo com a espécie ou linhagem, normalmente sendo um pouco inferior que a temperatura de crescimento micelial (MILES & CHANG, 1997). BLOCK *et al.*(1959) relatam que a linhagem de *P. ostreatus* utilizadas frutificou a 25°C, entretanto, a 31°C não houve mais formação de primórdios. Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), provavelmente os autores acima citados, utilizaram linhagem de *P. ostreatus* “Florida”, pois a temperatura de frutificação a 25°C é muito alta.

Segundo ZADRAZIL & SCHNEIDERREIT citado por MAZIERO (1990), a temperatura ideal para a formação de primórdios em *P. ostreatus* é de 15°C, sendo que um choque térmico de alguns dias a 5°C é recomendado para algumas linhagens.

KOHARI (2000), observou em cultivo comercial de *P. ostreatus* (shimeji) no Japão, que a temperatura para a formação dos primórdios é de 16°C durante um período de três dias, e para a frutificação na temperatura é de 14°C por dois dias.

2.2.2.2 UMIDADE

Os cogumelos são constituídos de cerca de 90% de água e, em função disto, esta é fundamental para um crescimento adequado. Além disso, os fungos

em geral, não são dotados de sistemas especiais contra a perda d'água de seus tecidos, ou seja, podem perder água com facilidade para o meio ambiente e com isso, prejudicar o seu desenvolvimento, principalmente o micélio vegetativo. Portanto, deve-se sempre observar a umidade relativa ideal tanto do substrato quanto do ar (MAZIERO, 1990).

A umidade relativa ideal no substrato para o cultivo de *P. ostreatus* deve ser em torno de 65%, segundo YAMANAKA (1991), sendo esta a umidade normalmente utilizada para o cultivo comercial no Japão (KOHARI, 1999).

Segundo ZADRAZIL & BRUNNERT (1980), em estudo realizado sobre a influência de alguns parâmetros físicos do substrato sobre o crescimento de fungos de podridão branca, foi constatado que um aumento no conteúdo de água no substrato tem, como consequência direta, uma diminuição no conteúdo do ar. Portanto, é necessário que se ache uma proporção ideal para a espécie. Porém deve-se considerar o tipo de material a ser utilizado, pois cada um tem a capacidade de absorver água diferentemente. Para *Pleurotus*, utilizando-se de palha de trigo triturada, observou que a umidade ideal para o substrato foi de 70%.

Para o *P. sajorcaju*, JANDAİK & KAPOOR (1976b) determinaram a umidade relativa do ar ideal como sendo acima de 80%. ZADRAZIL & SCHNEIDEREIT, citados por MAZIERO (1990), verificaram que a umidade relativa do ar ideal é de 80 a 90% e do substrato em torno de 70%.

BLOCK *et al.* (1959), verificaram que para o desenvolvimento normal dos cogumelos a umidade relativa do ar ideal deve ser de 75 a 85%, sendo que valores entre 95 a 100% o crescimento foi anormal.

2.2.2.3 TROCAS GASOSAS

As exigências da fase de crescimento micelial são diferentes da fase frutificação. Durante a fase de crescimento do micélio normalmente altas de CO₂ não afetam o crescimento, visto que, é o que acontece na natureza no interior dos troncos.

O fato do *Pleurotus* se desenvolver bem a altas taxas de CO₂ significa uma vantagem muito importante quando está colonizando substratos não estéreis, pois os demais microrganismos não resistem as condições de pouca oxigenação, deixando de haver competição em favor do *Pleurotus* (MAZIERO, 1990).

Por outro lado, durante a fase de frutificação altas concentrações de CO₂ causam deformação do corpo de frutificação. O estipe cresce acentuadamente e o píleo fica reduzido e engruvinhado ou ocorre a formação de massas miceliais ramificadas que não se transformarão em corpo de frutificação (ZADRAZIL, 1978), e em termos de cultivo comercial representam perda de produção (KOHARI, 1999).

O oxigênio, também tem sua influência no crescimento do micélio e na frutificação. Apesar do micélio de *Pleurotus* conseguir se desenvolver em condições semi-aeróbias, para que ocorra a formação dos primórdios de frutificação, é preciso que uma certa taxa de O₂ esteja presente, sem a qual esta não ocorre (ZADRAZIL, 1978).

2.2.2.4 LUZ

Na fase de crescimento micelial não há a necessidade de luz, sendo que em alguns casos esta até influencia negativamente no crescimento micelial através do substrato (CHANG & HAYES, 1978).

Vários são os estudos a respeito do efeito da luz na produção dos corpos de frutificação do *Pleurotus* spp. (KAUFERT, 1935; BLOCK *et al.*, 1959). Entretanto, segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), os resultados são controversos, devido a metodologias diferentes, que fica difícil de estipular um padrão ideal. Todos porém, concordam com necessidade de luz para o desenvolvimento dos corpos de frutificação.

GYURKO¹⁵ citado por KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), referiu-se à necessidade do comprimento de onda referente à cor azul para a boa formação dos corpos de frutificação. Segundo este autor uma intensidade de 40 lux é o suficiente para a indução dos primórdios. Para EGER *et al.* (1976), porém, é necessário 2000 lux para a frutificação.

KOHARI (1999), observou que em cultivo comercial no Brasil, a luz é manejada imitando as condições naturais do dia e da noite, produzindo cogumelos normais. Já no Japão, o mesmo autor observou que em cultivo em estufa com condições controladas, é utilizada luz fluorescente, tipo "fria", intercalando-se períodos de claro e escuro, de 12 a 12 horas, com produção de cogumelos normais.

¹⁵ GYURKO, P. Die rolle der belichtung bei dem anbau des austernseitlings (*Pleurotus ostreatus*). *Mushroom Science*, v. 8, p. 462-469, 1972.

2.2.2.5 pH

Sendo o pH da madeira, habitat natural do *Pleurotus*, ao redor de 5,0 a 6,0, é de se esperar que este valor seja o ideal para o fungo (MAZIERO, 1990).

BLOCK et al.(1959) relataram valor de 5,0 a 6,2 como sendo o melhor para o crescimento de *Pleurotus ostreatus*. Por outro lado, segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), para cada espécie de *Pleurotus* há um valor de pH ideal.

Pleurotus tende a mudar o pH onde está colonizando, no entanto, no final da colonização há um equilíbrio e o pH permanece constante, supõe-se então que este seja o pH ideal para a linhagem (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1982).

SOBAL et al. (1989) realizaram um estudo do pH sobre várias espécies e linhagens de fungos comestíveis e encontraram que para espécies de *Pleurotus*, o pH ideal varou de 6,0 a 7,0; exceto para *P. eryngii*, que foi de 5,0 a 6,0.

Não existe um consenso no valor de ideal de pH, sendo o intervalo de 5,0 a 6,0 aparentemente o melhor para *Pleurotus* (MAZIERO, 1990).

2.3 FERTILIZANTES ORGÂNICOS

O impacto da crise energética do petróleo iniciada em 1973, quando houve um aumento drástico no preço dos combustíveis, obrigou os governos a buscarem fontes de energias alternativas e renováveis. No campo agrônomo, como os insumos e fertilizantes agrícolas são gerados a partir dessa fonte de energia, a substituição parcial ou total desses insumos químicos também tornou-se desejável (COSTA et al., 1994).

No mundo inteiro as preocupações e pesquisas com a adubação orgânica tem-se voltado ao centro das discussões. É crescente o interesse dos governos, das instituições agronômicas e dos produtores rurais pelas técnicas orgânicas de trabalho com a terra (LEITE, 1999).

A nível mundial tem se desenvolvido diferentes sistemas de produção (agricultura orgânica, biodinâmica, alternativa, natural, etc...) parcial ou totalmente isentos de fertilizantes químicos, baseando-se nas práticas mais adequadas de manejo e conservação de matéria orgânica (COSTA *et al.*, 1994).

Com o intenso manuseio do solo para fins agrícolas é preciso sempre considerar o problema de seu empobrecimento quando medidas de reposição de nutrientes e matéria orgânica não são adotadas (COSTA *et al.*, 1994).

Esse problema é mais acentuado em solos tropicais devido à elevada taxa de decomposição da matéria orgânica, influenciando num menor acúmulo desta nos solos (PEIXOTO, 1997).

Uma opção é a utilização de resíduos animais e agrícolas como matéria-prima para produção de fertilizantes e o aumento nos teores de matéria orgânica nos solos. Porém, para que estes resíduos possam ser utilizados prontamente como fertilizantes, devem passar primeiro por um processo de transformação denominado compostagem (COSTA *et al.*, 1994).

A técnica da compostagem foi desenvolvida com a finalidade de se obter mais rapidamente e em melhores condições a estabilização da matéria orgânica. Durante este processo, os resíduos são amontoados, irrigados e revolvidos, com isso melhora-se a taxa de decomposição e produz-se fertilizante orgânico de melhor qualidade (KIEHL, 1998).

A transformação ou compostagem dos resíduos é constituída de duas etapas. Uma física (desintegração) e outra química (decomposição), ambas porém, mediadas biologicamente. A desintegração diz respeito à quebra mecânica dos resíduos sendo promovida principalmente pela mesofauna, seguindo-se então a decomposição por microrganismos através de enzimas específicas (PEIXOTO, 1997).

A decomposição da matéria orgânica compreende dois processos básicos: a mineralização e a humificação. Na mineralização, os nutrientes são transformados da forma orgânica para a inorgânica, tomando-se dessa forma prontamente disponíveis à adsorção pelas partículas do solo ou absorção pelas plantas e/ou microrganismos, podendo também ser perdidos devido a lixiviação ou erosão. Na humificação, as frações orgânicas como proteínas, celulose, hemicelulose e lignina, sofrem transformações perdendo suas características dos seus grupos funcionais originais em grupos ativos (PEIXOTO, 1997).

Dessa forma, como resultado da compostagem são gerados dois importantes componentes: os sais minerais, que contém os nutrientes para as raízes das plantas, e o húmus, um agente condicionador e melhorador das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (KIEHL, 1998). Porém, muitos pesquisadores consideram importante somente o ultimo componente citado, como condicionadora de solo, relegando seu valor como fonte de nutrientes essenciais às plantas (KIEHL, 1998).

KIEHL (1985) sugere alguns parâmetros para classificar os matérias-primas quanto a quantidades de macronutrientes, principalmente fósforo, potássio, cálcio e magnésio.

Quanto aos teores de fósforo, KIEHL (1985) classifica e considera os fertilizantes orgânicos como: baixo, aquele com teor abaixo de 0,5% de P_2O_5 ; médio, com teor entre 0,5 a 1,5 % e alto, com teor acima de 1,5%.

Quanto ao teor de potássio como: baixo, quando o teor for inferior a 0,5% de K_2O ; médio, quando possui valores entre 0,5 a 1,5%; e alto, quando o teor for maior do que 1,5%.

Quanto ao cálcio e o magnésio, a maior parte provém dos minerais do solo, porém a matéria orgânica também oferece valiosa contribuição no fornecimento, pois elevados teores no húmus garantem os suprimento às raízes (KIEHL, 1985). Dessa forma, o autor classifica quanto aos teores de cálcio, como baixo quando possuir valor abaixo que 1,5%; médio, entre 1,5 a 3,0 g/kg e alto, quando acima de 3,0 g/kg . Para magnésio considera; baixo, quando possui menos que 1,5%; médio, entre 1,5% a 3,0% e alto, quando for superior a 3%.

Quanto aos teores de micronutrientes, KIEHL (1985) considera a matéria orgânica como a principal fonte de micronutrientes dos solos, não havendo uma padronização quanto ao seus teores nos fertilizantes orgânicos.

Existe uma variada fonte de materiais que podem ser utilizados como matéria-prima para fertilizantes orgânicos, constituídos estes de resíduos de origem animal, vegetal e subprodutos agroindustriais, sendo sua composição química dependente do tipo e origem do material, variando de acordo com a região e a época (MAZIERO, 1990).

Resíduo exaurido da produção do cogumelo *Agaricus bisporus* tem sido amplamente pesquisado devido a sua grande disponibilidade. O substrato exaurido após o cultivo pode ser usado como ração animal (ORTEGA-CERRILLA *et al.*, 1986; GAMBLE *et al.*, 1994), fertilizante (WANG *et al.*, 1984a; CHANG,

1980) ou condicionador do solo (WANG, *et al.*, 1984b; ATTHASANPUNNA & CHANG, 1994), substrato para plantas ornamentais (CHONG & RINKER, 1994) ou substrato para mudas de hortaliças (WANG *et al.*, 1984b).

Outras espécies também geram uma grande quantidade de resíduo exaurido, como é o caso de *Pleurotus spp.* e *Lentinula edodes* sendo, porém, pouco estudado a respeito. No Japão, os produtores destas duas espécies simplesmente desprezam o substrato exaurido, fornecendo de graça a agricultores que o depositam ao solo indiscriminadamente (KOHARI, 2000).

O processo de compostagem tradicional é relativamente dispendioso e demorado, se tiver como objetivo somente a adubação do solo. Entretanto, o custo pode ser reduzido se houver uma etapa intermediária onde estes materiais em processo de compostagem possam gerar alimento (MAZIERO, 1990).

Estes resíduos podem ser aproveitados na produção de cogumelos comestíveis pois, além da produção do alimento, o processo de decomposição do resíduo utilizado torna-se mais eficiente e rápido, e o composto exaurido pode ser utilizado como fertilizante orgânico na própria propriedade ou vendido a terceiros (MARTINEZ-CARRERA *et al.*, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODO

O trabalho experimental foi conduzido no laboratório de produção de sementes, em casa de vegetação na Chácara Brindabella, Colombo, PR. As análises químicas, de lignina e sais solúveis em água dos substratos foram realizadas nos Laboratórios de Nutrição Vegetal, Análise de Solos e de Biologia do Departamento de Solos do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

3.1 LINHAGEM

A linhagem de microrganismo utilizada neste trabalho foi o fungo *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) obtida da Coleção de Culturas de Basidiomicetos (CCB) da Seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil. Esta foi inoculada e mantida em tubos de ensaio com o meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar) conforme a metodologia de BONONI *et al.* (1995). Foram inoculadas 4 placas de Petri contendo 20 mL de meio BDA e incubadas a 25 °C até que o crescimento radial do fungo ocupasse toda a placa, sendo então mantidas em geladeira aguardando o momento da inoculação dos diferentes tratamentos.

3.2 RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Os resíduos utilizados foram serragem de *Pinus* spp., principalmente *P. taeda* e *P. elliottii*; resíduo de infusão de erva-mate (*Ilex paraguayensis* St. Hil.) e farelo de arroz.

A serragem de *Pinus* spp., foi obtida de uma serraria de desdobramento de madeira da região de Colombo, PR. Foi coletada serragem de *Pinus* spp. do pátio da serraria, com idade de 3 meses a partir do desdobramento da madeira.

