

**LORENA PASTORINI DONINI**

**CULTIVO DE SHIMEJI [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer] EM CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum* Schum) SUPLEMENTADO COM FARELOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: José Soares do Nascimento

Pelotas – 2006

**Banca examinadora:**

Prof. Dr. José Soares do Nascimento  
(Departamento de Microbiologia e Parasitologia – IB / UFPel)  
(Orientador/ Presidente da Banca examinadora)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Zaida Inês Antonioli  
(Departamento de Solos – CCR/UFSM)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Judith Viégas  
(Departamento de Zoologia e Genética - IB/UFPel)

Prof<sup>o</sup>. Dr. Carlos Rogério Mauch  
(Departamento de Fitotecnia - FAEM / UFPel)

**Dedico**

***Aos meus pais Wilmar Donini e Maria Beatriz Pastorini pelo incentivo,  
dedicação e doação dispensados sempre...  
Ao Eduardo, pelo amor, amizade, paciência e incentivo na realização deste  
trabalho...  
A Deus pela presença e mão forte em todas as horas...***

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus pais pela dedicação e doação que sempre mostraram em todos os momentos de minha vida, pois essa conquista também é de vocês.

Agradeço a Deus pela presença nas horas de alegria, tristeza, indecisão, indefinição, discussão, risadas, lágrimas e muitas outras emoções que passei durante estes dois rápidos e muito intensos anos. Ele foi a força quando achei que tudo estava perdido e pensei em desistir.

Aos meus queridos e eternos amigos do Laboratório de Biologia Celular e do Departamento de Zoologia e Genética, Ana Paula Guisso, Mirian Ribeiro, Bianca Luzardo Porto, João Macedo, Álvaro Miguel, Iara Válquide, Rita Vianna e em especial à professora e amiga Judith Viégas por ter me ensinado os primeiros passos no mundo da Ciência.

À grande amiga Maria Goreti Corrêa, pelas longas horas de conversas e conselhos, e pelos inúmeros momentos de tranquilidade que encontrei ao lado desta amiga. Também não poderia deixar de agradecer a amiga e Dra. Islaine Moura por todos os ensinamentos e agradável convivência, e ao nosso mascote, o lindo bebê Lucas.

Às amigas Joseane Almeida de Souza e Luciane Couto da Silva pela agradável convivência e troca de experiências.

Ao professor e amigo Dr. Carlos Rogério Mauch pela orientação e amizade construída durante esse período.

Ao professor, orientador e amigo Dr. José Soares do Nascimento, pela agradável convivência, paciência, atenção, e especialmente pela enorme coragem de me aceitar como orientada.

Aos estagiários e amigos do Laboratório Experimental de Micologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia Elisandra Minotto, Elton Luiz Guimarães da Costa e Iporã Haeser, pela ajuda na realização deste trabalho e pelos momentos alegres que passei na presença destes.

Ao meu grande amor e amigo Eduardo Bernardi por tudo que passei de bom até aqui. Pelo amor, amizade, carinho, conselhos e paciência dedicada. Onde busquei

força e inspiração ao longo de minha trajetória, sendo figura essencial na realização de mais uma importante etapa de minha vida.

Às minhas queridas e grandes amigas Ana Carolina Bertinetti Cordeiro, Elaine Woicziekoski, Camila Luzardo Porto, Ane Oppelt e Fernanda Queiroz, que mesmo distantes no espaço e no tempo sempre estiveram presentes, torcendo por mim e por esta conquista.

À Dr<sup>a</sup> Regina Helena Marino, por ceder as linhagens de *Pleurotus ostreatus* utilizadas na realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação em Agronomia, especialmente à Área de Produção Vegetal e seus professores pelo conhecimento construído e pela oportunidade de realização deste curso.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

## Resumo

DONINI, Lorena Pastorini. **Cultivo de shimeji [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer] em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) suplementado com farelos**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O cogumelo comestível *Pleurotus* spp. (shimeji) é cultivado em diferentes substratos ligno-celulósicos, cuja produtividade depende da formulação do meio de cultivo. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a velocidade de crescimento, produtividade de três linhagens de *P. ostreatus*, sob o efeito da suplementação de farelos em diferentes concentrações ao meio de cultura à base de capim-elefante. Desta forma, foram realizados três experimentos. O experimento 1 consistiu na utilização de meios de cultura estéril à base de capim-elefante suplementado com farelos de soja, trigo, arroz ou milho nas concentrações de 0, 10 ou 20%, distribuído em placas de Petri, inoculado com as linhagens BF24, DF33 e HF19 de *P. ostreatus* e incubados a 28° por seis dias, visando a avaliação da massa e crescimento miceliano. O experimento 2 consistiu na utilização do substrato capim-elefante seco, particulado, umedecido e com a mesma suplementação anterior, sendo este acondicionado em tubos de ensaio, esterilizado, inoculado com as três linhagens de *P. ostreatus* e incubados a 28°C por 19 dias para avaliação da colonização do substrato. O experimento 3 consistiu na utilização dos mesmos tratamentos do experimento 2, porém acondicionados em frascos e incubados em condições ambientais. De acordo com os resultados obtidos, na ordem dos experimentos realizados, verificou-se que o meio de cultivo com 20% de farelo de soja aumentou a massa e o crescimento miceliano para as três linhagens de *P. ostreatus*, exceto para o crescimento miceliano da HF19; a suplementação com farelo de trigo foi menos eficiente que a com farelo de soja e os farelos de arroz e milho não apresentaram efeito no aumento da massa e crescimento miceliano das linhagens cultivadas. Na fase de miceliação a suplementação com farelos não aumentou a velocidade de crescimento miceliano, mas aumentou o vigor do micélio. A linhagem BF24 foi a mais produtiva em relação as demais; a suplementação do capim-elefante com os farelos de trigo, arroz e milho nas concentrações de 10 e 20% aumentaram a

produtividade e eficiência biológica, enquanto o farelo de soja apresentou efeito negativo para as linhagens de *P. ostreatus*.

