

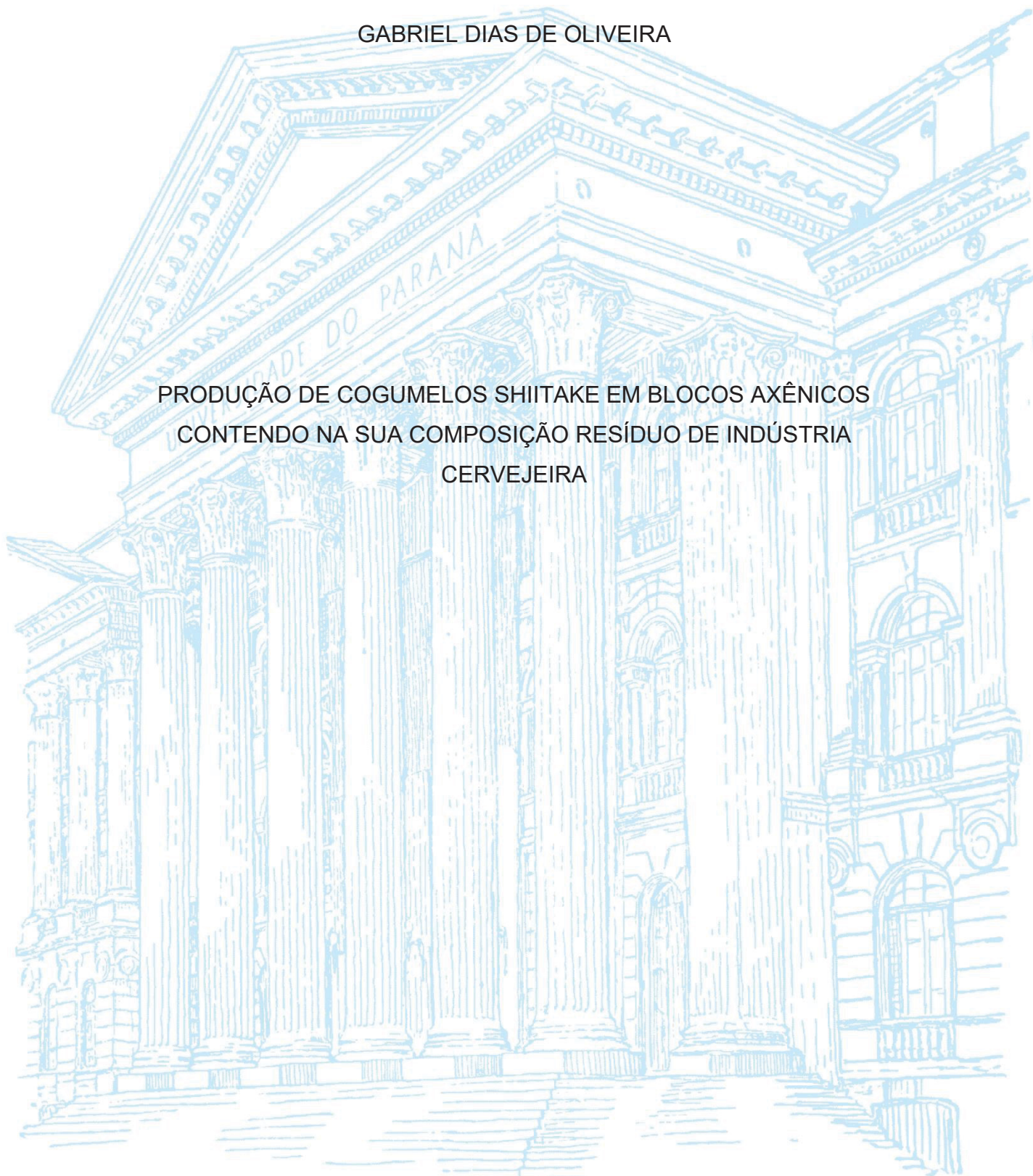
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIEL DIAS DE OLIVEIRA

PRODUÇÃO DE COGUMELOS SHIITAKE EM BLOCOS AXÊNICOS
CONTENDO NA SUA COMPOSIÇÃO RESÍDUO DE INDÚSTRIA
CERVEJEIRA

CURITIBA

2021



GABRIEL DIAS DE OLIVEIRA

PRODUÇÃO DE COGUMELOS SHIITAKE EM BLOCOS AXÊNICOS
CONTENDO NA SUA COMPOSIÇÃO RESÍDUO DE INDÚSTRIA
CERVEJEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Área de Concentração em Produção Vegetal. Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Francine Lorena Cuquel

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a. Maria de Fátima Sales Westernen

CURITIBA

2021

Oliveira, Gabriel Dias de

Produção de cogumelos shiitake em blocos axênicos contendo na sua composição resíduo de indústria cervejeira. / Gabriel Dias de Oliveira. - Curitiba, 2021.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientadora: Francine Lorena Cuquel

Coorientadora: Maria de Fátima Sales Westernen

1. Shiitake - Cultivo. 2. Cogumelos comestíveis - Cultivo. 3. Malte. 4. Cevada. 5. Cervejaria – Eliminação de resíduos. 6. Resíduos – Reaproveitamento. I. Cuquel, Francine Lorena. II. Westernen, Maria de Fátima Sales. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA
EDUCAÇÃO SETOR DE
CIÊNCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **GABRIEL DIAS DE OLIVEIRA** intitulada: **PRODUÇÃO DE COGUMELOS SHIITAKE EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO RESÍDUO DE INDÚSTRIA CERVEJEIRA**, sob orientação da Profa. Dra. FRANCINE LORENA CUQUEL, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 12 de julho de 2021.

Assinatura Eletrônica
12/07/2021 21:33:59.0

FRANCINE LORENA CUQUEL
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
10/08/2021 16:54:43.0

FRANCISCO MENINO DESTEFANIS VITOLA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO
PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
13/07/2021 13:41:30.0

DIEGO CUNHA ZIED
Avaliador Externo (UNESP)

Assinatura Eletrônica
12/07/2021 20:00:26.0

VANIA DI ADDARIO GUIMARÃES
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80035-050 - Tel: (41) 3350-5601 - E-mail: pgapv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA - UFPR, com a seguinte

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.pppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 100673

AGRADECIMENTOS

Agradeço por este trabalho de dissertação de mestrado aos meus pais Edilson Resende de Oliveira e Denise Machado Dias e toda família que estiverem me apoiando em cada decisão e adversidade que surgiram no meio do caminho.

Também as pessoas especiais Suzana Carvalho, Leticia Camargo Padilha, Cristiane Wotroba Hanke e Alexandre Augusto Serafim e que estiveram ao meu lado nesse trajeto e puderam compartilhar esta caminhada, tornando-a mais fácil e prazerosa.

A minha orientadora Prof.^a Dra. Francine Lorena Cuquel e coorientadora Prof.^a Dr.^a. Maria de Fátima Sales que compartilharam de seus conhecimentos de ensino e de vida, para que eu pudesse alcançar esse objetivo. Aos meus parceiros de trabalho Gabriel Lucas de Jesus e Ricardo Scheffer de Andrade Silva que me ajudaram e contribuíram para que eu pudesse realizar o melhor trabalho possível.

Este trabalho não poderia ter sido realizado se não fosse por todo apoio e contribuição para comigo e com a pesquisa da família Kostetzer todos seus membros Gustavo Pump Kostetzer a Sr^a Lela Kostetzer e em memória também do Sr^o Kostetzer.

Agradecimentos também a empresa Cervejaria Blumenau, através de seu representante Marcos Guerra, que deu seu suporte e apoio a este trabalho.

Agradeço também à Universidade Federal do Paraná, uma instituição de confiança que desde o início me deu todo suporte para que eu chegasse aqui.

Chego a esse momento por causa de importante pessoas que se propuseram a me orientar e aconselhar, além de, dispor de seus conhecimentos e tempo para me avaliar, agradeço assim aos professores Prof.^o Dr.^o. Diego Cunha Zied, Prof.^a Dr.^a. Vania Di Addario Guimarães, Prof.^o Dr.^o. Francisco Menino Destéfanis Vítola, Prof. Dr. Átila Francisco Mógor e Prof. Dr. Gilmar Schafer.

Enfim quero demonstrar o meu agradecimento, a todos aqueles que, de um modo ou de outro, tornaram possível a realização da presente dissertação.

À Capes, pelo auxílio financeiro.

A todos o meu sincero e profundo Muito Obrigado! Gabriel Dias de Oliveira.

Un intelectual es alguien que normalmente no se distingue exactamente por su intelecto. Según el viejo refrán: dime de qué te jactas y te diré lo que te falta, porque el incompetente siempre se presenta como capaz. El cruel, qué piadoso. El pecador como santo. El avaro como generoso. El mezquino como un patriota. El arrogante, qué humilde. Lo vulgar, qué elegante. Y el tonto, como intelectual.

ZAFÓN, Carlos R., 2017, p.203

RESUMO

O cultivo de cogumelos shiitake (*Lentinula edodes*) em blocos axênicos vêm evoluindo constantemente ao longo dos anos. Deste modo novos estudos direcionados aos diversos setores desta cadeia produtiva vão surgindo para suprir a demanda por novas informações que proporcionem evolução do cultivo. Tendo em vista a grande capacidade produtiva, estudos voltados para novas matérias primas que potencializem a produção veem sendo realizados. Enaltecendo a importância deste estudo em proporcionar informações quanto a inserção da matéria prima bagaço do malte de cevada (BMC), um resíduo agroindustrial causador de impactos ambientais negativos a partir do seu descarte de forma errada no meio ambiente. O BMC mostrou ser uma matéria prima com potencial de ser viável e produtiva. Analisando diferentes formulações de substratos utilizando o BMC, foram alcançadas eficiências biológicas (EB%), produtividades (PR%) e características de cultivo que mostraram o potencial da inserção do BMC em produções comerciais. Neste estudo os substratos com as relações C/N de 30/1 e 36/1 resultaram em EB de 20,18% e 16,41% e PR de 10,91% e 10,19%.

