



UFAM

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS MADEIREIROS E DA
AGROINDÚSTRIA REGIONAL PARA O CULTIVO DE
FUNGOS COMESTÍVEIS DE OCORRÊNCIA NA REGIÃO
AMAZÔNICA**

CECI SALES-CAMPOS

MANAUS-AM

30/05/2008



UFAM

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS MADEIREIROS E DA
AGROINDÚSTRIA REGIONAL PARA O CULTIVO DE
FUNGOS COMESTÍVEIS DE OCORRÊNCIA NA REGIÃO
AMAZÔNICA**

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia do Convênio UFAM-INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, Área de Concentração em Agro-Florestal.

CECI SALES-CAMPOS

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira

Co-Orientador: Prof. Dr. Augusto Ferreira da Eira

MANAUS

2008

Ficha Catalográfica
(Catalogação na fonte realizada pela Biblioteca Central – UFAM)

S163a Sales-Campos, Ceci
Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica / Ceci Sales-Campos . - Manaus: UFAM, 2008.
182 f.; il. color
Tese (Doutorado em Biotecnologia) — Universidade Federal do Amazonas, 2008.
Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira
Co-orientador: Prof. Dr. Augusto Ferreira da Eira
1. Cogumelos 2. Cogumelos comestíveis - Cultivo 3. Fungos I. Oliveira, Luiz Antônio de II. Eira, Augusto Ferreira da III. Universidade Federal do Amazonas IV. Título
CDU 635.8(811)(043.2)

CECI SALES-CAMPOS

**APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS MADEIREIROS E DA
AGROINDÚSTRIA REGIONAL PARA O CULTIVO DE
FUNGOS COMESTÍVEIS DE OCORRÊNCIA NA REGIÃO
AMAZÔNICA**

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia do Convênio UFAM-INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, Área de Concentração Agro-Florestal

BANCA EXAMINADORA

Pesquisador/Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/UFAM

Profa. Dra. Meire Cristina Nogueira de Andrade
Universidade Federal do Amazonas

Profa. Dra. Lídia Medina Araújo
Universidade Federal do Amazonas

Pesquisador/Prof. Dr. Bazílio Frasco Vianez
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/UFAM

Profa. Dra. Marli Teixeira de Almeida Minhoni
Universidade Estadual Paulista - UNESP - Botucatu

A **Deus**, pela grandiosidade de sua força invisível e pela convicção de sua presença em todos os momentos de minha vida, sobretudo nos mais difíceis;

Em especial, ao **Silvio**, meu marido, pelo apoio, companheirismo e compreensão da minha ausência durante todo desenvolvimento desta pesquisa;

Aos meus filhos **Natasha** e **Igor** por existirem e por serem as âncoras de minha vida;

Aos meus pais **Antônio** e **Celeste**, que embora sem o essencial conhecimento do que seja a verdadeira necessidade da ciência, esforçaram-se para dar-me aquilo que não lhes foi dada a oportunidade de obter. O que só os engrandece mais ainda.

DEDICO

AGRADECIMENTO

Ao meu orientador, Dr. Luiz Antônio de Oliveira, pela orientação, confiança e apoio no desenvolvimento deste estudo.

À Dra Araildes Fontes Urben da EMBRAPA – Brasília e Ao Dr. Augusto Eira da UNESP – Botucatu, por despertarem em mim o interesse e a importância da pesquisa sobre cogumelos.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, especialmente a Coordenação de Pesquisas de Produtos Florestais - CPPF, onde foi realizada a maior parte deste estudo, utilizando os Laboratórios de Preservação da Madeira, Secagem da Madeira, Entomologia da Madeira, Química da Madeira, Laboratório de Chapas e Painéis Aglomerados, e principalmente o Laboratório de Patologia da Madeira, sob coordenação da Dra. Maria Aparecida de Jesus.

Ao Laboratório Temático de Solos e Plantas da Coordenação de Pesquisas de Ciências Agrárias do INPA, pela execução de parte das análises de minerais em resíduos madeireiros, em especial ao Dr. João Ferraz, a pesquisadora Tânia Pimentel, ao técnico Edivaldo Chaves e a bolsista Morgana Melo, pela cooperação e exímio trabalho prestado.

Ao Dr. Kaoru Yuyama pesquisador da Coordenação de Pesquisas de Ciências Agrárias do INPA pela cooperação ao ceder os primeiros exemplares de *Bactris gasipaes* Kunth para os testes preliminares deste estudo.

Ao meu amigo Jaime Paiva Lopes Aguiar e à Dra. Lucia Yuyama, pesquisadores da Coordenação de Pesquisas em Ciências da Saúde, pela cooperação e empréstimo de vários produtos químicos utilizados neste estudo.

À Dra. Maria de Jesus Varejão, pelo apoio e revisão da tese.

A todos os colegas da Instituição que auxiliaram e contribuíram de forma direta ou indireta no delinear deste trabalho, especialmente aos colegas Basílio Frasco Vianez e Liége Souza Abreu pelo apoio e companheirismo.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM por financiar parte da pesquisa.

À Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade do estudo.

Aos Laboratórios da Central Analítica e Engenharia de Pesca/UFAM pela utilização de suas estruturas em diversas etapas da pesquisa, em especial a Dra Lídia Medina, Dra Lúcia Belém e Dr. José Inhamuns e ao meu amigo Antônio Fábio Lopes de Souza pelo grande apoio na utilização do laboratório.

Aos técnicos e bolsistas pelo apoio incansável durante os experimentos.

RESUMO

Há na região amazônica uma grande quantidade de resíduos (madeireiros, agro-florestais e agroindustriais), cujo quantitativo tem sido subestimado, os quais constituem fontes potenciais para utilização no cultivo de fungos comestíveis na região. A riqueza promovida pela biodiversidade da Amazônia começa a despertar interesse mundial a cerca de seus recursos, com acentuada atenção para os microrganismos com potencial de utilização comercial. Dentre estes organismos encontram-se os fungos comestíveis e medicinais. Desta forma, o cultivo de cogumelos comestíveis no estado do Amazonas, poderá representar uma fonte alternativa para o desenvolvimento regional. Assim, esta pesquisa teve por meta testar o desenvolvimento de diferentes espécies de cogumelos comestíveis nativos, bem como testar o uso de diferentes resíduos regionais na composição de substratos para o cultivo dos mesmos. Foram feitos inicialmente testes preliminares com as espécies *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus strigosus* e *Polyporus arcularius* e com cinco resíduos madeireiros (marupá, pau de balsa, amapá doce, muiratinga e breu) e dois de origem agroindustrial (bagaço cana-de-açúcar e estipe de pupunheira). Nesta fase experimental avaliou-se o crescimento micelial das espécies fúngicas em substratos à base dos resíduos anteriormente citados. Nos testes subsequentes, com base nos resultados obtidos nestes testes preliminares, escolheu-se o *P. ostreatus*, dois resíduos madeireiros (marupá e pau de balsa) e dois agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar e estipe de pupunheira). Todos os substratos foram também suplementados com uma mistura de farelo de cereais (arroz, trigo e milho), sendo avaliados: 1- produção de basidiomas (rendimento), produtividade, através da eficiência biológica dos substratos formulados, perda da matéria orgânica, comportamento biológico da linhagem (período de colonização, de formação dos primórdios e de produção dos basidiomas) abordados no Capítulo 2; 2- Composição mineral da matéria-prima, dos substratos iniciais, residuais (pós-colheita) e do

cogumelo (Capítulo 3); 3- Composição nutricional do cogumelo, da matéria-prima e dos substratos de cultivo (Capítulo 4). De uma forma geral, conclui-se que a linhagem de *P. ostreatus* desenvolveu-se de uma forma satisfatória em todos os substratos testados, o que viabiliza o uso destes resíduos (com baixo ou nenhum valor comercial) para a fungicultura. Além disso, é uma aplicação ecologicamente correta, uma vez que evita que estes resíduos sejam descartados na natureza, permitindo-lhes a bioconversão em um produto de valor agregado “cogumelo comestível” e de elevado valor nutricional e que poderá vir a tornar-se uma fonte de desenvolvimento sustentável regional.

Palavras-chave: Aproveitamento de subproduto da Amazônia, bioconversão de resíduos, *Pleurotus ostreatus*, produto de valor agregado, cultivo de cogumelo comestível, desenvolvimento sustentável.

ABSTRACT

There is in the Amazon region a great amount of residues (wood, agro-forest and agro-industrial), which has been underestimated, and constitutes potential sources for the cultivation of edible fungi in the region. The biodiversity of the Amazon draws the worldwide interest about its resources, specially for the microorganisms with potential for commercial use. Amongst these organisms there are the edible and medicinal mushrooms. In this way, the cultivation of edible mushrooms in the state of Amazon could represent an alternative source for the regional development. Thus, this research had the objective to test the development of different wild edible mushroom species, as well as testing the use of different regional residues in the substrate composition for their cultivation. Preliminary tests were carried out with the species *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus strigosus*, *Polyporus arcularius* and with five wood residues (marupá, pau de balsa, amapá doce, muiratinga and breu) and two of agro-industrial origin (sugar cane bagasse and the stem of pupunheira palm tree). In this experimental phase the micelial growth of the fungi in substrates made from the above residues was evaluated. In the subsequent tests, based on the results obtained in these preliminary tests, *Pleurotus ostreatus*, two wood residues (marupá and pau de balsa sawdust) and two agro-industrial ones (sugar cane bagasse and stem of pupunheira palm tree) were chosen. All the substrates were supplemented with a mixture of cereal brans (rice, wheat and corn), were evaluated for: 1- production of basidioma (yield), productivity, through the biological efficiency of formulated substrates, loss of the organic matter, biological behavior of the strain (period of colonization, primordia formation and production of basidioma) referred in Chapter 2; 2- Mineral composition of: the raw material, the initial and spent substrates (post-harvest), and of the mushroom (Chapter 3); 3 - Nutritional composition of: the mushroom, the raw material and substrates (Chapter 4). In general, it can be concluded that the strain of *P. ostreatus* has developed in a satisfactory way in all tested substrates,

making it possible to use these residues (with low or no commercial value) in the mushroom cultivation. Moreover, it is an ecologically correct use of the residues, since it prevents the discard of these residues in the environment, promoting the bioconversion into added-value product “edible mushroom” and of high nutritional value, and that could become a source of regional sustainable development.

Keyword: Utilization of an Amazonian by-product, bioconversion of residues, *Pleurotus ostreatus*, added-value product, mushroom cultivation, sustainable development.

SUMÁRIO

	página
Resumo	vi
Abstract	viii
Lista de Figuras	xii
Lista de Tabelas	xiii
Introdução Geral	1
Capítulo 1. Revisão de Literatura	5
1.2 Referência bibliográfica	42
Capítulo 2. Produção de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr) Kummer em condições ambientais controladas “atmosfera modificada” a partir de resíduos madeireiros e agroindustriais da Amazônia	47
Resumo.....	47
Abstract.....	49
2.1 Introdução	51
2.2 Material e métodos	54
2.3 Resultados e Discussão	68
2.4 Conclusões	98
2.5 Referência bibliográfica	99
Capítulo 3. Composição mineral da matéria-prima, dos substratos iniciais, residuais (pós-colheita) e do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr) Kummer	105
Resumo.....	105
Abstract.....	107
3.1 Introdução	109
3.2 Material e métodos	112
3.3 Resultados e Discussão	114
3.4 Conclusões	125
3.5 Referência bibliográfica	126

	página
Capítulo 4. Composição nutricional do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> , da matéria-prima e dos substratos de cultivo (inicial e residual).....	131
Resumo.....	131
Abstract.....	132
4.1 Introdução.....	133
4.2 Material e métodos.....	135
4.3 Resultados e Discussão.....	143
4.4 Conclusões.....	177
4.5 Referência bibliográfica.....	178

Lista de Figuras

	Página
CAPÍTULO 2:	
Figura 1. Basidiomas de diferentes espécies de cogumelos oriundas do teste preliminar de seleção de resíduos e da espécie fúngica para o experimento de produção.....	69
Figura 2. Influência da temperatura e da suplementação no período de colonização do substrato por <i>P. ostreatus</i> . – serragem de <i>Simarouba amara</i> (marupá) com e sem suplementação de cereais.....	76
Figura 3. Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> em condições ambientais controladas, em substrato a partir do resíduo de <i>Bactris gasipaes</i> – pupunheira (SIAPP).....	80
Figura 4. Eficiência biológica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	86
Figura 5. Rendimento (g/kg) de <i>Pleurotus ostreatus</i> (massa fresca de cogumelo produzido por massa fresca de substrato) nos diferentes substratos testados.....	95
Figura 6. Perda da matéria orgânica (PMO) dos diferentes substratos utilizados no cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	97
CAPÍTULO 4:	
Figura 7. Isoterma de sorção da umidade relativa X atividade de água.....	139

Lista de Tabelas**Página****CAPÍTULO 2:**

- Tabela 1.** Resultado das análises físico-químicas da matéria-prima e dos substratos: composição centesimal, pH e relação C:N.....**73**
- Tabela 2.** Avaliação biológica de *Pleurotus ostreatus* nos substratos testados durante o período de cultivo.....**83**
- Tabela 3.** Eficiência biológica de diversos substratos no cultivo de *Pleurotus ostreatus*.....**84**
- Tabela 4.** Eficiência biológica de diversos substratos no cultivo de diferentes espécies do gênero *Pleurotus*.....**93**

CAPÍTULO 3:

- Tabela 5.** Composição mineral das matérias-primas analisadas.....**114**
- Tabela 6.** Composição mineral dos substratos iniciais autoclavados – SIA.....**116**
- Tabela 7.** Composição mineral dos substratos residuais: pós-colheita – SR.....**117**
- Tabela 8.** Composição mineral do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado nos diferentes substratos.....**120**
- Tabela 9.** Estudo comparativo da composição mineral de *Pleurotus* spp. de outros autores – Valores convertidos em g kg⁻¹ (para macro) e em mg kg⁻¹ (para micronutrientes).....**122**

Capítulo 4:

Tabela 10. Resultados das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH e atividade de água), Carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N das matérias-primas utilizadas, para a formulação do substrato de cultivo.....	144
Tabela 11. Resultado das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH e atividade de água), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos substratos de substrato de cultivo.....	145
Tabela 12. Resultado das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N, do substrato residual proveniente do cultivo de <i>P. ostreatus</i>	148
Tabela 13. Composição centesimal das matérias-primas utilizadas na formulação dos substratos de cultivo.....	154
Tabela 14. Composição centesimal dos substratos de cultivo (substratos iniciais).....	156
Tabela 15. Composição centesimal dos substratos residuais provenientes do cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	159
Tabela 16. Resultado das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH, Aa), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N do cogumelo <i>P. ostreatus</i> cultivado em diversos substratos.....	161
Tabela 17. Resultado da composição centesimal de <i>P. ostreatus</i> em diferentes substratos.	164
Tabela 18. Composição de alguns alimentos por 100 g de parte comestível.....	176

INTRODUÇÃO GERAL

Um dos grandes desafios do mundo moderno tem sido o aproveitamento maximizado da matéria-prima, de modo a gerar o mínimo de resíduo possível. A partir de então começa a grande busca quanto à resolução desta questão.

Os resíduos gerados pela indústria madeireira e da agroindústria na região amazônica, têm sido relatados de um modo geral pela sociedade, principalmente em relação à poluição do meio ambiente, como também por segmentos do setor florestal, onde as indústrias madeireiras buscam soluções para uma considerável quantidade de rejeitos, que impedem um melhor desenvolvimento de suas atividades.

Há na indústria madeireira da região, uma grande quantidade de resíduos de madeira, cujo potencial tem sido subestimado. Sales-Campos et al. (2002) observaram perdas de matéria-prima de até 60%, quando os autores fizeram um levantamento das condições de uso e processamento de madeiras nas indústrias madeireiras de Manaus. Os dados coincidem com os relatados por Pereira (2003), em entrevista ao Jornal Liberal, referindo-se aos resíduos do setor madeireiro no Pará, onde é forte a presença deste setor, destacando a necessidade de aproveitamento desse resíduo.

O relatório de Vianez e Barbosa (2003), sobre o estudo de alternativas de usos dos resíduos gerados pela indústria madeireira de Manaus e Itacoatiara, apontam várias alternativas de uso para esses resíduos, entre eles, a utilização para o cultivo de fungos comestíveis. Essa atividade pode se tornar uma fonte de desenvolvimento sustentável regional, desde que haja investimento tecnológico para a domesticação de espécies de fungos regionais, assim como o conhecimento dos resíduos que assegurem boa produtividade e que possam prover boa fonte de alimentação.

A riqueza promovida pela biodiversidade da Amazônia começa a despertar interesse mundial a cerca de seus recursos, com acentuada atenção para os microrganismos com potencial de utilização comercial. Dentre estes organismos encontram-se os fungos comestíveis e medicinais.

O cultivo de cogumelos comestíveis é um processo biotecnológico que, dependendo da espécie a ser cultivada, utiliza materiais residuais da agricultura, pecuária ou agroindústria, tais como esterco animal, palhas de cereais e outros resíduos de madeira para produzir alimentos nutritivos e de sabor agradável (EIRA et al., 1997), afora as diversas gramíneas que são também bastante utilizadas para a produção desses fungos (ZHANXI; ZHANHUA, 2001; URBEN et al., 2001).

A utilização desses materiais orgânicos para o cultivo de fungo comestível é reflexo de sua extraordinária atividade metabólica. O cultivo desses organismos tem evoluído com o tempo e atualmente é uma das atividades de importância econômica, em especial, a produção de espécies dos gêneros *Agaricus*, *Pleurotus* e *Lentinus* (GUZMÁN et al., 1993).

Embora a região Amazônica não disponha de forte tradição agrícola, existem alguns resíduos deste setor que podem ser abordados como fonte potencial para a produção de cogumelos comestíveis na região, tais como: casca de côco, casca de mandioca, bagaço de cana-de-açúcar, etc.

O interesse pelos cogumelos, bastante apreciados pelos europeus e orientais, vem crescendo nos últimos anos, quanto à possibilidade de reciclar certos resíduos agrícolas e agroindustriais (CHANG; MILES, 1984). Por outro lado, considerando o elevado teor protéico dos cogumelos comestíveis, seu cultivo tem sido abordado (ZHANXI; ZHANHUA, 2001; CHANG, 1980; CHANG; MILES, 1984) como uma alternativa para incrementar a oferta de proteínas para países em desenvolvimento e com alto índice de desnutrição, o que sem dúvida, melhoraria o índice de nutrição da população da Amazônia.

Eira (2000) relata que a importância dos cogumelos também está ligada ao crescimento contínuo desse mercado, aos avanços tecnológicos para aumentar a produtividade, qualidade e custo de produção, bem como às ilimitadas opções de espécies que podem ser cultivadas. Na Europa, China, Japão, Estados Unidos e Canadá, são crescentes as buscas por uma tecnologia que assegure melhor produtividade.

As propriedades medicinais ou nutricêuticas de alguns cogumelos também vêm incrementando o seu valor agregado e, sob o ponto de vista empresarial, considera-se que o cultivo de cogumelos exige tecnologia e, portanto, constitui-se em atividade diferenciada e seletiva do ponto de vista técnico econômico, pois a diminuição dos custos de produção pode representar um grande trunfo para o sucesso do empreendimento (EIRA, 2000).

A atenção mundial para a produção de cogumelos comestíveis está se voltando cada vez mais, para desenvolver tecnologia de cultivo com espécies diferentes das mundialmente consagradas, principalmente considerando as dificuldades de produção em países de clima tropical e subtropical (CHANG; MILES, 1984). Nesse contexto, vêm sendo desenvolvidas desde 1993, tecnologia de cultivo em escala semicomercial no México (GUZMÁN et al., 1993).

Em todo o mundo, estima-se a produção pela fotossíntese, de aproximadamente 155,2 bilhões de toneladas de biomassa seca (RAJARATHNAM et al., 1992). Dessa biomassa, calcula-se que 18 milhões de toneladas são representadas por resíduos (MC HALE, 1970, **apud** RAJARATHNAM et al., 1992). Ainda hoje, a maioria desses resíduos, que representam uma fonte de carbono renovável de grande importância, é queimada ou simplesmente desprezada. Esses resíduos lignocelulósicos têm potencial para serem utilizados na produção de alimento animal e humano.

Segundo Capelari (1996), provavelmente, a melhor maneira de aproveitamento de resíduo lignocelulósicos seja a produção de cogumelos comestíveis. Maziero e Zadrazil

(1994) mencionam que esta é a única forma economicamente viável de utilização destes resíduos.

Dada a facilidade de crescimento em diversos tipos de resíduos, os cogumelos comestíveis podem vir a ser uma solução para alguns problemas de importância global, como a carência de proteínas na alimentação e a possibilidade de manejo ambiental. Os cogumelos são fontes de proteína de alta qualidade, que podem ser produzidos com maior eficiência biológica do que a proteína animal e, portanto, podem ter grande importância nos países em desenvolvimento para enriquecimento da dieta de populações com carências protéicas (CHANG, 1980; CHANG; MILES, 1984; ZHANXI; ZHANHUA, 2001).

Embora os cogumelos tenham notável espaço no folclore e nas tradições de muitas culturas (GUZMÁN et al., 1993; STAMETS, 1993; ZHANXI; ZHANHUA, 2001), os registros a cerca do conhecimento micológico dos povos indígenas brasileiros são raros, se compararmos com os de plantas medicinais. Entre estes registros micológicos encontram-se os trabalhos de Fidalgo (1965) e de Prance (1972; 1973; 1984).

Apesar dos índios brasileiros não serem considerados micófilos, conforme Fidalgo (1965), pelo fato dos cogumelos entrarem na vida dos índios apenas de modo secundário, algumas tribos demonstram maior conhecimento da utilização de nossos fungos do que divulgado na literatura (ISHIKAWA, 2002). No entanto, Prance (1972, 1973, 1984) considerou a tribo dos yanomami como a mais desenvolvida quanto aos conhecimentos de fungos comestíveis entre as tribos por ele visitadas.

Os fungos a serem avaliados no presente estudo: *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries e *Polyporus arcularius*. Batsch: Fr, são decompositores de madeira. Segundo Ishikawa (2002), *Polyporus arcularius* e *Lentinus strigosus* são consumidos pelos índios Yanomami.

Um aspecto importante acerca desses fungos, também denominados fungos decompositores de madeira ou ainda fungos de “podridão branca” da madeira (por apresentarem coloração branca à madeira em estágio avançado de decomposição), é o fato desses organismos poderem aproveitar, não só resíduos madeireiros, como também outros resíduos de origem lignocelulósica, como palhas de cereais e resíduos agroflorestais e da agroindústria, passíveis de biotransformação.

O estudo ora proposto visa avaliar resíduos madeireiros e da agroindústria local, como potencial de utilização para produção de fungos comestíveis de ocorrência na Amazônia, visando fonte nutricional, assim como abrir caminho para uma provável atividade econômica de modo a contribuir para o desenvolvimento sustentável da região, uma vez que esse conhecimento pode ser difundido para a sociedade de modo a vir a gerar fontes produtoras. Objetiva ainda formar recursos humanos para atuar no âmbito das instituições de pesquisa e no pólo de bioindústrias da Amazônia, assim como dinamizar as atividades de pesquisa em biotecnologia na região.

CAPÍTULO 1. Revisão de Literatura

As linhagens de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries e *Polyporus arcularius* Batsch: Fr, propostas no presente estudo, são de fungos comestíveis decompositores de madeira (causadores de podridão branca na madeira), onde se busca tecnificar o cultivo para produção destas linhagens. Como não existe cultivo de fungos comestíveis com estas linhagens selvagens propostas, para efeito de revisão e comparação com a literatura, far-se-á um paralelo com cultivo de fungos comestíveis com as espécies dos gêneros afins, que tenham fisiologia e condições de cultivo semelhantes, sendo abordados principalmente os gêneros *Lentinus* e *Pleurotus*.

1.1 Histórico

Achados fósseis revelaram que os fungos existem desde o período Cretáceo (aproximadamente 130 milhões de anos atrás), muito antes da humanidade, o que indica que o homem provavelmente consumia cogumelos, quando se observa em dias atuais, animais alimentando-se de cogumelos na floresta (CHANG, 1993). Os cogumelos, também denominados de macromicetos, pertencem ao reino Fungi, sendo conhecidos pelo homem desde o período mais remoto da história da humanidade. A primeira coleta de cogumelos comestíveis pelo homem foi feita na China e data de 5000 a 4000 aC. (ZHANXI; ZHANHUA, 2001). Estima-se que os primeiros cultivos intencionais de cogumelos comestíveis surgiram na China, no início do século VII, com a espécie *Auricularia auricula* (CHANG; MILES, 1987).

A China é um país de longa tradição no cultivo e consumo de cogumelos e segundo Zhanxi e Zhanhua, (2001), possui mais de dez espécies de fungos, as quais são cultivados em diversos países do mundo. É um país pioneiro no consumo e cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais, seguido pelo Japão, Europa e Estados Unidos (URBEN et al., 2001).

Os cogumelos comestíveis foram descritos como o “alimento dos Deuses” e como tal, confirmado pelos “gourmets” romanos, que os apreciavam como especiarias. Para os chineses, eram considerados “elixires da vida”. Os gregos acreditavam que os cogumelos davam força aos guerreiros nas batalhas e os faraós egípcios também se nutriam dessas especiarias (CHANG; MILES, 1984). Os cogumelos tiveram ampla aceitação e algumas das espécies são consideradas como “reis da mesa” ou “diamantes da cozinha” (ZHANXI; ZHANHUA, 2001)

Os gregos Eurípedes, Teofrasto e Plínio descreveram o consumo de cogumelos comestíveis em seu tempo (GUZMÁN et al., 1992). Em algumas sociedades, o cogumelo era alimento da realeza, provavelmente pelo sabor e textura agradável (CHANG; MILES, 1997).

Os romanos conheciam vários fungos comestíveis e venenosos. Cita-se o caso do imperador Júlio César que era aficionado pelo cogumelo *Amanita caesarea*, cuja atribuição da nomenclatura científica foi em homenagem a seu nome e que por esta razão, ficou conhecido como “Cogumelo dos Cesares” (GUZMÁN et al., 1993).

Dentre os primeiros cogumelos cultivados segundo Molena (1986), encontram-se as espécies *Polyporus tuberaster* (pedra fungaie) e *Polyporus corilinus*, coletados do lenho de aveleiras e eucaliptos. Eram consumidos cortados em fatias de 4 a 5cm e sua produção demandava cerca de seis meses, rendendo às vezes um ou dois cogumelos. Não se conhecia sua exigência nutritiva, tampouco seu ciclo vegetativo. Sabia-se apenas que o ato de esfregar um cogumelo maduro naquelas madeiras, deixando-as em ambiente úmido e em determinado período do ano poderia produzir apreciáveis cogumelos (MOLENA, 1986).

Durante o Império Romano surgiu na Itália a pedra *fungaie* (pedra que produz o cogumelo), que se constituía de um aglomerado de húmus, folhas, galhos e rochas calcárias, que formavam uma massa compacta, que era cortada em forma de tijolo e transportada para os palácios, sendo guardadas em lugar úmido e irrigado diariamente até a época da colheita, para servir aos senadores e a outros personagens da nobreza romana (MOLENA, 1986). Essa técnica predominou durante muitos anos. Na França, o cultivo de cogumelo iniciou-se durante o reinado de Luiz XIV, conforme Molena (1986). Porém, o cultivo de *Agaricus bisporus*, o “Champignon de Paris”, a espécie mais cultivada e comercializada mundialmente, originou-se aproximadamente em 1650 (DELMAS, 1978; CHANG; MILES, 1984).

Com os avanços dos conhecimentos e da tecnologia do cultivo de cogumelos, a produção comercial de dezenas de espécies tornou-se então viável em vários países nas

últimas décadas (GUSMÁN et al., 1993; STAMETS, 1993; 2000; VEDDER, 1996), alcançando uma produção de aproximadamente 4,3 milhões de toneladas de cogumelos comestíveis em 1991 (MILES; CHANG, 1997).

1.1.2. Importância dos fungos

A importância dos fungos é ilimitada no ecossistema terrestre e, por conseguinte, na vida do homem. Estes organismos podem ser benéficos ou não, de acordo com os resultados de sua ação (MOLITORIS, 1989).

Se considerarmos a ação decompositora dos fungos sobre os alimentos e a concomitante produção de substâncias tóxicas (micotoxinas), a decomposição de outros materiais como a madeira, a patogenicidade causada às plantas, animais e ao homem, teremos aqui o aspecto negativo. Por outro lado, se observarmos o importante papel da decomposição, que junto com outros microrganismos, participam na mineralização da matéria orgânica, assim como a simbiose com plantas superiores no processo de formação de micorrizas, e a importância medicinal que desempenham, estaremos vendo estes microrganismos através da ótica positiva.

Na natureza, os fungos não participam apenas no papel de provimento de fonte alimentar para o homem e outros animais. Desempenham também, a importante função de ciclagem de carbono e outros elementos, através da quebra de resíduos lignocelulósicos e excrementos de animais que servem de substrato para os fungos saprófitas. Dessa maneira esses agentes decompositores desempenham corretamente o papel ambiental que junto com outros organismos, completam o papel da ciclagem de resíduos de plantas e animais. Simultaneamente, produzem diversas enzimas que degradam substâncias complexas que

permitem a absorção de substâncias solúveis utilizadas para a sua própria nutrição (CHANG, 1993).

Trufem (1999) e Matheus e Okino (1999) destacam os fungos no contexto biotecnológico, onde são muito utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica, na biorremediação, na biosorção (remoção de metais pesados e radioativos), na agricultura como fungos micorrízicos arbusculares (FMA), onde são utilizadas técnicas que favorecem o desenvolvimento de plantas de interesse econômico, controle biológico, biodegradação de xenobióticos, biorremediação de solos, tratamento de efluentes industriais e a bioconversão de resíduos lignocelulósicos.

Um dos processos mais importantes do ponto de vista econômico é a utilização de fungos na conversão de resíduos lignocelulósicos em cogumelos comestíveis, através da interação fungo x substrato, possibilitando o processo de fermentação sólida, através do sistema enzimático desses microrganismos (MATHEUS; OKINO, 1999).

O cultivo de cogumelos comestíveis tem se tornado, cada vez mais, uma prática importante na sociedade moderna. Isto ocorre devido ao processo biotecnológico de bioconversão de resíduos por ação destes fungos, para produção de alimentos de alto valor nutritivo a partir de resíduos agroindustriais, possibilitando o aproveitamento mais eficiente dos materiais, além de reduzir o volume de resíduos ou acelerar o processo de decomposição (MAZIERO, 1990). Além do importante papel de bioconversão do resíduo em alimento, o substrato residual resultante do cultivo de cogumelos comestíveis pode ainda ser utilizado como forragem para animais, condicionador de solo ou fertilizante natural ou como alimento para animais, fechando o ciclo de aproveitamento da matéria-prima (CHANG; MILES, 1997). Este processo é denominado de tecnologia “zeri”, onde se busca o aproveitamento máximo da matéria, eliminando o resíduo do resíduo (CHANG, 2003).

1.1.3 Importância nutricional

O homem tem percebido a cada dia o valor nutricional dos cogumelos, além do aspecto da saúde em relação a outros alimentos, como a carne vermelha, onde os cogumelos mostram-se mais vantajosos e importantes, uma vez que são ótimas fontes de carboidratos, proteínas, sais minerais, vitaminas e aminoácidos essenciais, que ajudam na manutenção de um bom equilíbrio nutricional (CRISAN; SANDS, 1978; GARCIA et al., 1993; MILES; CHANG, 1997).

Análises acerca da nutrição dos cogumelos têm mostrado que esses macrofungos contêm mais proteínas do que muitos vegetais (LAJOLO, 1970; CHANG; HAYNES, 1978). As proteínas da carne e do frango possuem alto nível de colesterol e gordura, que são conhecidas como causadores do aumento de peso e doenças cardiovasculares. Por esta razão, as proteínas provenientes de outras fontes tornam-se mais procuradas nos recentes anos, tais como as proteínas dos cogumelos, das algas, das bactérias e das leveduras (LAJOLO, 1970; CHANG; HAYNES, 1978; FIGUEIREDO, 1996; URBEN et al., 2003).

Estudos realizados por Lintzel (1941; 1943), segundo Crisan e Sands (1978), indicaram que cerca de 200g de cogumelos (massa seca) são suficientes para alimentar um ser humano normal de aproximadamente 70 Kg, garantindo um balanço nutricional adequado.

Nutricionalmente, esses macrofungos constituem boa fonte alimentar. A composição de gorduras, carboidratos, vitaminas etc., variam de acordo com a espécie, com o método de cultivo e também, com o substrato utilizado no cultivo (CRISAN; SANDS, 1978; PRZYBYLOWICZ; DONOGUUE, 1990; BONONI et al., 1999; MILES; CHANG, 1997).

Os cogumelos são alimentos excelentes para as dietas, porque nutrem e não engordam. São fontes de aminoácidos, contendo todos os essenciais e alguns não essenciais: contêm minerais como cálcio, potássio, iodo, fósforo e vitaminas, entre elas tiamina,

riboflavina, niacina, e ácido ascórbico, além de outras relacionadas do complexo B (MOLENA, 1986; MILES; CHANG, 1997; BONONI et al., 1999). Possuem ainda teor alto de gordura instaurada (MILES; CHANG, 1997).

Os cogumelos de maior índice nutricional (baseado no índice de aminoácidos essenciais) aproximam-se dos valores nutricionais da carne e do leite, enquanto que os de menor comparam-se a alguns vegetais como a cenoura e o tomate. O índice nutricional desses organismos supera o dos vegetais e legumes, exceto a soja (CRISAN; SANDS, 1978). Em geral, o conteúdo protéico de cogumelos frescos é duas vezes superior ao repolho, quatro vezes maior que o conteúdo de proteína da laranja e doze vezes superior ao da maçã (CHANG, 1980).

Pesquisa realizada na Índia por Garcia et al. (1993), onde os autores compararam os teores nutricionais de *Agaricus* spp. e *Pleurotus* spp., revelou a importância dos aminoácidos desses cogumelos para o povo, que é carente de proteína animal por questões circunstanciais de religião, e cuja principal fonte alimentar é proveniente de vegetais e grãos, normalmente deficientes em aminoácidos essenciais. A suplementação alimentar através de cogumelos é de fundamental importância na dieta alimentar daquele povo.

Além do uso direto como alimento, há um grande interesse no cultivo do micélio em cultura submersa com a finalidade de obter compostos flavorizantes e aromatizantes de grande valor para a indústria de alimentos. Para este fim, o micélio é cultivado em cultura submersa, utilizando-se uma variedade de substratos, de acordo com o tipo de composto desejado. Esta propriedade flavorizante é característica de alguns cogumelos lignolíticos, entre os quais estão as espécies do gênero *Pleurotus* (GUTIÉRREZ et al., 1994).

1.1.4 Panorama global do cultivo comercial de fungos comestíveis

Após a Segunda Guerra Mundial, a indústria de cogumelos comestíveis saltou de 350.000 toneladas em 1965, para 4,3 milhões de toneladas em 1991, sendo que 3,4 milhões de toneladas referem-se aos seis gêneros mais importantes mundialmente: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia*, *Volvariella*, e *Flammulina*, sendo os maiores produtores: China, Japão, EUA e França (MILES; CHANG, 1997). Os gêneros *Agaricus*, *Pleurotus* e *Lentinula* são os mais cultivados. Este aumento ocorreu em função de vários fatores, dentre eles: a) ao aumento do número de espécies em escala comercial; b) ao desenvolvimento de técnicas de cultivo utilizando embalagens plásticas, o que permitiu o cultivo de muitos fungos comestíveis decompositores de madeira em resíduos lignocelulósicos, preferencialmente ao cultivo em toras, promovendo grande redução do tempo de cultivo e, c) devido às técnicas de “marketing” que valorizaram os méritos nutricionais dos cogumelos de modo a fazer parte da dieta alimentar, de maneira que não fossem comercializados apenas como simples guarnição ou iguarias, e sim, como alimento de alto valor nutritivo (MILES; CHANG, 1997).

A literatura especializada cita aproximadamente 200.000 espécies de fungos existentes no mundo, sendo cerca de 2.000 espécies potencialmente comestíveis. Porém, apenas 25 delas são normalmente utilizadas na alimentação humana e menos ainda são comercialmente cultivadas (CHANG, 1980; CHANG; MILES, 1984; BONONI et al., 1999).

No início da década de 80, apenas *Agaricus bisporus* (champignon de Paris) e outras espécies deste gênero, assim como *Lentinula edodes* (shiitake), possuíam uma moderna tecnologia para produção comercial, onde 70 % da produção mundial era representada por *Agaricus* e 14% por *Lentinula* (CHANG; MILES, 1984). No entanto, segundo os mesmos autores, a atenção mundial está se voltando para desenvolver tecnologias de cultivo para cogumelos comestíveis diferentes das espécies mundialmente consagradas, principalmente

considerando as dificuldades de produção em clima tropical e subtropical. Tecnologias especiais vêm sendo desenvolvidas em diversos países permitindo o cultivo de: *Volvariella volvaceae* na China, Taiwan, Japão, Filipinas e Indonésia; *Kuehneromyces mutabilis*, *Flamulina velutipes*, *Hypholoma capnoides* e *Coprinus comatus* em alguns países da Europa e Ásia; *Pleurotus ostreatus* na Itália, Hungria, Alemanha Ocidental, México e Brasil (CHANG; MILES, 1984; GUZMÁN et al., 1993; EIRA; MINHONI, 1997; BONONI et al., 1999; ZHANXI; ZHANHUA, 2001; URBEN et al., 2001). Desta forma, o panorama da produção mundial alterou-se subitamente, apontando para um cultivo e consumo acentuado de *Pleurotus* conforme relatado por Eira et al. (1997), numa adaptação de Fermor (1993).

Na adaptação baseada em Fermor (1993), feita por Eira et al. (1997), a produção mundial de cogumelos no início da década de 90 era de 1.424.000 toneladas para *Agaricus bisporus*, 900.000 toneladas para *Pleurotus* spp., 393.000 toneladas para *L. edodes* e 887.000 para outros cogumelos, representando, respectivamente, 39,51%, 24,98%, 10,91% e 24,61%. A tendência atual é de aumentar a produção.

Em relação à produção de cogumelos no Brasil, não existe uma documentação segura que permita localizar no tempo o início do cultivo de cogumelos, de acordo com Fidalgo e Guimarães (1985), sendo certo, no entanto, que a popularização de hábito alimentar na região centro-sul data de 40 anos (COUTINHO, 2000). Já Bononi (1999) relata que o cultivo de champignon (*Agaricus bisporus*) teve início em 1953, quando imigrantes chineses se fixaram em Mogi das Cruzes e o italiano Oscar Molena em Atibaia, trazendo tecnologia e linhagens importadas de seus países de origem. Para Molena (1985), a cultura de cogumelos iniciou-se em 1953 e desenvolveu-se a partir da crise avícola de 1955-1959, quando criadores de frango passaram a utilizar galpões de criação como casa de cultivo de cogumelos, sem maiores condições técnicas.

O cultivo comercial de fungos comestíveis no Brasil restringe-se ao *Agaricus bisporus*, (champignon), ao *Lentinula edodes* (shiitake) e muito pouco, a *Pleurotus* spp. conhecidos como “oyster mushroom”, cogumelo gigante ou caetetuba (BONONI et al., 1999; EIRA, 2000). Variedades ou linhagens dos cogumelos do gênero *Pleurotus* originaram o “hiratake” (cogumelos com basidiomas muito grande, colhido em estágio adulto com os basidiomas abertos, antes que as bordas virem-se para cima no tamanho maior que 5cm) e o “shimeji” (com estipes longos, colhidos com os basidiomas muito jovens e escuros, menores que 5cm, podendo ser colhidos em pencas), também modestamente produzidos comercialmente (EIRA; MINHONI, 1997).

São raros os relatos de pesquisas brasileiras acerca do assunto, sendo que o Instituto Botânico de São Paulo foi um dos pioneiros, tendo criado em 1985 um Centro de Pesquisas de Cogumelos Comestíveis em Mogi das Cruzes e, em 1986 foi criado um núcleo de ensino, pesquisa e extensão, na Faculdade de Ciências Agrônomicas/ UNESP em Botucatu, denominado Módulo de Cogumelos (EIRA, 2000). Outros centros vêm surgindo em várias universidades e instituições de pesquisa, tais como: UFRGS - Porto Alegre-RS, UEL-Londrina - PR, UFLA - Lavras-MG, UFSC – Florianópolis - SC; EMBRAPA de Curitiba-PR e CENARGEN - Brasília, DF; UFPE, Recife, PE; entre outros.

A produção de cogumelos comestíveis no Brasil é tarefa difícil de ser avaliada. Os produtores dão total preferência (90%) ao cultivo de *A. bisporus* (BONONI et al., 1999). Entre os produtores, cerca de 90%, é representada por orientais de Taiwan, China, Coreia, Japão, que trabalham em pequenas propriedades, no sistema familiar onde todos operam em todas as fases do cultivo, em sistema de mutirão. A região do município de Mogi das Cruzes, no Estado de São Paulo, é responsável pela produção de cerca de 70% dos cogumelos comestíveis comercializados no Brasil. O restante ocorre por conta de outros municípios, a maioria também no estado de São Paulo, como Ribeirão Pires, Suzano, Cabreúva, Atibaia e

Mariporã (BONONI et al., 1999). Há produtores de alguma expressão em Porto Alegre, além de algumas tentativas de instalação da cultura no Sul de Minas Gerais e no Paraná.

Em 1990, a produção de Champignon foi de apenas 3.000 toneladas (EIRA et al., 1997), sendo estimado atualmente 10.000 toneladas anuais. De acordo com a APAN (Associação dos Produtores de Agricultura Natural), a produção brasileira de shiitake no final de 1995 entre seus associados, era de aproximadamente seis toneladas mensais (preço médio no atacado de R\$ 10,00/kg de cogumelo fresco). Informações obtidas do representante da COPCO (Cooperativa de Produtores de Cogumelos) revelam que a produção apenas de seus cooperativados é de duas toneladas (ZORZENON, 2000). Ainda não se dispõe de dados sobre a produção de *Pleurotus* spp no país.

Os dados oficiais, de qualquer forma, são subestimados, sendo registrados apenas os cogumelos comercializados junto a CEAGESP (Centrais Gerais de Abastecimento do Estado de São Paulo) e os que são destinados à exportação, que são registrados pela CACEX - Carteira de Comércio Exterior (EIRA et al., 1997; BONONI et al., 1999). Sabe-se, no entanto, que quantidades significativas são comercializadas diretamente pelos produtores junto a restaurantes, lanchonetes, pizzarias e outros estabelecimentos congêneres, além de feiras livres.

A produtividade brasileira de *A. bisporus* em Mogi das Cruzes, ainda é da ordem de 5 a 7 kg de cogumelos fresco/100kg de substrato úmido (4 a 6 kg de cogumelo fresco/m²). Na Europa, entretanto, em países como Holanda, Bélgica, Alemanha e França, a produtividade média desse cogumelo é de 30 kg/100kg de substrato (EIRA, 2000).

1.1.5 Fatores inerentes às necessidades nutricionais do cogumelo

1.1.5.1 Carbono

A principal fonte de carbono e, conseqüentemente, de energia de um tecido vegetal são os polissacarídeos e a lignina da parede celular, embora outros componentes poliméricos como lipídeos e proteínas também podem ser utilizados (MAZIERO, 1990).

Aproximadamente, 50-60% do peso seco da madeira é constituído de celulose; 10-30% de hemicelulose e 20-30% de lignina (MASON, 1980). A celulose, que é atacada tanto pelos fungos de podridão marrom quanto de podridão branca, é constituída de moléculas de glicose. Já as hemiceluloses são constituídas de moléculas de arabinose, galactose, manose, xilose e ácidos urônicos. A lignina, por sua vez, é a que possui a estrutura mais complexa e que ainda não foi totalmente descrita, constituindo-se basicamente de unidades de fenilpropano com um anel benzeno ligado a um grupo hidroxila e um ou dois grupos metoxílicos. As ligações presentes nesta molécula são altamente resistentes à degradação química, sendo poucos os microrganismos que conseguem utilizar esta substância para sua nutrição (MASON, 1980).