O resíduo de infusão de erva-mate foi obtido de uma grande indústria de erva-mate de Curitiba, PR. Este é composto principalmente por folhas e talinhos de erva-mate e uma pequena quantidade de ervas contaminantes, que após seca, passa por um processo de queima, trituração e extração do xarope. Como a indústria compra a erva-mate de terceiros, a quantidade de ervas contaminantes pode variar de acordo com os fornecedores, sendo porém considerada pequena em relação a quantidade de erva-mate.

O farelo de arroz foi obtido de uma loja especializada no comércio de produtos agropecuários. Este resíduo proveniente do polimento do grão de arroz, é gerado em grande quantidade em Máquinas de Beneficiamento de arroz .

3.3 PREPARO DOS SUBSTRATOS

A serragem de *Pinus* spp. foi utilizada como substrato-base no preparo dos tratamentos para o estudo em crescimento em substrato sólido. O tratamento 1 consistiu somente de serragem de *Pinus* spp.; nos tratamentos de 2 a 4, 5 a 7 e 8 a 10 , foram adicionados à serragem, o resíduo de infusão de erva-mate, farelo de

arroz e uma mistura de resíduo de infusão de erva-mate e farelo de arroz em iguais proporções, respectivamente, como mostra a tabela 3.

TABELA 3 COMBINAÇÃO DOS DIFERENTES RESÍDUOS NOS DIFERENTES TRATAMENTOS, EM PROPORÇÃO, CALCULADOS COM BASE DE PESO SECO DOS MATERIAIS.

Tratamentos	Proporção (p/p)		
	Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	Resíduo de Infusão de Erva-mate (EM)	Farelo de Arroz (FA)
1	5	0	0
2	4	1	0
3	3	1	0
4	2	1	0
5	4	0	1
6	3	0	1
7	2	0	1
8	4	1/2	1/2
9	3	1/2	1/2
10	2	1/2	1/2

A cada tratamento foi adicionado 2% de calcáreo dolomítico (EIRA *et al.*, 1990), com base em massa seca do substrato, para a correção do pH e a umidade corrigida para aproximadamente 65% (YAMANAKA, 1991).

O delineamento experimental foi constituído de 10 tratamentos com 5 repetições, num arranjo inteiramente casualizado (DIC). Como unidades experimentais foram utilizados frascos de vidro cilíndricos autoclaváveis, com

capacidade volumétrica de 200 mL, medindo 110 mm de altura e 50 mm de diâmetro.

A metodologia utilizada foi de acordo com TEIXEIRA (1997), com adaptações. Como o crescimento micelial do substrato normalmente é desuniforme, optou-se por esta metodologia pois considera-se que é a mais prática e adequada, sendo a que mais aproxima-se das condições de cultivo comercial.

Os substratos foram colocados em cada frasco com mesmo grau de compactação, porém as quantidades variaram de 78,487 a 118,057 gramas, devido as características físicas de cada substrato. Preenchido, cada frasco foi tampado com uma folha dupla de papel alumínio e esterilizado em autoclave por 45 minutos a 121 °C.

3.4 INOCULAÇÃO DOS SUBSTRATOS

Das placas de Petri com o meio de cultura BDA colonizadas com o *Pleurotus ostreatus* CCB 108, foram cortados discos sob câmara de fluxo laminar, utilizando um furador de rolha com 5,0 mm de diâmetro. Cada disco foi transferido para o centro da superfície dos substratos nos frascos, com a parte miceliada voltada para o substrato. Após a inoculação, os frascos foram mantidos na ausência de luz, em estufa à 25 ± 1 °C para a corrida do micélio (BONONI *et al.*, 1995).

3.5 AVALIAÇÕES

A partir dos frascos inoculados foram feitas avaliações para crescimento micelial (CM) através do substrato. A produção de corpos de frutificação foi avaliada através da eficiência biológica (EB) e produtividade biológica (PB) após a colheita dos cogumelos.

Após a produção dos corpos de frutificação, os substratos foram secos para avaliação da atividade biodegradadora através da avaliação da perda de matéria orgânica (PMO), degradação de lignina (DL), degradação de holocelulose (DH), teor de sais solúveis (SS), índice de pH (pH) e teor de nitrogênio dos substratos. Além disso, foram realizadas análises químicas para a determinação dos teores de matéria orgânica, carbono total, macronutrientes e micronutrientes dos substratos testados. Em todas as análises, os substratos sem a inoculação do fungo (controle) foram realizados em duplicata, pelo fato de haver pouco material, enquanto que os substratos que foram submetidos à colonização do fungo (resíduo exaurido), com exceção da lignina e holocelulose, foram realizados com cinco repetições. As análises de lignina foram realizadas em duplicata, tanto nos substratos controles como nos resíduos exauridos devido a falta de material utilizado para sua determinação. Os teores de holocelulose foram determinados por cálculo matemático.

3.5.1 CRESCIMENTO MICELIAL

Para a avaliação do crescimento micelial foi adotada a metodologia De TEIXEIRA (1997) adaptada. O crescimento do micélio foi medido através de 4

medidas longitudinais traçadas em cada frasco a cada 2 dias, em milímetros, até a sua completa colonização (fundo do frasco). Considerou-se como uma medida diária a média das 4 medidas longitudinais, para fins de análise estatística.

Além disso, para uma análise mais detalhada do crescimento micelial através do substrato, os dados do 15^o dia após a inoculação foram convertidos em velocidade, em mm/ dia, e realizada a análise estatística.

3.5.2 FRUTIFICAÇÃO

Após a completa colonização dos substratos contidos nos frascos, estes foram transferidos e abertos em casa de vegetação, onde a temperatura permaneceu entre 18-23 °C e a umidade entre 85-95. Foi avaliada apenas a primeira colheita de cogumelos.

Os corpos de frutificação e os substratos, após a colheita, foram pesados em balança analítica, com 0,001 gramas de resolução, e depois colocados em estufa de secagem a 105 ± 1 °C até obtenção de peso constante para a obtenção dos pesos secos. Deve-se considerar que quando existe uma grande variação da umidade dos cogumelos produzidos, a secagem dos cogumelos faz-se necessária, com isso padroniza-se as amostras para efeito de comparação entre os tratamentos (MILES & CHANG, 1997).

O parâmetro quantitativo para avaliação de um substrato com relação aos cogumelos produzidos pode ser feito de duas formas bem distintas, através da eficiência biológica ou através da produtividade biológica (MILES & CHANG, 1997).

O cálculo do rendimento de cada substrato foi obtido pelo cálculo do índice de eficiência biológica (EB) e da produtividade (PB), expressos em porcentagem:

$$EB (\%) = (Pcf/Pss) \times 100$$

$$PB (\%) = (Pcs/Pss) \times 100$$

onde: Pcs = peso de cogumelos secos

Pcf = peso de cogumelos frescos

Pss = peso de substrato seco

3.5.3 ATIVIDADE BIODEGRADADORA

Após a produção dos corpos de frutificação, os substratos foram colocados em estufa a 105 ± 1 °C até obter peso constante.

Devido a pouca quantidade de material, a análise dos parâmetros dos substratos anteriores à inoculação (controles) foram realizadas em duplicata e foram utilizados como referencial para os estudos do efeito do fungo nos diferentes tratamentos. A atividade biodegradadora do *Pleurotus ostreatus* CCB108 foi estudada analisando-se a perda de matéria orgânica, degradação de lignina, degradação de holocelulose, substâncias solúveis em água, índice pH e teor de nitrogênio nos substratos exauridos, em comparação com os substratos controles (sem inoculação do fungo), conforme descrição abaixo.

3.5.3.1 PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA

A perda de matéria orgânica dos substratos (PMO) foi avaliada de acordo com a metodologia de CAPELARI (1996), sendo avaliada pela diferença entre os

valores de peso seco dos substratos de cada recipiente, antes da inoculação e depois da produção dos cogumelos.

O cálculo da PMO foi determinada de acordo com a fórmula abaixo, expressa em porcentagem:

$$\%PMO = 100 - (Pf/Pi) \times 100$$

onde: Pi = peso seco inicial do substrato (controle)

Pf = peso seco final (substrato exaurido)

3.5.3.2 DEGRADAÇÃO DE LIGNINA

O teor de lignina foi determinado como a parte insolúvel do substrato determinado gravimetricamente (Klason), de acordo com a metodologia descrita por DENCE (1992) adaptada.

Para avaliar o efeito do fungo, somente no teor de lignina dos substratos, fêz-se primeiramente uma extração dos sais solúveis em água quente das amostras, pois, sendo a metodologia gravimétrica, isto é, realizada por diferença de peso, poderia ocorrer um mascaramento dos resultados.

Amostras secas de 0,1000 gramas foram pesadas e colocadas em erlenmeyers de 300 mL. Em cada erlenmeyer foi acrescentado 1,5 mL de solução de ácido sulfúrico, 72% ($24 \pm 0,1$ N) e com o auxílio de um bastão, agitou-se a amostra por uma hora. Em seguida, adicionou-se ao erlenmeyer 43,5 mL de água deionizada e a tampou-se a boca do recipiente com uma folha dupla de papel alumínio. Os frascos foram colocados em autoclave por 1 hora a 120°C . Ainda quente, cada amostra foi filtrada em filtro de vidro (funil de Gooch), marca Schott, de porosidade média, previamente seco e pesado e lavadas até o limite de 100 mL com

água deionizada fervente. Após a filtragem, o filtro foi colocado em estufa de secagem a 105 ± 1 °C, para obtenção de peso seco constante (P_2).

O percentual de lignina presente foi determinado com base no peso seco inicial (P_1) da amostra analisada, que foi obtido pesando 0,1000 gramas de cada amostra em cadinhos de porcelana colocados em estufa a 105 ± 1 °C até obtenção de peso constante. A porcentagem de lignina presente na amostra, foi determinada de acordo com a fórmula abaixo:

$$\% \text{ de lignina na amostra} = P_2 / P_1 \times 100$$

onde: P_1 = peso seco inicial da amostra

P_2 = peso seco 105 ± 1 °C

A degradação de lignina foi determinada de acordo com a fórmula abaixo:

$$\% \text{ de lignina degradada (DL)} = ((L_i - L_f) / L_i) \times 100$$

onde: L_i = lignina da amostra inicial (controle)

L_f = lignina da amostra final (substrato exaurido)

3.5.3.3 DEGRADAÇÃO DE HOLOCELULOSE

Os teores de celulose e hemicelulose (holocelulose) foram determinados através de cálculo matemático, através da diferença do teor de matéria orgânica com o teor de lignina e sais solúveis em água presentes nos diferentes substratos.

A degradação de holocelulose (DH) foram determinadas de acordo com a fórmula abaixo :

$$\% \text{ Holocelulose degradada (DH)} = ((H_i - H_f) / H_i) \times 100$$

onde: H_i = holocelulose da amostra inicial (controle)

H_f = holocelulose da amostra final (substrato exaurido)

3.5.3.4 SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA

A determinação de substâncias solúveis em água (SS) foi determinada gravimetricamente segundo metodologia de CAPELARI (1996) adaptada.

Em balões volumétricos de 100 mL foram colocadas 0,5000 gramas da amostra e 50 mL de água destilada. Os balões foram fechados com papel alumínio e colocados em estufa a 80 °C por 3 horas. Após este período, o volume dos balões foi completado para 100 mL com água destilada e filtrado em papel de filtro (nº. 595 1/2, 240mm Ø) seco e previamente pesado. Os balões foram lavados com a mesma quantidade de água destilada quente (+80 °C) para o recolhimento total da amostra. Após a filtragem, os filtros foram secos em estufa a 105 °C até obtenção de peso constante. O cálculo de solúveis em água foi realizado de acordo com a fórmula abaixo:

$$\%SS = 100 - ((Pf - Pi) \times 100)$$

onde: Pi = Peso seco inicial da amostra inicial (controle)

Pf = Peso seco final da amostra final (substrato exaurido)

Os sais insolúveis, principalmente os extrativos não foram determinados neste trabalho devido a metodologia adotada.

3.5.3.5 ÍNDICE pH

O pH dos substratos, antes da inoculação e depois da produção, foram determinados de acordo com CAPELARI (1996).

Amostras de 0,50 gramas de substrato foram colocados em erlenmeyers de 100 mL e adicionados 50 mL de água deionizada, em cada frasco. Em

seguida, os frascos foram colocados em mesa agitadora (140 rotações/minuto) por uma hora e, após este período, o pH foi medido em pH-metro E350B, da Metrohm Herisau do Laboratório de Fertilidade de Solos. Para cada amostra, foram realizadas duas leituras, a primeira após uma hora da agitação e a segunda, após 24 horas e o resultado obtido foi o valor médio das duas leituras.

3.5.3.6 NITROGÊNIO TOTAL

Os teores de nitrogênio total dos substratos foram determinados de acordo com a metodologia normalmente adotada pelo Laboratório de Biologia de Solos, através da técnica da digestão úmida (método semi-micro Kjeldahl).

3.5.4 ANÁLISE QUÍMICA DOS RESÍDUOS ISOLADAMENTE

Anteriormente a condução do experimento que visou o estudo do efeito do fungo, foram feitas as análises químicas dos resíduos isoladamente (Serragem de *Pinus* spp., Resíduo de infusão de erva-mate e Farelo de arroz).

Para análise química dos macro e microelementos, as metodologias utilizadas foram aquelas descritas em PERKIN-ELMER (1973) utilizadas normalmente para a análises de tecidos vegetais pelo Laboratório de Nutrição de Plantas do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. Os elementos P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu e Zn, foram solubilizados em HCl 3 M. A determinação de todos estes elementos, com exceção do P, foram realizados por leitura em espectrofotometria de absorção atômica. O P foi medido através de

colorimetria com molibdato-vanadato de amônio em espectro de 463, com colorímetro Zeiss, PL-4.

Os teores de matéria orgânica foram determinados através da técnica de digestão ao rubro e o teor de carbono total obtido através de cálculo, sendo o produto da multiplicação da matéria orgânica pelo valor 0,5555; de acordo com a metodologia descrita por KIEHL (1985).

3.5.5 ANÁLISE QUÍMICA DOS SUBSTRATOS

Para a avaliar as mudanças químicas ocorridas pela ação do fungo *P. ostreatus* (CCB 108), foram feitas análises químicas dos substratos antes da inoculação (controle) e após a produção dos cogumelos (exaurido). As análises químicas dos substratos controle e exaurido foram as mesmas adotadas como na análise dos resíduos isoladamente, descrito acima no Ítem 3.5.4.

As análises químicas dos substratos controles foram realizadas em duplicatas, devido a pouca quantidade de material, servindo como comparadores para o efeito do fungo nos diferentes tratamentos. Para os substratos exauridos foram realizadas 5 repetições e as análises estatísticas foram realizadas, devido a maior quantidade de material.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4 mostra a análise química dos resíduos utilizados no trabalho e os valores são apresentados como médias de 5 amostras.

