

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
E DO AMBIENTE

**AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS PARA A
PRODUÇÃO DE *Pleurotus eryngii*, *Lentinus sajor caju* e
*Lentinula edodes***

Cláudia Paganelli Lacerda de Azevedo
Bióloga (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre (RS), Brasil

Agosto, 2000

Dedico essa Dissertação a Nydia Paganelli Lacerda de Azevedo

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr João Ruy Jardim Freire pela sua orientação e todo apoio no decorrer deste trabalho.

Ao Dr Shung Thing Chang pelas cepas de *Lentinus sajor caju* e *Lentinula edodes*

Ao Dr Harold Ospina Patiño, André Luís Finkler da Silveira, Tiago Pavane e Luciano Chaves pela execução do teste de degradabilidade, bibliografias e esclarecimentos.

À Dra Christine Gaylard

Aos funcionários José Adão, Jorge, Angela e Antônia

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

E demais pessoas que, de uma forma ou outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS PARA A PRODUÇÃO DE *Pleurotus eryngii*, *Lentinus sajor caju* e *Lentinula edodes*^{1/}

Autora: Cláudia Paganelli Lacerda de Azevedo

Orientador: João Ruy Jardim Freire

RESUMO

Pleurotus eryngii, *Lentinus sajor caju* e *Lentinula edodes* foram produzidos, em condições controladas, com resíduos lignocelulósicos em seis composições; (1) resíduo sólido de indústria de cerveja + bagaço de cana de açúcar + sais minerais (2) resíduo sólido de indústria de cerveja + serragem de *eucalyptus* + sais minerais (3) resíduo sólido de indústria de cerveja + palha de arroz + sais minerais (4) resíduo sólido de indústria de cerveja + bagaço de cana de açúcar (5) resíduo sólido de indústria de cerveja + serragem de *eucalyptus* (6) resíduo sólido de indústria de cerveja + palha de arroz. A eficiência biológica da produção de corpos frutíferos e a degradabilidade (digestibilidade *in situ* da matéria seca) do composto, após cultivo, foram medidas. *Lentinus sajor caju*, produzido em resíduo sólido de indústria de cerveja + palha de arroz, apresentou a maior eficiência biológica. A fase vegetativa de *Pleurotus eryngii* incrementou a degradabilidade da palha de arroz de 34 a 63%.

^{1/} Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente .
Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Alegre. (114p). Agosto, 2000.

***Pleurotus eryngii*, *Lentinus sajor caju* and *Lentinula edodes*
PRODUCTION WITH LIGNOCELLULOSIC WASTES ^{1/}**

Author: Cláudia Paganelli Lacerda de Azevedo

Adviser : João Ruy Jardim Freire

SUMMARY

Pleurotus eryngii, *Lentinus sajor caju* and *Lentinula edodes* were produced under controlled conditions, with lignocellulosic substrates on six compositions; (1) solid brewery waste + sugar cane bagasse + nutrients (2) solid brewery waste+ *eucalyptus* sawdust+ mineral salts (3) solid brewery waste+ rice straw + nutrients (4) solid brewery waste+ sugar cane bagasse (5) solid brewery waste+ *eucalyptus* sawdust (6) solid brewery waste+ rice straw. The biological efficiency of the yield fruitbodies and the spent compost degradability (dry matter *In situ* digestibility) were measured. *Lentinus sajor caju* on solid brewery waste+ rice straw presented the highest biological efficiency. The vegetative phase of *Pleurotus eryngii* increased the rice straw degradability from 34 to 64%.

^{1/} M.Sc. Dissertation in Agricultural and Environmental Microbiology, Agronomy Department, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre. (114 pg) August, 2000.

SUMÁRIO

	página
1 INTRODUÇÃO E HISTÓRICO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ESPÉCIES ESTUDADAS	9
2.2 FATORES DETERMINANTES NO CULTIVO DE COGUMELOS	15
2.2.1 Fatores Ambientais	15
2.2.2 Linhagens	18
2.2.3 Substrato	19
2.3 DISPONIBILIDADE DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS	25
2.3.1 COMPOSIÇÃO BÁSICA E DEGRADAÇÃO DE LIGNOCELULÓSICOS	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 MATERIAIS UTILIZADOS	39
3.2 ANÁLISES QUÍMICAS	40
3.3 PREPARAÇÃO DO SPAWN	46
3.4 PREPARAÇÃO DO COMPOSTO	50
3.5 INOCULAÇÃO DO SPAWN NO COMPOSTO	55
3.6 CULTIVO OBTENÇÃO DE FRUTIFICAÇÕES	56
3.7 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DO CULTIVO	57
3.8 AVALIAÇÃO DE DIGESTIBILIDADE <i>IN SITU</i> DO COMPOSTO APÓS CULTIVO	58
3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	62

FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DO TRABALHO	63
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1 ANÁLISES REALIZADAS NOS COMPONENTES DO SUBSTRATO	64
4.2 AVALIAÇÃO DO CULTIVO	71
4.3 AVALIAÇÃO DO SUBSTRATO APÓS CULTIVO	79
4.4 AVALIAÇÃO DO TESTE DE DIGESTIBILIDADE <i>IN SITU</i>	81
5 CONCLUSÕES	93
5.1 CONCLUSÃO FINAL	95
6 BIBLIOGRAFIA	96
APÊNDICE	109

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1 Teores de Lignina, Celulose e hemicelulose nas amostras estudadas	41
2 Teor de macro e micro nutrientes de frutificações de <i>L. edodes</i> e <i>L. sajor caju</i> .	44
3 Teor de macro e micro nutrientes utilizados na confecção do substrato	45
4 Composição básica dos substratos	54
5 inoculações	55
6 Amostras incubadas nos bois	59
7 Teores de lignina, celulose e hemicelulose nos componentes básicos utilizados nos substratos	64
8 Teor de macro e micro nutrientes nos componetes básicos utilizados nos tratamentos	71
9 Crescimento do micélio, aparecimento de primórdios e aparecimentos de frutificações – <i>P. eryngii</i> – Tratamentos 1,2,3	74
10 Crescimento do micélio, aparecimento de primórdios e aparecimento de frutificações – <i>P. eryngii</i> – Tratamentos 4,5,6	76
11 <i>L. sajor caju</i> – Médias estimadas das eficiências biológicas	76
12 Análise em detergente ácido e neutro do substrato após cultivo	80
13 Médias estimadas para % de digestibilidade de matéria seca	81
14 Estimativa da variabilidade entre as médias de % digestibilidade de matéria seca	82

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Páginas
1 Cepas em meio de cultura Ágar- batata-dextrose(PDA) Crescimento vegetativo	47
2 Preparação do substrato para spawn de <i>Pleurotus sp</i> e <i>Lentinus sp</i>	48
3. Preparação do substrato para <i>Lentinula edodes</i>	48
4 Spawn (fase vegetativa em substrato adequado)	49
5 Lavagem do resíduo de cerveja	50
6 Cana mergulhada em água	51
7 Palha de arroz sobre peneira para drenagem do excesso de água	52
8 Trituração da Palha	53
9 Moagem do composto após cultivo	60
10 Bois fistulados	61
11 Composto Colonizado logo após a retirada dos sacos de propileno	86
12 Frutificação de <i>Pleurotus eryngii</i> - controle trat.1,2,3	87
13 <i>Lentinus sajor caju</i> – controle trat. 1,2,3	88
14 <i>Lentinus sajor caju</i>	89
15 <i>Pleurotus eryngii</i> - em condições inadequadas	90
16 <i>Lentinus sajor caju</i> – trat. 4	91
17 <i>Lentinula edodes</i>	92

1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos são apreciados pela humanidade há mais de 2000 anos. O registro arqueológico mais antigo referente ao uso destes fungos é uma pintura na caverna de Tassili, no norte da Algéria, feita há cerca de 5000 anos a.C. Diversos outros registros, como por exemplo, os cogumelos esculpidos em pedras, na Guatemala, datados de 300 ou 500 anos a.C indicam que, o primeiro interesse despertado pelos cogumelos foi por suas propriedades psicoativas ou mesmo alucinógenas, utilizadas, provavelmente, em rituais religiosos. "O homem de gelo" (denominado pela mídia), encontrado nos Alpes Italianos, em 1991, que morreu, aproximadamente, 1700 anos depois do artista da caverna de Tassili, possuía consigo uma mochila com duas espécies de cogumelos secos. Uma ainda não identificada e a outra tratava-se de *Piptoporus betulinus*, uma poliporácea utilizada como medicamento para tratamento de feridas e, atualmente, deste cogumelo é feito um chá bastante apreciado devido suas propriedades de potencializar o sistema imunológico.

O cultivo de cogumelos começou na China com a espécie *Auricularia auricula* por volta do ano 600. Antes disso, os cogumelos já eram utilizados

como alimento, pelo povo chinês, que obtinha, estes fungos, de forma extrativista, nas florestas asiáticas. A espécie *Lentinula edodes* começou a ser cultivada na China, por volta do ano 1000. Mais tarde foi introduzida no Japão por camponeses e durante muito tempo este país foi o maior produtor mundial desta espécie. Por este motivo, o nome popular mais conhecido para *Lentinula edodes* ficou sendo Shiitake que em japonês significa cogumelo da madeira.

No ocidente, o cultivo de cogumelos começou na França com a espécie *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris) por volta do ano 1600. Em 1880 já era cultivada em escala comercial em Nova York. Atualmente esta espécie é a mais produzida e mais consumida no mundo.

Tem sido reportado pela bibliografia, que mais de 10000 espécies de fungos produzem frutificações com tamanho e textura agradável para serem consideradas como cogumelos. Destas, acima de 2000 são consideradas excelentes comestíveis entretanto, somente ao redor de 30, destas espécies, são cultivadas em escala comercial e, seis a sete em escala industrial.

O cultivo de cogumelos pode ser realizado da forma mais precária à mais sofisticada. Isto está diretamente relacionado, obviamente, aos recursos disponíveis para esta atividade. Em países como por exemplo, Estados Unidos, Holanda, França e Canadá o cultivo tende a ser totalmente mecanizado com modernos equipamentos tanto para preparação do composto, como sofisticados sistemas de climatização para as salas de cultivo. Na China por outro lado, o cultivo de cogumelos é pouco mecanizado

e se utiliza da mão de obra abundante. As salas de cultivo não são artificialmente climatizadas porém as espécies cultivadas são escolhidas de acordo com as condições climáticas locais. As linhagens utilizadas são selecionadas em função dos seus ótimos de temperatura e umidade portanto, por exemplo, no norte da China é cultivado um determinado tipo de cogumelo diferente de outras regiões. É interessante ressaltar que a China é atualmente o maior produtor mundial (em quantidade) da espécie *Agaricus bisporus*, maior produtor mundial de *Lentinula edodes* e certamente, o país que produz a maior variabilidade de espécies de cogumelos comestíveis no mundo.

Desconsiderando-se as espécies *Agaricus bisporus* (o Champignon de Paris) e a recente produção de *Agaricus bazeii* (O cogumelo do Sol), pode-se dizer que existem duas linhas de produção de cogumelos. Uma representada pela técnica denominada JunCao (do Chinês Jun = Cogumelos Cao = gramíneas) que como o nome já diz, se utiliza de gramíneas como insumo para a produção de cogumelos e outra, provavelmente, a forma mais antiga de produção, que se utiliza de subprodutos de outras atividades como insumo para a produção de cogumelos. O que possibilita a rápida incorporação destes subprodutos lignocelulósicos aos ecossistemas devido ao potencial de bioconversão destes, por parte dos fungos em geral, mas principalmente dos fungos de podridão branca representados por grande parte dos cogumelos comestíveis.

O sucesso de uma produção de cogumelos depende basicamente do sinergismo entre três fatores fundamentais; a qualidade das linhagens utilizadas, a qualidade do substrato e as condições ambientais.

Diversas espécies de fungos têm sido estudadas com a finalidade de serem utilizadas em pré tratamentos de palhas de cereais, resíduos florestais ou industriais para acelerar o processo de degradação, seja com o objetivo de aumentar a degradabilidade, no caso de utilização na alimentação animal, ou mesmo acelerar o processo de incorporação ao solo, quando estes são dispostos no ambiente na forma de "landfill".

Esta degradação está diretamente relacionada aos sistemas enzimáticos presentes nos fungos. Diferentes espécies apresentam diferentes respostas enzimáticas. Os fungos de podridão branca são notoriamente conhecidos por apresentarem sistemas enzimáticos lignolíticos. Porém a atuação destes sistemas varia de acordo com o potencial de cada espécie, com condições climáticas ótimas e, em função da qualidade do substrato.

Esta pesquisa foi realizada com os objetivos de avaliar a produção de três espécies de cogumelos comestíveis, suas respectivas eficiências biológicas¹, utilizando resíduo sólido de indústria de cerveja e outros resíduos agro-florestais complementares como substrato; bem como avaliar a digestibilidade "*in situ*" do composto (após cultivar os cogumelos), no caso deste ser utilizado como alimentação para o gado.

¹ Por eficiência biológica entende-se a razão entre o peso fresco de cogumelos colhidos e o peso seco do substrato multiplicado por 100. Rendimento da espécie para determinado substrato.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O termo Cogumelo refere-se ao basidiocarpo de consistência carnuda e às vezes resistente, em forma de guarda-chuva de certos *Basidiomycota* (Alexopoulos et al., 1996). Chang & Miles (1997) estendem esta denominação para todos os macrofungos, com distintivas frutificações que ocorrem em fungos da classe Basidiomycete e em alguns da classe Ascomycete.

Em 1994, a produção mundial de cogumelos comestíveis foi estimada em 4,9 milhões de toneladas, avaliada em, aproximadamente, 9.8 bilhões de dólares (Chang, 1998d).

As dez espécies comestíveis, mais populares, cultivadas, no mundo, em 1994, com suas respectivas porcentagens de produção foram: *Agaricus bisporus/bitorquis* (37,6%), *Lentinula edodes* (16,8%), *Pleurotus spp.*, (16,2%), *Auricularia spp.* (8,6%), *Volvariella volvacea* (6,1%), *Flammulina velutipes* (4,7%), *Tremella fuciformis* (3,2%), *Hypsizygus marmoreus* (1,1%), *Pholiota nameko* (0,5%), *Grifola frondosa* (0,3%) e outras (4,9%). Nos anos recentes, várias novas espécies de cogumelos têm sido

cultivadas com sucesso, entre estas *Lepista nuda*, *Pleurotus eryngii*, *Agrocybe aegerita*, etc. (Chang, 1998d).

No Brasil, no ano de 1997 a produção de cogumelos comestíveis foi de 5 a 7 mil toneladas tendo como principais espécies *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* (Shiitake) e algumas espécies de *Pleurotus* (Matheus & Okino, 1999).

Vilaró et al (1995), ressaltam que o cultivo de fungos comestíveis nos trópicos Americanos tem aumentado muito nos últimos anos por possibilitar a obtenção de alimentos de importante valor nutricional, além disso, o emprego de subprodutos lignocelulósicos tais como resíduos agro industriais, como substrato de cultivo, permite sua rápida incorporação aos ecossistemas.

Chang (1997) comenta que uma característica que faz o cultivo de cogumelos tão atrativo, especialmente em países em desenvolvimento, é que os cogumelos produzem relativamente grande quantidade de proteínas de alta qualidade em substratos de materiais residuais. Enquanto que a qualidade das proteínas dos cogumelos não são tão altas como a proteína animal (Apêndice 1), a produção de proteína dos cogumelos é muito mais eficiente.

Quando comparado com alimentos como carnes, leite e soja o conteúdo de proteínas dos cogumelos é muito inferior porém, quando comparados com alimentos como cebola, cenoura, laranja, maçã, arroz, trigo e milho o conteúdo de proteínas dos cogumelos é superior (Apêndice 2 e 3) (Chang 1998b).

Os cogumelos em geral, possuem baixo teor de gordura com alta proporção de ácidos graxos polinsaturados (72 a 85%) em relação ao total de ácidos graxos (Apêndice 4), são ricos em fibras, vitaminas e sais minerais (Chang 1997).

Os cogumelos possuem quantidades variáveis de vitaminas (Apêndice 5) sendo ricos em niacina. Algumas espécies apresentam valores relativamente altos de ácido ascórbico embora este, por ser volátil, seja perdido durante a maioria dos processos de conservação dos cogumelos. Mas espécies como por exemplo, *Lentinus sajor caju*, quando consumidas na forma fresca podem representar uma fonte desta vitamina. A espécie *Agaricus bisporus* apresenta, entre os cogumelos, os teores mais altos de vitamina C, porém esta espécie, na maioria dos cultivos, logo após ser colhida é submetida à vapor d'água (100°C) para inativação de certas enzimas com o objetivo de retardar o escurecimento do cogumelo, esse procedimento acarreta em perda da vitamina C.

A Vitamina A (retinol) é relativamente incomum em cogumelos, embora algumas espécies apresentem quantidades detectáveis de pró-vitamina A medida como β -caroteno equivalente. Assim também, a vitamina D é rara em cogumelos mas, muitos apresentam ergosterol, o qual pode ser convertido em vitamina D sob irradiação ultravioleta (Chang & Hayes, 1978 apud Ramsbottom, 1953 & Sumi, 1933).

A composição mineral dos cogumelos é dependente do substrato. Hoglov (2000), reporta que Chang & Quimio (1982) ressaltam que, no gênero *Pleurotus*, níveis altos de ferro são encontrados enquanto cálcio

está presente em concentrações baixas. Em relação à metais pesados, altas concentrações de Zinco são observadas mesmo quando a concentração no substrato é baixa. Esses autores comentam ainda, que níveis de chumbo, cobre, e zinco encontram-se normalmente dentro de limites aceitáveis.

Chang & Hayes (1978) ressaltam que os cogumelos contêm, provavelmente, todos os minerais presentes no substrato onde se desenvolveram. A limitação na quantificação destes minerais, nos cogumelos e outros alimentos reside, na sensibilidade dos métodos analíticos. Em geral, os cogumelos são ricos em fósforo, sódio e potássio. Possuem quantidades baixas de cálcio e ferro, sendo que este último, às vezes, apresenta-se na forma nutricionalmente não aproveitável.

O conteúdo de umidade dos cogumelos frescos varia entre 70 a 95%, aproximadamente, dependendo do tempo de colheita e das condições ambientais (Chang 1998d). No apêndice 6 é apresentada a composição aproximada de algumas espécies de cogumelos do gênero *Pleurotus* e das espécies *Agaricus bisporus* e *Lentinula edodes*. Pode-se observar que os cogumelos possuem teores variáveis de carboidratos, baixos teores de gordura, porcentagem de umidade variável, teores de fibra variáveis e baixo valor calórico.

Alguns cogumelos apresentam ainda, polissacarídeos com propriedades antitumorais como, por exemplo, o Lentinan, produzido pelo basidimiceto *Lentinula edodes* (Chihara, 1992).

2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ESPÉCIES ESTUDADAS NESTE TRABALHO

Classificação das espécies baseada em Singer 1986 e Pegler 1983.