Em relação à degradação da madeira e de outros materiais lignocelulósicos, sabe-se em geral, que os degradadores naturais mais eficientes de lignina são os fungos causadores de podridão branca da madeira, os quais são na maioria, basidiomicetos. Este nome deriva da coloração branca que a madeira adquire em fases avançadas de degradação (ZADRAZIL, 1978). Tais organismos degradam celulose, hemicelulose e lignina, sendo que a lignina é preferencialmente atacada em relação aos polissacarídeos e estes são os únicos microrganismos capazes de metabolizar completamente a molécula de lignina a CO₂ e água

(ZADRAZIL, 1978). A degradação é proveniente da excreção de enzimas metabolizadas através das hifas do fungo (MILES; CHANG, 1997).

Como fungos típicos de podridão branca, com atividades degradadora da madeira, os gêneros dos fungos estudados no presente trabalho: *Pleurotus*, *Lentinus* e *Polyporus* crescem na natureza em condições ideais de crescimento, e produzem cogumelos através da degradação desse material ou de algum substrato contendo celulose e lignina. Em função dessa degradação, os fungos conseguem obter nutrientes necessários para seu desenvolvimento e reprodução. Dessa forma, foram estudadas linhagens selvagens de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries, *Polyporus arcularius*. Batsch: Fr, procedentes da coleção do INPA/CPPF em substrato contendo serragem e suplementos a base de cereais.

Qualquer que seja o método de cultivo, o sucesso da produção dependerá do completo entendimento da biologia do fungo e de como o ambiente poderá influenciar o crescimento e desenvolvimento deste. A domesticação de uma linhagem não é tarefa muito fácil, quando se tenta reproduzir em laboratório as condições ideais de desenvolvimento. Foram necessários testes preliminares para tentar entender a fisiologia do fungo. Estes procedimentos encontram-se abordados no capítulo 2.

1.1.5.2 Nitrogênio

Apesar da madeira ser o substrato natural para os fungos, este substrato não possui um conteúdo de nitrogênio alto e, este, se faz necessário para a síntese de todos os compostos nitrogenados (proteínas, purinas, pirimidinas e para a quitina da parede celular do fungo). As principais fontes de N como suplemento são: sais de amônia, nitratos, uréia e compostos orgânicos nitrogenados como aminoácidos (CHANG; MILES, 1997). Entretanto, a

necessidade de nitrogênio por parte desses fungos não deve ser muito grande, de acordo com Eira, (2003)*.

As diferentes espécies e linhagens poderão responder diferentemente à adição desses suplementos. A uréia, fosfato de amônia, tartarato de amônia e nitrato de potássio, aparentemente apresentam melhores resultados segundo levantamento feito por Maziero (1990). Peptona proporciona melhor crescimento do fungo quando comparada com outras fontes de nitrogênio orgânico.

Cabe observar que quando se utiliza um sal como fonte de nitrogênio, há a liberação do íon que se integra às moléculas do substrato, podendo mudar o pH do meio se não for metabolizado na mesma taxa que o nitrogênio, pois ocorrerá um acúmulo desse íon. O mesmo fenômeno ocorre quando outros sais são utilizados como suplemento.

Alguns autores (RANGASWAMI et al., 1975; GINTEROVÁ; LAZAROVÁ, 1987) **apud** Maziero (1990), defendem a habilidade de espécies do gênero *Pleurotus* fixar nitrogênio atmosférico transformando-o em compostos orgânicos, pois alguns experimentos conduzidos em condições não axênicas mostraram que o conteúdo total de nitrogênio aumentou. Kurtzman (1979), no entanto, discutiu a provável impossibilidade de um organismo eucarioto fixar nitrogênio. O autor sugeriu a hipótese de que os esporos das bactérias fixadoras de nitrogênio são estimuladas a se desenvolver durante o processo de pasteurização do substrato, gerando as bactérias responsáveis pela fixação do nitrogênio.

Há que se ter cuidado para evitar suplementações excessivas de nitrogênio, o que pode inibir o desenvolvimento do fungo. Montini (2001) relata que substratos com altas concentrações de farelo inibiram a produção do basidioma e conseqüentemente, o número de cogumelos de *L. edodes* em condições axênicas.

*Eira, 2003, comunicação pessoal.

1.1.5.3 Sais minerais

De modo geral, os elementos minerais necessários à “frutificação” do fungo são os mesmos exigidos por qualquer planta cultivada, dividindo-se em macroelementos e microelementos (MOLENA, 1986). Fósforo, potássio, magnésio e enxofre são macronutrientes necessários para o crescimento de diversos fungos (MILES; CHANG, 1997). Molena (1986) cita o cálcio como um desses elementos. Kurtman e Zadrazil (1984), **apud** Maziero (1990), relatam que além do aumento do crescimento do micélio, alguns sais minerais como o cloreto de sódio, de magnésio e de cálcio também estimulam o início da formação dos basidiomas.

Entre os microelementos (elementos traços) mais estudados, e essenciais para o crescimento de muitas espécies de fungos encontram-se: ferro, zinco, alumínio, manganês, cobre, cromo e molibidênio (MOLENA, 1986; MILES; CHANG, 1997). Experimentalmente, não é fácil determinar a quantidade necessária desses elementos, porque o elemento em teste poderá estar presente em quantidades suficientes na forma impura em algum ingrediente do meio de cultivo ou pode ter sido introduzido através do inóculo. Esses elementos são constituintes ou ativadores de várias enzimas (MILES; CHANG, 1997).

1.1.5.4 Vitaminas

As vitaminas exercem um papel importante no metabolismo de suas funções como co-enzimas. Os fungos são capazes de produzir em quantidades suficientes a maioria das vitaminas de que precisam (MILES; CHANG, 1997).

Maziero (1990), abordando vários estudos testando diversas vitaminas (vitamina C, ácido fólico, pentotenato de cálcio, inositol, niacina, peridoxina, riboflavina e tiamina) em

relação ao crescimento micelial de *Pleurotus* spp, observou um melhor crescimento do micélio em todas as vitaminas testadas, porém o melhor resultado foi para tiamina, segundo os autores por ela consultados. Kurtzman e Zadrazil (1984) discutem a não necessidade da adição de tiamina ou outras vitaminas em substratos não estéreis, pois os demais organismos presentes, as sintetizam normalmente. Molena (1986) experimentou diversas combinações de vitaminas, mas seu custo elevado não compensou o aumento da produção de cogumelos. Eira e Minhoni (1991) reportam que as vitaminas e outros fatores de crescimento são normalmente excretados por muitos microrganismos que vivem em sintrofia durante a compostagem, pasteurização e corrida micelial no substrato não havendo, portanto, a necessidade de suplementos vitamínicos, levando ainda em consideração que a adição dos mesmos aumenta o custo do processo produtivo. É, portanto, discutível a adição de vitaminas para melhor produtividade desses organismos.

1.1.6 Fatores físicos

O crescimento e desenvolvimento do fungo não são afetados apenas pelos fatores nutricionais, mas também pelos fatores físicos tais como: temperatura, conteúdo de umidade, luz, aeração e gravidade. Existe um intervalo que varia do mínimo, máximo e ótimo de crescimento em relação a esses fatores físicos. Certamente esses fatores são influenciados por outros fatores, como a nutrição, condições de cultura, característica genética da linhagem e da fase de crescimento do micélio (MILES; CHANG, 1997).

1.1.6.1 Temperatura

A influência da temperatura tanto no crescimento micelial, quanto na produção dos corpos de “frutificação” é dependente da espécie e das linhagens em questão, ou seja, há uma temperatura ideal para o bom desenvolvimento do metabolismo do fungo, que é característico de cada linhagem. De qualquer forma, há um intervalo que varia entre 10-40 °C, que deve ser respeitado, pois ultrapassando estes limites, pode ocorrer morte do micélio (MAZIERO, 1990). A temperatura ótima de crescimento também varia com a finalidade do cultivo. De acordo com Miles e Chang (1997), a temperatura ideal para produzir basidioma é diferente daquela destinada à produção de produtos metabólicos tais como os destinados a compostos medicinais como complexos polissacarídeos/polipeptídeos imuno-reguladores (CPPI). As temperaturas extremas são importantes na determinação da sobrevivência assim como na dispersão das espécies na natureza (CHANG; MILES, 1997).

Kaufers (1935), conforme Maziero (1990), cultivou em laboratório o *Pleurotus corticatus* e segundo seus resultados, a temperatura ideal para o crescimento do micélio foi de 27 °C. Clock et al. (1959), ainda segundo Maziero (1990), obtiveram um bom crescimento do micélio de *P. ostreatus* no intervalo de 22-31 °C. À 37 °C o micélio ainda cresceu, mas de forma anormal, enquanto que a 17 °C não se observou crescimento. A temperatura letal para *P. ostreatus* e *P. eringii* é de 40 °C quando exposto a mais de 24 horas; para a espécie *P. “Florida”*, esta temperatura é letal quando a exposição é de 72 horas (ZADRAZIL, 1978). Maziero (1990), estudando diversas linhagens de *Pleurotus*, observou melhor crescimento micelial de maneira geral entre 25 °C a 30 °C.

Em relação ao aparecimento dos primórdios, Block et al. (1959), segundo Maziero (1990), reportam que a linhagem de *P. ostreatus* por eles estudada frutificou a 26 °C; porém a 31 °C, apesar de o corpo de “frutificação” continuar se desenvolvendo, não havia mais o

aparecimento dos primórdios. Para Kurtzman e Zadrazil (1984), os autores devem ter usado em seu trabalho, uma linhagem de *Pleurotus* sp “Florida”, pois a temperatura de “frutificação” a 26 °C é muito alta, condizente com a temperatura desta linhagem.

Eira e Minhoni (1997) relatam que o controle de temperatura em uma câmara de cultivo é decisivo para se obter uma boa colheita. Para um bom crescimento da massa miceliana no substrato de cultivo, a temperatura ideal para *Pleurotus* spp. deve estar entre 24 e 26 °C. Após o qual iniciará da fase de brotação e crescimento, quando a temperatura no interior da câmara de cultivo deverá estar entre 15 e 24 °C, sendo que as mais baixas são consideradas ideais para cultivo de shimeji ou linhagens de *Pleurotus* spp mais exigentes e, ainda, minimiza a incidência de pragas e doenças. Segundo os mesmos autores, algumas linhagens de hiratake frutificam normalmente em clima quente (até 30 °C). Para as linhagens mais exigentes, o controle da temperatura e da umidade relativa do ar no interior da câmara de cultivo pode ser conseguido através de uma central de climatização automatizada que, associado ao sistema de ventilação, garanta as condições climáticas ideais ao desenvolvimento do cogumelo.

1.1.6.2 Umidade

A maioria dos fungos requer alto conteúdo de umidade. Gusmán et al. (1993) relatam que os fungos têm um crescimento ótimo em substratos que tenham entre 70 a 80% de umidade. Urben et al. (2003) citam uma boa faixa de umidade para *Lentinus edodes* cultivado com técnica Jun-Cao entre 55-70%. Há que ser levado em consideração não só o conteúdo de umidade do substrato, mas também a umidade relativa do ar. Deve-se ter em mente que os cogumelos são constituídos de cerca de 90% de água, sendo, portanto fundamental para seu desenvolvimento, além do fato de que não são dotados de estruturas especiais contra a perda

de água, pois a perdem com facilidade para o meio ambiente, principalmente o micélio vegetativo (MAZIERO, 1990).

Existe um ótimo de conteúdo de água, tanto no composto quanto no ar. Baixa umidade relativa do ar faz com que o cogumelo perca água para o meio, impedindo que o mesmo se desenvolva adequadamente. As camadas mais externas do cogumelo começam a secar e a amarelar. Com isto, há a perda de qualidade do cogumelo ou a perda da produção. A baixa umidade do ar também faz com que o composto perca umidade para o ambiente, diminuindo a disponibilidade de água para a formação do cogumelo (BONONI et al., 1999). No caso do gênero *Pleurotus*, se o micélio superficial do composto sofrer ressecamento muito intenso, ele morrerá e os primórdios serão abortados (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA et al., 1999; BONONI et al., 1999). A umidade relativa da sala de “frutificação” deve ser em torno de 80 a 90% e pode ser mantida pela impermeabilização das paredes e pela aspersão de água (EIRA; MINHONI, 1997). Existem sistemas de cultivo altamente sofisticados em escala comercial na Europa, Canadá, EUA e Japão, onde padrões de umidade, temperatura, CO₂ e O₂ são monitorado por computadores. Atualmente, há um sistema do Modulo de Cogumelo da UNESP - Botucatu importado da Holanda, onde os esses padrões são rigorosamente controlados.

Atomizadores podem manter a umidade, com a ajuda de um umidostato, sendo acionado quando houver a necessidade de manter a umidade relativa do ar. Em cultivos mais rústicos, costuma-se manter o chão e as laterais do barracão de cultivo bem úmidos, de modo que a evaporação normal proporcione a manutenção da umidade relativa. Há que se levar em consideração que além de outros fatores já mencionados, a umidade é fator essencial na cultura de cogumelos comestíveis.

1.1.6.3 Iluminação

Mesmo não sendo um organismo fotossintetizador, a luminosidade é essencial para diversas espécies de fungos, podendo retardar a formação dos primórdios em algumas espécies enquanto que em outras, é essencial para a “frutificação” (CHANG; MILES, 1997). Para o cultivo dos gêneros *Pleurotus* e do *Lentinus*, assim como para vários fungos comestíveis, é preciso que haja certa luminosidade para a indução da formação dos primórdios e também para o desenvolvimento normal dos corpos de “frutificação” (BONONI et al., 1999). A luminosidade recomendada para *Pleurotus* spp., após o período de incubação e abertura dos sacos de cultivo, é de 2000 lux/hora com período de 12 horas ao dia (BONONI et al., 1999).

Chang e Miles (1997) mencionam que a luz ultravioleta na faixa de 200-300nm afeta o crescimento vegetativo do fungo, podendo ser letal ou induzir a mutação, uma vez que esse comprimento de ondas é absorvido pelo DNA. Os autores relatam ainda, que os efeitos da luz ultravioleta podem ser reversíveis pelo processo de fotoreativação, desde que tais micélios sejam expostos à luz visível num comprimento de onda de 360-420nm.

Para Przybylowicz e Donoghue (1990), o shiitake necessita de luz em ambas as fases: crescimento vegetativo e “frutificação”. A exposição da luz durante o crescimento vegetativo, segundo Ishikawa (1967) citado Przybylowicz e Donoghue (1990), é pré-requisito para a fase de “frutificação”. A duração não está bem definida. Entretanto, Przybylowicz e Donoghue (1990) sugerem que uma breve exposição de 20 minutos/dia pode ser suficiente. Para eles, o crescimento vegetativo do Shiitake responde bem em uma faixa de lux de 180-940, com um ótimo de 500 lux. Segundo Rajarathnan e Bano (1987), citados por Eira e Minhoni (1997), a presença da luz é necessária para a formação dos corpos de “frutificação”. Entretanto, podem ocorrer alterações da coloração do píleo, onde espécies do gênero *Pleurotus* de coloração

branca tornam-se opacas e escuras quando na presença da luz, devido à liberação de fenoloxidasas que oxidam fenóis e formam melanoidinas.

Urban et al. (2003) relatam que a luz afeta o desenvolvimento do micélio e dos esporos de *L. edodes*, necessitando, portanto, de um ambiente escuro para o seu desenvolvimento e sob alta intensidade de luz de (50 a 270 lux) e temperatura apropriada, o micélio formará uma camada membranosa de coloração marrom para os substratos feitos com Jun-Cao e serragem. Ainda segundo os mesmos autores, em relação à formação do corpo de “frutificação” é necessário pouca luminosidade, necessitando apenas de luz difusa. Ao contrário, em ambiente bastante luminoso, o corpo de “frutificação” apresenta cor pálida, estipe longo e deformação no píleo. Em ambientes bastante iluminados os autores aconselham usar saco plástico na casa de vegetação para cobrir os cogumelos durante a manhã e retirá-los à noite.

1.1.7 Fatores químicos

1.1.7.1 Trocas gasosas

As exigências das fases de crescimento do micélio vegetativo são diferentes da fase de “frutificação”. As taxas de CO₂ que ocorrem naturalmente na floresta, no interior de um tronco colonizado por *Pleurotus* spp certamente será superior à taxa de “frutificação”. No entanto, não causam danos ao crescimento. O sistema é auto-regulado segundo Zadrazil (1975). O autor estudou várias espécies do gênero *Pleurotus*, em relação ao efeito de CO₂ e observou que todas as espécies estudadas se desenvolviam mais rapidamente em concentrações mais elevadas de CO₂, tendo por limite aproximadamente 22% do volume. O fato do bom desempenho dessas linhagens a altas taxas de CO₂ demonstra vantagem

competitiva importante contra outros microrganismos que não crescem ou não sobrevivem nessas condições, principalmente se o substrato está sendo colonizado em condições não axênicas. Por outro lado, altas concentrações causam uma deformação do corpo de “frutificação”, sendo parecida com a que ocorre quando da deficiência de luz no período de desenvolvimento do corpo de “frutificação”. O estipe cresce acentuadamente e o píleo fica reduzido, semelhante ao processo de estiolamento nos vegetais (ZADRAZIL, 1978). O oxigênio também tem sua influência no crescimento do micélio. Apesar do micélio de *Pleurotus* se desenvolver em condições semi-anaeróbicas, é necessária certa taxa de O₂, caso contrário, o crescimento será nulo (ZADRAZIL, 1978). Para o desenvolvimento do basidioma, teores maiores de oxigênio são necessários.

Uma ventilação adequada é essencial para reduzir o teor de dióxido de carbono a um nível desejável, gerado durante as fases de desenvolvimento do cogumelo. Concentrações acima de 2% podem causar atrasos no crescimento micelial e conseqüentemente, diminuição da produtividade (EIRA; MINHONI, 1999). Concentrações de CO₂ abaixo de 0,2% são consideradas ótimas para o desenvolvimento. Durante um pico de crescimento, a ventilação deve ser intensa e constante, pois a grande quantidade de cogumelos em rápido crescimento desprende grande quantidade de CO₂, tornando necessária a elevação de O₂ na câmara (EIRA; MINHONI, 1999).

1.1.7.2 pH

A importância do pH está primordialmente relacionada com metabolismo dos nutrientes. A maioria dos cogumelos tem um bom desenvolvimento com pH entre 6,5 e 7, porém há variações de acordo com a espécie e linhagem (MILES; CHANG, 1997). A microbiana presente no substrato, segundo Zadrazil e Grabbe (1983) é distintamente

influenciada pelo pH inicial: valores um pouco abaixo de 7,0 geralmente são ótimos para o desenvolvimento do micélio dos cogumelos, porém a maioria dos fungos consegue desenvolver-se em pH acima de 7,0. Urban et al. (2003), referindo-se ao cultivo de *L. edodes* com tecnologia Jun-Cao, relatam que o micélio pode crescer em pH aproximadamente entre 3,0 a 6,5, enquanto que a faixa ideal fica entre 4,0 e 5,5. Entretanto, o valor de pH entre 3,5 e 5,0 é o melhor para a formação dos primórdios e para o desenvolvimento do corpo de “frutificação”. Por esta razão, o valor do pH sempre deve ser monitorado quando da escolha dos materiais que compõem o substrato, do local de cultivo e da fonte de suprimento de água (URBEN et al., 2003).

O pH está diretamente ligado com a reação enzimática do fungo e a madeira. Cada enzima tem o seu pH ótimo. O pH afeta a solubilidade do composto que por sua vez determina sua disponibilidade para o fungo (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990). O pH ótimo para os fungos decompositores de madeira como *Lentinus* spp. e *Pleurotus* spp situa-se entre 4,5 e 5,5, o pH da madeira é normalmente 4,5 a 5,0, aumentando a acidez com a decomposição da madeira. O ótimo para “frutificação” fica entre 3,5 a 4,5 (para cultura de laboratório ou meio artificial) e 5,0 para meio com serragem para *L. edodes* (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

1.1.8 Etapas do cultivo

Para o cultivo de fungos comestíveis geralmente são adotadas as seguintes etapas: obtenção da matriz primária, produção da “semente” ou “spawn”, preparo do substrato ou composto, pasteurização (quando o cultivo não é feito em condições axênicas), inoculação e colonização do substrato, indução dos primórdios (quando necessário com choque térmico),

“frutificação” e colheita. Serão abordados aqui, aspectos de produção de fungos de decomposição primária como *Pleurotus* spp. e *Lentinula edodes*.

1.1.8.1 Obtenção da matriz primária e produção da “semente” ou “spawn”

Para a maioria dos cogumelos comestíveis ou não, a produção da matriz ou micélio segue a mesma técnica e recomendações feitas para o cultivo de Champignon (*Agaricus bisporus*), cogumelo ostra (*Pleurotus*), shiitake (*Lentinula edodes*) e Orelha-de-judeu (*Auricularia*), com algumas exceções (URBEN et al., 2003). Duas etapas distintas são fundamentais para a preparação da “semente” ou matriz: a obtenção do inóculo puro do fungo e o preparo da “semente” ou matriz propriamente dita.

A obtenção da matriz primária pode ser realizada tanto pelo processo sexuado como pelo assexuado. Neste caso será abordado como processo assexuado. Constitui-se da fase micelial ou vegetativa do fungo, que coloniza completamente um substrato nutritivo previamente esterilizado (meio de cultura). Sua obtenção inicia-se pelo isolamento do fungo, através de pequenos fragmentos de um basidioma sadio, colocado em meio de cultura esterilizado, sob condições assépticas. Após o crescimento micelial no escuro, com temperatura de 24 ± 1 °C (dependendo da linhagem) faz-se a repicagem do micélio inicial, (matriz primária) desenvolvido em meio de cultura, para o farelo ou grão de cereal ou para a serragem enriquecida com farelo, incubando-se por 30 dias, no escuro, a 24 ± 1 °C. Esta fase corresponde à produção da “semente” (MOLENA, 1986; EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997). A função principal dos grãos é servir como veículo de dispersão do micélio, pois devido à estrutura frágil das paredes das hifas é impossível manusear o micélio sem danificar (MAZIERO, 1990).

Embora os meios mais utilizados na obtenção da matriz primária sejam batata-dextrose-agar e malte (BONONI et al, 1999), o meio serragem-dextrose-agar (SDA) é mais indicado por evitar a adaptação fisiológica, que pode ocorrer quando o meio de cultura utilizado possui características muito diferentes do substrato de produção (EIRA; MINHONI, 1997, EIRA; MONTINI, 1997). Leatham e Griffin (1984) observaram que culturas de *L. edodes*, cujo desenvolvimento ocorreu em meio de cultura à base de extrato de madeira, conseguiram adaptar-se aos efeitos inibitórios das substâncias presentes na madeira.

A tendência atual é de se produzir cada vez mais o inoculante a partir do substrato de cultivo. No caso de se trabalhar com serragem pode-se produzir o inoculante “semente” com grãos misturados a serragem ou apenas com a serragem. Neste caso “spawn” ou “semente” é o próprio substrato colonizado pelo micélio do cogumelo, com o objetivo de favorecer a distribuição do inóculo em diferentes pontos de cultivo, contribuindo desta forma para uma colonização mais uniforme e rápida do substrato, reduzindo o índice de contaminação (EIRA; MINHONI, 1997).

1.1.8.2 Substrato de cultivo

Atualmente há uma grande tendência para aproveitamento de resíduo agroindustrial para cultivo de fungos comestíveis e medicinais. Contudo, métodos tradicionais continuam sendo utilizados como o cultivo de *Lentinula edodes* (shiitake) em toras por alguns camponeses japoneses e chineses, utilizando carvalho e algumas espécies de castanheiras, embora o cultivo em tubos cilíndricos (em sacos de polipropileno ou polietileno de alta densidade-PEAD) com serragem enriquecida seja mais utilizado.

A técnica para a produção em serragem foi desenvolvida principalmente no Japão. Outros países como Holanda e Estados Unidos, estão também utilizando este método para a

produção de *L. edodes*, em grande escala (BONONI et al., 1999). No Brasil o cultivo tradicional é feito normalmente em toras de eucalipto, podendo também ser cultivado em toras de abacateiro, mangueira, nogueira, castanheira e carvalho (sendo as duas últimas muito utilizadas para cultivo no Japão (EIRA; MINHONI, 1997). Atualmente já se usa no Brasil serragem de eucalipto enriquecida para produção desse cogumelo).

Quanto ao material utilizado para produção de cogumelo, deve ser preferencialmente resíduo, de aquisição acessível, geralmente disponível nas proximidades, do local de cultivo, para diminuir o custo de produção. Deve-se ter o cuidado de observar que os resíduos sejam livres de produtos químicos adversos ao crescimento do micélio (MONTINI, 2001) e que não ofereçam toxidez, uma vez que se está trabalhando com um produto alimentício. Se o resíduo for de baixa produtividade, procede-se a suplementação que normalmente é feita com grãos ou farelos de cereais (EIRA; MINHONI, 1997; BONONI et al., 1999; PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990; STAMETS; CHILTON, 1983; STAMETS, 2000).

Os suplementos contêm uma mistura de proteína, carboidrato e gordura, onde a proteína é a principal fonte de nitrogênio destes materiais, contêm minerais e vitaminas que também influenciam no crescimento do fungo. Sua adição objetiva, principalmente, o aumento dos níveis de nitrogênio e carboidratos disponíveis. Açúcares e amido por serem carboidratos prontamente disponíveis, aumentam a velocidade de colonização e a consequente degradação do substrato, reduzindo o tempo de “frutificação” porque o micélio converte facilmente esses carboidratos em reserva para a “frutificação”, aumentando a produtividade (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). Outros suplementos, como o calcário ou CaCO_3 devem ser adicionados ao meio de cultivo, para a manutenção do pH favorável ao crescimento fúngico durante os últimos estágios de decomposição do substrato, devido o aumento de acidez ocasionada pelo metabolismo do fungo. O gesso é amplamente utilizado na indústria de cogumelos para melhorar a estrutura física do composto e ajustar o pH, atuando também

como uma fonte de cálcio (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). A concentração de 5% (em relação ao peso seco do substrato) é ideal para o cultivo de shiitake em serragem, melhorando a estrutura e porosidade do substrato, sendo considerado um ótimo suplemento (STAMETS; CHILTON, 1993).

É importante que se verifique que a matéria a ser utilizada no cultivo não tenha sofrido decomposição por outros microrganismos durante o processo de armazenamento, quando se está trabalhando com fungos decompositores primários como os dos gêneros *Pleurotus* e *Lentinus*, ou seja, fungos que degradam os elementos estruturais do resíduo. Se este já for degradado, a colonização por parte destes fungos será dificultada e o ataque de outros organismos competidores será facilitado, promovendo uma possível queda de produtividade (MAZIERO, 1990).

A serragem utilizada para compor o substrato normalmente é proveniente de folhosas. Serragens de coníferas são utilizadas para o cultivo de *L. edodes* (shiitake) em áreas onde existe escassez de serragens de folhosas, sendo, portanto necessário se fazer a mistura dos dois tipos de serragem (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). Muitas coníferas contêm resina e compostos fenólicos que inibem o crescimento do fungo. Estes compostos devem ser degradados ou removidos quando se pretender utiliza serragem desse tipo, podendo ser alterada com a adição de carbonato de sódio para remover parte desses componentes (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE; 1990).

Diversos tipos de substratos têm sido utilizados para a produção de fungos comestíveis (GUZMÁN; MARTINEZ; 1986; GUZMÁN et al, 1993; MAZIERO, 1990; BONONI et al, 1999; EIRA; MINHONI, 1997; MILES; CHANG, 1997; STAMETS; CHILTON, 1983; STAMETS, 1993; URBEN, 2001; URBEN et al., 2003; ZHANXI; ZHANHUA, 2001). Os mais usados são: serragem, palha de trigo, milho, arroz, sabugo de milho, bagaço de cana-de-açúcar, diversas gramíneas, suplementados com grãos ou farelo de diversos cereais. A escolha

de um ou mais resíduos como suplemento à serragem depende, dentre outros fatores, dos custos e disponibilidade da região (MAZIERO, 1990; EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997; GUZMÁN et al, 1993; URBEN et al, 2003; STAMETS; CHILTON, 1983; STAMETS, 1993).

Quando se utiliza o bagaço de cana-de-açúcar é importante observar que este resíduo não seja muito velho, pois reduz a produtividade. No entanto, o bagaço moído fresco é rico em carboidratos livres, permitindo que outros organismos competidores ou patógenos se instalem no substrato colonizando-o mais rapidamente. Para evitar este problema, o bagaço deve ser pré-tratado através de um processo de fermentação ou de lavagem (KURTZMAN; ZADRAZIL, 1984).

Produtores japoneses de *Flammulina velutipes*, *Auricularia* spp. e *P. ostreatus* usam uma fórmula padrão na proporção de 4:1 de serragem e farelo respectivamente, onde a serragem é envelhecida por um ano, com a finalidade de melhorar a capacidade de retenção de água. Uma imersão prévia da serragem antes da mistura do farelo é uma maneira eficiente de se conseguir um ótimo de 60 % de umidade, utilizada por estes produtores (SAMETS; CHILTON, 1983). Esta fórmula segundo Lizuka e Takeuchi (1978) citado por Przybylowicz e Donogue (1990), é bastante usada na Ásia. Nos Estados unidos, usa-se 80% de serragem, 10% de farelo e 10% de grão (usualmente trigo ou painço). Em Taiwan, o substrato para cultivo do shiitake é feito com 84% de serragem, 5% de farelo de arroz, 5% de palha de trigo, 3% de farinha de soja e 3% de óxido de cálcio (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). As formulações dos substratos têm-se tornado ilimitada em função da matéria-prima e dos resíduos da agroindústria (STAMETS, 1993).

Atualmente, os estudos estão sendo voltados para uma tecnologia que possibilite o cultivo de cogumelos comestíveis em substratos de baixo custo e de fácil aquisição. A serragem de madeira é um material em abundância na região norte, por se tratar de região

madeira bem como o bagaço de cana-de-açúcar, e estipe da pupunheira os quais viabilizaram a produção, nas linhagens testadas neste estudo, destacando *P. ostreatus* com maior produtividade (abordado no capítulo 2).

1.1.8.3 Pasteurização e esterilização

O processo de pasteurização trata-se de um tratamento térmico dado ao composto para eliminação dos possíveis organismos competidores para o fungo que se pretende cultivar (MAZIERO, 1990). Pode ser feita de maneira natural, em um túnel pasteurizador ou sala, sem necessidade de vapor aquecido, valendo-se apenas da termogênese, com controle de entrada e saída de ar para controlar a temperatura dentro da sala ou pode ser feita através de vapor aquecido, dependendo de uma fonte de aquecimento externo que pode ser uma caldeira ou tambores de 200 litros de água, aquecida a lenha ou óleo diesel ou gás (EIRA; MINHONI, 1997).

No cultivo de fungos lignícolas como *Pleurotus* spp. a pasteurização é feita após a compostagem do substrato. Após a revirada do composto, quando a temperatura da termogênese, proveniente da massa do composto produzido na (meda) por ação dos microrganismos, cai abaixo de 45 a 50⁰ C (EIRA; MINHONI, 1997). O composto é então introduzido na sala de pasteurização. A temperatura de pasteurização para *Pleurotus* é mais severa do que para *Agaricus*, sendo elevada para 75 °C durante as primeiras 6 horas. Após o corte de vapor, a temperatura tenderá a cair até 40 a 45 °C, mantendo-se um regime de ventilação constante para resfriamento do composto; em seguida, procede-se a inoculação (EIRA; MINHONI, 1997). O substrato a ser inoculado dependendo do tipo de cultivo, pode ser acondicionado em saco plástico, caixas de madeira ou de plástico, prateleiras ou “cama”, blocos prensados e recobertos com lonas plásticas ou em containers especiais.

1.1.8.4 Inoculação do substrato

Após o processo de esterilização (utilizado em cultivo axênico) ou pasteurização (quando se trabalha com substrato natural compostado) procede-se à inoculação do substrato, que é feita imediatamente após o resfriamento do substrato em condições assépticas (câmara de fluxo laminar) para o caso de cultivo em condições totalmente axênicas. Nessas condições, o substrato a ser inoculado é autoclavado a 121°C durante 2 a 4 horas (EIRA; MINHONI, 1997). Para cultivos em condições naturais (não axênicas), o substrato é inoculado logo após a pasteurização e resfriamento do substrato que é em torno de 30 °C, sendo em local asséptico.

Existem diversos tipos de inóculo (semente): com grãos, grãos com serragem, e inóculos líquido (menos utilizado). Existem ainda os que são feitos de pequenos tarugos de madeira (cilíndricos inoculados com o fungo, muito usado para a o cultivo do shiitake em tora). Inóculo misto de serragem/grão é usado para cultivo de *Pleurotus* e *Lentinus*, quando se utiliza serragem. É importante que o inoculante seja da mesma serragem do substrato de cultivo. A quantidade de inóculo utilizada para o substrato de cultivo também é variável, recomenda-se normalmente 0,5 a 5% (v/v) (CHANG; MILES, 1997). Zadrazil e Grabbe (1983) recomendam 0,5 a 5% do substrato úmido. Urben et al. (2003), citam 0,5 a 5% do peso úmido do substrato para o cultivo de *Pleurotus* com técnica Jun-Cao. Gonçalves (2002), estudando o efeito da fragmentação do micélio visando obtenção de inoculantes em suspensão (fermentação líquida) para cultivo de shiitake, em cultivo axênico, verificou que inoculantes fragmentados até 10 segundos propiciaram maior produtividade e eficiência biológica em comparação com inoculantes sólidos usuais. A autora relata que o cultivo utilizando inoculantes líquidos tem a vantagem de reduzir o tempo para a “frutificação”. Entretanto, apresentam a desvantagem de tendência à degeneração e mutação após cultivos sucessivos (ITAAVARA, 1993), **apud** Gonçalves, (2002).

1.1.8.5 Incubação do substrato

Incubação, também conhecido como período da corrida micelial, em que ocorre o desenvolvimento do micélio vegetativo no substrato (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). É o mecanismo em que o micélio do fungo, através do processo enzimático, digere o substrato e armazena reserva para a “frutificação”.

Durante esse processo, o micélio se desenvolve e coloniza todo o composto, formando uma massa branca e compacta. É um processo complexo, caracterizado por intensa atividade biológica em que moléculas de celulose, hemicelulose e lignina do composto são atacadas pelas enzimas do fungo tais como celulase e lacase que reduzem estas moléculas a fenóis e açúcares simples mais facilmente assimiláveis. Esta atividade enzimática perdura desde o início da colonização até a produção dos cogumelos, sendo que durante o período de crescimento do micélio a produção é maior (BONONI et al., 1999). A incubação normalmente ocorre em uma sala que pode ser ou não escura, dependendo da exigência do fungo quanto à luminosidade, e com a temperatura entre 22 a 25 °C para *Pleurotus* (MAZIERO, 1990). Guzmán et al. (1993) utiliza a faixa de 25 a 30 °C para o cultivo de várias espécies de *Pleurotus* no México. Bononi et al. (1999) relatam que a temperatura ideal de incubação para estes fungos varia de acordo com a espécie, mas, em geral, deve ser mantida entre 25-28 °C (temperatura do composto e não do ar). A faixa de 25 a 30 °C também é utilizada pela Embrapa-CENARGEN para o cultivo de *Pleurotus* e de 22 a 25 °C para *L. edodes* com cultivo em Jun-Cao (Urban et al., 2003). Przybylowicz e Donogue (1990) relatam temperatura de 25 °C ideal para *L. edodes*.

É importante o monitoramento da temperatura durante a corrida micelial, para se manter a temperatura ótima para o crescimento do micélio. Se houver um aumento excessivo

da temperatura (fenômeno que ocorre durante a atividade metabólica de *Pleurotus* e dos microrganismos presentes no substrato) poderá ocorrer o retardamento do crescimento micelial ou até mesmo sua morte. Containers com grandes massas de substratos são evitados justamente pelo fato de que a perda de calor é dificultada, o que gera um aumento da temperatura (MAZIERO, 1990).

O período de incubação é de aproximadamente três semanas para *Pleurotus* (MAZIERO, 1990; BONONI et al., 1999). Em baixas temperaturas, como 4 a 5 °C, o micélio da maioria das espécies cessa a sua atividade, entrando em “estado de dormência”, e, acima de 35 a 40 °C, pode até ser letal para certas espécies (BONONI et al., 1999). Para evitar aumento excessivo de temperatura interna do substrato durante o período de incubação, Bononi et al. (1999) recomendam manter a temperatura da sala entre 20 a 22 °C e não amontoar os sacos dos substratos.

O período de incubação é variável, pois o desenvolvimento do micélio ocorre dentro de um prazo variável, de acordo com o tipo do inóculo, qualidade do composto e condições de câmara de cultivo, mas, de modo geral oscila entre 20 e 30 dias para *Pleurotus* (EIRA; MINHONI, 1997). Urban et al. (2003) citam 20 a 45 dias para o desenvolvimento total do micélio com técnica Jun-Cao. Para o cultivo de shiitake em toras, Eira e Minhoni (1997) relatam que, após dois a três meses da inoculação das toras, já há um crescimento micelial significativo, que pode ser indicado por uma coloração amarelada na região dos furos inoculados e a região em volta fica fofa. Em condições de cultivo natural em toras, este período de maturidade do micélio para emissão dos primórdios, varia de seis meses a um ano (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990).

Durante a colonização do substrato em cultivo de *L. edodes* utilizando serragem enriquecida com farelo de arroz, acondicionados em saco plástico, Bononi et al. (1999) recomendam ciclos de claro e escuro alternados, com pelo menos 8 horas de luz por dia, com

duração de quatro a seis semanas. O comprimento de ondas entre 370 a 420nm e intensidade de luz 180 a 500lux são mais eficientes durante o processo de colonização, podendo ser conseguido através de lâmpada fria (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). Segundo Bononi et al. (1999), após a colonização total do substrato, os sacos plásticos são cortados e a superfície do micélio começa a se transformar em uma capa marrom coriácea. Ao final da corrida micelial há o período de estabilidade micelial ou maturação do micélio, que vai até o endurecimento e escurecimento da capa micelial que se torna amarronzada (CHANG; MILES, 1989). A formação da capa micelial é muito importante, pois age como uma barreira à perda de umidade, sendo também uma defesa contra agentes contaminantes, sendo resultante da oxidação de polifenól oxidase, uma reação à luz e ao oxigênio (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). A umidade do ar deve ser mantida em torno de 80 a 90% e aproximadamente entre 40 a 50 dias após a abertura dos sacos inicia-se a produção, após a indução dos primórdios através de choque térmico de 24 a 48 hs a 10 °C.

1.1.8.6 Indução dos primórdios e “frutificação”

A indução dos primórdios do cogumelo ocorre naturalmente na natureza. A mudança súbita das condições físicas externas estimula a formação dos primórdios, que se desenvolverão, formando o corpo de “frutificação” (BONONI et al., 1999). No cultivo de cogumelos, é utilizada com o objetivo de estimular ou acelerar a formação dos mesmos. Na fase de indução e produção de cogumelos, os fatores físicos como temperatura, luminosidade, trocas gasosas, disponibilidade de água no composto, umidade relativa e os métodos de indução são aspectos que influenciam a produção e a qualidade dos cogumelos (ZADRAZIL; GRABBE, 1983).

Mudanças bruscas de temperatura normalmente causam indução dos primórdios. Entretanto, existem diferenças de acordo com as linhagens (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). Baixas temperaturas podem indiretamente induzir a “frutificação” em linhagens de shiitake, por causarem a redução da atividade metabólica, reduzindo conseqüentemente os nutrientes disponíveis, levando a uma condição de “stress”, onde em outros fungos a temperatura pode ter um efeito direto, favorecendo processos metabólicos específicos que disparam a indução (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990).

Hawker (1966), **apud** Przybylowicz e Donogue (1990) relata que estudos com diversos fungos revelam que a redução de açúcares prontamente disponíveis no substrato (final do crescimento vegetativo) favorece a “frutificação”. Durante todo o ciclo de “frutificação”, a fase mais sensível às mudanças ambientais é a fase de formação dos primórdios. O teor de umidade do substrato, a temperatura e a umidade relativa são importantes nesse processo. No cultivo de shiitake em toras, a umidade para indução dos primórdios deve ser em torno de 55 a 65% e a temperatura depende da linhagem (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990).

Várias são os mecanismos de indução artificial de primórdios. Pode ser feita alterando-se a temperatura de incubação (± 25 °C) por temperaturas mais baixas (± 16 °C) em cultivo de *P. ostreatus* “shimeji” (EIRA; MINHONI 1997)”. Algumas linhagens respondem bem a esta variação de temperatura, outras produzem mais quando submetidas a choque térmico.

Marino (2002), em seu estudo de melhoramento genético com *P. ostreatus* visando o cultivo axênico de linhagens resistentes ao calor, obteve linhagens que se destacaram pela precocidade de “frutificação”, produtividade, com dois ciclos de produção e sem a necessidade de choque térmico, usando apenas a imersão em água.

Para o cultivo de shiitake em serragem, conforme Leatham (1985), citado por Przybylowicz e Donogue (1990), o choque térmico pode ser feito refrigerando-se os blocos a temperatura de 5 a 8 °C por cinco a doze dias ou mergulhando-os em água fria (5 a 16 °C) por 12 a 24 horas, sendo acondicionados em sala de “frutificação” (16 °C) e após algum tempo aparecerão primórdios no topo dos sacos. Após o desenvolvimento (3 a 4 dias), os cogumelos poderão ser colhidos (EIRA; MINHONI, 1997).

Fluxos adicionais de “frutificação” surgirão sem a necessidade de novas induções, desde que sejam mantidas as condições de “frutificação”. Os produtores podem controlar o fluxo fazendo indução sincronizada, através do aquecimento dos blocos, seguido de redução de temperatura ou choque térmico. A aspersão ou imersão também induzirá o fluxo. (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990).

Conforme Eira e Minhoni (1997) a indução para a “frutificação” dos cogumelos é feita por redução de temperatura e/ou encharcamento (recobrimento com água fria limpa durante 2 a 4 horas) e após o escoamento da água, remove-se o saco.

O choque térmico para *L. edodes*, com tecnologia Jun-Cão modificada, realizada pela EMBRABA-CENERGEN, é feito mergulhando-se os substratos miceliados, em água fria ou gelada durante 7 a 8 horas. Em seguida os sacos são acondicionados em um galpão ou casa de vegetação. Quando os primórdios começam a surgir, os sacos plásticos são retirados, e os substratos são molhados duas vezes ao dia. A cada umidificação os sacos são cobertos com um plástico durante duas horas ou até o ambiente ficar agradável (URBEN et al., 2003). As variações climáticas regionais precisam ser consideradas. A umidade relativa de Brasília (sede da EMBRABA-CENERGEN) é baixa, provavelmente na região amazônica a umidificação dos sacos não tenha necessidade de ser tão intensa, já que a umidade relativa da região é alta.

No Brasil, o ciclo de cultivo do cogumelo shiitake em toras é impreciso devido às variações climáticas. As frutificações ocorrem num período entre três e doze meses após a

inoculação, em função da temperatura da região e manutenção da umidade (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997). Para acelerar este processo no cultivo em toras de eucalipto os autores recomendam como forma de indução, a imersão das toras miceliadas após o período de incubação aos primeiros sinais de emissão dos primórdios (calos ou pipocas), normalmente surgidos após 2 a 3 meses. Suplementação mineral na água de imersão aumentou a produtividade desse cogumelo. Porém, a eficiência da conversão de energia em cogumelos foi baixa (0,31 -1,90%). O aumento e a eficiência de conversão de energia só foram possíveis em toros bem colonizados pelo fungo (QUEIROZ, 2002; EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997).

Com relação à temperatura da água de imersão, existe uma controvérsia, provavelmente em razão das diferenças ambientais e observações muitas vezes sem padrões experimentais (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997). Alguns produtores que possuem sistema de refrigeração do banho reportam resultados positivos desde que o sistema provoque um diferencial de temperatura de 5 a 10 °C, de forma constante.

Shiomi et al. (2007) relataram que a temperatura da água e o banho de imersão afetaram a produção de *L. edodes*, resultando em aumento significativo de produção (2 a 4 vezes) nos tratamentos em que as toras foram submetidas a água resfriada e nos tempos de imersão mais curtos (6 a 10 horas). Entretanto, em experimentos realizados em Botucatu, SP, onde a região tem clima ameno e amplitude térmica maior que 10 °C, a utilização do gelo para resfriamento do banho não evidenciou diferença significativa em relação à imersão em banho natural (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997).