TABELA 4 ANÁLISE QUÍMICA DA SERRAGEM DE *Pinus* SPP., RESÍDUO DE INFUSÃO DE ERVA-MATE E FARELO DE ARROZ UTILIZADOS NO TRABALHO.¹

Determinação	Serragem de <i>Pinus</i> spp.	Resíduo de Infusão de Erva-mate	Farelo de Arroz
Carbono total (%)	54,52	52,33	49,77
Matéria orgânica(%)	98,23	94,21	89,60
Nitrogenio total (%)	0,316	2,360	2,350
C _{total} /N _{total}	172,53	22,17	21,18
Fósforo (g/kg)	0,34	0,77	10,15
Potássio (g/kg)	0,84	3,15	15,25
Cálcio (g/kg)	2,65	8,98	2,48
Magnésio (g/kg)	0,98	11,88	8,83
Ferro (ppm)	52,20	229,00	72,50
Manganês (ppm)	30,00	1617,60	113,00
Cobre (ppm)	3,80	15,00	2,50
Zinco (ppm)	3,80	68,80	49,30

¹ Valores médios de 5 repetições.

Como pode ser visto na Tabela 4, os diferentes resíduos possuem características químicas muito diferentes.

A serragem de *Pinus* spp. em termos nutricionais, para o fungo *P. ostreatus*, é o que possui menor quantidade de nutrientes se comparado com o resíduo de erva-mate e farelo de arroz. A serragem isoladamente possui uma

C/N muito alta, principalmente devido ao seu baixo teor de nitrogênio (0,316 %), sendo considerado fator limitante para a produção de cogumelos, sendo necessária a sua complementação com materiais ricos em nitrogênio. A serragem apresenta-se como importante fonte de carbono para a produção de *P. ostreatus* (KOHARI, 2000).

O resíduo de infusão de erva-mate e farelo de arroz apresentam-se como fontes concentradas de nutrientes se comparadas com a serragem. O resíduo de erva-mate destaca-se pelos altos teores de micronutrientes, como o manganês, ferro e cobre, enquanto que, o farelo de arroz destaca-se pelos altos teores de macronutrientes como o fósforo e potássio. Além disso, estes dois resíduos apresentam-se como importante fonte de nitrogênio, mostrando teores muito próximos.

Se utilizados na produção de *P. ostreatus*, é necessário a mistura com materiais com maiores teores de carbono, como a serragem para que abaixe a relação C/N, pois segundo KOHARI (2000) altos teores de nitrogênio, além de não refletir em um aumento de produtividade, aumentam a probabilidade de contaminação por microrganismos indesejáveis.

Estes resultados estão de acordo com o trabalho de KOHARI *et al.* (1997), que verificaram que o resíduo de infusão de erva-mate ou farelo de arroz, utilizados isoladamente mostraram taxas de crescimento micelial mais baixas que os substratos combinados em mistura.

4.1 CRESCIMENTO MICELIAL

A Figura 1 mostra a curva de crescimento micelial do *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) nos diferentes substratos.

O tratamento 7 (serragem de *Pinus* spp + farelo de arroz, 2:1) não foi avaliado pois neste tratamento ocorreu a morte do fungo *P. ostreatus* e conseqüentemente não houve crescimento micelial.

A Tabela 5 mostra a taxa de crescimento micelial no 15^o dia da inoculação. O tratamento que obteve maior taxa de crescimento micelial, foi o tratamento 1, onde foi utilizada somente a serragem de *Pinus* spp. (5,59 mm/dia), diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos.

O grupo onde foi utilizado somente resíduo de infusão de erva-mate como suplemento à serragem de *Pinus* spp. (Tratamentos 2, 3 e 4) foram os que tiveram maiores taxas de crescimento, só sendo menores que a serragem isoladamente (Tratamento 1). A concentração de resíduo de infusão de erva-mate influencia negativamente na taxa de crescimento micelial do *P. ostreatus*, como pode ser observado na Tabela 5, as maiores taxas ocorreram nos tratamentos com menores proporções de erva-mate, isto é, tratamento 2 (4:1), seguidos do tratamento 3 (3:1) e do tratamento 4 (2:1), diferindo também estatisticamente entre si.

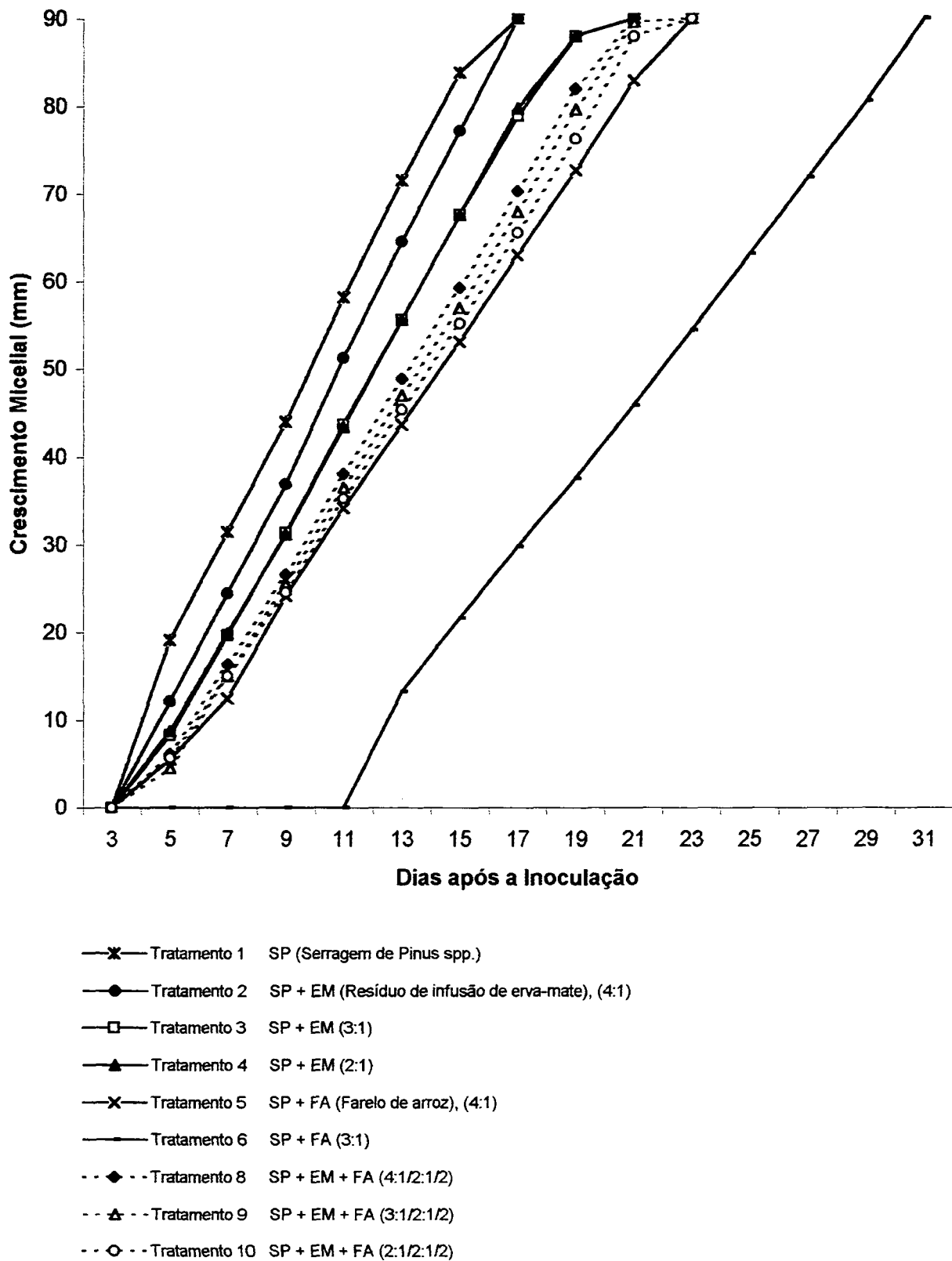


FIGURA 1 CRESCIMENTO MICELIAL DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) NOS DIFERENTES SUBSTRATOS.

O grupo onde foi misturado à serragem de *Pinus* spp., resíduo de erva-mate e farelo de arroz (Tratamentos 8, 9 e 10) tiveram taxas de crescimento micelial intermediárias. A concentração de erva-mate e farelo de arroz, também influenciou negativamente na taxa de crescimento do *P. ostreatus* nestes tratamentos, pois verificou-se que as menores concentrações de erva-mate e farelo de arroz proporcionaram maiores taxas de crescimento micelial, não diferindo porém estatisticamente dentro deste grupo. Apesar da taxa de crescimento micelial ser menor, nas misturas mais concentradas, foi observado que o micélio parecia mais vigoroso. O micélio que pareceu menos vigoroso foi o tratamento com serragem de *Pinus* spp isoladamente.

Estes resultados estão de acordo com os resultados encontrados por KOHARI *et al.* (1997), que foram os primeiros a verificarem a possibilidade da utilização de resíduo de infusão de erva-mate na produção de *Pleurotus* spp.

UPADHYAY *et al.* (1996), também utilizaram o resíduo de chá, porém de outra espécie, a *Camellia sinensis*, no cultivo de *Pleurotus* spp, e verificou que os melhores resultados foram obtidos com a utilização do resíduo do chá como complemento nutricional, não havendo crescimento micelial no resíduo de chá sozinho.

De acordo com FUNGH *et al.* (1981), que analisaram folhas de chá de *Camellia sinensis*, verificou que estas são ricas em nitrogênio, ligninas e vários compostos fenólicos como catequinas que podem ser tóxicos ao *Pleurotus*. Além disso, pelo fato deste resíduo apresentar pouca celulose e hemicelulose, sugeriram então a necessidade da mistura com materiais com altos teores de carbono e pouco nitrogênio para o cultivo de *Pleurotus*.

Como pode ser observado na Figura 1, não foi representado o crescimento micelial no tratamento 7 (serragem mais farelo de arroz, 2:1), por este não ter ocorrido. Isto pode ser explicado, pelo fato que, durante o preparo dos substratos testados, estes permaneceram por 24 horas para uma melhor absorção de água e, sendo o farelo de arroz, suplemento altamente concentrado em nitrogênio, pode ter ocorrido uma fermentação natural nesse período, que foi observado por um cheiro característico.

Como a concentração de farelo foi maior no tratamento 7, pode-se inferir que houve uma maior produção e concentração de compostos tóxicos produzidos pela microbiota nativa, levando-o à morte o inóculo de *P. ostreatus*.

As menores velocidades de crescimento micelial foram do grupo onde foi utilizado somente farelo de arroz, porém em menores proporções como complemento nutricional (tratamentos 5 e 6).

Estes resultados estão de acordo com SCHIES & LELLEY (1989) que utilizando-se de água fermentada em solução de extrato de malte, no cultivo de *P. ostreatus*, verificaram que esta influi negativamente na produção de biomassa do fungo. Concluíram que existe um princípio antifúngico na água, originária da ação de microrganismos que utilizam os nutrientes, liberando produtos metabólicos tóxicos ao substrato, influenciando negativamente o crescimento de *P. ostreatus*.

Dessa forma, pode-se explicar porque, no Brasil, durante o processo de preparo do substrato para a produção de shimeji, evita-se proceder o tratamento térmico dos substratos no dia posterior ao enchimento dos sacos ou garrafas, segundo a explicação dos produtores, o substrato "esquenta".

Esse "esquentamento" deve ocorrer devido à fermentação do substrato com altos teores de nitrogênio e de água, que promove ambiente favorável para o crescimento da microflora nativa e liberação de compostos metabólicos tóxicos ao *P. ostreatus* (KOHARI, 1999).

BIS'KO & BILAY (1995), porém estudando a influência de *B. macerans* no cultivo de *P. ostreatus*, verificaram que a inoculação dessa bactéria antes da inoculação do fungo, aumentou a degradação de celulose e lignina, a produtividade, além de diminuição da influência negativa dos contaminantes.

Já STÖLZER & GRABBE (1991) verificaram que a influência positiva ou negativa depende da espécie da bactéria e da espécie do cogumelo cultivado. Seus resultados mostraram que duas espécies de bactérias tiveram comportamentos diferentes sobre os fungos testados. *Bacillus subtilis* inibiu o crescimento de todos os fungos testados, com exceção de *Agrocybe aegerita*. Já *Bacillus pumilus* inibiu apenas o crescimento dos fungos competidores, enquanto que os fungos comestíveis, com exceção de *Lentinula edodes*, não foram afetados.

A Tabela 5 relaciona o total de dias para completar o crescimento do fungo *P. ostreatus* até o fundo do recipiente. O tratamento 1(SP) e 2 (SP + EM, 4:1) foram os que completaram o crescimento até o fundo da garrafa mais rapidamente, em 17 dias, seguidos dos tratamentos 3 e 4 com 19 dias, e dos tratamentos 5, 8, 9 e 10 com 23 dias. O tratamento que mais demorou foi o tratamento 6, completando o crescimento até o fundo com 31 dias. Neste tratamento, é necessário considerar a demora na primeira leitura do crescimento micelial, que foi possível somente no 13^o dia após a inoculação.

Do ponto de vista prático, isto não é aconselhável que aconteça, pois nos primeiros dias após a inoculação, o substrato está mais susceptível a contaminação por microrganismos externos. Segundo CHANG (1980), a ocupação de nicho é muito importante, pois restringe o crescimento de microrganismos competidores contaminantes externos.

O tempo para completar o crescimento até o fundo da garrafa é uma característica muito importante, pois é quando o micélio completa a colonização do substrato e o fungo começa a fase de diferenciação para a fase reprodutiva, isto é, a fase de formação de primórdios dos cogumelos. É nessa fase que há o acúmulo máximo de nutrientes para a formação dos primórdios e desenvolvimento dos cogumelos (YAMANAKA, 1991). Além disso, na prática, quanto mais rápida a colonização do substrato, mais rápida é a produção. Com isso, aumenta-se a produtividade em função do tempo, isto é, ganha-se em rotatividade na cadeia produtiva (KOHARI, 1999).

4.2 FRUTIFICAÇÃO

Na Tabela 5 estão relacionados os substratos testados e as respectivas eficiências e produtividades biológicas, conforme descrição abaixo.

Na Figura 2 são mostrados as variações de Temperatura e Umidade relativa, na casa de vegetação, no período de frutificação do fungo *P. ostreatus* (CCB 108). A temperatura variou entre 18 a 23 °C e a Umidade relativa do ar entre 85 a 96%.