Reino: *Fungi*
Divisão: *Eumycota*
Subdivisão *Basidiomycotina*
Classe: *Basidiomycetes*
Subclasse: *Hymenomycetes*
Ordem: *Agaricales*
Família: *Tricholomatacea*

Gênero: *Pleurotus*
Espécie: *Pleurotus eryngii* (D. C. ex Fr.) Qué.
Sinonímia *Pleurotus fuscus*,
Agaricus cardarella

Gênero: *Lentinus*
Espécie: *Lentinus sajor caju* (Berk.) Pegler
Sinonímia: *Pleurotus sajor caju* (Berk.) Singer

Gênero: *Lentinula*

Espécie: *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler

Sinonímia: *Lentinus sajor caju* (Berk.) Singer

Os gêneros *Pleurotus*, *Lentinula* e *Lentinus* diferem-se, principalmente, pelo sistema hifal que forma o basidioma. Este apresenta-se; monomítico (um só tipo de hifa), em *Pleurotus* e *Lentinula* e, dimítico (dois tipos de hifas) em *Lentinus* e *Pleurotus* constitui-se de hifas generativas (Singer, 1986), *Lentinula*, de hifas generativas modificadas, mais especificamente infladas (Pegler, 1983 apud Pegler 1975) e *Lentinus* apresenta hifas generativas e esqueletais, às vezes, estas hifas esqueletais podem se apresentar esqueletais-ligativas (Singer, 1986) Na prática, é comum uma certa confusão entre algumas espécies do gênero *Pleurotus* e algumas espécies do gênero *Lentinus* porque, muitas vezes, as hifas generativas podem se apresentar com as porções terminais modificadas e serem confundidas com esqueletais-ligativas (Singer, 1986 & Pegler, 1983).

As hifas generativas são as hifas que dão origem aos basídios se caracterizam por apresentar paredes delgadas. As hifas esqueletais diferenciam-se das generativas por apresentarem paredes engrossadas lúmen quase inexistente, não originam basídios. Estão relacionadas com sustentação.

Morfologicamente, o gênero *Pleurotus* caracteriza-se por apresentar frutificações mesopodal, pleuropodal ou sésil, píleo em forma de ostra,

viloso à macio, margem primeiramente incurvada ocorrendo na natureza sobre troncos de árvores ou em remanescentes de monocotiledôneas ou pteridófitas, poucas espécies são terrícolas (Corner, 1981).

Pleurotus eryngii caracteriza-se morfológicamente por apresentar chapéu muito carnoso, inicialmente convexo, em seguida aplainado e ainda infundibiliforme. As lamelas são muito separadas umas das outras, amplamente decorrentes ao longo do pé e de coloração esbranquiçada. O Pé é muito breve, inserido na posição excêntrica e ligeiramente restrito à base. A carne é esbranquiçada compacta de sabor e odor suave. A coloração do chapéu varia de branco sujo à cinza escurecido com reflexos róseos. Nos exemplares jovens a cutícula tem um aspecto aveludado que se perde gradualmente com o crescimento. O pé pode ser esbranquiçado à gelo esfumaçado. Os esporos são brancos. É um cogumelo de boa comestibilidade. Na natureza, ocorre em ambiente arbóreo. Na zona mediterrânea, ocorre da primavera até o fim do outono (Bielli, 1997). Até o presente momento não foi descrita para o Brasil e não está sendo produzida comercialmente.

Meiying, (1998) comenta que, não há registro de cultivo de *Pleurotus eryngii*, na China, até 1993. Tasnádi (1988) relata que o primeiro experimento com sucesso, realizado na Hungria, com "cogumelos Ostra" (*Pleurotus ssp.*) foi com *Pleurotus eryngii* em 1959.

Zadrazil (1978), apud Vasilkov (1955) ressalta que trata-se de um fungo típico de subtropical e estepe, descrito para Hungria e Sudeste da União Soviética. Está distribuído pelo sudeste da Europa tendo como limite

norte a França e Checoslováquia e descrito ainda, para Ásia Central e Norte da África (Chang & Hayes, 1978 apud Dermek, 1974).

Lentinus caracteriza-se, morfológicamente, por apresentar frutificações estipitadas, mesopodal à excêntrica, ocasionalmente lateral; píleo mais ou menos infundibiliforme, aplainado, verrucoso, viloso à macio, nem sulcado, nem estriado, margem no princípio incurvada, pé em algumas espécies escurecido na base. As lamelas são decorrentes, muito juntas à subdistantes, arranjadas em forma de pinha ou dicotômicas. Os esporos são brancos, elipsóides à subcilíndricos. Ocorre na natureza sobre troncos de árvores, raramente, aparentemente terrícolas. São Cosmopolitas (Corner, 1981).

Pleurotus sajor caju (Fr) Singer, (*Lentinus sajor caju* (Fr) Pegler), em chinês, Feng Wei Gu, em Japonês, Houbitake ou Houbiko ou ainda, cogumelo ostra ou abalone, foi encontrada pela primeira vez no pé das montanhas do Himalaia e daí distribuída para China, Índia e Austrália (Zhuang, 1993). Esta espécie também é denominada, na China, de cogumelo fênix.

Lentinus sajor caju (Fr) Pegler é cultivada correntemente na China e no Japão, não contém essencialmente nem lipídio nem amido, compreendendo oito aminoácidos essenciais incluindo lisina e metionina. Esta espécie tem sido descrita como saborosa, frequentemente com a capacidade de reduzir o nível de colesterol no sangue (Zhuang, 1993).

Lentinus sajor caju caracteriza-se por apresentar chapéu com 3-20 cm de largura, convexo com centro umbilicado, infundibiliforme, ou excêntrico e

flabeliforme, seco, macio, ou freqüentemente com uma pequena depressão no centro freqüentemente estriado de coloração creme, branca, ocráceo pálido, mais ou menos fuliginoso, ou amarronzado, muito variável na cor, margem incurvada, estreitada e macia. O Pé medindo 0.4- 4cm X 5-15mm, sendo central, excêntrico, ou lateral, curto, cilíndrico, base abrupta, da mesma cor do chapéu, lamelas profundamente decorrentes , muito juntas, estreitas. Carpóforo sem cheiro ou com aroma levemente fúngico. Os esporos são brancos, subcilíndricos. Ocorre na natureza em troncos ou ramos caídos mortos na floresta. É descrita para África Tropical, Ásia e Australásia é comestível quando jovem (Corner, 1981).

Lentinus sajor caju foi cultivada pela primeira vez em 1974 (Chang et al. 1993, apud Jandaik 1974).

Pleurotus sajor caju (Fr) Singer, (*Lentinus sajor-caju* (Fr) Pegler , em chinês, Feng Wei Gu, em japonês, Houbitake ou Houbiko ou ainda, cogumelo ostra ou abalone, foi encontrada pela primeira vez no pé das montanhas do Himalaia e daí, distribuída para China, Índia e Austrália. (Zhuang, 1993). Esta espécie também é denominada, na China, de cogumelo fênix.

Pleurotu sajor caju (Fr) Singer (*Lentinus sajor caju*), é cultivada correntemente na China e no Japão, não contém essencialmente nem lipídio nem amido compreendendo oito aminoácidos essenciais incluindo lisina e metionina. Esta espécie tem sido descrita como saborosa, freqüentemente com a capacidade de reduzir o nível de colesterol no sangue (Zhuang, 1993).

O gênero *Lentinula* caracteriza-se por seus aspectos anatômicos como foi acima descrito.

A espécie *Lentinula edodes* foi cultivada na China pela primeira vez por volta do ano 1000 (Quimio et al., 1990).

No Brasil, inicialmente, a produção de Shiitake (do japonês shii= gênero de árvore (*Pasania*) take= cogumelo), era incipiente, sem fins comerciais. Estava restrita à alguns produtores japoneses (Fidalgo et al, 1985).

Por volta de 1989, começou o cultivo de shiitake, em escala comercial, e em 1995 a produção atingiu 5 toneladas mensais, principalmente no interior de São Paulo, com 150 produtores cadastrados pela Associação dos Produtores de Agricultura Natural (APAN). Produzido, inicialmente, em toras de Eucalipto, esta atividade passou a ser realizada por ex-cafeicultores e ex-criadores de bicho da seda que a consideraram mais lucrativa que suas atividades anteriores (Agrofolha, 1995).

A produção de shiitake se estendeu, principalmente, aos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O cultivo em toras de Eucalipto passou a ser uma atividade econômica interessante para alguns sítios anteriormente apenas de lazer. Muitos não ultrapassam o cultivo caseiro, alguns atingem qualidade para abastecer o mercado nacional e poucos, já realizando o cultivo axênico, com composto à base de serragem, atingem o mercado de exportação, principalmente para o Japão.

2.2 FATORES DETERMINANTES NO CULTIVO DE COGUMELOS

2.2.1 Fatores Ambientais

Fatores como temperatura, umidade, concentrações de oxigênio, CO₂ e, luminosidade são determinantes no desenvolvimento das frutificações.

Quimio et al. (1990) salientam que poucas generalizações podem ser feitas levando em consideração temperaturas de crescimento vegetativo e de frutificação cada espécie apresenta um ótimo de temperatura para frutificação que, pode ou não coincidir com a do crescimento vegetativo. Entretanto, estes autores comentam que, em geral, a maioria dos fungos comestíveis possui temperaturas ótimas de frutificação mais baixas que suas temperaturas ótimas de crescimento vegetativo.

Meiying, (1998) observa que o rendimento de produção de *Pleurotus eryngii* é significativamente afetado pela temperatura. Relata que quando cultivada em condições naturais em Sanminy, na China, em temperaturas agradáveis, entre 10° C e 18° C , apresenta uma eficiência biológica de 60-80%. Porém, em temperaturas abaixo de 10° C ou acima de 18° C a produção é sensivelmente afetada. Por outro lado, Quimio, et al. (1990), reportam que a temperatura ótima de frutificação para esta espécie situa-se

entre a faixa de 20°C a 22°C e a temperatura ótima de crescimento do micélio estaria entre 20°C e 30°C.

Chang (1998d), referindo-se a *Pleurotus eryngii*, como uma espécie que tem sido cultivada com sucesso nos últimos anos, ressalta que o aumento esperado de produção está diretamente relacionado com o incremento de pesquisas sobre a biologia (incluindo seleção de linhagens) e cultivo desta espécie.

Pleurotus sajor-caju, segundo Jandaik & Kapoor (1976), citados por Quimio et al (1990), apresenta temperaturas ótimas de crescimento vegetativo e frutificação na faixa de 25°C a 32°C e 25°C, respectivamente.

Quimio; et al. (1990), citando Ishikawa (1967), reporta que *L. edodes* apresenta temperaturas ótimas de crescimento vegetativo entre 22°C e 27°C e de frutificação entre 15°C e 20°C. Segundo Chang & Miles (1989), estes ótimos estariam entre 20°C e 25°C para o crescimento vegetativo e entre 16°C e 18°C para a frutificação. Para Ito (1978) as temperaturas de frutificação devem estar acima de 15°C e, preferencialmente, à 20°C.

Shenmao & Bo (1998) relatam que a linhagem Cracky, considerada a de melhor qualidade, frutifica a uma temperatura de 10°C. Li Mingyan et al. (1998) relatam o cultivo de *Lentinula edodes* em uma região de baixa altitude na China (100-400m) a uma temperatura de 18-34°C e ressaltam que o sucesso da produção nesta região está associado à qualidade das linhagens utilizadas.

Zadrazil (1978) observa que de acordo com sua experiência, o fator "ar" deveria estar acima do fator "iluminação" na fase de desenvolvimento

das frutificações; comenta ainda que, para as espécies de *Pleurotus* quando a frutificação se desenvolve em condições ótimas de aeração, o píleo apresenta-se bem desenvolvido representando a massa principal, enquanto que a estípete apresenta-se reduzida. O excesso de CO₂ provoca o alongamento da estípete e a redução do píleo.

A umidade relativa do ar para as espécies de *Pleurotus* situa-se na faixa de 80%- 95% (Quimio et al. 1990).

A umidade relativa do ar, para o cultivo de *Lentinula edodes*, segundo Quimio et al (1990), situa-se na faixa de 80 a 95% . Shenmao & Bo (1998), reportam que para as linhagens cultivadas na província de Henan, China , onde é produzida uma das melhores qualidades de shiitake, a umidade relativa mantém-se entre 55% a 65%.

Quimio, et al. (1990) ressaltam, citando Kitamoto et al., (1972) e Perkins & Gordon, (1969) que a luz é essencial em muitas espécies de basidiomicetos degradadores de madeira. Saliendam ainda, citando Eger (1978), que a qualidade e intensidade de luz é considerada, individualmente, para cada espécie. Segundo, Ishikawa (1967), citado por Quimio et al. (1990), a exposição a luz mais intensa que 50 lux, durante o crescimento do micélio, pode inibir a formação de primórdios em *Lentinula edodes*.

Quimio et al. (1990) comentam que foi observado por Block et al., (1959) e Gyurko (1972), fototropismo positivo em espécies de *Pleurotus*.

Segundo, Zadrazil (1978), o efeito da luz, em *Pleurotus*, é mais importante que o efeito dos produtos gasosos do metabolismo

(concentrações de CO₂). Dez lux são suficientes para induzir uma resposta fototrópica (Zadrazil, 1978).

Em regra geral, luz suficiente para a maturação e iniciação da frutificação é provida por “luz branca fria” (com lâmpada fluorescente por 2-4 horas/dia), na maioria das espécies de *Pleurotus* e em Shiitake (Quimio et al., 1990). Citando, Leatham & Stahmann (1987), estes autores ainda comentam que a luz tem efeito na indução de maturação mas não na iniciação da frutificação e exerce efeito inibitório mas não trófico, em *Lentinula edodes*.

2.2. 2. Linhagens

Diferentes linhagens da mesma espécie, podem possuir distintas condições ótimas de desenvolvimento. Yingjie et al. (1998), salienta que na China há uma grande variedade de linhagens de *Lentinula edodes*, não só selvagens, mas também, por ser uma espécie cultivada a, aproximadamente, mil anos, neste país, há uma enorme variedade de linhagens geneticamente selecionadas.

O melhoramento de linhagens pode ser feito através de seleção a partir de culturas multiespóricas ou monospóricas ou ainda, cultura de tecido de esporóforos selecionados. Tem, sido usado para fixar variantes

desejadas como, por exemplo; maior rendimento e/ou resistência a infecções, por bactérias, fungos ou vírus.

A hibridização, através do uso de auxotróficos, tem se apresentado como uma outra alternativa . Auxotróficos podem ser obtidos naturalmente ou por mutagênese.

Uma outra alternativa utilizada, é a fusão de protoplastos o qual, permite o cruzamento intraespecífico em organismos, nos quais, a compatibilidade sexual raramente ocorre. Embora várias abordagens têm sido feitas em laboratórios, até agora, nenhum resultado aplicável economicamente tem sido relatado para cogumelos comestíveis (Chang, 1998).

2.2.3 Substrato

O substrato para o cultivo de cogumelos pode ser definido simplesmente como um tipo de material lignocelulósico o qual sustente o crescimento do micélio e o desenvolvimento dos corpos frutíferos (Chang,1997 apud Miller, 1994). De forma que, as matérias primas utilizadas para produzir cogumelos são biomassas de resíduos lignocelulósicos (Chang, 1998c).

Exemplos destes são; palhas de cereais, sabugos de milho, serragem, pedaços de madeira, bagaço, resíduos de algodão, cascas de sementes de algodão, restos de grãos de indústria de cerveja, restos de folhas de chás, polpa de café, folhas de bananeira, água-pé e diferentes tipos de gramíneas (Chang, 1997 apud Chang & Miles, 1991)

Quimio et al. (1990) salientam que palha de arroz, palha de trigo, sabugo de milho, água-pé seco, folhas de bananeira, resíduos de algodão e serragem podem ser utilizados para cultivar cogumelos. Para obter bons resultados, estes materiais são normalmente compostados antes do uso. O tempo de compostagem varia com o tipo de substrato, com a espécie a ser cultivada e com a técnica adotada. Estes autores comentam ainda, que a utilização de substratos não compostados é possível mas que neste caso estes devem ser devidamente triturados e mergulhados em água limpa. Citam como exemplo, o procedimento usualmente aplicado para palha de arroz, quando esta é utilizada para o cultivo de espécies de *Pleurotus spp.* A palha deve ser cortada em pequenos pedaços de 4-6cm e mergulhada em água limpa por, aproximadamente, 12 horas e depois disso, deve ser disposta de forma que permita a drenagem da água em excesso antes da adição de suplementos. O tempo de drenagem, obviamente, estará relacionado com os fatores ambientais. Quimio (1988) ressalta que esse procedimento proporciona um rendimento de colheita igual ou melhor que o procedimento de pré-compostagem durante 3-6 dias antes da preparação do substrato.

Tasnádi (1988), comenta que para a produção de *Pleurotus spp* vários tipos de materiais residuais podem ser utilizados e relata que algumas fazendas na Hungria, utilizam uma mistura de 50% de sabugo de milho picado e 50% de palha de trigo. Outras fazendas utilizam somente palha de arroz por elas plantadas, outras ainda, utilizam junco. Este autor notifica, também, a utilização do resíduo farmacêutico do extrato de papoula.

Tasnádi (1998) comenta, que o processo de formação de "pellets", para uma mistura de talo de milho e palha, proporciona uma eficiência de colheita de 30% em contraste com uma média de 15-20%. Citando Pékar (1988), Tasnádi explica que o processo de prensagem torna os nutrientes mais acessíveis para os cogumelos Ostras. Além dos resíduos mencionados, citando Szili & Véssey (1980) e Szabó (1986), o autor recomenda a utilização de planta de tabaco, palha de linho, talo de girasol, resíduos de semente de alfafa e de feijão depois de debulhados.

Quimio (1988) comenta que a palha de arroz é usualmente o componente principal dos substratos dos cogumelos produzidos nos trópicos.

Zhonggui (1998), relata que durante três anos foram realizados experimentos no Jingkou Vegetable Research Institute, Zhenjiang, Jiangsu, China, com o objetivo de avaliar produtos e materiais experimentais, eficiência biológica, qualidade de produtividade e aspectos econômicos da utilização de pó de junco (subproduto da fabricação de papel) para substituir, em parte, o uso de casca de semente de algodão como meio de cultura para a produção de *Pleurotus ostreatus*. Os resultados alcançados foram em

relação ao ingrediente do meio de cultura, espécies, fatores de crescimento ,etc. A partir do desenvolvimento de uma técnica, para usar esta matéria-prima, foi possível obter uma eficiência biológica de 109,6 % em contraste com 97% obtidos quando da utilização de casca de semente de algodão. Disso resultou o decréscimo de 1/3 a 1/2 no custo da matéria prima e conseqüentemente um incremento do efeito econômico da ordem de 30-50%.

González et al. (1997) comentam, citando Guzmán et al (1993), que *Pleurotus* tem se manifestado como um boa opção para o uso de diferentes resíduos agro-indústriais, tais como, o bagaço do cáctus utilizado na fabricação de tequila ("maguey"). González et al (1997) reportam que a indústria de cerveja descarta grande quantidade de resíduo sólido resultante da filtração da mostura de cevada ou de algum cereal como arroz, trigo ou milho. Foram testadas, pelos autores, duas espécies de *Pleurotus*: *Pleurotus ostreatus* e *P. pulmonarius* (registradas como IBUG-8 e IBGU-4, respectivamente.), em um substrato à base de "maguey" de tequila e resíduo sólido de fabricação de cerveja; nas proporções de 1:0, 1:1 e 3 :1 em relação ao peso seco. Quatro repetições foram realizadas para cada cepa e mistura, em sacos de 4 kg. Os sacos foram submetidos à pasteurização por três horas e depois foram mantidos em estufa até a aparição dos primórdios. Para a obtenção de corpos frutíferos os sacos foram colocados em sala com umidade relativa entre 70% e 80%. Os parâmetros avaliados foram: formação de primórdios, produção de corpos frutíferos e eficiência biológica

(EF). Os resultados obtidos para eficiência biológica e aparecimento de primórdios estão indicados no apêndice 7.