**Palavras - chave:** basidiomiceto, massa miceliana, suplementação, velocidade de crescimento

## Abstract

DONINI, LORENA PASTORINI. **Shimeji cultivation [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer] in elephant-grass (*Pennisetum prupurem* Schum) supplemented with brans.** 2006. 80f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The edible mushroom *Pleurotus* spp. (shimeji) is cultivated in different lignocelulosics substrate. According to the medium formulation of cultivation, larger productivity can be obtained. Thus, this research were carried out to study the development, growth rate and the productivity of three *P. ostreatus* strains, under the effect of brains supplemented in different concentrations to the medium of culture to the elephant grass base. In experiment 1 it was studied the three mushroom strains cultured in elephant grass culture media supplemented with soy, wheat, rice or corn bran with three different concentration (0, 10 and 20%). The cultures were incubate at 28°C for six days. Mass and mycelium growth were evaluated. In experiment 2 it was studied dry elephant grass cut in small fragments, and enriched with the same substrate used in experiment 1. The cultures were incubated for 19 days at 28°C and the mycelium growth was evaluated. In experiment 3 it was used the same treatments as in experiment 2. However the aim of this experiment was to evaluate productivity and biological efficiency. It was verified that the medium of cultivation with 20% of soy brain increased the mycelium mass and the growth mycelium for the three strains of *P. ostreatus*, except for the growth mycelium of HF19; wheat bran supplement was less efficient than soy bran, while rice and corn they did not present increase effect of the mycelium mass and growth mycelium of the cultivated strains. In the mycelia phase supplementation with brans did not increase the growth rate, but it increased the energy of the mycelium. The strain BF24 was the most productive compared to the others; elephantgrass supplemented with wheat, rice and corn bran in concentrations of 10 and 20% increased the productivity and biological efficiency, while the soy brain presented negative effect for the strains of *P. ostreatus*.

**Key-words:** basidiomicete, mycelium mass, supplement, growth rate

## Lista de figuras

### Capítulo 1

Figura 1	Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem BF24 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivada em meios à base de capim-elefante suplementados com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	25
Figura 2	Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem DF33 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivada em meios à base de capim-elefante suplementados com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	26
Figura 3	Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivada em meios à base de capim-elefante suplementados com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	27
Figura 4	Crescimento miceliano da linhagem BF24 de <i>Pleurotus ostreatus</i> em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos cinco dias de incubação.....	28
Figura 5	Crescimento miceliano da linhagem DF33 de <i>Pleurotus ostreatus</i> em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos quatro dias de incubação.....	28
Figura 6	Crescimento miceliano da linhagem HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos seis dias de incubação.....	29

### Capítulo 2

Figura 1	Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem BF24 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivada em substrato capim-elefante suplementado com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	40
Figura 2	Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem DF33 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivada em substrato capim-elefante suplementado com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	41
Figura 3	Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivada em substrato capim-elefante suplementado com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	42

Figura 4	Crescimento miceliano da linhagem BF24 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos 14 dias de incubação.....	43
Figura 5	Crescimento miceliano da linhagem DF33 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos 17 dias de incubação.....	43
Figura 6	Crescimento miceliano da linhagem HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos 19 dias de incubação.....	44

### Capítulo 3

Figura 1	Matriz primária (A) e 'spawn' (B) de <i>Pleurotus ostreatus</i> produzida em grãos de sorgo.....	53
Figura 2	<i>Pleurotus ostreatus</i> em fase de formação de primórdios 23 dias de incubação.....	54
Figura 3	Incubação dos frascos em sala de crescimento para frutificação, a 20-28°C.....	54
Figura 4	Cogumelos de <i>Pleurotus ostreatus</i> em fase de coleta, produzidos em substratos capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	55
Figura 5	Produtividade média das linhagens BF24, DF33 e HF19 de <i>P. ostreatus</i> cultivadas no substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.....	57
Figura 6	Eficiência biológica média das linhagens BF24, DF33 e HF19 de <i>P. ostreatus</i> cultivadas no substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.....	58
Figura 7	Produtividade e eficiência biológica média (%) de cogumelos da linhagem BF24 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	60
Figura 8	Produtividade e eficiência biológica média (%) de cogumelos da linhagem DF33 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	60

Figura 9 Produtividade e eficiência biológica média (%) de cogumelos da linhagem HF19 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....

61

## Lista de tabelas

### Capítulo 1

Tabela 1	Massa miceliana (g) das linhagens BF24, DF33 e HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivadas em meios à base de capim-elefante suplementados com farelos de soja, trigo, arroz e milho, em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	22
Tabela 2	Crescimento miceliano (cm) das linhagens BF24 (5 dias de incubação), DF33 (4 dias de incubação) e HF19 (6 dias de incubação) de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivadas em meios à base de capim-elefante suplementados com farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	24

### Capítulo 2

Tabela 1	Relação C/N do substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.....	37
Tabela 2	Crescimento miceliano (cm) das linhagens BF24 (14 dias de incubação), DF33 (17 dias de incubação) e HF19 (19 dias de incubação) de <i>Pleurotus ostreatus</i> , cultivadas em substrato capim-elefante suplementado com farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	39

### Capítulo 3

Tabela 1	Relação C/N do substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.....	56
Tabela 2	Média de produtividade (%) das linhagens BF24, DF33 e HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	59
Tabela 3	Média de eficiência biológica (%) das linhagens BF24, DF33 e HF19 de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).....	59

## Sumário

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>16</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>17</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>20</b>
<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>22</b>
<b>Conclusões.....</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>32</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>33</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>36</b>
<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>38</b>
<b>Conclusões.....</b>	<b>47</b>
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>48</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>49</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>52</b>
<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>57</b>
<b>Conclusões.....</b>	<b>64</b>
<b>Referências.....</b>	<b>65</b>
<b>Apêndices.....</b>	<b>75</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

Os cogumelos são fungos conhecidos desde a antiguidade pelas propriedades medicinais e comestíveis. Este tipo de cogumelo vem despertando interesse para inúmeras pesquisas científicas, comprovando, além dos valores nutricionais, os relacionados às diversas propriedades medicinais, como o caso do gênero *Pleurotus*.

Na década de 80, a produção mundial de cogumelos do gênero *Pleurotus* foi em torno de 40 mil toneladas/ano, já na década de 90 alcançou 900 mil toneladas/ano, uma evolução de 2250%. No Brasil, os Estados de SP e RJ se destacaram no ano de 1995 como os maiores produtores deste cogumelo, com a produção de 130 toneladas. Entretanto em 1994, a China produziu 797 mil toneladas, o que significou 82% da produção mundial (EIRA; MINHONI, 1997; EIRA, 2003).

*Pleurotus* spp. pertence ao filo Basidiomycota e na sua fase de frutificação forma os basidiomas que são as estruturas comestíveis. São conhecidas muitas espécies de interesse econômico como *P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer, *P. ostreatoroseus* Sing., *P. pulmonarius* (Fries) Quélet, *P. sajor-caju* (Fr.) Singer, *P. eryngii* (De Caudolle ex Fries) Quélet. O *P. ostreatus* é conhecido popularmente por shimeji ou cogumelo que apresenta o basidioma em forma de ostra.