O tempo de indução depende das condições ambientais e da idade das toras e, a temperatura de “frutificação” varia de 5 a 30 °C, dependendo da linhagem da “semente” utilizada para o cultivo; a umidade relativa do local das toras deve estar entre 80 e 90%. O aparecimento dos primórdios dar-se-á no espaço de dois a três dias e sua colheita poderá ser

efetuada após sete a dez dias, sendo que em épocas frias o metabolismo do fungo é reduzido, aumentando, portanto, o prazo para colheita (EIRA; MINHONI, 1997). O banho de indução poderá ser feito por etapas, dependendo da necessidade de colheita do produtor, permitindo que este submeta ao banho apenas as toras necessárias para sua venda (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997).

1.2 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BONONI, V. L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. S. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. S. Paulo: Ícone 2^a Ed., 1999, 206p.

CAPELARI, M. **Atividade biodegradadora e cultivo de três espécies de Basidiomicetos: *Pleurotus spp. e Agrocybe perfecta* (Rick) Sing.** 1996. 154f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Botânica). Instituto de Biociências. USP. S. Paulo, 1996.

CHANG, S. T.; HAYES, W.A. **The biology and cultivation of edible mushroom**. New York: Academic Press, 1978, 587p.

CHANG, S. T. Mushroom as human food. **Bioscience**, Washington, v. 30, n 6, p. 399-401. 1980.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. A new look at cultivated mushroom. **Bioscience**, Washington, v. 3, n. 6 p. 358-362, 1984.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China. **Mushroom Journal for the Tropics**, Hong Kong, v. 7, p. 31-37. 1987.

CHANG, S. T. Mushroom biology: The impact on mushroom production and mushroom products In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong, 1993. p. 3-20.

CHANG, S. T. O cultivo de cogumelos no contexto do princípio “Zeri”: potencial de aplicação no Brasil. Palestra proferica In: **I simpósio internacional sobre cogumelos na alimentação, saúde, tecnologia e meio ambiente no Brasil**, Brasília, DF , 2003.

COUTINHO, L. N. Doenças fúngicas e fungos competidores em cogumelos comestíveis do gênero *Agaricus*. In: **Anais da III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. Mogi das Cruzes, 2000. p. 96-103.

CRISAN, E. V.; SANDS, A. A nutritional value: In: CHANG, S. T.; HAYES, W.A. (Eds). In: **The biology and cultivation of edible mushroom**. New York: Academic Press, 1978. p. 137-168.

DELMAS.J. Cultivation in Westerns Countries: Growing in Caves. In: Chang & Hayes (Eds.) **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Press, 1978. p. 252-299.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. **Manual teórico/ prático de biotecnologia e microbiologia agrícola: cultivo de cogumelos comestíveis**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais-UNESP, 1991. 48p.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. **Manual do cultivo do “Hiratake” e “Shimeji” (Pleurotus spp)**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais-UNESP, 1997. 63p.

EIRA, A. F.; MONTINI, R. M. C. **Manual do cultivo do shiitake (Lentinula edodes (Berk) Pegler)**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais-UNESP, 1997. 38p.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A.; BRAGA, G. C.; MONTINI, R. M. C.; ICHIDA, M. S.; MARINO, R. H.; COLAUTO, N. B.; SILVA, J.; NETO, F. J. **Manual teórico/ prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais-UNESP, 1997.115p.

EIRA, A. F. 2000. Cultivo de (cogumelos, compostagem e ambiente). In: **Anais da III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. Mogi das Cruzes, p. 83-95.

FIDALGO, O. 1965. Conhecimento micológico dos índios brasileiros. **Rickia**, 2: 1-10p.

FIDALGO, O., GUIMARÃES, S. M. P. B. A situação do cogumelo comestível no Brasil e no exterior. In: **Anais I Encontro Nacional sobre Cogumelos Comestíveis**. Secretaria de agricultura e abastecimento/Instituto de Botânica. Mogi das Cruzes. 1985. 7-23p.

FIGUEIREDO, G. J. B. **Cultivo de cogumelos comestíveis (noções básicas de cultivo)**. Sincidato rural de Mogi das Cruzes-SENAR, S. Paulo, 1996. 37p.

GARCIA, H. S., KHANNA, P. K., SONI, G. L.. In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong, 1993. p.227-236.

GUSMÁN, G., MATA, G., SALMONES, D., SOTO-VELASCO, C., GUZMÁN-DÁVALOS, L. **El cultivo de los hongos comestibles**. Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. 1993. 245p.

GUTIÉRREZ, A. CAMELO, L., PRIETO, A., MARTINEZ, M. J., MARTINEZ, A. T. Anisaldehyde production and aryl-alcohol oxidase and dehydrogenase activities in lignolytic fungi of the genus *Pleurotus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC. V. 60, n. 6, p. 1783-1788. 1994.

GUZMÁN, G.; MARTINEZ, D. *Pleurotus* growing on coffee-pulp in a semi-industrial plants- a new promising mushroom cultivator technology in the subtropics of México. **Mushroom Newsletter for the Tropics**. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIRED). Xalapa, México. v. 6, n. 3, p. 7-10, 1986.

GONÇALVES, C. R. **Efeito da fragmentação do micélio visando a obtenção de inoculantes em suspensão para cultivo de shiitake**. 2002. 120f Tese (Doutorado em Biotecnologia) Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.

ISHIKAWA, N. K. **Cogumelos consumidos pela comunidade de índios Yanomami do pólo base Xitei/Xidea**. Boa Vista, RR. Relatório de excursão. INPA. Manaus, 2002, 25p.

KURTZMAN JR. R. H. Nitrogen fixation by *Pleurotus*? **Mushroom Science**, Braunschweig, v. 10, n. 1, p. 427-435. 1979.

KURTZMAN JR. R. H., ZADRAZIL, F. Physiological and taxonomic consideration for cultivation of *Pleurotus* Mushrooms. In: CHANG, S. T., QUIMIO, T. H., (Eds.) **Tropical Mushrooms**. Hong Kong: The Chinese University Press, 1984. 493p.

LEATHAM, G. F., GRIFFIN, T. J. Adapting liquid spawn *Lentinus edodes* to oak wood . **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 20, p.360-363, 1984.

LAJOLO, R. M. Fungos como alimentos. In: LACAZ, C. S., MINAMI, P. S., PURCHIO, A. (Eds.). **O grande mundo dos cogumelos**. São Paulo: Nobel, 1970. p. 113-124.

MASON, C. F. 1980. **Decomposição**. São Paulo: EPU/EDUSP, 63p.

MATHEUS, D. R., OKINO, L. K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V. L. **Zigomiceto, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. São Paulo: Instituto de Botânica/Secretaria do Meio Ambiente, 1999. p.107-139.

MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* spp.** 1990. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica). Instituto de Biociências. USP. São Paulo, 1990.

MAZIERO, R.; ZADRAZIL, F. Effects of different heat pre-treatments of wheat straw on its microbial activity and colonization by different tropical and subtropical edible mushrooms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Amsterdam, v.10, n. 4, p.374-380, 1994.

MARINO, R. H. **Melhoramento Genético de *Pleurotus ostreatus* visando o cultivo axênico de linhagens resistentes ao calor**. 2002. 109 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, UNESP, Araraquara – SP, 2002.

MILES, P. G., CHANG, S. T. **Mushroom biology: concise basics and current developments**. Singapore: Word Scientific Publishing Co., 1997. 194p.

MOLENA, O. **O moderno cultivo de cogumelos**. S. Paulo: Nobel, 1986.170p.

MOLITORIS, H. P. Fungi in Biotechnology. **Mushroom Science**, Braunschweig v.12, n.1, p.445-455. 1989.

PEREIRA, M. E-conegócios é solução lucrativa para empresas. In: Pará, **Jornal O Liberal on Line**, coluna Responsabilidade Social. 2003. Disponível em <<http://o.liberal.com.br/social/default22>>. Acesso em 25/03/03.

PRANCE, G.T. An ethnobotanical comparison of four tribes of Amazonian Indians. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 2, p.7-27, 1972.

PRANCE, G.T. The mycological diet of the Yanomam indians. **Mycologia**, New York, v. 65 p. 248-250, 1973.

PRANCE, G.T. 1984. The use of edible fungi by Amazônian indians. In: PRANCE, G. T.; KALLUNK, J. A. (Eds.) Ethnobotany in the neotropics. **Advances in Economic Botany**, New York, p.127-139p.

PRYZZYBYLOWICZ, P., DONOGHUE, J. **Shiitake growers handbook: The art and science of mushroom cultivation**. Dubuque, Kendall: Hunt Publishing Company, 1990. 217p.

MONTINI, R. M. C. **Efeito de linhagens e substratos no crescimento micelial e na produtividade em cultivo axênico de shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler)**. 2001. 104f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agrônomicas. UNESP, Botucatu, 2001.

QUEIROZ, E. C. **Efeito da suplementação mineral na conversão de energia e produtividade do shiitake em toros de Eucalipto**. 2002. 73f. (Dissertação de Mestrado Ciências Agrônomicas/Energia na agricultura). FCA/UNESP. Botucatu, 73p. 2002.

RAJARATHNAM, S., SHASHIREKA, M. N., BANO, Z. Biopotencialities of the Basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**, New york, Academic Press, v. 37, p. 233-361, 1992.

ROSSI, I. R. **Suplementação de bagaço de cana-de-açúcar para cultivo axênico de cogumelo shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler]**. 1999. 129f. (Dissertação de Mestrado em Agronomia/Microbiologia). FCA/UNESP. Campus de Jaboticabal, 1999.

SALES-CAMPOS, C., ABREU, R.L.S., VIANEZ, B.F. Condições de uso e processamento de madeira nas indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, Manaus, v.30, n. 2, p.319-331, 2000.

SHIOMI, H. S.; MINHONI, M. T. A.; MACHADO, J. O. FILHO, A. C. Thermal and mechanical shocks affecting the first flush of production of *Lentinula edodes* on *Eucalyptus saligna* logs. **Brazilian journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 200-203, 2007.

STAMETS, P. CHIITON, J. S. **The Mushroom Cultivator**. Olympia, Washington: Agarikon Press, P. 159-216, 1983.

STAMETS, P., CHILTON, J. S. **The Mushroom Cultivator: A practical guide to growing mushroom at home**. Olympia, Washington: Agarikon Press, 1993, 415p.

STAMETS, P. **Growing gourmet and medicinal mushrooms**. 3 ed. Barkeley, Ca: Ten Speed Press, 2000, 574 p.

TRUFEM, S. F. B. Utilização de zigomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V. L. **Zigomiceto, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. S. Paulo: Instituto de Botânica/Secretaria do Meio Ambiente, 1999, p.51-67.

URBEN, A. F., OLIVEIRA, H. C. B., VIEIRA, W., CORREA, M. J., URIARTT, A. H. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada.** Brasília-DF. EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2001, 151p.

URBEN A. F.; URIARTT, A. H.; AMAZONAS, M. A. L.; OLIVEIRA, H. C. B.; CORREA, M. J.; VIEIRA, V. **Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais** (apostila do curso) EMBRAPA. Brasília, DF. 2003, 169p.

VEDDER, **Cultivo moderno del champiñon.** Tradução: Martinez, J. M. G. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, 1996. 369p.

VIANEZ, B. F., BARBOSA, A. P. **Estudo de alternativas de uso dos resíduos gerados pela indústria madeireira em Manaus e Itacoatiara, Estado do Amazonas.** Relatório CPPF/INPA. Manaus, 50 p., 2003.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In: Ghang, S. T.; Hayes W. A (eds.). **The biology and cultivation of edible mushrooms.** New York: Academic Press, p. 521-557, 1978.

ZADRAZIL, F.; GRABBE, K. Edible mushroom. In: REHM, H. J.; REED, G. Eds. **Biotechnology.** Verlag Chemil. Wiinhein, v. 3, n. 1, p. 145-187. 1983.

ZHANXI, L., ZHANHUA, L. **Juncao Technology**-Texbook for International Training Class. Fujian, The People's Republic of China: Institute of Junção. Fujian Agricultural University. 142p. 2001.

ZORZENON, J. 2000. Praga dos cogumelos comestíveis. In: **Anais da III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico.** Mogi das Cruzes, P. 104-110.

CAPÍTULO 2. Produção de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer em condições ambientais controladas “atmosfera modificada” a partir de resíduos madeireiros e agroindustriais da Amazônia.

RESUMO

O cultivo comercial de cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* pode representar uma alternativa economicamente viável, com grande potencial de inserção no modelo industrial madeireiro e agrícola na Amazônia em função do grande volume de resíduos gerados por estes segmentos. Este trabalho teve por objetivo selecionar resíduos regionais viáveis à produção de cogumelos comestíveis. Cinco resíduos madeireiros: serragem de *Simarouba amara* (marupá), *Ochroma pyramidale* (pau de balsa), *Brosimum parinarioides* (amapá doce), *Maquira coreaceae* (muiratinga), *Protium* sp (breu) e dois agro-indústrias: *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar) e *Bactris gasipaes* Kunth (estipe da pupunheira triturado) foram utilizados preliminarmente. Para este ensaio foram testadas três espécies fúngicas: *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries, *Polyporus arcularius*. Batsch: Fr., procedentes da coleção do INPA/CPPF. A partir do ensaio preliminar foi selecionado o fungo *P. ostreatus* para o cultivo (produção), por ter apresentado melhor crescimento micelial e dois fluxos de produção. Foram selecionados dois substratos oriundos de resíduos madeireiros: serragem de marupá e de pau de balsa e dois de origem agro-industrial: bagaço de cana-de-açúcar e estipe de pupunheira para a formulação dos substratos de cultivo, por terem apresentado melhores desempenho. Estes foram suplementados com uma mistura de farelo de arroz, trigos e milhos, como fonte de proteína, com adição de 2-3% de CaCO₃ para correção do pH (6,5). Os substratos (500g) foram acondicionados em sacos de PEAD, autoclavados a 121⁰C por uma hora e inoculados em câmara de fluxo laminar. O cultivo foi conduzido de forma axênica, em condições ambientais controladas, “atmosfera

modificada”. *Pleurotus ostreatus* produziu basidiomas em todos os substratos. Os primórdios surgiram primeiramente nos substratos produzidos com resíduo da pupunheira (SIAPP), seguido de bagaço de cana-de-açúcar (SIACN), de serragem de marupá (SIAMP) e de pau de balsa (SIAPB). A frutificação ocorreu dois a três dias após a emissão dos primórdios. A produtividade dos substratos foi avaliada em relação à eficiência biológica onde foram alcançados os respectivos resultados médios em percentuais (125,60; 99,80; 94,00 e 64,60) para SIAPP, SIACN, SIAMP e SIAPB. A alta eficiência biológica dos substratos, assim como o processo de cultivo, evidenciaram a viabilidade da linhagem testada e o potencial de aproveitamento dos resíduos, sugerindo o cultivo comercial desse cogumelo, o que poderá contribuir para melhoria das condições sócio-econômicas e sustentabilidade dos recursos da biodiversidade regional.

Palavras-chave: Cogumelo comestível, substratos alternativos, cultivo axênico, serragem, eficiência biológica, aproveitamento de resíduos

CHAPTER 2. Production of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. former Fr) Kummer in controlled environment conditions “modified atmosphere” from wood and agro-industrial residues of the Amazon.

ABSTRACT

The commercial cultivation of edible mushroom *Pleurotus ostreatus* can represent an economically viable alternative, with great potential of insertion in the wood and agricultural industrial model in the Amazon due to the great amount of residues generated by these sectors. The objective of this work was to select appropriate regional residues to the production of edible mushrooms. Five wood residues: sawdust of *Simarouba amara* (marupá), *Ochroma pyramidale* (pau de balsa), *Brosimum parinarioides* (amapá-doce), *Maquira coreaceae* (muiratinga), *Protium* sp (breu) and two agroindustrial: *Saccharum officinarum* (sugar cane bagasse) and *Bactris gasipaes* Kunth (stem of pupunheira palm tree) were used preliminarily. For this test three species of fungi were tested: *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries, *Polyporus arcularius*. Batsch: Fr, from INPA's collection. From the preliminary test, *P. ostreatus* was selected for the cultivation (production), since it presented a better micelial growth and two flush. Two substrates of wood residues were selected: sawdust of marupá, pau de balsa and two of agro-industrial origin: sugar cane bagasse and stem of pupunheira palm tree, for the formulation of the substrates, since they presented better performances. These were supplemented with a mixture of rice bran, wheat and corn, as protein source, with an addition of 2-3% of CaCO₃ for pH adjustment (6,5). The substrates (500g) were conditioned in high density polyethylene bags - HDPB, sterilized at 121⁰C for one hour and inoculated in chamber of laminar flow. The cultivation was carried out in an axenical way, in controlled environmental conditions, “modified atmosphere”. *Pleurotus ostreatus* produced basidioma in all substrates. The

primordia first appeared in substrates prepared with pupunheira residue (SIAPP), followed by sugar cane bagasse (SIACN), of marupá sawdust (SIAMP) and pau de balsa (SIAPB). The fruiting occurred two or three days after the primordia emission. The productivity of substrates was evaluated in relation to the biological efficiency. The respective average results in percentages (125,60; 99,80; 94,00 and 64,60) were reached for SIAPP, SIACN, SIAMP and SIAPB. The high biological efficiency of substrates as well as the cultivation process proved the viability of the strain concerning the cultivation and the potential of utilization of the residues, suggesting the commercial cultivation of this mushroom, which will contribute to the improvement of the social and economic conditions and sustainability of the biodiversity resources of the Amazon region.

Keywords: Edible mushroom, alternative substrates, axenical cultivation, sawdust, biological efficiency, utilization of residues.

2.1. INTRODUÇÃO

Os resíduos lignocelulósicos representam a fonte orgânica de maior abundância no planeta. Segundo Tsao (1986), estima-se que 60×10^9 toneladas de celulose sejam geradas pela fotossíntese anualmente no mundo, das quais apenas 20% são inseridas em processos produtivos gerando alimentos e energia.

As questões relativas ao aproveitamento dos resíduos gerados pelas indústrias madeireiras na região amazônica têm sido abordadas pela sociedade, principalmente com relação à poluição do meio ambiente. No setor industrial, segmentos do setor florestal também têm demonstrado essa preocupação, porém voltada para a geração de bens, pois a indústria madeireira visa aumentar sua eficiência e resolver o problema quanto uma considerável quantidade de rejeitos (VIANEZ; BARBOSA, 2003).

Segundo um levantamento das condições de uso e processamento de madeiras nas indústrias madeireiras de Manaus, realizado por Sales-Campos et al. (2000), os autores constataram perda de matéria-prima de até 60%. Esse potencial de resíduo tem sido subutilizado na região amazônica.

Muitos dos fungos basidiomicetos decompositores de madeira e de outros materiais lignocelulósicos, são também fungos comestíveis como é o caso de *Pleurotus* spp. (MAZIERO, 1990), os quais podem ser utilizados no processo de aproveitamento destes resíduos.

O cultivo de cogumelos do gênero *Pleurotus* na Amazônia se revela significativo, ao representar uma alternativa eficiente e economicamente viável para o aproveitamento de resíduos madeireiros, que constituem um desperdício de matéria-prima potencial para a bioconversão em produtos de valor agregado (cogumelo comestível). Esta alternativa possibilitará sua inserção no modelo industrial madeireiro regional, com o aproveitamento do

resíduo gerado por este setor. Além dos resíduos madeireiros existem na região, os de origem agroindustrial como o bagaço de cana-de-açúcar e o estipe da pupunheira gerado pela indústria produtora de palmito. Estes fungos utilizam tais resíduos, e através de sua extraordinária atividade metabólica, promovem a bioconversão destes em cogumelos comestíveis.

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* têm sido estudados intensivamente em muitas partes do mundo pelo seu valor gastronômico, habilidade em colonizar e degradar uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos (ZADRAZIL, 1978; CHANG et al., 1981; MAZIERO, 1990; WONG; WANG, 1991; STURION, 1994; YILDIZ et al., 2002; OBODAI et al., 2003; VELAZQUEZ-CEDEÑO, 2002; BONATTI et al., 2004; SHAH et al., 2004; TISDALE et al., 2006; FAN et al., 2006). Além de serem utilizados para a alimentação humana, podem ser empregados na alimentação de animais, onde diferentes espécies do gênero colonizam a forragem aumentando o seu valor nutritivo (COHEN et al., 2002).

O termo cogumelo é utilizado para designar os corpos frutíferos carnosos de determinados macrofungos que pertencem, em sua maioria, a classe Basidiomycetes. Na natureza, estes fungos desempenham papel fundamental na bioconversão de resíduos agroflorestais e industriais, degradando durante seu crescimento micelial, materiais lignocelulósicos geralmente insolúveis em água (MILES; CHANG, 1997). As espécies do gênero *Pleurotus* são colonizadoras primárias de vegetação em decomposição, sendo encontradas na natureza sobre madeira morta, especialmente galhos e troncos de árvores (STAMETS, 2000).

O gênero *Pleurotus* é cosmopolita. As espécies são conhecidas popularmente como cogumelo ostra, devido ao píleo possuir forma semelhante à concha de uma ostra, podendo ocorrer naturalmente em florestas temperadas, tropicais e subtropicais ou podem ser cultivadas artificialmente (MAZIERO, 1990; RAJARATHNAN et al., 1992).

Em relação à temperatura de crescimento, as espécies do gênero se desenvolvem em uma faixa ampla, permitindo o seu cultivo em diferentes regiões climáticas (STAMETS, 2000).

Além dos valores nutricionais, os cogumelos possuem atividades antitumoral, imunológica, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, entre outras (BRIZUELA et al., 1998). De acordo com Quimio et al. (1990), o cogumelo *P. ostreatus* é rico em proteínas, possui em torno de 27,38% em base seca. Atualmente, tem-se utilizado a definição destes cogumelos como “cogumelos nutracêuticos”, que para a medicina natural representa uma alternativa para o tratamento de transtornos fisiológicos, além de possuírem diversas características nutricionais (SAVÓN et al., 2002; BONATTI et al., 2004).

Os fungos do gênero *Pleurotus* estão incluídos dentro do grupo causador da podridão branca, por degradarem a lignina da madeira (ZADRAZIL, 1978; ROSADO et al., 2002; BONATTI et al., 2004). Este nome deriva da coloração branca que a madeira adquire em fases avançadas de degradação. Tais organismos degradam celulose, hemicelulose e lignina, sendo que a lignina é preferencialmente atacada em relação aos polissacarídeos e estes são os únicos microrganismos capazes de metabolizar completamente a molécula de lignina a CO₂ e água (ZADRAZIL, 1978).

Por possuírem enzimas celulase, ligninase, celobiase, lacase e hemicelulase estes fungos degradam uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos e resíduos orgânicos desempenhando papel importante no ciclo do carbono. Entretanto, não atuam como parasitas de árvores, mas como saprófitos que se desenvolvem sobre a madeira morta (CAPELARI, 1996; EICHLEROVÁ et al., 2000; DALIMOVA; AKHMEDOVA, 2001; ROSADO et al., 2002; BONATTI et al., 2004).

O cultivo de cogumelos comestíveis tem se tornado, cada vez mais, uma prática importante na sociedade moderna, devido ao aproveitamento de diferentes resíduos

lignocelulósicos que são utilizados por estes organismos no processo de bioconversão do resíduo para produção de alimento nutritivo e de valor agregado.

Os fungos comestíveis do gênero *Pleurotus* são capazes de colonizar diferentes resíduos lignocelulósicos devido ao seu extraordinário mecanismo enzimático capaz de degradar a celulose e lignina, possibilitando a liberação de nutrientes para a produção do cogumelo.

No Brasil, o consumo de cogumelos vem crescendo significativamente, em virtude do valor nutritivo e da disponibilidade do mercado, o que vem tornando o produto mais popular e acessível (BRAGA; EIRA, 1999). No entanto, a acessibilidade ainda é praticamente restrita às regiões sul e sudeste, devido aos produtores estarem localizados nestas áreas, onde as condições climáticas favorecem o cultivo, além do fato de ser recente o cultivo no país.

O presente estudo teve como objetivo testar a viabilidade de aproveitamento de resíduos madeireiros e agroindustriais regionais para formulação de substratos alternativos para o cultivo de fungos comestíveis, em especial, *Pleurotus ostreatus*, com o fim de contribuição não só do ponto de vista acadêmico, como também de auxiliar a introdução da fungicultura no estado do Amazonas.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais do INPA, seguindo as etapas:

2.2.1. Coleta, secagem e elebolação do material

A escolha do resíduo madeireiro (serragem) foi baseada na geração de resíduo madeireiro produzido pela indústria madeireira local, sendo procedente de pesquisas de

caracterização tecnológicas da madeira, realizadas pela Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia: CPPF/INPA, e de um levantamento das condições de uso e processamento de madeiras nas indústrias madeireiras de Manaus, realizado por Sales-Campos et al. (2000).

A coleta, secagem e preparo do material foram feitos na CPPF/INPA. No teste preliminar de seleção de resíduos e de linhagem fúngica utilizaram-se serragens de: *Simarouba amara* Aubl. (marupá), *Ochroma pyramidale* Cav. ex. Lam. (pau de balsa); *Brosimum parinarioides* Ducke (amapá doce), *Maquira coriaceae* C. C. Berg (muiratinga) e *Protium* sp. (Breu). Os resíduos de origem agro-industrial foram: bagaço de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar), procedente de micro indústrias produtoras de caldo de cana e estipe de *Bactris gasipaes* Kunth (pupunheira), procedente do descarte da produção do palmito, o qual foi triturado em triturador para madeira da Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais do INPA.

Após a coleta dos resíduos, estes foram secos no secador solar da CPPF/INPA, e acondicionado em depósitos plásticos de 100 L até a elaboração dos substratos para os testes subsequentes. Foram retiradas alíquotas para as análises físico-químicas, apenas dos resíduos que foram selecionados para o estudo de cultivo (produção).

2.2.2 Teste preliminar de seleção de resíduos e da espécie fúngica para a produção

O objetivo deste teste foi selecionar resíduos bem como a espécie fúngica de melhor desempenho e precocidade para a frutificação para o teste posterior de produção.

Para este teste foram utilizados os cinco resíduos madeireiros e os dois agroindustriais, especificados acima. As espécies fúngicas utilizadas foram *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries e *Polyporus arcularius* Batsch: Fr. Ao final

deste teste foram selecionados os substratos e a linhagem fúngica para dar procedência ao estudo de produção do cogumelo.

2.2.2.1 Preparo da matriz primária para o teste de seleção de resíduos e linhagem fúngica para produção

O preparo da matriz primária para este teste foi feito para cada espécie fúngica, a partir de linhagens de *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus strigosus* e *Polyporus arcularius*, procedentes da Coleção do Laboratório de Patologia da Madeira do CPPF/INPA. Inóculos das linhagens foram transferidos de tubos de ensaio para placas de Petri contendo meio BDA (Bononi et al., 1999) e incubadas a 27 °C por um período de três semanas. Esta matriz serviu como fonte de inóculo para a matriz secundária.

2.2.2.2 Preparo da matriz secundária para o teste de seleção de resíduos e linhagem fúngica para produção

A partir da cultura crescida em placas (item 2.2.2.1), discos de 9mm de diâmetro foram coletados da borda da colônia e transferidos para o centro de novas placas de Petri contendo o meio SDA: Serragem enriquecida com farelo de soja-dextrose-ágar (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA; MONTINI, 1997; EIRA et al., 1997). Em seguida as placas foram incubadas a 27 °C por um período de duas semanas e a cultura crescida nesse meio serviu de fonte de inoculação para a matriz terciária.

Os meios de cultura foram elaborados a partir da infusão de cada tipo de serragem e de bagaço. Inicialmente, fez-se a infusão com 85% de resíduo desidratado, 12% de farelo de soja e 3% de CaCO₃ para um litro de água fervente durante 30 minutos, sendo posteriormente

filtrado em algodão. Após, foi adicionado ao filtrado 12g de dextrose e 15g de agar/L. Em seguida, foram autoclavados a 121 °C, vertidos em placas de Petri e inoculados com a matriz primária, seguindo o mesmo parâmetro de incubação relatado no ítem anterior.

2.2.2.3 Preparo da matriz terciária (semente-inóculo) ou “spawn” para o teste de seleção de resíduos e linhagem fúngica para produção

Para a produção da matriz terciária foi utilizado substrato à base de grãos de sorgo, fervidos durante 15 minutos, filtrados em uma peneira, sendo adicionado 2% de CaCO₃ (em relação ao peso seco do grão), para a correção do pH em torno de 6,5. Os grãos foram depositados em frascos de vidro de 500g, na quantidade de 200g, ocupando aproximadamente 75% do volume dos frascos, os quais foram fechados a meia rosca e autoclavados a 121°C durante 45 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, os grãos foram inoculados com discos dos meios SDA (item 2.2.2.2) colonizados pelo fungo. Em seguida, os frascos foram fechados e incubados em temperatura a 27±1 °C. Após 20 dias de inoculação, os frascos já colonizados pelo micélio foram utilizados como fonte de inoculação nos substratos testados.

2.2.2.4 Desenvolvimento experimental do teste de seleção de resíduos e linhagem fúngica

Os substratos foram procedentes dos resíduos madeireiros (marupá, pau de balsa, amapá doce, muiratinga e breu) e agroindustriais (estipe da pupunheira triturado e bagaço de cana-de-açúcar) especificados no item 2.2.1.

Os substratos foram preparados de forma individual, tanto para os resíduos madeireiros como para os de origem agroindustrial. Com o objetivo de testar apenas a

capacidade produtiva das diferentes espécies fúngicas nos diferentes resíduos a fim de seleção de substratos alternativos utilizaram-se somente os resíduos, sem qualquer suplementação. Foram produzidas cinco repetições por substrato. Cada substrato foi reumidificado em torno de 70%, sendo adicionado 2% de carbonato de cálcio (em relação ao peso seco) para manter o pH em torno de 6,5.

Os substratos foram acondicionados em frascos de vidro (de capacidade para 1kg), sendo adicionados apenas 500g de cada substrato em base úmida, fechados a meia rosca e autoclavados a 121°C, durante uma hora. Após este processo os mesmos foram inoculados com a matriz terciária (item 2.2.2.3) em condições axênicas, e incubados em câmara climatizada por um período de um mês. A incubação foi conduzida a 25 ± 2 °C e a umidade relativa em torno de 80-85%, até a emissão dos primórdios, quando a temperatura da câmara foi reduzida para 25-22 °C e a umidade relativa alterada para 85-90%, para permitir a produção dos basidiomas. Após o primeiro o fluxo foi dado um choque térmico (20 °C) e hídrico com a finalidade de induzir outra frutificação.

2.2.2.5. Análise físico-química da matéria-prima e dos substratos

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Pesca e na Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas. Foram feitas com base nos resultados do teste preliminar de seleção de resíduos e da espécie fúngica para a produção de cogumelo, sendo efetuadas apenas nos resíduos destinados ao teste de produção (cultivo). As amostras foram divididas em matéria-prima, substrato inicial e residual, especificados a seguir:

a) Matéria-prima: farelo de arroz (FA), farelo de trigo (FT), farelo de milho (FM) e mistura de farelos (MFR), na proporção de 60: 20: 20 % para os respectivos farelos; serragem de marupá

(MP), de pau de balsa (PB), estipe de pupunheira triturado (PP) e bagaço de cana-de-açúcar (CN).

b) Substrato inicial autoclavado (SIA), antes de ser submetido ao cultivo do fungo, composto pela mistura de cada serragem ou bagaço + mistura de farelos (MFR), com a seguinte codificação: SIAMP - substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá; SIAPB - da serragem de pau de balsa; SIAPP - do resíduo do estipe da pupunheira; SIACN- do bagaço de cana-de-açúcar.

2.2.2.5.1. Determinação do conteúdo de umidade e massa seca

O conteúdo de umidade das amostras citadas foi feito pelo método de dessecação em estufa a 105°C, até massa constante, usualmente utilizado para a determinação do conteúdo de umidade da madeira. As amostras foram finamente moídas em moinho tipo Willey e passadas por classificador para obtenção da fração 40/60 mesh. Para a determinação de umidade pesou-se com precisão de 0,01mg, um grama de cada amostra moída (três repetições por amostra) em balança analítica Sartorius MP2474 em cadinho previamente tarado; secou-se o material em estufa a 105° C por quatro horas. Após, os cadinhos foram transferidos para um dessecador com desidratante (sílica) e deixados esfriar até temperatura ambiente; foram então pesados e a operação foi repetida até massa constante. A umidade foi expressa em %, pela fórmula:

$$U \% = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

U = Percentual de umidade

M1 = Massa inicial da amostra

M2 = Massa final da amostra

A massa seca foi calculada como sendo **MS%** = 100 - U

2.2.2.5.2. Determinação do pH

A determinação do pH das matérias-primas assim como dos substratos foi efetuada utilizando-se um potenciômetro, previamente calibrado com tampão 7 e 4, obedecendo a metodologia recomendada pela A.O.A.C. (1997). Foram executadas três repetições por amostra (3g). O material foi diluído em água destilada e em seguida foi feita a leitura em potenciômetro digital modelo Tecnal.

2.2.2.5.3 Determinação do teor de carbono orgânico

O teor de carbono orgânico foi realizado pelo método Walkley Black, segundo Mendonça et al. (2005) em que a determinação de carbono foi feita a partir do uso de dicromato de potássio em meio ácido e sulfato ferroso amoniacal. Trabalhou-se com 0,01g da amostra em vez de 0,5g devido a grande quantidade de carbono presente na amostra. A determinação da quantidade de carbono se deu pela oxidação do mesmo por via úmida (dicromato + ácido sulfúrico) e a maximização da oxidação por aquecimento externo. O resultado foi obtido por duas fórmulas complementares:

$A = [(V_{ba} - V_{am}) (V_{bn} - V_{ba})/V_{bn}] + (V_{ba} - V_{am})$, onde:

V_{ba} = volume gasto na titulação do branco controle com aquecimento;

V_{bn} = volume gasto na titulação do branco controle sem aquecimento;

V_{am} = volume gasto na titulação da amostra.

$$\% C = \frac{(A) (\text{molaridade do sulfato ferroso}) (3) (100)}{\text{Massa da amostra (mg)}}$$

3 = resultado da relação entre o número de mols de dicromato que reage com o ferro, multiplicado pelo número de mols de dicromato que reage com o carbono, multiplicado pela massa atômica do carbono (12);

100 = unidade de porcentagem.

2.2.2.5.4. Determinação do conteúdo de nitrogênio e proteína

A análise envolveu três etapas: digestão, destilação e titulação. As amostras foram digeridas (por via úmida) com ácido sulfúrico, destiladas em destilador de nitrogênio Marcone-MA036 e tituladas com ácido sulfúrico 0,02N. O nitrogênio determinado foi N total. Para tal, foi empregado o método Kjeldahl, tendo como princípio a transformação do nitrogênio amoniacal $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ em amônia (NH_3), a qual foi fixada em ácido bórico e posteriormente titulado em H_2SO_4 , até nova formação de amônia $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ na presença do indicador ácido base. Por titulação com ácido sulfúrico 0,02N, determinou-se a quantidade de nitrogênio presente na amostra e, conseqüentemente, a quantidade de proteína que a mesma contém (Malavolta et al.,1989; A.O.A.C.,1997). Os resultados foram expressos em porcentagem de nitrogênio, utilizando-se a fórmula:

Nitrogênio %: $(V \times 0,0014 / P) \times 100$

V = volume de H_2SO_4 gasto na titulação;

P = masa em grama da amostra.

Para a conversão do nitrogênio em proteína utilizou-se a fórmula a seguir, considerando-se que 100g de proteína contém, em média, 16% de nitrogênio:

Proteína % = N% x 6,25

2.2.2.6 Influência da temperatura e da suplementação no período de colonização do substrato de cultivo por *Pleurotus ostreatus*

O objetivo deste experimento foi verificar a influência da temperatura e da suplementação do substrato de cultivo no período de colonização de *P. ostreatus*. Para este experimento selecionou-se a serragem de marupá com e sem suplementação de uma mistura de cereais: Farelo de arroz, de trigo e de milho (60: 20: 20) como fonte de nitrogênio, e duas temperaturas (25 e 30 °C).

A linhagem de *P. ostreatus* foi procedente da coleção do INPA/CPFF. Para a produção do inóculo foi preparado o meio de cultura SDA: serragem-dextrose-agar (EIRA; MINHONI,1997; EIRA et al., 1997). Fragmentos do micélio do fungo (contido em tubos de ensaio) foram transferidos para placas de Petri contendo o meio, as quais foram incubadas a 25 ± 2 °C e serviram como fonte de inoculação do substrato.

Neste experimento foram utilizados dois tipos de substratos: serragem de marupá pura e serragem suplementada com a mistura de farelos de cereais e CaCO_3 . A serragem pura foi adicionada de 2 % de CaCO_3 . A suplementada obteve a seguinte formulação: 80: 18: 2, serragem, farelo e CaCO_3 , respectivamente.

O material foi homogeneizado, umidificado a 75%, acondicionado em frascos de vidro (500g) e autoclavado a 121 °C durante 45 minutos. Neste experimento, foram elaboradas cinco repetições por tratamento. Após resfriamento à temperatura ambiente, os substratos foram inoculados com fragmentos da cultura crescida em meio SDA e incubados em BOD a 25 e a 30 °C, sendo avaliados diariamente até a completa colonização do substrato.

2.2.2.7. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em diferentes substratos

Os resíduos madeireiros selecionados para a formulação dos substratos de cultivo foram serragem de marupá, pau de balsa e os de origem agroindustrial foram: estipe da pupunheira e bagaço de cana-de-açúcar por terem proporcionado maior suporte (mais de um fluxo de produção) em *P. ostreatus*. A escolha da espécie fúngica se deu em função daquela que possibilitar melhor colonização com conseqüente frutificação (produção de basidiomas) em maior número de substratos testados e com mais de um fluxo de produção.

2.2.2.7.1. Produção da matriz primária

A linhagem foi oriunda do Laboratório de Patologia da CPPF/INPA. Foi feito o reisolamento/multiplicação da linhagem fúngica para obtenção de inóculo viável para ensaios subseqüentes. Este procedimento foi feito através de transferência de pequenos fragmentos do micélio do fungo (contido em tubos de ensaio) para a placa de Petri, contendo meio malte (BONONI et al., 1999) e incubadas a 27 °C até que o diâmetro da colônia tivesse completado 2/3 do diâmetro da placa. Foram selecionadas as placas com melhor crescimento (crescimento micelial rizomórfico, característico da espécie), permitindo desta forma a padronização dos inóculos de acordo com Jesus, (2003), os quais serviram de fonte de inoculação para a matriz secundária.

2.2.2.7.2. Produção da matriz secundária

Inóculos (discos de 9mm de diâmetro) da cultura crescido em malte foram transferidos para placas de Petri contendo meio SDA: serragem-dextrose-ágar e ou bagaço-dextrose-ágar,

preparados conforme Eira e Minhoni (1997), Eira et al. (1997) para promover adaptação do micélio do fungo ao substrato de cultivo. Os meios foram feitos a partir da infusão dos resíduos selecionados recebendo a codificação de acordo com cada resíduo: meio de cultura elaborado a partir da serragem de marupá (SDA-MA), serragem de pau de balsa (SDA-BA), estipe da pupunheira (SDA-PP) e bagaço de cana-de-açúcar (SDA-CN).

Os meios de cultura foram feitos utilizando-se em base seca 100g de substrato/L final de infusão, preparado com 80% de serragem, 18% farelo de cereais (mistura de arroz, trigo e milho, na proporção 60: 20: 20) e 2% de CaCO_3 , para ajuste do pH (6,50). Os meio de cultura contendo serragem, estipe da pupunheira e ou bagaço, foram preparados a partir da infusão de cada substrato em 1,5L de água fervente durante 30 minutos. Foram filtrados em algodão e completados os volumes para 1L. Após a filtração, foram adicionados a cada meio, 12g de dextrose e 15g de agar/L. Os diferentes meios foram autoclavados a 121 °C e vertidos em placas de Petri e inoculados em câmara de fluxo laminar com o micélio do fungo crescido em malte (item 2.2.2.7.1).

2.2.2.7.3 Produção do “spawn” (inóculo ou semente)

Spawn (inóculo ou semente) é a fonte de inoculação do substrato de cultivo, considerada aqui, matriz terciária. Tal matriz foi produzida individualmente a partir dos resíduos (serragens de marupá, de pau de balsa, estipe da pupunheira e bagaço de cana-de-açúcar) de acordo com a metodologia proposta por Eira e Minhoni, (1997); Eira e Montini, (1997); Eira et al. (1997). A composição do inóculo para esta matriz foi a mesma utilizada para a preparação do meio de infusão SDA, da matriz secundária (item 2.2.2.7.2). Os substratos foram homogeneizado e umidificados em torno de 75 %; corrigiu-se o pH para aproximadamente 6,5 através da adição de CaCO_3 . Em seguida, foram depositados em frascos

de vidro de 500 mL, na quantidade de 200g, ocupando, aproximadamente, 75% do volume do frasco, os quais foram fechados e autoclavados a 121°C durante 45 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, e em condição axênica, a serragem contida em cada frasco foi inoculada com a matriz secundária (item 2.2.2.7.2). Os frascos foram fechados e mantidos em BOD a 25 ± 2 °C até a completa colonização do substrato pelo fungo. Essa matriz serviu como fonte de inoculação para os substratos de cultivo para produção do cogumelo da espécie *P. ostreatus* do presente estudo.

2.2.2.7.4. Elaboração do substrato de cultivo e produção

Os substratos (quatro formulações) foram elaborados a partir dos mesmos resíduos (material volumoso), e preparados de forma individualizada para cada tipo de substrato, obedecendo ao mesmo critério do item 2.2.2.7.3. Foram compostos por 80 % do material volumoso + 18% de da mistura de farelo de cereais + 2-3 % se CaCO₃. O material foi homogeneizado e umidificado a 75 %, acondicionado em sacos de polietileno de alta densidade-PEAD (embalagem para 1 kg), sendo adicionados apenas 500g (base úmida) por embalagem, com oito repetições por substrato, sendo três destinadas às análises físico-químicas e da composição centesimal dos substratos e dos cogumelos, sendo a composição centesimal tratada no capítulo 4.

Os substratos foram autoclavados a 121 °C, durante uma hora. Após, foram esfriados a temperatura ambiente e inoculados com a matriz terciária (item 2.2.2.7.3), em condições axênicas. Cada unidade experimental (saco contendo substrato) recebeu 3 % de inóculo em relação ao peso fresco do substrato. Esponjas foram colocadas na extremidade de cada saco para permitir trocas gasosas, os quais foram fechados com auxílio de um arame flexível. Os mesmos receberam os respectivos códigos: SIAMP, SIAPB, SIAPP e SIACN. Foram levados

para a câmara de incubação até a colonização do substrato, quando foram transferidos para a câmara de produção. Após a “frutificação” (produção dos basidiomas), os cogumelos foram colhidos e pesados quando maduros, sendo em seguida secos em estufa de circulação de ar (55 ± 5 °C) para a determinação da umidade e da massa seca.

Os controles desse experimento foram igualmente constituídos, porém com a ausência da inoculação pelo fungo. Os sacos controles foram levados à estufa de circulação de ar a 55 ± 5 °C para secagem até massa constante, com o fim de obtenção da massa seca do substrato, de maneira que foram utilizados no cálculo de produtividade, baseada no índice de eficiência biológica do substrato (EB) e de perda da matéria orgânica (PMO).

2.2.2.7.5 Condição experimental

O experimento de produção foi conduzido “in door”, sob condições ambientais controladas, “atmosfera modificada”. O substrato foi incubado em câmara climatizada, a temperatura de 25 ± 2 °C, na ausência de luz e umidade relativa em torno de 80-85%, com o objetivo de permitir a colonização do substrato até emissão dos primórdios, quando então foram transferidos para a câmara de produção. A temperatura foi reduzida para 22 ± 2 °C para induzir a frutificação e permitir a produção dos basidiomas (cogumelos) de maneira mais uniforme possível. A luminosidade foi mantida em 2000 Lux, com fotoperíodo de 12h d⁻¹. A umidade relativa foi programada para 90 % durante a frutificação. A taxa de renovação de ar na câmara de cultivo foi de $5 \times h^{-1}$, para manter o nível de CO₂ controlado durante a fase de produção dos basidiomas. A temperatura interna do substrato de cultivo foi monitorada durante o experimento. O período total de cultivo foi de 100 dias.