Palavras-chave: *Lentinula edodes*, relação C/N, bagaço do malte de cevada, resíduo de cervejaria, cultivo de cogumelos comestíveis.

ABSTRACT

The farming of shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) in axenic blocks has been evolving over the years. Thus, new studies aimed at sectors of this production chain are emerging to meet the demand for information that provides the evolution of cultivation. Because of the large production capacity, studies aimed at new raw materials that enhance production have to be done. The importance of this study is to provide information on inserting the raw material barley malt bagasse (BMC), an agro-industrial residue that causes negative environmental impacts from its incorrect disposal in the environment. BMC proved to be a raw material with the potential to be viable and productive. By analyzing different formulations of substrates using BMC, biological efficiencies (EB%), yields (PR%), and cultivation characteristics were achieved that showed the potential of inserting BMC in commercial productions. In this study, substrates with C/N ratios of 30/1 and 36/1 resulted in EB of 20.18% and 16.41% and PR of 10.91% and 10.19%.

Keywords: *Lentinula edodes*, C/N ratio, barley malt bagasse, brewery residue, edible mushroom cultivation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO E HUMIDIFICAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS A COMPOR AS FORMULAÇÕES DOS SUBSTRATOS ESTUDADOS. A: SERRAGEM DE EUCALIPTO; B: BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA FRESCO; C: HOMOGENEIZAÇÃO E HUMIDIFICAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS.	25
FIGURA 2 - ENCHIMENTO DOS SACOS PEAD COM O SUBSTRATO PARA CULTIVO.....	26
FIGURA 3 - AUTOCLAVAGEM DOS BLOCOS PARA CULTIVO.....	26
FIGURA 4 - DESCANSO DOS BLOCOS AXÊNICOS APÓS AUTOCLAVAGEM.	27
FIGURA 5 - INOCULAÇÃO E FECHAMENTO DOS BLOCOS AXÊNICOS PARA TRANSPORTE.....	27
FIGURA 6 - CULTIVO EM AMBIENTE CONTROLADO DE COGUMELOS SHIITAKE EM BLOCOS AXÊNICOS.	27
FIGURA 7 - PONTO DE COLHEITA DOS COGUMELOS SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) CULTIVADOS EM BLOCOS AXÊNICOS. A: ABERTURA DO PÍLEO; B: COLORAÇÃO DA FACE SUPERIOR DO PÍLEO. BARRA: 2 CM. FONTE: O AUTOR.	29
FIGURA 8 - MORFOLOGIA DO PÍLEO DOS COGUMELOS SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) COLHIDOS EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N, NO SEGUNDO EXPERIMENTO. A: C/N36/1; B: C/N31/1 E C: C/N27/1. BARRA: 1 CM.....	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - RELAÇÕES C/N ESTIMADAS DOS SUBSTRATOS E AS RESPECTIVAS PROPORÇÕES DE CADA MATÉRIA PRIMA (%) UTILIZADAS PARA COMPOR OS BLOCOS AXÊNICOS, NO PRIMEIRO CULTIVO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>).....	24
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS MATÉRIAS PRIMAS UTILIZADAS PARA COMPOR OS SUBSTRATOS DOS BLOCOS AXÊNICOS, NO SEGUNDO EXPERIMENTO DE CULTIVO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>).....	25
TABELA 3 - RELAÇÕES C/N DOS SUBSTRATOS E AS RESPECTIVAS PROPORÇÕES DE CADA MATÉRIA PRIMA (%) UTILIZADAS PARA COMPOR OS BLOCOS AXÊNICOS, NO SEGUNDO CULTIVO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>).....	25
TABELA 4 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS SUBSTRATOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA UTILIZADOS NO SEGUNDO CULTIVO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>).....	28
TABELA 5 - CONDIÇÕES AMBIENTAIS UTILIZADAS NAS CÂMARAS FRIAS NOS DOIS EXPERIMENTOS, EM CADA FASE DE CULTIVO DO SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) EM BLOCOS AXÊNICOS.	28
TABELA 6 - DURAÇÃO DAS FASES DE CULTIVO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, NO PRIMEIRO EXPERIMENTO.....	31
TABELA 7 - CARACTERÍSTICAS DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N, NO PRIMEIRO EXPERIMENTO.	31
TABELA 8 - EFICIÊNCIA BIOLÓGICA E PRODUTIVIDADE DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N NO PRIMEIRO EXPERIMENTO.....	31
TABELA 9 - DURAÇÃO DAS FASES DE CULTIVO DE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, NO SEGUNDO EXPERIMENTO.	32

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N, NO SEGUNDO EXPERIMENTO.

..... 32

TABELA 11 - EFICIÊNCIA BIOLÓGICA E PRODUTIVIDADE MÉDIAS DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N NO SEGUNDO EXPERIMENTO..... 33

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
	1.1. OBJETIVOS	14
	1.1.1. Objetivo geral.....	14
	1.1.2. Objetivos específicos.....	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
	2.1. EVOLUÇÃO DO CULTIVO DE COGUMELOS SHIITAKE	15
	2.2. CULTIVO EM BLOCOS AXÊNICOS	16
	2.2.1. Preparo do bloco axênico	16
	2.2.2. Inoculação da semente (<i>spawn</i>).....	16
	2.2.3. Crescimento micelial (<i>spawn running</i>).....	17
	2.2.4. Formação da capa preta (<i>browning</i>).....	17
	2.2.5. Indução dos primórdios	18
	2.2.6. Colheita dos cogumelos.....	19
	2.3. FORMULAÇÃO DOS SUBSTRATOS.....	19
	2.4. MATÉRIA PRIMA: BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA.....	20
	2.5. IMPORTÂNCIA DO COGUMELO SHIITAKE.....	22
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
	3.1. METODOLOGIA ESTATÍSTICA.....	29
4.	RESULTADOS.....	31
5.	DISCUSSÃO	34
6.	CONCLUSÕES	38
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
8.	REFERÊNCIAS DE LITERATURA	40

1. INTRODUÇÃO

O cogumelo comestível *Lentinula edodes* (shiitake) tem importância econômica, alimentícia e medicinal de âmbito mundial. Ele é o cogumelo comestível mais cultivado no mundo (Royse et al. 2017). Seu método de cultivo mais utilizado é o em blocos axênicos, o qual corresponde por 75% da produção mundial (Kobayashi et al. 2020). Este método de cultivo é caracterizado por ser de baixo impacto ambiental e possibilitar a reutilização de resíduos agrícolas, florestais e/ou agroindustriais como matérias primas. Além de, proporcionar maior eficiência biológica (EB), maior produtividade (PR) e um curto ciclo de cultivo em relação ao método convencional de cultivo em toras (Chen, 2005).

Visando aprimorar e reduzir custos de produção, os produtores utilizam os resíduos agrícolas que estejam disponíveis na região em mistura com outros materiais para atender as necessidades nutricionais que do shiitake (Zied et al. 2016; Bach et al. 2018 e Atila, 2019). Estes resíduos devem apresentar em sua composição compostos lignocelulósicos (lignina, celulose e hemicelulose), macronutrientes, micronutrientes e minerais, para serem viáveis como matérias primas na composição dos substratos a compor os blocos axênicos (Montini, 2001).

O bagaço do malte de cevada é o mais abundante resíduo gerado pela indústria cervejaria, correspondendo a 85% de todos os resíduos gerados. Para exemplificar, na fabricação de 100 litros de cerveja, são gerados 20 kg do bagaço com 70% a 80% de umidade (Massardi et al. 2020). Isto corresponde a uma produção média de 2,82 milhões de toneladas deste resíduo por ano no Brasil (Massardi et al. 2020). Ele tem sua destinação limitada a alimentação animal ou descarte em aterros sanitários. A composição química deste resíduo é dependente da variedade, tipo comercial e processo de fabricação da cerveja. Em geral é constituído pela casca do malte e restos de polpa, sendo composto por celulose, hemicelulose, lignina, proteínas, extrativos, cinzas, fibras, lipídeos, aminoácidos, vitaminas e compostos fenólicos (Massardi et al. 2020, Qin et al. 2018 e Saraiva et al. 2018) e açúcares polimerizados da celulose e da hemicelulose (Mussatto; Roberto, 2006). O seu uso como possível matéria prima para compor os blocos axênicos para produção de cogumelos shiitake ainda não foi estudado.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

Desenvolver a tecnologia de produção de shiitake em blocos axênicos contendo o bagaço do malte de cevada como matéria prima na composição dos substratos a compor os blocos axênicos.

1.1.2. Objetivos específicos

Identificar a formulação de substrato para o cultivo de shiitake em bloco axênico contendo BMC que apresente eficiência biológica e produtividade satisfatórias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. EVOLUÇÃO DO CULTIVO DE COGUMELOS SHIITAKE

O primeiro cultivo de shiitake é reivindicado tanto por China quanto por Japão. Os chineses citam seu cultivo a cerca de 1.500 anos atrás e o japoneses o citam terem realizado há 1.000 anos atrás, sendo realizado em toras de arvores e por muito tempo este foi o método de cultivo mais utilizado (Tokimoto, 2005; Gerenutti et al. 2015).