Os fungos deste grupo são conhecidos como causadores da podridão branca da madeira. Isso se deve a um grande aparato de enzimas que estas espécies possuem, capazes de degradar a lignina, celulose, hemicelulose da madeira e de outros resíduos. O cultivo de cogumelos envolve etapas como a obtenção do inóculo, preparo do substrato e a condução da cultura.

A fase de miceliação do substrato é de fundamental importância para o cultivo de cogumelos, pois quanto mais rápido ocorrer o seu desenvolvimento menor são os riscos de ocorrerem contaminações, por outros fungos ou bactérias, que possam vir

a comprometer a produção. A capacidade de o cogumelo crescer em substratos lignocelulósicos está relacionada, além dos aspectos físicos ambientais e da composição inerentes ao meio de cultura, ao vigor do micélio e sua capacidade de ativar mecanismos fisiológicos. Um fungo pode desenvolver-se melhor em um meio que em outro, ou até mesmo nem crescer em determinados meios. A seleção de linhagens de cogumelos é importante, especialmente quando se considera que cada linhagem apresenta exigências nutricionais específicas, favoráveis ao crescimento miceliano para dar continuidade às etapas seguintes da produção.

Uma série de resíduos da agroindústria, disponíveis na região, pode ser utilizada no cultivo de *Pleurotus* sp. como palhas de trigo, arroz, milho, aveia, feijão, folhas de bananeira, cascas de coco, serragens, cascas e polpas de frutas, bagaço de cana-de-açúcar, sabugo de milho e outros de natureza orgânica. Além destes substratos, durante o cultivo podem ser adicionados suplementos, tais como farelos e farinhas que visam enriquecer nutricionalmente o substrato. Para isso, várias formulações de substratos têm sido propostas, dependendo da disponibilidade de materiais de cada região. Por possuir enzimas que degradam facilmente resíduos ligno-celulósicos, o cultivo de cogumelos deste gênero, constitui uma alternativa para o excesso de resíduos que são gerados pelas agroindústrias.

Dentre as formas de cultivo de *Pleurotus*, o cultivo axênico destaca-se por ser realizado em substrato estéril podendo ser realizado em frascos e sacos resistentes à esterilização. Outras formas também são praticadas, como o cultivo natural em substrato pasteurizado e os tradicionais utilizando-se a compostagem.

Desta forma, este trabalho teve como objetivos: (i) avaliar o desenvolvimento *in vitro* de três linhagens de *P. ostreatus*, sob o efeito da adição de farelos em diferentes concentrações ao meio de cultura à base de capim-elefante; (ii) avaliar a colonização do substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações; (iii) avaliar o cultivo três linhagens de *P. ostreatus* em substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações, visando a produtividade e a eficiência biológica.

## CAPÍTULO 1

**DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer EM  
MEIOS DE CULTURA A BASE DE CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*  
Schum) SUPLEMENTADO COM FARELOS**

## INTRODUÇÃO

Os cogumelos são fungos conhecidos pela humanidade desde a antiguidade, utilizados como alimento e/ou medicamento (ALEXOPOULOS et al., 1996; MAIO, 2003; JOB, 2004). Atualmente, o homem busca uma vida mais saudável, com a utilização de alimentos produzidos sem a presença de resíduos químicos e, dentre estes alimentos, encontram-se os cogumelos, que podem ser produzidos com a utilização de substâncias totalmente orgânicas (MODA, 2003; WISBECK, 2003).

Mais de 2000 espécies de fungos são consideradas comestíveis, sendo 20 espécies cultivadas para fins alimentícios em diferentes partes do mundo (URBEN; CORREIA, 2001). Segundo Moda (2003), dos 30 gêneros conhecidos, 20 são cultivados e considerados comestíveis e somente 5 ou 6 espécies são produzidas em escala comercial, destacando-se *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, *Lentinula edodes* (Berck) Pegler e *Pleurotus* spp.

O gênero *Pleurotus* pertence à ordem Agaricales e à família Agaricaceae, sendo cosmopolita, portanto, amplamente distribuído mundialmente (EIRA; MINHONI, 1997). *Pleurotus* sp. é encontrado, ocorrendo naturalmente também nas matas brasileiras, crescendo sobre madeira da qual se alimenta, provocando sua decomposição (MAZIERO et al., 1992; WISBECK, 2003; BONATTI et al., 2004).

A composição de gorduras, carboidratos, vitaminas dos cogumelos varia de acordo com cada espécie e também com o substrato utilizado em seu cultivo (BONONI et al., 1991). Cogumelos do gênero *Pleurotus* como *P. sajor-caju* (Fr.) Singer, *P. pulmonarius* (Fries) Quélet e *P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer possuem níveis de proteína semelhante a do leite bovino. Isto representa níveis duas vezes maiores de proteína do que a encontrada em vegetais como aspargos, couve e repolho, quatro vezes mais que a laranja e 12 vezes mais que a maçã (LÓPEZ; VALÉNCIA, 2004; MANDEEL et al., 2005).

O cultivo em módulo industrial de *P. ostreatus* teve início no final da segunda guerra mundial (JOB, 2004). No Brasil, o cultivo foi introduzido por volta de 1980, sendo utilizado o substrato bagaço de cana-de-açúcar, devido a sua abundância como resíduo da produção de álcool como combustível (MAZIERO et al., 1992). Espécies de *Pleurotus* são consideradas a segunda variedade de cogumelos mais produzidos no mundo (RAJARATHNAM et al., 2001).

Uma série de resíduos da agricultura como palhas de trigos, de arroz, gramíneas, serragens, polpa e casca de frutas, folhas de bananeira, polpa de café, bagaço de cana-de-açúcar entre outros podem ser utilizados para produção de cogumelos comestíveis como o *P. ostreatus* (EICKER, 1995; EIRA, 2003; LÓPEZ e VALÉNCIA, 2004; MANDEEL et al., 2005; MODA et al., 2005a; MOLINA, 2005; SALAS, 2005;). Segundo Silva (2004), muitos basidiomicetos se desenvolvem em meios simples, que tenham disponibilidade de carbono assimilável, nitrogênio e fontes de fósforo e sais minerais necessários. Para meios formulados a partir do bagaço de cana-de-açúcar e palha de milho, é preciso utilizar suplementação com outros materiais, contendo elementos essenciais para o crescimento do fungo. Além da utilização de resíduos como substratos, a suplementação destes com farelos como o de trigo e o de milho são comuns no cultivo de *P. ostreatus* (WANG et al., 2001). De acordo com Rossi et al. (2001), farelos de arroz e soja são fontes de nutrientes utilizadas como suplemento, pois estimula o crescimento miceliano de diversas espécies de cogumelo.