Os autores comentam ainda que os tratamentos com 100% e 75% de resíduo de cerveja apresentaram contaminações.

Thomas et al (1998), ressaltam que o cultivo de cogumelos é um dos processos mais viáveis, economicamente, de bioconversão de resíduos lignocelulósicos e relatam um experimento desenvolvido no "Central Plantation Crops research Institute", Karala, com o objetivo de avaliar a possibilidade de utilização do subproduto lignocelulósico, da palma de coco, como substrato para o cultivo de *Pleurotus sajor caju*. Esses autores experimentaram quatro diferentes substratos; (1) espates da palma e folhas secas removidas durante a colheita do coco, (2) pecíolo, (3) folíolo e (4) cerne da fibra (subproduto do processo de extração da fibra). Adicionaram 6%(em relação a matéria úmida) de farelo de arroz, como suplemento orgânico, em todos os tratamentos e inocularam 3% de "spawn" (micélio) em sacos de 3kg. Os resultados de eficiência biológica e tempo de aparecimento de primórdios são indicados no apêndice 8.

Os autores ainda citam que Chandramohanan & Moorthy (1991) obtiveram eficiência biológica de 37,7% para *P. sajor caju* com resíduos lignocelulósicos de outra espécie de palma e Kochu Babu & Ramacharam Nair (1991), utilizando mesocarpo de resíduo de palma, obtiveram eficiências biológicas de 58,4% para *P. florida* e 55,7% para *P. sajor caju*.

Chang (1996) refere que *Pleurotus sajor caju* é uma espécie adaptável, pode crescer em uma variedade de resíduos florestais e agrícolas

de diferentes composições em termos de razão polissacarídeo/lignina, produz enzimas celulolíticas como endoglucanase, exoglucanase e β -glucosidase, e também produz manganês peroxidase e lacase, as quais podem degradar lignina.

Zhuang (1993), cita que, *Pleurotus sajor caju* é cultivada na China em substrato composto de caule de bananeira e palha de arroz.

Jain et al (1987) apud Nas (1981) & Bisaria (1984), ressaltam que *Pleurotus sajor-caju* (cogumelo ostra) cresce facilmente em muitos materiais lignocelulósicos.

Thomas et al (1998) citando Rajarathnam & Babu (1989), comentam que, *Pleurotus spp* são eficientes colonizadores e degradadores de lignoceluloses. Ressaltam, citando Saxena & Rai (1992), que estas espécies elaboram enzimas como endoglucanase, β -glucosidase, xylanase, laminarinase, lacase e polifenol oxidase, as quais estão envolvidas com a degradação de lignocelulósicos. Thomas et al (1998), referindo-se ao experimento já descrito acima e citando Sivaprakasam (1986), concluem que o conteúdo de celulose dos substratos é um importante fator para o desenvolvimento dos corpos frutíferos em *P. sajor caju* e ainda ressaltam citando Ramasamy & Kandaswamy (1976), que a produção de celulase foi positivamente correlacionada com a colheita de frutificações.

Triratana & Osathaphant (1988), referindo-se à *Lentinula edodes*, reportam que vários fatores afetam a taxa de crescimento micelial e produtividade, tais como, composição química da madeira, fontes de carbono, nitrogênio, minerais, ou outros componentes e provavelmente o

tamanho das partículas de serragem. Em substrato a base de serragem de *Havea brasilienses* suplementado com farelo de arroz e casca de soja, foi obtido uma eficiência biológica de 60%, enquanto que em substrato a base de *D. alatus* com os mesmos suplementos foi obtida uma eficiência biológica 30%.

2.3 DISPONIBILIDADE DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

No Brasil, no ano de 1998, foram colhidos 4.944.018 ha de cana de açúcar, tendo a produção obtida sido de 338.348.410 toneladas. No Rio Grande do Sul, neste mesmo ano, foram colhidos 29.234 ha com uma produção obtida de 936.645 toneladas. A área colhida de arroz no Brasil, em 1998, foi de 3.072.252 ha. Destes, 832.958 ha foram no Rio Grande do Sul (IBGE, 1998).

Segundo estimativa do IBAMA, são produzidas anualmente no Brasil, 23 milhões de toneladas de resíduos florestais (IBAMA, 1997).

Em 1996 no Rio Grande do Sul, só na indústria Riocell (Guaíba), a produção média mensal de casca de eucalipto foi de 1300 toneladas mensais e de serragem a produção média foi de 1900 toneladas mensais (Zini et al. 1997). As cascas de eucaliptos estão sendo reutilizadas como fertilizante orgânico o que pressupõe atividade de microorganismos.

O bagaço de mostura obtido a partir da etapa de filtração da mistura de água com malte macerado, consiste basicamente de restos de grãos de cevada (restos sólidos da maceração) com uma umidade de 80% (Madrid; et al., 1996). Este material lignocelulolósico, subproduto de uma das atividades econômicas mais bem sucedidas no mundo, é normalmente utilizado como alimento para o gado ou depositado no solo ou ainda, em períodos de grande produção, queimado (Pauli, 1996; Pauli 1998).

O volume mundial de produção de cerveja, em 1998, foi da ordem de 1.186.619.000 hectolitros, destacando-se como maiores produtores mundiais os Estados Unidos (234.800.000 hectolitros), China (163.180.000 hectolitros), Alemanha (114.230.000 hectolitros), Brasil (80.180.000 hectolitros) e Japão (67.900.000 hectolitros) (Brahma, 1998).

No Rio Grande do Sul, a indústria Brahma em Viamão, produz mensalmente 300.000 hectolitros de cerveja. As três fábricas da indústria Antártica, neste mesmo Estado, possuem capacidade de produção de 800 a 1.000.000 de litros anuais cada uma, e a indústria Kaiser, com uma produção nacional de 2,3 bilhões de litros anuais, produz no Rio Grande do Sul 15.000.000 litros mensalmente.

Em média, para a produção de 1 hectolitro (100 litros) de cerveja são necessários 80 a 100 hectolitros (8000 a 10000 litros) de água potável e 10 quilos de malte e como resultado deste processo são gerados 2,7 quilos de bagaço de mostura (peso úmido) e uma quantidade de resíduos líquidos. Portanto, uma cervejaria como a Brahma em Viamão, que produz 300.000 hectolitros mensais produz, aproximadamente, 120 toneladas de resíduo

sólido por dia. Em média, também, em cada unidade da indústria Antártica, no Estado, são produzidas diariamente 30 toneladas de resíduo sólido. A Kaiser, em Viamão, tem uma produção diária de 60 toneladas (peso úmido) de resíduo sólido. Portanto, em média, no Rio Grande do Sul, são produzidos diariamente, aproximadamente, 270 toneladas de resíduo sólido (peso úmido), sendo que 180 toneladas são produzidas no município de Viamão.

O destino deste resíduo, no Rio Grande do Sul, tem sido a utilização na alimentação para o gado leiteiro, em algumas situações é utilizado na alimentação de suínos, podendo-se encontrar ainda a prática de disposição no ambiente, "landfill", para que seja incorporado ao solo. Além destas alternativas, em alguns países, principalmente no verão (quando se dá o aumento de produção), é queimado.

Tem sido observado que mais de 70% dos produtos agrícolas e florestais tornam-se materiais não produtivos e são desperdiçados no processamento. Por exemplo, o açúcar extraído da cana representa apenas 17% do peso da biomassa da planta, enquanto que os 83% restantes são descartados como bagaço. A produção de cerveja utiliza somente 8% dos nutrientes do grão de cevada, 92% não são usados no processo. Árvores são cortadas no mundo inteiro, principalmente para extração de celulose, a qual representa somente, aproximadamente 30% da biomassa, no caso de "hardwoods" e apenas 20% no caso de "softwoods". Além disso, é estimado que milhões de toneladas de serragem e cacos ("chips") de madeira são gerados no mundo inteiro. Em geral, o método principal de disposição deste

material inclui queima no local, enterramento e "landfill" não planejados e não controlados. Estes exemplos demonstram claramente que o homem faz um uso marginal do que a terra tem produzido através do processo de fotossíntese realizado pelas plantas (Chang, 1998).

2.3.1 COMPOSIÇÃO BÁSICA E DEGRADAÇÃO DE LIGNOCELULÓSICOS

Lignoceluloses são definidas como plantas ou paredes celulares de madeira, na qual, a celulose está intimamente associada a lignina e, ainda, contêm outros polissacarídeos, comumente, denominados de hemiceluloses (Kerem & Hadar, apud Eriksson et al. e Whetten et al., 1998)

Os resíduos orgânicos consistem de três componentes principais, celulose, hemicelulose e lignina

A celulose é um polissacarídeo linear formado por unidades β -D – glicopirranose unidas por ligações 1-4 glicosídicas (Esposito, 1992). Soest (1994), ressalta que trata-se do carboidrato mais abundante na biosfera e que sua reciclagem depende da atividade microbial. Vários fatores ambientais afetam sua transformação, entre eles, o nível de nitrogênio disponível, temperatura, aeração, umidade, pH, presença de outros carboidratos e a proporção de lignina no resíduo da planta (Endres, 1995).

A partir de estudos realizados com o basidiomiceto degradador de madeira, *Phanerochaete chrysosporium*, foi evidenciado que as enzimas que participam no processo de degradação da celulose são:

Endo-1,4 β -glicanases que atacam a cadeia de celulose aleatoriamente, quebrando as ligações glicosídicas β - (1-4);

Exo-1,4- β -glicanase que libera celobiose ou glicose do final não redutor da cadeia de celulose; **1-4 β Glicosidases** que hidrolisam celobiose e celodextrinas solúveis em água até glicose; **Quinona ou Celobiose Oxiredutase** que reduz as quinonas e radicais fenoxi na presença de celobiose, a qual é oxidada até celobiono- δ -lactona; **Celobise Oxidase** a qual oxida celobiose e celodextrinas ao seus ácidos-ônicos correspondentes (glicônico, arabinônico, glicosiglicônico, lactonas, etc.) utilizando oxigênio molecular (Endres, 1995 apud Eriksson, 1990).

Endres 1995, citando Orpin 1983/84 comenta que um grande número de microorganismos utiliza celulose, mas poucos são capazes de produzir um completo sistema enzimático para hidrolizar celulose cristalina.

Em termos gerais, o que acontece é a clivagem das pontes de hidrogênio da celulose, deixando as cadeias de celulose suscetíveis a uma hidrólise seqüencial produzindo celobiose e, por último, a glicose (Endres, 1995 apud Hatfield, 1993).

A hemicelulose é composta de diferentes unidades de carboidratos que variam consideravelmente em função do tipo de madeira. Nas madeiras duras predominam glicuronoxilanas (20-30%) e glicomananas (1-5%), enquanto nas madeiras moles são galactoglicomananas (15-20%),

arabinoglicuronoxilanas (5-10%) e arabinogalactanas (2-3%) (Esposito, 1992).

Devido a variação da estrutura das xilanas, que envolve tanto cadeias lineares quanto ramificadas, é necessário um complexo conjunto de enzimas para degradá-las. (Endres, 1995 apud Dekker, 1985).

As hemicelulases ou hemicelulolíticas β -D-galactanases, β -D-manases e β -D xilanases são enzimas de natureza hidrolítica, que atacam as hemiceluloses (Endres1995, apud Dekker 1985).Citando Dekker & Richards, 1976; Endres, (1995) ainda comenta que diferentes microorganismos produzem hemicelulases e xilanases, incluindo microorganismos ruminais (bactérias, fungos e protozoários), mas os fungos causadores de podridão são os maiores produtores. De maneira geral, existem duas maneiras de ataque:

Por **exoglicosidases**, que precede as hemicelulases (xilanase, galactanase e β -manase), removendo a cadeia lateral, portanto expondo a cadeia principal de glicano ao ataque das hemicelulases; e pelas **endohemicelulases**, que atacam regiões da cadeia de glicano, que não são, ou são moderadamente ramificadas.

Endres (1995) ressalta citando Akin (1993), que no líquido ruminal existe considerável atividade de hemicelulases, ao contrário do que ocorre com celulases.

Lentinula edodes, espécie cultivada em substratos altamente lignificados, como madeira e serragem, produz duas enzimas extracelulares: manganês

peroxidase e .lacase, estas sendo associadas a degradação da lignina. (Buswell at al, 1996).

Cerca de 95% da biomassa básica da terra é composta por materiais lignocelulósicos, sendo 25% constituído por lignina (Sette & Durrant 1997, apud Janshekar & Fichter, 1983). Esta é o segundo polímero natural mais abundante na biosfera e um dos mais abundantes materiais aromáticos renováveis (Durán, 1989). A degradação biológica deste polímero é uma das etapas mais importantes do ciclo do carbono-oxigênio (Sette & Durrant, 1997, apud Janshekar & Fichter, 1983). A complexidade da estrutura da lignina confere uma considerável resistência ao ataque microbiano e sua degradação é o fator determinante no processo de biodeteriorização e bioconversão de fibras lignocelulósicas (Nazareth & Mavinkurve,1987 apud Ander & Erikson, 1978).

Este polímero aromático tridimensional, de estrutura altamente complexa (Sette & Durrant, 1997 apud Kirk & Farrel 1987) é composto por unidades moleculares que não se repetem regularmente,(Matheus & Okino, 1999), de estruturas de fenilpropano com várias ligações de C-C e éter entre unidades monoméricas (Nazareth & Mavikurve, 1987 apud Crawford, 1981). A lignina está presente na parede celular de células vegetais e atua como agente cimentante, fornecendo rigidez e protegendo a célula contra ataques microbiológicos (Sette & Durrant, 1997 – apud Kirk & Farrel 1987).

Muitos microorganismos possuem habilidade de degradar a lignina em diferentes graus e metabolizar compostos intermediários de baixo peso molecular, entretanto, são poucos os capazes de degradá-la

extensivamente, sendo os mais conhecidos e estudados os fungos de podridão branca (basidiomicetos e alguns ascomicetos) (Sette & Durrant, 1997 apud Eriksson et al., 1990; Evans, 1985; et al., 1987).

Estes são providos de sistema enzimático que os tornam capazes de utilizar fontes complexas de carbono, sendo assim responsáveis pela degradação de celulose, hemicelulose e lignina, quebrando-as em moléculas menores até CO_2 e água (Matheus & Okino, 1999). As enzimas lignolíticas produzidas por microorganismos apresentam um grande potencial aplicativo, podendo ser utilizadas para tratamento biológico de material lignocelulósico (Sette & Durrant, 1997).

Os basidiomicetos de podridão branca degradam lignina mais rapidamente e extensivamente que outros grupos de microorganismos estudados (Durán, 1989). O processo pelo qual esses fungos degradam a lignina é oxidativo, envolvendo provavelmente enzimas como as lignina peroxidase (Li-P), manganês peroxidase (Mn-P), lacases e enzimas produtoras de H_2O_2 (Sette & Durrant, 1997 apud Eriksson et al., 1990; Evans, 1985; Faison et al., 1987).

A lignina peroxidase (Li-P), manganês peroxidase (Mn-P) e lacase são três famílias de enzimas que têm sido aplicadas na degradação biológica da lignina (Neves & Durrant, 1997 apud Perez & Col, 1990). Como a lignina é uma macromolécula complexa, a sua biodegradação pode requerer o sinergismo entre estas enzimas (Neves & Sette, 1997 apud Bono & Col. 1995). No processo de degradação da , a Li-P é inicialmente oxidada pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxida núcleos aromáticos (fenólicos e

não fenólicos) da molécula de lignina por um elétron, gerando radicais catiônicos. Estes reagem espontaneamente com nucleófilos (primariamente H₂O) e com oxigênio molecular, resultando numa “combustão enzimática” onde ligações C-C e C-O são quebradas, despolimerizando a molécula de lignina e abrindo os anéis aromáticos. O álcool veratril, que é um metabólito fúngico, é um substrato para Li-P e age, aparentemente, como “mediador” ou transmissor de elétrons entre Li-P e seus substratos. MnP catalisa a oxidação de Mn II a Mn III que aparentemente oxida a lignina. No entanto, a exata função da MnP e sua participação na oxidação da lignina ainda não estão bem definidas. De modo geral, o processo de degradação inicia-se com a liberação de enzimas extracelulares para o meio externo à hifa do fungo, onde irá ocorrer a degradação das moléculas complexas do substrato, quebrando-as em moléculas menores, as quais serão absorvidas pelo fungo para sua nutrição (Mateus & Okino, 1999).

Os resíduos lignocelulósicos não possuem um grande valor como alimento, entretanto o potencial de transformar estes resíduos em produtos valoráveis através de fermentação sólida tem sido remarcado. A fermentação sólida envolve o crescimento de microrganismos em substratos sólidos umidificados e sua eficiência deve-se a vantagem do processo de transferência de oxigênio.

O uso direto de resíduos lignocelulósicos, como alimento animal ou como componente da dieta animal, representa uma das aplicações mais antigas desses e a mais largamente utilizada. Esses resíduos desempenham um importante papel na dieta de ruminantes. Vários autores têm examinado

pré tratamentos para estes substratos (Zohar et al apud , Murthy et al e Hadar et al).

Dass et al (2000), citando diversos autores (Kolopfenstein et al., 1971; Oji et al., 1978, Maeng & Chung, 1989, Kumar et al , 1991, Badurdeen et al, 1994) comentam , que têm sido usados métodos físicos e químicos para melhorar o valor nutritivo dos resíduos de colheita Esses autores ressaltam que, entre vários métodos químicos, o tratamento com amônia tem dado bons resultados. Entretanto, comentam que, o tratamento de palhas com gás de amônia ou amônia aquosa, tem sido custoso e de trabalhoso transporte, referem-se ainda, ao uso da uréia como uma fonte barata de amônia e salientam que, depois da hidrólise, essa, tem dado resultados satisfatórios, no que se refere, ao melhoramento do valor nutritivo dos resíduos de colheita. Dass et al. (2000) estudaram a adição de diferentes níveis de ácido bórico, em palha de trigo, tratada com amônia, com objetivo de fixar o excesso de amônia da uréia nesta palha. Observaram que a adição de mais de 1% de ácido bórico tem um efeito negativo no desaparecimento de matéria seca, FDN, FDA, celulose e hemicelulose mas à 1% obtiveram resultados similares ao obtido com o tratamento feito somente com amônia. O percentual de desaparecimento de matéria seca, do tratamento com 1% de ácido bórico, em degradabilidade *in situ*, após 48h (animais de 400kg e 3,5 anos, alimentados com palha de trigo amoniada, e uma mistura concentrada à base de torta de noz, milho, farelo de trigo, sal, minerais e uma fonte de Vitamina A e D₃ , "vitablend"), foi $54,4 \pm 1,9$ em contraste com,

56, $4 \pm 2,3$ do tratamento com amônia somente, num nível de significância de 1%.

A avaliação da fermentação semi-sólida de palha de arroz por, *P. sanguineous*, *T. viride* e *R. stolonifer*, que *P. sanguineous* reduziu a degradabilidade ruminal da palha. A degradação de celulose e hemicelulose por *T. viride* e *P. sanguineous*, foi dependente do tempo de fermentação. A degradabilidade ruminal da palha tratada com *T. viride*, após duas semanas de fermentação melhorou. E, não houve vantagem na suplementação mineral para a degradação de celulose, mas para a degradação de hemiceluloses. (Endres, 1995).

Barrasa et al (1998), consideram *Pleurotus eryngii*, especialmente, apropriada para a delignificação em função da habilidade que esta espécie possui, de remover a lignina seletivamente, atacando de forma limitada a celulose. Citando, Camarero et al (1997), Brasara et. al (1998) reportam que várias atividades enzimáticas, incluindo Aril -álcool oxidase (AAO), têm sido detectadas durante a fermentação de palhas, em estado sólido com *Pleurotus eryngii* e outras espécies de *Pleurotus*.