O tradicional cultivo em troncos de arvores desenvolvido pela China e difundido ao mundo, foi aperfeiçoado pelos produtores japoneses, tornando-o uma ciência e uma produção em escala comercial. Durante o período de 1940 a 1986, o Japão liderou a produção mundial de shiitake, em no ano de 1983 foi responsável por 82,8% de toda a produção mundial. Após esse período, no ano de 1987 ocorreu uma grande mudança global envolvendo um novo método de cultivo, desenvolvido pelos chineses, que a possibilitou a China retomar o patamar de principal produtor mundial, produzindo 178,800 toneladas naquele ano. O desenvolvimento do método de cultivo em sacos usando a serragem de carvalho (*Quercus spp.*) como substrato, foi o que contribuiu para essa dinâmica mundial, pois proporcionou aumentos na produtividade, ciclos mais curtos de produção e rápido retorno de capital (Chen, Alice W., 2005).

Ambos os métodos de cultivo em escala comercial do shiitake, buscam se assemelhar as condições naturais de crescimento do fungo e ao seu ciclo biológico, que consiste no crescimento micelial (germinação dos esporos, união das hifas, desenvolvimento e crescimento micelial) e produção dos cogumelos (multiplicação e diferenciação de suas células em basidiocarpos) (Finimundi, 2013). Dito isso, o cultivo em toras, utiliza de espécies arbóreas como Carvalho (*Quercus spp.*) (Viotto, 2016), Arvore Shi (*Castanopsis cuspidata Thunb.*) (Ranjbar; Olfati, 2017), Manga (*Mangifera indica*) (Bach et al. 2018) e Abacate (*Persea americana*) (Bach et al. 2018) e Eucalipto (*Eucalyptus spp.*) (Maciel, 2012), obtendo ciclo de cultivo, com até quatro fluxos de produção em cerca de 12 (doze) a 14 (quatorze) meses (Kasuya et al. 2005).

Atualmente o cultivo tradicional em toras tem sido substituído pelo cultivo em blocos axênicos que já corresponde a 75% da produção mundial de shiitake

(Kobayashi et al. 2020). Este método proporciona ciclo de cultivo, com até três fluxos de produção em cerca de quatro meses, uma eficiência biológica até 125% maior do que no cultivo em toras, dependendo da composição do substrato e da linhagem cultivada (Chen, 2005; Viotto, 2016).

2.2. CULTIVO EM BLOCOS AXÊNICOS

O cultivo de shiitake em bloco axênico busca adequar suas fases dentro do ciclo de cultivo ao comportamento natural do fungo na natureza porém de forma mais eficiente, sendo elas: Preparo do bloco axênico (composição e formulação), inoculação da semente (*spawn*), crescimento e desenvolvimento micelial (*spawn running*), formação da capa preta (*browning*), indução dos primórdios e colheita (Calgaroto, 2019).

2.2.1. Preparo do bloco axênico

O preparo dos blocos axênicos inicia-se com a escolha das matérias que irão compor a formulação do substrato, em seguida ocorre a homogeneização delas e a umidificação que corresponderá entre 50% e 70% da massa total dos blocos. Em seguida é realizado o acondicionamento de em média 2,0kg de substrato em sacos de polipropileno de alta intensidade (PEAD) com um filtro microbiológico (microporoso) de 4 cm² previamente termo soldado ao saco. Após o acondicionamento, os blocos são esterilizados por autoclavagem por cerca de 4 horas até que o centro dos blocos alcance 121°C por no mínimo 15 minutos. Após a esterilização é realizado o resfriamento dos blocos por 24 (Montini, 2001 e Oei, 2006).

2.2.2. Inoculação da semente (*spawn*)

A inoculação consiste na escolha e utilização da melhor linhagem de interesse. O processo consiste em espalhar de 1 a 2% de semente em relação a massa total do bloco sobre sua superfície, deve-se ficar atento as medidas preventivas e de sanitização do ambiente, para evitar contaminações e diminuir a possibilidade de perdas parciais ou totais da produção (Oei, 2006).

Nesta fase de inoculação o fungo encontra-se na fase de latência do seu metabolismo fisiológico, que consiste em um período de crescimento zero e reflete o tempo necessário para ele se adaptar ao novo ambiente de crescimento (Walker; White, 2017).

2.2.3. Crescimento micelial (*spawn running*)

O crescimento micelial (*spawn running*) é a fase exponencial do metabolismo primário do fungo, período que ocorre a duplicação constante das suas células de forma logarítmica, proporcionando maior produção de biomassa micelial. A composição nutricional do bloco axênico é determinante nessa fase (Walker; White, 2017).

O processo ocorre nas seguintes etapas:

- a) Colonização micelial: o fungo irá desenvolver hifas brancas e produzir enzimas para decompor os compostos complexos presentes no substrato como hemicelulose, celulose e lignina (Oei, 2006).
- b) Formação do revestimento micelial: nesta fase desenvolve-se uma camada micelial branca, grossa na superfície do substrato, isso ocorre de 2 (duas) a 4 (quatro) semanas após a inoculação. Esta fase tem interferência direta do nível de CO₂ no ambiente (altos níveis de CO₂ o revestimento micelial será mais grosso) (Oei, 2006).
- c) Formação dos inchaços miceliais: na superfície do revestimento micelial é onde formam-se os inchaços ou conjuntos de micélio. Estes inchaços irão gerar os primórdios, mas a maioria dele vem a murchar. A formação dos inchaços é estimulada por manejos ambientais como variação na temperatura e níveis de CO₂, se houver a formação de muitos inchaços é aconselhável a retirada do saco, pois os inchaços podem ser problemáticos, por facilmente serem contaminados por *Trichoderma sp* (Oei, 2006).

2.2.4. Formação da capa preta (*browning*)

Esta fase é única do shiitake e envolve a pigmentação e o endurecimento da biomassa micelial. Correspondente a fase estacionária do metabolismo do fungo, em que toda a biomassa micelial acumulada, permanece constante e com taxa de crescimento zero (Walker; White, 2017). Afeta diretamente no tempo de frutificação e garante a quantidade e qualidade final da produção (Yan et al., 2020).

O processo ocorre nas seguintes etapas:

- a) Fase de pigmentação: após a completa formação dos inchaços na fase anterior, o micélio começará a tornar uma coloração castanho-avermelhado, assim é feita a retirada dos sacos PEAD quando o bloco apresentar 1/3 (um terço) da superfície externa com essa coloração para proporcionar arejamento ao bloco (Oei, 2006).
- b) Fase de endurecimento do revestimento: ao remover o saco o revestimento micelial irá endurecer gradualmente, enquanto o interior do bloco ficará mais mole e úmido. A umidade no interior do bloco deve atingir até 80%, se a parte externa estiver muito úmida, será mais fácil a ocorrência de se desenvolverem no bloco. A superfície externa dura e pigmentada tem a mesma função que a casca da árvore no cultivo em toras, de fornecer proteção contra patógenos e manter a umidade do bloco (Oei, 2006).

2.2.5. Indução dos primórdios

Após um período as células começam a morrer ou se autolisar, para sobrevivência celular em resposta aos manejos ambientais, que podem estimular ou retardar o processo. Como o fungo tem a capacidade de reciclar e redistribuir seu material celular para impulsionar o desenvolvimento apical, desde que tenha nutrição e condições ambientais ideais (Walker; White, 2017).

A indução dos primórdios é comumente feita por meio de choque térmico ou hídrico, ambos a uma temperatura entre 10°C +/- 2°C, com o intuito de causar um stress fisiológico. Estes processos devem ser feitos após o fungo completar

sua maturação fisiológica e formação da capa preta (Montini, 2001 e Calgaroto, 2019)

2.2.6. Colheita dos cogumelos

A colheita é a resposta de um manejo correto durante todo o cultivo. Realizada manualmente por um corte na base do estipe, próxima a superfície do bloco. Após a colheita cicatrizes se formam no local, a regeneração das cicatrizes é sinal de recuperação dos blocos para indução de um novo fluxo de produção (Oei, 2006). Características de ponto de colheita dos cogumelos como tamanho, peso, coloração e características do píleo e estipe são de acordo com o mercado consumidor da região (Zied et al., 2016).

A eficiência biológica e produtividade dos blocos axênicos são resposta do cultivo, dependentes da linhagem, composição do substrato e da combinação de ambos em resposta à condições ambientais favoráveis (Zied et al., 2016).

2.3. FORMULAÇÃO DOS SUBSTRATOS

O shiitake é um fungo característico por promover podridão branca e ter a capacidade de decompor compostos lignocelulósicos (hemicelulose, celulose e lignina), para obtenção dos seus nutrientes. Essa característica o torna um forte competidor de ocorrência natural em resíduos de madeira em decomposição na natureza (Kobayashi et al., 2020). Para a obtenção de altas produções no cultivo, o fungo depende que suas atividades metabólicas sejam potencializadas sob condições nutricionais e ambientais ideais (Walker; White., 2017). A escolha das matérias primas a compor os substratos dos blocos axênicos sendo elas de origem agrícola, florestal e/ou agroindustrial e de suas disponibilidades na região e custo de aquisição (Calgaroto, 2019).

As matérias primas podem ser usadas sozinhas ou em mistura para criar um substrato de cultivo mais propício para alcançar altas produções (Sharma et al., 2013). A maneira como utilizar as matérias primas tem que ter como objetivo potencializar a capacidade do fungo em sintetizar enzimas hidrolíticas, lignocelulolíticas, amilolíticas, proteolíticas e oxidativas que degradem os compostos lignocelulósicos em compostos orgânicos de menor peso molecular

e de mais fácil absorção (Montini, 2001; Gonçalves et al., 2009; Finimundi, 2013 e Ruíz, 2015).

A formulação dos substratos é caracterizada por uma proporção volumosa, geralmente as matérias primas utilizadas como volumosas são as principais fontes de carbono (C). No Brasil a serragem de eucalipto é a mais utilizada, por estar facilmente disponível, a parte volumosa representa de 40% a 90% do peso seco do substrato (Montini., 2001). A proporção suplementar com matérias primas que sejam principalmente fontes de nitrogênio (N), servem para potencializar a biossíntese de aminoácidos e proteínas e representa de 10% a 60% do peso seco do substrato (Pereira et al., 2015). Uma suplementação inorgânica também é feita com CaCO_3 , gesso e carvão vegetal, com a finalidade de corrigir propriedades químicas e físicas da composição (Chen, 2005).