Durante o cultivo, foram analisadas as seguintes variáveis: crescimento micelial do fungo (tempo de colonização do substrato), período de emissão dos primórdios, frutificação,

número de fluxos, eficiência biológica (EB) em relação aos substratos e perda da matéria orgânica decomposta pelo fungo (PMO). Foram mensurados: diâmetro do píleo e tamanho do estipe do cogumelo cultivado nos diferentes substratos.

Utilizou-se a eficiência biológica para expressar a produtividade ou produção da biomassa fúngica, caracterizada pela conversão dos resíduos lignocelulósicos em basidiomas (cogumelos). É o índice mais utilizado pelos pesquisadores, o que facilita a comparação dos resultados com a literatura (RAJARATHNAM; BANO, 1989; MAZIERO, 1990; STAMETS, 2000, TISDALE et al., 2006; DAS; MUKHERJEE, 2007):

$$EB (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca de substrato (g)}} \times 100$$

A Perda de matéria orgânica (PMO) é o índice que avalia a decomposição do substrato pelo fungo. Tal índice é baseado na perda da matéria orgânica decomposta pelo fungo que é determinado através da diferença entre a massa seca do substrato inicial, e a massa seca do substrato residual. A PMO foi avaliada conforme Sturion, (1994), expressa pela seguinte fórmula:

$$PMO (\%) = \frac{\text{Massa seca do substrato residual (g)}}{\text{Massa seca do substrato inicial (g)}} \times 100$$

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Seleção de resíduos madeireiros X fungo para o estudo de produção

Foi possível visualizar o crescimento micelial de todas as espécies de fungos nos resíduos já no terceiro dia de incubação. Após 25 dias, já havia a cobertura micelial em todos os substratos, exceto no substrato constituído com serragem de breu, o qual não completou o crescimento micelial mesmo após 35 dias de incubação. Dentre os resíduos madeireiros testados neste experimento (marupá, pau de balsa, amapá doce, muiratinga e breu) o crescimento micelial com maior vigor ocorreu no substrato formulado a partir do marupá, seguido de amapá doce e de pau de balsa. Menor vigor micelial ocorreu nas serragens de muiratinga e de breu para todas as espécies fúngicas testadas.

P. ostreatus foi a espécie que apresentou melhor desempenho (Maior precocidade na colonização, na emissão dos primórdios e frutificação). Os primórdios surgiram primeiramente para *P. ostreatus* na serragem de marupá, três a cinco dias após a completa colonização do substrato, seguido de pau de balsa e amapá doce, cinco a sete dias, e por último em muiratinga, seis a oito dias após colonização pelo fungo. A frutificação ocorreu dois a três dias após a emissão dos primórdios em todos os resíduos madeireiros, exceto em breu, possibilitando a produção de basidiomas em dois fluxos em marupá, representados na Figura 1A e em pau de balsa (Figura 1B).

A segunda espécie fúngica a emitir primórdio em resíduo madeireiro foi *L. strigosus*, na serragem de marupá, seis a sete dias, seguida de amapá doce, sete a nove dias e de pau de balsa, juntamente com muiratinga, oito a nove dias após a colonização. Frutificou cinco a seis dias após a emissão dos primórdios, nos resíduos de marupá, pau de balsa (Figura 1C), muiratinga e amapá doce; entretanto, produziu apenas um fluxo nestes resíduos.

P. arcularius foi a espécie fúngica que apresentou menor desempenho. Dentre os resíduos madeireiros testados, emitiu primórdios apenas em marupá, oito a dez dias após colonização; frutificou cinco a sete dias após completa colonização pelo fungo, apresentando frutificação bastante escassa, de um a dois basidiomas por frasco (Figura 1D).

O desenvolvimento dos fungos em relação aos resíduos agroindustriais (pupunheira e bagaço de cana-de-açúcar) foi melhor em *P. ostreatus* que emitiu primórdio mesmo antes da completa colonização do substrato pelo fungo (18 dias) no resíduo da pupunheira, com frutificação após dois a três dias. No bagaço de cana-de-açúcar a frutificação ocorreu com 25-26 dias para esta espécie.

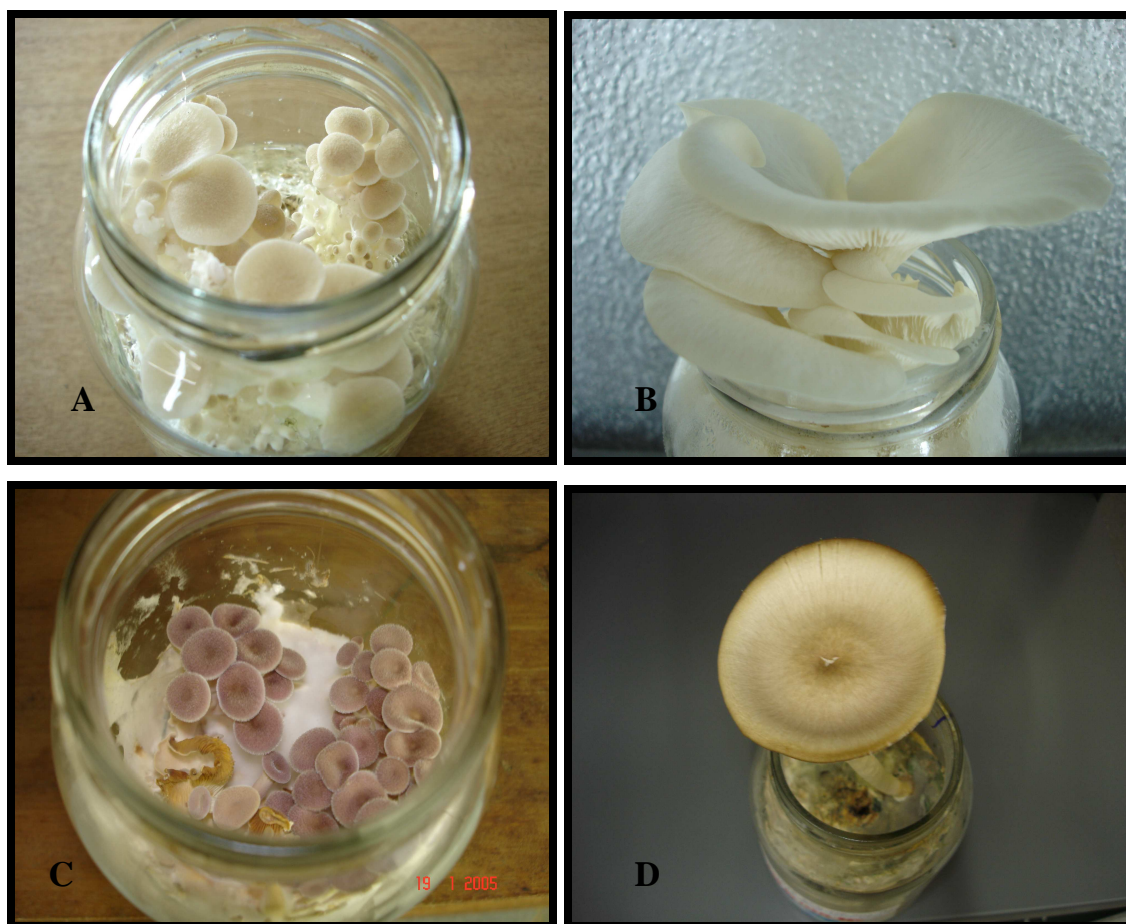


Figura 1. Basidiomas de diferentes espécies de cogumelos oriundas do teste preliminar de seleção de resíduos e da espécie fúngica para o experimento de produção. A: basidioma de *P. ostreatus* cultivado no resíduo de marupá. B: basidioma de *P. ostreatus*, lembrando o formato de ostra cultivado no resíduo de pau de balsa. C: basidioma de *Lentinus strigosus* cultivado no resíduo de marupá. D: basidioma de *Polyporus arcularius* cultivado no resíduo de marupá.

L. strigosus também obteve melhor desempenho no resíduo da pupunheira, seguido de bagaço de cana-de-açúcar, completando o crescimento micelial com 23 e 24 dias para os respectivos substratos, com emissão dos primórdios dois a três dias após colonização. Possibilitou frutificação em ambos os substratos, porém com apenas um fluxo.

Dentre os resíduos agro-industriais, *P. arcularius* frutificou apenas em bagaço de cana-de-açúcar, apresentando também basidiomas escassos.

Com base nestes resultados do teste preliminar de seleção de resíduos e da espécie fúngica para a produção do cogumelo, selecionou-se o fungo *P. ostreatus* para os ensaios de influência da temperatura e da suplementação no período de colonização do substrato de cultivo pelo fungo, bem como para o cultivo do cogumelo (produção). Tal escolha ocorreu em função da linhagem de *P. ostreatus* ter apresentado menor tempo para produção de basidiomas e mais de um fluxo de produção em maior número de resíduos.

Quanto aos resíduos para a produção, foram selecionados marupá, pau de balsa, pupunheira e bagaço de cana-de-açúcar, por terem proporcionado maior suporte (mais de um fluxo de produção) em *P. ostreatus*.

2.3.2 Composição da matéria-prima e do substrato inicial para o cultivo de *P. ostreatus*

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises físico-químicas da matéria-prima e do substrato inicial autoclavado. A secagem da matéria-prima (resíduos e farelos) foi importante no processo de elaboração dos substratos de cultivo, pois o baixo conteúdo de umidade (11,4 - 13,2 %) impediu a contaminação dos substratos por fungos competidores e possibilitou sua utilização em diferentes períodos.

No cultivo do cogumelo *P. ostreatus*, além do caráter da essencialidade dos minerais, presentes no substrato e abordados no capítulo 3, foi necessário adicionar uma fonte protéica

ao material volumoso (serragem, bagaço e estipe da pupunheira), que embora ricos em carbono, são pobres em nitrogênio. A fonte protéica (N) foi provida, portanto, pela mistura de farelos (Tabela 1).

Apesar da madeira, com relação C:N geralmente entre 350-500:1 (CHANG; MILES, 1989) ser substrato natural para fungos do gênero *Pleurotus*, na natureza este substrato não possui nitrogênio em quantidade suficiente para ser substrato de cultivo comercial de cogumelos. O tecido lenhoso da madeira, todavia, apresenta diferente conteúdo de N (0,03-1%), comparado ao das herbáceas que é da ordem de 0,58-1,71 % (CHANG; MILES 1989). Há necessidade de adição de N para a síntese de todos os compostos nitrogenados: proteínas, purinas, pirimidinas e para a quitina da parede celular do fungo (CHANG; MILES 1989). Portanto, há a necessidade de adição N, que é a fonte de proteína essencial para a produção do cogumelo. O nitrogênio é normalmente fornecido ao substrato na forma de farelos de cereais, os quais são geralmente ricos em proteínas. Não há um consenso, todavia, no que se refere à relação C:N para o cultivo de *Pleurotus* (ZADRAZIL, 1978; MAZIERO 1990). A relação C:N para este cogumelo, entretanto, é mais larga comparada à C:N necessária para o cultivo de *A. bisporus*, “champignon de Paris”, que necessita de C:N mais estreita (16-17:1) devido à maior exigência de nitrogênio por este fungo (CHANG; MILES 1989; BONONI et al, 1999).

O excesso de nitrogênio reprime a degradação da lignina e, conseqüentemente, retarda ou até mesmo cessa o crescimento do micélio de acordo com Kamra e Zadrazil (1988) citado por Maziero (1990). Os autores relatam ainda que o alto conteúdo de nitrogênio promove uma rápida utilização das fontes energéticas aumentando a formação da biomassa, que conseqüentemente aumenta a taxa de respiração. Com isso, o nível de O₂ é muito reduzido, influenciando diretamente na degradação da lignina, que é um processo oxidativo aeróbico. Esse mecanismo também foi observado no presente estudo, quando em testes preliminares a

este estudo se testou a suplementação da serragem com 20 % de farelo de soja. Por ser este cereal rico em nitrogênio e o percentual usado ter sido excessivo, provocou, em primeiro estágio, um crescimento micelial rápido, causando em seguida, a morte do micélio do fungo semelhante ao descrito pelos autores.

No estudo de Maziero (1990), o excesso de N, em substratos isolados (polpa de café, resíduo de alga, folha de alface e folha de rami) promoveu relação C:N baixa ($\leq 29:1$) para *Pleurotus* spp., o que não proporcionou bom desenvolvimento desse fungo. Ao contrário, inibiu o desenvolvimento do fungo.

Segundo Eira et al. (1997), a relação C:N inicial necessária para o cultivo de *Pleurotus* é da ordem de 80-100:1, quando se trata de cultivo de *Pleurotus* em substrato natural (compostado e pasteurizado), enquanto que para o cultivo axênico de shimeji (uma linhagem de *Pleurotus* sp. de tamanho pequeno e com basidiomas em forma de cachos) as relações C:N são mais estreitas.

A adição de N proveniente da mistura de farelos (MFR) às serragens, bem como ao bagaço e ao estipe da pupunheira no presente estudo, promoveu redução da relação C:N destes resíduos, quando da formulação dos substratos. Os percentuais de reduções na C:N foram: 43,87; 62,40; 38,64 e 61,72% para os substratos SIAMP, SIAPB, SIAPP e SIACN, respectivamente; as relações C:N obtidas foram 90,59; 117,40; 76,18, e 104%, respectivamente (Tabela 1). Os resultados das relações C:N destes substratos são semelhantes aos relatado por Eira et al. (1997) para *Pleurotus* em substrato compostado e pasteurizado. Isto possibilitou o cultivo de *P. ostreatus* nos diferentes substratos testados, demonstrando um balanço adequado da formulação destes, favorecendo o processo de produção do fungo, como pode ser comprovado na produção, através dos resultados de alta eficiência biológica, abordados no item 2.3.4. 6 deste capítulo.

Tabela 1 - Resultado das análises físico-químicas da matéria-prima e dos substratos: composição centesimal, pH e relação C:N

Amostra		C (%)	N (%)	C:N	Proteína (%)	Umidade (%)	MS (%)	pH	
Matéria-prima	Farelo de arroz (FA)	(0,06) 41,73	(0,44) 4,58	(0,83) 9,11	28,63	10,4	89,6	6,80	
	Farelo de trigo (FT)	(0,28) 39,49	(0,08) 2,6	(0,43) 15,19	16,25	10,6	89,4	6,40	
	Farelo de milho (FM)	(0,12) 38,79	(0,1) 1,25	(2,465) 31,03	7,81	11,8	88,2	5,87	
	Mistura de farelos (MFR)	(0,16) 41,11	(0,16) 4,74	(0,34) 8,67	29,63	10,4	89,6	6,66	
	Serragem de marupá (MP)	(0,91) 45,19	(0,05) 0,28	(0,81) 161,39	1,75	13,2	86,8	5,76	
	Serragem de pau de balsa (PB)	(0,16) 43,75	(0,16) 0,14	(1,18) 312,50	0,88	12	88	5,82	
	Estipe da pupunheira (PP)	(0,06) 40,97	(0,01) 0,33	(2,01) 124,15	2,06	13	87	4,13	
	Bagaço de cana-de-açúcar (CN)	(0,16) 43,47	(0,01) 0,16	(1,98) 271,69	1,00	10,4	89,6	3,22	
Substrato inicial autoclavado -SIA	Marupá + MFR = SIAMP	(0,16) 44,39	(0,03) 0,49	(4,99) 90,59	3,06	(0,71) 11,90 ¹	(0,88) 77,53 ²	(0,71) 88,10 ¹	6,40
	Pau de balsa + MFR = SIAPB	(0,17) 43,47	(0,02) 0,37	(3,42) 117,49	2,31	(0,85) 11,00 ¹	(0,74) 77,49 ²	(0,85) 89,00 ¹	6,28
	Pupunheira + MFR = SIAPP	(0,18) 38,09	(0,03) 0,50	(4,53) 76,18	3,13	(1,84) 11,10 ¹	(0,25) 77,92 ²	(1,84) 88,90 ¹	6,38
	Cana-de-açúcar + MFR= SIACN	(0,06) 42,64	(0,02) 0,41	(6,76) 104,00	2,56	(0,14) 9,30 ¹	(0,61) 77,54 ²	(0,14) 90,70 ¹	6,60

SIAMP: substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá; SIAPB: da serragem de pau de balsa; SIAPP: do estipe da pupunheira triturado; SIACN: do bagaço de cana-de-açúcar. MFR: mistura de farelos de arroz, trigo e milho (60: 20:20). Números em negrito: média de três repetições por amostra analisada. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão. Determinação realizada na amostras secas: ¹; nas amostras úmidas: ²

Em relação ao pH, sua importância está primordialmente relacionada com o metabolismo dos nutrientes. Durante o experimento, o pH do meio é alterado pelo fungo em função da produção de metabólitos como os ácidos graxos que afetam a concentração do meio (CHANG; MILES, 1989). Para isto, há a necessidade de ajuste de pH para não provocar acidificação excessiva impedindo o crescimento micelial e desenvolvimento do basidioma. A maioria dos fungos cresce melhor em meios pouco ácidos, porém há um intervalo diferenciado de pH (4-8) enquanto que a maioria dos cogumelos tem um bom desenvolvimento em pH entre 6,5 - 7. Entretanto, há variações de acordo com a espécie e linhagem (MILES; CHANG, 1997).

O estudo de Zadrazil (1978), sobre o efeito do pH no crescimento micelial de *Pleurotus* sp florida e *P. eryngii*, comprovou inibição destes organismos em pH 4, e crescimento ótimo em pH ente 5,5 - 6,5 para estes fungos. O pH dos substratos foi corrigido para valores que variaram entre 6,38 - 6,60 (Tabela 1), o que possibilitou um bom desenvolvimento micelial e formação do basidioma, concordando com os dados do autor.

2.3.3 Influência da temperatura e da suplementação no período de colonização do substrato por *Pleurotus ostreatus*

Quanto ao período de colonização do substrato observou-se que o crescimento micelial do fungo foi mais rápido no substrato suplementado quando comparado com o não suplementado (Figura 2). Os fungos secretam enzima durante seu desenvolvimento e degradam compostos orgânicos para obtenção de C, N, S e outros nutrientes necessários a seu crescimento (GRIFFIN, 1994 **apud** REGINA, 2001). Por isso, para se alcançar rendimentos ótimos na degradação do material lignocelulósicos pobre em N, a suplementação desse elemento é essencial (REGINA, 2001). Os farelos de cereais normalmente são utilizados como fonte de suplementação de N. Por outro lado, a fase micelial no substrato é fundamental

para o cultivo de cogumelos, pois quanto mais rápido ocorrer o seu desenvolvimento, menor o risco de contaminação por outros fungos ou bactérias. Na pesquisa com linhagens isoladas, é importante a escolha do meio de cultura adequado para multiplicação do fungo e crescimento micelial satisfatório de modo a dar seqüência às etapas seguintes da produção (MARINO 1997).

A fonte de nitrogênio utilizada como suplementação da serragem de marupá para se verificar o efeito da suplementação da serragem a 25 e 30 °C no período de colonização do fungo foi farelo de arroz, de trigo e de milho, considerados ricos em proteína (Tabela 1).

Observou-se que a suplementação foi adequada, promovendo bom desenvolvimento micelial nas duas temperaturas testadas (Figura 2). Há que se ter cuidado, no entanto, com o excesso de N, uma vez que inibe a degradação da lignina e conseqüentemente retarda ou até mesmo cessa o crescimento micelial (ZADRAZIL, 1978; MAZIERO, 1990).

Constatou-se que o crescimento micelial da linhagem de *P. ostreatus* foi mais rápido na temperatura de 25 °C no presente estudo (Figura 2). Sales-Campos et al. (2005), trabalhando com linhagem de *P. ostreatus*, utilizando “spawn” em sorgo, também observaram que a temperatura de 25 °C possibilitou colonização mais rápida do que a 30 °C promovendo um micélio mais vigoroso após o sétimo dia. Os resultados indicaram a temperatura de 25 °C como a melhor para o desenvolvimento micelial da linhagem. O tempo de colonização do fungo foi reduzido na serragem suplementada em ambas as temperaturas testadas, com duração de 10 e 12 dias para as temperaturas de 25 e 30 °C, respectivamente. O período de colonização para a serragem não suplementada é mais longo, com colonização completa apenas com 20 dias à 25 °C e 23 dias para a temperatura de 30 °C (Figura 2). Os resultados forneceram subsídios para a preparação do “spawn” (inóculo) bem como para a formulação do substrato de cultivo, na etapa do experimento de produção – cultivo.

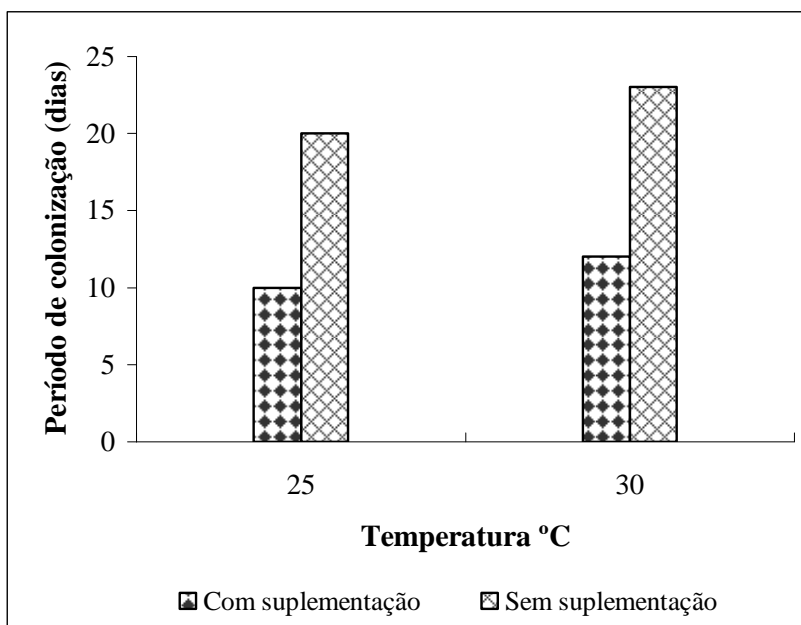


Figura 2-Influência da temperatura e da suplementação no período de colonização do substrato por *P. ostreatus*. – serragem de *Simarouba amara* (marupá) com e sem suplementação de cereais.

2.3.4 Avaliação das condições ambientais de produção - cultivo

No processo de produção de cogumelo, além da obtenção do inóculo e da preparação do substrato são envolvidas três etapas distintas: colonização do substrato (crescimento micelial do fungo no substrato), fase que ocorre durante o período de incubação do substrato, conhecida na fungicultura como corrida micelial; emissão dos primórdios e “frutificação” (fase do primeiro fluxo de produção podendo ocorrer mais de um fluxo durante todo o ciclo de cultivo).

A produção das espécies do gênero *Pleurotus* depende das propriedades genéticas do fungo, da qualidade e estrutura do substrato e das condições da cultura (Kurtzman & Zadrazil, 1982). Além disso, são importantes os fatores ambientais envolvidas no cultivo, como temperatura, umidade, ventilação ou troca gasosa.

2.3.4.1 Influência da temperatura

A influência da temperatura tanto no crescimento micelial, quanto na produção dos basidiomas é dependente da espécie e das linhagens em questão, ou seja, há uma temperatura ideal para o bom desenvolvimento do metabolismo do fungo, que é característico de cada linhagem. De qualquer forma, há um intervalo que varia entre 10 - 40 °C, que deve ser respeitado, pois ultrapassando estes limites, pode ocorrer morte do micélio (Zadrazil, 1978). A temperatura ótima de crescimento também varia com a finalidade do cultivo. Desta forma, a temperatura ideal para a produção de basidiomas (Miles e Chang, 1997) é diferente daquela destinada à produção de produtos metabólicos tais como os destinados a compostos medicinais como complexos polissacarídeos/polipeptídeos imuno-reguladores: PSPI (MILES; CHANG, 1997).

O crescimento micelial de *P. ostreatus* no presente trabalho foi conduzido a 25 e 30 °C no experimento 2.2.2.6 de avaliação do efeito da temperatura e da suplementação na colonização do substrato por *P. Pleurotus* (Figura 2), e a 25 ± 2 °C durante a incubação no experimento de produção de *P. ostreatus* nos diferentes substratos. Tais resultados estão de acordo com as observações de Zadrazil (1978), quando testou o crescimento micelial de *P. ostreatus* em diferentes temperaturas, tanto em meio de cultura como em palha de trigo como substrato. Os resultados foram também concernentes com os de Maziero (1990), que estudando diversas linhagens de *Pleurotus* observou melhor crescimento micelial de maneira geral entre 25 °C a 30 °C e ainda com o estudo de Stamets e Chilton (1983), que encontraram melhor crescimento na faixa de 25 a 29 °C.

2.3.4.2 Influência da umidade

A maioria dos fungos requer teor de umidade elevado, apresentando crescimento ótimo em substratos que tenham 70 a 80% de umidade (GUSMÁN et al. 1993).

Os substratos utilizados no atual estudo foram umidificados a 75%, incubados em câmara climatizada, a temperatura de 25 ± 2 °C, na ausência de luz e umidade relativa em torno de 80-85%. Tais condições ambientais permitiram uma boa colonização dos substratos pelo fungo, com período médio de crescimento micelial completo de 17 dias para SIAPP, 24 para SIACN e SIAMP e de 35 dias para SIAPB. O crescimento micelial resultou em um micélio rizomórfico, branco e vigoroso em todos os substratos, mas com maior vigor em SIAPP.

Além da umidade do substrato, também deve ser levado em consideração, a umidade relativa do ar. Os cogumelos são constituídos de cerca de 90% de água, sendo, portanto, essencial para seu desenvolvimento. Além disso, não são dotados de estruturas especiais contra a perda de água, o que os faz perder com facilidade para o meio ambiente, principalmente o micélio vegetativo (MAZIERO 1990). Entretanto, um teor elevado de umidade produz a condensação da água na superfície do cogumelo, fornecendo um substrato ideal para esporos de fungos parasitas (EIRA et al., 1997). A umidade relativa do ar deve ser controlada, não devendo ultrapassar a 90%, segundo Steineck (1987), citado por Eira et al. (1997). Stamets e Chilton (1983) relatam valores de umidade relativa de 90-100; 95; 85-92 % durante o período de colonização do substrato, formação dos primórdios e frutificação, respectivamente.

2.3.4.3 Importância da luminosidade

Mesmo não sendo um organismo fotossintetizador, a luminosidade é essencial para diversas espécies de fungos, podendo retardar a formação dos primórdios em algumas espécies enquanto que em outras, é essencial para a produção dos basidiomas (MILES; CHANG, 1997). Para o cultivo dos gêneros *Pleurotus* e *Lentinus*, assim como para vários fungos comestíveis, é preciso que haja certa luminosidade para a indução da formação dos primórdios e também para o desenvolvimento normal dos basidiomas (BONONI et al., 1999).

A luminosidade recomendada para *Pleurotus*, após o período de incubação e abertura dos sacos de cultivo, é de 2000 lux/hora com período de 12 horas ao dia (BONONI et al., 1999; STAMETS; CHILTON, 1983).

No experimento de produção (cultivo) a incubação foi conduzida na ausência de luz, a 25 ± 2 °C. A umidade foi mantida em torno de 80-85%, até a emissão dos primórdios, quando os sacos foram transferidos para a câmara de cultivo, a temperatura da câmara foi reduzida, e a umidade relativa foi alterada para 85-90%, a luminosidade programada para 2000 Lux/12horas/d⁻¹, o que possibilitou a produção dos basidiomas saudáveis durante um ciclo total de 100 dias de cultivo. Os resultados podem ser observados na Figura 3.

2.3.4.4 Importância das trocas gasosas

As exigências do fungo durante a fase de crescimento do micélio vegetativo são diferentes da fase de produção. Apesar do micélio do gênero *Pleurotus* se desenvolver em condições semi-anaeróbicas, é necessária uma certa taxa de O₂, caso contrário, o crescimento será nulo, conforme Zadrazil (1978). Para o desenvolvimento do basidioma o oxigênio é indispensável. Altas concentrações de CO₂ (1-2%) causam deformação dos basidiomas, sendo parecida com a que ocorre quando da deficiência de luz no período de desenvolvimento dos

basidiomas. O estipe cresce acentuadamente e o píleo fica reduzido, semelhante ao processo de estiolamento nos vegetais e associada à baixa luminosidade há uma produção em forma de cachos (ZADRAZIL, 1978).



Figura 3. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em condições ambientais controladas, em substrato a partir do resíduo de *Bactris gasipaes* – pupunheira (SIAPP). A: fim da fase de incubação, apresentando crescimento micelial completo. B: Alguns primórdios. C: Cogumelo em fase de crescimento. D: Basidioma adulto. E: Basidioma no ponto de colheita, com o píleo reto. F: Detalhe do 1º fluxo de produção, na câmara climatizada.

A ventilação adequada é essencial para reduzir o teor de dióxido de carbono a um nível desejável, gerado durante as fases de desenvolvimento do cogumelo. Concentrações acima de 2% podem causar atrasos no crescimento micelial e conseqüentemente, diminuição da produtividade; abaixo de 0,2% são consideradas ótimas para o desenvolvimento do “champignon” (EIRA et al., 1997).

A ventilação adequada foi mantida durante o cultivo de *P. ostreatus* nos diferentes substratos. Durante a fase vegetativa (incubação) a taxa de CO₂ na câmara oscilou entre 4000 a 6000 ppm, já no período de produção o nível de CO₂ foi controlado, sendo reduzido para 600 ppm, mantidos por uma taxa de renovação de ar (5xh⁻¹), o que permitiu o crescimento micelial completo, formação dos primórdios e a produção de basidiomas saudáveis.

2.3.4.5 Avaliação biológica da linhagem e produção de *P. ostreatus*.

Os dados da avaliação biológica de *P. ostreatus* (Tabela 2), mostram que o período de colonização do substrato em dias foi menor para o substrato SIAPP (14 a 20), com média de 18 dias, seguido de SIAMP (21 a 33), em média 24, SIACN (18 a 38), com média de 28. O substrato de maior delonga para acolonização foi SIAPB (28 a 49 dias), com média de 36 dias. Possivelmente isto ocorreu em função da característica física da serragem de pau de balsa, ou seja, trata-se de madeira de baixa densidade apresentando-se, portanto, leve e volomusa, necessitando de maior compressão para a formação da unidade experimental, o que resultou em espaço reduzido entre as partículas, dificultando o processo respiratório do fungo.

O tempo de emissão dos primórdios, para SIAPP variou de 14 a 20 dias, em média 16 dias, sendo que a maioria das unidades experimentais desse substrato emitiu primórdios antes mesmo da completa colonização do substrato pelo fungo (Tabela 2), sendo este o substrato que apresentou maior produtividade, expressos em termos de eficiência biológica (Figura 4).

O segundo menor tempo médio para emissão dos primórdios foi para SIACN (22 dias) variando de 16 a 39, seguido de SIAMP (26 dias), oscilando de 23 a 30 dias e SIAPB (31), com variações de 25 a 39 dias. Os períodos médios para produção dos basidiomas (1º fluxo) nos substratos SIAPP, SIACN, SIAMP e SIAPB foram 23, 31, 33 e 38 dias, respectivamente. (Tabela 2).

O número de fluxos produzidos nos substratos SIAPP; SIAMP; SIACN e SIAPB foram 5-7; 4-6; 3-5 e 3-4, respectivamente, conforme Tabela 2.

A título de comparação com o atual estudo (Tabela 2), foram relacionados na Tabela 3, diferentes trabalhos compilados da literatura em que são testados diversos substratos para o cultivo de *P. ostreatus*. Os substratos apresentados na Tabela 3 possibilitaram em sua maioria, a produção em menor nº de fluxos, comparados com os da Tabela 2. Quanto às características morfológicas analisadas (diâmetro do píleo e altura do estipe), o diâmetro do píleo variou de 2,5-12 cm nos fungos crescidos em SIAMP e SIAPB, de 3,3 - 11,4 para SIAPP e de 3,5 - 19,5 cm para os crescidos em SIACN (Tabela 2). O estipe variou de 0-3 cm de um modo geral.

Tabela 2 - Avaliação biológica de *P.ostreatus* nos substratos testados durante o período de cultivo.

Unidade experimental por substrato	Período (dias)				Nº de fluxo	Dimensão do pileo (cm)	Altura do estipe (cm)
	Incubação (até a colonização)	Primórdio (início)	Frutificação (início)	Duração do cultivo			
SIAMP 1	33	30	34	100	4	3 a 8	0 a 1
SIAMP 2	21	26	32	100	4	5 a 6	0 a 2
SIAMP 3	21	25	32	100	5	2,5 a 8,5	0 a 1
SIAMP 4	21	23	32	100	5	3,7 a 7,5	0 a 2
SIAMP 5	23	25	33	100	4	3,5 a 6,5	0 a 1
SIAMP 6	25	26	33	100	6	2,9 a 6,5	0 a 1
SIAMP 7	não colonizou total	30	35	100	6	2 a 12	0 a 0,5
SIAMP 8	25	23	33	100	4	3,5 a 10,3	0 a 0,5
Desvpad	4,298	2,726	1,069	0,000	0,886	-	-
Média	24,14	26,00	33,00	100,00	4,75	-	-
SIAPB 9	40	35	36	100	4	4 a 10,5	0 a 1,5 a
SIAPB 11	28	25	32	100	3	4,5 a 8,5	0
SIAPB 12	49	35	53	100	3	4,5 a 9,3	0
SIAPB 13	40	39	47	100	4	3,5 a 12	0 a 2
SIAPB 14	28	26	33	100	4	3,2 a 8,6	0 a 0,5
SIAPB 15	32	28	33	100	4	3,6 a 8	0 a 2
SIAPB 16	29	25	32	100	4	3,8 a 10	0 a 3
SIAPB 18	40	35	41	100	4	6,3 a 10	0 a 1,5 a
Desvpad	7,649	5,581	7,927	0,000	0,463	-	-
Média	35,75	31,00	38,38	100,00	4,00	-	-
SIAPP 19	20	16	21	100	5	4,8 a 11,4	0 a 0,5
SIAPP 20	16	16	21	100	5	4 a 9,5	0
SIAPP 21	20	20	33	100	5	4 a 11,9	0 a 0,5
SIAPP 22	14	14	21	100	5	4,3 a 10,5	0 a 1,5
SIAPP 23	20	14	21	100	7	3,3 a 10,5	0 a 0,5
SIAPP 25	15	16	21	100	6	3,5 a 10	0 a 1
SIAPP 26	16	17	21	100	6	4 a 8	0 a 1
SIAPP 43	20	16	21	100	6	4,8 a 9	0 a 1
Desvpad	2,615	1,885	4,243	0,000	0,744	-	-
Média	17,63	16,13	22,50	100,00	6,00	-	-
SIACN 27	35	39	44	100	3	4 a 9	0 a 0,5
SIACN 28	não colonizou total	22	35	100	4	3,5 a 19,5	0
SIACN 29	38	18	31	100	4	3,5 a 7,8	0
SIACN 30	38	25	36	100	4	4,5 a 10,5	0
SIACN 31	18	18	21	100	4	4 a 9,5	0
SIACN 32	18	19	32	100	4	4,5 a 8,5	0
SIACN 33	29	18	24	100	5	3,5 a 9	0 a 0,5
SIACN 34	18	16	21	100	4	3,5 a 9,5	0 a 0,5
Desvpad	9,569	7,473	8,089	0,000	0,535	-	-
Média	27,7	21,88	30,50	100,00	4,00	-	-

SIAMP: substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá; SIAPB: da serragem de pau de balsa; SIAPP: do estipe da pupunheira triturado; SIACN: do bagaço de cana-de-açúcar.

Tabela 3 - Eficiência biológica de diversos substratos no cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Cogumelo	Substrato	No de fluxos	Eficiência Biológica (%)	Fonte
<i>P. ostreatus</i>	Palha de trigo + farelo de arroz	NE	65,0	Upadhyay e Vijai, 1991.
<i>P. ostreatus</i>	Palha de trigo + farelo de trigo	3	64,65	Philippoussis et al., 2000.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem (Poplar) + farelo de trigo+carbonato de cálcio	3	33,4	Philippoussis et al., 2000.
<i>P. ostreatus</i>	Palha de trigo + farinha de soja + sulfato de cálcio	2	64,48	Vogel e Salmone, 2000.
<i>P. ostreatus</i>	Bagaço de cana picado	1	8,45-19,40	Oliveira, 2000.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem pura de <i>Fagus orientalis</i> e misturas (50:50) serragem+palha de arroz, serragem+ grama, serragem+ resíduo de papel, serragem + folha de avelã	NE	8,6; 64,3; 43,7;40,6,102 respectivas	Yildiz et al., 2002.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem <i>Eucalyptus</i> sp.	NE	11,4-43,1	Marino, R 2002.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem <i>Eucalyptus</i> sp.	NE	35,8	Marino, R 2002.
<i>P. ostreatus</i>	Polpa de café	3	125	Velásquez-Cedeño et al., 2002.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem compostada - 28 dias (<i>Triplochiton scleroxylon</i>)	3	61,04	Obodai et al., 2003.
<i>P. ostreatus</i>	<i>Digitaria decumbens</i> + polpa de café compostada	2	59,79 - 5 dias 93,82 - 3 dias de compostagem	Hernandez et al., 2003.
<i>P. ostreatus</i>	Polpa de café + serragem + palha de trigo	2	35-43,2	Job, 2004.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem + bagaço de cana + farelo de trigo	2	55,73± 7,36	Sousa e Correia, 2004.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem	3	64,69	Shah, et al., 2004.
<i>P. ostreatus</i>	Palha de trigo	NE	50,2-54,2	Salmone et al., 2005.
<i>P. ostreatus</i>	Palha de trigo e polpa de café	NE	71,6-86,5	Salmone et al., 2005.
<i>P. ostreatus</i>	Serragem <i>Eucalyptus</i> sp. Serragem + farelo de arroz + f. de trigo	NE	38,4-43,3	Marino et al., 2006.
<i>P. ostreatus</i>	Casca de café	4	96,5	Fan et al., 2006.
<i>P. ostreatus</i>	Cavaco de madeira (1cm ³): farelo de trigo: água 4:1:1: <i>Casuarina equisetifolia</i> , <i>Trema orientalis</i> ; <i>Falcataria moluccana</i> , <i>Eucalyptus grandis</i> , <i>Psidium cattleiano</i> ,	3 a 5	70,1; 78,5; 74; 71; 44,2	Tisdale et al., 2006.
<i>P. ostreatus</i> spp	Casca de côco + Farelo de arroz ou de trigo	1	10,04 -14,99	Marino e Pedra, 2006.
<i>P. ostreatus</i>	Diferentes ervas daninhas	2	22,9 -139	Das e Mukherjee, 2007.

NE = não especificado

Fonte: Diversos estudos compilados da literatura, conforme especificada na coluna 5.

2.3.4.6 Avaliação da produtividade através da eficiência biológica de *Pleurotus ostreatus* em diferentes substratos

A produtividade de *P. ostreatus* foi calculada tanto em termos de massa seca de cogumelo produzido por massa seca de substrato utilizado (P), como em massa fresca de cogumelo por massa seca de substrato: eficiência biológica (EB). No entanto, os dados foram plotados somente em relação à EB, já que a discussão acerca da produtividade será abordada em termos de eficiência biológica (Figura 4). Este é o índice mais utilizado nas publicações, facilitando desta forma a comparação dos resultados com a literatura, pois são raros os trabalhos em que a produtividade é baseada em massa seca de cogumelo/massa seca de substrato. O cálculo de eficiência biológica permite avaliar quanto de composto ou substrato foi efetivamente transformado em cogumelo (bioconversão).

Eficiências biológicas em torno de 100% têm sido alcançadas para algumas espécies dos gêneros *Agaricus* e *Pleurotus* em termos experimentais, porém com menor frequência comercialmente (CHANG, 1980). Um alcance de 100% de EB é bastante significativo em termos industriais.

No Brasil, particularmente no estado de São Paulo, onde estão localizados os maiores produtores nacionais de cogumelos, o rendimento em termos de (EB) é extremamente baixo, com 5 - 7, excepcionalmente 10 quilos de cogumelos frescos para cada 100 quilos de composto em massa seca para *Agaricus bisporus* (BONONI et al., 1999). Em países como a Bélgica, Holanda, Alemanha e França que investem em tecnologia, existem registros da ordem de 30-35 quilos de cogumelos frescos para cada 100 quilos de composto em massa seca. Taiwan apresenta recorde: 36-46 quilos de cogumelos/100 quilos de composto (BONONI et al., 1999).

O *P. ostreatus* é um cogumelo que possibilita um cultivo mais produtivo. Nos Estados Unidos são mencionados rendimentos da ordem de 1:1, ou seja, a massa seca do composto produz praticamente o mesmo de cogumelos em massa fresca. A produtividade em Mogi das Cruzes, interior de São Paulo gira em torno da metade desse valor, ou seja, 1 quilo de cogumelo (fresco) para cada 2 quilos de composto seco (BONONI et al., 1999).

Os índices de eficiência biológica média (EBM) dos substratos alcançados no presente estudo em ordem decrescente para SIAPP, SIACN, SIAMP e SIAPB foram: 125,6; 99,8; 94,0 e 64,6 % respectivamente (Figura 4). O substrato SIAPP obteve variação de EB da ordem de 123,13 - 128,66 %, seguido de SIACN (83,79 - 114,42 %); SIAMP (86,76-101,72 %) e de SIAPB (58,59 - 72,72 %)

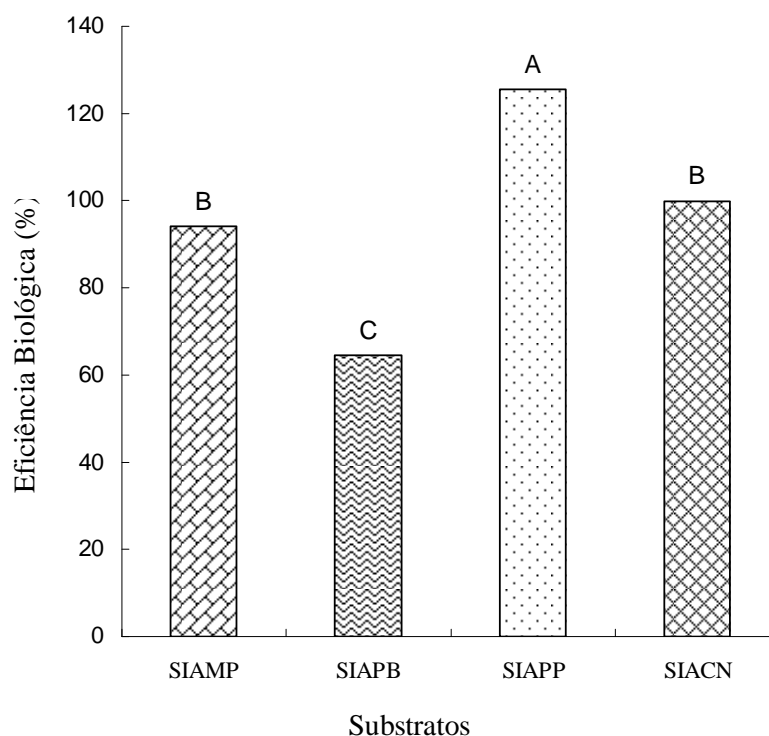


Figura 4 Eficiência biológica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. SIAMP: substrato inicial a partir da serragem de marupá; SIAPB: substrato inicial a partir da serragem de pau de balsa; SIAPP: substrato inicial a partir do estipe da pupunheira triturado; SIACN: substrato inicial a partir do bagaço de cana-de-açúcar. Médias em letras iguais não diferem entre si pelo (teste de Tukey, 1%). DMS = 15,08; CV (%) = 8,68.