Buswell et al. (1995) salientam que a eficiência de *L. edodes* colonizar o substrato tanto em toras de madeira como em cultivo axênico com substrato a base de serragem, é dependente da capacidade do fungo de produzir enzimas extracelulares necessárias para degradar os componentes lignocelulósicos do substrato. Esses autores, observam que, *L. edodes* (cepa L. 54), quando cultivada em um meio com glicose como fonte de carbono, produz manganês peroxidase e lacase mas não, lignina

peroxidase. O aparecimento e a ação de Mn-P são afetadas pela concentração de Mn, no meio de cultura. Altos níveis de de Mn-P foram detectados em culturas suplementadas com 1.1 ppm de Mn. Alta concentração de nitrogênio (26mM), no meio, suprime a produção de Mn e induz a produção de lacase. Relatam ainda que a Mn-P desta cepa difere-se em vários aspectos em relação a Mn-P de *L. edodes* cultivada em toras, em escala comercial.

A habilidade dos fungos para degradarem palha de trigo já foi estudada por diferentes autores com diversas linhagens de fungos. *Corioulos versicolor* (*Trametes versicolor*), entre 45 outras linhagens, exibiu uma marcada degradação de lignina e um aumento da digestibilidade do substrato mas, causou alta perda de peso no substrato. *Pleurotus eryngii* apresentou, neste mesmo, estudo degradação preferencial de lignina da palha de trigo.(Kerem & Hadar 1998, apud Valmaseda et al. 1990) Um incremento significativo da digestibilidade in vitro, da matéria seca de palha de trigo foi reportado. O conteúdo de lignina na palha decresceu 51% durante um período de incubação de 90 dias. Resultados similares foram reportados por Martinez e al. (1994 ; 1991) e por Zadrazil (1985). Este último, demonstrou que *Pleurotus eryngii*, *L. sajor caju* e *P. serotinus*, cultivados em palha de trigo, incrementaram a digestibilidade in vitro desta em 23-32%. A degradação de lignocelulose e as atividades relacionadas com a degradação de lignina foram estudadas por Kerem et al. (1992) através de fermentação semi-sólida de talos de algodão por dois fungos de podridão branca; *P. ostretus* e *P.chrysosporium* . *P. chrysosporium* cresceu

vigorosamente em 15 dias, resultando numa rápida e não seletiva degradação dos componentes orgânicos de talo de algodão. Em contraste, *P. ostratus* cresceu mais lentamente, com seletividade óbvia da degradação de lignina, resultando numa degradação de somente 20% da matéria orgânica após 30 dias de incubação. Sermanni et al. (1994) reportam que a adição de 620 μMn no substrato de talo de algodão resultou em uma digestibilidade in vitro, da matéria orgânica, de 65,4% em contraste com 53,% sem adição de manganês, obtidas para a matéria seca oriunda da fermentação sólida. A influência do crescimento de *P. ostreatus* e *L. edodes* na composição e digestibilidade de palha de milho (*Zea mays*) foi avaliada por este mesmo autor. Os dois basidiomicetos demonstraram padrões diferentes na liberação de enzimas extracelulares, as quais incluem fenol oxidases, celulase e xylanases. Os melhores resultados em termos de delignificação e incremento na digestibilidade foram obtidos com culturas de *L. edodes*. Quando os dois fungos foram desenvolvidos em solução de copolímero rico em lignina, foi obtido um filtrado bruto contendo fenol oxidases mas não, enzimas celulolíticas (Kerem & Hadar, 1998).

O cultivo de *Pleurotus* em material lignocelulósico pode aumentar a digestibilidade (para o gado) por reduzir o conteúdo de lignina (Platt et al, 1983, apud Zadrazil, 1978), uma vez que a lignina é um limitante da digestibilidade de lignocelulósicos no rúmem (Das & Karim, 1995).

A produção de Singel Cell Protein, biomassa seca de microorganismos, em condições padronizadas e controladas de acordo com o microorganismo, pode ser obtida a partir de resíduos agrícolas e industriais

com o objetivo de serem utilizadas como fonte de proteína na alimentação animal (Yamada et al. 1979 ; Senez, 1987). A produção de proteínas pelos cogumelos, a partir de materiais residuais, tem a vantagem em relação à proteína SPC, derivada da atividade microbiana nestes materiais, porque os cogumelos são consumidos diretamente, enquanto que SPC, é usada para complementar a dieta dos animais, usados como alimento humano (Miles & Chang, 1988).

Chang (1997), apud Chang & Miles (1991) ressalva que, um dos processos mais viáveis economicamente de bioconversão dos resíduos lignocelulósicos é o cultivo de cogumelos comestíveis. Fermor (1993) reitera: "os únicos produtos, economicamente viáveis produzidos, em escala mundial, a partir de resíduos lignocelulósicos permanecem sendo os cogumelos."

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS UTILIZADOS

Para a realização desta pesquisa foram utilizados os seguintes materiais:

1. *Pleurotus eryngii* (D.C. ex Fr.) Quél. cepa (sem número de registro) proveniente do laboratório de Micologia da Universidade de Wuhan, China.

2. *Lentinus sajor caju* (Fr.) Pegler cepa P-27 proveniente do laboratório de Micologia da Universidade de Hong Kong (MIRCEN), China.

3. *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler cepa L-54 proveniente do laboratório de Micologia da Universidade de Hong Kong (MIRCEN), China.

4. Bagaço de mostura (resíduo sólido de indústria de cerveja) proveniente da Cervejaria Continental, Blumenau, SC.

5. Bagaço de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*) resultante da produção de caldo de cana proveniente do município de Osório, RS.

6. Palha de arroz (*Oryza sativa*, L.) proveniente de lavouras de Dom Pedrito, RS e Santa Vitória do Palmar, RS.

7. Serragem de *Eucalyptus* proveniente do município de Santa Maria do Herval, RS.
8. Semente de trigo proveniente de lojas do ramo em Porto Alegre.
9. Meio ágar batata (DIFCO).
10. Sacos plásticos de polipropileno (25X15) cm com 4mm de espessura, obtido em lojas do ramo, Porto Alegre, para crescimento do spawn.
11. Sacos plásticos de polipropileno de 45cmX 20cm e de 45cm X12cm com filtro de 4X4 cm e 3,5x3,5 cm respectivamente, fornecidos pela UNICORN IMP, USA.

3.2 ANÁLISES QUÍMICAS

3.2.1. Teores de lignina, celulose e hemicelulose (análises de fibras em detergente ácido e neutro) determinadas no bagaço de mostura, na palha de arroz, no bagaço de cana de açúcar e na serragem de *Eucalyptus* foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, desta Universidade, segundo metodologia descrita em Goering & Van Soest, (1970). As amostras foram colhidas depois dos substratos serem triturados. No caso dos substratos mistos, as amostras foram colhidas após mistura manual.

TABELA 1. TEORES DE LIGNINA, CELULOSE E HEMICELULOSE NAS AMOSTRAS ESTUDADAS (DETERGENTE ÁCIDO E NEUTRO).

*O valor a direita de cada média refere-se ao desvio padrão.

AMOSTRA	MS		FDN		FDA		%MEDIA		CELULOSE		(%) HEMI	
	(%)		(%)		(%)		LIGNINA		(%)		CELULOSE	
Bagaço de mostura	90,77	0,0	86,85	1,12	34,79	1,00	8,24	0,06	26,56	1,07	52,06	0,12
Bagaço de cana	89,0	0,0	84,62	1,15	54,01	1,12	9,13	0,47	44,89	0,78	30,60	1,27
Serragem	70,23	0,0	95,11	0,0	82,96	0,00	22,82	0,0	60,14	0,0	12,15	0,0
Palha de arroz	88,56	0,0	72,15	0,58	53,25	0,45	6,47	0,1	46,78	0,36	18,90	1,12

*Bagaço de mostura = resíduo sólido de indústria de cerveja

MS= Matéria Seca

FDN= Fibra em detergente neutra

FDA= Fibra em detergente ácida

As determinações dos teores de porcentagem de matéria seca, fibras detergentes neutro e ácido, porcentagem média de lignina e teores de celulose e hemicelulose foram realizadas a partir de duas repetições de cada amostra. Para a verificação da existência de diferença significativa entre as médias das amostras para cada variável, aplicou-se teste de comparação múltipla, teste de Tukey num nível de 5%, para todas as variáveis. Observou-se que as médias obtidas para a variável matéria seca, nas diferentes amostras, apresentaram diferença significativa. Portanto se ordenadas em grupo cada média referente a cada amostra representaria um grupo. Para a variável fibra em detergente neutro (FDN) observou-se que as médias obtidas para as amostras de "bagaço de mostura" e as médias obtidas para "bagaço de cana de açúcar" não apresentaram diferença significativa entre si mas diferenciaram-se significativamente das médias

obtidas para as amostras de serragem e palha de arroz. A média obtida para a amostra “serragem” diferencia-se significativamente das médias obtidas para as demais amostras. O mesmo ocorre com a média obtida para a amostra “palha de arroz” que se diferencia significativamente das médias obtidas para as demais amostras. Portanto utilizando-se as letras a, b e c pode-se classificar as médias obtidas para a variável FDN em três grupos em ordem crescente em relação ao valor numérico das médias:

Palha de arroz (72,15)a , bagaço de cana (84,62)b , bagaço de mostura (86,84)b , Serragem (95,11)c.

Aplicou-se também, o teste de Tukey para avaliar a diferença entre as médias obtidas para a variável fibra em detergente ácido (FDA) nas amostras estudadas. Observou-se que num nível de significância de 5% a média obtida na amostra “bagaço de mostura”, diferenciou-se significativamente das médias obtidas nas demais amostras para esta variável. A média obtida para a amostra serragem também diferenciou-se significativamente das demais médias obtidas para esta variável. As médias obtidas para as amostras “bagaço de cana” e “palha de arroz” não apresentaram diferença significativa entre si mas apresentaram diferença significativa em relação as médias das demais amostras. Portanto pode-se classificar em três grupos, as médias obtidas para esta variável (em ordem crescente em relação ao valor numérico das médias):

“Bagaço de mostura” (34,79)a , “palha de arroz” (53,24)b , “bagaço de cana” (54,01)b , serragem (82,96)c .

Para a avaliação da diferença entre as médias obtidas para a variável porcentagem média de lignina aplicou-se novamente o teste Tukey e observou-se que num nível de significância de 5% as médias obtidas nas amostras “palha de arroz” e “serragem” diferenciaram-se significativamente das médias obtidas nas demais amostras inclusive diferenciaram-se significativamente entre si enquanto que as médias obtidas nas amostras “bagaço de mostura” e “bagaço de cana” não apresentaram diferença significativa entre si, mas diferenciaram-se significativamente das demais amostras. Portanto pode-se classificar estas médias em três grupos como segue: “Palha de arroz” (6,4)a , “bagaço de mostura” (8,23)b , “bagaço de cana” (9,13)b , “serragem” (22,82)c .

3.2.2. Teores de macro e micronutrientes realizadas no bagaço de mostura, na palha de arroz, serragem de *Eucalyptus*, bagaço de cana de açúcar, nas frutificações obtidas no mercado (previamente ao experimento) e, nas frutificações colhidas durante o experimento foram realizadas no Laboratório de Análises do Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia, desta Universidade, segundo metodologia descrita em Tedesco, Gianello et al., (1995).

TABELA 2. TEORES DE MACRO E MICRO NUTRIENTES
DAS FRUTIFICAÇÕES* DE *Lentinula edodes* e *Lentinus sajor caju*

Determinações		<i>L. edodes</i> (POA)	<i>L. edodes</i> (SP)	<i>Lentinus sajor caju</i> (SP)
N	%	3,4	4,4	5,1
P	%	0,56	0,99	1,4
K	%	2,3	2,6	3
Ca	%	0,11	< 0,01	<0,01
S	%	0,54	0,41	0,28
Cu	mg/kg	22	8,7	22
Zn	mg/kg	88	93	87
Fe	mg/kg	145	99	90
Mn	mg/kg	48	31	12
B	mg/kg	7	6	4
Na	mg/kg	569	106	67
NH ₄	mg/kg	14,1	--	--
NO ₃ + NO ₂	mg/kg	0,002	--	--

*Frutificações obtidas no mercado em São Paulo (SP) e em Porto Alegre(POA).

TABELA 3. TEORES DE MACRO E MICRO NUTRIENTES NOS COMPONENTES UTILIZADOS PARA CONFECÇÃO DO SUBSTRATO

		R. cerveja	B. cana.	P. arroz	Serragem	F. trigo
Umidade	%	78	nd	nd	12	7
Ph	%	5,3	nd	nd	4,5	6,3
Carbono Orgânico	%	47	42	40	46	46
Nitrogênio total	%	3,7	0,33	0,89	0,21	2,6
Fósforo total	%	0,18	0,08	0,18	0,05	0,83
Potássio total	%	0,03	0,27	1,6	0,03	1,2
Cálcio total	%	0,04	0,08	0,66	0,20	0,11
Magnésio total	%	0,08	0,10	0,22	0,04	0,42
Enxofre total	%	0,19	0,04	0,11	0,04	0,14
Cobre total	mg/kg	14	4,4	4,2	2,8	13
Zinco	mg/kg	100	17	25	12	113
Ferro	mg/kg	142	37	196	664	202
Manganês total	mg/kg	43	89	778	67	167
Sódio total	mg/kg	0,15	34	275	120	72
Boro total	mg/kg	5	3	7, 4	3	2,8
Chumbo total	mg/kg	<10	nd	4	<10	nd
Cádmio	mg/kg	0,69	nd	<0,03	0, 64	nd
Níquel total	mg/kg	<27	nd	3	5,2	nd
Cromo total	mg/kg	< 1,9	nd	8	6,8	nd
Mercurio total	µg/kg	37	nd	90	36	nd
NO3-+ NO2	mg/kg	nd	14,3	19	23,3	26
NH4+	mg/kg	nd	272	49	404	41

3.3. PREPARAÇÃO DO "SPAWN"¹

As cepas das três espécies, testadas neste trabalho, estavam estocadas em geladeira a 5°C, em ágar batata dextrose , e foram primeiramente, inoculadas em Placa de Petri, também, em ágar batata dextrose para desenvolvimento do micélio. Após uma semana de crescimento em estufa a 25°C-26°C , o micélio preencheu a placa (figura 1). Este foi dividido proporcionalmente em 4 partes iguais e cada uma foi inoculada, com auxílio de alça de platina, em substrato adequado para produção de "spawn" de acordo com a espécie, em câmara de fluxo, em condições assépticas e colocado em estufa para incubação e conseqüente crescimento, a 26°C (corrida do "spawn") (Quimio et al, 1990, Guzman et al., 1993 ; Vázquez, 1994)

O substrato para "spawn" de *Pleurotus eryngii* e *Lentinus sajor caju* foi preparado com semente de trigo. As sementes foram hidratadas por 12 horas e após drenada a água até atingir umidade de 65% nas sementes, foi adicionado CaCO₃ (0,5 %) (figura 2) e Sulfato de Cálcio precipitado (0,5%) baseado em Quimio et al. (1990), Chang & Miles, (1989), Guzman, (1993) e Vázquez, (1994) As sementes foram acondicionadas em sacos de

¹ A palavra "spawn" origina-se do latim "expandere" significa expandir, propagar-se; refere-se ao crescimento da fase vegetativa do fungo. Mas "spawn" significa não só o micéliomas também, o substrato e as enzimas extracelulares secretadas pelo fungo para degradá-lo. Foi traduzida para o português como "semente" por ser utilizada uma variedade de sementes como substrato e também por Ter uma função análoga às sementes das plantas.

polipropileno (de 25cmX 15cm e 4mm de espessura) e autoclavadas por 1 hora.



FIGURA 1. Acima cepas em meio de cultura ágar batata dextrose ao fundo tubos onde são estocadas e a frente placas de Petry totalmente colonizadas pelo micélio.



FIGURA 2. Acima preparação da semente de trigo para substrato de "spawn" para *Pleurotus* sp

FIGURA 3. A baixo preparação de substrato com serragem de eucalipto para "spawn" de *L. edodes*

O substrato para "spawn" de *L. edodes* foi preparado com serragem de eucalipto (figura 3) adicionada de farelo de trigo (20%), glicose (1%), CaCO_3 (%), $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,7%) e cloreto de manganês (0,2%/kg), adicionado água até atingir uma umidade de 65% e acondicionado em sacos de polipropileno de (25X15)cm com 4mm de espessura e autoclavados por duas horas . Baseado em Quimio et al (1990) e Chang & Miles(1989). A figura 4 apresenta o 'spawn' de algumas cepas de *P. eryngii* e *L. sajor caju* após colonização do micélio, pronto para inoculação no composto.



FIGURA 4. "Spawn" fase vegetativa em substrato adequado (semente de trigo) cepas de *P. eryngii* e *L. sajor caju*

3.4. PREPARAÇÃO DO COMPOSTO

3.4.1. A serragem de eucalipto não sofreu nenhum pré-tratamento tendo sido utilizada na forma como foi obtida, salvo quando esta foi recebida úmida, neste caso, foi seca em estufa de circulação de ar à 65°C por 12 horas aproximadamente.

3.4.2. O bagaço de mostura (resíduo úmido ou sólido de indústria de cerveja) obtido na terceira etapa de fabricação de cerveja (figura 5) foi deixado de molho por 12 horas (figura 6) depois foi disposto sobre peneira para drenagem do excesso de água e após, foi seco em estufa de circulação de ar à 65°C até atingir umidade adequada.



FIGURA 5 Resíduo de cerveja mergulhado em água

3.4.3. O bagaço de cana de açúcar foi seco em estufa de circulação de ar à 65°C, triturado e deixado de molho por 12 horas (figura 7) e depois, colocado sobre peneira para drenagem do excesso de água. Procedimento baseado em Quimio et al. 1990.



FIGURA 6. Cana mergulhada em água

3.4.3. A palha de arroz foi colocada de molho por 12 horas, colocada sobre peneira para drenagem do excesso de água (figura 8), seca em estufa de circulação à 65°C quando necessário e triturada (figura 9).



FIGURA 7. Palha de arroz sobre peneira para drenagem do excesso de água.



FIGURA 8. Trituração da palha

Foram testados os tratamentos descritos na tabela 4:

TABELA 4. COMPOSIÇÃO BÁSICA DO SUBSTRATO NOS TRATAMENTOS

TRATAMENTOS	COMPONENTES (%)						
	BM	BC	SER	PA	FT	GLI	CaSO4
1	66	34	—	—	20	1	1
2	66	—	34	—	20	1	1
3	66	—	—	34	20	1	1
4	66	34	—	—	20	1	1
5	66	—	34	—	20	1	1
6	66	—	—	34	20	1	1
CONTROLE							
<i>P. eryngii</i>		100			20	1	1
<i>L. sajor caju</i>			100		20	1	1
<i>L. edodes</i>				100	20	1	1

BM= Bagaço de mostura (resíduo úmido ou sólido de indústria de cerveja)
BC= Bagaço de cana **SER=** Serragem **PA=** Palha de arroz
FT= Farelo de trigo **GLI=** Glicose

Nos tratamentos 1,2, e 3 foram adicionados 0,5% de CaCO₃, 0,4% de ácido bórico, 0,2% de MnSO₄, 0,2% de cloreto de manganês, 0,1% de NH₄H₂PO₄, 0,1% de KH₂PO₄ e 0,1% de Nitrato de sódio. Esses três tratamentos tiveram suas fórmulas baseadas nos resultados das análises de teores de macro e micro nutrientes do resíduo de indústria de cerveja e dos suplementos e baseado nos trabalhos de Zadrazil 1998.