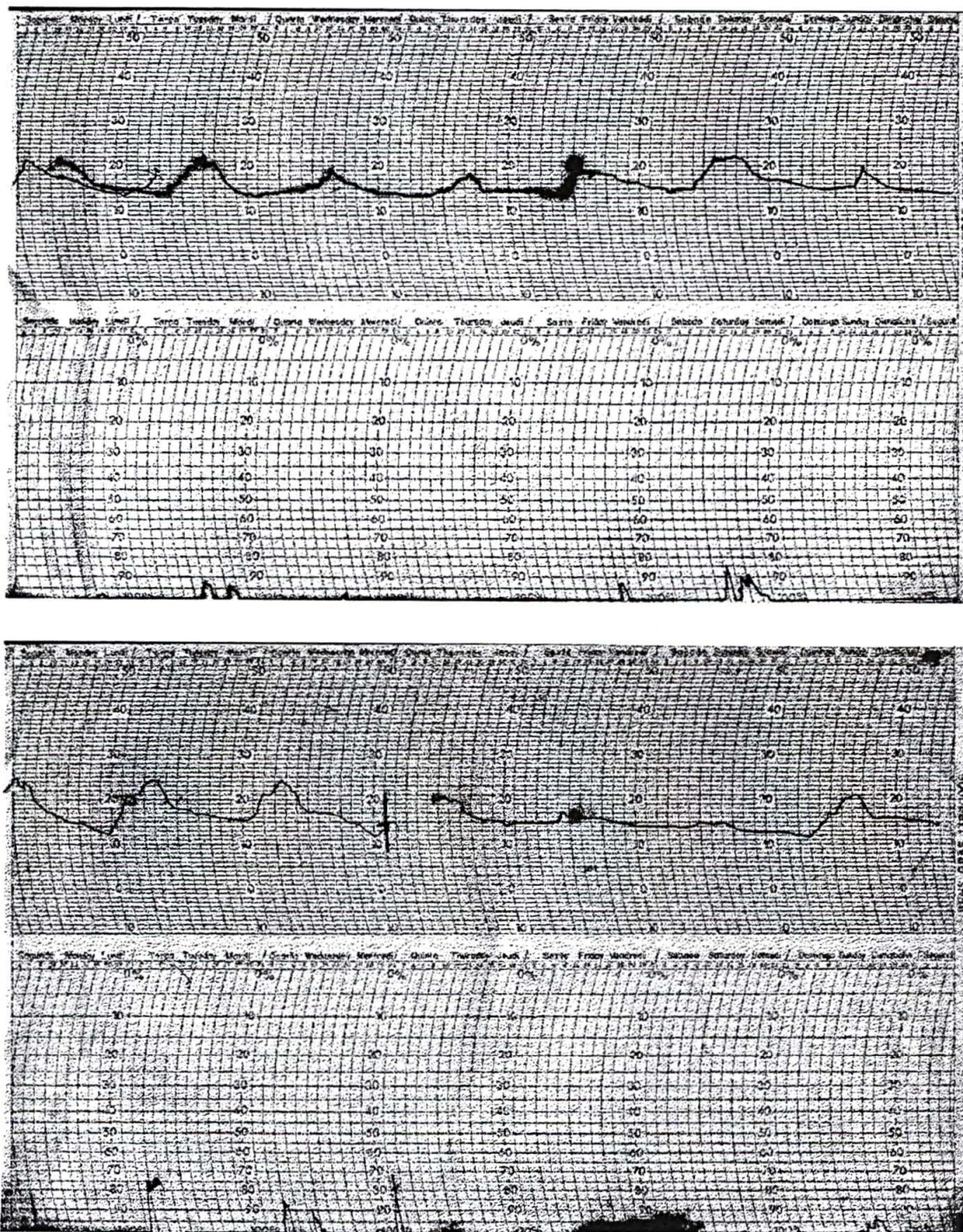


FIGURA 2 VARIAÇÃO DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA DO AR NO PERÍODO DE FRUTIFICAÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108).

4.2.1 EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB)

A eficiência biológica avaliada imediatamente na ocasião da colheita dos cogumelos frescos, é uma função do peso do cogumelo fresco em relação peso seco do substrato contido no recipiente de produção. Neste parâmetro, o tratamento que obteve maior média foi o tratamento 9 (26,70 %), seguido dos tratamentos 4, 8, 3, 2 e 10, respectivamente, não diferindo porém, estatisticamente entre si. Os tratamentos 5, 1 e 6 foram os que tiveram os menores valores de eficiência biológica.

Nesse parâmetro, o fator que influenciou a grande variação entre os tratamentos foi o teor de água dos corpos de frutificação, que variou de 59,61% no tratamento 6 à 89,41% no tratamento 8.

A eficiência biológica é um parâmetro muito contraditório, pois apesar de ser amplamente utilizado pelos pesquisadores, é responsável por uma grande variação dos resultados divulgados, devido principalmente à variação do teor de água dos cogumelos. A explicação utilizada pela maioria dos pesquisadores, o que faz sentido, é que o parâmetro eficiência biológica, é a melhor forma de expressão quantitativa da produção dos cogumelos, visto que estes normalmente são comercializados na forma fresca.

4.2.2 PRODUTIVIDADE BIOLÓGICA (PB)

A produtividade biológica é o parâmetro que melhor avalia o efeito do substrato na produção de corpos de frutificação. É através desse parâmetro que é avaliado a translocação dos nutrientes do substrato para o cogumelo.

Como pode ser observado na Tabela 5, em média, a PB foi maior no tratamento 6 (4,54%), seguido dos tratamentos 9 e 10, não diferindo estatisticamente entre si.

Os tratamentos 4, 5, 3, 2, 6 tiveram valores intermediários que não diferiram estatisticamente entre si e o menor valor médio obtido foi para o tratamento 1 (2,78%), porém não houve diferenças estatísticas com os tratamentos com maiores valores que este. A única diferença estatística foi observada entre o tratamento 6 e o tratamento 1.

Comparando-se os resultados obtidos neste experimento, com as informações obtidas por KOHARI (1999) para a produtividade de *P. ostreatus* na região de Mogi das Cruzes, observa-se que as produtividades biológicas aqui obtidas foram superiores (4,54 %) que a média obtida naquela região (4,00%). Porém, é menos produtiva, quando comparada com aquela obtida no Japão pelo produtor Sr. Yamada (6,75%), que é altamente tecnificado (KOHARI, 2000). Deve-se considerar nessas comparações que outros fatores também afetam a produtividade, como a linhagem utilizada, tipo de substrato e manejo (KOHARI, 1999; KOHARI, 2000).

4.3 ATIVIDADE BIODEGRADADORA

A atividade biodegradadora foi feita comparando-se as médias dos tratamentos antes da inoculação e depois da frutificação do fungo *P. ostreatus* (CCB 108) nos diferentes tratamentos e estão evidenciadas nas Tabelas 6, 7, 8, 9 e 10.

4.3.1 PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA (PMO)

A PMO foi avaliada pela diferença entre os valores de peso seco dos substratos de cada recipiente, antes da inoculação e depois da produção dos cogumelos.

Os valores da atividade decompositora do *Pleurotus ostreatus* (CCB 108), expressos em % de PMO do substrato, estão relacionados na Tabela 5.

Os tratamentos que proporcionaram os maiores valores médios para a degradação dos substratos por *P. ostreatus*, neste parâmetro, foram aqueles em que haviam na sua composição o resíduo de infusão de erva-mate (EM), não diferindo porém, estatisticamente entre si. O maior valor médio de PMO, foi obtido pelo tratamento 8 (41,71%), seguidos dos tratamentos 2, 3, 10, 9 e 4, respectivamente.

Os tratamentos 5 e 6, que possuem em sua composição o farelo de arroz, obtiveram valores médios intermediários para a PMO e diferiram estatisticamente dos tratamentos acima citados.

O tratamento 1, constituído somente de serragem de *Pinus* spp., foi o que proporcionou menor PMO (20,25%), diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos. Isto pode ser explicado pelo baixo teor de nitrogênio do substrato (0,23%) pois, de acordo com LEATHAM & KIRK (1983), para proporcionar rendimentos ótimos na degradação de materiais lignocelulósicos pobre em nitrogênio, a suplementação é essencial. Uma outra hipótese para a menor PMO deste tratamento pode estar relacionada com a sua velocidade micelial, que foi superior a de todos os outros tratamentos.

Segundo MAZIERO (1990), o fator tempo influencia diretamente na taxa de decomposição do substrato, isto é, quanto maior o tempo de miceliação do substrato melhor a atividade decompositora.

TABELA 5 VELOCIDADE MICELIAL, TOTAL DE DIAS PARA COMPLETAR O CRESCIMENTO NOS FRASCOS, PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA, EFICIÊNCIA BIOLÓGICA E PRODUTIVIDADE BIOLÓGICA DO FUNGO *P. ostreatus* (CCB 108) NOS DIFERENTES SUBSTRATOS ¹.

		Velocidade Micelial (mm/dia) ²		Total de Dias ³	Perda de Matéria Orgânica (%) ²		Eficiência Biológica (%) ²		Produtividade Biológica (%) ²	
1	Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	5,59	a	17	20,25		15,90	cd	2,78	b
2	SP + EM (Resíduo de infusão de erva-mate), 4:1	5,51	b	17	40,75	a	21,11	abcd	3,55	ab
3	SP + EM, 3:1	4,51	c	19	38,11	a	22,14	abc	3,56	ab
4	SP + EM, 2:1	4,51	c	19	37,35	a	25,47	ab	4,15	ab
5	SP + FA (Farelo de arroz), 4:1	3,54	e	23	29,13	b	17,75	bcd	4,12	ab
6	SP + FA, 3:1	1,44	f	31	27,18	b	12,76	d	4,54	a
7	SP + FA, 2:1 ⁴	-		-	-		-		-	
8	SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	3,96	d	23	41,71	a	23,93	abc	3,36	ab
9	SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	3,80	de	23	37,71	a	26,70	a	4,42	a
10	SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	3,68	de	23	38,01	a	19,06	a	4,26	a

¹ Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

² Coeficiente de variação (CV) para velocidade micelial no 15^o dia, 4,08%; perda de matéria orgânica, 7,92%; eficiência biológica, 20,09% e produtividade biológica, 18,09%

³ Total de dias para completar o crescimento até o fundo do recipiente (90 cm)

⁴ Tratamento onde não ocorreu crescimento do fungo *P. ostreatus* (CCB 108)

4.3.2 DEGRADAÇÃO DE LIGNINA

Na Tabela 6, estão relacionados os valores dos teores de lignina dos substratos testados antes da inoculação, depois da colheita dos cogumelos e a variação dos teores de lignina pela ação degradadora do fungo *P. ostreatus* (CCB 108).

TABELA 6 EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) NO TEOR DE LIGNINA DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO (CONTROLE), POSTERIORES À PRODUÇÃO DOS COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA NO SUBSTRATO EXAURIDO

Tratamentos	Anterior ¹	Posterior ²	Δ DL ³
	Lignina (%)		
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	37,48	28,12	(-) 24,9
2 SP + Resíduo de infusão de erva-mate (EM), 4:1	32,05	28,07	(-) 12,4
3 SP + EM, 3:1	33,18	31,28	(-) 5,7
4 SP + EM, 2:1	31,93	29,82	(-) 6,6
5 SP + Farelo de arroz (FA), 4:1	29,44	24,76	(-) 15,9
6 SP + FA, 3:1	29,39	26,97	(-) 8,2
7 SP + FA, 2:1 ⁴	28,97	-	-
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	31,14	26,66	(-) 14,4
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	34,28	29,00	(-) 15,4
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	32,58	27,58	(-) 15,3

¹ Médias de duplicatas avaliadas anteriormente à inoculação de *P. ostreatus* (CCB 108).

² Médias de duplicatas avaliadas posteriormente à colheita de *P. ostreatus* (CCB 108).

³ Índice de degradação de lignina.

⁴ Tratamento onde foi avaliado pois não houve o crescimento micelial.

(-) Decréscimo no teor de lignina em relação ao controle.

Como pode ser observado na Tabela 6, os valores de lignina anteriores à inoculação são relativamente altos, pois variaram de 28,97 a 37,48%. Segundo HIGUCHI (1985), os valores de lignina normalmente, variam de 17 a 33% em madeiras de *Pinus* spp. Estes valores mais elevados podem ser explicados, pois a serragem de *Pinus* spp. utilizada neste experimento consistiu de material envelhecido por um período de 3 meses no pátio da serraria e, de acordo com KIEHL (1985), sendo a lignina o polímero mais resistente à decomposição, é de se esperar a ocorrência de valores mais altos devido à decomposição dos outros constituintes, como açúcares, amido, hemicelulose e certas proteínas das amostras analisadas.

O tratamento em que houve uma maior degradação de lignina foi o tratamento 1 (somente serragem de *Pinus* spp), com uma redução desta em 24,9%, seguido pelo tratamento 5, suplementado com farelo de arroz (4:1) e tratamentos 9, 10 e 8 onde haviam em sua composição resíduo de erva-mate e farelo de arroz, em iguais proporções. O tratamento 2, suplementado com resíduo de erva-mate (4:1), apresentou redução intermediária (12,4%). As menores reduções nos teores de lignina (8,2%; 6,6% e 5,7%) foram obtidos nos tratamentos 6, 4 e 3, em substratos suplementados com farelo de arroz (3:1) e com erva-mate (2:1) e (3:1), respectivamente.

Segundo BOOMINATHAN & REDDY (1992) apesar da lignina ser um polímero rico em carbono, não é um substrato de crescimento para os microrganismos que a degradam. Segundo estes mesmos autores, aparentemente, o processo oxidativo de degradação de lignina não fornece energia suficiente para o crescimento. Assim sendo, apesar do tratamento 1 (somente serragem de *Pinus* spp.) ter apresentado maior índice de degradação

de lignina, apresentou uma produtividade biológica menor em relação aos tratamentos suplementados, evidenciando a necessidade de outros nutrientes para uma maior produção em escala comercial.

Os resultados estão de acordo com JEFFRIES *et al.* (1981), que considera a degradação de lignina como um processo que ocorre durante o metabolismo secundário, pelo menos com *Phanerochaete chrysosporium*, podendo ser bastante especulativo com relação à *Pleurotus* e outras espécies de podridão branca. Segundo estes mesmos autores, o início do metabolismo secundário pode ser ocasionado pela falta de determinados nutrientes, como nitrogênio, carbono, fósforo e enxofre e, quando estes nutrientes são novamente supridos cessa-se a degradação de lignina, e o fungo retoma o crescimento.

4.3.3 DEGRADAÇÃO DE HOLOCELULOSE

Como foi determinado o teor de matéria orgânica, lignina e sais solúveis em água, por diferença foi obtido o teor de holocelulose dos substratos analisados. Na Tabela 7 estão relacionados os percentuais de holocelulose, antes da inoculação e depois da produção, e o índice de degradação.

A degradação de holocelulose foi maior nos tratamentos que continham em sua mistura o suplemento do resíduo de infusão de erva-mate (tratamentos 2, 3 e 4), respectivamente, nos tratamentos com resíduo de erva-mate e farelo de arroz, em iguais proporções (tratamentos 8, 9 e 10). A maior degradação foi verificada no tratamento 3, com 32,1%, e a menor no tratamento 1 (somente serragem de *Pinus spp.*), com 2,9%. Os tratamentos 5 e 6, suplementados com farelo de arroz, apresentaram valores intermediários.

TABELA 7 EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) NO TEOR DE HOLOCELULOSE DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO (CONTROLE), POSTERIORES À PRODUÇÃO DOS COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA NO SUBSTRATO EXAURIDO.