O substrato que apresentou maior EBM foi o preparado a partir do resíduo da pupunheira: SIAPP (125,6%), seguido de cana-de-açúcar: SIACN (99,8%), que é estatisticamente semelhante a SIAMP (94%). O substrato com menor EBM foi SIAPB (64,6%), elaborado a partir de pau de balsa. SIAPP e SIACN foram os substratos com maiores médias em termos de eficiência biológica, que por sua vez apresentaram maiores teores em açúcares, o que pode ser visualizado pelos maiores teores de sólidos solúveis (3,06 e 1,64 °Brix). Foram também os que apresentaram maior teor de lipídios (2,61 e 3,22 %) e carboidratos disponíveis (27,80 e 30,86 %), apresentaram ainda menores percentuais em fibra, comparado com os substratos a partir de serragem (SIAMP e SIAPB) conforme relatado no Capítulo 4.

As maiores médias em termos de eficiência biológica registrada para estes substratos (SIAPP e SIACN) ocorreram possivelmente devido a maior quantidade de material prontamente disponível e assimilável pelo fungo durante o processo de desenvolvimento micelial, sendo posteriormente translocado para o cogumelo, durante o processo de formação do basidioma.

Dentre os substratos elaborados a partir de serragem, o que apresentou maior EBM foi o desenvolvido com a serragem de marupá – SIAMP (94%) e o de menor EBM foi formulado com serragem de pau de balsa – SIAPB (64,6 %). Mesmo assim, esta média é concernente com um substrato de boa EB (CHANG, 1980).

O substrato SIAPP (Figura 4) merece destaque, em função da alta produtividade evidenciada através da alta EBM (125,6%), que variou de 123,13 a 128,66 %. Cabe salientar que não só os fatores nutricionais mencionados acima, a presença dos minerais de maior importância para o cultivo de *Pleurotus*: fósforo, potássio, magnésio e zinco, segundo Kurtzman e Zadrazil (1982), conforme abordagem do capítulo 3, estes minerais estiveram presentes em maiores quantidades em SIAPP. Tal fato confirma a importância dos mesmos

para o cultivo de cogumelos (KURTZMAN; ZADRAZIL, 1982; MOLENA, 1986; CHANG; MILES, 1989; MILES; CHANG, 1997). Porém outros fatores estão envolvidos, pois foi este também o substrato com maior teor de proteína, cinzas, relação C:N adequada e quantidade relativamente elevada de carboidratos disponíveis (Capítulo 4).

Na Tabela 3 são apresentados resultados de eficiência biológica de diferentes substratos testados para o cultivo de *P. ostreatus*. Comparando estes resultados com os atuais (Figura 4), observou-se que a maioria dos substratos apresentados na Tabela 3 proporcionou eficiência biológica inferior aos substratos da Figura 4.

Os resultados de eficiência biológica média dos substratos SIAPP: 125,60 %; SIACN: 99,8 %; SIAMP: 94 % e SIAPB: 64,6 % do presente estudo (Figuras 4) são superiores ao resultado do trabalho de Philippoussis et al. (2000), com serragem de Poplar, suplementada com farelo de trigo (EB= 33,37%). Os autores conseguiram maior EB (64,65 %) quando trabalharam com palha de trigo suplementada com farelo de arroz.

Testando a mesma matéria-prima (palha de trigo) suplementada com farelo de arroz, Upadhyayay e Vijai (1991), conseguiram EB de 65%. Voguel e Salmone (2000), adicionaram farinha de soja e sulfato de cálcio à palha de trigo e obtiveram valor semelhante a Upadhyayay e Vijai (1991), 64,48 % de EB. Ainda assim, os resultados obtidos por estes autores (Tabela 3) foram inferiores aos apresentados pela maioria dos substratos do presente estudo, sendo semelhantes, porém, ao do substrato que apresentou menor EBM: SIAPB com 64,6% (Figura 4).

Yildiz et al. (2002) testaram a serragem de *Fagus orientalis* pura e misturada à palha de arroz, grama, resíduo de papel e folha de avelã. Os autores alcançaram 8,6; 64,3; 43,7; 40,6 e 102 % de EB para os respectivos substratos. A mistura de folha de avelã à serragem proporcionou o melhor resultado (102 %). Comparando os resultados de SIACN e SIAMP (Figura 4) com os de Yildiz (2002) nota-se que os valores obtidos com SIACN e SIAMP são

próximos ao da mistura de serragem + folha de avelã. Entretanto, a EBM alcançada em SIAPP (125,60%) supera o resultado obtido nesta mistura.

O estudo sobre o melhoramento genético de *P. ostreatus* realizado por Marino (2002), visando o cultivo axênico de linhagens de *P. ostreatus* resistentes ao calor, em serragem de *Eucalyptus* sp, possibilitou EB de no máximo 35,8 e 43,1%, em temperatura de 28C e 15 °C, respectivamente. Obodai et al. (2003), estudando o cultivo de *P. ostreatus* em vários resíduos agrícolas e agroindustriais, entre os quais a serragem de *Triplochiton scleroxylon* de forma compostada, conseguiram melhor EB (61,04%) quando utilizaram a serragem. O tempo de colonização do substrato foi de 33 dias, com emissão dos primórdios em torno de 37 dias, com dois fluxos de produção. Para o substrato palha de arroz, a EB foi de 50,64%, com colonização em 28 dias e primórdios em 34 dias, possibilitando três fluxos. Shah et al. (2004) da mesma forma que Obodai et al. (2003), também alcançaram melhor eficiência biológica com o cultivo em serragem (64,69%).

Job (2004) utilizou borra de café como substrato base, adicionado de serragem e palha de trigo em diferentes concentrações, para o cultivo de *P. ostreatus*. O substrato que possibilitou maior EB (43,2%) foi o que continha a menor concentração de café e a maior de palha de trigo, sendo a serragem fixada em 30%.

Velazques-Cedenho et al. (2002), trabalhando com polpa de café (Tabela 3) conseguiu alta eficiência biológica (125 %), resultado semelhante ao do substrato SIAPP (Figura 4).

Casca de café (polpa), também foi utilizada por Fan et al. (2006) e promoveu EB de 96,5% no cultivo de *P. ostreatus*. O resultado alcançado neste estudo foi próximo ao de SIAMP (94%) do presente trabalho sendo, no entanto, superados por SIACN e SIAPP com EBM de 99,8 e 125,60% respectivamente (Figura 4).

A serragem e a cana-de-açúcar são substratos comumente utilizados para a produção de fungos comestíveis. Sousa e Correia (2004), em uma formulação a base de serragem, bagaço de cana-de-açúcar e trigo, conseguiram EB = 55,73%, com tempo de colonização do substrato variando de 29-40 dias e produção de basidiomas com 47-49 dias, e dois fluxos de produção.

Oliveira (2000) obteve baixa EB (8,45-19,40%), em média 10%, quando cultivou *P. ostreatus* (linhagem chinesa) em bagaço de cana-de-açúcar picado. Quando o autor trabalhou com o bagaço em pó a EBM foi 0,84% (praticamente nula), pois o fungo não conseguiu colonizar o substrato. O autor atribuiu este fato não só ao excesso de nitrogênio dos substratos (6,6 a 7,2 %) como também ao tamanho reduzido das partículas do substrato na forma de pó, ocasionando maior compactação do substrato, dificultando trocas gasosas. O crescimento micelial do fungo foi reduzido, com conseqüente redução na formação dos basidiomas, tornando nula a produção neste substrato na forma de pó, tanto na linhagem chinesa como na brasileira.

A serragem de *Eucalyptus* sp. suplementada com farelos (arroz + trigo) e calcário proporcionou eficiência biológica de 38,4–43,3%, no estudo de Marino et al. (2006). Comparando os dados de eficiência biológica (Tabela 3) das diferentes serragens utilizadas na literatura (PHILLIPOUSSIS et al., 2000; YILDZ et al., 2002; MARINO, 2002; OBODAI et al., 2002; JOB, 2004; SHAH et al., 2004; MARINO et al, 2006) com os das serragens do atual estudo, notou-se que todas as serragens apresentaram EB inferiores a SIAMP e SIAPB (Figura 4), exceto no trabalho de Yildz et al. (2002), quando da mistura de serragem com folha de avelã (EB = 102%). Este resultado não foi muito diferente do apresentado pelo substrato a partir da serragem de marupá –SIAMP, que obteve 94,0% de EBM, valor próximo de 100%. Tisdale et al. (2006) estudaram diferentes espécies de resíduos madeireiros para o cultivo de *P. ostreatus* no Havaí, oriundos de espécies exóticas: *Casuarina equisetifolia*,

Trema orientalis, *Falcataria moluccana*, *Eucalyptus grandis* e *Psidium cattleiano*. Os autores formularam o substrato a partir da madeira em forma de cavaco, adicionada de farelo de trigo e água. Obtiveram para as respectivas espécies: 70,1; 78,5; 74; 71 e 44,2 % de EB. As três primeiras espécies alcançaram EB superiores a EBM obtida em SIAPB (64,60 %). No entanto, foram inferiores aos valores de SIAPP, SIACN e SIAMP (125,60; 99,80 e 94,60%) respectivamente.

A casca de coco suplementada com farelo de arroz ou de trigo resultou em eficiência biológica baixa (10,04-14,99 %) no estudo de Marino e Pedra (2006). Diferentes herbáceas foram estudadas para o cultivo de *P. ostreatus* por Das e Mukherjee (2007). Os autores obtiveram EB variando de 22,9 a 139 %. A quantidade de inóculo, no entanto, foi bastante alta (20 %), tornando-se antieconômica, quando a quantia recomendada é em torno de 3 -5%.

Os dados da Tabela 4 foram compilados da literatura e apresentam resultados de eficiência biológica de diversos substratos com outras espécies de *Pleurotus*, a fim de comparação com este estudo.

Fasidi e Ekuere (1993) testaram a produtividade de quatro resíduos (folha de bananeira, sabugo de milho, resíduo de algodoeiro e palha de trigo) para o cultivo de *Pleurotus Tuber-regium* (Tabela 4). Os substratos que alcançaram maior EB foram a palha de trigo, seguida de resíduo de algodoeiro, sabugo de milho e folha de bananeira (29,51; 30,11; 22,85 e 13,58%) respectivamente. Os substratos testados apresentaram EB inferiores aos resultados do atual estudo.

A espécie *P. ostreatus* sp “florida” é uma variedade de *Pleurotus* spp. que se desenvolve em temperaturas mais altas. Maziero (1990) cultivou esta espécie a 25° C em palha de trigo e alcançou apenas 30,66% de EB. A espécie *Pleurotus sajor-caju* proporcionou melhor desempenho nos substratos analisados pela autora, promovendo eficiência biológica entre os substratos variando de 40,60 a 108,35 % (Tabela 4).

Sturion (1994) cultivou três espécies do gênero *Pleurotus*: *P. ostreatus* sp. “Florida”, *P. ostreatusroseus* e *P. sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas, dentre eles, a palha de bananeira, que foi o substrato no qual a autora conseguiu maior EB (87,39; 93 e 50 %) para as respectivas espécies de fungo. O substrato palha da bananeira, adicionada ao bagaço de cana-de-açúcar proporcionou eficiência biológica de 78,51% para *P. ostreatus* sp. “Florida”, 58,54% em *P. ostreatusroseus* e de 48,29 % para *P. sajor-caju*. Os resultados são, contudo, inferiores aos alcançados em SIAPP, SIACN e SIAMP, com a linhagem de *P. ostreatus* utilizada nesse trabalho (Figura 4).

A eficiência biológica do bagaço de cana-de-açúcar suplementada com feijão guandu, *Cajanus cajan* em diferentes concentrações (Tabela 4) para o cultivo de *P. ostreatus* sp “Florida” foi testada também por Zanetti e Ranal (1997). Os autores obtiveram EB (94,73; 74,65 e 76%) para as suplementações de 15, 10 e 5% de feijão guandu respectivamente. As temperaturas durante o cultivo foram 22-26°C no estudo desses autores.

A suplementação com feijão guandu promoveu maior incremento de proteína, já que as leguminosas são normalmente fontes ricas em nitrogênio. A suplementação com 15% de guandu possibilitou EB = 94,73%. Tal resultado foi semelhante ao apresentado pelo substrato formulado com marupá – SIAMP (94,60 %), sendo, no entanto, inferior aos substratos SIACN e SIAPP com EBM de 99,8 e 125,60 %, respectivamente (Figura 4).

Dentre os vários substratos abordados para o cultivo de *P. tuber-regium*, *P. ostreatus* sp “Florida” e *P. Sajor-caju* (CHANG et al., 1981; MAZIERO, 1990; FASIDI; EKUERE, 1993; STURION, 1994; SHARMA, 1994; ZANETE; RANAL, 1997; SINGH, 2000; ZHANG et al., 2002; DIAS et al., 2003; RAGUNATHAN; SWAMINATHAN, 2003; MODA et al., 2005; CASTRO et al., 2007), apresentados na Tabela 4, apenas a palha de trigo e a palha de arroz superaram a eficiência biológica alcançada pelo substrato SIAPP.

Tabela 4 - Eficiência biológica de diversos substratos no cultivo de diferentes espécies do gênero *Pleurotus*

Espécie fúngica	Substrato	No de fluxos	Eficiência Biológica (%)	Fonte
<i>P. tuber-regium</i> (<i>sclerotia</i>)	Folha de bananeira; sabugo milho; Resíduo algodoeiro; palha de trigo	NE	13,58; 22,85; 30,11; 29,51 respectivamente	Fasidi e Ekuere, 1993.
<i>P.florida</i>	Palha de bananeira; palha de trigo; Palha de bananeira + bagaço de cana; Palha de. Bananeira + sabugo milho	1a4	87,39; 69,71; 78,51; 24,98 respectivamente	Sturion, 1994.
<i>P. ostreatusroseus</i>	Palha de bananeira; palha de trigo; Palha de bananeira + bagaço de cana; Palha de bananeira + sabugo milho	3a5	93; 38,82; 58,54; 21,80 respectivamente	Sturion, 1994.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha da bananeira; palha de trigo; Palha de bananeira + bagaço de cana; Palha de bananeira + sabugo milho	2a6	50,33; 43,26; 48,29 19,15 respectivamente	Sturion, 1994.
<i>P. ostreatus</i> sp " <i>Florida</i> "	Bagaço de cana + Feijão guandu	NE	74,65-94,73	Zanetti e Ranal, 199.
<i>P.ostreatus</i> sp " <i>Florida</i> "	Palha de trigo	NE	30,66	Maziero, 1990.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de trigo	NE	40,69	Maziero, 1990.
<i>P. sajor-caju</i>	Bagaço de cana + casca de soja	NE	87,11	Maziero, 1990.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de trigo + casca de soja	NE	108,35	Maziero, 1990.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha (NE)	4	177,41	Chang et al., 1981.
<i>P. sajor-caju</i>	Resíduo do algodoeiro +2 % lime	4	79,18	Chang et al., 1981.
<i>P. sajor-caju</i>	Resíduo do algodoeiro + palha (NE)	4	104,9	Chang et al., 1981.
<i>P. sajor-caju</i>	Resíduo do algod+folha de chá usada	4	73,22	Chang et al., 1981.
<i>P. sajor-caju</i>	<i>Lantana camaral</i> (arbusto) partícula (5-8cm) estérili e não_estéril	NE	36-38,8 respectivamente	Sharma, 1994.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de trigo (controle)	NE	54,8	Sharma, 1994.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de arroz	4	109,3	Singh, 2000.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de trigo	4	61,3	Singh, 2000.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha arroz moída	2	131,00	Zhang et al., 2002.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha arroz picada	2	104,0	Zhang et al., 2002.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de feijão	3	85,7	Dias et al., 2003.
<i>P. sajor-caju</i>	Palha de feijão + farelo de trigo	3	81,40	Dias et al., 2003.
<i>Pleurotus</i> spp	Talo do algodão; fibra de coco; Sorgo; mistura dos três substratos	NE	32,69-41,42; 23,64-27,33; 32,17-36,84; 31,51-35,21	Ragunathan e Swaminathan, 2003.
<i>P. sajor-caju</i>	Bagaço de cana pasteurizado 80°C	3	13,86	Moda et al. 2005.
<i>P. sajor-caju</i>	Bagaço de cana lavado na centrífuga	3	19,16	Moda et al. 2005.
<i>P. sajor-caju</i>	Bagaço de cana lavagem simples	3	26,63	Moda et al., 2005.
<i>P. sajor-caju</i>	Bagaço de cana lavado + suplemento orgânico	3	15,66	Moda et al., 2005.
<i>P. sajor-caju</i>	Bagaço de cana lavado + suplemento mineral	3	30,03	Moda et al., 2005.
<i>P. sajor-caju</i>	Resíduo do algodoeiro + farelo de trigo+palha de feijão+gesso+calcário	NE	55,39 -55,76	Castro et al., 2007.

NE = não especificado.

Fonte: Estudos compilados da literatura, conforme especificada na coluna 5.

2.3.4.7 Rendimento médio de *Pleurotus ostreatus* por substrato

A Figura 5 apresenta o rendimento médio em termos de massa fresca de cogumelo produzida em relação à massa fresca de cada substrato utilizado no cultivo de *P. ostreatus* (g/kg). Foi constatado que o rendimento médio variou com o tipo de substrato utilizado (Figura 5).

O maior rendimento médio ocorreu no substrato SIAPP (451,80 g/kg), variando de 443,06 a 462,96 g/kg entre as unidades experimentais desse substrato, seguido de SIACN, com rendimento médio (250,40 g/kg) e SIAMP (242,80 g/kg). Não houve, porém, diferença significativa de rendimento entre os substratos SIACN e SIAMP, embora o resultado médio tenha sido superior para SIACN, variando de 273,56 a 287,12 g/kg, enquanto que para SIAMP os resultados variaram de 224,20 a 262,86 g/kg (Figura 4).

O substrato que obteve menor rendimento médio de cogumelo foi SIAPB (161,40g/kg). Os resultados variaram de 146,72 a 182,12 g de cogumelo fresco por kg de substrato fresco. Tais resultados estão de acordo com as respectivas eficiências biológicas de cada substrato conforme apresentadas na Figura 4. Foi observado que quanto maior a eficiência biológica média do substrato, maior o seu rendimento médio.

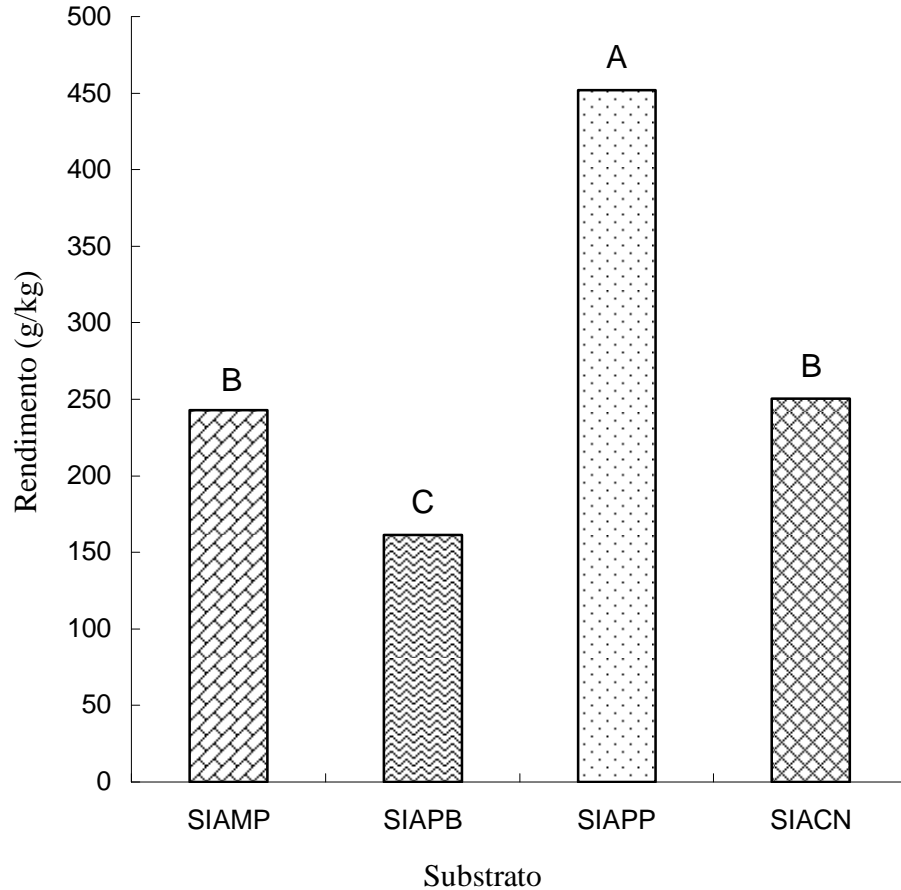


Figura 5 Rendimento (g/kg) de *Pleurotus ostreatus* (massa fresca de cogumelo produzido por massa fresca de substrato) nos diferentes substratos testados. SIAMP: substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá; SIAPB: a partir serragem de pau de balsa; SIAPP: do estipe da pupunheira triturado; SIACN: do bagaço de cana-de-açúcar. Médias em letras iguais não diferem entre si pelo (teste de Tukey, 5 %). DMS = 38,94; CV (%) = 7,78.

2.3.4.8 Perda da matéria orgânica – decomposição do substrato

A constituição final do substrato utilizado é alterada pela remoção seletiva dos nutrientes de *Pleurotus* (ZADRAZIL, 1978, STURION, 1994). O mesmo foi constatado no presente estudo quando se analisou a constituição mineral (tratado no capítulo 3). A perda da matéria orgânica

durante o processo de decomposição é um parâmetro através do qual pode-se verificar a atividade decompositora do microrganismo em estudo.

A Figura 6 mostra os dados relativos à perda da matéria orgânica (PMO) dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus*. Houve diferença significativa entre SIAPB e SIAPP, os quais obtiveram respectivamente maior e menor PMO. Com variação da decomposição de 59,91 a 71,83 % para o substrato SIAPB e de 53,58 a 58,75 % para SIAPP.

Comparando os resultados da Figura 4 (EBM) com os da Figura 6 (PMO), observa-se que a PMO variou com o tipo de substrato utilizado e não esteve relacionada com a produtividade (eficiência biológica) no presente estudo, pois ao analisarmos o substrato que obteve maior produtividade, constatado pela maior eficiência biológica média (SIAPP) apresentado na Figura 4, este não foi o que obteve maior perda de matéria orgânica (Figura 6).

Segundo Zadrazil (1978) e Rajarathnam e Bano (1989) a PMO ocorre devido à perda de CO_2 e H_2O durante o metabolismo dos microorganismos e não somente da remoção de materiais para a construção dos basidiomas. A PMO esteve mais relacionada no presente estudo com o maior período de incubação do substrato (35,75 dias para SIAPB), conforme Tabela 2, do que com a eficiência biológica (EB) do substrato (Figura 4). O mesmo foi constatado por Sturion (1994).

Zadrazil e Brunnert (1981), **apud** Sturion (1994) relataram também um aumento da degradação do substrato (PMO) quando o tempo de incubação foi aumentado quando os autores cultivaram *Pleurotus sajor-caju* em palha de trigo.

Sturion e Oetterer (1995), quando cultivaram *Pleurotus* spp. em diferentes substratos, não observaram relação da PMO com produtividade (EB). As autoras relataram que além do período de incubação, a variação da PMO está relacionada com a composição química e física

diferenciada dos substratos que podem oferecer substâncias mais ou menos facilmente degradáveis pelos microrganismos estudados (STURION; OETTERER 1995).

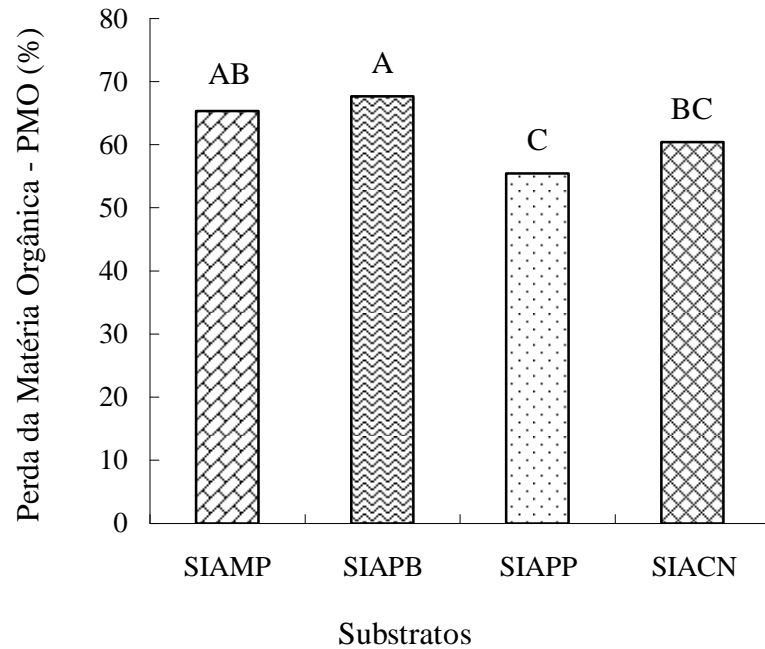


Figura 6. Perda da matéria orgânica (PMO) dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. SIAMP: perda da matéria orgânica no substrato inicial a partir da serragem de marupá; SIAPB: no substrato inicial a partir da serragem de pau de balsa; SIAPP: no substrato inicial a partir do estipe da pupunheira triturado; SIACN: no substrato inicial a partir do bagaço de cana. Médias em letras iguais não diferem entre si pelo (Tukey, 1%). DMS = 6,799; CV (%) = 6,01.

2.4. CONCLUSÕES

- Dentre as espécies de cogumelos utilizadas no teste de seleção de resíduos e espécie fúngica para o cultivo, *Pleurotus ostreatus* foi a que apresentou melhor precocidade no teste .
- O crescimento micelial de *P. ostreatus* avaliado através da serragem de marupá foi mais rápido na serragem suplementada com farelo de cereais, comparada à não suplementada em ambas as temperaturas testadas (25 e 30 °C).
- O período de colonização do substrato foi melhor a 25 °C, proporcionando colonização mais rápida (10 dias para a serragem suplementada e 20 para a não suplementada) e maior vigor micelial.
- Todos os substratos utilizados: SIAPP; SIACN; SIAMP e SIAPB apresentaram eficiência biológica alta (125,6; 99,8; 94,0 e 64,6 %) para os respectivos substratos, com destaque para SIAPP com eficiência biológica acima de 100 %, superando a EB da maioria dos substratos consultados na literatura. Os resultados viabilizam a utilização destes substratos para o cultivo em escala comercial.
- A perda da matéria orgânica (PMO) variou com o tipo de substrato utilizado, sendo maior quanto maior o período de incubação do substrato, não estando relacionada com a eficiência biológica (EB). O substrato de maior produtividade: SIAPP (representado pelo substrato de maior EB) não foi o que obteve maior PMO.

2.5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M., FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, Oxford v.88, n. 3, p.425-428, 2004.
- BONONI, V. L. R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatoroseus* cultivation in Brazil. In: Maher (Ed.). **Science and Cultivation of Edible Fungi**, Balkema, Rotterdam, v.2, p.531-532, 1991.
- BONONI, V. L., CAPELARI, M., MAZIERO, R., TRUFEM, S. F. B. **Cultivo de Cogumelos Comestíveis**. S. Paulo: Ícone. 2ª Ed., 206 p. 1999.
- BRAGA, G. C.; EIRA, A. F. Efeitos da camada de cobertura, da massa do substrato e do ambiente de cultivo, na produtividade de *Agaricus blazei* Murril. **Energia na agricultura**, Botucat, São Paulo, v.14, p.39 – 52, 1999.
- BRIZUELA, M. A.; GARCÍA, L.; PÉREZ, L.; MANSUR, M.. Basidiomicetos: nueva fonte de metabólitos secundários. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Bilbao, v.15, p.69 – 74, 1998.
- CAPELARI, M. **Atividade biodegradadora e cultivo de três espécies comestíveis de basidiomicetos: *Pleurotus* sp. e *Agrocybe perfecta* (Rick) Sing.** 1996. 154 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, USP, S. Paulo, 1996.
- CHANG, S. T. Mushroom as human food. **Bioscience**, Washington- DC, v. 3, n 30, p. 399-401. 1980.
- CHANG, S. T.; LAU, O. W.; CHO, K. Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus Sajor-caju*. **European journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, n.12: 58-62, 1981.
- CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Edible mushrooms and their cultivation**. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. 345p, 1989.
- CASTRO, A. L. A.; PAIVA, P. C. A.; BANYIS, V. L. Avaliação da produção de *Pleurotus sajor-caju* (Fr) Singer utilizando resíduo do beneficiamento têxtil do algodão como substrato. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31 n. 5, p. 1286-1290. 2007.
- COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.58, n. 5, p.582-594, 2002.

DALIMOVA, G.N.; AKHMEDOVA, Z. R. Biodestruction of lignins by the basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v.37, n.1, p.83-85, 2001.

EICHLEROVÁ, I.; HOMOLKA, L.; NERUD, F.; ZADRAZIL, F.; BALDRIAN, P. Screening of *Pleurotus ostreatus* isolates for their ligninolytic properties during cultivation on natural substrates. **Biodegradation**, Amsterdam, v.11, n. 5, p.279-287, 2000.

EIRA, A. F., MINHONI, M. T. A. **Manual do cultivo do “Hiratake” e “Shimeji” (*Pleurotus* spp)**. UNESP/FEPAP. Botucatu, 1997. 63p.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A.; BRAGA, G. C.; MONTINI, R. M. C.; ICHIDA, M. S.; MARINO, R. H.; COLAUTO, N. B.; SILVA, J.; NETO, F. J.. **Manual teórico/ prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. UNESP/FEPAP. Botucatu, 1997. 115p.

EIRA, A. F.; MONTINI, R. M. C. **Manual do cultivo do Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk) Pegler)**. UNESP/FEPAP. Botucatu, 1997. 38 p.

FAN, L.; SOCCOL, A. T.; PANDEY, A.; VANDENBERGHE, L. P. S. Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of *Pleurotus* on coffee husks. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, V. 37, n. 4, p. 420-424, 2006.

FASIDI, I. O.; EKUERE, U. U. Studies on *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer: cultivation, proximate composition and mineral contents of sclerotia. **Food Chemistry**, Ibadan, v. 48, n. 3, p. 255-258, 1993.

FURLANI, R. P. Z. **Valor Nutricional de cogumelos cultivados no Brasil**. 2004. 88 f.Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de engenharia de alimentos. UNICAMP, Campinas, SP, 2004.

GUSMÁN, G., MATA, G., SALMONES, D., SOTO-VELASCO, C., GUZMÁN-DÁVALOS, **EI cultivo de los hongos comestibles**. Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. 1993. 245p.

KURTZMAN, Jr. R. H.; ZADRAZIL, F. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushroom. In: CHANG, S. T.; QUIMIO, T. H. eds. **Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods**. Hong Kong, The Chinese University Press, 1982. p. 299-348.

JOB, D. La utilización de la borra del café como substrato de base para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr) Kummer. **Revista Iberoamericana de Micología**, Bilbao, v.21, p. 195-197, 2004.

JESUS, M. A. **Efeito dos extratos obtidos de *Swartzia argentea* Spruce ex Benth, *S. laevicarpa amshoff*, *S. panacoco* (Aublet) Cowan, *S. polyphylla* DC. e de *S. sericea* Vogel da Amazônia central sobre fungos degradadores de madeira**. 2003. 99 f. Tese (Doutorado em Microbiologia aplicada). UNESP, Rio Claro, 2003. .

MARINO, R.H. **Produtividade do *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. em função dos métodos de isolamento e produção de inoculantes.** 1997. 134 f. Dissertação (Mestrado) UNESP. Araraquara-SP, 1997.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações.** Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, SP. 201 p., 1989.

MARINO, R. H. **Melhoramento Genético de *Pleurotus ostreatus* visando o cultivo axênico de linhagens resistentes ao calor.** 2002. 109 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, UNESP, Araraquara – SP, 2002.

MARINO, R. H., EIRA, A. F., CARDOSO, E. Q. Melhoramento genético de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm por cruzamento multispóricos visando a obtenção de isolados resistentes ao calor. **Hoehnea**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 349-357, 2006.

MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* spp.** Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas-Botânica. Instituto de Biociências. USP. S. Paulo, 136 p., 1990.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria Orgânica do Solo: Métodos de Análises.** Viçosa, UFV, 107 p., 2005.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Mushroom biology: concise basics and current developments.** Singapore: World Scientific, 194 p., 1997.

MODA, E. M., HORII, J., SPOTO, M. H. F. Edible Mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 62, n. 2 p. 127-132, mar/abr.2005.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K. A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus*: Mushroom on different lignocellulosic by-products. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, 30: p.146-149, 2003.

OLIVEIRA, H. C. B. **Avaliação de três substratos com diferentes granulometrias, para o cultivo de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kummer.** 2000. 89 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). UFCE. Fortaleza, 2000.

PHILIPPOUSSIS, A.; DIAMANTOPOULOU, P.; ZERVAKIS, G.; IOANNIDOU, S. Potential for the cultivation of exotic mushroom species by exploitation of Mediterranean agricultural wastes. In: Van Griensven. (Eds) **Science and Cultivation of Edible Fungi**. v.2, P. 523-530, 2000.

- QUIMIO, T. H.; CHANG, S. T.; ROYSE, D. J. 1990. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. Roma: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 157p.
- RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHA, K. Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 371-375, 2003.
- RAJARATHNAM, S., BANO, Z. *Pleurotus* Mushrooms; part 3: Biotransformation of natural lignocellulosic waste: commercial applications and implications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 28 n. 1, p. 31-113, 1989.
- RAJARATHNAM, S., SHASHIREKA, M. N., BANO, Z. Biopotencialities of the Basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**, New York, Academic Press, v. 37, p. 233-361, 1992.
- REGINA, M. **Cinética do crescimento miceliano de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler em bagaço de cana-de-açúcar e serragem de eucalipto**. 2001. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas-UNESP, Botucatu, 2001.
- ROSADO, F. R.; CARBONERO, E. R.; KEMMEL-MEIER, C.; TISCHER, C. A.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. A partially 3-O-methylated (1C4)-linked K-D-galactan and K-D-mannan from *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 212, n. 2, p.261-265, 2002.
- SALES-CAMPOS, C., ABREU, R.L.S., VIANEZ, B.F. Condições de uso e processamento de madeira nas indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, Manaus, v.30, n.2, p. 319-331, 2000.
- SALES-CAMPOS, C; JESUS, M. A; EIRA, A. F.; CAMPAGNOLLI, F. Cinética do Crescimento Micelial do Fungo Comestível *Pleurotus ostreatus*, como Subsídio para Posterior Cultivo do Cogumelo em Resíduo Madeireiro da Região Amazônica. In: **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia**. Santos, SP, 2005.
- SAVÓN, R. C. B.; FERNÁNDEZ, C. D.; MANRIQUE, C. E. M.; SEVILLA, E. I. R.; QUEVEDO, H. J. M. Efecto de la luz em la concentración de micoesteroles de *Pleurotus ostreatus* Var. Florida. **Revista Cubana de Alimentación e Nutrición**, Habana, v.16, n.1, p.13-18, 2002.
- SHAH, Z. A.; ASHRAF. M.; ISHTIAQ-CH, M. Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom *pleurotus ostreatus* on different substrates (Wheat Straw, Leaves, Sawdust). **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v. 3, n.3 p. 158-160, 2004.
- SINGH, M. P. Biodegradation of lignocellulosic waste through cultivation of *Pleurotus sajur-caju*. IN: Van Griensven Ed. **Science and Cultivation of Edible Fungi**, Balkema, Rotterdam v. 2, p 517 521, proceeding of XV Mushroom Science, 2000.

SOUSA, M. R. Q.; CORREIA, M. J. Avaliação da produtividade de uma variedade comercial do cogumelo *Pleurotus ostreatus* na zona da mata do Estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, (supl.) p. 116 – 749, 2004.

STAMENTS, P. CHIITON, J. S. **The Mushroom Cultivator**. Olympia, Washington: Agarikon Press. p. 159-216, 1983.

STAMETS, P. **Growing gourmet and medicinal mushrooms**. 3 ed. Ten Speed Press. Barkeley, Ca. 574 p., 2000.

STURION, G. L. **Utilização da folha da Bananeira como substrato para o cultivo cogumelo (*Pleurotus spp*)**. 1994. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências/ Ciência e tecnologia de alimentos) ESAQ/USP, Piracicaba, 1994.

STURION, G. L.; OETTERER, M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp*) originados em diferentes substratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.15, n. 2: 189-193, 1995.

TSAO, G.T. Structures of cellulosic materials and their hydrolysis by enzymes. In: **Biotechnology and Applied Microbiology**. Alani, D.J. Moo-Young, M (ed.) New York, Elsevier Applied Science Publishers, p. 204-212, 1986.

TISDALE, T. E.; MIYASAKA, S. C.; HEMMES, D. E. Cultivation of oyster mushroom (*pleurotus ostreatus*) on wood substrates in Havai. **Word Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 22, p. 201-206, 2006.

UPADHYAY, R. C., VIJAY, B. Cultivation of *Pleurotus species* during winter in India. IN: MAHER Ed. **Science and Cultivation of Edible Fungi**. Proceeding of XIII Mushroom Science Balkemia, Rotterdam v. 2, p. 533- 536, 1991.

VATS, S. K., SOOD, R. P., GULATI, A; SHARMA, O. P. *Lantana camara* L. - A lignocellulololic substrate for cultivation of *Pleurotus sajor caju*. **Bioresource Technolog**, Essex, Great Britain. v. 48, p 40-52, 1994.

VIANEZ, B. F., BARBOSA, A. P. **Estudo de alternativas de uso dos resíduos gerados pela indústria madeireira em Manaus e Itacoatiara, Estado do Amazonas**. CPPF/INPA. Manaus, 50 p., 2003.

VELAZQUEZ-CEDEÑO, M. A.; MATA, G.; SAVOIE, J. M. Waste-reduction cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: Changes in the production of some lignocellulolytic enzymes. **Word Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v.18: 201-207 p., 2002.

VOGEL, F., SALMONES, D. Análisis comparativo de la productividad de cepas de *Pleurotus spp*. Cultivadas en una planta comercial. **Revista Iberoamericana de Micología**, Bilbao, Spain, v.17: 138-141p. 2000.

WONG, Y. S.; WANG, X. Degradation of tannins in spent coffee grounds by *Pleurotus sajor-caju*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.7, n.5, p.573-574., 1991.

YILDIZ, S. YILDIZ, Ü. C.; GEZER, E. D.; TEMIZ, A. Some lignocellulosic waste used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochemistry**, London, v. 38, p. 301-306, 2002.

ZADRAZIL, F. Cultivation of Pleurotus. In: Ghang, S. T.; Hayes W. A (eds.). **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Press, p. 521-557., 1978.

ZANETTI, A. L.; RANAL, M. A.. Suplementação da cana-de-açúcar com guandu no cultivo de *Pleurotus* sp. "Florida". **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 9, p: 959-964, 1997.

CAPÍTULO 3 Composição mineral da matéria-prima, dos substratos iniciais, residuais (pós-colheita) e do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer

RESUMO

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são cultivados em diversos substratos lignocelulósicos, devido à elevada atividade decompositora desses organismos, proveniente de seu metabolismo enzimático, possibilitando seu cultivo em diferentes substratos, podendo gerar uma atividade de importância econômica para a região, com o aproveitamento de resíduos madeireiros e agroindustriais. O presente estudo teve por fim analisar os minerais de substratos alternativos formulados a partir de resíduos madeireiros e da agroindústria da Amazônia para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, assim como a composição química dessa linhagem em relação aos diferentes substratos de cultivo, visando contribuir com a implantação do cultivo de fungos comestíveis na região. Foram analisados macro (P, K, Ca e Mg) e micronutrientes (Fe, Zn, Cu, Mn e Na) da matéria-prima, dos substratos: inicial e residual (pós-colheita) e do cogumelo. Os substratos analisados foram formulados a partir de serragem de *Simarouba amara* Aubl. (marupá), *Ochroma pyramidale* Cav. ex. Lam. (pau de balsa) e dos bagaços de *Bactris gasipaes* Kunth (pupunheira) e de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar). As amostras foram solubilizadas mediante digestão ácida (nitrico-peridrol). Os elementos Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. Na e K, por emissão atômica e o P, por colorimetria. Os resultados demonstram que a composição mineral do cogumelo variou com o substrato de cultivo. Os diferentes substratos possibilitaram a produção de um cogumelo rico em minerais: K, P, Mg e Fe, essenciais à nutrição e à saúde humana. O potássio foi o mineral de maior conteúdo no cogumelo em todos os substratos testados, variando de 36,83- 42,18 g kg⁻¹, seguido de fósforo (6,95-10,60 g kg⁻¹) e magnésio

(1,57-2,50 g kg⁻¹). Houve um aumento do conteúdo protéico e liberação de minerais no substrato residual em relação ao inicial, o que poderá possibilitar o seu uso como adubo orgânico e composição de ração para ruminantes, embora tais objetivos não sejam o foco desse estudo.

Palavras-chave: Composição química, cogumelo comestível, macronutrientes, micronutrientes, minerais.

CHAPTER 3 Mineral composition of *Pleurotus ostreatus* mushroom, of the raw material and of initial and spent substrates

ABSTRACT

Pleurotus mushrooms are cultivated in several lignocellulosic substrates due to their high decay activity originated from its enzymatic metabolism. This way, its cultivation in different substrates could be an activity of economic importance for the region, with the utilization of wood and agro-industrial residues. The objectives of the present study were to carry out the mineral analysis of the alternative substrates formulated from wood and agroindustrial residues of the Amazon for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. former Fr) Kummer, as well as the chemical composition of this strain in relation to different substrates, trying to implement the cultivation of edible mushrooms in the region. Macronutrients (P, K, Ca and Mg) and micronutrients (Fe, Zn, Cu, Mn and Na) were analyzed in the raw material, in the initial and spent substrates (post-harvest), and in the mushroom. The substrates were formulated from sawdust of *Simarouba amara* Aubl. (marupá), *Ochroma pyramidale* Cav. ex. Lam. (pau de balsa) and from the stem of *Bactris gasipaes* Kunth (pupunheira palm tree) and from *Saccharum officinarum* (sugar cane bagasse). The samples were digested by means of acid digestion (nitric-peridrol). The elements Ca, Mg, Fe, Cu, Zn and Mn were determined by spectrophotometry of atomic absorption. Na and K, were determined by atomic emission and P, by colorimetry. The results demonstrate that the mineral composition of the mushroom varied with the substrate. The different substrates produced mushrooms rich in minerals: K, P, Mg and Fe, essential to the nutrition and the human health. The potassium was the mineral with the biggest content in the mushroom in all tested substrates, varying from 36,83 to 42,18 g/kg, followed by phosphorus (6,95-10,60) and magnesium (1,57-2,50). There was an increase in protein content and minerals in the spent

substrate in relation to the initial substrate, making it possible its use as organic fertilizer and as feed for ruminants, although these suggestions are not the objectives of this study.

Keywords: Chemical composition, edible mushroom, macronutrients, micronutrients, minerals.

3.1 INTRODUÇÃO

O cultivo de cogumelos comestíveis tem evoluído com o tempo e atualmente é uma das atividades de importância econômica, em especial, a produção de espécies dos gêneros *Agaricus*, *Pleurotus* e *Lentinula* (GUZMAN et al., 1993).

Após a Segunda Guerra Mundial, a indústria de cogumelos comestíveis saltou de 350.000 toneladas em 1965, para 4,3 milhões de toneladas em 1991, sendo que 3,4 milhões de toneladas referem-se aos seis gêneros mais importantes mundialmente: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia*, *Volvariella*, e *Flammulina*, sendo os maiores produtores: China, Japão, EUA e França (MILES; CHANG, 1997). Os gêneros *Agaricus*, *Pleurotus* e *Lentinula* são os mais cultivados.

O aumento da produção mundial de cogumelos comestíveis, em especial do gênero *Pleurotus*, ocorreu em particular pela capacidade que as espécies têm de colonização e produção em uma variedade de resíduos dentre eles a serragem e os oriundos da agroindústria, uma característica que viabilizou economicamente a produção (EIRA et al., 1997). Tais características os tornam importantes não só quanto ao seu papel na produção, mas também do ponto de vista nutricional.

O tipo de substrato, condições ambientais, assim como a espécie de fungo utilizada no cultivo, têm grande influência na composição química dos cogumelos, podendo ocorrer variações, principalmente em relação a minerais e qualidade protéica dos mesmos (CRISAN; SANDS, 1978).