Fatores como característica nutricional do substrato, bem como linhagem do fungo, luminosidade, temperatura e outros interferem no cultivo de cogumelos (MARINO, 1997). A maioria dos cogumelos comestíveis necessita de condições climáticas, como temperatura oscilando entre 25 e 30°C, na fase miceliana, sendo que variações bruscas destes valores levam a estagnação do crescimento e, em alguns casos, pode ocorrer a inativação do micélio. As linhagens não adaptadas ao clima, onde serão cultivadas, poderão apresentar potencial insatisfatório de crescimento miceliano e produção de cogumelos (NERONA; LATEZA, 1994; ROSSI et al., 2001).

A capacidade de o fungo crescer e produzir cogumelos em substratos lignocelulósicos está relacionada com o vigor do micélio e com a capacidade de ativar mecanismos fisiológicos, necessários para utilizar os nutrientes do meio de cultura (MATA et al., 2001). Deste modo, as necessidades nutricionais para que o

micélio cresça de forma satisfatória, nesta fase inicial do cultivo, pode ser otimizada em face do tipo de material utilizado na suplementação do meio de cultivo. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de massa miceliana e velocidade de crescimento, de três linhagens de *P. ostreatus*, sob o efeito da adição de farelos em diferentes concentrações ao meio de cultura à base de capim-elefante.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório Experimental de Micologia (LEMICO), do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP) do Instituto de Biologia (IB), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS. Neste experimento foram utilizadas as linhagens BF24, DF33 e HF19 (MARINO, 2002), de *P. ostreatus*, oriundas do Módulo de Cogumelos FCA/UNESP/Botucatu, depositadas na micoteca do LEMICO/DEMP/IB/UFPel. Estas linhagens, preservadas em óleo mineral, foram repicadas para meio à base de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a 28°C por 10 dias, até serem recuperadas e apresentando crescimento miceliano adequado.

Os experimentos foram realizados separadamente para cada linhagem, utilizando como substrato o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), suplementado com 0, 10 e 20% de farelo de soja, trigo, arroz e milho em relação a massa seca do mesmo. O capim-elefante foi cortado ainda quando se encontrava em estado vegetativo, posteriormente foi picado em tamanho de 2cm, e seco a temperatura ambiente.

O capim-elefante (30g) adicionado ou não dos farelos foi fervido em 1L de água destilada por 30 minutos e, em seguida, filtrado com o auxílio de um pedaço de gaze e o volume completado para 1L. Logo após, para o preparo dos meios de cultivo, foram adicionados 15gL<sup>-1</sup> de ágar e 10 gL<sup>-1</sup> de dextrose para posterior esterilização em autoclave por 20 minutos a 121°C. O pH dos meios foi ajustado para 5,5 (EIRA; MINHONI, 1997) antes de autoclavados, sendo depois vertido em placas de Petri previamente esterilizadas (90 x 15mm).

Para a inoculação das linhagens, em cada placa foi utilizado um disco de cultura, obtido após crescimento miceliano, com 10mm de diâmetro, previamente multiplicada nos meios de cultivo suplementados com os farelos (soja, trigo, arroz e milho) nas diferentes concentrações (0, 10 e 20%), correspondendo a 12

tratamentos. Antes da realização de experimento, as linhagens foram multiplicadas nos mesmos meios visando a adaptação destas aos nutrientes e diminuir a interferência de outros fatores na avaliação. As placas inoculadas foram incubadas a 28°C até obtenção de crescimento para a realização do experimento.

As variáveis analisadas foram: massa miceliana e velocidade de crescimento miceliano. O crescimento miceliano foi medido com o auxílio de uma régua, em oito direções ortogonais, a cada 24 horas, a partir de 48 horas, durante a incubação até o momento que uma colônia atingiu a proximidade da borda da placa em um dos tratamentos. Sendo 4 leituras (aos 2, 3, 4 e 5 dias de incubação) para a linhagem BF24, 3 leituras (aos 2, 3 e 4 dias de incubação) para a linhagem DF33 e 5 leituras (aos 2, 3, 4, 5 e 6 dias de incubação) para a linhagem HF19.

Após a última avaliação do crescimento, o meio de cultura foi dissolvido em água fervente, aproximadamente 500mL. Recolheu-se a massa miceliana úmida (Mmu), a qual foi seca em estufa a 50°C por 24 horas, para a obtenção da massa miceliana seca (Mms).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com fatorial  $A \times B \times C$  (A=farelo, B=concentração de farelo e C=período de incubação) para velocidade de crescimento e  $A \times B$  (A=farelo, B=concentração de farelo) para massa miceliana, em cada linhagem. A unidade experimental constou de uma placa de Petri, sendo quatro repetições/tratamento para cada linhagem. Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variação e ao teste de Duncan para comparação das médias, e regressão polinomial para período de incubação, utilizando-se o programa estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que para a variável massa miceliana houve diferenças altamente significativas ( $\alpha= 0,05$ ) para a interação entre farelo e concentração de farelo, em todas as linhagens estudadas (tab. 1A).

A análise das médias de massa miceliana, através do teste de Duncan mostrou que apenas os tratamentos com suplementação de farelos de soja e trigo exerceram efeito positivo nas três linhagens de *P. ostreatus*. No entanto, entre os dois farelos destacou-se significativamente o de soja na concentração de 20% para as três linhagens (tab. 1).

**Tabela 1** - Massa miceliana (g) das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em meios à base de capim-elefante suplementados com farelos de soja, trigo, arroz e milho, em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Linhagem	Farelo	Concentração (%)		
		0	10	20
BF24	Soja	0,010 a C	0,023 a B	0,037 a A
	Trigo	0,010 a C	0,016 b B	0,021 b A
	Arroz	0,010 a A	0,005 c B	0,006 c B
	Milho	0,010 a A	0,008 c A	0,007 c A
DF33	Soja	0,009 a C	0,017 a B	0,045 a A
	Trigo	0,009 a B	0,021 a A	0,021 b A
	Arroz	0,009 a A	0,005 b B	0,004 c B
	Milho	0,009 a A	0,004 b B	0,009 c A
HF19	Soja	0,015 a C	0,027 a B	0,041 a A
	Trigo	0,015 a B	0,024 a A	0,024 b A
	Arroz	0,015 a A	0,008 b A	0,009 c A
	Milho	0,015 a A	0,012 b A	0,009 c A

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $\alpha= 0,05$ ).