Algumas matérias primas alternativas já foram estudadas, como casca de avelã (Özçelik; Pekşen, 2007), palha de arroz (Gao et al., 2020), borra de café e/ou resíduo de leveduras (Alemu., 2015); CAL, farelo de trigo (Dayani et al., 2018), resíduos da destilação de batata-doce na produção de Sochu (Azman et al., 2019), melaço de cana (Rossi et al., 2003) e tantos outros citados por (Ashrafuzzaman et al., 2009). Estes estudos com diferentes matérias primas proporcionam aos produtores mais opções viáveis e produtivas, além do reaproveitamento desses resíduos que seriam potenciais problemas ambientais (Bett, 2016; Pinheiro, 2017; Calgaroto, 2019 e J. Lunardi, 2019).

Além da fornecer carbono e nitrogênio as matérias primas utilizadas irão proporcionar uma relação carbono/nitrogênio (C/N) nos blocos axênicos. A relação C/N impacta significativamente nas atividades metabólicas do fungo e conseqüentemente em todo o ciclo de cultivo (Philippoussis et al., 2007; Xu et al., 2020). É sabido que para o cultivo de shiitake em blocos axênicos a faixa ideal de relação C/N fica entre 20/1 a 55/1, sendo a faixa ótima de 30/1 e 35/1 (Atila, 2019).

2.4. MATÉRIA PRIMA: BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA

A cerveja é uma das bebidas mais produzidas e consumidas no mundo. Ela é uma bebida fermentada e de baixo teor alcoólico e um dos seus principais ingredientes é o malte de cevada, rico em amido e que fornece açúcares

redutíveis como substrato para as leveduras produzirem o etanol (Mussatto; Roberto., 2006; Massardi et al., 2020).

Conforme dados disponibilizados pela Associação Brasileira da Indústria da Cerveja o setor cervejeiro do Brasil corresponde a 1,6% do PIB, com uma produção nacional de 14,1 bilhões de litros de cerveja por ano, isso a partir de um parque industrial presente em mais de 50 grandes complexos industriais e 1209 cervejarias registradas em 26 estados da nação (Muller; Marcusso., 2019). Colocando o Brasil como o terceiro maior produtor mundial, atrás dos Estados Unidos (22,1 bilhões de litros) e da China (41,4 bilhões de litros), no entanto essa alta produção gera uma grande quantidade de resíduos sólidos e líquidos (Isozaki, 2017).

O mais abundante resíduo é o bagaço do malte de cevada gerado na etapa de mosturação. Ele corresponde a 85% de todos os resíduos gerados, ou seja, na fabricação de 100 litros de cerveja, são gerados 20 kg do bagaço com 70% a 80% de umidade. Isto corresponde a uma produção média de 2,82 milhões de toneladas do material por ano no Brasil, ou, em média, 0,71 milhões de toneladas do resíduo seco, se for considerada a produção nacional de cerveja em 2016 (Massardi et al., 2020).

Este resíduo tem sido destinado à alimentação animal (bovinos, suínos, aves e caprinos) (Parpinelli, 2016; Saraiva et al., 2018), na alimentação humana com sua utilização no preparo de produtos de panificação (Mussatto et al., 2007) e também na composição de compostos para a produção de cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* (Lunardi, 2019).

A composição química deste resíduo é dependente da variedade, tipo comercial e processo de fabricação da cerveja. Em geral é constituído pela casca do malte e restos de polpa (endosperma do grão), compõe de celulose (16,8% - 20,6%), hemiceluloses (18,4% - 28,4%), lignina (9,9% - 27,8%), proteínas (15,3% - 26,6%), extrativos (5,2% - 5,8%), cinzas (2,7% - 4,6%), fibras (aproximadamente 70%), lipídeos (3,9% - 10%), aminoácidos, vitaminas e compostos fenólicos (Qin et al., 2018; Saraiva et al., 2018 e Massardi et al., 2020). Além de adicionalmente fornecer açúcares polimerizados da celulose (glicose) e da hemicelulose (xilose e arabinose), que podem ser liberados por hidrólise (Mussatto; Roberto, 2006).

2.5. IMPORTÂNCIA DO COGUMELO SHIITAKE

Os cogumelos comestíveis vêm ganhando relevância mundial, devido a mudança dos costumes alimentares da sociedade, que vêm optando por uma alimentação mais saudável. Esta mudança gerou um aumento na demanda por cogumelos, principalmente como substituto da carne no cotidiano alimentar. O cogumelo shiitake vêm sendo um dos principais cogumelos comestíveis a ser inserido no hábito alimentar da sociedade mundial, por suas características nutricionais como baixo conteúdo de gorduras, colesterol, possuir ação antioxidante, altos níveis de proteínas, fibras alimentares, altas proporções de ácidos graxos, minerais e vitaminas (Montini., 2001; Bach et al., 2018).

Em resposta a essas mudanças o consumo mundial quintuplicou nos últimos 15 anos, atualmente os maiores consumos per capita de cogumelos se encontram no oeste da Europa e nos USA. Não apenas no hábito alimentar, mas também na capacidade produtiva, isso vêm mudando rapidamente pela ação direta neste setor de países como China, Índia e Brasil, que estão se desenvolvendo rapidamente e incrementando suas produções nacionais (Gerenutti et al. 2015). Estima-se que o consumo por pessoa no Brasil seja de apenas 160 gramas por ano, enquanto que chega a ser de 10 kg na China, 2,1 kg na França e 1,4 kg na Itália e espera-se que aumente muito nos próximos anos (Zhang et al., 2014; Pereira, 2015 e Zied et al., 2016).

Há também sua importância medicinal, por ter capacidade de produzir compostos potenciadores de defesa do hospedeiro (HDP), possuir propriedades que melhoram o sistema imunológico, propriedades antitumorais e imune estimulantes. O seu consumo diário no Japão já foi relacionado com uma menor mortalidade por câncer (Rahman; Choudhury, 2013; Diamantopoulou; Antonios, 2015; Sánchez et al., 2018).

O shiitake também pode ser utilizado para outras finalidades como o biobranqueamento de materiais (Pinheiro, 2017), biodegradação de poluentes e na produção de biocompostos de interesse comercial, como metabólitos secundários e enzimas (Regina et al., 2009).

A China e o Japão vêm intercalando a primeira posição entre os maiores produtores mundiais de shiitake a muito tempo e atualmente são seguidos por países do sudoeste asiático (Taiwan, Korea, Singapore, Filipinas, Sri Lanka e

Tailândia), europeus (França, Alemanha, Holanda, Espanha, Itália, Inglaterra, Suíça, Bélgica, Finlândia e Suécia), norte-americanos (Estados Unidos e Canada) e da Oceania (Austrália e Nova Zelândia) (Royse et al., 2017 e Kobayashi et al., 2020). Na América Latina, 870 toneladas de shiitake foram produzidas em 2002, sendo o Brasil o maior produtor, com 92% da produção total (Maciel., 2012). A produção mundial em 2018 foi de 88.832 mil toneladas, sendo 19% do total produzidos pelo Japão (Kobayashi et al., 2020).

Por estar se tornando uma das produções hortícolas como maior potencial lucrativo do mundo, com um aumento anual da produção de dez vezes ocorrendo desde 1969, a projeção é que a produção de shiitake atinja um valor de mercado de US\$ 72,5 bilhões em 2027 (Dhar., 2017; Global Mushroom Industry, 2020). Novos mercados emergentes de consumo de cogumelos estão sendo gerados e a produção mundial tende a acompanhar este aumento da demanda, desencadeando desenvolvimento rural acompanhado de inovações e difusão tecnológica por todo o mundo (Zhang et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos de cultivos de shiitake para avaliar se o bagaço do malte de cevada (BMC) pode ser utilizado como matéria prima na composição dos blocos axênicos. O BMC utilizado foi cedido pela Cervejaria Blumenau (Blumenau, SC), Brasil, obtido após a etapa de mosturação de cervejas artesanais do tipo Pilsen. O spawn da linhagem FF50 foi cedido pela empresa Funghi & Flora (Valinhos, SP), Brasil. O preparo dos substratos foi efetuado na empresa Cogumelos do Vale Europeu (Gaspar, SC), Brasil, e o cultivo dos cogumelos foi efetuado no Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Federal do Paraná (UFPR), (Curitiba, PR), Brasil.

No primeiro experimento a quantidade de serragem e de BMC que iriam compor os cinco substratos foram definidos em proporções que permitissem atingir as relações C/N estimadas de 30/1, 40/1, 50/1, 60/1 e 70/1 (TABELA 1). Na elaboração da mistura foi considerado que a serragem de madeira apresenta uma relação C/N média de 500/1 e o BMC apresenta uma relação C/N média de 40/1 (Cooper et al. 2010).

TABELA 1 - RELAÇÕES C/N ESTIMADAS DOS SUBSTRATOS E AS RESPECTIVAS PROPORÇÕES DE CADA MATÉRIA PRIMA (%) UTILIZADAS PARA COMPOR OS BLOCOS AXÊNICOS, NO PRIMEIRO CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*).

Relações C/N	Matérias primas (%) *				
	SE	BMC	Calcário	Gesso	Carvão vegetal
30/1	60.0	35.74	0.81	2.03	1.42
40/1	71.0	24.74	0.81	2.03	1.42
50/1	77.0	18.74	0.81	2.03	1.42
60/1	81.0	14.74	0.81	2.03	1.42
70/1	84.0	11.74	0.81	2.03	1.42

*Valores em proporções de massa úmida por bloco axênico. SE: serragem de eucalipto; BMC: bagaço do malte de cevada.