Poucos são os estudos acerca da composição mineral dos cogumelos cultivados (STRMISKOVÁ, 1992; VETTER, 1994; STURION; RANZANI, 2000). Adaptação das espécies e linhagens de *Pleurotus* a novos resíduos requerem além de conhecimentos inerentes ao processo

de cultivo, conhecimentos sobre a composição química, substrato utilizado para o cultivo, como também do cogumelo, sobretudo quanto se trata de estudo envolvendo novas formulações a partir de resíduos madeireiros e agroindustriais da Amazônia, onde esse tipo de estudo está sendo introduzido.

De modo geral, os elementos minerais necessários à frutificação do cogumelo são os mesmos exigidos no cultivo de vegetais, dividindo-se em macro e micronutrientes (Molena, 1986). Fósforo, potássio, magnésio e enxofre são macronutrientes necessários para o crescimento de diversos fungos (MILES; CHANG, 1997). Molena, (1986), cita o cálcio como um desses elementos. Kurtzman e Zadrazil (1984) **apud** Maziero (1990) relatam que além do aumento do crescimento do micélio, alguns sais minerais como o cloreto de sódio, de magnésio e de cálcio também estimulam a formação dos primórdios.

O cálcio, mineral necessário para as plantas, não o é para a maioria dos fungos, exceto para alguns ascomicetos na formação do peritécio bem como para certos basidiomicetos como *Cyathus stercoreus*, na formação do basidioma (CHANG; MILES, 1989). Segundo Przybylowicz e Donogue (1990), outros suplementos, como o calcário ou CaCO_3 devem ser adicionados ao meio de cultivo, para a manutenção do pH favorável ao crescimento fúngico durante os últimos estágios de decomposição, evitando o aumento de acidez ocasionada pelo seu metabolismo.

Potássio é o mineral disponibilizado para o fungo normalmente na forma de fosfato de potássio (0,0001- 0,0004 M), provendo desta maneira, dois minerais essenciais para o metabolismo do fungo (CHANG; MILES, 1989). O potássio é muito importante por ser co-fator de diversos sistemas enzimáticos, sendo o macro elemento de maior abundância nos cogumelos (CHANG et al., 1981; CHANG; MILES, 1989; STRMISKOVÁ et al., 1992; FASIDI; EKUERE, 1993; VETTER, 1990; VETTER, 1994; MILES; CHANG, 1997; STURION et al., 2000; WANG et al., 2001; ZHANG et al., 2002).

Entre os micronutrientes (elementos traços) mais estudados, e essenciais para o crescimento de muitas espécies de fungo, encontram-se: ferro, zinco, alumínio, manganês, cobre, cromo e molibidênio (MOLENA, 1986; MILES; CHANG, 1997). Alguns elementos químicos são detectados na constituição dos fungos, porém não indicam necessariamente nenhuma importância biológica. Experimentalmente, não é fácil determinar a quantidade necessária desses elementos, porque o elemento em teste poderá estar presente em quantidades suficientes na forma impura em algum ingrediente do meio de cultivo ou pode ter sido introduzido através do inóculo. Esses elementos são constituintes ou ativadores de várias enzimas (MILES; CHANG, 1997).

O conteúdo dos componentes minerais da madeira é normalmente baixo, formado principalmente por óxidos, tais como: óxido de cálcio, de magnésio, de fósforo, de silício, de potássio, dentre outros (BROWNING, 1963). O estudo de Varejão (1997) sobre a influência de metais pesados em plantas e sua interação com o meio ambiente, em solo da Amazônia, detectou teor de mineral mais baixo nos galhos do que nas folhas das plantas analisadas. O teor de cinzas da madeira também é considerado baixo, variando entre 0,2 e 1% do peso seco das madeiras (TSOUMIS, 1991; VAREJÃO, 1997).

O presente estudo teve por fim analisar minerais de novos substratos, bem como do fungo em relação a tais substratos de cultivo, de modo a conhecer a composição química de substratos alternativos formulados a partir de resíduos madeireiros e da agroindústria da Amazônia para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Analisar também a composição química dessa linhagem em relação ao substrato de cultivo, visando contribuir com novos estudos acerca do cultivo de cogumelos, para futura aplicação no cultivo de fungos comestíveis na região.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Amostras analisadas

As amostras foram divididas em matéria-prima (analisada separadamente), substratos (inicial e residual) e o cogumelo cultivado nos diferentes substratos, especificados a seguir:

- a) Matéria-prima: farelo de arroz (FA), farelo de trigo (FT), farelo de milho (FM) e mistura de farelos (MFR), na proporção de 60: 20: 20 % em peso seco para os respectivos farelos; serragem de marupá (MP), de pau de balsa (PB), estipe da pupunheira triturado (PP) e bagaço de cana-de-açúcar (CN);
- b) Substrato inicial autoclavado (SIA), antes de ser submetido ao cultivo do fungo, composto pela mistura de cada serragem ou bagaço + mistura de farelos (MFR) + CaCO_3 com a seguinte codificação: SIAMP - substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá, SIAPB - da serragem de pau de balsa, SIAPP - do resíduo do estipe da pupunheira, SIACN - do bagaço-de-cana-de açúcar;
- c) Substrato residual (SR), oriundo do processo final do cultivo de *Pleurotus ostreatus* nos substratos mencionados a cima: SRMP; SRPB; SRPP e SRCN;
- d) Cogumelo cultivado nos respectivos substratos iniciais: SIAMP-COG; SIAPB-COG; SIAPP-COG e SIACN-COG.

3.2.2 Determinação de macro e micronutrientes

As análises foram executadas em número de três repetições por amostra, seguindo o mesmo parâmetro utilizado para análise de amostras de solos e plantas (MALAVOLTA et al.,

1989; 1992) a fim de se averiguar a presença de compostos minerais. As amostras foram secas e finamente moída em moinho de faca, tipo Willey, na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, para posterior digestão e análises nos Laboratório de Análise de Solos e Plantas do mesmo Instituto e da Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas. Efetuou-se análise dos macronutrientes: cálcio, magnésio, fósforo, potássio e dos micronutrientes: sódio, ferro, cobre, manganês e zinco.

Para isto, as vidrarias foram desmineralizadas com uma solução de ácido nítrico a 20%, durante 24h, para solubilização e remoção total dos compostos inorgânicos que poderiam ser potenciais contaminantes minerais da amostra. Em seguida, as amostras foram pesadas (0,5g), digeridas (por via úmida) com ácido nítrico-peridrol e solubilizadas. Os elementos foram analisados por espectrometria de absorção atômica, emissão atômica e colorimetria por UV-visível. As amostras foram previamente calibradas com soluções padronizadas para cada elemento (A. O.A.C., 1997).

O conteúdo de cálcio, magnésio, ferro, cobre, manganês e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. O fósforo foi determinado por colorimetria, sódio e potássio por emissão atômica. Os valores dos macronutrientes (Ca, P, Mg, K) foram calculados em g kg^{-1} e dos micros (Na, Fe, Cu, Mn e Zn) em mg kg^{-1} .

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo dos minerais (macro e micronutrientes) das matérias-primas utilizadas na preparação dos substratos de cultivo encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Composição mineral das matérias-primas analisadas.

Matéria-prima	Macronutrientes					Micronutrientes				
	Ca	Mg	P	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu	
	g/kg					mg/kg				
Farelos	FA	(0,09) 0,63	(0,50) 7,02	(0,11) 22,55	(2,33) 19,41	(14,14) 270	(1,73) 98,00	(1,53) 77,67	(0,58) 212,33	(0,00) 8,00
	FT	(0,03) 1,03	(0,08) 4,01	(0,11) 11,72	(0,18) 10,65	(14,14) 380	(4,36) 146,00	(0,58) 109,67	(0,58) 151,33	(1,53) 13,33
	FM	(1,38) 0,93	(0,15) 1,17	(0,01) 2,70	(0,35) 3,60	(0,00) 300	(1,53) 33,67	(1,15) 32,33	(0,58) 6,33	(1,00) 3,00
	MFR	(0,20) 0,52	(0,08) 6,09	(0,22) 9,71	(0,36) 15,01	(5,23) 305,00	(0,58) 98,33	(0,00) 91,00	(0,58) 192,33	(0,58) 8,33
Volumosos	MP	(0,21) 2,75	(0,00) 0,24	(0,01) 0,52	(0,05) 1,06	(0,00) 400,00	(2,52) 75,33	(0,58) 11,67	(0,00) 6,00	(0,00) 7,00
	PB	(2,26) 5,50	(0,01) 0,81	(0,04) 0,51	(0,09) 2,40	(5,77) 403,33	(1,15) 47,33	(1,15) 22,33	(0,58) 5,33	(0,00) 9,00
	PP	(0,64) 2,97	(0,01) 1,25	(0,01) 3,27	(0,09) 9,77	(0,00) 290,00	(3,21) 63,67	(1,15) 97,33	(0,58) 5,33	(0,00) 12,00
	CN	(0,04) 0,63	(0,01) 0,07	(0,03) 2,87	(0,07) 1,88	(1,21) 515,00	(0,58) 35,33	(0,58) 11,33	(0,58) 7,33	(0,00) 5,00

FA: farelo de arroz, FT: farelo de trigo, FM: farelo de milho, MFR: mistura de farelos (arroz, trigo e milho, na proporção 60: 20: 20), MP: serragem de marupá, PB: serragem de pau de balsa, PP: bagaço triturado da pupunheira, CN: bagaço de cana-de-áçúcar. Números em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Os macronutrientes fósforo, potássio, magnésio e enxofre são necessários para o crescimento de diversos fungos (CHANG; MILES, 1989; MILES; CHANG, 1997) e, segundo Kurtzman e Zadrazil (1982), fósforo, potássio, ferro, magnésio e zinco são os minerais mais importantes para o cultivo do gênero *Pleurotus*.

Tais minerais estão presentes naturalmente em todas as matérias-primas utilizadas na preparação do substrato de cultivo (Tabela 5). Entre os microelementos (elementos traços) mais estudados, e essenciais para o crescimento de muitas espécies, merecem destaque: ferro, zinco, manganês, cobre, cromo e molibidênio (MOLENA, 1986; MILES; CHANG, 1997).

Na Tabela 6 apresentam-se os resultados de macro e micro minerais analisados nos diferentes substratos de cultivo, umedecidos e autoclavados: substratos iniciais (SIA). Estes minerais estiveram presentes na matéria-prima e em todos os substratos testados, com maior quantidade no substrato formulado a partir do resíduo da pupunheira: SIAPP (Tabela 6), estando de acordo com o estudo dos mesmos autores, à exceção do cromo, molibidênio, e do enxofre, os quais não foram analisados no presente estudo.

Os macronutrientes presentes nos substratos iniciais analisados (Tabela 6) obedeceram a seguinte ordem decrescente: Ca, K, P e Mg, enquanto que os micros obtiveram a seguinte: Na, Fe, (exceto para SIAPP e SIACN, em que o Fe foi superior ao Na), Mn, Zn e Cu. A presença destes minerais nos substratos testados confirma a importância dos mesmos para o cultivo de cogumelos (KURTZMAN; ZADRAZIL, 1982; MOLENA, 1986; CHANG; MILES, 1989; MILES; CHANG, 1997), onde foi observado que o substrato de maior produtividade foi SIAPP, conforme foi evidenciado pela alta eficiência biológica (Capítulo 2) referente ao cultivo. Porém, outros fatores estão envolvidos, pois foi o substrato com maior teor de proteína, cinzas, melhor relação C:N e quantidade relativamente elevada de carboidratos disponíveis (abordados no capítulo 4).

Tabela 6 - Composição mineral dos substratos iniciais autoclavados - SIA.

Substrato Inicial	Macronutrientes				Micronutrientes				
	Ca	Mg	P	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
Autoclavado	g/kg				mg/kg				
	(0,77)	(0,13)	(0,00)	(0,10)	(0,10)	(1,00)	(4,51)	(0,58)	(0,39)
SIAMP	9,79	1,49	3,78	3,67	67,03	64,00	21,33	34,67	3,49
	(0,61)	(0,12)	(0,01)	(0,32)	(0,16)	(1,53)	(6,66)	(1,00)	(0,06)
SIAPB	10,27	1,75	3,78	7,92	66,83	61,67	29,33	35,00	5,02
	(2,22)	(0,11)	(0,17)	(0,44)	(0,27)	(1,15)	(1,00)	(0,00)	(0,04)
SIAPP	36,86	2,38	7,18	8,55	66,85	104,33	82,00	40,00	9,35
	(0,02)	(0,01)	(0,01)	0,03	(1,37)	(0,58)	(2,00)	(1,53)	(0,98)
SIACN	8,42	1,49	3,55	3,35	41,15	67,67	32,00	37,33	9,94

SIAMP: substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá; SIAPB: da serragem de pau de balsa; SIAPP: do estipe da pupunheira triturado; SIACN: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por substrato em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Na Tabela 7 encontram-se os resultados de macro e micro minerais presentes nos substratos residuais: pós-colheita, denominados de substratos residuais (SR) os quais obedeceram às respectivas ordens decrescentes para macro ($Ca > P > K > Mg$) e micronutrientes ($Zn > Fe > Mn > Na > Cu$). Tal substrato (SR) sofreu modificações na sua composição resultando em um substrato diferente do inicial. Segundo Oliveira (2000), o grau de degradação varia com o material genético das espécies de *Pleurotus* utilizada, fatores físico-ambientais, químicos e biológicos.

De acordo com Rajarathmam e Bano (1989) **apud** Sturion (1994), o substrato sofre uma diminuição da matéria orgânica devido à perda de CO₂ e H₂O durante o metabolismo do fungo, bem como em função da remoção de substâncias do substrato para a construção do corpo de frutificação (basidiomas). Estas perdas, em geral, são maiores durante a frutificação do que durante o desenvolvimento micelial. Há uma tendência do aumento de nitrogênio aminoacídico devido à atividade de proteases, justificada pela perda de CO₂, bem como uma diminuição progressiva dos compostos fenólicos com o aumento do período de incubação, devido à atividade das enzimas oxidativas secretadas pelos *Pleurotus* e que degradam os fenóis (Rajarathmam e Bano, 1989).

Tabela 7 - Composição mineral dos substratos residuais (SR), pós-colheita.

Substrato Residual (pós-colheita)	Macronutrientes				Micronutrientes				
	Ca	Mg	P	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
	g/kg				mg/kg				
SRMP	(0,02)	(0,03)	(0,01)	(0,02)	(9,43)	(1,53)	(0,58)	(1,00)	(0,52)
	24,66	2,65	3,63	2,90	79,34	213,33	426,33	123,00	8,20
SRPB	(,15)	(0,02)	(0,01)	(0,03)	(4,78)	(2,08)	(0,00)	(1,53)	(0,27)
	26,35	3,44	3,70	4,47	98,33	312,67	480,00	117,67	7,43
SRPP	(0,03)	(0,01)	(0,11)	(0,01)	(0,10)	(1,00)	(1,00)	(1,00)	(0,59)
	39,94	3,51	7,36	6,21	112,70	217,00	427,00	112,00	7,48
SRCN	(0,02)	(0,03)	(0,01)	(0,01)	(0,42)	(1,00)	(1,00)	(1,53)	(0,43)
	25,14	2,47	3,80	2,31	121,03	178,00	355,00	125,67	4,46

SR= substrato residual oriundo do cultivo de *P. ostreatus*. SRMP: a partir da serragem marupá; SRPB: da serragem de pau de balsa; SRPP: do estipe da pupunheira triturado; SRCN: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por substrato em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Comparando os dados das Tabelas 6 com os da Tabela 7, observou-se que a composição mineral do SR aumentou em relação à composição do substrato inicial para a maioria dos elementos, com exceção do K, cujos valores foram inferiores em todos os substratos residuais, bem como do P dos substratos residuais: SRMP e SRPB, que apresentaram valores inferiores aos do substrato inicial. Dentre os micronutrientes, as análises do cobre dos substratos SRPP e SRCN, também revelaram valores menores do que os de seus respectivos substratos iniciais, antes de serem decompostos pelo fungo (SIA).

O aumento relativo do conteúdo de minerais nos substratos residuais, também foi constatado em outros trabalhos (ZADRAZIL, 1978; STURION, 1994; OLIVEIRA, 2000; SILVA et al., 2002), oriundos do cultivo de diferentes linhagens de *Pleurotus* em vários resíduos agrícolas. O cálcio foi o elemento que apresentou maior conteúdo no SR, tanto neste (Tabela 7), como nos demais estudos (ZADRAZIL, 1978; STURION, 1994; OLIVEIRA, 2000; SILVA et al., 2002). Uma elevação do conteúdo de N, P, Ca, Mg, Na, Cu, Mn e Zn também foi observado no substrato pós-colheita no cultivo de shiitake: *Lentinula edodes* (Berk), em diferentes espécies de eucaliptos (ANDRADE, 2007).

Zadrazil (1978), analisando o teor de minerais no substrato, nas diferentes fases de cultivo de *P. ostreatus*, observou que houve um aumento do conteúdo de minerais (N, P, K, Ca e Mg) e cinzas, até a fase que antecede à frutificação (fase vegetativa em que o micélio do fungo armazena nutrientes para a formação do basidioma), seguido de um pequeno decréscimo de N, K e P, demonstrando uma remoção seletiva de nutrientes para o basidioma, no processo de formação do mesmo. Mesmo assim, o SR apresentou elevação do conteúdo de minerais em relação ao SIA. O autor relata ainda que o SR, rico em nutrientes, apresentou alta digestibilidade devido à degradação da celulose e lignina, com aumento da solubilidade, disponibilizando

conseqüentemente maior conteúdo em açúcares livres (glicose), podendo ser empregado como base para composto de champignon, adubo orgânico e ração animal.

O trabalho de Rajarathnam et al. (1992), sobre a potencialidade dos basidiomicetos, refere-se ao aumento do teor de cinzas no SR, como resultado da constante utilização da matéria orgânica pelo fungo, ocorrida desde a fase de incubação, até o final do cultivo, possibilitando a liberação de minerais para o substrato final.

No atual estudo, embora os minerais não tenham sido analisados nas diferentes fases do crescimento do fungo conforme fez Zadrazil (1978), constatou-se nos substratos decompostos pelo fungo (SR), uma considerável liberação do conteúdo de minerais, assim como elevação do teor de cinzas e de proteínas, (capítulo 4), o que favorece a utilização do SR como composição para ração animal bem como uso como adubo orgânico. O incremento da proteína no SR foi proveniente do conseqüente aumento de conteúdo de nitrogênio no substrato.

Há diversos trabalhos na literatura acerca do uso do substrato residual oriundo do cultivo de *Pleurotus*, dentre eles a utilização como adubo para a produção hortaliças (MAHER, 1991), plantas ornamentais (CHONG et al., 1991), como composição de ração animal (ZADRAZIL, 1993; HADAR et al., 1993; PERMANA et al., 2000; LI et al., 2001; BELEWU, 2005; ALBORÉS et al., 2006), fertilizantes para o solo (GRABE; SÖCHTIG 1995), bem como utilização como substrato de cultivo para outras espécies de fungo (PERMANA et al., 2000; LI et al., 2001; SILVA et al., 2002).

Os substratos residuais do presente estudo possivelmente poderão ser aproveitados para estes fins. Todavia não foram testados em relação a tais objetivos.

Com relação ao aumento do teor de minerais e de cinzas no SR, cabe ressaltar a importância de estudos adicionais no sentido de se verificar as causas dos teores desses elementos serem tão superiores aos encontrados no substrato inicial. Tal fato poderá estar relacionado com

maior solubilização destes elementos no SR, em função da degradação eficiente da matéria orgânica ocasionada pelo fungo.

Na Tabela 8 apresentam-se os resultados dos minerais presentes no cogumelo *P. ostreatus* cultivado nos diferentes substratos, caracterizando-o como fonte de minerais, os quais estão de acordo com os trabalhos de Chang e Miles (1989); Miles e Chang (1997); Vetter (1990; 1994); Sturion e Ranzani (2000); Zhang e Fadel (2002); Bernás et al. (2006).

Tabela 8 - Composição mineral do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado nos diferentes substratos.

Cogumelo por substrato	Macronutrientes					Micronutrientes			
	Ca	Mg	P	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
	g/kg					mg/kg			
	(0,06)	(0,02)	(0,17)	(0,66)	(16,97)	(1,73)	(1,00)	(1,00)	(0,05)
SIAMP- COG	0,47	2,50	7,40	39,68	154,00	151,00	118,00	23,00	11,69
	(0,01)	(0,02)	(0,22)	(1,01)	(5,40)	(1,15)	(1,00)	(0,58)	(0,32)
SIAPB - COG	0,34	2,12	10,60	36,83	172,67	131,33	124,00	20,33	10,97
	(0,04)	(0,01)	(0,13)	(0,43)	(2,12)	(1,15)	(2,65)	(0,00)	(0,31)
SIAPP - COG	0,57	1,57	9,74	42,18	181,90	115,67	82,00	16,00	9,10
	(0,03)	(0,02)	(0,28)	(0,74)	(8,20)	(1,00)	(1,00)	(0,58)	(0,27)
SIACN - COG	0,60	2,12	6,95	41,52	194,40	123,00	96,00	20,67	10,39

SIAMP-COG: cogumelo cultivado no substrato a partir da serragem de marupá; SIAPB-COG: da serragem de pau de balsa; SIAPP-COG: do estipe da pupunheira triturado; SIACN-COG: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por substrato em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Os cogumelos são importantes fontes de minerais e esses são retirados do substrato por meio do micélio, sendo providos durante o crescimento micelial do fungo e translocados para os corpos de frutificação durante processo de formação destes (CHANG; MILES, 1989).

Os constituintes minerais dos cogumelos são basicamente os mesmos das plantas superiores. Assim como nestas, o K é o mineral de maior conteúdo, seguido de P e Mg, confirmando os dados da literatura (CHANG et al., 1981; CHANG; MILES, 1989; STRMISKOVÁ et al., 1992; VETTER, 1990; 1994; STURION, 1994; STURION; OETTERER, 1995; MILES; CHANG, 1997; STURION; RANZANI 2000; WANG et al., 2001; BERNÁS et al., 2006). Esses dados podem ser comprovados na Tabela 8, em que para os macronutrientes, o potássio possui o maior conteúdo de mineral em todos os substratos testados, variando de 36,83-42,18 g kg⁻¹, seguido de fósforo (6,95-10,60 g kg⁻¹), magnésio (1,57-2,50 g kg⁻¹) e cálcio (0,34-0,60 g kg⁻¹).

A título de comparação com outros estudos revisados da literatura, a Tabela 9 apresenta resultados da composição mineral de várias espécies do gênero *Pleurotus* cultivados em diferentes substratos.

No presente trabalho, os valores de potássio, fósforo e magnésio nos cogumelos cultivados nos diversos resíduos, são superiores aos apresentados por Vetter (1990) e por Sturion (1994), em que a autora cultivou diversas linhagens de *Pleurotus* spp. em diferentes resíduos agrícolas (Tabela 9). São superiores aos resultados de potássio e de magnésio relatados por Chang et al. (1981); Vetter (1994); e o de Sturion e Ranzani (2000) no qual os autores analisaram diversas linhagens comerciais de *Pleurotus* cultivados no Brasil, bem como os reportados por Wang et al. (2001) quando cultivaram *P. ostreatus* em resíduo de cevada, o que pode ser comprovado na Tabela 9.

Tabela 9 - Estudo comparativo da composição mineral de *Pleurotus* spp. de outros autores – Valores convertidos em g kg⁻¹ (para macro) e em mg kg⁻¹ (para micronutrientes).

Fonte	Fungo	Substrato	Macronutrientes					Micronutrientes				
			K	P	Mg	Ca	Na	Fe	Zn	Mn	Cu	
			g/kg					mg/kg				
Akindahunsi e Oyetayo, 2006.	<i>P. tuber-regium</i> <i>estipe/píleo</i>	–	3,1- 3,3	0,10 -0,15	0,02	2,9 -1,2	80 -70	–	20 -50	–	3 - 2	
Bernás et al., 2006.	<i>P. ostreatus</i>	–	27,22-51,00	6,18-13,39	1,28-1,90	0,89-1,50	440-1440	90 - 150	30 a 120	–	–	
Chang et al.,1981.	<i>P. Sajor-caju</i>	Palha de trigo, resid. algodoeiro	23,2-24	5,87-8,40	1,37-1,88	0,19-0,36	1720-2380	50-115	–	–	–	
Chang et al.,1981.	<i>P. ostreatus</i>	–	37,93	13,48	–	0,33	8370,0	152	–	–	–	
Gbolagade et al., 2006.	<i>P. florida</i>	Madeira em decomposição	0,146	0,137	0,017	0,05	3	0,7	5	7	0,5	
Moda et al., 2005.	<i>P sajour-caju</i>	Bagaço de cana lavado e suplem.	43,2	19,7	4,6	0,102	215,0	163	192	21	14	
Sapata, 2005.	<i>P. ostreatus</i>	Palha de trigo + dif. res. agric.	11,7-32,5	–	1,14-3,56	0,48-8,8	18 600	97- 283	67-125	8,6-18	14-42	
Silva et al., 2002.	<i>P. pulmonarius</i>	Diversos resíduos agrícolas	5,79-23,709	–	0,71-2,593	0,034-0,684	–	75-154	–	–	–	
Sturion e Oetterer, 1995	<i>Pleurotus</i> spp.	Diferentes res. agrícolas	9,9 - 29,8	3,8 - 11,2	0,7 -1,8	0,1- 5,2	–	27-561	26-163	3 - 32	7 a 19	
Sturion e Ranzani 2000.	<i>Pleurotus</i> spp.	–	32,8	14	1,9	–	105,14	136,28	127,47	12,42	24,42	
Vetter, 1990.	<i>P. ostreatus</i> silvestre	Diferentes substratos	19,93-27,12	3,79 -7,13	1,20- 1,59	1,40-1,65	–	99-252	70,3-91,2	9,7-23,6	5,7 -11	
Vetter, 1994.	<i>P. ostreatus</i> píleo/estipe	Palha de trigo	39,83-27,22	11,98-6,18	1,90 - 1,24	0,89- 1,06	544-438	151-137	80,2-48,9	7,06-11,3	21,9-16,	
Wang et al., 2001.	<i>P. ostreatus</i> píleo/estipe	Resíduo cevada + trigo	21,71	16,48	1,82	–	219	71	137	16	25	
Zhang e Fadel, 2002.	<i>P. ostreatus</i>	Palha de arroz, Palha trigo s/ suplem.	35,5	9,7	–	–	–	–	–	–	–	
Strmisková, 1992.	<i>P. ostreatus</i>	–	39,9	13,39	1,84	0,14	195	90,3	67,6	7,38	15,1	

Segundo Li e Chang (1982), **apud** Chang e Miles (1989), os teores de potássio, fósforo, sódio, cálcio e magnésio do cogumelo constituem cerca de 56 a 70 % de seu conteúdo total de cinzas, sendo que potássio contribui com aproximadamente 45 %, o que demonstra a riqueza desse mineral no cogumelo analisado.

Comparando os resultados de minerais dos substratos de cultivo com os presentes nos cogumelos cultivados nos diferentes substratos, verifica-se que potássio, fósforo e magnésio estiveram presentes em maior quantidade no cogumelo (Tabela 8) do que no substrato de cultivo (Tabela 6), com exceção do magnésio quando o cogumelo foi cultivado no substrato de pupunheira. O mesmo foi constatado por Bano e Rajarathnam (1988) **apud** Sturion (1994), para o fósforo, quando cultivaram diferentes espécies de *Pleurotus* em palha de arroz. O conteúdo de fósforo e de potássio também foi maior no cogumelo em relação ao substrato de cultivo, nos trabalhos de Zhang e Fadel (2002), quando cultivaram *Pleurotus sajor-caju* em palha de arroz e de trigo. Resultados semelhantes para o estudo de Sapata (2005) foram obtidos para os minerais magnésio e potássio que apresentaram valores superiores no cogumelo em relação ao substrato.

O processo de translocação do potássio para o basidioma parece ter sido bastante eficiente, pois quanto maior o seu conteúdo no cogumelo (Tabela 8), menor é o seu conteúdo no substrato residual correspondente (Tabela 7).

O cálcio detectado no cogumelo aparece em menor concentração no atual estudo (0,34 a 0,60 g kg⁻¹), estando de acordo com os dados da literatura, como pode ser visto em todos os estudos reportados na Tabela 9, exceto para o cogumelo *Pleurotus tuber-regium* em que o conteúdo de cálcio é mais alto do que o de fósforo.

Entre os microminerais presentes no cogumelo cultivado nos diversos substratos analisados, o maior conteúdo apresentado foi para o sódio em todos os substratos testados,

variando de 154 - 194,40 mg kg⁻¹, seguido de ferro (115,67-151 mg kg⁻¹), zinco (64,67-82 mg kg⁻¹), manganês (16 - 23 mg kg⁻¹) e cobre (9,10 - 11,69 mg kg⁻¹).

Embora o sódio tenha o valor mais alto entre os microminerais este é considerado baixo, do ponto de vista da dieta humana, segundo Sturion (2000), o que aliado ao fato de ser rico em potássio, faz deste cogumelo importante do ponto de vista da saúde em relação a pacientes com problemas de hipertensão.

Para os mesmos minerais analisados no estudo de Strimisková et al. (1992), os autores obtiveram na ordem decrescente, em mg kg⁻¹: sódio, ferro, zinco, cobre e manganês, os respectivos valores de 195,0; 90,3; 67,6; 15,1 e 7,4 mg kg⁻¹. A ordem foi basicamente a mesma no atual estudo, exceto para o manganês que foi superior ao cobre.

Houve uma variação da composição química do cogumelo de acordo com o substrato em que foi cultivado. O mesmo foi detectado por estudos anteriores (CHANG et al., 1981; FASIDI; EKUERE, 1993; STURION, 1994; SILVA et al., 2002).

3.4 CONCLUSÕES

- Constatou-se mineralização no substrato decomposto pelo fungo (SR), como resultado da constante utilização da matéria orgânica pelo fungo desde a fase de incubação até o final do cultivo, o que possibilitou a liberação desses minerais para o substrato residual.
- O potássio foi o mineral de maior conteúdo nos cogumelos, em todos os substratos testados (SIAMP, SIAPB, SIAPP e SIACN), variando de 36,83 - 42,18 g kg⁻¹, seguido de fósforo (6,95 - 10,60 g kg⁻¹) e de magnésio (1,57 - 2,50 g kg⁻¹)
- A composição mineral do cogumelo variou com o substrato de cultivo.
- Os diferentes substratos utilizados no presente estudo possibilitaram a produção de um cogumelo rico em potássio, fósforo, magnésio e ferro, essenciais à nutrição e a saúde humana.

3.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of A.O.A.C.** International. 16a. ed. 3a. rev. A.O.A.C. International. Gaithersburg, MD, 1997.

ANDRADE, M. C. N. **Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto.** 2007. 195 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)- Faculdade de Ciências Agrônômica, Universidade Estadual Paulista, UNESP-Botucatu, 2007.

ALBORÉS, S.; PIANZOLLA, M.; SOUBES, M.; CERDEIRAS, M. P. Biodeterioration of agroindustrial wastes by *Pleurotus* spp. for its use as ruminant feed. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, Chile, v. 9, N. 3, p. 215-220, 2006.

AKINDAHUNSSI, A. A.; OYETAYO, F. L. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (fries) Singer. **LWT. Food Science and Technology**, Oxford Elsevier Ltd. v. 39, n. 5, p. 548-553, 2006.

BELEWU, M. A.; BELEWU, K. Y. Cultivation of mushroom (*Volvariella volvaceae*) on banana leaves. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 4, n. 12, p.1401-1403, Dec. 2005.

BERNÁS, B.; JAWORSKA, G.; LISIEWKA, Z. Edible Mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. **Acta Scientiarum Polunorum Technologia Alimentaria**, Cracóvia, v. 5, n. 1, p. 5-20, Cracóvia, Polônia, 2006.

BROWNING, B. L. **The chemistry of wood.** New York. John Wiley & Sons. 1963, 689p.

CHANG, S. T. Mushroom as human food. **Bioscience**, Washington, v. 30, n 6, p. 399-401. 1980.

CHANG, S. T.; LAU, O. W.; CHO, K. Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus Sajor-caju*. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, 12: 58-62, 1981.

CHANG, S. T., MILES, P. G. A new look at cultivated mushroom. **Bioscience**, Washington, v. 34, n. 6 p. 358-362. 1984.

CHANG, S. T; MILES, P. G. Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China. **Mushroom Journal for the Tropics**, Hong Kong, v.7, p. 31-37, 1987.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Edible mushrooms and their cultivation**, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. 345p, 1989.

CHANG, S. T. Mushroom biology: The impact on mushroom production and mushroom products In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**, Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong, 1993. p. 3-20.

CHONG, C.; RINKER, D. L.; CLINE, R. A. A comparative of five spent mushroom compost for container culture of ornamental shrubs. In: MAHER Ed. **Science and Cultivation of edible Fungi**, Balkemia, Rotterdam, v. XIII, n. 2: 637- 644, 1991.

CRISAN, E. V.; SANDS, A. 1978. A nutritional value: In: CHANG, S. T.; HAYES, W.A. (Eds). In: **The biology and cultivation of edible mushroom**. Academic Press. New York, p. 137-168.

DAS, N., MUKHERJEE, N. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed palnt. **Bioresource Technology**, Essesx, v. 98, p. 2723-2726. 2007.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A.; BRAGA, G. C.; MONTINI, R. M. C.; ICHIDA, M. S.; MARINO, R. H.; COLAUTO, N. B.; SILVA, J.; NETO, F. J. 1997. **Manual teórico/ prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. UNESP/FEPAF. Botucatu, 115p.

FASIDI, I.; EKUERE, V. U. Studies on *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer: cultivation, proximate composition and mineral contents of sclerotia. **Food Chemistry**, Ibadan, v. 48, n. 3, 255-258, 1993.

GARCHA, H. S., KHANNA, P. K., SONI, G. L. In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong, p.227-236, 1993.

GBOLAGADE, J.; AJAYI, A.; OKU, I.; WANKASI, D. Nutritive value of common wild edible mushrooms from nouthern Nigeria. **Global Journal of Biotechnology & Bichemistry**. IDOSI publications, v.1, n.1, p.16-21, 2006.

GUZMÁN, G.; MARTINEZ, D. *Pleurotus* growing on cofee-pulp in a semi-industrial plants-a new promising mushroom cultivator technology in the subtropics of México. **Mushroom Newsletter for the Tropics**. Instituto Nacional de Investigaciones Sobre Recursos Bióticos (INIRED). Xalapa, México. v. 6, (3), p. 7-10. 1986.

GUSMÁN, G., MATA, G., SALMONES, D., SOTO-VELASCO, C., GUZMÁN-DÁVALOS, L. **El cultivo de los hongos comestibles**. Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. 245p, 1993.

HADAR, Y.; KEREM, Z.; GORODECKI, B. *Biodegradation of lignocellulosic agricultural waste by *Pleurotus ostreatus**. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 30, p. 133-139, 1993.

KURTZMAN, Jr. R. H.; ZADRAZIL, F. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushroom. In: CHANG, S. T.; QUIMIO, T. H. eds. **Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods**. Hong Kong, The Chinese University Press, 1982. p. 299-348.

LI, X.; PANG, Y.; ZHANG, R. Compositional changes of cottonseed hull substrate during *P. ostreatus* growth and the effects on the feeding value of the spent substrate. **Bioresource Technology**, Essex, v. 80, n. 2, p. 157-161, 2001.

MAHER, M. J. Spent mushroom compost (SMC) as a nutrient in peat based potting substrates. IN: MAHER Ed. **Science and Cultivation of Edible Fungi**. Balkemia, Rotterdam v. 2, p645-650, 1991.

MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* spp.** 1990. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica). Instituto de Biociências. USP. São Paulo, 1990.

MILES, P. G., CHANG, S. T. **Mushroom biology: concise basics and current developments**. Word Scientific Publishing Co., Singapore, 194p, 1997.

MODA, E. M.; HORII, J.; SPOTO, M. H. F. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugar cane bagasse. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 62, n. 2, p. 127-132, 2005.

MOLENA, O. 1986. **O moderno cultivo de cogumelos**. Nobel, S. Paulo, 170p.

OLIVEIRA, H. C. B. **Avaliação de três substratos com diferentes granulometrias, para o cultivo de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kummer**. 2000. 89 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitotecnia). UFCE. Fortaleza, 2000.

PERMANA, I. G.; FLACHOWSKY, G.; MEULEN, U.; ZADRAZIL, F. Use of sugar cane bagasse for mushroom and animal feed production. In: Griesven Ed. **Science and Cultivation of Edible Fungi**. Balkemia, Rotterdam v. XV, n. 1, p.385-390, 2000.

PRYZZYBYLOWICZ, P., DONOGHUE, J. **Shiitake growers handbook: The art and science of mushroom cultivation**. Kendall/Hunt Publishing Company. Dubuque, 217p, 1990.

RAJARATHNAM, S., SHASHIREKA, M. N., BANO, Z. Biopotencialities of the Basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**, New York, Academic Press, v. 37, p. 233-361, 1992.

SAPATA, M. R. L. **Valorização de resíduos agrícolas: produção de cogumelos do gênero *Pleurotus*. Relatório Final do projeto.** Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas – Estação Agronômica Nacional. Oeiras, Portugal, Março 2005, 32p.

SILVA, S. O.; COSTA, S. M. G.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 531-535, 2002.

STRMISKOVÁ, G.; STRMISKA, F.; DUBRAVICKY, J. Mineral composition of oyster mushrooms. **Nahrung**, Bratislava, v. 36, n. 2, p. 210-212, 1992.

STURION, G. L. **Utilização da folha da Bananeira como substrato para o cultivo cogumelo (*Pleurotus* spp).** 1994. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências/ Ciência e tecnologia de alimentos) ESAQ/USP, Piracicaba, 1994.

STURION, G. L.; RANZANI, M. R. T. C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil- *Pleurotus* spp e outras espécies desidratadas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas. 2000. V. 50, n.1, p. 102-108.

STURION, G. L.; OETTERER, M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp) originados em diferentes substratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 15 2, p. 89-193, 1995.

TSOUMIS, G. **Science and technology of wood: structure, properties, utilization.** New York: Van Nostrand Reinold, 1991. 494p.

VAREJÃO, M. J. C. **A influência dos metais pesados em plantas e sua interação com o meio ambiente.** 1997. 155 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Ecologia)- Programa de Pós Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais Renováveis/PPGBTRN/INPA/UA, Manaus, 1997.

VETTER, J. Mineral element content of edible and poisonous macrofungi. **Acta Alimentaria**, Budapest, v. 19, n.1, p. 27-40, 1990.

VETTER, J. Mineral elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. **Food Chemistry**, Ibadan, 50, p 277-279, 1994.

WANG, D.; SAKODA, A. SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource Technology**, Essex, v. 78, n. 3, p. 293-333, 2001.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In: Ghang, S. T. Hayes W. A (eds.). **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Press, 1978, p. 521-557.

ZADRAZIL, F. Conversion of lignocellulosics into animal feed with white rot fungi. In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products 23-26 august. The Chinese University Press. Hong Kong, p. 151-162, 1993.

ZHANG, R.; LI, X.; FADEL, J. G. Oyester mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Bioresource Technology**, Essex, v. 82, n. 3, p. 277-284, 2002.

CAPÍTULO 4 - Composição nutricional do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, da matéria-prima e dos substratos de cultivo (inicial e residual)

RESUMO

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* possuem elevado valor gastronômico, são ricos em proteínas e vitaminas, além de fibras, carboidratos e diversos minerais, dispõem de baixo teor em lipídios. São conhecidos pela habilidade de produção em diferentes resíduos, dentre eles: agrícolas, agroindustriais e madeireiros. Porém, pouco se sabe a respeito do valor nutricional dos cogumelos cultivados no Brasil. O presente estudo teve como objetivo a realização de análises físico-químicas e da composição nutricional de substratos alternativos formulados a partir de resíduos madeireiros e da agroindústria da Amazônia para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*, assim como a composição do cogumelo oriundo de cada substrato e do substrato residual. Determinou-se C, N, pH, umidade, sólidos solúveis, proteína, lipídios, fibra total, cinzas, carboidratos (total e disponível) e energia (Kcal/100g). Os substratos foram formulados a partir de serragem de *Simarouba amara* Aubl. (marupá), *Ochroma pyramidale* Cav. ex. Lam. (pau de balsa) e do estipe de *Bactris gasipaes* Kunth (pupunheira) e de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar). Os resultados demonstraram que a composição nutricional do substrato é variável e que a composição nutricional dos cogumelos varia com o substrato de cultivo; todos os substratos foram capazes de produzir cogumelos de importantes características nutricionais: elevados teores em proteínas, carboidratos metabolizáveis, fibras e baixos teores em lipídios; a melhoria da qualidade do substrato residual (incremento de proteína e de energia) provocada pelo metabolismo do fungo durante cultivo, o que contribuiu para um substrato mais nutritivo do que o substrato inicial e que poderá ser utilizado como composto para “champignon”, adubo orgânico ou biorremediação de solos contaminados.

Palavras-chave: Cogumelo comestível, valor nutricional, análises físico-químicas, composição centesimal, proteína, fibra.

CHAPTER 4 - Nutritional composition of *Pleurotus ostreatus* mushroom, of the raw material and of initial and spent substrates

ABSTRACT

The *Pleurotus* mushrooms possess high gastronomic value, they are rich in proteins and vitamins, as well as fibers, carbohydrates and several minerals, and they also have low fat content. They are known by the facility of production in different types of residues, amongst them: agricultural, agroindustrial and from wood. However, little is known regarding the nutritional value of the mushrooms cultivated in Brazil. The objectives of the present study were to carry out the physical, chemical and nutritional analyses of the alternative substrates formulated from wood and agroindustrial residues of the Amazon for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*, as well as the composition of the mushroom produced on each substrate and the spent substrate. The determination of C, N, pH, humidity, soluble solids, protein, fats, total fiber, ashes, carbohydrates (total and available) and energy (Kcal/100g) were carried out. The substrates were formulated from sawdust of *Simarouba amara* Aubl. (marupá), *Ochroma pyramidale* Cav. ex. Lam. (pau de balsa) and from the stem of *Bactris gasipaes* Kunth (pupunheira palm tree) and from *Saccharum officinarum* (sugar cane bagasse). The results demonstrated that the nutritional composition of the substrate is variable and the mushroom varied with the substrate; all the substrates were able to produce mushroom with important nutritional characteristics: high protein and fiber contents, metabolizable carbohydrates, and low fat contents; the improvement of the quality of the spent substrate (energy and protein increment) promoted by the metabolism of the fungus during the cultivation, contributed for a more nutritional substrate than the initial one, which could be used as a compost for “champignon”, organic fertilizer, and bioremediation for contaminated soils.

Keywords: Edible mushroom, nutritional value, physical and chemical analyses, proximal composition, protein, fiber.

4.1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos são importantes tanto do ponto de vista nutricional (CRISAN; SANDS, 1978; STURION; OETTERER, 1995; MANZI et al., 1999; FURLANI et al., 2004) como medicinal (COCHRAN, 1978; LIU, 1993; LIU et al., 1993; SMITH et al., 2002; HOSSAIN et al., 2003).

O consumo de cogumelos comestíveis vem crescendo significativamente no Brasil devido ao reconhecimento do seu elevado valor nutritivo e ao aumento da oferta, tornando o produto mais popular e acessível. Os principais cogumelos cultivados são: *Agaricus bisporus* Lange (champignon), *Lentinula edodes* (shiitake) e espécies do gênero *Pleurotus* (EIRA; MINHONI, 1997). Contudo essa acessibilidade relativa está restrita principalmente nas regiões sudeste e sul.

Além do valor nutricional, a utilização de algumas espécies de cogumelos em forma de chá ou cápsula, como nutracêuticos vem acelerando a produção de cogumelos não só no Brasil, como no mercado mundial. Poucos, porém, são os estudos a respeito da composição desses cogumelos, tornando necessários investimentos em pesquisa para avaliar a qualidade desse alimento (FURLANI, 2004).

Da mesma forma, quando se estuda a viabilidade de cultivo de cogumelos em substratos alternativos, torna-se importante conhecer a composição desses novos substratos, bem como da espécie cultivada em relação a tais substratos.