Tratamentos	Anterior ¹	Posterior ²	Δ DH ³
	Holocelulose (%)		
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	54,35	52,77	(-) 2,9
2 SP + Resíduo de infusão de erva-mate (EM), 4:1	59,89	43,13	(-) 28,0
3 SP + EM, 3:1	57,42	38,97	(-) 32,1
4 SP + EM, 2:1	55,99	41,17	(-) 26,4
5 SP + Farelo de arroz (FA), 4:1	58,58	49,49	(-) 15,5
6 SP + FA, 3:1	58,97	41,83	(-) 29,1
7 SP + FA, 2:1 ⁴	55,72	-	-
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	56,74	42,74	(-) 24,7
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	57,48	40,00	(-) 30,4
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	58,46	40,74	(-) 30,3

¹ Médias de duplicatas avaliadas anteriormente à inoculação de *P. ostreatus* (CCB 108).

² Médias de duplicatas avaliadas posteriormente à colheita de *P. ostreatus* (CCB 108),

³ Índice de degradação de holocelulose.

⁴ Tratamento onde não foi avaliado pois não houve o crescimento micelial do fungo..

(-) Decréscimo no teor de holocelulose em relação ao controle.

A partir dos resultados obtidos pode-se inferir que a degradação de holocelulose do substrato é dependente do período de incubação, como foi observado por CAPELARI (1996). Porém, como os tratamentos 5 e 6 obtiveram valores intermediários de degradação e velocidades miceliais menores, seria razoável dizer que fatores nutritivos também influem na degradação de holocelulose, já que o tratamento 1(somente serragem de *Pinus* spp.) era mais

pobre em nutrientes, principalmente de nitrogênio, e mostrou o menor valor no índice de degradação de holocelulose (2,9%) dentre os tratamentos testados, como apresentad nas Tabelas 4 e 7.

A avaliação desse parâmetro provavelmente sofreu um mascaramento nos seus resultados, pois devido a metodologia utilizada não foi feita a avaliação dos sais insolúveis em água.

4.3.4 SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA (SS)

Na Tabela 8, estão evidenciados os teores de sais solúveis em água (SS) dos substratos avaliados, antes da inoculação e depois da produção dos cogumelos, bem como a variação ocorrida pelo efeito do fungo *P. ostreatus* (CCB 108). Em todos os tratamentos foi observado um grande acréscimo no teor de SS presentes nos substratos após a produção dos cogumelos.

O maior valor observado para os SS após a colheita dos cogumelos foi obtido no tratamento 10, com valores que aumentaram em 4,6 vezes o teor de SS do substrato original. Seguiram-se os tratamentos 9, 2, 6, 3, 4, 8 e 1, com valores intermediários nos teores de SS, e o tratamento 5, foi o que apresentou menor valor no teor de SS, com valores que aumentaram em média 2,3 vezes do teor original. Os resultados acima, podem estar relacionados por fatores nutricionais, uma vez que o tratamento 1 é o que possui menor teor de nutrientes, principalmente nitrogênio. Outra hipótese é que o teor de SS está relacionado com índice de degradação da holocelulose, como pode ser evidenciado nos tratamentos 1 e 5, que mostraram os menores índices, como pode ser visto na Tabela 7.

TABELA 8 EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) NO TEOR DE SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA DOS SUBSTRATOS. VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO (CONTROLE), POSTERIORES À PRODUÇÃO DOS COGUMELOS E A VARIAÇÃO OCORRIDA NO SUBSTRATO EXAURIDO.

Tratamentos	Anterior ¹	Posterior ²	Δ SS ³
	Sais Solúveis em Água (%)		
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	6,93	16,41	X 2,4
2 SP + Resíduo de infusão de erva-mate (EM), 4:1	6,15	24,72	X 4,0
3 SP + EM, 3:1	8,05	24,53	X 3,0
4 SP + EM, 2:1	8,18	23,15	X 2,8
5 SP + Farelo de arroz (FA), 4:1	8,95	20,37	X 2,3
6 SP + FA, 3:1	8,16	25,64	X 3,1
7 SP + FA, 2:1 ⁴	11,29	-	-
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	9,96	25,49	X 2,5
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	5,85	25,41	X 4,3
SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	5,74	26,69	X 4,6

¹ Médias de duplicatas avaliadas anteriormente à inoculação de *P. ostreatus* (CCB 108).

² Médias de 5 amostras avaliadas posteriormente à colheita de *P. ostreatus* (CCB 108).

³ Índice de variação dos sais solúveis em água .

⁴ Tratamento onde não foi avaliado pois não houve o crescimento micelial.

X Acréscimo no teor de sais solúveis em água. Variação em número de vezes comparativos aos teores do substrato controle.

4.3.5 ÍNDICE pH

Os valores do pH mensurados antes da inoculação e após a colheita dos cogumelos são apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) NO pH DOS SUBSTRATOS - VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO E POSTERIORES À PRODUÇÃO DOS COGUMELOS ¹

Tratamentos	pH ²	
	Anterior	Posterior
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	6,63 a	5,55 b
2 SP + Resíduo de infusão de erva-mate (EM), 4:1	6,21 c	5,66 ab
3 SP + EM, 3:1	6,39 b	5,58 bc
4 SP + EM, 2:1	6,19 c	5,77 a
5 SP + Farelo de arroz (FA), 4:1	5,87 d	5,71 ab
6 SP + FA, 3:1	5,62 e	5,43 c
7 SP + FA, 2:1	-	- ³
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	5,91 d	5,46 c
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	5,88 d	5,44 c
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	5,91 d	5,42 c

¹ Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

² Coeficiente de variação (CV) para pH antes da inoculação, 1,07%; pH depois da colheita dos cogumelos, 1,35%.

³ Tratamento onde não foi avaliado pois não houve crescimento micelial.

Os valores de pH anteriores a inoculação variaram de 5,51 a 6,63 em todos os tratamentos, enquanto que, após a colheita dos cogumelos o pH variou de 5,42 a 5,77. Estes resultados estão de acordo com HONG citado por KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), o qual ainda ressaltam que as produtividades foram maiores nestes intervalos de pH.

Pode-se notar que houve um efeito do fungo em acidificar o meio colonizado, pois os valores anteriores a inoculação são inferiores aos valores posteriores a produção dos cogumelos. Antes da inoculação, o tratamento que

mostrou maior valor de pH foi o tratamento 1 (somente serragem), que diferiu estatisticamente dos demais. Seguiram-se os tratamentos com resíduos de erva-mate.

Os tratamentos que mostraram valores de pH mais baixos, antes da inoculação do fungo, foram aqueles onde foi utilizado o farelo de arroz, como complemento. Pode-se notar que quanto maior a concentração de farelo de arroz, menor foi o pH. O pH antes da inoculação, provavelmente comportou-se dessa maneira pois, durante o preparo dos substratos, estes permaneceram por 24 horas para uma melhor absorção de água e, sendo o farelo de arroz, suplemento altamente concentrado em nitrogênio, pode ter ocorrido uma fermentação natural nesse período, que foi observado por um cheiro característico, provavelmente devido a produção e concentração de compostos tóxicos produzidos pela microbiota nativa, principalmente ácidos. Da mesma forma, os resultados, estão de acordo com os observados por RAJARATHNAM & BANO (1989), que relatam que com o decorrer da colonização, o pH cai, até o valor de aproximadamente 4,0; em função da liberação de ácidos orgânicos, principalmente do ácido oxálico.

Após a produção dos cogumelos, o que pode-se notar, é que as diferenças foram menores estatisticamente, mostrando claramente a acidificação promovida pelo fungo em todos os substratos. Os tratamentos que tiveram maiores valores estatísticos foram observados nos tratamentos sem farelo de arroz, com exceção do tratamento 5, estatisticamente igual ao maior pH. Todavia, não existe um consenso no valor ideal do pH, porém cita-se o intervalo de 5,0 a 6,0 aparentemente como o melhor para o cultivo de *Pleurotus* (KURTZMAN & ZADRAZIL, 1984).

Os resultados deste trabalho, estão de acordo com BLOCK *et al.* (1959), que citam o intervalo de pH 5,0 a 6,2 como o melhor para o melhor crescimento do micélio do *P. ostreatus*.

A mudança de pH do substrato já era esperada pois, de acordo com KURTZMAN & ZADRAZIL (1984), *P. ostreatus* muda o pH do substrato que está colonizando, pelo menos em primeiro momento, mesmo que não seja ideal para o seu crescimento. No entanto, no final da colonização o pH permanece constante, supondo então que seja o pH ideal para a linhagem.

4.3.6 NITROGÊNIO TOTAL

Os valores do nitrogênio total antes da inoculação e depois da produção dos cogumelos, e a variação ocorrida, estão apresentados na Tabela 10.

O teor de nitrogênio total do substrato exaurido que obteve maior valor foi o tratamento 4, representado pela serragem mais resíduo de infusão de erva-mate (2:1), com 0,93%, porém não houve diferença estatística do tratamento 10 (SP + EM + FA, 2:1/2:1/2) com 0,89%.

Valores intermediários foram obtidos nos tratamentos 3, 9, 8, 2, 6 e 5, que não diferiram estatisticamente entre si. O menor valor foi obtido pelo tratamento 1 (serragem de *Pinus* spp.) com 0,23%, diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos, explicado pelo fato da não utilização de suplemento nitrogenado neste tratamento.

TABELA 10 EFEITO DA INOCULAÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) NO TEOR DE NITROGÊNIO DOS SUBSTRATOS - VALORES ANTERIORES À INOCULAÇÃO, POSTERIORES À PRODUÇÃO DOS COGUMELOS E VARIAÇÃO OCORRIDA NO SUBSTRATO EXAURIDO

Tratamentos	Nitrogênio (%)			
	Anterior ¹	Posterior ²		ΔN ⁴
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	0,23	0,23	e	0
2 SP + Resíduo de infusão de erva-mate (EM), 4:1	0,51	0,69	c	(+) 35,3
3 SP + EM, 3:1	0,68	0,76	bc	(+) 11,8
4 SP + EM, 2:1	0,58	0,93	a	(+) 60,3
5 SP + Farelo de arroz (FA), 4:1	0,59	0,58	d	(-) 1,7
6 SP + FA, 3:1	0,67	0,64	cd	(-) 4,5
7 SP + FA, 2:1 ³	0,65	-	-	-
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	0,61	0,69	c	(+) 13,1
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	0,58	0,75	c	(+) 29,3
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	0,73	0,89	ab	(+) 21,9

¹ Médias de duplicatas avaliadas antes da inoculação de *P. ostreatus* (CCB 108).

² Médias de 5 repetições avaliadas após a colheita dos cogumelos. Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV = 8,93%.

³ Tratamento onde não foi avaliado pois não houve o crescimento micelial do fungo.

⁴ Variação ocorrida nos teores de nitrogênio: (+) acréscimo e (-) decréscimo.

Além disso, foi observado, haver acréscimo no teor de nitrogênio nos substratos exauridos, onde utilizou-se como suplementação erva-mate ou erva-mate mais farelo de arroz, enquanto que nos tratamentos suplementados somente com farelo de arroz, houve decréscimo nos teores de nitrogênio total.

Esses valores podem ser explicados pela composição química variada dos substratos testados, degradados em diferentes estágios e translocados de diferentes maneiras.

Como pode ser visto na Tabela 10, com exceção do tratamento 1, os menores teores de nitrogênio são observados naqueles tratamentos onde o farelo de arroz está presente. Isto mostra que o nitrogênio do farelo de arroz foi melhor aproveitado na formação dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* e, no caso dos outros substratos há uma "sobra" de nitrogênio total no substrato exaurido.

Dessa forma, as amostras tornam-se mais concentradas nos teores de nitrogênio total devido principalmente à degradação do substrato e conseqüente acúmulo na biomassa fúngica.

4.4 ANÁLISE DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO LINEAR

A Tabela 11 mostra que, entre os parâmetros avaliados foram obtidas correlações significativas a 1% para algumas relações.

Foram obtidas correlações significativas ao nível de 1% de probabilidade nas relações entre: Perda de matéria orgânica x Eficiência Biológica; Produtividade Biológica x pH; Produtividade Biológica x Velocidade Micelial e pH x Velocidade micelial.

A partir desta informação, foram calculadas as curvas de regressão quadrática para melhor estudo e visualização do efeito do fungo nos diferentes substratos. Como somente a relação pH X velocidade micelial mostrou valor acima de 0,80; foi calculada através da análise de regressão quadrática, o valor do coeficiente de determinação (R^2) como mostra a tabela 11 e a figura 3. O R^2 obtido de 0,8644 indica que ocorreu um bom ajuste quadrático entre os pontos das variáveis pH X Velocidade micelial.

De acordo com a Figura 3, pode-se notar que existe uma interação positiva entre o pH e a velocidade micelial. Isto pode ser explicado pelo fato que *Pleurotus* é um gênero adaptado a uma grande amplitude de pH, que gira em torno de 5 a 7 segundo SOBAL *et al.* (1989). Porém o fato de crescer rapidamente não implica numa maior absorção e translocamento de nutrientes (MAZIERO, 1990). Apesar dos maiores valores de crescimento micelial ocorrerem nos substratos com maior índice de pH, no final o pH é diminuído. Segundo KURTZMAN & ZADRAZIL (1982), o gênero *Pleurotus* tende a mudar o pH onde está colonizando, no entanto, no final da colonização há um equilíbrio e

o pH permanece constante, supondo-se então que este seja o pH ideal para a linhagem.

TABELA 11 COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO LINEAR E COEFICIENTES DE DETERMINAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS AVALIADOS. INTERAÇÃO ENTRE 45 PARES DE PONTOS (9 TRATAMENTOS X 5 REPETIÇÕES).

VARIÁVEIS RELACIONADAS	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO	COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO
Perda de Matéria Orgânica x Eficiência Biológica	0,5673 **	-
Perda de Matéria Orgânica x Produtividade Biológica	0,1237 ^{ns}	-
Perda de Matéria Orgânica x pH antes	0,1793 ^{ns}	-
Perda de Matéria Orgânica x Umidade do Substrato	0,1225 ^{ns}	-
Perda de Matéria Orgânica x Velocidade Micelial	0,0992 ^{ns}	-
Eficiência Biológica x Produtividade Biológica	0,1668 ^{ns}	-
Eficiência Biológica x pH antes	0,0791 ^{ns}	-
Eficiência Biológica x Umidade do Substrato	0,2975 ^{ns}	-
Eficiência Biológica x Velocidade Micelial	0,2817 ^{ns}	-
Produtividade Biológica x pH antes	0,4891 **	-
Produtividade Biológica x Umidade do Substrato	0,1182 ^{ns}	-
Produtividade Biológica x Velocidade Micelial	0,5131 **	-
pH antes x Umidade do Substrato	0,0889 ^{ns}	-
pH antes x Velocidade Micelial	0,8524 **	0,8644 **
Umidade do Substrato x Velocidade Micelial	0,1898 ^{ns}	-

^{ns} não significativo.-

** significativo ao nível de confiança de 1%.

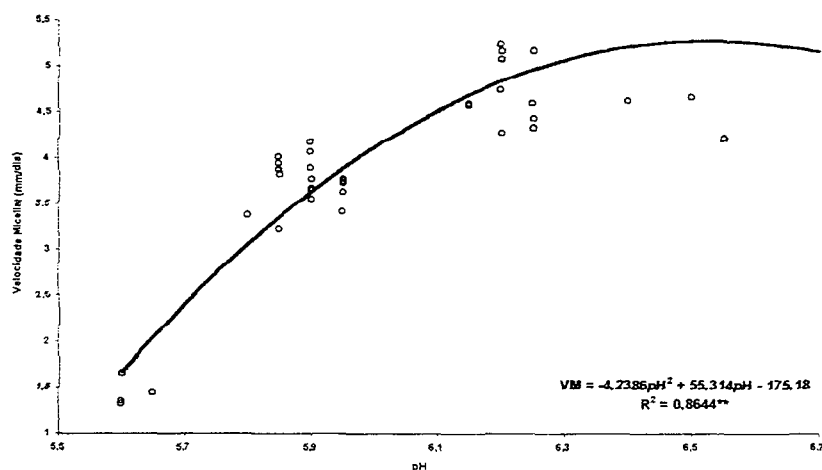


FIGURA 3 INFLUÊNCIA DO pH NA VELOCIDADE MICELIAL NOS SUBSTRATOS COLONIZADOS PELO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108).