No segundo experimento foi feita a análise química das matérias primas antes do preparo dos substratos (TABELA 2). Estas informações e os resultados obtidos no primeiro cultivo deram subsídios para a definição das proporções para atingir as relações C/N de 17/1, 20/1, 27/1, 31/1 e 36/1 (TABELA 3).

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS MATÉRIAS PRIMAS UTILIZADAS PARA COMPOR OS SUBSTRATOS DOS BLOCOS AXÊNICOS, NO SEGUNDO EXPERIMENTO DE CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*).

Características avaliadas	Matérias primas (%) *				
	SE	CS	FA	FT	BMC
Nitrogênio	0.10	1.98	2.46	2.94	3.74
Celulose	61.02	43.52	11.41	10.60	15.96
Hemicelulose	4.11	21.55	20.45	29.18	37.71
Lignina	18.23	2.06	4.55	2.44	3.33

*Valores em porcentagem (%) de matéria seca. SE: serragem de eucalipto; CS: casca de soja; FA: farelo de arroz; FT: farelo de trigo e BMC: bagaço do malte de cevada.

Análise bromatológica realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal – UFPR

TABELA 3 - RELAÇÕES C/N DOS SUBSTRATOS E AS RESPECTIVAS PROPORÇÕES DE CADA MATÉRIA PRIMA (%) UTILIZADAS PARA COMPOR OS BLOCOS AXÊNICOS, NO SEGUNDO CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*).

Relações C/N	Matérias primas (%) *							
	SE	FA	FT	CS	BMC	Calcário	Gesso	Carvão vegetal
17/1	25.2	21.50	15.00	13.50	20.80	2.11	0.78	1.11
20/1	32.2	17.95	12.25	11.25	22.35	2.11	0.78	1.11
27/1	39.2	14.33	10.00	9.00	23.47	2.11	0.78	1.11
31/1	46.2	10.75	7.50	6.75	24.80	2.11	0.78	1.11
36/1	51.8	9.46	6.58	5.96	22.20	2.11	0.78	1.11

*Valores em proporções de massa úmida por bloco axênico. SE: serragem de eucalipto; FA: farelo de arroz; FT: farelo de trigo; CS: casca de soja e BMC: bagaço do malte de cevada.

Em ambos os experimentos as matérias primas nas proporções elencadas na TABELA 1 (primeiro experimento) e TABELA 3 (segundo experimento) foram homogeneizadas e umedecidas (FIGURA 1).

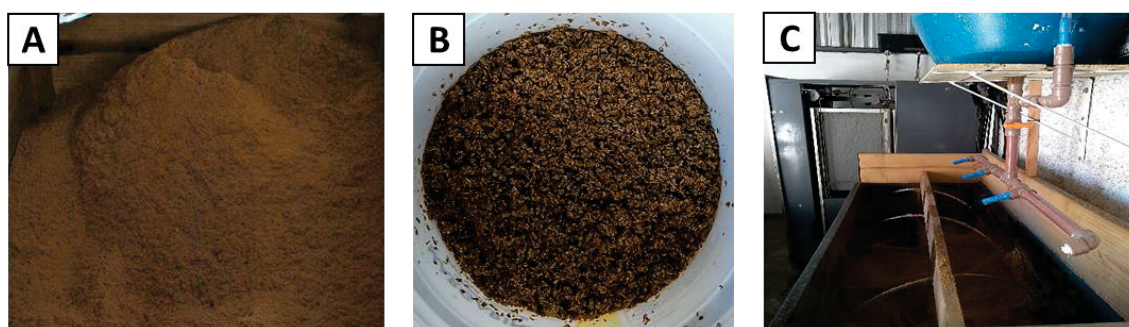


FIGURA 1 - PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO E HUMIDIFICAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS A COMPOR AS FORMULAÇÕES DOS SUBSTRATOS ESTUDADOS. A: SERRAGEM DE EUCALIPTO; B: BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA FRESCO; C: HOMOGENEIZAÇÃO E HUMIDIFICAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS.

Após esta etapa o substrato foi acondicionado em sacos de polipropileno de alta intensidade (PEAD) (2,0kg), contendo um filtro microbiológico

(microporoso) de 4 cm² termo soldado ao saco, formando assim os blocos axênicos (FIGURA 2).



FIGURA 2 - ENCHIMENTO DOS SACOS PEAD COM O SUBSTRATO PARA CULTIVO.

Os blocos foram autoclavados por 4 horas à 121°C e 1 atm (FIGURA 3) (Montini, 2001).



FIGURA 3 - AUTOCLAVAGEM DOS BLOCOS PARA CULTIVO.

Após 24 horas de resfriamento (FIGURA 4) eles foram inoculados em câmara de fluxo laminar, com 3% em relação ao peso total do bloco de spawn da linhagem FF50.



FIGURA 4 - DESCANSO DOS BLOCOS AXÊNICOS APÓS AUTOCLAVAGEM.



FIGURA 5 - INOCULAÇÃO E FECHAMENTO DOS BLOCOS AXÊNICOS PARA TRANSPORTE.



FIGURA 6 - CULTIVO EM AMBIENTE CONTROLADO DE COGUMELOS SHIITAKE EM BLOCOS AXÊNICOS.

No segundo experimento uma amostra de cada substrato foi retirada e encaminhada para análise de suas características químicas (TABELA 4).

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS SUBSTRATOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA UTILIZADOS NO SEGUNDO CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*).

Características avaliadas	Relação C/N dos substratos				
	17/1	20/1	27/1	31/1	36/1
Nitrogênio	1.84	1.67	1.43	1.34	1.17
Celulose	31.32	33.85	39.20	41.61	42.47
Hemicelulose	19.63	19.43	18.61	18.17	18.99
Lignina	9.47	11.12	12.10	14.28	15.10

*Valores em porcentagem (%) de matéria seca.

Os dois experimentos de cultivo dos cogumelos foram realizados em câmaras frias com controle de fotoperíodo, umidade e temperatura em cada fase, conforme proposto por Chen (2005) e Oei; Nieuwenhuijzen (2006) (TABELA 5).

TABELA 5 - CONDIÇÕES AMBIENTAIS UTILIZADAS NAS CÂMARAS FRIAS NOS DOIS EXPERIMENTOS, EM CADA FASE DE CULTIVO DO SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS.

Fases do cultivo	Temperatura (°C)	Luminosidade (Lux)	Umidade relativa (%)
Desenvolvimento micelial	20 ±2 °C	0	80 ±10%
Desenvolvimento dos primórdios	14 ±2 °C	500 a 1000	95%
Produção dos cogumelos	16 ±2 °C	500 a 1000	70 ± 10%

As seguintes avaliações dos efeitos da adição de BMC em diversas proporções (relações C/N) nos dois experimentos de cultivo foram efetuadas:

1. Duração das fases de cultivo em cada bloco axênico a partir da data de inoculação até a mudança de fase, onde o desenvolvimento micelial (DM) foi avaliado em dias, entre o período de inoculação do spawn até o bloco axênico apresentar 80% ou mais da sua superfície externa com coloração castanho-avermelhado uniforme. Os dias até a primeira colheita (DPC) foi avaliado em dias, entre o período da retirada dos sacos de PEAD até a primeiro cogumelo colhido. O período produtivo (PP) avaliado em dias, que consiste no intervalo entre o primeiro cogumelo colhido até o último. O período total de cultivo (PTC) avaliado em dias, que consiste no somatório da duração de todos as fases do cultivo;
2. Número (N) de cogumelos colhidos por bloco axênico;
3. Massa fresca (MF) de cada cogumelo colhido (g);
4. Massa fresca total (MFT) de cogumelos colhidos em cada bloco axênico (g);

5. Eficiência biológica (EB) de cada bloco axênico, calculada através da fórmula:

$$EB = \left(\frac{MFCC}{MSS} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde: EB é a eficiência biológica (%), MFCC é a massa fresca dos cogumelos colhidos (g) e MSS é a massa seca do substrato ao final do cultivo (g).

6. Produtividade (PR) de cada bloco axênico, calculada através da fórmula:

$$PR = \left(\frac{MFCC}{MFS} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde: Pr é a produtividade (%), MFCC é a massa fresca dos cogumelos colhidos (g) e MFS é a massa fresca do substrato (g).

7. No segundo experimento foi efetuada a avaliação visual da morfologia do píleo no ponto ideal de colheita dos cogumelos (FIGURA 7);

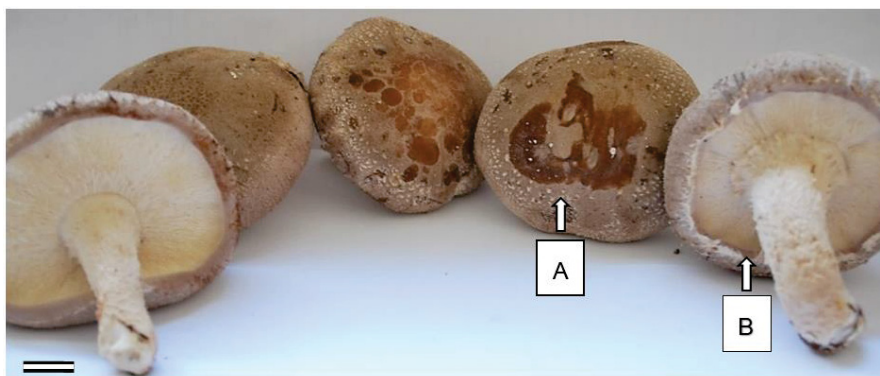


FIGURA 7 - PONTO DE COLHEITA DOS COGUMELOS SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) CULTIVADOS EM BLOCOS AXÊNICOS. A: ABERTURA DO PÍLEO; B: COLORAÇÃO DA FACE SUPERIOR DO PÍLEO. BARRA: 2 CM. FONTE: O AUTOR.