Como observado, o meio de cultivo à base de capim-elefante adicionado de 20% de farelo de soja promoveu maior massa miceliana em todas as linhagens utilizadas. Isso ocorreu, provavelmente, devido à maior disponibilidade de nitrogênio facilmente assimilável presente neste meio de cultura. De acordo com Eira e Minhoni (1997), o farelo de soja contém cerca de 7,38% de nitrogênio, porcentagem alta quando comparada à dos farelos de trigo (2,70%), arroz (2,00%) e milho (1,57%). Já, Maziero (1990) citado por Zanetti e Ranal (1997) indica que não há uma concordância entre os diferentes autores quanto à concentração ideal de nitrogênio. Alguns experimentos mostram que há estímulo no crescimento e outros mostram inibição quando é realizada a suplementação com materiais ricos em nitrogênio. De acordo com Oliveira e Urben (2001), o excesso de nitrogênio tende a reprimir a degradação da lignina, retardando ou até inibindo completamente o aparecimento do micélio, o que não ocorreu no presente trabalho, onde a maior massa miceliana *in vitro* foi obtida em meio com a maior concentração de farelo de soja. Petrenko e Bisko (2004) observaram que a adição de farelo de soja no composto para o cultivo de *Agaricus bisporus* baixou a relação C/N para 19:1. No presente trabalho, pode-se observar que o meio com maior concentração de farelo de soja e, conseqüentemente, com maior disponibilidade de nitrogênio aumentou a massa miceliana das linhagens de *P. ostreatus*.

Para o crescimento miceliano, as linhagens foram avaliadas até o quinto dia de incubação para a linhagem BF24, quando semeada em meio suplementado com soja a 20%, alcançou a borda da placa; quarto dia de incubação para a linhagem DF33, quando semeada em meio suplementado com soja a 20%, alcançou a borda da placa; e sexto de incubação para a linhagem HF19, quando semeada em meio suplementado com milho a 20%, alcançou a borda da placa.

Para a variável velocidade de crescimento miceliano houve diferenças altamente significativas ( $\alpha= 0,05$ ) para a interação entre farelo, concentração de farelo e período de incubação, em todas as linhagens estudadas (tab. 2A).

A análise das médias de crescimento miceliano, através do teste de Duncan, mostrou que na linhagem BF24 os meios à base de 10 e 20% de farelo de soja e 20% do farelo de trigo apresentaram diferenças significativas. Já, para a linhagem DF33, foram superiores os meios adicionados de 10 e 20% de farelo de soja. Para a linhagem HF19, os meios suplementados de farelo de milho apresentaram diferenças significativas em relação aos demais farelos. Assim, os meio

suplementados pelos diferentes tipos de farelos não estimularam o crescimento miceliano da linhagem HF19 (tab. 2).

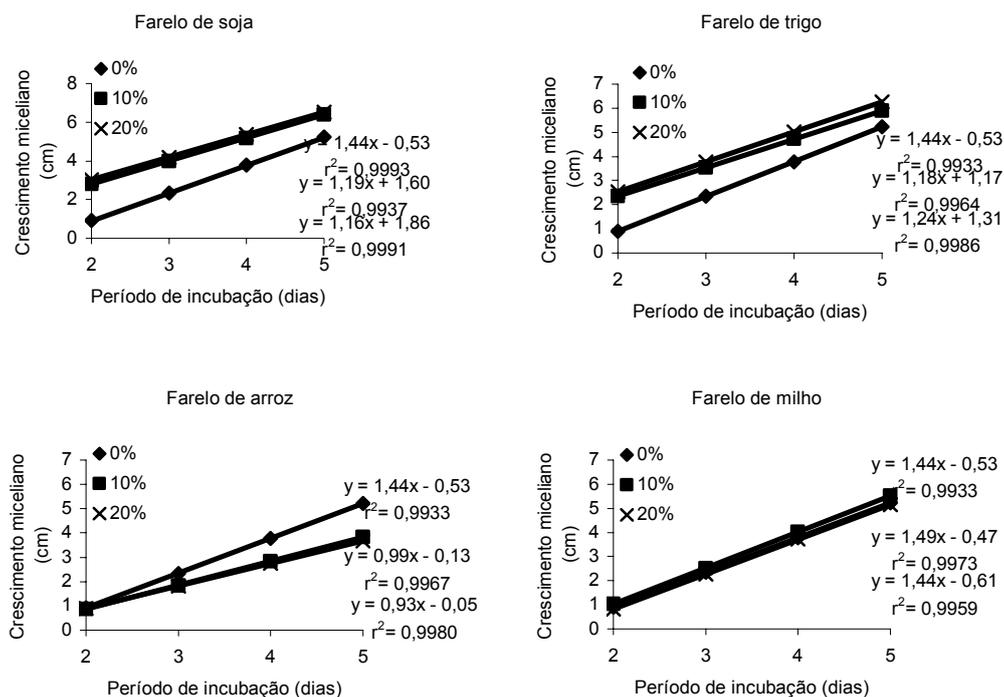
**Tabela 2-** Crescimento miceliano (cm) das linhagens BF24 (5 dias de incubação), DF33 (4 dias de incubação) e HF19 (6 dias de incubação) de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em meios à base de capim-elefante suplementados com farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Linhagem	Farelo	Concentração (%)		
		0	10	20
BF24	Soja	5,12 a B	6,30 a A	6,52 a A
	Trigo	5,12 a C	5,98 b B	6,31 a A
	Arroz	5,12 a A	3,82 d B	3,66 c B
	Milho	5,12 a B	5,45 c A	5,08 b B
DF33	Soja	4,88 a C	6,17 a B	6,70 a A
	Trigo	4,88 a B	5,83 b A	5,74 b A
	Arroz	4,88 a A	3,73 d B	3,77 d B
	Milho	4,88 a A	4,22 c B	4,99 c A
HF19	Soja	6,65 a A	5,89 b B	6,50 ab A
	Trigo	6,65 a A	5,95 b B	6,32 b A
	Arroz	6,65 a A	4,74 c B	4,63 c B
	Milho	6,65 a A	6,70 a A	6,76 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