4.5 ANÁLISE QUÍMICA DOS SUBSTRATOS EXAURIDOS

A partir do estudos das mudanças ocorridas após a frutificação do fungo *P. ostreatus* (CCB 108), foram avaliadas outras características dos resíduos exauridos com a finalidade de caracterizar suas qualidades como matéria-prima para compostagem orgânica.

A análise química baseou-se principalmente nas metodologias descritas em KIEHL (1985) para fertilizantes orgânicos. Além do pH, lignina, holocelulose, sais solúveis em água e o nitrogênio total, já discutidos anteriormente, foram avaliados os parâmetros, matéria orgânica, carbono total, C/N, macronutrientes (fósforo, potássio, cálcio e magnésio), micronutrientes (ferro, manganês, cobre e zinco) que são apresentados nas Tabelas 12, 13, 14 e 15.

Os valores do pH dos substratos exauridos variaram de 5,42 a 5,77, e que são considerados baixos por KIEHL (1985), pois este sugere valores maiores que 6,0 para ser considerado bom fertilizante orgânico. Segundo este mesmo autor,

considera-se que a matéria-prima crua tem reação ácida; quando está bioestabilizando é neutra ou quase neutra, e quando o composto está humificado a reação é alcalina.

Quanto aos teores de lignina e holocelulose, em todos os tratamentos o fungo degradou apenas parcialmente estes componentes, liberados parcialmente como sais solúveis em água, restando então lignina e holocelulose remanescente que provavelmente seja degradada mais facilmente durante a compostagem.

O teor de matéria orgânica de todos os substratos apresentaram altos valores, variando de 92,62 a 97,30%, claramente explicados pelo fato de se tratarem de resíduos de madeiras, folhas e farelos. Não houve diferença estatística entre os tratamentos, com exceção do tratamento 1 (Serragem de *Pinus* spp.) e o tratamento 5 (Serragem de *Pinus* spp. + Farelo de arroz, 4:1), que diferiram significativamente entre si.

Quanto aos teores de nitrogênio total do substrato exaurido, estes variaram de 0,23 a 0,89% (Tabela 13), como foram discutidos anteriormente no Ítem 4.3.6. Os resultados do experimento, quanto aos teores de nitrogênio, se comparados com os teores de KIEHL (1985) são considerados baixos, havendo a necessidade de nitrogênio orgânico ou mineral para que se apresse o processo fermentativo da compostagem e obter um composto com maior teor de nitrogênio.

A relação C/N nos diferentes substratos variaram de 242,7 a 56,6, sendo o maior valor observado para o tratamento 1, composto somente por serragem de *Pinus* spp., que foi estatisticamente superior aos outros tratamentos. O tratamento 4 (SP + EM,4:1) foi o que apresentou menor valor C/N (56,64), não diferindo porém estatisticamente dos tratamentos 10, 3, 9, 8, 2 e 6, com exceção do tratamento 5, com valor intermediário.

Estes valores foram afetados mais pelo teor de nitrogênio do que pela variação do teor de carbono, pois como pode ser visto na Tabela 13, os valores de carbono total variaram pouco, apresentando teores médios entre 52,31 a 54,05, quase não havendo diferença estatística entre si, com exceção dos extremos; já os teores médios de nitrogênio variaram mais, apresentando-se entre 0,23 a 0,93, com diferenças estatísticas entre os tratamentos, como já foi discutido no Ítem 4.3.6.

Dessa forma, para que a compostagem seja facilitada, sugere-se a adição de materiais (resíduos) com altos teores de nitrogênio ao resíduo exaurido para que o processo de compostagem seja acelerado, pois segundo KIEHL (1985), os valores ideais para esse parâmetro estão entre 25 a 35, para ser considerada matéria-prima ótima para sofrer o processo de compostagem.

TABELA 12 TEORES DE MATÉRIA ORGÂNICA, LIGNINA, HOLOCELULOSE E SAIS SOLÚVEIS EM ÁGUA NOS SUBSTRATOS EXHAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) ¹

Tratamentos	Matéria Orgânica	Lignina ²	Holocelulose ³	Sais Solúveis em Água ⁴
	%			
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	97,30 a	28,12	52,77	16,41
2 SP + EM (Resíduo de infusão de erva-mate), 4:1	95,92 ab	28,07	43,13	24,72
3 SP + EM, 3:1	94,78 ab	31,28	38,97	24,53
4 SP + EM, 2:1	94,14 ab	29,82	41,17	23,15
5 SP + FA (Farelo de arroz), 4:1	92,62 b	24,76	49,49	20,37
6 SP + FA, 3:1	94,44 ab	26,97	41,83	25,64
7 SP + FA, 2:1 ⁵	-	-	-	-
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	94,89 ab	26,66	42,74	25,49
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	95,41 ab	29,00	41,00	25,41
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	95,01 ab	27,58	40,74	26,69

¹ Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Coeficiente de variação para Matéria Orgânica; 1,69%.

² Médias de duplicatas.

³ Médias calculadas através da diferença entre os teores de matéria orgânica com teores de lignina e sais solúveis em água.

⁴ Sais totais, resultante da somatória dos sais solúveis em água pela ação do fungo mais o teor de cinzas original.

⁵ Tratamento onde não foi avaliado pois não houve crescimento micelial.

TABELA 13 TEORES DE CARBONO TOTAL, MATÉRIA ORGÂNICA, NITROGÊNIO TOTAL E VALORES DE pH e C/N NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) ¹

Tratamentos	pH	Carbono Total		Matéria Orgânica		Nitrogênio Total		C/N
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	5,55	54,05	a	97,30	a	0,23	e	242,70 a
2 SP + EM (Resíduo de infusão de erva-mate), 4:1	5,66	53,29	ab	95,92	ab	0,69	cd	77,08 bc
3 SP + EM, 3:1	5,58	52,65	bc	94,78	ab	0,76	bc	69,60 bc
4 SP + EM, 2:1	5,77	52,31	c	94,14	ab	0,93	a	56,64 c
5 SP + FA (Farelo de arroz), 4:1	5,71	52,56	bc	92,62	b	0,58	d	90,64 b
6 SP + FA, 3:1	5,43	52,46	bc	94,44	ab	0,64	cd	82,38 bc
7 SP + FA, 2:1 ²	-	-		-		-		-
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	5,46	52,72	bc	94,89	ab	0,69	cd	76,49 bc
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	5,44	53,00	bc	95,41	ab	0,75	c	70,68 bc
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	5,42	52,78	bc	95,01	ab	0,89	a	60,11 c

¹ Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Coeficiente de variação para carbono total, 0,78%; matéria orgânica, 1,69%; nitrogênio, 8,93% e C/N, 15,12%.

² Tratamento onde não foi avaliado pois não houve crescimento micelial.

A Tabela 14, mostra os teores dos macronutrientes dos substratos exauridos. Os valores das médias são apresentados em gramas por kilogramas do elemento (g/kg). Para efeito de comparação, os teores apresentados por KIEHL (1985), que são apresentados em porcentagem, foram transformados na mesma unidade determinada neste trabalho.

O fósforo foi o macronutriente que mais variou nos substratos exauridos, como pode ser visto na Tabela 14. Houve uma maior concentração de fósforo no tratamento 6 (24,46 g/kg), que está relacionado com a maior proporção de farelo de arroz, que por sua vez é rico em fósforo (Tabela 4). Seguiram-se, com diferenças estatísticas entre si, os tratamentos 5 (19,54 g/kg), 10 (17,50 g/kg), 9 (13,68 mg/kg) e 8 (11,44 g/kg), todos com farelo de arroz como aditivo ao substrato.

Estes valores, são muito superiores aos valores considerados por KIEHL (1985), ou àqueles encontrados em muitas espécies de adubos verdes de verão ou forragem. De acordo com OLEJNIK (1995), que analisou a contribuição de espécies de adubos verdes e forrageiras, a espécie leguminosa que possui maior concentração do elemento fósforo, na matéria seca da planta foi o labe-labe, com 4,40 g/kg.

Os menores valores de fósforo foram encontrados nos tratamentos que continham em sua constituição o resíduo de infusão de erva-mate, que não diferiram estatisticamente entre si, sendo os menores teores obtidos pelo tratamento 1 (somente serragem de *Pinus* spp.), com valor médio de 0,11 g/kg do nutriente.

Quanto ao potássio, os maiores teores foram observados nos tratamentos onde foi utilizado o farelo de arroz como complemento, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Como mostra a Tabela 4, o farelo de arroz é um resíduo rico em potássio. O tratamento que mostrou o menor valor para esse nutriente foi o tratamento 1, composto somente por serragem de *Pinus spp.*, com valores de 0,37g/kg, diferindo estatisticamente dos demais.

Em todos os tratamentos, os valores encontrados foram considerados baixos se comparados com KIEHL (1985), que considera um adubo com baixos teores quando possui menos que 4,15 g/kg. Deve-se então fazer uma complementação dos substratos para este elemento, quando a finalidade é o retorno ao solo, como fertilizante orgânico.

O tratamento 4 (SP + EM, 2:1) foi o que mostrou maior valor estatístico para o teor do macronutriente cálcio, com 11,72g/kg, seguido dos tratamentos 3, 2, 10, 8, 9, 6 e 5, que não variaram estatisticamente entre si. O menor valor foi obtido pelo tratamento 1 (4,90 g/kg), não diferindo porém, estatisticamente dos anteriores.

Os valores obtidos para o elemento cálcio são baixos se comparados com KIEHL (1985), apesar da complementação com 2% de calcário dolomítico, que fora adicionado nos substratos quando de seu preparo antes da inoculação.

Quanto ao teor de magnésio nos substratos exauridos, o que apresentou o maior teor foi o tratamento 10 (6,48 g/kg), porém não houve diferença significativa com os tratamentos 6, 9, 8, 5, 4, 3 e 2. O tratamento que apresentou o menor valor médio foi o tratamento 1 (2,46 g/kg), diferindo estatisticamente dos demais.

KIEHL (1985) classifica os fertilizantes orgânicos como: baixos quando apresentam teores inferiores a 6,0 g/kg; médios, quando entre 6,0 a 12,0 g/kg e e altos quando superiores a 12 g/kg do nutriente. Dessa forma, quanto ao magnésio pode-se considerar que os substratos exauridos são pobres neste elemento.

TABELA 14 TEORES DOS MACRONUTRIENTES (P, K, Ca E Mg) NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) ¹

Tratamentos	Fósforo		Potássio		Cálcio		Magnésio	
	g/kg							
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	0,11	f	0,37	d	4,90	d	2,46	c
2 SP + EM (Resíduo de infusão de erva-mate), 4:1	0,34	f	0,99	c	9,61	ab	5,08	b
3 SP + EM, 3:1	0,71	f	0,90	c	10,65	ab	5,33	ab
4 SP + EM, 2:1	0,67	f	1,11	c	11,72	a	5,53	ab
5 SP + FA (Farelo de arroz), 4:1	19,54	b	2,39	a	5,78	cd	5,54	ab
6 SP + FA, 3:1	24,46	a	2,52	a	5,84	cd	6,01	ab
7 SP + FA, 2:1 ²	-		-		-		-	
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	11,44	e	0,94	c	8,79	b	5,78	ab
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	13,68	d	1,17	c	8,36	bc	5,82	ab
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	17,50	c	1,80	b	9,02	ab	6,48	a

¹ Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Coeficiente de variação para os teores de fósforo, 6,33%; potássio, 14,66%; cálcio, 16,53% e magnésio, 11,87%.

² Tratamento onde não foi avaliado pois não houve crescimento micelial do fungo *P. ostreatus* (CCB108).

A Tabela 15, mostra os teores dos micronutrientes dos substratos exauridos após a colheita dos cogumelos produzidos pelo fungo *P. ostreatus* (CCB 108). Os valores das médias são apresentados em partes por milhão (ppm).

Segundo KIEHL (1986), a principal fonte de micronutrientes dos solos é originada da matéria orgânica do solo, não havendo uma padronização quanto aos seus teores nos fertilizantes orgânicos.

Para o ferro, o tratamento 10 foi o que apresentou maior teor do elemento (231 ppm), porém não houve diferença significativa com os tratamentos 4, 2, 3 e 8. O tratamento 9 apresentou valores médios intermediários, enquanto que os menores valores médios foram apresentados pelos tratamentos 6, 5 e 1, que não diferiram estatisticamente entre si.

Quanto ao manganês, o tratamento 4 foi o que apresentou os maiores valores médios estatísticos, com 674,2 ppm. Seguiram-se na ordem decrescente, os tratamentos 3 e 2, que não diferiram estatisticamente entre si. Estes tratamentos mostraram tais valores pela presença do resíduo de infusão de erva-mate, rico neste elemento. O tratamento 10 mostrou valores intermediários devido à maior concentração de erva-mate, sendo estatisticamente diferente dos tratamentos 9 e 8, que apesar de apresentar a erva-mate, possuem-na em menores proporções. Os menores valores foram observados nos tratamentos 6 e 5, não diferindo estatisticamente entre si, diferindo porém com o tratamento 1, que apresentou os menores valores, com valores inferiores a 100 ppm do nutriente.

Para o cobre, os tratamentos que apresentaram o maior teor foram o tratamento 4, explicado pela maior quantidade de erva-mate (2:1), seguido do tratamento 3 (3:1), sendo diferentes estatisticamente. Seguiram-se os tratamentos 5, 2 e 10, com valores intermediários, porém não diferindo estatisticamente entre si. O tratamento

1 foi o que apresentou menores teores de cobre (3,8 ppm), não diferindo porém estatisticamente dos tratamentos 6 e 8.

Quanto aos teores de zinco, o tratamento que apresentou estatisticamente os maiores valores foram aqueles que apresentaram em sua composição o resíduo de infusão de erva-mate. O maior foi apresentado pelo tratamento 4, com 35,6 ppm, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Seguiram-se os tratamentos 3, 2 e 10, não diferindo porém, estatisticamente entre si. Os tratamentos 9, 8, 6 e 5, apresentaram valores intermediários. Os menores valores para esse micronutriente foram obtidos pelo tratamento 1 (7,2 ppm), que diferiu estatisticamente em relação aos demais tratamentos.