3.1. METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Em ambos os experimentos os blocos axênicos foram instalados em delineamento experimental inteiramente casualizado com 5 tratamentos em 12 repetições. A análise dos dados iniciou com a avaliação dos pressupostos de normalidade por meio do teste de Shapiro–Wilk. Os dados que não atenderam aos pressupostos de normalidade, foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Quando significativo, a comparação dos valores médios foi realizada pelo teste de Bonferroni, ao nível de 95% de confiança. Todas as

análises (descritivas e confirmatórias) foram realizadas por meio da extensão do Software estatístico R, Action Stat (Software Action, 2014).

4. RESULTADOS

No primeiro experimento em geral as relações C/N 30/1 e 40/1 foram semelhantes entre si e superiores às demais (TABELAS 6,7 e 8).

TABELA 6 - DURAÇÃO DAS FASES DE CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, NO PRIMEIRO EXPERIMENTO.

Relações C/N	Duração das fases de cultivo (dias)			
	DM	DPC	PP	PTC
30/1	65 a	76 b	15 c	89 b
40/1	65 a	74 a	8 a	82 a
50/1	70 b	79 c	30 d	109 c
60/1	81 c	90 d	31 e	121 e
70/1	100 d	109 e	11 b	120 d
Valor de p	p = 1.02 ⁻⁰⁸	p = 2.68 ⁻⁰⁹	p = 6.72 ⁻⁰⁹	p = 1.52 ⁻⁰⁹

CM: Crescimento Micelial; DPC: Dias até a primeira colheita; PP: Período produtivo; PTC: Período Total de Cultivo.

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna, obtidas pelo Teste de Kruskal-Wallis não diferem entre si (p<0,05).

TABELA 7 - CARACTERÍSTICAS DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N, NO PRIMEIRO EXPERIMENTO.

Relação C/N estimada	Número médio de cogumelos colhidos por bloco axênico (Uni)	Massa fresca total média de cogumelos colhidos por bloco axênico (g)	Massa fresca média por cada cogumelo colhido (g)
30/1	11 a	218.19 a	24.69 a
40/1	7 a	161.28 ab	27.65 ab
50/1	5 a	122.04 b	26.25 b
60/1	2 b	64.46 c	48.19 b
70/1	1 b	46.27 c	35.80 b
Valor de p	p = 7.14 ⁻⁰⁷	p = 5.98 ⁻⁰⁷	p = 9.09 ⁻⁰³

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna, obtidas pelo Teste de Kruskal-Wallis não diferem entre si (p<0,05).

TABELA 8 - EFICIÊNCIA BIOLÓGICA E PRODUTIVIDADE DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N NO PRIMEIRO EXPERIMENTO.

Relação C/N estimada	Eficiência Biológica (%)	Produtividade (%)
30/1	20.18 a	10.91 a
40/1	14.25 ab	8.07 ab
50/1	10.68 b	6.10 b
60/1	5.16 c	2.95 c
70/1	3.71 c	1.93 c
Valor de p	p = 4.55 ⁻⁰⁷	p = 5.98 ⁻⁰⁷

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna, obtidas pelo Teste de Kruskal-Wallis não diferem entre si (p<0,05).

No segundo experimento foram preparados os substratos com as relações C/N de 17/1 e 20/1 visando avaliar se uma menor relação C/N seria mais favorável ao cultivo de shiitake em substratos contendo BMC. Mas, eles não apresentaram crescimento e desenvolvimento micelial. As relações C/N de 31/1 e 36/1 foram genericamente semelhantes entre si e superiores à de 27/1 (TABELAS 9, 10 e 11).

TABELA 9 - DURAÇÃO DAS FASES DE CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, NO SEGUNDO EXPERIMENTO.

Relação C/N estimada	Duração das fases de cultivo (dias)			
	CM	DPC	PP	PTC
17/1	-	-	-	-
20/1	-	-	-	-
27/1	67 a	75 a	2 b	77 a
31/1	67 a	74 a	4 a	78 a
36/1	66 a	72 a	6 a	78 a
Valor de p	$p = 5.65^{-01}$	$p = 1.72^{-01}$	$p = 1.64^{-02}$	$p = 9.98^{-01}$

CM: Crescimento Micelial; DPC: Dias até a primeira colheita; PP: Período produtivo; PTC: Período Total de Cultivo.

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna, obtidas pelo Teste de Kruskal-Wallis não diferem entre si ($p < 0,05$).

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N, NO SEGUNDO EXPERIMENTO.

Relação C/N estimada	Quantidade média de cogumelos colhidos por bloco axênico (Uni)	Massa fresca total média de cogumelos colhidos por bloco axênico (g)	Massa fresca média de cada cogumelo colhido (g)
17/1	-	-	-
20/1	-	-	-
27/1	7 b	61.55 b	7.57 a
31/1	31 a	155.98 a	5.34 a
36/1	38 a	204.36 a	5.54 a
Valor de p	$p = 1.86^{-03}$	$p = 4.97^{-04}$	$p = 8.05^{-02}$

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna, obtidas pelo Teste de Kruskal-Wallis não diferem entre si ($p < 0,05$).

TABELA 11 - EFICIÊNCIA BIOLÓGICA E PRODUTIVIDADE MÉDIAS DA PRODUÇÃO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N NO SEGUNDO EXPERIMENTO.

Relação C/N estimada	Eficiência Biológica (%)	Produtividade (%)
17/1	-	-
20/1	-	-
27/1	4.94 b	3.07 b
31/1	12,52 a	7.78 a
36/1	16,41 a	10.19 a
Valor de p	$p = 4.96^{-04}$	$p = 4.97^{-04}$

*Médias seguidas das mesmas letras na coluna, obtidas pelo Teste de Kruskal-Wallis não diferem entre si ($p < 0,05$).

No segundo experimento, no ponto ideal de colheita os cogumelos apresentavam diferenças morfológicas quanto ao tamanho do píleo (FIGURA 8).

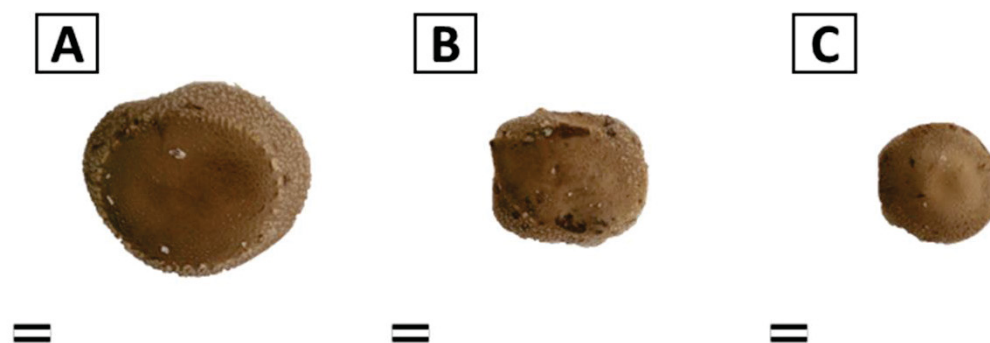


FIGURA 8 - MORFOLOGIA DO PÍLEO DOS COGUMELOS SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) COLHIDOS EM BLOCOS AXÊNICOS CONTENDO BAGAÇO DO MALTE DE CEVADA, EM DIVERSAS RELAÇÕES C/N, NO SEGUNDO EXPERIMENTO. A: C/N36/1; B: C/N31/1 E C: C/N27/1. BARRA: 1 CM.

5. DISCUSSÃO

Os substratos são comumente caracterizados e estudados com base na sua relação carbono (C)/nitrogênio (N) e capacidade de fornecer N ao fungo Bach et al. (2018) e Gaitán-Hernández et al. (2020). A relação C/N de 20/1 a 50/1 é a faixa ideal para o cultivo do shiitake em blocos axênicos. No entanto, caso fosse necessário apenas atender a faixa da relação C/N, seria de se supor que todos os substratos dentro da faixa e contendo BMC seriam satisfatórias para o cultivo. As respostas dos substratos mostraram que as composições fornecem um conteúdo nutricional complexo que influencia em todas as respostas do fungo.

Para o sucesso produtivo do cultivo é desejável que o substrato possibilite o desenvolvimento micelial do fungo em um curto período e com vigor, por ser uma fase do cultivo com alto risco de contaminações (Montini, 2001).

Nos substratos estudados o desenvolvimento micelial variou entre 65 e 100 dias (TABELA 6 e 9), resultados mais rápidos que os obtidos por Sousa et al. (2019) de 126 dias e mais lentos aos obtidos por Atila (2019) de 32 a 46 dias e Gao et al. (2020) de 49 a 50 dias, no entanto existe diferenças nas formulações, composições, matérias primas e linhagem entre as literaturas. Os períodos mais rápidos foram obtidos nas menores relações C/N. A duração da fase desenvolvimento micelial é uma resposta direta as fontes, formas e quantidade de N presente no substrato. O rápido desenvolvimento micelial é favorecido em baixas relações C/N pois nelas ocorre uma maior biodisponibilidade de N de fácil e rápida assimilação (Bach et al. 2018, Walker; White, 2018 e Philippoussis et al., 2007). Outro fator importante é o teor de N inicial do substrato que não deve ultrapassar 1,5%, pois além torna o substrato mais propenso para a ocorrência de contaminações Atila (2019) e Özçelik; Pekşen (2007). As relações C/N de 27/1, 31/1 e 36/1 contendo BMC possuíam essas características favoráveis ao rápido desenvolvimento micelial.