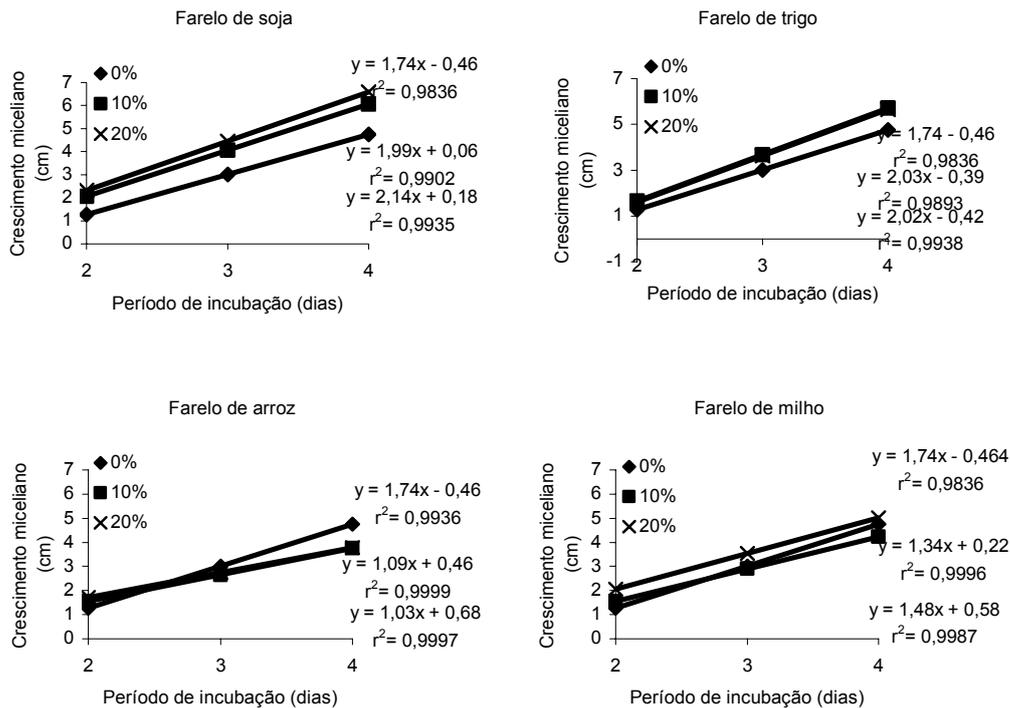
Os dados referentes à velocidade de crescimento diário do micélio das linhagens BF24, DF33 e HF19 foram ajustados a modelos lineares e as equações foram descritas juntamente com as curvas de crescimento ( $\alpha=0,05$ ).

Para a linhagem BF24, o meio de cultura suplementado com farelo de soja mostrou melhor resposta na concentração de 20%, embora, como visto anteriormente, não tenha mostrado diferenças da concentração de 10% deste farelo. Para o farelo de trigo verificou-se comportamento similar, com a adição de 20% deste farelo levando a resposta superior no crescimento miceliano e diferente de 10%. O farelo de arroz promoveu efeito estimulador inferior ao tratamento sem adição deste farelo. Por último, verificou-se um leve aumento na velocidade de crescimento, com 10% de farelo de milho (Fig. 1 e tab. 2).



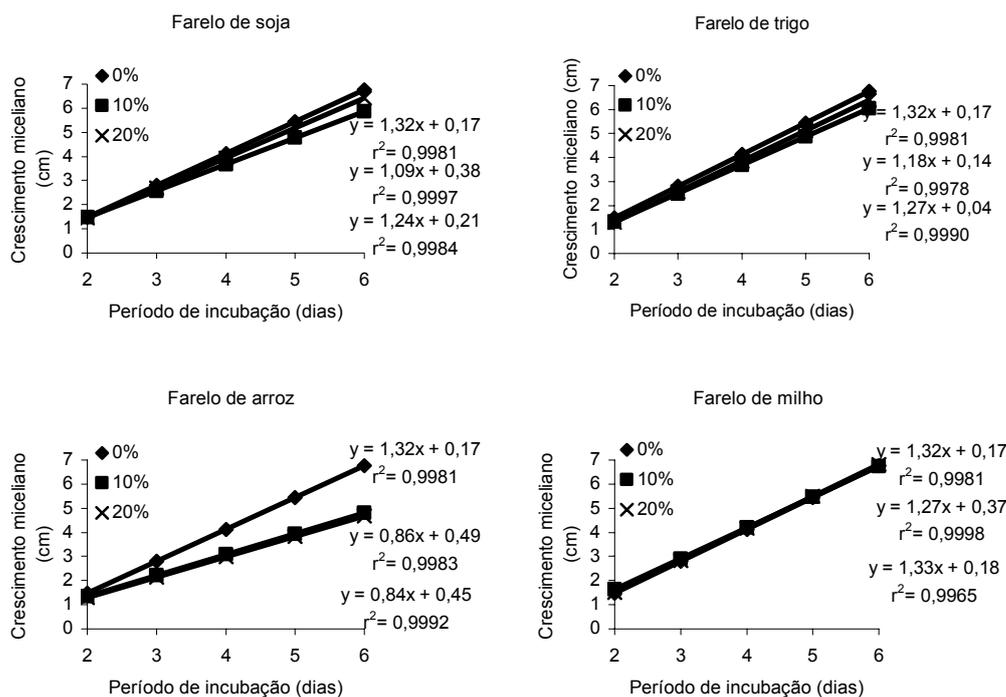
**Figura 1-** Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) da linhagem BF24 de *Pleurotus ostreatus*, cultivada em meios à base de capim-elefante suplementados com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.

A linhagem DF33 mostrou-se mais rápida no desenvolvimento, em relação às demais, completando o crescimento miceliano *in vitro* em quatro dias de incubação. Para esta linhagem, a maior velocidade de crescimento miceliano foi obtida a medida que se aumentou a concentração de farelo de soja. Em relação ao farelo de trigo, a suplementação com 10% e com 20% promoveu aumento na velocidade de crescimento miceliano, desde o primeiro dia de incubação até a fase final. Para o farelo de arroz, a adição deste promoveu um leve estímulo na velocidade de crescimento miceliano apenas nos primeiros dias de incubação, não respondendo mais a partir do terceiro dia. Nos primeiros dias de incubação, houve estímulo da suplementação com farelo de milho sobre a velocidade de crescimento, na fase final, o meio sem a adição de farelos (0%) passou a mostrar melhores resultados que os com adição de farelo (Fig. 2). Tendo-se verificado que o meio sem farelo de milho e o com 20% deste farelo não diferiram entre si (tab. 2).



**Figura 2-** Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) da linhagem DF33 de *Pleurotus ostreatus*, cultivada em meios à base de capim-elefante suplementados com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.

A linhagem HF19 foi a que apresentou crescimento do micélio mais lento, em relação às demais linhagens, na velocidade de crescimento, completando sua colonização no sexto dia de incubação. A suplementação do meio de cultivo com farelo de soja não promoveu o mesmo estímulo que o meio sem a adição deste farelo. Comportamento similar ocorreu também nos meios de cultivo suplementados com os farelos de trigo, arroz e milho. No entanto, o efeito mais severo ocorreu com farelo de arroz, especialmente, no sexto dia, onde o tratamento sem adição deste farelo promoveu maior velocidade de crescimento. Já, a adição de farelo de milho não expressou nenhum efeito (Fig. 3).