Embora a serragem de *Pinus spp.*, seja pobre em nutrientes, ela é muito importante, pois participa na formação do húmus, que é importante condicionador e melhorador das propriedades físicas, físico-químicas e biológicas dos solos (KIEHL, 1998).

TABELA 15 TEORES DOS MICRONUTRIENTES (Fe, Mn, Cu E Zn) NOS SUBSTRATOS EXAURIDOS APÓS A PRODUÇÃO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* (CCB 108) ¹

Tratamentos	Ferro		Manganês		Cobre		Zinco	
	ppm							
1 Serragem de <i>Pinus</i> spp. (SP)	97,0	c	74,2	f	3,8	f	7,2	e
2 SP + EM (Resíduo de infusão de erva-mate), 4:1	192,6	ab	491,4	b	6,8	c	27,8	b
3 SP + EM, 3:1	190,8	ab	505,0	b	10,0	b	29,8	b
4 SP + EM, 2:1	229,2	a	674,2	a	12,0	a	35,6	a
5 SP + FA (Farelo de arroz), 4:1	108,8	c	86,4	e	8,0	c	15,8	d
6 SP + FA, 3:1	114,0	c	93,0	e	5,0	ef	17,2	d
7 SP + FA, 2:1 ²	-		-		-		-	
8 SP + EM + FA, 4:1/2:1/2	189,2	ab	323,4	d	5,2	def	20,0	cd
9 SP + EM + FA, 3:1/2:1/2	145,2	bc	343,2	d	6,0	de	22,0	c
10 SP + EM + FA, 2:1/2:1/2	231,0	a	402,2	c	6,8	cd	27,0	b

¹ Médias acompanhadas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV) para teores de ferro, 19,27%; manganês, 6,52%; cobre, 11,36% e zinco, 9,47%.

² Tratamento onde não ocorreu crescimento do fungo *P. ostreatus* (CCB 108)

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÃO

Em função das condições e metodologia adotadas, os resultados obtidos permitem extrair as seguintes conclusões:

- É possível a utilização de serragem de *Pinus spp*, resíduo de infusão de erva-mate na produção de *Pleurotus ostreatus* (CCB 108).
- Todas as combinações dos resíduos utilizados proporcionaram taxas equivalentes na produtividade de cogumelos, podendo ser utilizados em produções comerciais. Apenas a serragem de *Pinus spp*. não deve ser utilizada isoladamente, devido a baixa produtividade.
- Quanto aos teores de macro e micronutrientes nos diferentes substratos exauridos, foi verificado que tanto o resíduo de infusão de erva-mate quanto o farelo de arroz podem ser considerados importantes fontes nos resíduos exauridos, com exceção da serragem de *Pinus spp* isoladamente, por ser um resíduo muito pobre.
- É necessário o aproveitamento destes resíduos devido a sua grande disponibilidade, minimizando assim, o problema de poluição causado ao meio ambiente.

Recomenda-se que:

- Além da produção dos cogumelos comestíveis, o resíduo exaurido pode ser utilizado na produção de fertilizantes orgânicos. Devido a suas características químicas e biológicas deve, porém, passar pelo processo de estabilização tradicional.

APÉNDICE

APÊNDICE 1 ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio								
		PMO ¹	EB ²	PB ³	C ⁴	MO ⁵	pHa ⁶	pHd ⁷	C/N ⁸	VM ⁹
Tratamentos	8	262,755**	105,445**	1,691**	1,404**	8,136**	0,589**	0,090**	16561,738**	4,432**
Erro	36	7,459	17,029	0,487	0,169	2,568	0,004	0,006	192,834	0,021

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio								
		N ¹⁰	P ¹¹	K ¹²	Ca ¹³	Mg ¹⁴	Fe ¹⁵	Mn ¹⁶	Cu ¹⁷	Zn ¹⁸
Tratamentos	8	0,208**	460,218**	2,620**	27,302**	6,621**	13279,799**	225915,039**	33,450**	366,756**
Erro	36	0,004	0,387	0,040	1,880	0,401	1028,143	470,467	0,644	4,533

** F significativo a 1%

¹ Perda de matéria Orgânica

² Eficiência Biológica

³ Produtividade Biológica

⁴ Carbono

⁵ Matéria Orgânica

⁶ pH antes da inoculação

⁷ pH depois da produção (resíduo exaurido)

⁸ Relação Carbono/Nitrogênio

⁹ Velocidade Micelial

¹⁰ Nitrogênio

¹¹ Fósforo

¹² Potássio

¹³ Cálcio

¹⁴ Magnésio

¹⁵ Ferro

¹⁶ Manganês

¹⁷ Cobre

¹⁸ Zinco

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABE, E.; EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. Relações entre temperatura de pasteurização e contaminação do composto durante o cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kummer. **Científica**, Marília, v. 20, n. 2, p. 423-433, 1992.
- 2 ALUM, A. ; KHAN, S.M. Utilization of sugar industry for the production of filamentous protein in Pakistan. **Mushroom Science**, v. 12, p. 15-22, 1989.
- 3 ATTHASANPUNNA, P.; CHANG, S.T. The magic of mushrooms. **Unesco Courier**, Paris, v. 6, p. 16-18, 1994.
- 4 BARRON, G.L.; THORN, R.G. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, n. 4, p. 774-778, 1986.
- 5 BEIG, G.M.; JANDAİK, C.L. Artificial cultivation of *Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller in India. **Mushroom Science**, Braunschweig, v. 12, p. 67-71, 1989.
- 6 BIS'KO, N.A.; BILAY, V.T. Effects of *Bacillus macerans* Fr. on growth of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. In: ELLIOT. **Science and Cultivation of Edible Fungi**. Balkema, Rotterdam, 1995.
- 7 BLOCK, S.S.; TSAO, G.; HAN, L. Experiments in the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Mushroom Science**, v. 4, p. 309-325, 1959.

- 8 BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatusroseus* cultivation in Brasil. **Mushroom Science**, v. 13, p. 531-532, 1991.
- 9 BONONI, V.L.R., CAPELARI, M., MAZIERO, R., TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995.
- 10 BOOMINATHAN, K.; REDDY, C.A. Fungal degradation of lignin: Biothechnological applications. In: Arora, D.K.; Elander, R.P.; Mukerji, K.G. (eds.) **Handbook of applied mycology. v. 4: Fungal biotechnology**, New York: Marcel Dekker, 1992, p. 763-822.
- 11 CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatusroseus* Sing. no Brasil. In: **Resumos do XXXVII Congresso Nacional de Botânica**. Anais, Ouro Preto, p. 286, 1986.
- 12 CAPELARI, M. **Atividade biodegradadora e cultivo de três espécies comestíveis de basidiomicetos: *Pleurotus* spp. e *Agrocybe perfecta* (Rick) Sing.** São Paulo, 1996. 154p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas na Área de Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- 13 CEDANO, M.; MARTÍNEZ, M.; SOTO-VELAZCO, C.; GUZMÁN-DAVALOS, L. *Pleurotus ostreatusroseus* (Basidiomycotina, Agaricales) in Mexico and its growth in agricultural wastes. **Cryptogamic Botany**, v. 3, p. 297-302, 1993.
- 14 CHANG, S.T. Mushrooms as human food. **Bioscience**, Washington, v. 30, n. 6, p. 399-401, 1980.

- 15 _____. Mushroom research and development - Equality and mutual benefit.
In: ROYSE, D. **Mushroom Biology and Mushroom Products**. The Pennsylvania State University Press, 1996. p. 1-10.
- 16 CHANG, S.T.; HAYES, W.A. **Biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Press, 1978.
- 17 CHANG, S.T.; LAU, O.W.; CHO, K.Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 12, p. 58-62, 1981.
- 18 CHANG, S.T. & MILES, P.G. A new look at cultivated mushrooms. **Bioscience**, Washington, v. 34, n. 6, p. 358-362, 1984.
- 19 CHANG, S.T. & MILES, P.G. **Edible mushrooms and their cultivation**. Boca Raton, Florida : CRC Press, 1989.
- 20 CHIHARA, G.; MAEDA, Y.; HAMURO, J.; SASAKI, T.; FUKUOKA, F. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berck.) Sing. **Nature**, v. 222, p. 687-688, 1969. CHIHARA, 1969.
- 21 CHIHARA, G.; HAMURO, J.; MAEDA, Y.; ARAI, Y.; FUKUOKA, F. Antitumor polysaccharides derived chemically from natural glucan (pachyman). **Nature**, v. 225, p.943-944, 1970.

- 22 CHONG, C.; RINKER, D.L. Use of spent mushroom substrate for growing containerized woody ornamentals: an overview. **Compost Science and Utilization**, Emmaus, v. 2, n. 3, p. 45-53, 1994.
- 23 COSTA, M.B.B.; MILANEZ, A.I.; CHABARIBERI, D.; LOPEZ, E.S.; LOMBARDI NETO, F.; CERVELLINI, G.; CANTARELLA, H.; TERRA, M.M.; SILVA, N.M.; BRAGA, N.R.; BATAGLIA, O.C.; TRANI, P.E.; FURLANI, P.R.; BELINAZZI JR., R.; HIROCE, R.; MIYASAKA, S. **Adubação Orgânica**, São Paulo: Ícone, 1994.
- 24 CRISAN E.V.; SANDS A. Nutritional value. In: CHANG, S.T.; HAYES, W.A. (eds.) **The biology and cultivation of edible mushrooms**. Florida: Academic Press, 1978, p. 137-168.
- 25 DANAI, O.; LEVANON, D.; SILANIKOVE, N. Cotton straw silage as a substrate for *Pleurotus* sp. cultivation. **Mushroom Science**, Braunschweig, v. 12, p. 81-90, 1989.
- 26 DENCE, C.W. The determination of lignin. In: LIN, S.Y.; DENCE, C.W. (eds) **Methods in lignin chemistry**. Germany: Springer-Verlag, 1992. p. 33-58.
- 27 EGER, G.; GOTTWALD, H.D.; VON NETZER, V. The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus*. **Mushroom Science**, v. 9, n. 1, p. 575-583, 1976.

- 28 EGER, G. Biology and breeding of *Pleurotus*. In: CHANG, S.T.; HAYES, W.A. (eds). **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Press, 1978. p. 497-520.
- 29 EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A.; BRAGA, G.C.; MONTINI, R.M.C.; ICHIDA, M.S.; MARINO, R.H.; COLAUTO, N.B.; SILVA, J.; NETO, F.J. **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. Botucatu: Fepaf, 1997.
- 30 EUGENIO, C.P.; ANDERSON, N.A. The genetics and cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Micologia**, New York, v. 60, p. 627-624, 1968.
- 31 FAO PRODUCTION YEARBOOK. Rome: **FAO**, v. 34, 1985.
- 32 GAMBLE, G.; SETHURAMAN, A.; AKIN, D.E.; ERIKSSON, K.E.L. Biodegradation of lignocellulose in bermuda grass by white rot fungi analyzed by solid-state C¹³ nuclear magnetic resonance. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 9, p. 3138-3144, 1994.
- 33 GUNDE-CIMERMAN, N.G.; CIMERMAN, A. *Pleurotus* fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hidroxy-3methylglutaryl-coenzymeA reductase - Lovastatin. **Experimental Mycology**, San Diego, v. 19, p. 1-6, 1995.
- 34 GUZMÁN-DÁVALOS, L.; SOTO, C.; MARTINEZ-CARRERA, D. El bagazo de cana de azucar como substrato para produccion de *Pleurotus* en Jalisco. **Revista Mexicana de Micologia**, Vera Cruz, v. 3, p. 79-82, 1987.

- 35 HAMURO, J.; CHIHARA, G. Effect of antitumor polysaccharides on the higher structure of serum protein. **Nature**, v. 245, p. 40-41, 1973.
- 36 HAN, Y.H.; CHEN, K.M.; CHENG, S. Characteristics and cultivation of new *Pleurotus* in Taiwan. **Mushroom Science**, v. 9, n. 2, p. 167-173, 1976.
- 37 HASHIMOTO, K.; TAKAHASHI, Z. Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. **Mushroom Science**, v. 9, n. 1, p. 585-593, 1976.
- 38 HIGUCHI, T. Biosynthesis of lignin. In: Higuchi, T. (ed.). **Biosynthesis and biodegradation of wood components**. Orlando: Academic Press, 1985, p. 141-160.
- 39 HO, M.S.; HAN, Y.S. Cultivation of edible fungi in Taiwan. **Mushroom Science**, v. 10, n. 2, p. 561-574, 1979.
- 40 IMBERNOM, M.; DELMAS, J.; LABARERE, J.; POITOU, N. Culture de *Pleurotus ostreatus* sur substrats a base d' ecorces. **Mushroom Science**, v. 9, n. 2, p. 175-197, 1977.
- 41 ISHIGAMI, D.; YOKOMIZO, N.K.S.; FOSCO-MUCCI, E.S. Utilização da madeira de Pinus na produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Quel. **Boletim Técnico do Instituto de Florestal**, São Paulo, v. 40(A), n. 1, p. 108-115, 1986.

- 42 JANDAİK, G.L.; KAPOOR, J.N. Effect of carbon and nitrogen nutrition on growth of *Pleurotus sajor-caju*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 29, p. 326-327, 1976a.
- 43 JANDAİK, G.L.; KAPOOR, J.N. Studies on vitamin requirements of some edible fungi. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 29, p. 259-261, 1976b.
- 44 JEFFRIES, T.W.; CHOI, S.; KIRK, T.K. Nutritional regulation of lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, p. 290-296, 1981.
- 45 JONG, S.C.; DONOVICK, R. Antitumor and antiviral substances from fungi. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 34, p. 183-261. 1989.
- 45 JONG, S. & BIRMINGHAM, J. M. Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. **Advances in Applied Microbiology**, v. 37, p. 101-134, 1992.
- 46 KAUFERT, F. The production of assexual spores by *Pleurotus corticatus*. **Mycologia**, New York, v. 27, p. 333-340, 1935.
- 47 KAWAGISHI, H.; NOMURA, A.; YUMEN, T.; MIZUNO, T. Isolation and properties of a lectin from the fruiting bodies of *Agaricus blazei*. **Carbohydrate Research**, v. 183, p. 150-154, 1988.

- 48 KAWAGISHI, H.; INAGAKI, R.; KANAO, T.; MIZUNO, T. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. **Carbohydrate Research**, v. 186, p. 267-273, 1989.
- 49 KEREM, Z. ; HADAR, Y. Effect of manganese on lignin degradation by *Pleurotus ostreatus* during solid-state fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 4115-4120, 1993.
- 50 KHANNA, P.; GARCHA, H.S. Introducing the cultivation of *Pleurotus Florida* in the plains of India. **Mushroom Science**, Sidney, v. 11, n. 1, p. 655-665, 1981.
- 51 KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Ceres, 1985.
- 52 KIEHL, E.J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba: E.J.Kiehl, 1998.
- 53 KIRK, T. K. Studies of physiology of lignin metabolism by white-rot fungi. In: KIRK, T.K.; HIGUSHI, T.; CHANG, H.M. (Eds.) **Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry and Potential Applications**. Florida, CRC Press, 1981, v. 2, p. 51-64.