O gênero *Pleurotus*, conhecido como “cogumelo ostra”, é considerado um decompositor primário de madeiras e de resíduo vegetal (KURTZMAN; ZADRAZIL, 1982), de crescimento amplo nos climas tropicais e subtropicais, podendo ser cultivados artificialmente (AKINDAHUNSI; OYETAYO, 2006). São conhecidos pela habilidade de

produção em diferentes resíduos, dentre eles: resíduos agrícolas, agroindustriais e madeireiros.

Os cogumelos desse gênero, dentre os quais o *Pleurotus ostreatus*, possuem elevado valor gastronômico, são ricos em proteínas e vitaminas, além de fibras, carboidratos e diversos minerais, dispõem de baixo teor em lipídios (STURION; OETTERER, 1995; WANG et al., 2001; SILVA et al., 2002; FURLANI, 2004; SAPATA, 2005), além de possuírem propriedades medicinais (COCHRAN, 1978; SMITH et al., 2002).

As diferentes fontes bibliográficas consultadas mostraram que existe uma grande variabilidade na composição nutricional dos cogumelos, entre a mesma espécie e entre espécies diferentes (FASIDI; EKUERE, 1993; STURION; OETTERER, 1995; WANG et al., 2001; SILVA et al., 2002; FURLANI, 2004; SAPATA, 2005; DAS; MUKHERJEE, 2007). Essas variações podem ser de diversas origens, dentre elas: a escolha da espécie de cogumelo, linhagens, tipo de substrato utilizado, grau de maturação do cogumelo, tipo de armazenamento, partes do cogumelo analisadas e processo de conservação (CRISAN; SANDS, 1978; CHANG et al., 1997; FURLANI, 2004).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição nutricional de novos substratos de cultivo para a produção de *P. ostreatus*, oriundos de resíduos madeireiros e agroindustrias da Amazônia, substrato pós-colheita (substrato residual), como também a composição nutricional dos cogumelos produzidos nestes novos substratos, contribuindo significativamente como suporte científico para futuras pesquisas nesta área, pois a maioria dos trabalhos até então apresenta informações insuficientes quanto às espécies cultivadas, composição química dos substratos utilizados, métodos de cultivo, bem como a metodologia de análise aplicada.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais (CPPF) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), nos Laboratório de Análise de Solos e Plantas do mesmo Instituto, no Laboratório de Pesca e na Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas.

4.2.1. Coleta, secagem e preparação das amostras

A escolha do resíduo madeireiro (serragem) foi baseada na geração de resíduo madeireiro produzido pela indústria madeireira local, sendo procedente de pesquisas de caracterização tecnológicas da madeira, realizada na CPPF/INPA. A coleta, secagem e preparação do material foram feitas na CPPF/INPA. As serragens utilizadas na preparação do substrato foram: *Simarouba amara* Aubl. (marupá), *Ochroma pyramidale* Cav. ex. Lam. (pau de balsa).

Os resíduos de origem agroindustrial foram: bagaço de *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar) procedente de micro indústrias produtoras de caldo de cana e estipe de *Bactris gasipaes* Kunth (pupunheira), procedente do descarte da produção do palmito.

Após a coleta dos resíduos, estes foram secos no secador solar da CPPF/INPA, e acondicionados em depósitos plásticos de 100 L (separados por cada tipo de matéria-prima) até o preparo do substrato para o teste com o fungo. Alíquotas de cada matéria-prima utilizada na formulação dos substratos bem como dos substratos iniciais (depois de umedecidos, autoclavados e secos a 55 °C) e dos substratos residuais, foram retiradas para as análises físico-químicas e composição centesimal após passarem pelo processo de pulverização em moinho de faca tipo Willey.

As amostras foram divididas em matéria-prima (analisada separadamente), substratos (inicial e residual), e o cogumelo cultivado nos diferentes substratos, especificados a seguir:

- a) Matéria-prima: farelo de arroz (FA), farelo de trigo (FT), farelo de milho (FM), mistura de farelos (MFR), na proporção de 60: 20: 20 % em peso seco respectivamente; serragem de marupá (MP), de pau de balsa (PB), estipe da pupunheira triturado (PP) e bagaço de cana-de-açúcar (CN).
- b) Substrato inicial autoclavado (SIA): antes de ser submetido ao cultivo do fungo, composto pela mistura de cada serragem ou bagaço + mistura de farelos (MFR), com a seguinte codificação: SIAMP - substrato inicial formulado a partir da serragem de marupá; SIAPB - da serragem de pau de balsa; SIAPP - do resíduo do estipe da pupunheira; SIACN - do bagaço cana-de-açúcar.
- c) Substrato residual (SR), oriundo do processo final do cultivo de *P. ostreatus* nos substratos mencionados a cima, acrescidos de SR: SRMP; SRPB; SRPP e SRCN;
- d) Cogumelo cultivado nos respectivos substratos iniciais: SIAMP-COG; SIAPB-COG; SIAPP-COG e SIACN-COG.

Os substratos residuais (pós-colheita) foram homogeneizados por tipo de substrato e secos em estufa com ar circulante a 55 °C. Foram moídos da mesma forma que as matérias primas e o substrato inicial e foram armazenados em depósitos plásticos de 50 L. Da mesma forma, os cogumelos de cada tipo de substrato em que foram cultivados foram processados, acondicionados em frascos hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração para posteriores análises físico-químicas e da composição centesimal.

4.2.2. Análise físico-química da matéria-prima, dos substratos e do cogumelo

4.2.2.1. Determinação do pH

A determinação do pH da matéria-prima, dos substratos (inicial e residual) assim como dos cogumelos cultivados nos diferentes substratos foi efetuada utilizando-se um potenciômetro, previamente calibrado com tampão 7 e 4, obedecendo a metodologia recomendada pela A.O.A.C. (1997). Foram executadas três repetições por amostra (3g). O material foi diluído em água destilada e em seguida foi feita a leitura em potenciômetro digital modelo Tecnal.

4.2.2.2 Determinação do teor de carbono orgânico

O carbono orgânico foi determinado pelo método Walkley Black, conforme Mendonça et al., (2005), em que consiste na oxidação da amostra com solução de dicromato de potássio em meio ácido e titulação com sulfato ferroso amoniacal. Trabalhou-se com 0,01g da amostra em vez de 0,5g devido a grande quantidade de carbono presente na amostra. A determinação da quantidade de carbono deu-se pela oxidação do mesmo por via úmida (dicromato + ácido sulfúrico) e a maximização da oxidação por aquecimento externo. O resultado foi obtido por duas fórmulas complementares:

$A = [(V_{ba} - V_{am}) (V_{bn} - V_{ba}) / V_{bn}] + (V_{ba} - V_{am})$, onde:

V_{ba} = volume gasto na titulação do branco controle com aquecimento;

V_{bn} = volume gasto na titulação do branco controle sem aquecimento;

V_{am} = volume gasto na titulação da amostra.

(A) (molaridade do sulfato ferroso) (3) (100)

$$\%C = \frac{\text{-----}}{\text{Massa da amostra (mg)}}$$

3 = resultado da relação entre o número de mols de dicromato que reage com o ferro, multiplicado pelo número de mols de dicromato que reage com o carbono, multiplicado pela massa atômica do carbono (12);

100 = unidade de porcentagem.

4.2.2.3. Determinação do nitrogênio total e proteína

Para a análise do nitrogênio total aplicou-se o método Kjeldahl, envolvendo três etapas: digestão, destilação e titulação. As amostras foram digeridas com ácido sulfúrico até conversão em sulfato de amônia: $[(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4]$. Após este processo, o sulfato de amônia foi destilado em destilador de nitrogênio Marcone-MA036 em meio básico (NaOH 60%), liberando gás amônia (NH_3), o qual foi recolhido em ácido bórico formando borato de amônia ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$). O borato de amônio foi titulado com ácido sulfúrico 0,02N e os resultados foram expressos em % de nitrogênio e, conseqüentemente, a quantidade de proteína que a mesma contém (MALAVOLTA et al. 1989; A.O.A.C., 1997), utilizando-se a fórmula:

$$\text{Nitrogênio \%} = (V \times 0,0014 / M) \times 100$$

V = Volume de H_2SO_4 gasto na titulação, mL

M = Massa da amostra (g)

Para a conversão do nitrogênio em proteína utilizou-se a fórmula a seguir, considerando-se que 100g de proteína contém, em média, 16% de nitrogênio:

$$\text{Proteína \%} = \text{N\%} \times 6,25 \text{ para matéria-prima e substratos (inicial e residual)}$$

$$\text{Proteína \%} = \text{N\%} \times 4,38 \text{ para os cogumelos}$$

4.2.2.4 Atividade de água

A atividade de água (A_a) na matéria-prima, nos substratos (inicial e residual) e nos cogumelos (massa seca), foi determinada utilizando-se um analisador de atividade de água, modelo Pawkit, com certificado técnico de calibração e ajuste (BRASEQ 2005).

A atividade de água define-se como a relação existente entre a pressão de vapor da água de uma solução ou de um alimento (P), com relação à pressão de vapor da água pura (P_0) à mesma temperatura, representada pela fórmula $A_a = P / P_0$. Este conceito de atividade de água está relacionado, diretamente, com a textura do alimento, o crescimento e a atividade metabólica dos microrganismos, e as reações hidrolíticas (MALTINI et al., 1993; EIRA, 2003).

Segundo Chuang (1976), a determinação de atividade de água em alimentos *in natura* e processados, auxilia nos processos de preservação contra deterioração microbiana e conservação de textura dos alimentos. Além disso, a escolha adequada de embalagem e o armazenamento dos produtos são indispensáveis para prever o tempo de prateleira. A Figura 7 apresenta a influência na textura de alimentos, e as diferentes faixas de atividade de água em relação à umidade.

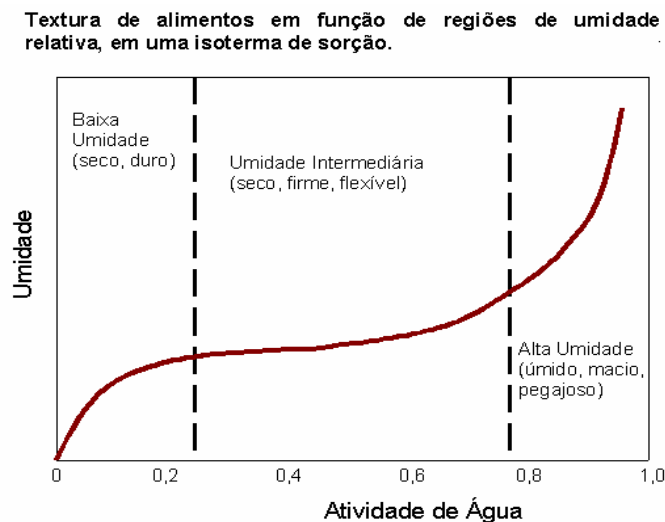


Figura. 7. Isoterma de sorção da umidade relativa X atividade de água.
Fonte: Chuang (1976).

Utilizou-se a refratometria para medir o índice de refração da solução de açúcar contido nas matérias primas, substratos formulados e cogumelos. Os resultados foram expressos em grau Brix, como sólidos solúveis presentes nestes materiais. Este método é muito utilizado nas indústrias alimentícias, para o controle de qualidade de xaropes, geléias, sucos de frutas, etc. As amostras foram homogeneizadas e diluídas em um pouco de água destiladas desprezando-se partículas grandes. Foram transferidas de 1 a 2 gotas para o prisma do refratômetro, e lidas nas escalas em grau Brix (CARVALHO, et al., 2002).

4.2.3 Análise da composição centesimal da matéria-prima, dos substratos e cogumelos

4.2.3.1. Determinação do conteúdo de umidade e massa seca

O conteúdo de umidade das amostras citadas foi feito pelo método de dessecação em estufa a 105 °C, até massa constante. Pesou-se com precisão de 0,01mg, um grama de cada amostra moída (três repetições por amostra) em balança analítica Sartorius MP2474 em cadinho previamente tarado; secou-se o material em estufa a 105° C por quatro horas. Após, os cadinhos foram transferidos para um dessecador com desidratante (sílica) e deixados esfriar até temperatura ambiente; foram então pesados e a operação foi repetida até massa constante. A umidade foi expressa em %, pela fórmula:

$$U \% = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

U = Percentual de umidade

M1 = Massa inicial da amostra

M2 = Massa final da amostra

A massa seca foi calculada como sendo **MS%** = 100 - U

4.2.3.2 Determinação do teor de lipídeos

As amostras dessecadas foram submetidas à extração com misturas de solventes a frio, pelo método Bligh and Dyer em triplicatas. Nesta técnica os solventes utilizados foram clorofórmio, metanol e água. Neste processo, a amostra é misturada aos solventes e a fase de clorofórmio contém os lipídeos. Esta fase é separada após a evaporação do clorofórmio. A quantidade de lipídeos é obtida por pesagem e os resultados são expressos em gramas por 100g de amostra (CARVALHO et al., 2002).

4.2.3.3 Fibra total

O conteúdo de fibra total foi determinado pelo método Weende (A.O.A.C., 1997), fundamenta-se de uma digestão em meio ácido (ácido sulfúrico 1,25%), seguida de uma digestão em meio alcalino (NaOH 1,25%). As amostras foram desengorduradas, pesadas em torno de 2g em triplicatas, e submetidas à digestão ácida. Todas as amostras foram adaptadas a um sistema de determinador de fibras modelo TE 146/8-50 e TE 146/5-50 da Tecnal. Numa segunda etapa, as amostras foram submetidas à digestão alcalina, em meio de uma solução de NaOH 1,25%. Os resultados foram expressos em gramas de fibra total por 100 gramas de amostras.

4.2.3.4 Cinzas ou resíduo mineral fixo

O teor de cinzas de uma amostra corresponde ao resíduo mineral fixo, obtido após a decomposição de todos os componentes orgânicos. A análise consistiu em dessecação das

amostras, pesagem em torno de 1g em triplicata, carbonização e calcinação em mufla, a 550°C. Os resultados foram expressos em % (A.O.A.C, 1997).

4.2.3.5 Carboidratos totais

Foram calculados por diferença (100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios e cinzas), inclui a fração fibra. O resultado é dado em termos percentuais (LATINFOODS, 2002; NEPA, 2006).

4.2.3.6 Carboidratos disponíveis

São carboidratos metabolizáveis, os quais foram calculados por diferença onde se exclui a fração fibra (100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios, cinzas, e fibra). (LATINFOODS, 2002; NEPA, 2006).

4.2.3.7 Energia

A energia total metabolizável é expressa em kilocalorias (kcal/100g). Foi calculada considerando-se os fatores de conversão de Atwater: $(4 \times \text{g proteína}) + (4 \times \text{g carboidratos}[\text{total carboidratos} - \text{fibra alimentar}]) + (9 \times \text{g total lipídeos})$, preconizados pelo LATINFOODS (2002) e NEPA (2006).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Análise físico-química da matéria-prima, dos substratos (inicial e residual)

A Tabela 10 apresenta os resultados das análises físico-químicas, carbono, nitrogênio e relação C:N das matérias-primas utilizadas para a formulação dos substratos. Tais análises são necessárias quando se objetiva a formulação de novos substratos, para que se tenha conhecimento, sobretudo do pH, C e N, os quais são fatores essenciais para formulações adequadas de substratos, necessárias ao cultivo de cada espécie fúngica. Os resultados em °Brix nos forneceram os sólidos solúveis, o que nos indicou o teor de açúcares solúveis de cada matéria-prima.

O conhecimento do pH das matérias-primas utilizadas (Tabela 10) se fez necessário para ajuste do mesmo quando da formulação dos substratos. Durante o experimento, o pH do meio é alterado pelo fungo em função da produção de metabólitos como os ácidos graxos que afetam a concentração do meio (CHANG; MILES, 1989). Para isto, houve a necessidade de ajuste de pH, o qual variou de 6,28 a 6,60 entre os substratos formulados (Tabela 11), para não provocar acidificação excessiva impedindo o crescimento micelial e desenvolvimento de basidiomas.

Os resultados do conteúdo de N para os resíduos madeireiros, os quais variaram de 0,14 a 0,33 %, foram baixos (Tabela 10), confirmando os dados da literatura em que o tecido lenhoso da madeira apresenta o conteúdo de nitrogênio geralmente baixo (0,03 – 1 %) comparado ao das herbáceas (0,58 - 1,71 %), o que resulta em uma relação C:N alta para a madeira da ordem de 350 a 500:1 (CHANG; MILES 1989). Tal fato tornou necessária a adição de proteína ao substrato de cultivo para melhorar a produtividade.

Tabela 10 – Resultados das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH e atividade de água), Carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N das matérias-primas utilizadas, para a formulação do substrato de cultivo.

Matéria-prima	C	N	C:N	Sólidos Solúveis	pH	Aa
	(%)	(%)	(%)	° Brix		
FA	(0,06) 41,73	(0,44) 4,58	(0,83) 9,11	3,64	6,80	0,60
FT	(0,28) 39,5	(0,08) 2,6	(0,43) 15,19	2,48	6,40	0,58
FM	(0,13) 38,8	(0,1) 1,25	(2,47) 31,03	4,14	5,87	0,59
MFR	(0,16) 41,11	(0,16) 4,74	(0,34) 8,67	4,64	6,66	0,60
MP	(0,91) 45,19	(0,05) 0,28	(0,8) 161,39	0,56	6,70	0,60
PB	(0,16) 43,75	(0,16) 0,14	(1,18) 312,50	0,56	5,90	0,58
PP	(0,06) 40,97	(0,01) 0,33	(2,01) 124,15	1,14	4,94	0,60
CN	0,16 43,47	(0,01) 0,16	(1,98) 271,69	1,06	4,50	0,60

FA: farelo se arroz, FT: farelo de trigo, FM: farelo de milho, MFR: mistura de farelos: MP: serragem de marupá, PB: serragem de pau de balsa, PP: estipe da pupunheira triturado, CN: bagaço de cana-de-açúcar. Número em negrito: média de três repetições por análise. Números entre parênteses referem-se ao desvio padrão

Tabela 11 – Resultado das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH e atividade de água), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos substratos de substrato de cultivo.

Substrato Inicial	C	N	C:N	Sólidos Solúveis	pH	Aa
	(%)	(%)	(%)	° Brix		
SIAMP	(0,16)	(0,03)	(4,99)			
	44,39	0,49	90,59	0,64	6,40	0,60
SIAPB	(0,17)	(0,02)	(3,42)			
	43,47	0,37	117,49	0,64	6,28	0,58
SIAPP	(0,18)	(0,03)	(4,53)			
	38,09	0,50	76,18	3,06	6,38	0,60
SIACN	(0,06)	(0,02)	(6,76)			
	42,64	0,41	104,00	1,06	6,60	0,60

SIAMP: substrato inicial formulado a partir da serragem de Marupá; SIAPB: da serragem de pau de balsa; SIAPP: do estipe da pupunheira triturado; SIACN: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por análise. Números entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

No capítulo 3 sobre produção do cogumelo, os substratos foram preparados a partir de resíduos madeiros e agroindustriais SIAMP, SIAPB, SIAPP SIACN com a formulação (80: 18: 2) para o material volumoso (serragens, bagaço de cana-de-açúcar e estipe da pupunheira) e mistura de farelos como suplemento (MFR) e CaCO₃ respectivamente. A fonte de proteína foi provida pela adição da mistura de farelos de arroz, trigo e milho (60: 20: 20), apresentados da Tabela 10.

Comparando os resultados da Tabela 10 com os da Tabela 11 (referente aos substratos formulados), observou-se uma redução da relação C:N, em função da adição do N dos farelos. Essa redução foi da ordem de 43,87; 62,40; 38,64 e 61,72% para SIAMP, SIAPB, SIAPP e SIACN respectivamente, resultando em taxas de C:N de 90,59; 117,40; 76,18 e 104% para tais substratos. Isto viabilizou substratos com alta produtividade para o fungo *P. ostreatus* (capítulo 2).

No cultivo de *Pleurotus*, segundo Eira et al., (1997) a taxa inicial de C:N é da ordem de 80 - 100:1, quando se trata de cultivo em substrato natural (compostado e pasteurizado) enquanto que para o cultivo de shimeji em condição axênica, as relações C:N são mais estreitas.

Quanto à atividade de água (Aa), foram observados valores baixos (0,58 - 60) entre as matérias-primas (Tabela 10), o que possibilitou a preservação destas contra deterioração microbiana e conservação do material, indicando um processo eficiente de secagem destas matérias-primas no presente estudo, permitindo condição adequada para a formulação dos substratos de cultivo, impedindo a utilização dos mesmos por microrganismos competidores. Isto foi possível porque a baixa atividade de água impossibilita a proliferação microbiana. A taxa de deterioração microbiana se torna menor à medida que a atividade de água se aproxima de 0,60 e abaixo desse valor não há crescimento microbiano (EIRA, 2003).

A Tabela 11 apresenta os resultados das análises físico-químicas nos substratos formulados a partir das matérias-primas apresentadas na Tabela 10. Os resultados comprovam a boa qualidade dos substratos formulados, com baixa atividade de água dos substratos, variando de 0,58 para SIAPB a 0,60 para SIAMP, SIAPP e SIACN (material seco); pH corrigido, variando de 6,28 - 6,60; teor de sólidos solúveis (0,64 - 3,06) e relação C:N (76,18-117,49 %) adequada para o cultivo de *P. ostreatus* (Tabela 11). Tais resultados possibilitaram

o bom desenvolvimento micelial do fungo e produção, resultando em substratos de boa qualidade, os quais proporcionaram alta produtividade, abordados no capítulo 2.

A Tabela 12 apresenta os resultados das análises físico-químicas dos substratos residuais. Como esperado, ocorreram alterações na composição físico-química dos substratos residuais, provenientes do metabolismo do fungo durante o cultivo.

Comparando os resultados da Tabela 11 (substrato inicial) com os resultados da Tabela 12 (substrato residual), observou-se que o pH do substrato residual variou de 4,80 a 5,53, caracterizando o meio ácido. Durante o experimento, o pH do substrato foi alterado pelo fungo, ocasionando redução em todos os substratos. Possivelmente este fato esteve relacionado com a produção de metabólitos como os ácidos graxos que afetam a concentração do meio (CHANG; MILES, 1989) ou ácido oxálico (STURION, 1994). Houve um consumo de carbono e aumento de nitrogênio, e conseqüente redução da relação C:N (Tabela 12). Essa redução é função do maior consumo dos componentes polissacarídeos e da lignina no processo de formação dos basidiomas, provocando considerável diminuição do teor de carbono e perda de CO₂ durante o metabolismo do fungo (ZADRAZIL, 1978; STURION, 1994), como também devido ao aumento significativo de nitrogênio provocado pelo incremento do micélio do fungo ao substrato residual. A redução do carbono e o aumento de N no substrato residual promoveram a redução da relação C:N neste substrato.

A redução de carbono foi da ordem de 10,61, 11,34, 8,06 e 8,58 pontos percentuais para SRMP, SRPB, SRPP e SRCN respectivamente, enquanto que o aumento de nitrogênio foi: 61,22, 78,38, 26 e 65,85 para os mesmos substratos.

O aumento diferenciado de nitrogênio também foi observado por Bizaria et al., (1987) **apud** Sturion (1994) quando estudaram o cultivo de *P. sajor-caju* em diversos resíduos agrícolas.

Tabela 12 - Resultado das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N, do substrato residual proveniente do cultivo de *P. ostreatus*.

Substrato residual do cultivo de <i>P. ostreatus</i>	C	N	C:N	Sólidos Solúveis	pH
	(%)	(%)	(%)	° Brix	
SRMP	(0,04)	(0,02)	(1,03)		
	39,68	0,79	50,23	ND	4,82
SRPB	(0,13)	(0,02)	(1,30)		
	38,54	0,66	58,39	ND	4,80
SRPP	(0,11)	(0,02)	(1,60)		
	35,02	0,63	55,59	2,64	5,08
SRCN	(0,07)	(0,02)	(1,27)		
	38,98	0,68	57,32	1,23	5,53

SR = Substrato residual oriundo do cultivo de *P. ostreatus*. SRMP: a partir da serragem marupá; SRPB: da serragem de pau de balsa; SRPP: do estipe da pupunheira triturado; SRCN: do bagaço de cana-de-açúcar. ND: não detectável. Números em negrito: média de três repetições por análise. Números entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Em um estudo com diversas espécies de *Pleurotus*, a espécie *Pleurotus* “florida” mostrou uma maior tendência a acumular esse elemento (STURION, 1994, STURION; OETTERER, 1995). O aumento de N no substrato residual oriundo do cultivo de *Pleurotus* sp. variou de 4 - 37% no mesmo estudo. As autoras relataram que a presença de micélio contribuiu de forma significativa para este incremento de N no substrato residual assim como a possível habilidade de *Pleurotus* spp. em fixar nitrogênio ou devido à presença de bactérias fixadoras de nitrogênio (KURTZMAN; ZADRAZIL 1982; BISARIA et al., 1990). Um aumento de nitrogênio no substrato residual também foi observado por Patrabanish e Madan,

(1997), após o cultivo de *P. sajor-caju* indicando uma possível capacidade de fixação de N por este fungo.

O estudo de Singh (2000) comprovou o aumento de N desde a fase de incubação até o fim do cultivo, quando o autor cultivou o mesmo cogumelo em palha de *Oryza sativa*, *Triticum aestivum* e *Cyanodon dactylon*, o qual sugeriu também a capacidade de fixação de N pelo fungo.

Os estudos de Yara (2002; 2006) registraram a ocorrência de microrganismos associados a cogumelos do gênero *Pleurotus* semelhantes à bactéria *Bulkholderia* sp. encontrados em vacúolos junto às hifas do micélio do fungo e que podem estar relacionadas com a fixação de nitrogênio neste sistema.

Wang et al. (2001) também observaram aumento de N no substrato residual quando cultivaram *P. ostreatus* utilizando diferentes resíduos de cevada. Os autores, entretanto, relacionaram o aumento de N a atividade metabólica do fungo durante o crescimento micelial e a degradação do substrato a CO₂ e água.

Akinyele e Akinyosoye (2005) submeteram diversos resíduos agrícolas ao tratamento com o cogumelo *Volvarilla volvaceae*, até o período de crescimento micelial e obtiveram aumento significativo de N em todos os substratos testados. Os autores relacionaram o aumento de N as enzimas extracelulares de natureza protéica ocorrida durante a quebra e subsequente metabolismo fúngico.

Resultado semelhante foi obtido por Belewu e Belewu (2005) quando cultivaram o mesmo cogumelo em folha de bananeira. O aumento de N foi atribuído à proteína fúngica durante o processo de degradação e solubilização do substrato, estando de acordo com o estudo sobre a biosíntese da parede celular dos fungos (FARKS, 1979) onde o autor relata que enzimas extracelulares secretadas pelos fungos contêm homo e heteropolissacarídeos amorfos os quais estão sempre associados à proteína fúngica.

Belewu (2006) também atribuiu o aumento de N no substrato residual após o cultivo de *P. ostreatus* a proteína fúngica, quando utilizaram resíduo do algodoeiro e serragem de masonia para o cultivo deste fungo.

A presença de micélio do fungo no substrato residual contribuiu de forma significativa para o incremento de N, tanto neste estudo (26 a 78,38 %) bem como nos de Sturion (1994); Sturion e Oetterer (1995). Entretanto, não deve ser descartada a provável habilidade desse organismo fixar nitrogênio, uma vez que o cultivo foi conduzido em condições axênicas e de forma controlada “atmosfera modificada”. Não deve ser descartada também a presença de enzimas extracelulares de natureza protéica ocorrida durante a quebra e subsequente metabolismo fúngico (AKINYELE; AKINYOSOYE 2005; BELEWU; BELEWU 2005; BELEWU 2006) já relatados por Farks (1979) em seu estudo sobre a biosíntese da parede celular dos fungos, bem como a presença de quitina da parede celular desses organismos, que é conhecido como N de natureza não protéica.

4.3.2 Composição centesimal da matéria-prima e dos substratos (inicial e residual)

Os teores de proteína das serragens (MP e PB), estipe da pupunheira (PP) e bagaço de cana-de-açúcar (CN) foram baixos (Tabela 13). Apresentaram variações de 1,75; 0,88; 2,06 e 1 % para os respectivos materiais, tornando necessária, portanto, a adição de suplementos de maneira a prover a fonte protéica, a qual foi oriunda dos farelos de cereais. Estes, entretanto, forneceram valores elevados de proteína: 28,63; 16,25; 7,81 e 29,63 %, respectivamente, para FA, FT, FM e MFR (Tabela 13), o que possibilitou um balanço adequado quando da preparação dos substratos (Tabela 14). Da mesma forma, os lipídios foram superiores nos farelos de cereais.

Os suplementos contêm uma mistura de proteínas, carboidratos e gorduras, onde as proteínas são as principais fontes de nitrogênio destes materiais, contendo minerais e vitaminas que também influenciam no crescimento do fungo (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). Segundo os autores, sua adição objetiva principalmente o aumento dos níveis de nitrogênio e carboidratos disponíveis.

Açúcares e amido por serem carboidratos prontamente disponíveis, aumentam a velocidade de colonização e a conseqüente degradação do substrato, reduzindo o tempo de produção do basidioma porque o micélio converte facilmente esses carboidratos em reserva para a formação do cogumelo, aumentando a produtividade (PRZYBYLOWICZ; DONOGUE, 1990). Outros suplementos, como o calcário, ou CaCO_3 devem ser adicionados ao meio de cultivo, para a manutenção do pH favorável ao crescimento fúngico durante os últimos estágios de decomposição, pois há um aumento progressivo de acidez ocasionada pelo metabolismo do fungo.

A suplementação com farelo de cereais (MFR) conforme Tabela 13, contém alto valor de proteína (29,63 %), lipídio (8,16 %), cinza (8,94 %) e carboidrato disponível (36,44 %) o que proporcionou um bom balanço na preparação do substrato, principalmente SIAPP e SIACN, os quais por sua vez, contêm menos fibra (47,79 e 51,38 %), maior conteúdo de lipídios (2,61 e 3,22 %) e maior percentual em carboidrato disponível (27,80 e 30,86 %), respectivamente (Tabela 14), bem como maior conteúdo de açúcares demonstrados pela presença de sólidos solúveis (3,06 e 1,06 $^{\circ}\text{Brix}$), conforme Tabela 11, em relação aos substratos SIAMP e SIAPB (0,64 $^{\circ}\text{Brix}$). Desta forma, SIAPP e SIACN foram caracterizados como substratos de maior produtividade conforme relatado no capítulo 3, confirmando a importância nutricional do substrato de cultivo (Przybylowicz & Donogue, 1990).

A fração fibra, denominada fibra total, no entanto, foi superior no material volumoso (serragens de marupá, de pau de balsa, estipe da pupunheira e bagaço de cana-de-açúcar) com

variação de 77,77; 72,42; 38,89 e 43,83 % respectivamente (Tabela 13), enquanto que para os farelos a variação obtida foi de 0,67 a 7,31.

O conteúdo de cinzas foi superior nos farelos (1,1-10,16 %), apresentando maior conteúdo para o farelo de arroz, enquanto que para os volumosos (MP, PB, PP e CN) a variação foi de 0,58 a 2,59 % (Tabela 13), indicando maior teor de minerais (macro e micronutrientes) presentes nos cereais, conforme apresentados na Tabela 5.1 do capítulo 3.

A umidade da matéria-prima foi mantida baixa (10,4 - 13,2 %) e não permitiu o ataque por bolores e outros microorganismos competidores, possibilitando assim a utilização do material durante as diversas fases experimentais.

Os valores de carboidratos totais dos materiais volumosos, conforme Tabela 13 (MP, PB, PP e CN) foram superiores (83,16 - 86,66 %), comparados aos dos farelos de cereais (35,66 -67,24%). Isto ocorreu porque dentre os carboidratos totais está inclusa a fibra do material e, neste caso, os cereais possuem menor teor de fibra do que as serragens (MP e PB) bem como o estipe da pupunheira (PP) e o bagaço de cana-de-açúcar (CN), conforme pode ser observado na Tabela 13. Em relação aos carboidratos disponíveis, entretanto, a fração fibra é excluída, o que fez com que as madeiras (MP e PB), apresentassem menor quantidade de carboidratos disponíveis (Tabela 13), visto que o seu teor em fibra é alto e este é descontado no cálculo desses carboidratos.

Quanto à energia total metabolizável (Kcal/100g), como esperado, esta foi superior nos farelos, uma vez que para o cálculo da energia metabolizável é levado em consideração o percentual de proteína, de carboidrato disponível e de lipídios, e, neste caso, tais atributos foram superiores nos farelos, comparado ao material volumoso, principalmente quanto aos teores de proteína e de lipídio (Tabela 13).

Dentre os volumosos (MP, PB, PP e CN), os resíduos da pupunheira (PP) e da cana-de-açúcar (CN) apresentaram os maiores teores de energia metabolizável porque possuem os

maiores teores de carboidratos disponíveis, comparado as serragens de marupá (MP) e de pau de balsa (PB). O maior teor de carboidrato disponível em PP e CN está principalmente relacionado ao menor teor de fibras destes.

A Tabela 14 apresenta os resultados da composição centesimal dos substratos iniciais após terem sido umedecidos e autoclavados. Os valores de proteína para os substratos elaborados a partir das serragens de marupá e de pau de balsa (SIAMP e SIABP) foram 3,06 e 2,31 %, enquanto que para os substratos formulados a partir dos resíduos da pupunheira e do bagaço de cana-de-açúcar (SIAPP e SIACN) os teores de proteína apresentados foram 3,13 e 2,56 %.

O teor de lipídio variou de 1,81 a 3,22, % sendo que o menor teor apresentado foi para o substrato formulado a partir da serragem de marupá (SIAMP) e o maior foi para o substrato elaborado a partir da cana-de-açúcar (SIACN).

Tabela 13 - Composição centesimal das matérias-primas utilizadas na formulação dos substratos de cultivo.

Matéria-prima	Proteína (N x 6,25) (%)	Lipídio (%)	Fibra Total (%)	Cinza (%)	Umidade (%)	M S (%)	Carboidrato Total (%)	Carboidrato Disponível (%)	Energia total Metabolizável (Kcal)
FA	28,63	(0,37) 15,15	(0,05) 6,44	(0,02) 10,16	10,4	89,6	35,66	29,23	367,77
FT	16,25	(0,19) 3,65	(0,01) 7,31	(0,10) 5,17	10,6	89,4	64,33	57,02	325,97
FM	7,81	(2,32) 11,99	(0,06) 0,67	(0,1) 1,16	11,8	88,2	67,24	66,57	405,43
MFR	29,63	(0,15) 8,16	(0,10) 6,44	(0,22) 8,94	10,4	89,6	42,88	36,44	337,68
MP	1,75	(0,15) 0,91	(0,09) 77,77	(0,26) 0,98	13,2	86,8	83,16	5,39	36,72
PB	0,88	(0,14) 0,97	(0,87) 72,42	(0,14) 1,13	12	88	85,03	12,60	62,60
PP	2,06	(0,06) 1,32	(0,16) 38,89	(0,08) 2,59	13	87	81,03	42,14	188,67
CN	1,00	(0,06) 1,36	(0,68) 43,83	(0,11) 0,58	10,4	89,6	86,66	42,84	187,58

FA: farelo de arroz, FT: de trigo, FM: farelo de milho, MFR: mistura de farelos: MP: serragem de marupá, PB: serragem de pau de palsa, PP: estipe da pupunheira triturado, CN: bagaço de cana-de-açúcar, M S: massa seca. Números em negrito: média de três repetições por análise. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

O conteúdo de cinzas (resíduo mineral fixo) foi de 2,99; 3,35; 7,58 e 2,68 % para SIAMP; SIAPB; SIAPP e SIACN respectivamente, apresentando o teor mais elevado para a formulação a partir do estipe da pupunheira, o que contribuiu para o maior conteúdo de minerais presentes neste substrato, abordado no Capítulo 3.

A umidade do material seco ao sol e formulado (substrato inicial), antes da autoclavagem variou de 9,30 a 11,90 % (Tabela 14) e foi considerada baixa e muito importante do ponto de vista da elaboração do substrato, pois as matérias-primas todas foram secas em secador solar e obtiveram baixo teor de umidade, favorecendo sua utilização durante todo o estudo.

Os carboidratos totais praticamente não variaram entre os substratos SIAMP e SIAPB, conforme apresentado na Tabela 14, enquanto que para SIAPP e SIACN os valores foram 75,50 e 82,24 %, respectivamente.

Os percentuais de carboidratos disponíveis para os substratos elaborados a partir das serragens de marupá e de pau de balsa (SIAMP e SIAPB) foram inferiores (6,18 e 15,24 %) aos substratos elaborados a partir do estipe da pupunheira e do bagaço de cana-de-açúcar (27,80 e 30,86%), respectivamente (Tabela 14). Este fato está relacionado com os maiores teores de fibra presentes nos substratos SIAMP e SIAPB, os quais já mencionados, são excluídos no cálculo do carboidrato disponível. A energia metabolizável (Kcal/100g), também foi superior para SIAPP e SIACN (Tabela 14) porque estes dispõem principalmente de maior conteúdo de carboidratos disponíveis e de lipídios.

Tabela 14 - Composição centesimal dos substratos de cultivo (substratos iniciais).

Substrato Inicial umedecido e autoclavado	Proteína	Lipídio	Fibra Total	Cinza	Umidade		Massa Seca	Carboidrato total	Carboidrato disponível	Energia Total Metabolizável
	(%)	(%)	(%)	(%)	Substrato dessecado	Substrato. autoclavado.				
SIAMP	3,06	1,81	74,05	2,99	11,90	77,53	88,10	80,23	6,18	53,3
SIAPB	2,31	2,42	65,69	3,35	11,00	77,49	89,00	80,93	15,24	91,95
SIAPP	3,13	2,61	47,79	7,58	11,10	77,92	88,90	75,59	27,80	147,2
SIACN	2,56	3,22	51,38	2,68	9,30	77,54	90,70	82,24	30,86	162,7

SIAMP: substrato inicial a partir da serragem de Marupá; SIAPB: de pau de balsa; SIAPP: do estipe da pupunheira triturado; SIACN: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por análise. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

O fato dos substratos SIAPP e SIACN disporem de maior conteúdo de carboidratos disponíveis e conseqüentemente de maior fonte de energia metabolizável, possibilitou maior produção do cogumelo *P. ostreatus* nestes substratos, conforme pode ser evidenciado no capítulo 2. Entretanto, outros fatores estão envolvidos como a presença de macro e micronutrientes (KURTZMAN; ZADRAZIL, 1982; MOLENA, 1986; CHANG; MILES, 1989; MILES; CHANG, 1997), onde foi observado que o substrato de maior produtividade foi SIAPP, conforme evidenciado pela alta eficiência biológica (Capítulo 2), pois foi o substrato que apresentou maior teor em proteína, cinzas, melhor relação C:N e quantidade elevada de carboidratos disponíveis.

Na Tabela 15 são apresentados os resultados da composição centesimal dos substratos residuais (pós-colheita). Comparando os resultados destes substratos com os dos substratos iniciais (Tabela 14) foram observadas alterações em todos os substratos residuais. Os teores de umidade, proteína, cinza, carboidrato disponível e energia (Kcal) aumentaram no substrato residual (SR) enquanto que houve uma redução nos teores de lipídio, fibra total e carboidrato total. O aumento do teor de umidade do substrato pós-colheita em relação ao substrato inicial (umedecido e autoclavado) foi devido ao sistema de umidificação utilizado durante a fase de produção para impedir o ressecamento dos cogumelos, mantendo a umidade relativa em torno de 90%.

O aumento de proteína no substrato residual ocorreu em função do aumento do teor de nitrogênio. A presença de micélio do fungo no substrato residual contribuiu de forma significativa para o incremento de N e como conseqüência, para o aumento de proteína, tanto neste estudo bem como nos estudos de Sturion (1994) e de Sturion e Oetterer (1995).

O aumento do teor de cinzas no SR foi de 95,32; 75,52; 24,80 e 103,35 % para SRMP; SRPB; SRPP e SRCN, respectivamente, quando comparamos a Tabela 14 com a Tabela 15. Esse aumento está de acordo com os resultados de Zadrazil et. al., (1978) e de Rajarathnam et

al. (1992), em que os autores relacionam esse aumento a uma constante utilização da matéria orgânica pelo fungo, ocorrido desde a fase de incubação “crescimento vegetativo” até o final do cultivo, possibilitando a liberação de minerais para o substrato final.

Comparando a Tabela 14 com a Tabela 15, houve uma redução do teor de carboidrato total no SR, devido principalmente ao aumento da proteína e da cinza, os quais foram superiores no SR e estes são descontados na fórmula concernente ao cálculo de carboidrato total. A redução, no entanto, foi pequena (0,54 – 2,18 %), porque a fração fibra está inclusa no carboidrato total. Por outro lado, o conteúdo de carboidrato disponível foi aumentado no SR em função da grande redução do teor de fibra entre os substratos residuais (36,30 – 50,00 %) ocorridas devido à degradação do fungo durante o cultivo, e que neste caso ao obter menor conteúdo de fibra a ser descontado, aumentou conseqüentemente o percentual de carboidrato disponível (Tabela 15).

Houve um aumento energético (kcal) bastante elevado ao longo do cultivo, promovendo elevação percentual no SR de 219,72; 117,96; 58,67 e 33,61 para SRMP; SRPB; SRPP e SRCN, respectivamente. A grande elevação se deu em função do aumento de carboidrato disponível, que por sua vez, foi aumentado devido à redução do teor de fibra do substrato residual, a qual foi degradada pelo fungo durante a o seu desenvolvimento.

Tabela 15 - Composição centesimal dos substratos residuais provenientes do cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Substrato residual do cultivo de <i>P. ostreatus</i>	Proteína	Lipídio	Fibra Total	Cinza	Umidade		Carboidrato Total	Carboidrato Disponível	Energia Total Metabolizável
	(%)	(%)	(%)	(%)	Substrato Dessecado (%)	Substrato. Pós-cultivo (%)	(%)	(%)	(Kcal)
SRMP	4,94	1,30	43,86	5,84	9,33	87,60	78,60	34,74	170,41
SRPB	4,13	1,12	36,94	5,88	8,48	88,27	80,40	43,46	200,41
SRPP	3,94	1,43	23,94	9,46	10,00	80,38	75,18	51,24	233,56
SRCN	4,25	1,05	32,73	5,45	8,79	87,04	80,45	47,72	217,38

SR = substrato residual oriundo do cultivo de *P. ostreatus*. SRMP: a partir da serragem marupá; SRPB: da serragem de pau de balsa; SRPP: do estipe da pupunheira triturado; SRCN: do bagaço de cana. Números em negrito: média de três repetições por análise. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

4.3.3. Análise físico-química do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado em diferentes substratos

A Tabela 16 apresenta os resultados das análises físico-químicas, carbono (C), nitrogênio (N), relação C:N, sólidos solúveis, potencial de hidrogênio (pH) e atividade de água do cogumelo *P. ostreatus* cultivado em diversos substratos.

Os teores de carbono apresentaram valores próximos no cogumelo cultivado nos diferentes resíduos (36,27 – 37,37 %). O conteúdo de nitrogênio, no entanto, foi superior no cogumelo cultivado a partir das serragens, apresentando os valores: 4,83 e 3,68 % para SIAMP-COG e SIAPB-COG, respectivamente. O cogumelo cultivado no bagaço de cana-de-açúcar (SIACN-COG) obteve 3,35 % de N, enquanto que produzido no resíduo formulado a partir do resíduo da pupunheira (SIAPP-COG) alcançou menor teor de N (2,73 %) e, conseqüentemente, menor teor em proteína. Os resultados estão de acordo com os valores de N presentes na maioria dos cogumelos (2,27 - 5,13 %) segundo Miles & Chang (1989).

A relação C:N é estreita nos cogumelos (Tabela 16), uma vez que estes possuem teores de N elevados, comparados com os substratos de cultivo (Tabela 11).

Os sólidos solúveis correspondem a um “pool” de compostos solúveis em água, tais como: açúcares, ácidos orgânicos e vitaminas hidrossolúveis. No atual estudo, os sólidos solúveis presentes nos cogumelos variaram com os substratos de cultivo. Os respectivos valores para SIAMP-COG; SIAPB-COG; SIAPP-COG e SIACN-COG foram 2,64; 1,64; 3,64 e 5,64 %, com maior conteúdo presente no cogumelo cultivado nos substratos formulados a partir da pupunheira e da cana-de-açúcar.