Os substratos controles foram acrescidos de 0,5% de CaCO₃.

Em todos os substrato foi adicionado água até atingir uma umidade de 70%.

Os substratos dos tratamentos 1, 2, 3 e os substratos controles de cada espécie foram acondicionados em sacos de polipropileno de 20X45

cm, sem preencher totalmente a capacidade dos sacos, com filtro de 4X4 cm. Os substratos dos tratamentos 4, 5, 6 com os substratos controles para cada espécie foram acondicionados em sacos de 12X 45cm com filtro de 3,5X3,5 cm contendo todos, em todos os tratamentos, 1,5kg de substrato. Foram realizadas quatro repetições para cada tratamento. Os sacos foram fechados com cordão, pesados e autoclavados por três horas à 121°C. Após foram resfriados à temperatura ambiente por no mínimo 12 horas.

3.5. INOCULAÇÃO DO "SPAWN" NO COMPOSTO

O "spawn" (200g/saco), como descrito no item 3.3 , foi inoculado), (em condições assépticas) em câmara desinfetada com UV (por no mínimo 20min.), nos sacos de polipropileno com composto (=substrato) previamente autoclavado.

Como já foi citado acima, realizou-se quatro repetições de cada espécie, para cada tratamento. Portanto, inoculou-se como resume a tabela.

TABELA 5. INOCULAÇÕES

TRATAMENTO	ESPÉCIE		
	<i>P. eryngii</i>	<i>L. sajor caju</i>	<i>L. edodes</i>
	Inoculações		
1	1	3	5
2	1	3	5
3	1	3	5
4	1	3	5
controle	1	4	6
5	2	4	6
6	2	4	6
7	2	4	6
controle	2	4	6

Depois de inoculados, os sacos foram fechados com cordão e colocados em estufa ou câmara à $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, em ausência de luz, para o crescimento do micélio (corrida do spawn).

Após completa colonização do substrato, os sacos de polipropileno foram colocados em geladeira a 5°C pelo menos durante 48hs para, induzir as frutificações, através de choque térmico.

3.6. CULTIVO (OBTENÇÃO DE FRUTIFICAÇÕES)

O composto depois de colonizado foi retirado dos sacos e colocado em câmara úmida (casa de cultivo) (figura 12) com umidade $\leq 85\%$. A umidade, nesta câmara de cultivo foi mantida através da utilização de toalhas molhadas junto as saídas de ar e recipientes com água dentro da câmara. A umidade relativa e a temperatura foram observadas através de termohigrômetro. Os ajustes da umidade relativa foram feitos através da adição ou remoção de água dentro da câmara. A temperatura foi controlada através de ventilação artificial por meio de tubulação com ar condicionado e a luminosidade foi propiciada por 1 lâmpada fluorescente. O controle da temperatura e da umidade foram relativos sujeitos às condições da câmara.

Para a frutificação de *Pleurotus eryngii* nos tratamentos 1, 2 e 3 foi utilizada a temperatura de 18°C e a umidade relativa ao redor de 85% à

89%. Nos tratamentos 4, 5 e 6 procurou-se manter as mesmas condições mas por problemas na câmara a temperatura variou entre 10°C e 15°C e a umidade manteve-se em 99%. Não foi utilizada ventilação forçada para retirada de CO₂. Para a frutificação de *L. sajor caju* a temperatura foi de 24°C à 26°C e a umidade manteve-se entre 85% e 89% em todos os tratamentos. Para *L. edodes* (Shiitake) a temperatura utilizada foi de 20°C± 1°C e a umidade relativa variou entre 85% a 89%.

Foram realizadas regas, quando necessário, com o objetivo de manter a umidade relativa no composto ao redor de 55-60%.

3.7. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DO CULTIVO

Foram avaliados:

1. Taxa de crescimento do micélio (corrida do "spawn") em relação ao número de dias consiste em verificar quantos dias são necessários para o micélio colonizar totalmente o substrato.

2. Aparecimento de primórdios em relação ao número de dias e,

3 Eficiência biológica (EB) através da fórmula descrita por Jain et al., (1987):

$$EB (\%) = \frac{\text{Peso fresco das frutificações colhidas}}{\text{Peso seco do substrato}} \times 100$$

TABELA 6. AMOSTRAS INCUBADAS NO RÚMEN DOS BOIS

TRATAMENTO	AMOSTRAS	
<i>Pl. eryngii</i>	Palha	Controle
<i>Pl. eryngii</i>	BM+ cana	T1
<i>Pl. eryngii</i>	BM+serragem	T2
<i>Pl. eryngii</i>	BM+ Palha	T3
<i>Pl. eryngii</i>	BM+cana	T4
<i>Pl. eryngii</i>	BM+serragem	T5
<i>Pl. eryngii</i>	BM +palha	T6
<i>L. s. caju</i>	cana	Controle
<i>L. s. caju</i>	BM+ can	T1
<i>L. s. caju</i>	BM+serragem	T2
<i>L. s. caju</i>	BM+ Palha	T3
<i>L. s. caju</i>	BM+ cana	T4
<i>L. s. caju</i>	BM + serragem	T5
<i>L. s. caju</i>	BM+Palha	T6
<i>L. edodes</i>	BM+ Serragem	T5
<i>L. edodes</i>	Serragem	Controle
BM		
Cana		
Serragem		
Palha		
BM+ cana		
BM+ Serragem		
BM+ Palha		

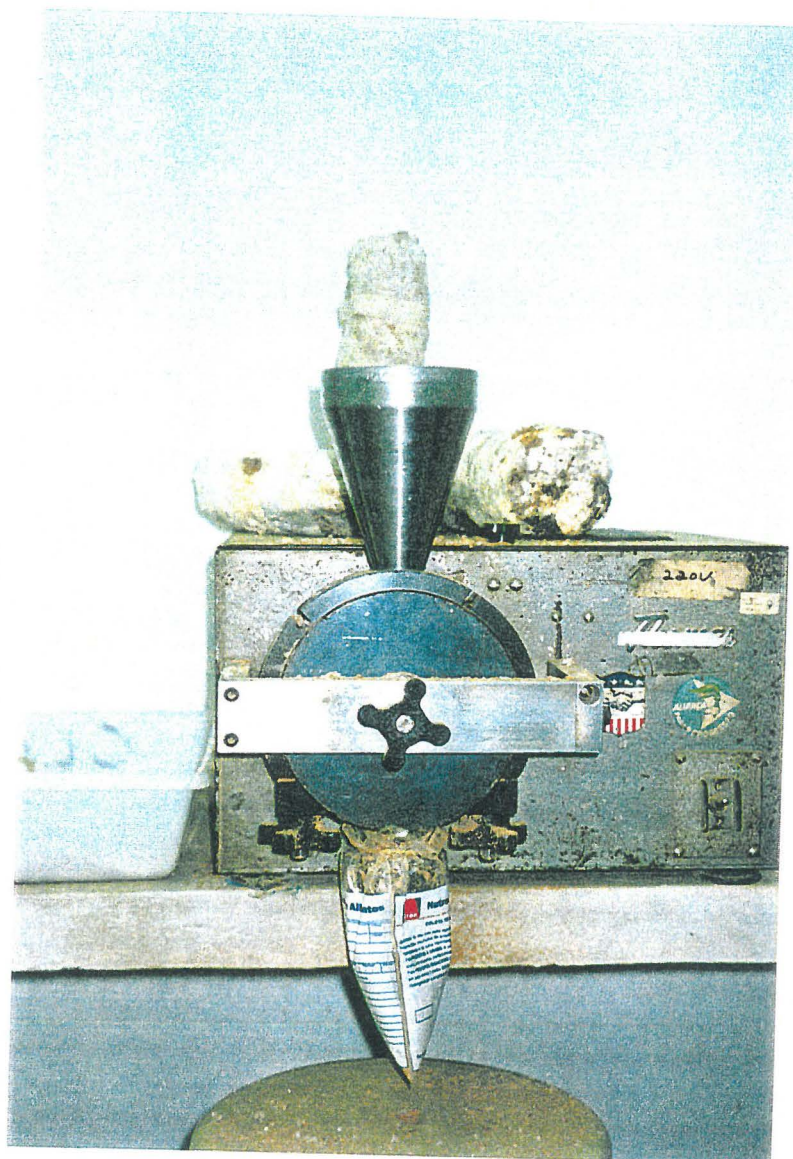


FIGURA 9. Moagem do substrato após cultivo



FIGURA 10. Bois fistulados

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

3.9.3. Análises estatísticas através do programa SPSS (Statistical Package for Social Science) para avaliação independente de cada grupo (Grupo 1, tratamentos 1,2,3 e controle, grupo 2, tratamentos 4, 5, 6 e controle). E para avaliação dos resultados de digestibilidade “in situ” da matéria seca.

3.2.9.1. Análise de variância, através do procedimento ANOVA para detectar quais os tratamentos que se diferenciavam em relação a variável resposta.

3.2.9.2. Teste de Levene para avaliação de igualdade entre as variâncias da variável resposta.

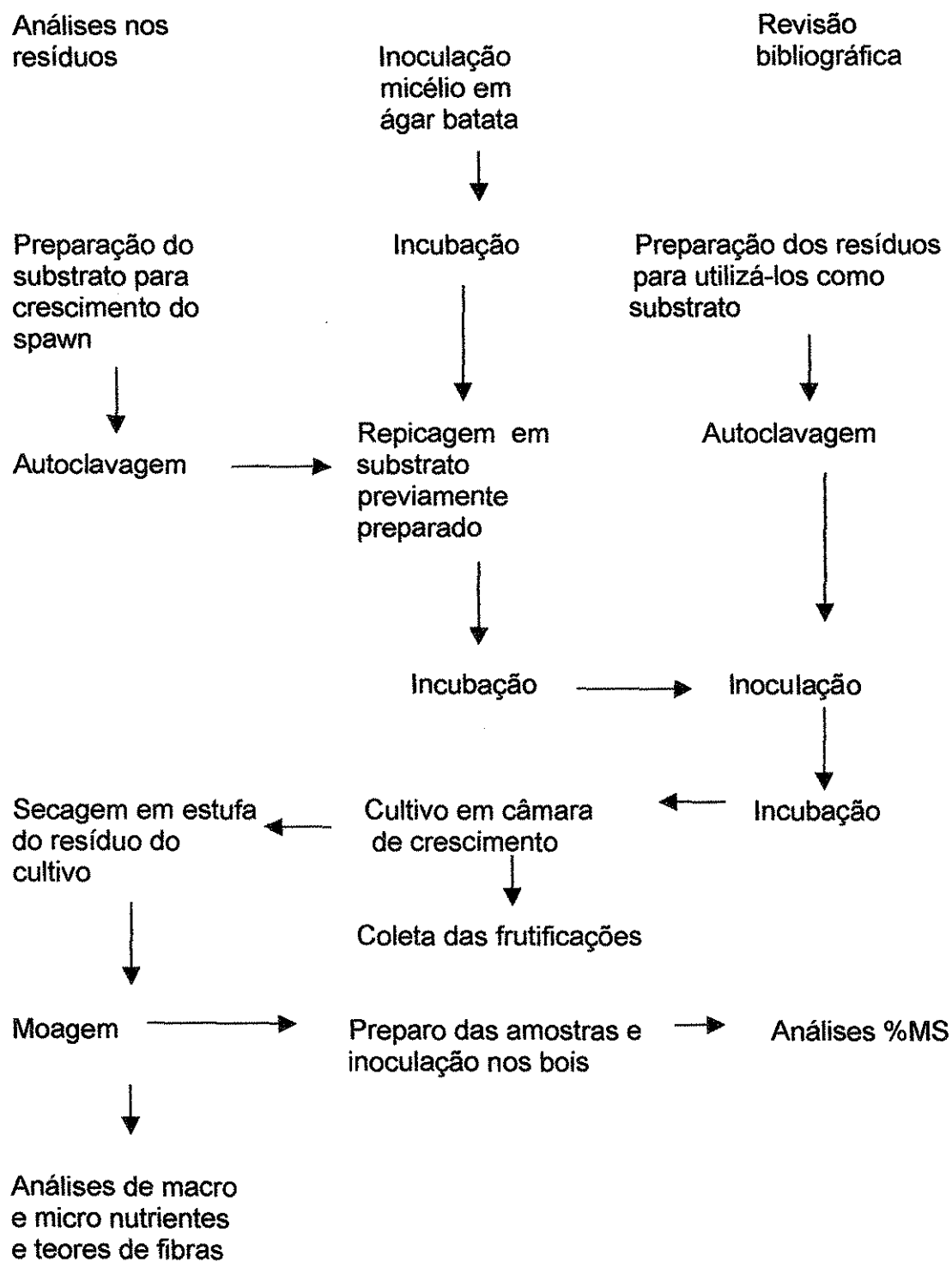
3.2.9.3. Teste de Tukey para comparação múltipla entre as médias dos tratamentos no caso de variâncias homogêneas. O mesmo teste foi utilizado para avaliação dos resultados de digestibilidade *in situ*.

3.2.9.4. Teste de Dunnett T3 para comparação múltipla entre as médias dos tratamentos que apresentaram heterogeneidade de variância.

O nível de significância utilizado foi de 5% em todos os testes.

As análises foram realizadas no Departamento de Estatística desta Universidade.

FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DO TRABALHO



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISES REALIZADAS NOS COMPONENTES BÁSICOS UTILIZADOS NOS TRATAMENTOS.

Em todos os tratamentos foi utilizada uma combinação básica de 66% de bagaço de mostura e 34% de suplemento (bagaço de cana, serragem de eucalipto ou palha de arroz). Os resultados das análises feitas nos substratos básicos utilizados nos tratamentos estão indicados nas tabelas 7 e 8.

TABELA 7. TEORES DE LIGNINA, CELULOSE E HEMICELULOSE PRESENTES NOS COMPONENTES BÁSICOS UTILIZADOS PARA FORMULAÇÃO DOS SUBSTRATOS (%)

* O valor a direita de cada média refere-se ao desvio padrão

AMOSTRA	MS	FDN		FDA		LIGNINA		CELULOSE		HEMI CELULOSE		
Bagaço de mostura*	90,77	0,0	86,64	1,12	34,79	1,0	8,24	0,06	26,56	1,07	52,06	0,12
Bagaço de cana	89,07	0,0	84,62	1,15	54,01	1,12	9,13	0,47	44,89	0,78	30,60	1,27
Serragem	70,23	0,0	95,11	0,0	82,96	0,0	22,82	0,0	60,14	0,0	12,15	0,0
Palha de arroz	88,56	0,0	72,15	0,58	53,25	0,45	6,47	0,1	46,78	0,36	18,90	1,12
BM+cana	88,15	0,0	72,24	0,99	40,20	0,05	12,90	0,26	27,30	0,31	32,04	1,04
BM+serragem	89,03	0,0	87,42	0,17	58,8	0,37	19,62	0,36	39,18	0,02	28,62	0,20
BM+palha	91,86	0,0	78,53	2,89	39,7	0,16	9,0	0,35	30,70	0,20	38,84	2,72

* Bagaço de mostura (resíduo sólido (ou úmido) de indústria de cerveja).

MS = Matéria seca FDN = Fibra em detergente neutro FDA = Fibra em detergente ácido

As médias indicadas na tabela 7 foram determinadas a partir de duas repetições de cada amostra. Aplicou-se o teste de Tukey de comparação múltipla para avaliação da diferença entre as médias das amostras para cada variável.

Para a variável matéria seca constatou-se que as médias de todas as amostras apresentaram diferença significativa entre si, num nível de significância de 5%.

Para a variável fibra detergente neutro (FDN) verificou-se que a média da amostras de palha de arroz e a média da amostra de bagaço de mostura suplementado com cana não apresentaram diferença significativa entre si, mas apresentaram diferença significativa em relação a todas as médias das outras amostras. A média da amostra bagaço de mostura suplementada com palha diferenciou-se significativamente de todas as médias das demais amostras.

As médias das amostras de bagaço de cana, bagaço de mostura e a média da mistura de bagaço de mostura e serragem não apresentaram diferença significativa entre si, mas diferenciaram-se significativamente das médias das demais amostras. A média obtida para a amostra de serragem diferenciou-se significativamente das médias obtidas para as médias das demais amostras. Para facilitar a visualização podemos agrupar as médias em função de significância entre suas diferenças. As médias que pertencem ao mesmo grupo não apresentaram diferença significativa entre si. Porém médias de grupos diferentes diferem-se significativamente, num nível de significância de 5%. Em ordem crescente em relação ao valor numérico,

distribuiu-se os grupos das médias das amostras para esta variável, utilizando-se letras para identificar os grupos.

P. de arroz (72,1)^a = Bagaço de mostura suplementado com cana (72,24)^a
< bagaço de mostura suplementado com palha de arroz (78,53)^b <
bagaço de mostura suplementado com cana (84,62)^c = bagaço de mostura
(86,85)^c = bagaço de mostura suplementado com serragem (87,42)^c <
serragem (95,11)^d.

O teste de Tukey aplicado para a variável fibra em detergente ácido (FDA) demonstrou que a média da amostra de bagaço de mostura diferenciou-se significativamente das médias das outras amostras. As médias das amostras de bagaço de mostura suplementado com palha e, bagaço de mostura suplementado com cana de açúcar, não se diferenciaram significativamente entre si, mas se diferenciaram significativamente em relação as médias das outras amostras. As médias das amostras de palha de arroz e de cana de açúcar não apresentaram diferença significativa entre si, mas diferenciaram-se significativamente das médias das demais amostras. A média da amostra de bagaço de mostura suplementado com serragem se diferenciou significativamente das médias das outras amostras. A média da amostra de serragem também se diferenciou significativamente das médias das outras amostras. O teste foi aplicado para um nível de significância de 5%. Para facilitar a visualização distribuiu-se as médias em grupos. As que pertencem ao mesmo grupo não apresentaram diferença significativa entre si e as médias que se encontram

em grupos distintos se diferenciaram significativamente. Em ordem crescente ao valor numérico das médias os grupos obtidos foram:

Bagaço de mostura (34,79)^a <

bagaço de mostura suplementado com palha (39,7)^b = bagaço de mostura suplementado com cana (40,20)^b <

palha de arroz (53,25)^c = bagaço de cana (54,02)^c,

bagaço de mostura suplementado com serragem (58,8)^d <

e serragem (82,96)^e.

O mesmo procedimento foi realizado para avaliação das diferenças significativas entre as médias das amostras estudadas para a variável % média de lignina. Constatou-se que a média da amostra de palha de arroz se diferenciou significativamente das médias das outras amostras quando avaliadas em relação a esta variável. As médias das amostras de bagaço de mostura, bagaço de mostura suplementado com palha de arroz e, a média da amostra de cana de açúcar não apresentaram diferença significativa entre si, mas se diferenciaram significativamente em relação a média das outras amostras. A média da amostra de bagaço de mostura suplementado com cana de açúcar se diferenciou significativamente em relação as médias das outras amostras. A média da amostra de bagaço de mostura suplementado com serragem se diferenciou significativamente das médias das outras amostras. Assim como, a média da amostra de serragem que se diferenciou significativamente em relação as médias das demais amostras quando avaliadas para a variável porcentagem média de lignina. Utilizando-

se letras para identificar os diferentes grupos distribuiu-se em ordem crescente em relação ao valor numérico, as médias das amostras. Amostras do mesmo grupo não diferenciaram-se significativamente entre si e amostras de grupos distintos apresentaram diferença significativa num nível de 5%.