A relação C/N e o teor de N potencializam a capacidade do fungo em degradar os compostos lignocelulósicos presentes no substrato (Philippoussis et al., 2011). Segundo Gaitán-Hernández et al. (2020) a concentração de hemicelulose nas fases iniciais do cultivo favorecem a biodegradação de outros compostos e conseqüentemente a obtenção de curtos períodos de

desenvolvimento micelial. Os substratos nas relações C/N de 30/1 e 40/1 (TABELA 6) e os substratos nas relações C/N 27/1, 31/1 e 36/1 (TABELA 9) e seus teores de hemicelulose (TABELA 4) foram suficientes para potencializar as atividades metabólicas do fungo em degradar os compostos lignocelulósicos e promover um rápido desenvolvimento micelial. As menores relações C/N de 17/1 e 20/1 sequer completaram o desenvolvimento micelial (TABELA 9). Isto devido ao fato de seus níveis de N (TABELA 4) serem superiores a 1,5%.

Após o desenvolvimento micelial, a próxima fase a importante a se observar é a precocidade da primeira colheita. De acordo (Özçelik; Pekşen, 2007) existe uma positiva relação entre a precocidade da primeira colheita com a relação C/N dos substratos. Os resultados obtidos neste estudo variaram de 72 a 109 dias (TABELAS 6 e 9), similares aos valores reportados por Özçelik; Pekşen (2007) de 77 a 129 dias e por Atila (2019) de 58 a 76 dias. Os substratos contendo BMC com as relações C/N de 27/1, 30/1, 31/1, 36/1 e 40/1 obtiveram os menores períodos até a primeira colheita (TABELAS 6 e 9). Além da relação C/N outro fator nutricional importante nesta fase é o teor de celulose, pois de acordo com Atila (2019) é o período em que o fungo mais consome a celulose presente no substrato. A celulose tem papel importante em ser a principal fonte de carbono para o fungo e fonte energética (Walker; White, 2018). Nas relações C/N 31/1 e 36/1 continham os maiores níveis de celulose inicial no substrato de 41.61% e 42.47%, valores estes que foram suficientes para promover uma precocidade na colheita de 74 e 72 dias respectivamente. Além do mais, é importante saber que a relação C/N do substrato não se mantém estável durante o ciclo do cultivo, ocorrendo um decréscimo de seu valor devido ao consumo dos compostos orgânicos pelo fungo (Atila, 2019). Este consumo leva a diminuição das quantidades de C e ao aumento das quantidades de N no substrato (Atila, 2019).

A fase final de produção dos blocos axênicos variou de 2 a 31 dias (TABELAS 6 e 9). Onde os menores períodos produzindo são favorecidos nas relações C/N mais baixas e esta fase da produção é onde ocorre a maior degradação da lignina (Atila, 2019). A lignina é o composto mais complexo e difícil de ser degradado (Walker; White, 2018). Os substratos nas relações C/N de 50/1, 60/1 e 70/1 que apresentavam em suas composições as maiores proporções de SE (TABELA 1), matéria prima esta que tem o maior teor de

lignina entre as utilizadas nas formulações (TABELA 2), resultando assim em um substrato de maior dificuldade de degradação pelo fungo. Estes substratos foram os que obtiveram os piores resultados entre os experimentos. A formulação dos substratos e a utilização do BMC conseqüentemente influenciou no período total do cultivo, que variou de 77 a 120 dias (TABELAS 6 e 9), períodos estes maiores que os alcançados por Atila (2019) de 58 a 76 dias e Valenzuela-Cobos et al. (2019) de 35 e 65 dias. Estes resultados corroboram com Philippoussis et al. (2007) de que a relação C/N é um fator nutricional que influencia diretamente na duração das fases afetando a precocidade do cultivo.

Também foi possível observar diferenças na quantidade, massa (TABELAS 7 e 10) e qualidade morfológica (FIGURA 8) dos cogumelos shiitake colhidos. Estas características produtivas se diferenciaram entre os substratos, em que nas relações C/N 30/1, 31/1 e 36/1 tivemos as maiores quantidades de cogumelos e com massa unitária menor (TABELA 7). Os resultados obtidos foram próximos aos obtidos por Pereira (2015) que obteve massas médias unitárias de 5,15 g e Azman et al. (2019) que obteve massas médias unitárias de 7,69 g. Nas relações C/N de 50/1, 60/1 e 70 obtivemos as menores quantidades de cogumelos colhidos (TABELA 7) e com massas unitárias médias maiores, além de que estas relações C/N foram as com maiores períodos em produção (TABELA 6), ou seja, longos períodos em que o bloco axênico se mantém produzindo não favorece a obtenção de maiores produtividades. Esta informação facilita a tomada de decisão dos produtores quanto ao escalonamento da produção.

As eficiências biológicas (EB) médias dos experimentos (TABELAS 8 e 11), foram inferiores as obtidas por Xu et al. (2020) de 56,21%, por Gao et al. (2020) de 42,19%, por Gaitán-Hernández et al. (2020) de 95,51%, por Atila (2019) de 37,92% e Valenzuela-Cobos et al. (2019) de 91,80%, no entanto próximas as obtidas por Mata et al. (2016) de 23,08% e superior a obtida por Zied et al. (2016) de 12,48. Valores obtidos em diferentes formulações, composições e matérias primas.

As composições dos substratos e suas composições não se limitam apenas a relação C/N, elas fornecem um complexo nutricional amplo e complexo (Ranjbar; Olfati 2017 e Dayani et al., 2018). De acordo com Xu et al. (2020) para alcançar altas EB é necessário que a relação C/N seja a mais estável possível,

ou seja, não ocorra uma grande diferença da relação C/N inicial do substrato até o final do cultivo. Isto é comprovado por Bach et al. (2018), que afirma que uma diferença de 2% da relação C/N inicial para a final do cultivo em blocos axênicos é benéfico para obter as melhores respostas produtivas.

As produtividades (PR) obtidas nos experimentos (TABELAS 8 e 11), foram superiores as PR alcançadas por Sousa et al. (2019) de 0,0% a 16,2%. Valores obtidos em diferentes formulações, composições e matérias primas. A PR é uma resposta do fungo a degradação da celulose durante sua fase de produção, Sousa et al. (2019) relacionou suas maiores produtividades obtidas nos substratos que tiveram uma menor degradação da celulose.

6. CONCLUSÕES

O resíduo agroindustrial bagaço do malte de cevada (BMC) tem potencial para ser utilizado na composição de substratos para o cultivo de shiitake (*Lentinula edodes*) em blocos axênicos.

Podendo ser utilizado como suplementação dos substratos para cultivo em blocos axênicos, os substratos com relação C/N de 36/1 e 31/1 que alcançaram EB de 16,41% e 12,52% e PR de 10,19% e 7,78% respectivamente.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É de extrema importância os estudos de novas matérias primas viáveis, eficientes e de fácil acesso para o produtor. Para isso, se fazem necessários mais estudos detalhados e abrangentes com relação ao resíduo bagaço do malte de cevada (BMC), quanto a sua composição de macro e micronutrientes, as respostas enzimáticas do fungo a sua presença na composição dos blocos axênicos e desta forma termos um maior entendimento sobre as respostas obtidas nesta pesquisa.

8. REFERÊNCIAS DE LITERATURA

ALEMU, F. Cultivation of Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) on Coffee Husk at Dilla University, Ethiopia. **Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 3, n. 2, p. 63, 2015.

ASHRAFUZZAMAN, M.; KAMRUZZAMAN, A. K. M.; RAZI ISMAIL, M.; SHAHIDULLAH, S. M.; FAKIR, S. A. Substrate affects growth and yield of shiitake mushroom. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 13, p. 2999–3006, 2009.

ATILA, F. Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. **Scientia Horticulturae**, v. 245, n. November 2017, p. 263–268, 2019. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.029>>. .

AZMAN, N. F.; YAMAUCHI, M.; YAMADA, M.; et al. Utilization of distillation waste of sweet potato Shochu lees for *Lentinula edodes* cultivation. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 21, n. 2, p. 336–344, 2019. Springer Japan. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10163-018-0795-5>>. .

BACH, F.; HELM, C. V.; DE LIMA, E. A.; BELLETTINI, M. B.; HAMINIUK, C. W. I. Influence of cultivation methods on the chemical and nutritional characteristics of *Lentinula edodes*. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 30, n. 12, p. 1006–1013, 2018.

BETT, C. F. **Cultivo artesanal do cogumelo Shiitake: Uma potencial atividade para agroecossistemas sustentáveis**, 2016. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

CALGAROTO, B. **Substrato para produção de cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake)**, 2019. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

CHEN, A. W. Shiitake bag cultivation. **Mushroom Growers Handbook 2 - Shiitake Cultivation**. p.73–87, 2005. Republic of Korea: MushWorld. Disponível em: <http://www.fungifun.org/mushworld/Shiitake-Mushroom-Cultivation/mushroom-growers-handbook-2-mushworld-com-chapter04-01-01_p.73.pdf>. .

COOPER, M.; ZANON, A. R.; REIA, M. Y.; MORATO, R. W. Compostagem e reaproveitamento de resíduos orgânicos agroindustriais: Teórico e prático. , 2010.

DAYANI, S.; SABZALIAN, M. R.; MOEINI, M.; SALIMI, R. Supplementing the Growing Substrate with Wheat-milling Residues to Improve Shiitake Mushroom Yield and Nutritional Quality. **International Journal of Vegetable Science**, v. 24, n. 4, p. 338–352, 2018. Taylor & Francis. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/19315260.2017.1419396>>. .

DHAR, B. L. Mushroom Farm Design and Technology of Cultivation. In: D. C. Zied; A. Pardo-Giménez (Orgs.); **Edible and Medicinal Mushrooms**. First Edit ed., p.271–308, 2017. Salan, India: John Wiley & Sons Ltd.