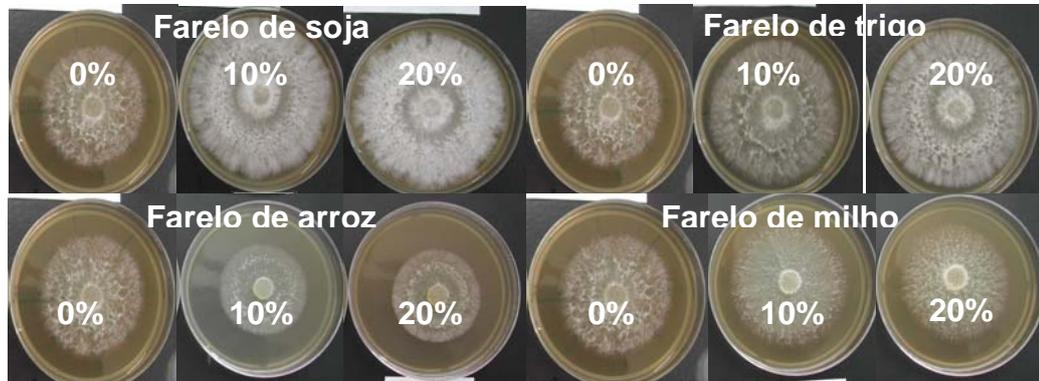
**Figura 3-** Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) da linhagem HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivada em meios à base de capim-elefante suplementados com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.

Nos meios que favoreceram maior crescimento miceliano, ou seja, no geral, aqueles adicionados de farelo de soja também proporcionaram um micélio mais vigoroso, diferenciado pela densidade, também expressa na massa miceliana. Os meios adicionados de farelo de trigo nas concentrações de 10 e 20% destacaram-se quando comparados ao tratamento sem farelo, e aos tratamentos com os farelos de arroz e de milho, para a linhagem BF24 (Fig. 4).

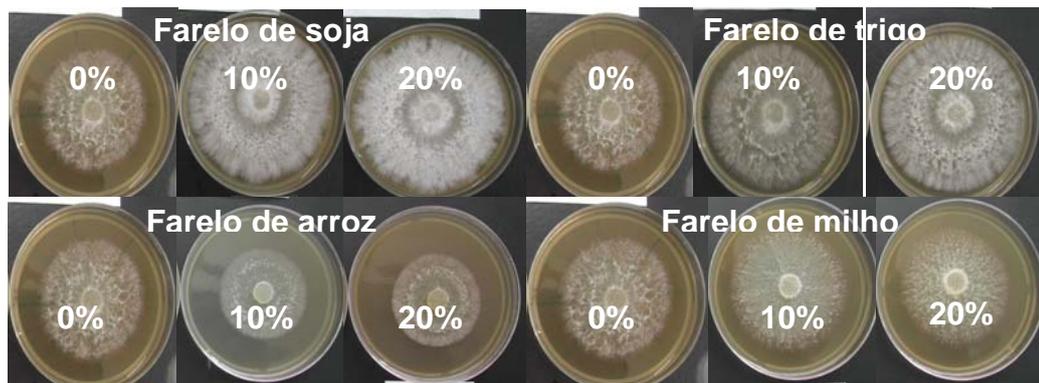
Observa-se que para a linhagem DF33 o meio adicionado de 20% de farelo de soja, além de proporcionar maior velocidade de crescimento e massa miceliana também proporcionou um maior vigor miceliano observado pela densidade miceliana, juntamente com o meio suplementado com 10% de farelo de soja e de trigo nas concentrações de 10 e 20%, quando comparados aos tratamentos sem adição destes farelos e aos demais meios que continham farelo de arroz e milho nas concentrações de 10 e 20% (Fig. 5).

Observa-se que os meios suplementados com 10 e 20% de farelo de milho mesmo com um considerável crescimento do micélio, apresentaram um vigor miceliano inferior, considerando-se pela densidade visual da colônia, comparado-se

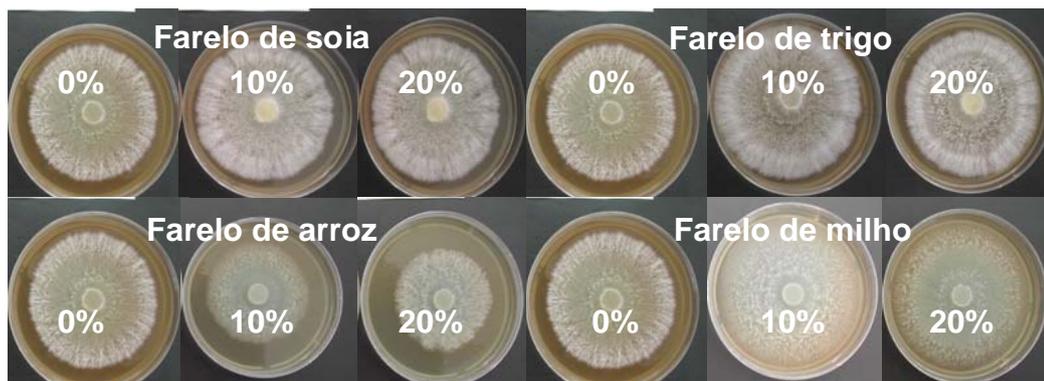
ao meio sem a adição deste farelo. Os meios adicionados de 10 e 20% de farelo de soja e de farelo de trigo contribuíram para a maior densidade miceliana (Fig. 6).



**Figura 4-** Crescimento miceliano da linhagem BF24 de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos cinco dias de incubação.



**Figura 5-** Crescimento miceliano da linhagem DF33 de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos quatro dias de incubação.



**Figura 6-** Crescimento miceliano da linhagem HF19 de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos seis dias de incubação.

Conforme analisado, a composição e a quantidade de farelos adicionados ao meio de cultura interferiram na massa e no crescimento miceliano de *P. ostreatus*. No meio de cultura, a adição de farelos disponibiliza fontes nitrogenadas e estimula a ação enzimática do micélio fúngico em crescimento. Inicialmente, o *Pleurotus* utilizou os nutrientes facilmente assimiláveis no meio de cultura e, expandiu-se quando o micélio esgotou estes nutrientes, tornando-se menos denso. De acordo com Regina (2004), o desenvolvimento da habilidade lignocelulítica requer condições nutricionais e culturáveis, incluindo substrato metabolizável, altos níveis de oxigênio, um limite de nitrogênio e outras condições de cultivo.

Os farelos podem diferir em relação à quantidade de nitrogênio. Entre as quatro fontes utilizadas neste experimento, o de soja e o de milho são, respectivamente, rico e pobre em nitrogênio, e podem ter cerca de 7,38 e 1,57% de N respectivamente (EIRA; MINHONI, 1997). Cruz et al. (1999), observaram que a utilização de concentrações altas de farelo de aveia proporcionou redução indesejável da taxa de crescimento. Os meios adicionados com farelo de arroz apresentaram, nas linhagens BF24 e DF33 de *P. ostreatus*, resultados de crescimento miceliano inferiores ao meio sem adição de farelo (0%). O mesmo foi observado por Rossi et al. (2003) no cultivo de *Lentinula edodes*, onde a miceliação diminuiu significativamente com a utilização de proporções crescentes de farelo de arroz.