Palha de arroz (6,47)^a <

bagaço de mostura (8,24)^b = bagaço de mostura suplementado com palha

(9,0)^b = bagaço de cana (9,13)^b <

bagaço de mostura suplementado com cana (12,90)^c <

bagaço de mostura suplementado com serragem (19,62)^d <

serragem (22,82)^e

Para a variável porcentagem de celulose constatou-se, aplicando-se o teste de Tukey num nível de 5%, que as médias das amostras de bagaço de mostura e bagaço de mostura suplementado com cana não diferiram significativamente entre si, mas apresentaram diferença significativa em relação as médias das outras amostras. A média da amostra de bagaço de mostura suplementado com palha diferenciou-se significativamente em relação as médias de todas as outras amostras. A média da amostra de bagaço de mostura suplementado com serragem diferenciou-se significativamente das médias das outras amostras. As médias das amostras de bagaço de cana e de palha de arroz não apresentaram diferença significativa entre si, mas se diferenciaram significativamente em relação às médias das outras amostras. A média da amostra de serragem apresentou diferença significativa em relação às médias das amostras avaliadas.

Em ordem crescente em relação ao valor numérico das médias pode-se visualizar os diferentes grupos:

Bagaço de mostura(26,56)^a = bagaço de cana (27,30)^a <
 bagaço de mostura suplementado com palha (30,70)^b <
 bagaço de mostura suplementado com serragem (39,18)^c <
 bagaço de cana de açúcar (44,89)^d = palha de arroz (46,78)^d <
 serragem (60,14)^e.

Para avaliação das diferenças entre as médias das amostras estudadas para a variável hemicelulose aplicou-se também o teste de Tukey num nível de 5% e verificou-se que as médias das amostras de bagaço de mostura suplementado com serragem, bagaço de cana e bagaço de mostura suplementado com cana, não apresentaram diferença significativa entre si, mas se diferenciaram significativamente das médias das demais amostras. Todas as outras médias das amostras diferiram significativamente umas das outras como pode ser visualizado a seguir.

Ordenação em grupos por ordem crescente do valor numérico das médias. Médias que apresentam a mesma letra não apresentaram diferença significativa entre si num nível de significância de 5%.

Serragem(12,15)^a <
 palha de arroz (18,90)^b <
 bagaço de mostura suplementado com serragem (28,62)^c = bagaço de cana (30,60)^c = bagaço de mostura suplementado com cana (32,04)^c <

bagaço de mostura suplementado com palha (38,83) ^d <

bagaço de mostura (52,05) ^e

Avaliando-se os teores de lignina , celulose e hemicelulose das amostras de bagaço de mostura suplementado com cana, bagaço de mostura suplementado com serragem e bagaço de mostura suplementado com palha observa-se que a mostra de bagaço de mostura suplementado com palha apresentou, teor de hemicelulose quatro vezes maior que o teor de lignina e o teor de celulose três vezes maior que o teor de lignina. A amostra bagaço de mostura suplementado com cana apresentou teores de celulose e hemicelulose duas vezes maiores que o teor de lignina. A amostra de bagaço de mostura suplementado com serragem foi a que apresentou a menor razão entre os teores de celulose e lignina e hemicelulose e lignina (1,96 e 1,5 respectivamente).

TABELA 8. TEORES DE MACRO E MICRO NUTRIENTES NOS COMPONENTES BÁSICOS UTILIZADOS NOS TRATAMENTOS

DETERMINAÇÕES	AMOSTRAS					
	BM+ cana		BM+serragem		BM+ palha	
		DP*		DP*		DP*
Carbono Orgânico %	46	1	48	0	nd	0,08
Nitrogênio (TKN) %	2,5	0,04	2,3	0,06	2,9	0,01
Fósforo total %	0,39	0,01	0,23	0,02	0,29	0,05
Potássio total %	0,24	0,02	< 0,02	0	0,40	0,03
Cálcio %	0,06	0	0,11	0,03	0,12	0,04
Magnésio %	0,12	0	0,05	0,02	0,08	0,04
Enxofre total %	0,10	0,02	0,10	0,02	0,15	1
Cobre total mg/kg	29	3,05	26	3,21	17	1,53
Zinco total mg/kg	112	4,51	54	5,86	73	8,49
Ferro total mg/kg	178	33,08	207	19,52	151	4,04
Manganês total mg/kg	48	1,73	48	3,51	138	24,54
Sódio total mg/kg	178	17,03	195	17,32	955	0,42
Boro total mg/kg	3,3	0,14	2	nd	4,1	0
NH ₄ ⁺ mg/kg	nd	nd	nd	nd	283	0
NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻ mg/kg	nd	nd	nd	nd	1	0

nd = não determinado

*DP= Desvio padrão

Os tratamentos 1, 2 e 3 foram aditivados com os sais descritos no material e métodos, portanto, levando a um incremento dos teores de N, Mn, Boro, Fósforo e Potássio.

4.2 AVALIAÇÃO DO CULTIVO

O micélio de *Pleurotus eryngii* colonizou o substrato em aproximadamente, 50 dias, nos tratamentos 1, 2 e 3. Nesses constatou-se o desenvolvimento do micélio mas não ocorreu formação de primórdios e

consequentemente formação de corpos frutíferos, salvo numa repetição do tratamento 1 que foi colhido 25,8g de cogumelos representando uma eficiência biológica de 5,7%, considerada insignificante. Os tratamentos 1, 2, e 3 não diferiram entre si quanto à taxa de crescimento do micélio mas diferiram em relação a taxa de crescimento do micélio no substrato controle (palha de arroz) (figura 13). As quatro repetições do controle formaram primórdios em aproximadamente 43 dias após a inoculação e corpos frutíferos em aproximadamente 45 dias após a inoculação. Colheu-se, em média, 160 g por repetição. O que resulta em uma eficiência biológica de 35% para o substrato controle. Meyiyng (1998) relata a obtenção de 60% de eficiência biológica para esta espécie, em temperaturas entre 10 e 18°C mas não faz menção a respeito do substrato. Estes tratamentos foram cultivados à $17 \pm$

1 °C. Royse et al. (1982), referindo-se a *Agaricus bisporus* comentam que o cultivo, desta espécie, tem sido suplementado com fontes de proteínas ou materiais ricos em lipídios, com o objetivo de aumentar a produção, mas que estes suplementos aumentam a temperatura do composto e podem danificar o micélio prejudicando a produção, os autores comentam ainda que não só a proporção de adição de suplementos é decisiva, no que se refere a este objetivo, mas também a forma como são adicionados ao composto. O ideal é a utilização de cápsulas que liberem os nutrientes no decorrer do desenvolvimento do micélio.

Nos tratamentos 4, 5, 6 o micélio levou 40 dias para colonizar totalmente o substrato, o aparecimento de primórdios ocorreu 2 a 3 dias

depois da remoção dos sacos de polipropileno (no 42° e 43° dia, após a inoculação do "spawn"), de forma abundante e, a formação de frutificações, ocorreu nove a dez dias após o aparecimento dos primórdios, de forma escassa em relação a quantidade de primórdios. As frutificações apresentaram estípite alongada e píleo reduzido (figura 16). Três repetições do tratamento 5 e três repetições do tratamento 6 contaminaram-se com *Penicilium sp.* Nos controles, tanto para os tratamentos 1, 2 e 3, como para os tratamentos 4, 5 e 6 o micélio colonizou o substrato em 40 dias. Os tratamentos 4, 5 e 6 desenvolveram-se em condições climáticas inadequadas por problemas ocorridos na câmara. A baixa temperatura e o elevado teor de umidade relativa levaram, provavelmente, ao excesso de CO₂ na câmara. As frutificações apresentaram características indicadoras de excesso de CO₂ como relata Zadrazil, (1978). O grande número de primórdios formados, leva-se a supor que em, condições ótimas, esta formulação de substrato, sustente o desenvolvimento de frutificações.

O micélio de *Lentinus sajor caju* nos tratamentos 1, 2 e 3 colonizou, completamente, o substrato em 35 dias, o micélio no controle para estes tratamentos colonizou completamente o substrato em 30 dias. Os primórdios apareceram 4 a 5 dias após a remoção dos sacos de polipropileno (39° a 40° dias após a inoculação do "spawn") e as frutificações dois a três dias após o aparecimento dos primórdios três repetições do tratamento 1 e uma repetição do tratamento 2 apresentaram contaminação com *Penicillium sp.*

As frutificações foram colhidas num intervalo de 10 dias e apresentaram tamanho homogêneo na sua maioria. O tamanho decresceu

nas últimas colheitas. Na tabela 9 apresenta-se a relação do total colhido em gramas em cada repetição, por tratamento, e as respectivas eficiências biológicas.

TABELA 9: TOTAL COLHIDO E EFICIÊNCIA BIOLÓGICA- *Lentinus sajor caju*
Tratamento 1, 2, 3

TRATAMENTO/REPETIÇÃO	TOTAL COLHIDO (g)	EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (%)
1.1	153,4	34
1.2*	13	2,8
1.3*	16,4	3,6
1.4*	15	3,3
2.1	111	24,6
2.2	150,9	33,5
2.3	134	29,7
2.4*	-	-
3.1	357,7	79,1
3.2	291	64,6
3.3	396,7	88,1
3.4	237,6	52,8
Controle 1	288,3	64
Controle 2	275,3	61
Controle 3	294,7	65
Controle 4	298	66

*substrato contaminado com *Penicillium*

Em função da contaminação com *Penicillium sp* não se pode avaliar os tratamentos T1 e T2. Apenas verificou-se que o basidiomiceto colonizou mais lentamente o substrato que o *Penicillium sp* o que desfavoreceu a colonização do basidiomiceto. Gonzáles et al., (1997) reportam que o tratamento composto com 75% de resíduo de cerveja apresentou contaminações.

Verificou-se, no tratamento 3, uma heterogeneidade de rendimento entre as repetições e se questiona a homogeneidade do substrato. Royse et al. (1982) comentam, referindo-se ao cultivo de *Agaricus bisporus*, que a adição de suplementos de forma mecanizada (ao misturar os componentes)

favorece a homogeneidade do composto. O tamanho das partículas também influi na homogeneidade do composto.

O substrato controle apresentou uma eficiência biológica de 64% (figura 14).

Nos tratamentos 4, 5, 6 e no controle, o micélio de *Lentinus sajor caju* colonizou o substrato completamente em 30 dias. O aparecimento de primórdios ocorreu, aproximadamente, três dias após a remoção dos sacos de polipropileno e a formação de corpos frutíferos, aproximadamente, dois dias após o aparecimento dos primórdios (33^o dia e 35^o dia após inoculação respectivamente).

As frutificações nestes tratamentos apresentaram-se bem desenvolvidas, homogêneas na sua maioria, sendo que as colhidas nos primeiros dias apresentaram-se maiores. A colheita efetuou-se durante dezesseis dias. Esta espécie apresentou eficiência biológica maior no tratamento suplementado com palha e menor no tratamento suplementado com serragem, como demonstra a tabela 10, referente ao total de frutificações colhidas (em gramas) e as respectivas eficiências biológicas nos diferentes tratamentos.

TABELA 10. TOTAL COLHIDO E EFICIÊNCIA BIOLÓGICA- *Lentinus sajor caju*
TRATAMENTOS 4, 5, 6

TRATAMENTO/REPETIÇÃO	TOTAL COLHIDO (g)	EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (%)
4.1	328,1	72,9
4.2	375,2	83,3
4.3	359,5	79,8
4.4	362,5	80,5
5.1	263,4	58,5
5.2	257,8	57,2
5.3	239,1	53,1
5.4	258,8	57,5
6.1	388,4	86,3
6.2	424,7	94,3
6.3	415,6	92,3
6.4	425,7	94,6
Controle 1	282,3	62
Controle 2	284	63
Controle 3	287	63,7
Controle 4	274	60,8

Nas tabelas 11 e 12 relata-se as médias estimadas das eficiências biológicas e a variabilidade entre estas.

TABELA 11. *Lentinus sajor caju*- MÉDIAS ESTIMADAS DAS EFICIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRATAMENTO	MÉDIA	D. PADRÃO
BM+Cana (T4)	79,13	4,42
BM+Serragem (T5)	56,58	2,38
BM+Palha (T6)	91,88	3,85
Controle	62,38	1,26

Verificou-se através de um teste de Tukey que as médias de eficiências biológicas constatadas, nos tratamentos T4 (BM+Cana) (figura 17) e T6 (BM+ Palha), se diferenciaram significativamente da média de eficiência biológica constatada no controle, para um nível de significância de 5%. Verificou-se ainda, que as médias de eficiência biológica, para estes

dois tratamentos, diferenciaram-se entre si.. O tratamento T6 apresentou eficiência biológica superior à constatada no tratamento T4 e, à constatada no controle. O tratamento T4 apresentou eficiência biológica superior à constatada no controle. A média de eficiência biológica constatada para o tratamento T5 (BM+Serragem) não se diferenciou significativamente, da média de eficiência biológica constatada para o controle. A média de eficiência biológica constatada para o tratamento T5 se diferenciou significativamente das médias constatadas para os tratamentos T6 e T4, sendo inferior às duas. Portanto constatou-se em relação as médias de eficiência biológica para os diferentes tratamentos que; $T6 > T4 > T5 =$ Controle. Verificando-se as análises realizadas nos substratos básicos, observa-se que o tratamento T6 representado pelo substrato bagaço de mostura suplementado com palha de arroz apresentou teores mais elevados de hemicelulose, celulose e teor inferior de lignina. Observa-se também que esta composição de substrato, possivelmente, propiciou um aumento na porcentagem de nitrogênio quando comparado ao substrato das outras amostras. Buswell et al. (1995), comentam que observaram para a espécie *L. edodes* que alta concentração de N induz a produção de lacase que por sua vez está associada a degradação da lignina. Hudson (1986), comentando a respeito da conformação das moléculas de lignina e celulose, descreve que a molécula de lignina apresenta-se ao redor da molécula de celulose de forma a protegê-la. Supõem-se que uma atividade maior de lacase, nesta espécie, indiretamente levaria a uma maior disposição da molécula de celulose. Observa-se também que o controle apresentou teores

elevados de celulose, hemicelulose e baixo teor de lignina quando comparado com o substrato dos outros tratamentos mas apresentou também teor de nitrogênio inferior em relação as demais amostras. A mistura com bagaço de mostura propicia um aumento do teor de nitrogênio. O que por sua vez favorece a degradação da lignina. Thomas et al (1998) relatam a relação entre o conteúdo de celulose e a formação de frutificações em *Lentinus sajor caju*. Quanto maior o teor de celulose disponível, maior produção de frutificações.

O micélio de *Lentinula edodes*, desenvolveu-se de forma lenta em todos os tratamentos, com exceção de duas repetições do controle (para o tratamentos 1, 2, 3 e uma repetição para os tratamentos 4, 5, 6) e uma repetição do tratamento T2 todas as demais repetições, dos demais tratamentos, contaminaram-se com *Neurospora sp*, *Penicillium sp* e dois outros fungos imperfeitos não determinados. O micélio colonizou os substratos, nos quais, não foi evidenciada contaminação, em aproximadamente, 55 a 60 dias. As repetições dos controles apresentaram primórdios insignificativos, aproximadamente, 7 dias após a remoção dos sacos de polipropileno. A formação de frutificações foi insignificativa (1 a 3 frutificações) (figura 18). Para os tratamentos 1, 2, 3 considera-se o excesso de sais principalmente nitrogênio como responsável. Altas concentrações de nitrogênio levam a uma elevação na temperatura do composto, o que como já foi mencionado acima, acarreta em danificação do micélio do basidiomiceto. Altas concentrações de nitrogênio também favorecem o desenvolvimento de fungos imperfeitos com ótimos de temperatura mais

altos e taxa de crescimento maior que os basidiomicetos. Como já foi citado acima Royse et al (1982) comentam sobre a vantagem de utilizar cápsulas que liberem o nitrogênio aos poucos no composto.

4.3 AVALIAÇÃO DO SUBSTRATO APÓS CULTIVO

A avaliação do substrato após cultivo teve como objetivo estudar um possível destino ao resíduo gerado pela produção de cogumelos. Em função disso, avaliou-se teores de celulose, hemicelulose e lignina. E também, a digestibilidade *in situ*, principalmente, porque quase todos os componentes utilizados na confecção dos substratos normalmente são utilizados na alimentação (ou mesmo complementação da alimentação) animal. Tem sido bastante reportado pela bibliografia Pauli (1996; 1998), Chang (1997; 1998a; 1998b), Fermor (1993), Zadrazil (1998) a potencialidade dos fungos de degradação branca na utilização de pré tratamentos de resíduos lignocelulósicos com o objetivo de otimizar o uso destes, seja na alimentação animal ou mesmo no aproveitamento como adubo para o solo. Não se tem propriamente, no escopo desta pesquisa, o objetivo de utilizar as espécies estudadas como "Single Cell Protein" (biomassa seca de microrganismos) por se concordar com Miles et al. (1988) no que diz respeito ao valor nutritivo das frutificações dos cogumelos para aproveitamento na alimentação humana. Ao mesmo tempo, considera-se que em função da abundância com que estes resíduos são produzidos

uma atividade não influenciará negativamente à outra. Mas busca-se com esta avaliação parâmetros que permitam operacionalizar a metodologia proposta por Pauli (1996).