- 54 KOHARI, E.K.; AMAZONAS, M.A.L.A.; CARVALHO, F.J.P.C. Potencial de crescimento micelial do fungo *Pleurotus sajor-caju* em serragem e casca de *Pinus* spp. e resíduo de infusão de erva-mate. In: **Workshop Sul-americano sobre Usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana**. Anais, Curitiba, 1997. p. 150-155.
- 55 KOHARI, E.K. **Relatório das atividades desenvolvidas no curso "Agronomy with emphasis on biology and new technologies of mushroom cultivation"**, no Japão, financiada pela Japan International Cooperation Agency. Tsukuba-shi: JICA , 2000.
- 56 KOHARI, E.K. **Relatório de visita a produtores de cogumelos "shimeji", na região de Mogi das Cruzes, S.P.** Curitiba, 1999. 20p.
- 57 KURTZMAN JR., R.H. Nutrition of *Pleurotus sapidus*, effects of liids. **Mycologia**, New York, v. 68, p. 286-295, 1976a.
- 58 KURTZMAN JR., R.H. The metabolism of fatty substances by the oyster mushroom. **Mushroom Science**, v. 9, n. 1, p. 557-265, 1976b.
- 59 KURTZMAN JR., R.H.; ZADRAZIL, F. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms. In: Chang, S.T.; Quimio, T.H. **Tropical mushrooms - biological nature and cultivation methods**. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982.

- 60 LEATHAM, G.F.; KIRK, T.K. Regulation of lignolytic activity by nutrient nitrogen in white-rot basidiomycetes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 16,p. 65-67, 1983.
- 61 LEITE, E. Ambientalmente prósperos. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, Janeiro, p. 58-62, 1999.
- 62 LEONG, P.C. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on cotton waste substrate in Singapore. In: Chang, S.T.; Quimio, T.H. **Tropical mushrooms - biological nature and cultivation methods**. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982. p.349-382.
- 63 LI, ; CHANG, S.T. 1982. Nutritive value of *Volvariella volvacea*. In: Chang, S.T.; Quimio, T.H. **Tropical mushrooms - biological nature and cultivation methods**. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982. p. 199-220.
- 64 LIN, S.Y.; DENCE, C.W. **Methods in lignin chemistry**. Germany: Springer-Verlag, 1992.
- 65 LIU, F.; OOI, V. E. C.; LIU, W. K.; CHANG, S. T. Immunomodulation and antitumor activity of polysaccharide-protein complex from the culture filtrates of a local edible mushroom, *Tricholoma lobayense*. **Gen. Pharmac.**, v. 27, n. 4, p. 621-624, 1996.

- 66 MACHADO, V.O.F.; CAMPOS, V.P. Cultivo de fungos antagonistas em diferentes substratos e avaliação da eficiência no controle de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n.3, p. 387-391, 1997.
- 67 MAEDA , Y. & CHIHARA, G. Lentinan, a new immuno-accelerator of cell-mediated responses. **Nature**, v. 229, p. 634, 1971.
- 68 MARTINEZ-CARRERA, D.; MORALES, P.; SOTO, C.; MURRIETA, M.A.; GUZMÁN, G. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre hojas usadas en extraccion de aceites esenciales. **Revista Mexicana de Micologia**, Vera Cruz, v. 2, p. 119-124, 1986.
- 69 MARTINEZ-CARRERA, D.; MORALES, P.; SOBAL, M. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de caña enriquecido com pulpa de café o paja de cebada. **Micologia Neotropical Aplicada**, México, v. 3, p. 49-52, 1990.
- 70 MARTINEZ-CARRERA, D.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. Prospects of edible mushroom cultivation in developing countries. **Food Laboratory News**, v. 8, December, p. 21-33, 1992.
- 71 MARTINEZ-CARRERA, D.; AGUILLAR, A.; MARTINEZ, W.; MORALES, P.; SOBAL, M. BONILLA, A.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. A sustainable model for rural production of edible mushrooms in México. **Micologia Neotropical Aplicada**, v. 11, p. 77-96, 1998.

- 72 MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* spp.** São Paulo, 1990. 136p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas na Área de Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- 73 MAZIERO, R.; BONONI, V.L.; CAPELARI, M. Cultivo e produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. *Florida* em Mogi das Cruzes, SP, Brasil. **Hoehnea**, v.19, n. 1/2, p. 1-7, 1992.
- 74 MEHTA, K.B.; JANDAİK, C.L. Cultivation of *Pleurotus* cfr. *sapidus* (Schulzer) Kalchbr. in India. **Mushroom Science**, Braunschweig, v. 12, n. 2, p. 179-185, 1989.
- 75 MILES, P.G.; CHANG, S.T. **Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments**. Singapore: World Scientific Press, 1997.
- 76 MIZUNO, T.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T.; ITO, H., SHIMURA, K.; SUMIYA, T.; ASAKURA, A. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. **Agriculture and Biological Chemistry**, v. 54, n. 11, p. 2889-2896, 1990.
- 77 MIZUNO, T.; WANG, G.; ZHANG, J.; KAWAGISHI, H.; NISHITOBA, T.; LI, J. Reishi, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*: Bioactive substances and medicinal effects. In: <http://www.mikei.com/REISHI1997-6.htm>, 1997.

- 78 NISHITOBA, T.; SATO, H.; KASAI, T.; KAWAGISHI, H.; SAKAMURA, S. New bitter C₂₇ and C₃₀ terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (Reishi). **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 48, n. 11, p. 2905-2907, 1985.
- 79 NISHITOBA, T.; SATO, H.; SHIRASU, S.; SAKAMURA, S. Novel triterpenoids from the mycelial mat at the previous stage of fruiting of *Ganoderma lucidum*. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo v. 51, n. 2, p. 619-622, 1987.
- 80 NISHITOBA, T.; SATO, H.; ODA, K.; SAKAMURA, S. Novel triterpenoids and a steroid from the fungus *Ganoderma lucidum*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 211-216, 1988.
- 81 OKHUOYA, J.A. ; ETUGO, J.E. Studies of the cultivation of *Pleurotus tuber-regium* (FR) Sing. na edible mushroom. **Bioresource Technology**, Essex, v. 44, p. 1-3, 1993.
- 82 OLEYNIK, J.; BRAGAGNOLO, N.; BUBLITZ, U.; SILVA, J.C.C. **Análise de solos. Tabelas de transformação de resultados analíticos e interpretação de resultados**. Curitiba: SEAB-Emater-PR, 1995.
- 83 OLIVIER, J.M.; LABORDE, J.; GUINBERTEAU, J. **La culture des champignons**. Paris: Armand Colin, 1991.

- 84 ORTEGA-CERRILLA, M.E.; CAN-COSTA, B.; HERRERA-PATIÑO, F.; PÉREZ-GIL-ROMO, F. Efecto de la inoculación del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en la composición química y digestibilidad de la paja de cebada. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 36, n. 2, p. 345-350, 1986.
- 85 PAI, S.H.; JONG, S.C.; LOW, D.W. Usages of mushrooms. **Bioindustry**, v. 1, p. 126-131, 1990.
- 86 PAL, J.; PAUL, Y.S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on legume wastes. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, Udaipur, v. 15, n. 1, p. 76, 1985.
- 87 PALMIERI, G.; GIARDINA, P.; MARZULLO, L.; DESIDERIO, B.; NITTI, G.; CANNIO, R.; SANNIA, G. Stability and activity of a phenoloxidase from the lignolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. **Applied Microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 39, n. 4, p. 632-636, 1993.
- 88 PEIXOTO. R.T.G. **Matéria orgânica: Frações e transformações no solo**. Aulas ministradas no curso de Pós-graduação em Ciência do Solo. (Folhas avulsas, 20 p.), 1997.
- 89 PERKIN & ELMER. **Analytical methods of atomic absorption Spectrophotometry (Ay -II)**, 1973.

- 90 PLATT, M.W.; HADAR, Y.; CHET, I. Fungal activities involved in lignocellulose degradation by *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 20, p. 150-154, 1983.
- 91 RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKA, M.N.; BANO, Z. Biopotentialities of the basidiomacromycetes. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 37, p. 233-361, 1992.
- 92 RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms. Part. 1 B, pathology, in vitro and in vivo growth requirements, and status. **CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 26, n. 3, p. 243-311, 1987.
- 93 RANZANI, M.R.T.C.; STURION, G.L.; OETTERER, M. Colonization potential of banana leaves for growth of *Pleurotus* species. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 27, p. 78-82, 1996.
- 94 RINKER, D.L. Response of the oyster mushroom to supplementation prior to pasteurization. **Mushroom Science**, Braunschweig, v. 12, n. 2, p. 187-198, 1989.
- 95 ROYSE, D.J. Recycling of spent shiitake substrate for production of the oyster mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 38, p. 179-182, 1992.

- 96 SAKAGAMI, H.; TAKEDA, M. Diverse biological activity of PSK (krestin), a protein-bound polysaccharide from *Coriolus versicolor* (Fr.) Quel. In: **Mushroom Biology and Mushroom Products**, eds. Chang, S.T.; Buswell, J.A. & Chiu, S.W., p. 237-245, Hong Kong: Chinese University Press, 1996.
- 97 SCHIES U.; LELLEY, J. Research on some aspects of semi-anaerobic fermentation. In: **Mushroom Science XII (Part II)**. Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Braunschweig, 1987.
- 98 SINGH, R.P. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. mushroom. **Mushroom Science**, v. 11, n.1, p. 667-673, 1981.
- 99 SOBAL, M.; MORALES, P.; MARTINEZ-CARRERA, D. Efecto del pH sobre el crecimiento de diversas cepas mexicanas y extranjeras de hongos comestibles en el laboratorio. **Micologia Neotropical Aplicada**, Mexico, v. 2, p. 19-39, 1989.
- 100 SONE, Y. ; OKUDA, R.; WADA, N.; KISHIDA, E.; MISAKI, A. Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 2641-2653, 1985.

- 101 SOUZA, M.R. Tecnologias para usos alternativos de resíduos florestais: Experiência do laboratório de produtos florestais - IBAMA na área de utilização de resíduos florestais e agrícolas. In: **Workshop Sul-americano sobre Usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana**. Anais, Curitiba, 1997. p. 49-70.
- 102 SRIVASTAVA, H.C.; BANO, Z. Nutrition requirements of *Pleurotus flabellatus*. **Applied and environmental Microbiology**, Washington, v. 19, p. 166-169, 1970.
- 103 STAMETS, P. **Growing gourmet and medicinal mushrooms**. Berkeley: Ten Speed Press, 1995.
- 104 STÖLZER, S.; GRABBE, K. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible mushroom. In: Maher (Ed.) **Science and Cultivation of edible fungi**, Balkema, Rotterdam, 1991.
- 105 STURION, G.L.; OETTERER, M. Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.). **Ciência e Tecnologia Alimentícia**, v. 15, n. 2, p. 194-200, 1995.
- 106 TAN, K.K. Cultivation of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on cotton waste. **Mushroom Science**, v. 11, n. 1, p. 697-703, 1981.

- 107 TEIXEIRA, E.M. **Efeito da suplementação de serragem de *Eucalyptus grandis* na velocidade e intensidade de colonização do substrato para a produção de "semente" de *Lentinula edodes* e sua eficiência na produtividade.** Jaboticabal, 1996. 43p. Dissertação (Mestrado em Agronomia na Área de Tecnologia e Produção de Sementes) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista.
- 108 THORN, R.G.; BARRON, G.L. Carnivorous mushrooms. **Science**, v. 224, p. 76-78, 1984.
- 109 TOMASELLI, I. Resíduos da indústria de processamento primário: uma oportunidade. In: **Workshop Sul-americano sobre Usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana.** Anais, Curitiba (folhas avulsas, 10p.), 1997.
- 110 TOMATTI, U.; GALLI, E.; DILENA, G. BUFFONE, R. Induction of laccase in *Pleurotus ostreatus* mycelium grown in olive oil waste waters. **Agrochimica**, Pisa, v. 25, n. 2, p. 275-279, 1991.
- 111 TOYOMASU, T.; MORI, K. Intra and interspecific protoplast between some *Pleurotus* species. **Agricultural and Biological Chemistry Journal**, Tokyo, v. 51, n. 3, p. 935-937, 1987.

- 112 UPADHYAY, R.C.; VIJAY, B.; VERMA, R.N. Use of industrial tea leaf waste for cultivation of oyster mushrooms. In: ROYSE, D. **Mushroom Biology and Mushroom Products**. The Pennsylvania State University Press, 1996, p. 423-428.
- 113 USUI, T.; IWASAKI, Y.; HAYASHI, K.; MIZUNO, T.; TANAKA, M.; SHINKAI, K.; ARAKAWA, M. Antitumor activity of water-soluble β -D-glucan elaborated by *Ganoderma applanatum*. **Agriculture and Biological Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 323-326, 1981.
- 114 VISSCHER, H.R. Supplementation of the substrate for *Pleurotus* species at filling. **Mushroom Science**, v. 12, n. 2, p. 229-240, 1989.
- 115 WANG, S.H.L.; LOHR, V.I.; COFFEY, D.L. Growth response of selected vegetable crops to spent mushroom compost application in a controlled environment. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 82, p. 31-40, 1984a.
- 116 WANG, S.H.L.; LOHR, V.I.; COFFEY, D.L. Spent mushroom compost as a soil amendment for vegetables. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 109, n. 5, p. 698-702, 1984b.
- 117 WANG, G.; ZHANG, J.; MIZUNO, T.; ZHUANG, C.; ITO, H.; MAYUZUMI, H.; OKAMOTO, H.; LI, J. Antitumor active polysaccharides from the chinese mushroom songshan lingzhi, the fruiting bodie of *Ganoderma tsugae*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 57, n. 6, p. 894-900, 1993.

- 118 YAMANAKA, 1991. **Hiratake saibai**. Tokyo: Nomura bunka-sha. 1991. °
- 119 YANG, Q. Y.; HU, Y. J.; LI, X. Y; YANG, S. X.; LIU, J. X.; LIU, T.F.; XU, G. M.; LIAO, M. L. A new biological response modifier- PSP. In: **Mushroom Biology and Mushroom Products**, eds. Chang, S. T., Buswell, J. A. & Chiu, S. W., p. 247-259, Hong Kong, Chinese University Press, 1993.
- 120 ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In: Chang, S.T.; Hayes, W.A. **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York, Academic Press, 1978, p. 521-557.
- 121 _____. Conversion of different plant waste into feed by basidiomycetes. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v., p. 243-248, 1980.
- 122 ZADRAZIL, F.; BRUNNERT, H. The influence of ammonium nitrate supplementation on degradation and in vitro digestibility of straw colonized by higher fungi. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 9, p. 37-44, 1980.
- 123 ZADRAZIL, F.; KURTZMAN JR., R.H. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In: Chang, S.T.; Quimio, T.H. **Tropical mushrooms - Biological nature and cultivation methods**. New York: Academic Press, 1982.