DIAMANTOPOULOU, P. A.; ANTONIOS, P. N. Preservation and Processing. **Cultivated Mushrooms**. p.495–526, 2015.

FINIMUNDI, J. M. Produção de cogumelos comestíveis e fenol-oxidases de *Pleurotus sajor-caju* e *Lentinula edodes* em resíduos lignocelulósicos. , p. 1–134, 2011.

GAITÁN-HERNÁNDEZ, R.; AQUINO-BOLAÑOS, E. N.; HERRERA, M.; SALMONES, D. Yield, and phenolic content of shiitake mushrooms cultivated on alternative substrates. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 32, n. 3, p. 188–197, 2020.

GAO, S.; HUANG, Z.; FENG, X.; et al. Bioconversion of rice straw agro-residues by *Lentinula edodes* and evaluation of non-volatile taste compounds in mushrooms. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020. Springer US. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-58778-x>>. .

GERENUTTI, M.; GROTTTO, D.; URBEN, A. F. **8th International Symposium on Mushrooms in Brazil, 7th National Symposium on Edible Mushrooms**. 2015.

GONÇALVES, M. J.; ZULIAN, E.; ANDRETTA, L.; TONINI, R. C. G. Uso do bagaço de cana-de-açúcar como substrato de frutificação base, suplementado com farelo de arroz para cultivo axênico de *Lentinula edodes*. **Revista de Biologia e Saúde da UNISEP**, v. 3, n. Junho, p. 6, 2009.

ISOZAKI, Y. **Report Global Beer Production**. 2016.

J. LUNARDI. **Cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando bagaço de malte, serragem e casca de arroz**, 2019. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/200383/001101640.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. .

KASUYA, M. C. M. C.; VANETTI, M. C. M. C. M. C. M. C.; MANABE, A.; et al. Shiitake Log Cultivation in Brazil. **Mushroom Growers Handbook 2 - Shiitake Cultivation**, p. 61–66, 2005.

KOBAYASHI, T.; OGURO, M.; AKIBA, M.; et al. Mushroom yield of cultivated shiitake (*Lentinula edodes*) and fungal communities in logs. **Journal of Forest Research**, v. 25, n. 4, p. 269–275, 2020. Taylor & Francis. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13416979.2020.1759886>>. .

MACIEL, W. P. **Cultivo de Lentinula edodes em diferentes condições de substrato e temperatura**, 2012. Universidade Federal de Lavras. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/1007/1/DISSERTAÇÃO_Cultivo_de_Lentinula_edodes_em_diferentes_condições_de_substrato_e_temperatura.pdf>. .

MASSARDI, M. M.; MASSINI, R. M. M.; SILVA, D. DE J. Caracterização química do bagaço de malte e avaliação do seu potencial para obtenção de produtos de valor agregado. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 6, n. 1, p. 0083–0091, 2020.

MATA, G.; SALMONES, D.; PÉREZ-MERLO, R. Actividad de las enzimas hidrolíticas en cepas del hongo shiitake (*Lentinula edodes*) cultivadas en pulpa de café. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 48, n. 3, p. 191–195, 2016. Elsevier España, S.L.U. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2016.05.008>>. .

MONTINI, R. M. DE C. **Efeito de linhagens e substratos no crescimento miceliano e produtividade em cultivo axênico do cogumelo shiitake (*Lentinula edodes* (berk.) Pegler)**, 2001. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

MULLER, C. V.; MARCUSSO, E. F. **Anuário da Cerveja**. Brasília, 2020.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Ferulic and p-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. **Industrial Crops and Products**, v. 25, n. 2, p. 231–237, 2007.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, n. 3, p. 268–274, 2006.

OEI, P.; NIEUWENHUIJZEN, B. VAN. **O cultivo de cogumelos em pequena escala**. Primeira E ed. Wageningen: Fundação Agromisa e CTA, 2006.

ÖZÇELİK, E.; PEKŞEN, A. Hazelnut husk as a substrate for the cultivation

of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). **Bioresource Technology**, v. 98, n. 14, p. 2652–2658, 2007.

PARPINELLI, W. **Utilização de resíduo seco de cervejaria na alimentação de frangos de corte**, 2016. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PEREIRA, D. M. **Obtenção e avaliação de linhagens híbridas e desenvolvimento dos processo de inóculos líquidos para cultivo axênico de *Lentinula edodes* (BERK.) Pegler**, 2015. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL.

PEREIRA, D. M.; AYUB, M. A. Z.; SILVA, G. N. M. DA; ZOLET, B. A.; LOPES, D. D. **Obtenção e avaliação de linhagens híbridas e desenvolvimento dos processos de inóculos líquidos para o cultivo axênico de *Lentinula edodes* (BERK.) Pegler**, 2015. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL.

PHILIPPOUSSIS, A.; DIAMANTOPOULOU, P.; ISRAILIDES, C. Productivity of agricultural residues used for the cultivation of the medicinal fungus *Lentinula edodes*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 59, n. 3 SPEC. ISS., p. 216–219, 2007.

PHILIPPOUSSIS, A.; DIAMANTOPOULOU, P.; PAPADOPOULOU, K.; et al. Biomass, laccase and endoglucanase production by *Lentinula edodes* during solid state fermentation of reed grass, bean stalks and wheat straw residues. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 285–297, 2011.

PINHEIRO, V. E. **Produção de coquetéis enzimáticos com potencial no biobranqueamento da polpa de celulose para a fabricação de papel a partir de resíduos lignocelulósicos e fibras secundárias**, 2017. Universidade de São Paulo.

QIN, F.; JOHANSEN, A. Z.; MUSSATTO, S. I. Evaluation of different pretreatment strategies for protein extraction from brewer's spent grains. **Industrial Crops and Products**, v. 125, n. September, p. 443–453, 2018. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.017>>. .

RAHMAN, T.; CHOUDHURY, M. Shiitake Mushroom: A Tool of Medicine. **Bangladesh Journal of Medical Biochemistry**, v. 5, n. 1, p. 24–32, 2013.

RANJBAR, M. E.; OLFATI, J. A. Evaluation of substrate components on

shiitake mushroom properties. **International Journal of Vegetable Science**, v. 23, n. 2, p. 145–150, 2017. Taylor & Francis. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19315260.2016.1220438>>. .

REGINA, M.; BROETTO, F.; COLAUTO, N. B.; et al. Atividade de enzimas oxidativas do *Lentinula edodes* em substratos agroindustriais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 4, p. 881, 2009.

ROSSI, I. H.; MONTEIRO, A. C.; MACHADO, J. O.; ANDRIOLI, J. L.; BARBOSA, J. C. Shiitake *Lentinula edodes* production on a sterilized bagasse substrate enriched with rice bran and sugarcane molasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 66–71, 2003.

ROYSE, D. J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. In: D. C. Zied; A. Pardo-Giménez (Orgs.); **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. First Edit ed., p.5–13, 2017. John Wiley & Sons Ltd.

SÁNCHEZ, J. E.; MATA, G.; ROYSE, D. J. **Updates on tropical mushrooms**. First edit ed. Chiapas, México: El Colegio de la Frontera Sur, 2018.

SARAIVA, B. R.; VITAL, A. C. P.; ANJO, F. A.; CESARO, E. DE; MATUMOTO-PINTRO, P. T. Valorização de resíduos agroindustriais: fontes de nutrientes e compostos bioativos para a alimentação humana. **Pubsaúde**, v. 1, n. 1, p. 1–10, 2018.

SHARMA, S.; KHANNA, P. K.; KAPOOR, S. Effect of supplementation of wheat bran on the production of shiitake (*Lentinus Edodes* (Berk) Peglar) using wheat straw and saw dust substrates. **The bioscan**, v. 8, n. 3, p. 817–820, 2013. Disponível em: <www.thebioscan.in>. .

SOUSA, M. A. DE C.; COSTA, L. M. A. S.; PEREIRA, T. S.; et al. Enzyme activity and biochemical changes during production of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 774–780, 2019.

TOKIMOTO, K. Shiitake log cultivation. **Mushroom Growers Handbook 2 - Shiitake Cultivation**, p. 46–60, 2005.

VALENZUELA-COBOS, J. D.; VÁSQUEZ-VÉLIZ, G. K.; ZIED, D. C.; et al. Bioconversión de residuos agrícolas usando cepas parentales, híbridas y reconstituidas de *Pleurotus* y *Lentinula*. **Revista Mexicana de Ingeniera Química**, v. 18, n. 2, p. 647–657, 2019.

VIOTTO, R. S. **Caracterização e avaliação do resíduo de cultivo do**

cogumelo shiitake – Lentinula edodes – para fins bioenergéticos, 2016. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

WALKER, G. M.; WHITE, N. A. **Introduction to Fungal Physiology**. Third Edit ed. John Wiley & Sons, Inc., 2018.

XU, S.; WANG, F.; FU, Y.; et al. Effects of mixed agro-residues (corn crop waste) on lignin-degrading enzyme activities, growth, and quality of: *Lentinula edodes*. **RSC Advances**, v. 10, n. 17, p. 9798–9807, 2020.

YAN, D.; LIU, Y.; RONG, C.; et al. Characterization of brown film formed by *Lentinula edodes*. **Fungal Biology**, v. 124, n. 2, p. 135–143, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.12.008>>. .

ZHANG, Y.; GENG, W.; SHEN, Y.; WANG, Y.; DAI, Y. C. Edible mushroom cultivation for food security and rural development in China: Bio-innovation, technological dissemination and marketing. **Sustainability**, v. 6, n. 5, p. 2961–2973, 2014.

ZIED, D. C.; MACIEL, W. P.; MARQUES, S. C.; et al. Selection of strains for shiitake production in axenic substrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 10, p. 2–7, 2016.