TABELA: 12. ANÁLISE EM DIGESTÃO ÁCIDA E NEUTRA , DO SUBSTRATO APÓS CULTIVO.(%)

ESPÉCIE	TRATAMEN TO	MS	FDN	FDA	MÉDIA % LIGNINA	CELULOSE	HEMI CELULOSE
<i>Pl. eryngii</i>	Controle	94,25	48,69	46,33	nd	nd	2,36
<i>Pl. eryngii</i>	1	95,48	49,62	45,73	nd	nd	3,89
<i>Pl. eryngii</i>	2	95,05	59,89	49,26	nd	nd	10,63
<i>Pl. eryngii</i>	3	94,31	44,55	28,31	nd	nd	17,24
<i>Pl. eryngii</i>	4	96,28	67,74	48,47	14,30	34,17	19,27
<i>Pl. eryngii</i>	5	94,25	74,64	57,54	21,58	35,96	17,1
<i>Pl. eryngii</i>	6	93,96	54,26	38,18	9,78	28,4	16,08
<i>L. sajour caju</i>	Cont	94,62	60,10	46,13	nd	nd	13,97
<i>L. sajour caju</i>	1	94,82	62,72	49,70	Nd	nd	13,02
<i>L. sajour caju</i>	2	92,91	61,30	50,57	Nd	nd	10,73
<i>L. sajour caju</i>	3	94,12	62,66	34,61	Nd	nd	36,24
<i>L. sajour caju</i>	4	92,77	59,19	44,36	16,28	28,08	14,83
<i>L. sajour caju</i>	5	95,57	77,80	66,66	26,42	40,24	11,14
<i>L. sajour caju</i>	6	88,86	51,07	55,86	19,06	36,8	-
<i>L. edodes</i>	Controle	93,24	64,64	46,85	nd	nd	17,85
<i>L. edodes</i>	5	93,73	59,67	51,70	21,14	30,56	7,97

4.4 AVALIAÇÃO DO TESTE DE DIGESTIBILIDADE *IN SITU*

TABELA 13. MÉDIAS ESTIMADAS PARA % DE DIGESTIBILIDADE DA
MATÉRIA SECA

AMOSTRA	ESPÉCIE	TRAT	MÉDIA	D. PADRÃO
1		BM	48,770	14,59
2		CANA	35,858	1,06
3		SERRAGEM	2,4695	0,0008
4		PALHA	33,860	7,77
5		BM+CANA	49,490	5,51
6		BM+SERRAG	28,772	3,60
7	-	BM+PALHA	44,755	10,95
8	<i>Pl. eryngii</i>	PALHA	62,968	1,84
9	<i>Pl. eryngii</i>	BM+C T1	38,772	2,95
10	<i>Pl. eryngii</i>	BM+S T2	32442	3,29
11	<i>Pl. eryngii</i>	BM+P T3	59,177	4,17
12	<i>Pl. eryngii</i>	BM+C T4	46,139	2,12
13	<i>Pl. eryngii</i>	BM+S T5	39,242	1,84
14	<i>Pl. eyngii</i>	BM+P T6	60,565	6,69
15	<i>L. sajur caju</i>	CANA	36,692	3,25
16	<i>L. sajur caju</i>	BM+ C T1	28,004	1,81
17	<i>L. sajur caju</i>	BM+S T2	17,596	0,86
18	<i>L. sajur caju</i>	BM+P T3	47,589	2,72
19	<i>L. sajur caju</i>	BM+C T4	37,430	3,80
20	<i>L. sajur caju</i>	BM+S T5	27,611	1,61
21	<i>L. sajur caju</i>	BM+P T6	49,832	2,28
22	<i>L. edodes</i>	SERRAGEM	28,894	1,01
23	<i>L. edodes</i>	BM+S T5	32,673	2,37

TABELA 14. ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE MÉDIA ENTRE AS MÉDIAS DE % DIGESTIBILIDADE DE MATÉRIA SECA

N		GRUPOS										
TRATAT		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
3	3	2,4695										
17	3	17,5959										
20			27,6105	27,6105								
16	3		28,0042	28,0042								
6	3		28,7719	28,7719								
22	3		28,8944	28,8944								
10	3		32,4417	32,4417	32,4417							
23	3			32,6732	32,6732	32,6732						
14				33,4273	33,4273	33,4273						
4	3			33,8604	33,8604	33,8604	33,8604					
20				34,4996	34,4996	34,4996	34,4996	34,4996				
2	3			35,8582	35,8582	35,8582	35,8582	35,8582	35,8582			
15	3			36,6922	36,6922	36,6922	36,6922	36,6922	36,6922			
19	3			37,4298	37,4298	37,4298	37,4298	37,4298	37,4298			
9	3			38,7720	38,7720	38,7720	38,7720	38,7720	38,7720			
13				39,2428	39,2428	39,2498	39,2498	39,2498	39,2498	39,2498		
7	3					44,7550	44,7550	44,7550	44,7550	44,7550		
12	3					46,1387	46,1387	46,1387	46,1387	46,1387	46,1387	
18	3						47,5886	47,5886	47,5886	47,5886	47,5886	47,5886
1							4876,99	48,7699	48,7699	48,7699	48,7699	48,7699
5	3							49,49,01	49,4901	49,4901	49,4901	49,4901
21	3								49,8323	49,8323	49,8323	49,8323
11	3									59,1769	59,1769	59,1769
14	3										60,5655	60,5655
8	3											62,9682

As médias que não possuem diferença significativa entre si ($\alpha=0,05$) foram distribuídas no mesmo grupo. .

Média harmônica da amostra = 3,000.

A tabela 14 indica os resultados verificados através de um teste de Tukey, num nível de significância de 5%, das diferenças entre as médias de porcentagem de digestibilidade da matéria seca medidas através do teste de digestibilidade *in situ* (o desvio padrão das mesma encontra-se na tabela 13). As médias foram ordenadas em ordem crescente, em relação ao valor numérico das mesmas e foram distribuídas em 11 grupos.

As médias que não apresentaram diferença significativa entre si encontram-se no mesmo grupo e as médias que apresentaram diferença significativa entre si encontram-se em grupos distintos. Portanto, observou-se que a média da amostra de serragem diferenciou-se significativamente de todas as médias das outras amostras apresentando o menor teor de digestibilidade de matéria seca. Como se pode observar nesta tabela, algumas médias pertencem a mais de um grupo. Isto indica que a média não diferiu significativamente das médias das amostras. Por exemplo, a média da amostra de bagaço de mostura suplementado com serragem, onde foi cultivada a espécie *L. edodes*, não diferiu significativamente em relação as médias das amostras que se encontram no grupo c, d e e mas se diferenciou significativamente das médias das amostras que se encontram nos grupos a, b, f, g, h, i, j e k.

É interessante observar que a média da amostra de palha de arroz encontra-se no grupo g, apresentando uma média de % de digestibilidade da matéria seca de 33, 86% e a média da amostra de palha após cultivo de *P. eryngii* encontra-se no grupo k, com uma média de digestibilidade da matéria seca de 62, 96%. Considerando-se o desvio padrão da média da amostra de

de palha (7,77) e o desvio padrão da média da amostra de palha aós cultivo de *P. eryngii*, constata-se que essa diferença não é aleatória. Este resultado corrobora com os dados reportados na bibliografia. Zadrazil (1985), relata a obtenção de um incremento do percentual de digestibilidade (in vitro) de palha de trigo da ordem de 23-32% tanto obtido com *P. eryngii* como com *L. sajour caju*. Na tabela 14 observa-se também, que a média da amostra de bagaço de mostura suplementado com palha de arroz encontra-se no grupo j ,com uma média de digestibilidade da matéria seca igual a 47, 59% e, a média da mostra de bagaço de mostura suplementado com palha, após cultivo de *L. sajour caju*, foi de 49,83% e encontra-se no grupo k. O que demonstra que as médias das amostras se diferenciaram significativamente entre si e constata-se que *L. sajour caju* incrementou a porcentagem da média de digestibilidade da matéria seca. Este dado também corrobora com os dados relatados por Zadrazil citados anteriormente. Observa-se ainda, que a espécie *P. eryngii* incrementou a porcentagem média de digestibilidade da matéria seca, para as amostras de bagaço de mostura suplementadas com palha de arroz.

Estas, após o cultivo de *P. eryngii* não apresentaram diferença significativa entre si. Pode ser verificado na tabela 14, que os tratamentos T3 e T6 quando cultivados com *P. eryngii* não apresentaram diferença significativa entre si e situaram-se no grupo k, constituído pelas médias mais elevadas de porcentagem de digestibilidade de matéria seca. A média da amostra de bagaço de mostura suplementado com palha que não foi cultivada por *P. eryngii* situou-se no grupo h com uma média 44,75%.

Tem sido reportado pela bibliografia (Zadrazil, (1985), Kerem et al. (1992), Barrasa et al. (1998.), a habilidade que *Pleurotus eryngii* possui de degradar seletivamente a lignina atacando de forma limitada a celulose. A partir do experimento realizado não se poderia estabelecer uma diferença significativa na atuação de *P. eryngii* e *L. s. caju* sobre as amostras de bagaço de mostura suplementados com palha uma vez que estas não apresentaram diferença significativa entre si, Os tratamentos T6 tanto para *L. sajor caju* como para *P. eryngii* situaram-se no mesmo grupo k.

Avaliando-se as médias das amostras de porcentagem de digestibilidade de matéria seca para a amostra de resíduo de cerveja (bagaço de mostuara) (48,76%), e a média da amostra de palha de arroz observa-se uma diferença significativa entre estas. A amostra de bagaço de mostura (resíduo úmido de cerveja) apresentou-se superior em relação a porcentagem de digestibilidade. Este dado é relevante na medida em que se constata que o resíduo de cerveja tem um aproveitamento, relativo, maior do que o insinuado por Gunter, (1996 e 1998), citado na bibliografia, e que a seleção das espécies para incrementar o percentual de digestibilidade da matéria seca deste, é um fator importante no caso de se ter como objetivo um aproveitamento total do resíduo. Isto é, como substrato para o cultivo de cogumelos e o reaproveitamento do resíduo do cultivo na alimentação animal. Pois só assim, representaria uma real agregação de valor ao resíduo de cerveja pelo menos no que diz respeito ao Estado do Rio Grande do Sul, onde o bagaço de mostura, na sua maioria, tem um destino definido. Por outro lado, como já foi comentado acima, em função da abundância com que

é produzido mesmo o fato de ser utilizado na alimentação para o gado não impossibilita seu uso na alimentação animal considerando-se que apresentou-se como um interessante constituinte do substrato para cultivo principalmente, para a espécie *L. sajor caju*.



FIGURA 11. Composto colonizado por *L. S. Caju* logo após a retirada do saco de polipropileno



FIGURA 12. Frutificação de *Peurotus eryngii*- controle para os tratamentos 1, 2 e 3



FIGURA 13. *L. sajor caju* controle tratamento 1,2 e 3

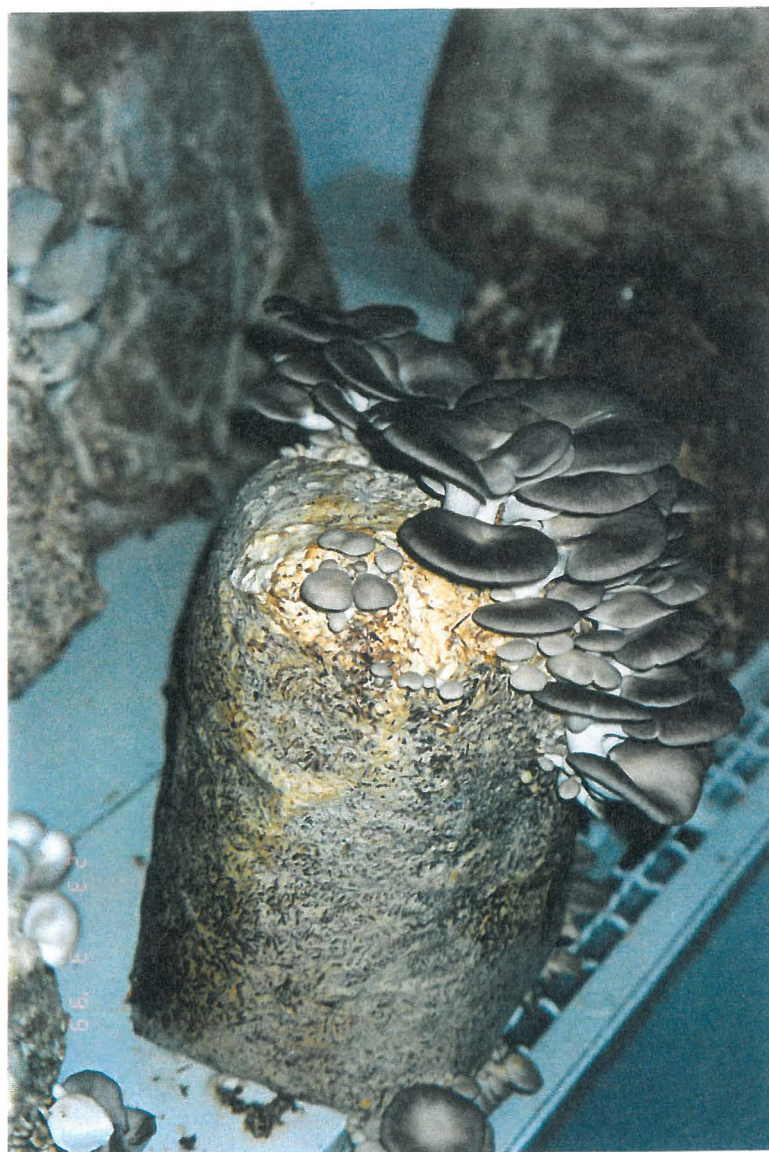


FIGURA 14. *Lentinus sajor caju*

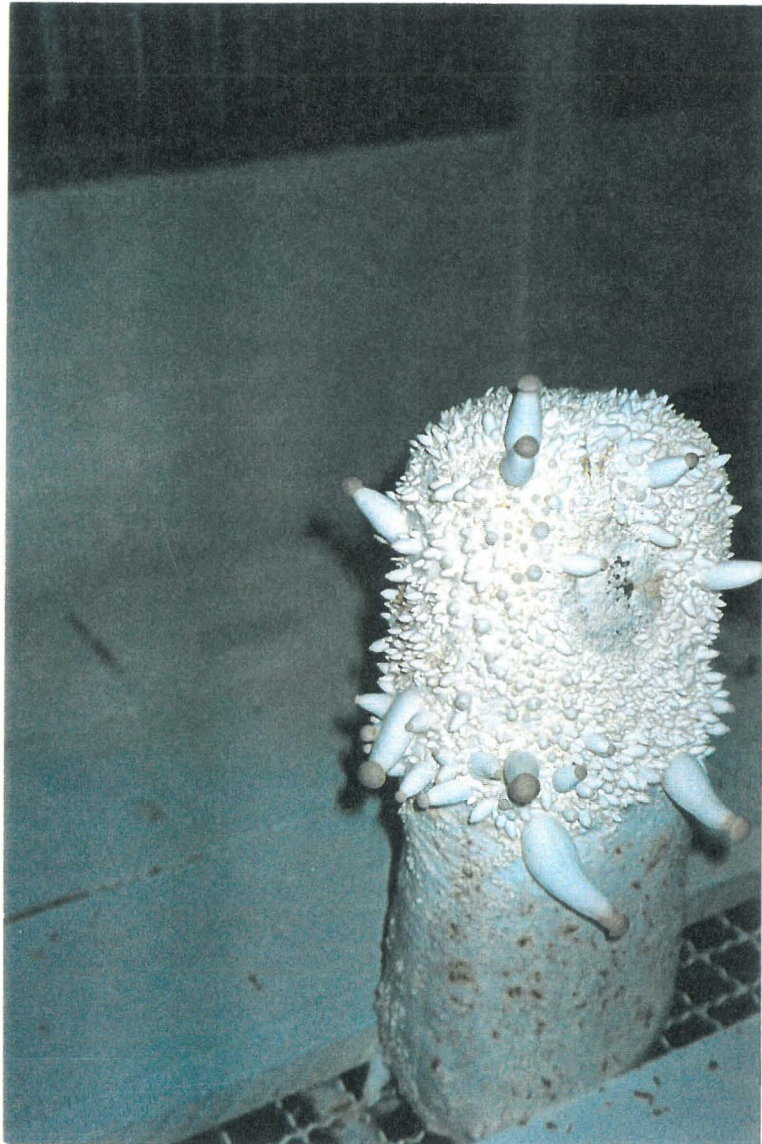


FIGURA 15. *Pleurotus eryngii* cultivado em condições ambientais inadequadas



FIGURA 16. *Lentinus sajor caju* tratamiento 4



FIGURA 17. *Lentinula edodes*

5 CONCLUSÕES

1- O substrato constituído de resíduo de cerveja + palha de arroz nas proporções estudadas, apresentou-se adequado para a produção de *Lentinus sajor caju*. Obteve-se, em média, no experimento , eficiência biológica de 92%.

2- O substrato constituído de resíduo de cerveja + bagaço de cana nas proporções estudadas, apresentou-se, também, adequado para a produção de *Lentinus sajor caju*, obteve-se em média, no experimento, eficiência biológica de 79 %

3- O substrato constituído de resíduo de cerveja + serragem nas proporções estudadas, apresentou eficiência biológica, em média, acima de 50% porém, significativamente menor do que as obtidas para as outras combinações experimentadas, para a produção de *Lentinus sajor caju*; obteve-se, em média, no experimento, eficiência biológica de 57%.

4- A adição de nutrientes, nas proporções utilizadas, nas composições experimentadas, para a produção de *Lentinus sajor caju*, não apresentou vantagem nas composições experimentadas, ao contrário, demonstraram-se inadequadas devido a incidência de contaminações.

5- A adição de nutrientes nas proporções utilizadas, nas três composições experimentadas, para a produção de *Pleurotus eryngii* propiciaram o desenvolvimento do micélio, mas não, a formação de primórdios e conseqüentemente de frutificações.

6- O substrato constituído de palha, utilizado para controle da variável eficiência biológica, após colonizado pelo micélio de *Pleurotus eryngii*, aumentou a média de porcentagem de digestibilidade da matéria seca (avaliada através de digestibilidade *In situ* durante 48h) de 34% para 63%. Valor considerado significativo para um nível de significância de 5%.

5.1 CONCLUSÃO FINAL

Os substratos constituídos de resíduo de cerveja suplementado com palha de arroz e farelo de trigo e resíduo de cerveja suplementado com bagaço de cana de açúcar e farelo de trigo em termos de eficiência biológica (rendimento) apresentam-se tecnicamente viáveis para a produção de *Lentinus sajor caju*. A viabilidade econômica desta produção está sujeita a fatores como disponibilidade local dos resíduos e custos de operacionalização da produção.

O substrato constituído de resíduo de cerveja suplementado com serragem de eucalipto e farelo de trigo deve ser otimizado para a produção desta espécie.

6 BIBLIOGRAFIA

ALEXOPOULOS, C.J. ; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4th ed. New York: J. Wiley, 1996. 869p.

BARRASA, J.M.; GUTIÉRREZ, A. ; ESCASO, V. et al. Electron and Fluorescence Microscopy of Extracellular Glucan and Aryl-Alcohol Oxidase during Wheat Straw Degradation by *Pleurotus eryngii* **Applied and Environmental Microbiology**, p. 325- 332, Jan. 1998

BIELLI, E. **Funghi: Conoscere, riconoscere e ricercare tutte le specie di Funghi più diffuse**. Guide Compact DeAgostini. Novara: Istituto Geografico DeAgostini, 1997. 319p

BRAHMA, **Relatório Anual**, São Paulo, 1998. 68p

BUSWELL, J.; CAI, Y.; CHANG S.T. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Lentinula (Lentinus) edodes* **FEMS Microbiology Letters** v.128, p. 81-88, 1995.

BUSWELL, J; CAI; CHANG S.T.; et al. Examination of Lignocellulolytic Enzyme profiles of three important Commercially Cultivated Mushrooms **World Journal Microbiology. & Biotechnology**, v.12, p. 537-542,1996.

CHANG, S. T.; HAYES W. A.. **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms**, London: Academic Press, 1978. 819p

CHANG S. T.; MILES P. G. **Edible Mushrooms and Their Cultivation**. USA: CRC Press, 1989. 345p.

CHANG, S. T. Mushroom Biology and Mushroom Products In: **FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS**, 1993. **Proceedings** Hong Kong: The Chinese University Press, 1993, p. 3 –17.

CHANG, S. T. Bioconversion Technology: Composting and Production of Microbial and Protein Metabolites In: **WORKSHOP SUL-AMERICANO SOBRE RESÍDUOS DE ORIGEM FLORESTAL E URBANA Anais**. Curitiba: Sépia,1997. p 71

CHANG, S. T. Integrated Mushroom Farming in the ZERI Context In: A NEW HOPE FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN AFRICA: ZERO EMISSIONS AND TOTAL PRODUCTIVITY OF RAW MATERIALS Namibia. **Resumos** University of Namibia, 1998a. p 32

CHANG S.T. A Global Strategy for Mushroom Cultivation- A Challenge of No- Green Revolution. SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM., Nanjin. **Proceedings**, Oct1998b. p 5-15.

CHIHARA, G. Immunopharmacology of Lentinan, a Polysaccharide Isolated from *Lentinus edodes*: Its Application as a Host Defense Potentiator **International Journal of Oriental Medicine** , v 17,n 2, p. 57-77, Jun,1992.

CORNER, E. J. H. **The Agaric genera *Lentinus*, *Panus* e *Pleurotus*** with particular reference to Malasian species. Germany: J. Cramer, 1981. 169p.