Tabela 16- Resultado das análises físico-químicas (sólidos solúveis, pH, Aa), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N do cogumelo *P. ostreatus* cultivado em diversos substratos.

<i>P. ostreatus</i> cultivado em diferentes substratos	C	N	C:N	Sólidos Solúveis	pH	Aa
	(%)	(%)	(%)	° Brix		
SIAMP-COG	(0,12)	(0,02)	(0,05)			
	36,27	4,83	7,51	2,64	6,48	0,59
SIAPB-COG	(0,07)	(0,09)	(0,25)			
	37,37	3,68	10,15	1,64	6,35	0,57
SIAPP-COG	(0,14)	(0,06)	(0,24)			
	37,37	2,73	13,69	3,64	6,25	0,58
SIACN-COG	(0,04)	(0,12)	(0,38)			
	37,03	3,35	11,05	5,64	6,33	0,57

SIAMP-COG: Cogumelo cultivado no substrato a partir da serragem de marupá; SIAPB-COG: da serragem de pau de balsa; SIAPP-COG: do bagaço do estipe da pupunheira triturado; SIACN-COG: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por análise. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

É possível que os teores de sólidos solúveis encontrados na linhagem de *P. ostreatus* utilizada no presente estudo estejam relacionados não só aos açúcares solúveis, como também à presença de vitaminas hidrossolúveis do complexo B, pois os cogumelos são fontes de vitaminas, sobretudo as do complexo B (tiamina-B1; riboflavina-B2; niacina-B3), ácido ascórbico e ergosterol, que na presença da luz ultravioleta transforma-se em vitamina D (CRISAN; SAND, 1978, RJARATHNAM et al., 1992; GUNDE-CIMERMAN, 1999; BERNÁS et al., 2006; ÇAGLARIRMAK, 2007). Entretanto, não foram objeto desse estudo análises dos teores destes sólidos solúveis acerca do conteúdo dessas vitaminas.

Os respectivos teores para as vitaminas: tiamina, riboflavina e niacina em *P. ostreatus* variam de 4,8 - 7,8; 4,7 - 4,9; e de 55 - 109 mg/100g em peso seco segundo Çaglarirmak, (2007). O teor de ácido ascórbico é considerado alto para o gênero *Pleurotus*, conforme Breene (1990) **apud** Çaglarirmak (2007), variando de 36 % a 58% respectivamente para *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*.

Os valores de pH praticamente foram similares entre os cogumelos cultivados nos diferentes substratos (6,25 – 6,48) assim como os valores correspondentes à atividade de água (Aa) que variaram de 0,57 – 0,59, sendo importante do ponto de vista da conservação destes, porque a baixa atividade de água impossibilitou a proliferação microbiana no cogumelo processado (seco e pulverizado), uma vez que a taxa de deterioração microbiana se torna menor à medida que a atividade de água se aproxima de 0,60 e abaixo não há crescimento microbiano (EIRA, 2003).

4.3.4. Composição centesimal dos cogumelos cultivados em diferentes substratos

A composição nutricional dos cogumelos é relativamente alta, excluindo-se o alto teor em água, cujo valor varia, quando *in natura*, de 73,7 a 94,7 % (CHANG; MILES, 1989; STURION; OETTERER, 1995; MANZI et al., 1999; 2001; VETTER, 2003).

Diversas publicações destacam o cogumelo como um alimento de alto valor protéico, fonte de fibra alimentar e vitaminas, além do seu baixo valor em lipídios (OLMEDO, 1980; MOLENA, 1986; CHANG; MILES, 1989, 1997; MANZI, 1999; BONATTI et al., 2004; SAPATA, 2005).

Os cogumelos de maior índice nutricional (baseados no índice de aminoácidos essenciais), aproximam-se dos valores nutricionais da carne e do leite, enquanto que os de menor, comparam-se a alguns vegetais como a cenoura e o tomate. O índice nutricional desses organismos supera o dos vegetais e legumes, exceto a soja (CRISAN; SANDS, 1978).

A Tabela 17 mostra os resultados da composição centesimal dos basidiomas de *P. ostreatus* cultivado nos diferentes substratos. As análises da composição nutricional do cogumelo foram feitas no basidioma por inteiro (píleo e estipe) com homogeneização dos fluxos de produção por substrato. Todas as análises nutricionais foram realizadas em base seca.

Para a avaliação do conteúdo protéico, o fator de conversão do N para proteína utilizado foi 4,38, o qual leva em consideração a exclusão do N de natureza não protéica oriundo da quitina da parede celular dos fungos (CHANG; MILES, 1997) ao invés de 6,25, utilizado normalmente para a maioria dos alimentos, evitando desta forma a superestimação protéica.

Os teores de proteína total (proteína bruta) presentes nos cogumelos variaram com os substratos de cultivo. Os maiores teores estiveram presentes nos cogumelos cultivados no substrato formulado a partir das serragens (SIAMP-COG e SIAPB-COG) com teores médios de proteína de 21,16 e 16,12 %, para as respectivas amostras.

Tabela 17- Resultado da composição centesimal de *P. ostreatus* em diferentes substratos.

Cogumelo por Substrato	Proteína (N x 4,38)	Lipídios	Fibra Total	Cinzas	Umidade		Massa seca (MS)	Carboidrato total	Carboidrato disponível	Energia Total Metabolizável
	(%)	(%)	(%)	(%)	Cogumelo fresco (%)	Cogumelo desidratado (%)	(%)	(%)	(%)	(Kcal)
SIAMP-COG	21,16	1,27	18,89	8,97	92,00	10,89	89,11	57,71	38,82	251,32
SIAPBP-COG	16,12	2,08	31,30	6,71	91,60	11,62	88,38	63,47	32,17	211,86
SIAPP-COG	11,96	1,58	20,75	7,36	89,01	12,21	87,79	66,89	46,15	246,64
SIACN-COG	14,67	2,14	30,50	6,10	91,52	9,57	90,43	67,52	37,02	226,01

SIAMP-COG: Cogumelo cultivado no substrato a partir da serragem de marupá, SIAPBP-COG: da serragem de pau de balsa; SIAPP-COG: do estipe da pupunheira triturado; SIACN-COG: do bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por análise. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Dentre os substratos formulados com resíduos agro-industriais, o cogumelo cultivado no substrato elaborado do bagaço de cana-de-açúcar (SIACN-COG) obteve maior valor protéico (14,67 %) comparado ao cogumelo cultivado no substrato elaborado com o resíduo da pupunheira (SIAPP-COG), com 11,96 % de proteína (Tabela 17).

Os teores de proteína encontrados nos cogumelos cultivados nos diversos substratos utilizados no presente estudo (11,96 – 21,16 %) estão dentro da faixa relatada por Miles e Chang, (1989) e por Chang e Miles (1997), que varia de 10,5 a 30,4 % de proteína, em base seca para *P. ostreatus*, estando de acordo ainda com os resultados de Sturion e Oetterer (1995), quando cultivaram diversas espécies de *Pleurotus* em vários resíduos, e obtiveram variações de 17,38 a 25 %. Os resultados são concernentes com os dados de Ranzani e Sturion (1998), quando também analisaram diferentes espécies do gênero *Pleurotus* cultivadas em folha de bananeira e obtiveram variação de 17,4 a 24,1%, bem como os resultados alcançados no estudo de Furlani (2004), em torno de 22,22 % de proteína.

Os maiores teores de proteína dos cogumelos do presente estudo, por si só, parecem não ter relação com os maiores teores de proteína encontrados nos respectivos substratos de cultivo, pois o substrato com maior conteúdo de proteína foi o substrato formulado com o estipe da pupunheira: SIAPP, com 3,13 % de proteína (Tabela 14), sendo este, o substrato em que o fungo apresentou maior produtividade (Capítulo 3). O cogumelo cultivado neste substrato, porém foi o que obteve menor percentual de protéico (11,96 %), enquanto que o cogumelo cultivado no substrato formulado com resíduo de marupá, o percentual de proteína foi 21,16 % (Tabela 17).

Oliveira (2000), cultivou duas linhagens de *P. ostreatus* em diferentes resíduos agrícolas, dentre eles a folha da bananeira, com maior teor de proteína. O substrato com maior conteúdo de proteína, contudo, não produziu cogumelos com maior teor de proteína em ambas as linhagens testadas. As análises foram feitas em base seca.

O cultivo de *P. tuber-regium* foi testado por Faside e Ekuere (1993) em folha de bananeira, sabugo de milho, resíduo de algodoeiro e palha de arroz. Os teores de proteína do cogumelo, em base seca, cultivado nos respectivos resíduos foram 16,8; 15,4; 15,1 e 13 %. O conteúdo de proteína para este cogumelo cultivado em palha de bananeira assemelha-se ao resultado apresentado para *P. ostreatus* cultivado em pau de balsa: SIAPB-COG (16,12 %), conforme Tabela 17.

Manzi et al. (1997) estudaram composição centesimal de diversas linhagens de *P. ostreatus* e de *P. eryngii*, uma linhagem de *P. pulmonarius* e uma de *L. edodes* cultivadas em um mesmo substrato (palha de arroz) em uma planta comercial da Itália. As análises foram feitas imediatamente após a colheita. O trabalho evidenciou diferentes valores de proteína entre as linhagens de *P. ostreatus* e de *P. eryngii*, bem como entre as espécies de *P. pulmonarius* e *L. edodes* cultivadas no mesmo substrato. A variação entre as linhagens mostrou que houve uma grande variabilidade dos teores de proteína entre as linhagens de *P. ostreatus* (19,93 - 34,73 %). Para os demais *Pleurotus* spp. (22,74 - 30,48 %) e 15,19% para *L. edodes*. Os teores foram expressos em base seca.

Andrade (2007) encontrou variações de 20 - 24,33 % de proteína para *L. edodes*. A autora, no entanto, utilizou o fator de conversão de N para proteína 6,25, causando superestimação da proteína para este cogumelo, o que corresponderia a variação de 14 – 17 %, aplicando o fator de conversão 4,38.

Wang et al. (2001) cultivaram *P. ostreatus* em resíduo de grãos malteados (rejeitos de cervejaria). Da mesma forma que Andrade (2007), utilizaram o fator de conversão 6,25 para proteína, encontraram variação de 41,4 a 53,3 % de proteína, em base seca, o que corresponderia a variações de 29 a 37,35% adotando o fator de conversão 4,38.

Silva et al. (2002) utilizaram três tipos de substratos para o cultivo de *P. pulmonarius*: resíduo de algodoeiro, folhas de capim cidreira e um tipo de forrageira. Os autores analisaram

o teor de proteína nos substratos e no cogumelo cultivado nestes substratos. Os teores de proteína em base seca para os respectivos substratos foram: 10,64, 7,87 e 7,55%. Já os percentuais protéicos do cogumelo cultivado nos substratos correspondentes foram 20,03, 16,90 e 26,82%, apresentando maior valor em proteína para o cogumelo cultivado no substrato de menor valor protéico (a forrageira *Panicum maximum*). Os resultados mostraram que tanto neste caso, como no atual estudo, o maior teor de proteína obtido no cogumelo também não correspondeu ao maior conteúdo de proteína do substrato de cultivo, da mesma forma que no estudo de Yildiz et al. (1998). Os autores utilizaram diferentes palhas de cereais, destacando o sorgo como substrato com maior teor em proteína (9 %). O cogumelo com maior conteúdo de proteína, no entanto, foi o cogumelo cultivado em palha de amendoim, substrato com a metade do valor protéico da palha de sorgo (4,75 %).

Diferentes resíduos agrícolas utilizados no cultivo de três espécies de *Pleurotus*: *P. sajor-caju*, *P. platypus* e *P. citrinopileatus* não mostraram diferença significativa quanto à composição nutricional dos cogumelos (RAGUNATHAN; SWAMINATHAN, 2003).

Sapata (2005) analisou a composição centesimal de *P. sajor-caju* e *P. eryngii* em dois fluxos de produção em diferentes formulações de substrato e constataram uma redução de proteína e cinza para estes cogumelos no segundo fluxo, enquanto que houve um aumento do teor em fibra neste fluxo em todos os substratos testados.

Akindahunsi e Oyetayo (2006) analisaram o valor nutricional de *P. tuber-regium* coletados em um mercado local da Nigéria e encontraram diferenças significativas do teor de proteína entre píleo e estipe (13,8 e 7,8 %), respectivamente.

Diversas ervas daninhas foram utilizadas isoladas e misturadas à palha de arroz para o cultivo de *P. ostreatus* originário na Índia (DAS; MUKHERJEE, 2007). O maior conteúdo protéico se deu para o cogumelo cultivado na erva *Cassia sophera* (10,85 mg/g de cogumelo

em base fresca), não sendo, porém o substrato que promoveu maior produtividade (eficiência biológica acumulada).

Dados relatados por Chang e Miles (1997), compilados de diversos autores demonstram que *Agaricus bisporus*, *Flamulina velutipes*, *Lentinus edodes* e *Volvariella volvaceae* contêm respectivamente 23,9; 17,6; 13,4 e 21,2 % de proteína em base seca.

As diferentes fontes da literatura mostram que existe uma grande diferença nas porcentagens de proteína entre as diferentes espécies de cogumelo e entre a mesma espécie. Os resultados muitas vezes discrepantes podem ser de diversas origens, dentre elas: a escolha da espécie de cogumelo, linhagens, tipo de substrato utilizado, grau de maturação do cogumelo, tipo de armazenamento e processo de conservação (FURLANI, 2004).

Quanto aos teores de lipídios encontrados no cogumelo cultivado nos diferentes resíduos, os resultados encontrados foram baixos (1,27–2,14%) conforme apresentados na Tabela 17, estando de acordo com diversos trabalhos (CHANG; MILES, 1989; STURION, 1994; STURION; OETTERER, 1995; MILES; CHANG, 1997; OLIVEIRA, 2000; SAPATA et al., 2005).

Os resultados alcançados foram inferiores aos apresentados por Wang et al. (2001), quando cultivaram a mesma espécie em resíduo de grãos malteados (rejeitos de cervejaria) e obtiveram 4,3 a 4,7 % de lipídio. Foram inferiores também aos resultados de Banik e Nandi (2004), quando utilizaram como substrato uma mistura de palha de trigo + chorume de esterco animal, resultando em 7,97–13,94% de lipídio, assim como foram menores do que os resultados apresentados por Furlani (2004) e Toro et al. (2006) com variação de 2,46 a 5,8 e de 4,58 a 5,19% do conteúdo em lipídios para os cogumelos dos respectivos estudos.

Os percentuais de fibra presente no cogumelo cultivado nos diversos resíduos (SIAMP-COG; SIAPB-COG; SIAPP-COG e SIACN-COG) foram: 18,89; 31,30; 20,75 e 30,50%, para as respectivas amostras (Tabela 17). Os teores de fibras variaram com o

substrato de cultivo e foram considerados altos principalmente em SIAMP-COG e SIACN-COG, superando os valores encontrados por Sturion e Oetterer (1995) em três espécies de *Pleurotus* (9,9 – 23,93 %) cultivados em diferentes resíduos agrícolas. Foram superiores aos resultados encontrados por Oliveira (2000), quando o autor cultivou *P. ostreatus* em bagaço de cana-de-açúcar, capim elefante e folha da bananeira e obteve variações em fibra de 9,25 a 18,95 %.

O teor em fibra para o cogumelo cultivado no resíduo de pau de balsa: SIAPB-COG (Tabela 17) assemelha-se aos teores encontrados na Índia por Swaminathan e Rangunathan (2003) em três espécies do gênero *Pleurotus* cultivados em resíduo do algodão (20,40 a 21,6 %).

Os valores ora apresentados superam também os percentuais apresentados por Silva et al. (2002); Bonatti et al. (2004); Sapata (2005); e por Toro et al. (2006), os quais trabalharam com diversas espécies de *Pleurotus* e obtiveram grandes variações no teor de fibras dos cogumelos dos respectivos estudos (4 a 9 %; 7,60 a 9,86%; 7,3 a 23,5%; 11 a 11,9%). São superiores ainda aos resultados encontrados no cogumelo *Agaricus blazei* (OLIVEIRA, 1999; SHIBATA, 2003), com 9,28 a 10,13 e 14,57% para os respectivos estudos.

Andrade (2007), cultivou *L. edodes* em toras de diversas espécies de *Eucalyptus* e encontrou variações dos percentuais em fibra de 6,35 a 20,50 %, as quais sofreram influência com as espécies madeireiras testadas.

Em relação ao conteúdo de cinzas (resíduo mineral fixo), do cogumelo no presente estudo, a variação foi da ordem de 6,71 a 8,97 %, teor considerado alto, o que reforça a riqueza em minerais (macro e micronutrientes), relatados no Capítulo 3.

O maior conteúdo de cinzas ocorreu no cogumelo cultivado no resíduo de marupá, estando na faixa citada por Chang e Miles (1989) e de acordo com Stution (1994; 1995), Manzi et al. (1999), Oliveira (2000), Furlani (2004) e Sapata (2005). Os resultados alcançados

foram similares aos apresentados nas diferentes linhagens de *A. blazei*: 6,99 a 7,89 % (SHIBATA et al., 2003). Por outro lado superaram os valores reportados por Toro et al. (2006), quando trabalharam com diversas espécies de *Pleurotus* cultivadas em substrato comercial e obtiveram variação de 3,60 a 4,42% de cinza. Os valores encontrados foram superiores ainda ao conteúdo de cinzas apresentado em *P. tuber-regium* (AKINDAHUNSI; OYETAYO, 2006) com percentuais de 2,6 a 4,0% para estipe e píleo, respectivamente. Estiveram acima dos percentuais de cinza de *L. edodes* (Shiitake) apresentados no estudo de Andrade (2007) cultivado em diferentes espécies de *Eucalyptus*, com variação de 2 a 5%.

Quanto à umidade, o cogumelo fresco obteve 91,60 a 92 %, valores considerados normais, pois o cogumelo é constituído de cerca de 90% de água sendo, portanto fundamental para seu desenvolvimento (MAZIERO, 1999). Os resultados em base fresca estão dentro da faixa encontrada por diversas linhagens de *Pleurotus* (OLMEDO et al., 1980; MILES; CHANG 1997; MANZI et al., 1999; RAGUNATHAN; SWAMINATHAN, 2003; GBOLAGADE, 2006). A umidade do cogumelo desidratado variou de 9,57 a 10,89, testando de acordo com os resultados de Oliveirta et al. (1999) e de Shibata et al. (2003) para *A. blazei* desidratado.

Os resultados de carboidratos totais (nos quais a fração fibra está inclusa) para as amostras de cogumelos: SIAMP-COG; SIAPB-COG; SIAPP-COG e SIACN-COG foram 57,71; 63,47; 66,89 e 67,52 %, respectivamente, com maiores resultados encontrados nos cogumelos cultivados nos resíduos da pupunheira (SIAPP-COG) e do bagaço de cana-de-açúcar (SIACN-COG). Isto ocorreu em função da elevada quantidade de fibra total (20,75 e 30,50 %) presente nas respectivas amostras, as quais fazem parte dos carboidratos totais, bem como devido aos menores teores em proteína contidos nestas amostras, que por sua vez são percentuais menores a serem descontados na fórmula de carboidrato total.

Já os teores em carboidratos disponíveis (carboidratos dos quais exclui-se a fração fibra) foram: 38,82; 32,17; 46,15 e 37,02 % para SIAMP-COG; SIAPB-COG; SIAPP-COG e SIACN-COG, respectivamente. Os maiores teores apresentados no cogumelo cultivado no presente estudo foram para as amostras SIAPP-COG e SIAMP-COG (46,15 e 38,82 %), devido aos menores percentuais em fibra, os quais foram descontados em menor percentual no cálculo de carboidrato disponível (Tabela 17), elevando desta forma seus percentuais em carboidratos disponíveis.

A energia total metabolizável por sua vez foi maior quanto maior o percentual de carboidrato disponível e de proteína presentes na amostra, que neste caso estiveram em maior quantidades em SIAMP-COG e SIAPP-COG, com 251,32 e 246,64 Kcal para as respectivas amostras. Os resultados foram inferiores aos reportados por Miles e Chang (1997) para *P. ostreatus*.

Analisando as amostras de maneira generalizada, foi observada uma grande variação na composição de proteína, lipídio, cinzas, carboidrato total, carboidrato disponível e energia no cogumelo cultivado em todos os substratos de cultivo, estando de acordo com diversos estudos (FASIDI; EKUERE, 1993; STURION; OETTERER, 1995; WANG et al., 2001; SILVA et al., 2002; FURLANI, 2004; SAPATA, 2005; DAS; MUKHERJEE, 2007).

O trabalho de Garcha et al. (1993) avaliou a importância nutricional de três espécies de *Pleurotus*: *P. florida*, *P. sajor-caju* e *P. ostreatus* cultivados no mesmo substrato (palha de arroz) e revelou teores diferentes de proteína para os respectivos cogumelos (19,1; 18,9 e 15,7 %). Os autores analisaram ainda a composição nutricional dos basidiomas de *P. florida* em dois estágios: imaturo e maturo (com o píleo aberto). Na fase madura o cogumelo apresentou menor teor de umidade (87,5 %); proteína (17,0 %); lipídio (3,6 %) e energia (268,2 Kcal/100g). Os valores iniciais (fase imatura) das respectivas análises foram superiores (91,1 %; 20,7 %; 5,2 % e 280,4 Kcal/100g). No estágio de maturidade do cogumelo, no entanto, a

pesquisa revelou maiores teores de fibra (10,6%); de cinza (9,3%) e carboidrato total (55,6%), os quais na fase imatura apresentaram valores inferiores (9,2; 8,8 e 52,5 %).

A pesquisa realizada no Japão (WANG et al. 2001) com o cultivo de *P. ostreatus*, utilizando diversas espécies de grãos malteados, apresentou resultados em carboidratos totais variando de 35,7 a 45,5 % e de energia: 325,6 a 341,8 Kcal. Os resultados de carboidratos apresentados pelos autores foram inferiores aos encontrados no atual estudo (57,71 – 67,52 %). A energia total metabolizável, entretanto, foi inferior neste estudo (211,86 a 251,32 Kcal), como resultado principalmente dos carboidratos disponíveis, os quais não foram apresentados no trabalho dos autores.

Bonatti et al. (2003), analisaram a composição centesimal de *P. ostreatus* e de *P. sajor-caju* cultivados em resíduo de palha de bananeira. Foram avaliadas as composições (umidade, lipídios, carboidratos totais, cinzas, fibra bruta, nitrogênio total e proteína total) no primeiro e segundo fluxo de produção dos fungos. Os resultados apresentados pelos autores mostraram uma redução da composição centesimal no segundo fluxo, em ambos os cogumelos, com exceção para a umidade e fibra bruta (fibra total) que foram superiores no segundo fluxo somente para a espécie *P. sajor-caju*. Os teores de umidade, lipídio, carboidratos totais, cinzas, fibra, nitrogênio total e proteína total entre os cogumelos no estudo desses autores variaram de 83,17 a 88,06; 2,24 a 5,97; 40,53 a 46,97; 4,08 a 5,58; 7,60 a 9,45; 3,7 a 4,20 e 16,21 a 18,40%, para as respectivas composições.

Comparando estes resultados com o atual (Tabela 17) foi observado que os valores de lipídios superam os do atual estudo enquanto que os de umidade, carboidratos, cinzas, e fibra foram superados pelos resultados do presente estudo. Os valores de proteína encontram-se em faixas semelhantes (Tabela 17) bem como os de N (Tabela 16).

As mesmas linhagens de *P. ostreatus* e de *P. sajor-caju* foram testadas por Bonatti et al. (2004) quanto ao cultivo em palha da bananeira e palha de arroz. Foram feitas as mesmas

análises, que as apresentadas no estudo anterior por Bonatti et al. (2003), mas apenas para o primeiro fluxo de produção dos cogumelos. Os resultados comparativos mostraram que os teores de lipídios encontrados pelos autores foram superiores (5,26 a 6,32%) aos do atual estudo (Tabela 17). Foram superados novamente os teores de carboidratos totais (43 a 47%); cinzas (5,14 a 6,13%) e fibra total (7,60 a 9,86%). Os resultados em proteína (13,1 a 18,4 %) foram similares aos do atual estudo, com exceção do cogumelo crescido em marupá (SIAMP-COG) que superou o valor protéico apresentado por estes autores (21,16%), conforme Tabela 17. Os percentuais em N também foram similares aos dos autores (2,96 a 3,85%), contudo superados pelo cogumelo cultivado no resíduo de marupá. (Tabela 16).

Sapata (2005) avaliou a composição de *P. ostreatus* cultivado em diferentes resíduos agrícolas e encontrou variações em fibra (5,1 a 23,5%); carboidratos totais (37,8 a 50,7%); cinzas (5,3 a 8,3); lipídios (1,7 a 2,0); proteínas (18,4 a 27,4). Comparando os resultados da autora com os da Tabela 17, foi verificado que os teores em fibra são inferiores aos atuais (18,89 a 31,30 %), assim como o de carboidrato total (57,71 a 67, 52 %). São semelhantes quanto aos teores de cinzas (6,10 a 8,97) e de lipídios (1,27 a 2,14). Foram superados quanto ao teor em proteína (11,96 a 21,16). Cabe salientar, no entanto, que a análise protéica dos cogumelos do atual estudo foi feita homogeneizando-se todos os cogumelos coletados em todos os fluxos produtivos por cada substrato de cultivo, enquanto que as análises realizadas na grande maioria dos trabalhos consultados foram feitas apenas em relação aos cogumelos coletados no primeiro fluxo, o que leva a um maior teor em proteína, uma vez que nesta fase o substrato possui maior suporte nutricional.

Sabe-se que em geral, a maior composição nutricional dos cogumelos está relacionada ao píleo e não ao estipe, podendo ser comprovada nos estudos de Shibata et al. (2003) com *A. blazei*, e de Akindahunsi e Oyetayo (2006) com *P. tuber-regium*. O trabalho Akindahunsi e Oyetayo (2006) comprova isto em relação proteína, lipídios, cinzas e carboidratos totais em *P.*

tuber-regium. Os resultados encontrados para o píleo e estipe respectivamente, em relação a proteína (13,8 e 7,8%), lipídeos (1,2 e 0,7 %), cinzas (4,9 a 2,6%) e carboidrato total (53,2 a 34%) foram, no entanto, inferiores às mesmas composições apresentadas pela espécie *P. ostreatus* cultivada nos diferentes substratos utilizados na atual pesquisa, analisando o cogumelo como um todo (Tabela 17).

Oliveira et al. (1999), determinaram os teores de umidade, lipídios, cinzas, fibra bruta, carboidratos disponíveis (glicídios) e proteínas em *A. blazei* (cogumelo do sol) e obtiveram como resultados percentuais das respectivas análises: 9,67; 1,48; 9,37; 14,57; 34,78 e 30,13. Os resultados encontrados no cogumelo *A. blazei* no estudo desses autores foram semelhantes aos resultados obtidos no presente estudo em termos de umidade (cogumelo desidratado), lipídios, e cinzas (Tabela 17). Os valores em fibra e carboidratos disponíveis foram superados por *P. ostreatus* no atual estudo. Em relação à proteína os autores, no entanto, utilizaram o fator de conversão de N X 6,25, para conversão de N em proteína, causando superestimação da proteína para este cogumelo (30,13%) quando na realidade seria 21, 11% de proteína se tivesse sido utilizado o fator 4,38, para *A. blazei*. Neste caso, o valor protéico seria equiparado ao de *P. ostreatus* cultivado no substrato elaborado a partir do resíduo de marupá, portanto com valor protéico equivalente ao do *A. blazei*, tão difundido pelos relatos científicos e pela “mídia”.

As diferentes fontes consultadas mostraram que existe uma grande variabilidade na composição centesimal dos cogumelos, entre a mesma espécie e entre espécies diferentes. Tais resultados são concernentes com as observações de Chang et al. (1997) e de Furlani (2004).

Ao nível de comparação da composição nutricional de *P. ostreatus* do presente estudo (Tabela 17) com outros alimentos, encontram-se disponibilizados na Tabela 18 o valor nutricional de diversos alimentos consultados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos: TACO-2006.

Comparando a Tabela 17 com a Tabela 18, observa-se que o cogumelo cultivado nos diversos substratos supera em alguns casos o teor de proteína de determinadas partes da carne bovina, suína, bem como a proteína de diversos cereais, dentre eles o arroz, a aveia, a farinha de trigo, sendo superado, no entanto, pela soja. Entretanto, dispõe de maior conteúdo em proteína do que o ovo, quando cultivado nos substratos SIAMP e SIAPB. Contém maior teor de fibra do que os alimentos relatados na Tabela 18, exceto o café em pó torrado e a semente de linhaça. O teor em lipídio é inferior a maioria dos alimentos.

Por sua composição nutricional, constatou-se que *P. ostreatus* é um cogumelo de grande valor nutricional pelo alto valor em fibra (18,89 a 31,30%), proteína (11,96 a 21,16%), carboidratos totais (57 a 67,52 %), carboidratos disponíveis (32,12 a 46,15 %) e energia total metabolizável (211,86 a 251,32 Kcal), sendo esta inferior aos resultados dos cogumelos consultados na literatura, apresentando baixo teor de lipídios (1,27 a 2,14%). Considerado, portanto, um alimento de importância nutricional podendo ser utilizado em casos de dietas ricas em proteínas e com restrições em lipídios.

Tabela 18 - Composição de alguns alimentos por 100 g de parte comestível.

Alimento	Umidade	Energia	Proteína	Lipídios	Carboidrato	Fibra	Cinzas
	%	Kcal	g	g	Total g	g	g
Arroz, tipo 1 cru.	13,2	358	7,2	0,3	78,8	1,6	0,5
Aveia em flocos crua.	9,1	394	13,9	8,5	66,66	9,1	1,8
Biscoito doce de maisena.	3,2	443	8,1	12	75,5	2,1	1,5
Farinha de trigo.	13,0	360	9,8	1,4	75,1	2,3	0,8
Maçaráo de trigo cru.	10,2	371	10,0	1,3	77,9	2,9	0,5
Pão de soja.	26,0	309	11,3	3,6	56,5	5,7	2,5
Pão de trigo, francês.	28,5	300	8,0	3,1	58,6	2,3	1,8
Pastel, massa frita.	1,0	570	6,0	40,9	49,3	1,3	2,8
Batata, inglesa tipo chips.	2,7	543,0	5,6	36,6	51,2	2,5	3,9
Brócolis, cru.	91,2	25	3,6	0,3	4	2,9	0,8
Cebolo, crua.	88,9	39	1,7	0,1	8,9	2,2	0,4
Couve manteiga, crua.	90,9	27	2,9	0,5	4,3	3,1	1,3
Farinha de mandioca crua.	9,4	361	1,6	0,3	87,9	6,4	0,9
Pao de queijo, assado.	33,7	363	5,1	24,6	34,2	0,6	2,3
Povilho doce.	12,6	351	0,4	Tr	86,8	0,2	0,2
Abacaxi.	86,3	48	0,9	0,1	12,3	1	0,4
Acerola, polpa.	93,6	22	0,6	Tr	5,5	0,7	0,3
Banana prata crua.	71,9	98	1,3	0,1	26	2	0,8
Laranja lima, crua.	87	46	1,1	0,1	11,5	1,8	0,4
Pequi, cru.	65,9	205	2,3	18	13	19	0,8
Tamarindo, cru.	22	276	3,2	0,5	72,5	6,4	1,9
Bacalhau salgado, refogado.	65,9	140	24	3,6	1,2	0,6	5,3
Camarão de água salgada, cru.	89,1	47	10	0,5	0	NA	0,8
Manjuba, frita.	40,7	349	30,1	24,5	0	NA	4,2
Sardinha, conserva em óleo.	55,1	285	15,9	24	0	NA	2,9
Carne bovina contra-filé de costela grelhado.	52,2	275	29,9	16,3	0	NA	1,2
Carne bovina, contra-filé de costela crua.	66,4	202	19,8	13,1	0	NA	1
Carne bovina, costela crua.	52,7	358	16,7	31,8	0	NA	0,9
Frango caipira cozido c/ pele cozido.	59,7	243	23,9	15,6	0	NA	0,8
Frango, coxa, sem pele, cru:	76,4	120	17,8	4,9	0	NA	0,9
Frango, inteiro, com peles, cru:	66,5	226	16,4	17,3	0	NA	0,7
Lingüiça de frango, grelhada.	58,6	244	18,2	18,4	0	NA	3,8
Lingüiça de porco, frita.	54,5	280	20,5	21,3	0	NA	3,9
Leite de vaca integral, em pó.	2,7	497	25,4	26,9	39,2	NA	5,8
Queijo, minas/frescal.	56,1	264	17,4	20,2	3,2	NA	3
Ovo de galinha inteiro cozido.	75,8	146	13,3	9,5	0,6	NA	0,6
Ovo de galinha, gema cozido.	50,0	353	15,9	30,8	1,6	NA	0,6
Chocolate ao leite dietético.	1,7	557	6,9	33,8	56,3	2,8	1,3
Café, pó, torrado.	2,9	419	14,7	11,9	65,8	51,2	4,7
Feijao preto cru.	14,9	324	21,3	1,2	58,8	21,8	3,8
Feijao preto cozido.	80,2	77	4,5	0,5	14	8,4	0,8
Farinha de soja.	5,8	404	36	14,6	38,4	20,2	5,1
Amêndoa torrada e salgada.	3,1	581	18,6	47,3	29,5	11,6	1,5
Castanha do Brasil crua.	3,5	643	14,5	63,5	15,1	7,9	3,4
Linhaça semente.	6,7	495	14,1	32,3	43,3	33,5	3,7

Fonte: TACO -2006. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. NA: não aplicável. Tr. Traço.

4.4 CONCLUSÕES

- A composição nutricional tanto do substrato como do cogumelo variou com o substrato de cultivo utilizado.
- Os sólidos solúveis presentes nos cogumelos, principalmente os quais foram cultivados no resíduo da pupunheira e do bagaço de cana-de-açúcar podem ter relação com vitaminas hidrossolúveis do complexo B, presentes nos cogumelo, já que estes são fontes ricas destas vitaminas.
- O cogumelo *Pleurotus ostreatus* do presente estudo pode ser considerado um importante alimento devido às características nutricionais, por apresentarem altos teores em proteínas, carboidratos metabolizáveis, fibras e baixos teores em lipídios e reduzidos teores em calorias. Um alimento, portanto, rico em proteínas e de baixo teor em lipídios.
- Todos os substratos elaborados foram capazes de produzir o cogumelo *P. ostreatus*, e apresentaram elevada eficiência biológica destacando o substrato SIAPP (substrato formulado a partir do resíduo da pupunheira) como o substrato de maior produtividade e SIAMP (substrato formulado a partir da serragem de marupá) que produziu cogumelo com maior valor protéico.
- Houve um incremento de proteína no substrato residual provocado principalmente pelo micélio do fungo, bem como uma elevação energética (Kcal). Este fato foi resultante do aumento dos carboidratos disponíveis, que foram elevados devido à redução da fibra, a qual, por sua vez, foi degradada pelo fungo durante cultivo. O substrato residual tornou-se mais rico, devido a maior disponibilidade de nutrientes do que o substrato inicial e poderá ser utilizado como composto para “chamgignon”, adubo orgânico, biorremediação de solos contaminados, dentre outros.

4.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AKINDAHUNSSI, A. A.; OYETAYO, F. L. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (fries) Singer. **LWT. Food Science and Technology**, Oxford, Elsevier Ltd. v. 39, n. 5, p. 548-553, 2006.

AKINYELE, B. J.; AKINYOSOYE, F. A. Effect of *Volvariella volvaceae* cultivation on the chemical composition of agrowastes. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 4, n. 9, p. 979-983, 2005.

ANDRADE, M. C. N. **Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto**. 2007. 195 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)- Faculdade de Ciências Agrônômica, Universidade Estadual Paulista, UNESP-Botucatu, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of A.O.A.C.** International. 16a. ed. 3a. rev. A.O.A.C. International. Gaithersburg, MD, 1997.

BELEWU, M. A.; BELEWU, K. Y. Cultivation of mushroom (*Volvariella volvaceae*) on banana leaves. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 4 (12), p.1401-1403, Dec. 2005.

BELEWU, M. A. Conversion of mansonia tree sawdust and cotton plant by-product into feed by white rot fungus (*Pleurotus sajor caju*). **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 6, p.503-504, 2006.

BERNÁS, B.; JAWORSKA, G.; LISIEWKA, Z. Edible Mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. **Acta Scientiarum Polunorum Technologia Alimentaria**, Cracóvia, v. 5, n.1 p. 5-20, Cracow, Poland, 2006.

BISARIA, R.; VASUDEVAN, P.; BISARIA, V. S. Utilization of spent agro-residues from mushroom cultivation for biogas production – short contribution. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 33, n. 5, p. 606-609, 1990.

BRASEQ. Boletim técnico informativo Braseq. **Entendendo a atividade de água e sua importância para a qualidade de alimentos e outros produtos em geral**. Disponível em: www.braseq.com.br. Acessado em: 20 de julho de 2005.

CRISAN, E. V.; SANDS, A. 1978. A nutritional value: In: CHANG, S. T.; HAYES, W.A. (Eds). In: **The biology and cultivation of edible mushroom**. Academic Press. New York. 1978, p. 137-168.

CARVALHO, H. H.; JONG, E. V.; BELLÓ, R. M.; SOUZA, R. B.; TERRA, M. F. 2002. **Alimentos: Métodos físicos e químicos de análise**. Ed. Universidade/UFRGS. p.163-165.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Edible mushrooms and their cultivation**. CRC Press Inc. Boca Raton, Flórida. 345p, 1989.

CHUANG, L.; TOLEDO, R.T. The predicting the water activity of multicomponent systems from water sorption isotherms of individual components. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.4, p.922-927, july./aug.,1976.

CHIHARA, G. Medical aspect of lentinan isolated from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong. 1993, p.261-266.

COCHRAN, K. W. Medical effects. In: CHANG, S. T.; HAYES, W.A. (Eds). In: **The biology and cultivation of edible mushroom**. Academic Press. New York. 1978, p. 169-187.

ÇAGLARIRMAK, N. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus* species) and an estimated approach to the volatile compounds. **Food Chemistry**, Oxford, v. 105, p 1188-1184, 2007.

EIRA, A. F. **Cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (Murril) ss. Heinemann ou *Agaricus brasiliensis* (Wasser et al.)**. Aprenda Fácil Editora, Viçosa, Minas Gerais, 395p, 2003.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A.; BRAGA, G. C.; MONTINI, R. M. C.; ICHIDA, M. S.; MARINO, R. H.; COLAUTO, N. B.; SILVA, J.; NETO, F. J.. **Manual teórico/ prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. UNESP/FEPAF. Botucatu, 1997. 115p.

GARCHA, H. S., KHANNA, P. K., SONI, G. L. Nutritional importance of mushrooms. In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds.): **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong. 1993, p.227-236.

GBOLAGADE, J.; AJAYI, A.; OKU, I.; WANKASI, D. Nutritive value of common wild edible mushrooms from northern Nigeria. **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry**. IDOSI publications, v.1 (1): 16-21, jun-dec, 2006.

GUNDE-CIMERMAN, N. Medicinal value of genus *pleurotus* (Fr.) P. Karst. (Agaricales s. l., Basidiomycetes) **Internatational Journal of Medicinal Mushrooms**, Ney York, v. 1 p 60-80, 1999.

KURTZMAN, R. H., & ZADRAZIL, F. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms. In: CHANG, S. T.; QUIMIO, T. H. (Eds.). **Tropical mushrooms: Biological nature and cultivation methods**. Hong Kong: The Chinese University Press. 1982. p. 299-348.

LATINFOODS. 2002. Tabla de Composicion de Alimentos de América Latina. LATINFOOS website. Disponível em <<http://www.fao.org/LAmerica/grupo.htm>>. Acesso em: 20 de maio 2006.

LIU, G. T. Pharmacology and clinical uses of *Ganoderma* In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong, p.267-274, 1993.

LIU, W. K.; OOI, V. F. C.; NG, T. B.; CHANG, S. T. Immunomodulatory activities of mushroom mycelial extracts. In: CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Eds). In: **Mushroom biology and mushroom products**. Proceeding of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong, p.285-292, 1993.

MALTINI, E.; TORREGIANI, D.; BROVETTO, B. R.; Bertolo, G.. Functional properties of reduced moisture fruits as ingredients in food systems. **Food Research International**, Barking, v. 26, n.6, p. 413-419, 1993.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria Orgânica do Solo: Métodos de Análises**. Viçosa, UFV, 107 p., 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato Piracicaba, São Paulo. 201 p., 1989.

NEPA - Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação -. **Tabela de Composição de Alimentos/NEPA-UNICAMP**. Campinas, São Paulo. 2006. 105p.

OLMEDO, R. G.; MASOUD, T. A.; ISASA, M. E. T. Macro e micronutrientes em hongos comestíveis. I) **Macronutrientes**. **Anal. Bromatol**. Madri, V. 32, n. 2, p. 145-168, 1980.

MANZI, P.; GAMBELLI, L.; MARCONI, S.; VIVANTI, V.; PIZZOFERRATO, L. Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. **Food Chemistry**, Oxford, v. 65, p. 477-482, 1999.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Mushroom biology: concise basics and current developments**. **Singapore**: World Scientific, 194 p., 1997.

RAJARATHNAM, S., SHASHIREKA, M. N., BANO, Z. Biopotencialities of the Basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**, New York, Academic Press, v. 37, p. 233-361, 1992.

PATRASBANSI, S.; MADAN, M. Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus Sajor-caju* (Fr.) Singer on different bio-wastes. **Acta Biotechnologica** Wiley, Weinheim, v. 17, n. 2, p. 107-122., 1997.

RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHA, K. Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, p. 371-375, 2003.

RANZANI, M. R. T.; STURION, G. L. Avaliação da composição em aminoácidos de *Pleurotus* spp. cultivados em folha de bananeira. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 48, n. 4, p. 339-348, 1998.

HOSSAIN, S.; HASHIMOTO, M.; CHOUDHURY, E. K.; ALAM, N.; HUSSAIN, S.; HASAN, M.; CHOUDHURY, S. K.; MAHMUD, I. Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. V. 30, p. 470-475.

SHIBATA, C. K. R.; DEMIATE, I. M. Cultivo e análise da composição química de cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril). *Ci. Biol. Saúde*, Universidade Estadual de Ponta Grossa, P. Grossa, v. 9, n. 2, p. 21-32, jun 2003.

SINGH, M. P. Biodegradation of lignocellulosic waste through cultivation of *Pleurotus sajuscaju*. IN: Van Griensven Ed. **Science and Cultivation of Edible Fungi**. Balkema, Rotterdam v. 2, p 517 521, proceeding of XV Mushroom Science, 2000.

SMITH, J. E.; ROWAN, N. J.; SULLIVAN, R. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities (Review). **Biotechnology Letters**, v. 24, p. 1839-1845, 2002.

STURION, G. L. **Utilização da folha da Bananeira como substrato para o cultivo cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp)**. 1994. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências/Ciência e Tecnologia de Alimentos) ESALQ/USP, Piracicaba, 1994.

STURION, G. L.; OETTERER, M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp) originados de cultivo em diferentes substratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 15, n. 2, p.: 189-193, 1995.

TORO, G. V.; VEGA, R. C.; GARÍN-AGUILAR, M. E.; LARA, H. L. Biological quality of proteins from tree strains of *Pleurotus* spp. **Food Chemistry**, Oxford, v. 97, p. 494-497, 2006.

WANG, D.; SAKODA, A. SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource Technology**, Essex, Elsevier Science Ltd., v. 78, p. 293-333, 2001.

YARA, R. **Bactéria associada a *Pleurotus* sp**. 134 f. 2002. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/ Genética Molecular e de Microrganismo). Instituto de Biociências, USP, 2002.

YARA, R. **Localização in situ e caracterização molecular da bactéria endossimbionte de *Pleurotus ostreatus***. 2006. 86 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas). ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo, 2006.

YILZD, A.; KARAKAPLAN, M. AYDIN, F. Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fr.) KUM. Var. *salignus* (Pers. ex. Fr.) Konr. et Maubl.: cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores. **Food Chemistry**, Oxford, v. 61, n. ½, p. 127-130, 1998.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In: Ghang, S. T. Hayes W. A (eds.). **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic Press, 1978, p. 521-557.