CRISAN E. V.; SANDS, A . Nutritional Value In: CHANG, S. T.; HAYES W. A. **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms**, London: Academic Press, 1978. p. 137-165.

DASS, R. S.; MEHRA, U.R.; VERMA, A. K. Nitrogen Fixation and In Situ Dry Matter and Constituents Disappearance of Wheat straw Treated With Urea Boric Acid in Murrah Buffaloes. **Asian- Australian Journal of Animal Sciences**. v.13, n.12, p. 1035-1188, 2000.

DURÁN, N. Bioconversion to Single Cell Protein: Recovery of Lignocellulosic Materials to produce Human Food as an Integrated Process. **Alimentos** v.14, n.4, 1989.

ENDRES, E. **Avaliação da degradabilidade da Palha de arroz por *Trichoderma viride*, *Rhizopus stolonifer* e *Picnoporus sanguineus*** Porto alegre: Faculdade de Agronomia, 1995. 116p. Curso de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1995.

ESPOSITO, E. **Processos Envolvidos no Tratamento Biológico de Efluentes: Utilização de Biorreator de Leito Recheado**. Campinas. Faculdade de Engenharia Química, 1992. 120p Curso de Pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas.

FERMOR, Applied Aspects of Composting and Bioconversion of Lignocellulosic Materials: An Overview **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.31 p.87-106, 1993.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage Fiber Analyses: apparatus, reagents, procedures and some applications**. Washington: ARS (Agriculture handbook), 1970. 20p.

GONZÁLES; GARCIA; VILLASENŌR Cultivo de *Pleurotus spp* sobre Masilla de Cerveza Y Bagazo e Maguey Tequilero In: VI CONGRESO NACIONAL DE MICOLOGIA & IX JORNADAS CIENTÍFICAS TAPACHULA, CHIAPAS, MÉXICO **Resumos** Tapachula:. Sociedade Mexicana de Micologia Escuela de Ciencias Químicas, UNACH El Colegio de la Frontera Sur, 1997. p. 135.

GUZMÁN et al **El Cultivo de los Hongos Comestibles** com especial atencion a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales Xalapa: Instituto Politecnico Nacional, 1992. 245p.

IBGE, **Produção Vegetal Anuário Estatístico do Brasil**. Rio de Janeiro, v. 58 p.3-23,

- ITO, T. Cultivation of *Lentinula edodes* In: Chang S. T.; Hayes, W. A.. **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms** London: Academic Press, 1978. p.461-473.
- HOGLOV, J. *Pleurotus flabelatus* culturing on water hyacinth, *Eichornia crassipes*-In order to increase the animal feed nutritional value. Kung Tekniska Högskolan Royal Institute of Technology, 2000 65p.– Applied Microbiology Unit. University of Dar es Salaam, Salaam, 1999.
- HUDSON, H.J. **Fungal Biology** London: Edward Arnold, 1986. 298p.
- JAIN, S. K.; GUJRAL G. S. ; RAGINI B. Cultivation of *Pleurotus sajor caju* on aquatic weeds **Aquatic Botany**, v.30 p. 245-251, 1987.
- KEREM, Z. & HADAR, Y. Lignin-Degrading Fungi: Mechanisms and Utilization In: ALTMAN, A.. **Agriculture Biotechnology**. USA: M. Dekker, 1998. p.351-365.
- MILES P.G.; CHANG S.T. Mycomeat- A food produced soybean slurry by Fungal Mycelium RECENT ADVANCES IN BIOTECHNOLOGY AND APPLIED BIOLOGY Proceedings of English International Conference on Global Impacts of Applied Microbiology and International Conference on Applied Biology and Biotechnology , 1988, Hong Kong. **Proceedings** Hong Kong: The Chinese University of Hong Kong p. 577

MILES P.G.; CHANG S.T. **Mushroom Biology**. Concise Basics and Current Developments. Singapore: World Scientific, 1997. 194p.

MADRID; CENZANO; VICENTE **Manual de Indústria de Alimentos**. São Paulo. Livraria Varela, 1996.

MATHEUS, D.R.; OKINO, L. K.. Utilização de Basidiomicetos em Processos Biotecnológicos. In: BONONI, V. L. R.; Grandi, R. A. P. **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas** São Paulo: Instituto de Botânica, SEMA, 1999. p. 107-139.

MEIYNG, G. A Study on the Biological characteristics of a valuable Mushroom, *Pleurotus eryngii* In: SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM, Nanjin. **Proceedings**, oct 1998. p 5-15.

MINGYAN L.; MEIYING, G; HUIZAO, Z. A Study of Xianggu (*Lentinula edodes*) Cultivation in Hot Summer SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOMS THE PROCEEDINGS OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM, Nanjin. **Proceedings**, oct 1998. p.62

- NEVES ; DURRANT Estudo do Sistema Lignocelulolítico do Fungo
Basidiomiceto Linhagem H2. In: ANAIS DA I REUNIÃO NACIONAL
DE MICROBIOLOGIA APLICADA AO MEIO AMBIENTE. v 1 Instituto
de Química Universidade Estadual de Campinas, SP. **Anais FAPESP**,
1996.
- PAULI, G. **Breakthroughs- What business can offer society**. UK: Epsilon
Press, 1996.
- PAULI, G. **Upsizing- Como gerar mais renda, criar mais postos e
eliminar a poluição**. Porto Alegre: Fundação ZERI Brasil /L & PM,
1998. 306p
- PEGLER, D. N. **The genus *Lentinus*: A World Monograph** London:
Crown copyright, 1983. 278p.
- PETRY, M. F. G., THOMAS, R. W. S. P. Xylanase Production by the
Basidiomycete Fungi **Labs 2 Biodegradation and Biodeterioration in
Latin America** Porto Alegre: UNESCO, p.76, 1996.
- QUIMIO, T. H. Progress and Status of Mushroom Research and Extention
SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS
OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM., Nanjin. **Proceedings**, oct 1998.
p.65.

QUIMIO, T.H.; CHANG, S.T.; ROYSE, D. J. **Technical Guidelines for Mushroom Growing in the Tropics** FAO Plant Production and Protection n.106. Roma: FAO,1990. 155p.

ROYSE, D. J.; SCHILSTER, L. C.; WUEST P.J. Spawning to Casing in Commercial Mushroom Production In: WUEST, P. J.; BENGSTON, G.D. **Penn State Handbook for Commercial Mushrooms Growers** State College: Pennsylvania State University, 1982. p. 41-53.

SENEZ, J.C Single-cell protein: past and developments in DaSilva E.J. DOMMERGUES Y.R. NYNS, E.J. et al. **Microbial Technology in the developing world** Oxford: Oxford University Press,1987 p.238.

SETTE & DURRANT Estudo do Sistema Lignolítico Produzido Por Fungos Sob Condições Aeróbicas e Microaeróbica In: ANAIS DA I REUNIÃO DE MICROBIOLOGIA APLICADA AO MEIO AMBIENTE. **Anais** Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, SP, FAPESP,1997.

Shiitake dá bom lucro em pouco espaço. Produção do “cogumelo da madeira” atrai pequenos produtores no interior de São Paulo e do Paraná. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 19, dezembro de 1995. 6, Agrofólia, p. 1.

SINGER, R. **The Agaricales in Modern Taxonomy** 4th ed Germany: Koletz Scientific Books, 1986. 981p.

SHENMAO, J.; BO, The Climatic Superiority of Henan Province and the Cultivation of High Quality Xianggu Mushroom (*Lentinula edodes*)
SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS
OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM, Nanjin. **Proceedings**,
oct 1998. p. 53.

SOEST, P.J.V. **Nutritional Ecology of the Ruminants**. 2th ed London:
Comstock Publishing Associates ,1982 476p.

SOUZA, M. R. Tecnologias Para Usos alternativos de Resíduos
Florestais: Experiência do Laboratório de Produtos Florestais IBAMA
na área de Utilização de Recursos Florestais e Agrícolas In:
WORKSHOP SUL-AMERICANO SOBRE RESÍDUOS DE ORIGEM
FLORESTAL E URBANA - Curitiba PR **Anais**. Curitiba: Sépia, 1997. p.
49.

STEIKRAUS, K.H. Fermented Foods: Traditional and current practice In
Dasilva E.J. DOMMERGUES Y.R. NYNS, E.J. et al. **Microbial
technology in the developing world** et al. Oxford: Oxford University
Press,1987. p.167

TASNÁDI, G. Utilization of Wastes for Mushroom Cultures in Hungria In:
RECENT ADVANCES IN BIOTECNOLOGY AND APPLIED BIOLOGY
Proceedings of English International Conference on Global Impacts of
Applied Microbiology and International Conference on Applied Biology
and Biotechnology **Proceedings** Hong Kong: The Chinese University of
Hong Kong, 1988. p. 555- 564.

TEDESCO, J.M.; GIANELLO, C. BISSANI. C. A . et al. **Análise de Solo**
Plantas e outros Materiais 2º ed Porto Alegre: Departamento de Solos
Universidade Federal de Rio Grande do Sul, 1995 174p.

THOMAS, G. V.; PRABHU, M. Z.; BOPAIAH, R. et al. Evaluation of
lignocellulosic biomass from cocconut palm as substrate for cultivation
of *Pleurotus sajor- caju* (Fr.) Singer. **World Journal of Microbiology**
& **Biotechnology** v.14, 1998. p. 879-882.

TRIRATANA ; OSATHAPHANT, RECENT ADVANCES IN:
BIOTECNOLOGY AND APPLIED BIOLOGY Proceedings of English
International Conference on Global Impacts of Applied Microbiology
and International Conference Applied Biology and Biotechnology
Proceedings Hong Kong: The Chinese University of Hong
Kong, 1988 p.531.

VÁSQUEZ, J.E. **Produccion de Hongos Comestibles México: Centro de Investigaciones Ecologicas del Sureste, 1994. 107 p**

VILARÓ, C. M.; SOTO-VELAZCO, C. RODRIGUEZ, M., et al **Experiencia Conjunta Cuba México en el cultivo de especies de *Pleurotus* Revista Iberoamericana de Micologia n12 , 1998. p. 9-11**

YINGJIE, P.; QI, T.; NAN, W. **Advance in *Lentinula edodes* Genetic Breeding of China. In: SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM. Nanjin: Proceedings, oct 1998. p 80.**

ZADRAZIL, F. **Cultivo de *Pleurotus* In: CHANG S.T.; HAYES W. A. The Biology and Cultivation of edible Mushrooms, London: Academic Press, 1978. p. 521-557.**

ZADRAZIL, **Straw Decomposition by Fungi (Basidiomycetos) With its Subsequent use as Edible Mushroom, Feed Supplement or Compost In: SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM. Nanjin: Proceedings, oct 1998. p 157**

ZHONGGUI, Z. ; WUYI, L.; QINGSHENG, F. Researching on Biology
Technology Applied to Culture Mushroom With Reed Residue In:
SCIENCE AND CULTIVATION OF MUSHROOM THE PROCEEDINGS
OF 98' INTERNATIONAL SYMPOSIUM. Nanjin: **Proceedings**, oct 1998.
p.59-60.

ZHUANG, C.; MIZUNO, T. ; SHIMADA, A . Antitumor Protein-containing
Polysaccharides from Chinese Mushroom FengWeigu or Houbitake,
Pleurotus sajor caju (Fr.) Sing. **Bioscience Biotechnology
Biochemistry**, v. 57 n.6 p. 901-906, 1993.

ZINI, C. A.; ESCOBAR; R. ALENCASTRO, G. Gerenciamento dos
Resíduos Sólidos na Riocell In: WORKSHOP SUL-AMERICANO
SOBRE RESÍDUOS DE ORIGEM FLORESTAL E URBANA **Anais**.
Curitiba: Sépia, 1997. p. 11-27

APÊNDICE 1. COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS EM

Lentinula edodes e *Pleurotus sp*

COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS	<i>Lentinula edodes</i>	<i>Pleurotus sp.</i>	OVO Referência Proteica	FAO Referência Proteica
Proteína (% PS)	17.5	21.6	nd	nd
Isoleucina	218	363	340	250
Leucina	348	275	540	440
Lisina	174	313	440	340
Metionina	87	79	nd	nd
Cistina	nd	nd	nd	nd
Fenilalanina	261	125	nd	nd
Tirosina	174	nd	nd	nd
Treonina	261	263	290	250
Triptofano	nd	56	110	60
Valina	261	291	410	310
Arginina	348	419	nd	nd
Histidina	87	131	nd	nd
Alanina	305	nd	nd	nd
Ácido aspártico	392	nd	nd	nd
Ácido glutâmico	1349	nd	nd	nd
Glicina	218	nd	nd	nd
Prolina	218	nd	nd	nd
Serina	261	nd	nd	nd
Total aminácidos	1784	1765	nd	nd
Essenciais				
Total de aminoácidos	4962	nd	nd	nd

Adaptado de Crisan & Sands 1978

APÊNDICE 2. CONTEÚDO DE PROTEÍNA EM DIFERENTES ALIMENTOS

(%Peso Fresco)

ALIMENTOS	CONTEÚDO DE PROTEÍNA
Cogumelos	1.75 - 5.
Cebola	1.4
Cenoura	1.4
Laranja	1.0
Maçã	0.3
Carne de porco	9-16
Carne de gado	12-20
Galinha	18-20
Peixe	18-20
Leite	2.9-3.3

Adaptado de Chang, 1998d.

APÊNDICE 3. CONTEÚDO DE PROTEÍNA EM DIFERENTES ALIMENTOS

(%Peso Seco)

ALIMENTO	PROTEÍNA
COGUMELOS	19-35
Arroz	7.3
Trigo	12.7
Soja	38.1
Milho	9.4

Adaptado de Chang, 1998d.

**APÊNDICE 4. CONTEÚDO DE ÁCIDOS GRAXOS EM ALGUMAS
ESPÉCIES DE COGUMELOS**

Os valores em parenteses referem-se as porcentagens de ácidos graxos por peso seco modificado a partir de Huang et al. (1989) por Miles e Chang, (1997).

COGUMELOS	% SATURADOS	% INSATURADOS	% TOTAL (COMO ÁC. LINOLEICO)
<i>Agaricus bisporus</i>	19.5 (0.60)	80.5 (2.50)	69.2
<i>Auricularia auricula</i>	25.8 (0.34)	74.2 (0.96)	40.4
<i>Lentinula edodes</i>			
Standart *	19.9 (0.42)	80.1 (1.68)	67.8
Cracky**	20,4 (0.43)	79.6 (1.67)	76.2
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	20.7..(0.33)	79.3 (1.27)	62.9
<i>Tremella fuciformis</i>	22.8 (0.14)	77.2 (0.46)	28.0
<i>Volvariella volvacea</i>	14.6 (0.44)	85.4 (2.56)	69.9

Miles & Chang , (1997)

Nota: *Lentinula edodes* Standart* (Dongko) caracteriza-se por apresentar frutificação grossa, o píleo é praticamente fechado o que faz com que, os esporos permaneçam no cogumelo. Cultivado no inverno, é de rápido crescimento. Cogumelo de exportação na forma seca de excelente qualidade. Cracky** melhor qualidade que o Dongko, também de clima frio e seco, píleo engrossado e craquelado na superfície.

**APÊNDICE 5. TEOR DE VITAMINAS EM ALGUNS COGUMELOS
COMESTÍVEIS CULTIVADOS (mg/100g peso seco)**

COGUMELO	TIAMINA	RIBOFLAVINA	NIACINA	ÁC. ASCÓRBICO
<i>Agaricus bisporus</i>	11-8.9	3.7-5.0	425-510	26.5-81.9
<i>Flammulina velutipes</i>	6.1	5.2	106.5	46.3
<i>Lentinula edodes</i>	7.8	4.9	54.9	0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	4.8	4.7	108.7	0
<i>Pleurotus sajor-caju</i> *	0.2-0.3	1.1-1.4	18.2-21.3	33
<i>Volvariella volvacea</i>	0.3-1.2	1.6-3.3	47.6-91.9	20.2

Crisan & Sands (1978) e Li & Chang (1982)

* Zhuang et al, (1993).

**APÊNDICE 6. COMPOSIÇÃO DE ALGUMAS ESPÉCIES DE COGUMELOS
COMESTÍVEIS CULTIVADOS**

Todos os dados apresentados são porcentagens de matéria seca com exceção, do conteúdo de umidade inicial (porcentagem sobre peso fresco). Valor energético (Kcal/100 gm, peso seco).

Espécie	Amostra	Umidade inicial	Proteína Bruta (N X 4.38)	Gordura	Carboidrato N-livre	Fibra	Cinzas	Valor (Kcal)	
<i>Agaricus</i>	Fresco	89.5	26.3	1.8	59.9	49.5	10.4	12.0	328
<i>bisporus</i>	Fresco	88.9	24.9	2.3	62.5	53.5	9.0	10.3	344
	Fresco	89.7	33.2	1.9	56.9	48.8	8.1	8.0	354
	Fresco	90.4	28.1	3.1	59.4	51.1	8.3	9.4	353
<i>Lentinus</i>	Fresco	90.0	17.5	8.0	67.5	59.5	8.0	7.0	387
<i>edodes</i>	Fresco	91.8	13.4	4.9	78.0	70.7	7.3	3.7	392
	Seco	18.4	13.1	1.2	79.2	64.5	14.7	6.5	333
	Seco	15.8	10.3	1.9	82.3	75.8	6.5	5.5	375
<i>P. limpidus</i>	Fresco	93.0	38.7	9.4	46.6	19.0	27.6	5.3	313
<i>P. opuntiae</i>	Fresco	58.0	8.9	2.4	72.9	65.3	7.5	15.8	330
<i>Pleurotus</i>	Fresco	73.7	10.5	1.6	81.8	74.3	7.5	6.1	367
<i>ostreatus</i>	Fresco	90.8	30.4	2.2	57.6	48.9	8.7	9.8	345
	Seco	10.7	27.4	1.0	65.0	56.7	8.3	6.6	356
<i>Pleurotus</i>									
<i>sp.</i>	Fresco	91.0	21.6	7.2	60.5	48.6	11.9	10.7	351
<i>Pleurotus</i>									
"an-andáp"	Fresco	94.7	13.2	1.0	72.0	55.7	16.3	13.8	295

Adaptado de Chang & Hayes (1978)

**APÊNDICE 7. EFICIENCIA BIOLÓGICA E APARECIMENTO DE
PRIMÓRDIOS/DIAS (González et al., 1997)**

CEPA	MISTURA RC/ MT	EB (%)	PRIMÓRDIOS DIAS
IBUG-4	0:1	69 ± 7	24.2 ± 3.7
IBUG-4	1:1	28 ± 7	24.2 ± 3.7
IBUG-4	1:3	52 ± 17	24.2 ± 3.7
IBUG-8	0:1	70 ± 26	20.8 ± 5
IBUG-8	1:1	26 ± 9	20.8 ± 5
IBUG-8	1:3	57 ± 14	20.8 ± 5

RC/MT = Resíduo de cerveja / maguey de tequila

**APÊNDICE 8. EFICIÊNCIA BIOLÓGICA E TEMPO DE FORMAÇÃO DE
PRIMÓRDIOS DE *Pleurotus Sajor Caju* EM DIFERENTES TRATAMENTOS
A PARTIR DE PALMA DE COCO (Thomas et al.)**

SUBSTRATO	EB (%)	TEMPO DE FORMAÇÃO DE PRIMÓRDIOS (DIAS)
1	56,9	25.8
2	58,9	25,8
3	38,2	24.8
4	39,7	22.5