O farelo de trigo adicionado ao meio de cultura proporcionou resultados superiores aos sem adição deste farelo (0%) para todas as linhagens estudadas, exceto para o crescimento miceliano da linhagem HF19. De acordo com Labuschagne et al. (2000), ao pesquisar *P. ostreatus* "Florida", observaram que o

desenvolvimento miceliano desta linhagem apresentou diferenças durante a colonização de palhas de trigo de diferentes variedades, demonstrando haver diferenças nutricionais presentes em substratos da mesma espécie. Resultados que também foram observados por Dias et al. (2003), com o efeito negativo quando o farelo de trigo foi adicionado à palha de feijão no cultivo de *P. sajor-caju*. Já, quando o mesmo farelo foi adicionado à palha de milho não houve diminuição do crescimento miceliano. Por outro lado, Silva (2004) observou que, no cultivo de *P. sajor-caju*, ao utilizar meio de cultura à base de serragem de *Pinus* spp. com 5% de farelo de trigo e adicionado de outros nutrientes como nitrogênio e manganês, ocorre redução à metade o tempo de crescimento miceliano da linhagem PS2001.

Segundo Marino (1997), os microrganismos se adaptam aos meios de cultivo em função da disponibilidade de nutrientes e do potencial genético dos mesmos. A autora afirma ainda que o cultivo de diferentes espécies de cogumelos em meios nutricionalmente ricos resultam em isolados mais vigorosos do que em meio pobre. De acordo com Bilay et al. (2000), ao estudarem 30 espécies de cogumelos comestíveis e medicinais, observaram que o tipo de meio utilizado e o pH influenciam no crescimento miceliano. Ohga e Royse (2004) testaram dois substratos no cultivo de três linhagens de *P. eryngii* (De Caudolle ex Fries) Quélet. Os autores concluíram que houve aumento máximo de crescimento de 146%, quando utilizaram *Cyperus alternifolius* como substrato.

Neste trabalho, foram observadas médias de crescimento que, de acordo com a linhagem, variaram de 3,6 a 6,5 (BF24), 3,7 a 6,7 (DF33) e 4,6 a 6,7cm (HF19). Mata et al. (2001), ao estudarem o crescimento miceliano de diferentes linhagens de *L. edodes* e *L. boryana* (BERK & MONT) Pegler, em meios à base de extrato de malte-ágar (MEA) observaram, após sete dias de incubação, crescimento miceliano que variou de 4,9 a 7,1cm para *L. edodes*, e 5,9 a 6,8cm para *L. boryana*.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa sobre o efeito da suplementação do meio de cultivo *in vitro* para as três linhagens de *P. ostreatus*, pode-se concluir que:

- O meio de cultivo suplementado com 20% de farelo de soja favorece o aumento da massa miceliana das três linhagens *P. ostreatus* (BF24, DF33 e HF19) e o crescimento miceliano apenas para BF24 e DF33;
- A suplementação do meio de cultivo com farelo de trigo é menos eficiente que a com o farelo de soja, mas favorece o aumento da massa miceliana de BF24 com 20% e DF33 e HF19 com 10%, enquanto o crescimento miceliano só é favorecido nestas mesmas concentrações para BF24 e DF33;
- Os farelos de arroz e milho utilizados na suplementação do meio de cultivo não apresentam efeito estimulador para o aumento da massa e do crescimento miceliano de *P. ostreatus* (linhagens BF24, DF33 e HF19) cultivado *in vitro*.

## CAPÍTULO 2

**COLONIZAÇÃO DO SUBSTRATO CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*  
Schum) SUPLEMENTADO COM FARELOS PELO  
*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer**

## INTRODUÇÃO

O cultivo de cogumelos comestíveis vem tomando maior relevância no Brasil, principalmente devido às descobertas científicas que comprovaram atividades medicinais exercidas pelos mesmos, e também pelo seu alto valor nutritivo, o que torna o produto mais popular e acessível (BRAGA; EIRA, 1999; COHEN et al., 2002; PARK et al., 2003; RODRIGUES et al., 2003; BONATTI et al., 2004).

*Pleurotus* spp. pertence à classe Basidiomycete e na fase de frutificação forma estruturas macroscópicas comestíveis. Além dos valores nutricionais, os cogumelos possuem atividades antitumoral e imunológica, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, entre outras (BRIZUELA et al., 1998). De acordo com Quimio et al. (1990), o cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer é rico em proteínas, possui em torno de 27,38% de conteúdo proteico em base seca. Atualmente, tem-se utilizado a definição destes cogumelos como “cogumelos nutracêuticos” devido ao grande interesse na medicina natural, como uma alternativa para o tratamento de transtornos fisiológicos e por possuírem diversas características nutricionais (SAVÓN et al., 2002; BONATTI, et al. 2004). Além de ser utilizado para alimentação humana, pode ser empregado na alimentação animal, onde *Pleurotus* spp. coloniza a forragem aumentando seu valor nutritivo (COHEN et al., 2002; SCHIMIDT et al., 2003b) e devido a degradação do substrato este pode ser mais facilmente digerido pelos ruminantes (CASTRO et al., 2004).

Os fungos do gênero *Pleurotus* estão incluídos dentro do grupo causador da podridão branca, por degradarem a lignina da madeira (ROSADO et al., 2002; BONATTI et al., 2004). 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 parasita de árvores, mas como saprófito que

se desenvolve sobre a madeira morta (BONONI et al., 1991; CAPELARI, 1996; EICHLEROVÁ et al., 2000; DALIMOVA; AKHMEDOVA, 2001; ROSADO et al., 2002; BONATTI et al., 2004).

O cultivo de cogumelos do gênero *Pleurotus* tem vantagens como a facilidade de manejo e produção; utilização de matérias-primas abundantes e baratas como palhas, capins, bagaço; resistência a pragas e doenças; rápido retorno de investimento (MODA et al., 2005b). Além disso, são pouco exigentes em relação ao substrato e de bom desenvolvimento em condições rústicas (SCHMIDT et al., 2003a).

Bermúdez et al. (2001) relataram o cultivo de *P. ostreatus* Florida em polpa de café, casca de coco e casca de cacau, obtendo os melhores resultados com a utilização de polpa de café. Cohen et al. (2002) ressaltaram a importância da utilização de resíduos disponíveis na região onde será realizado o cultivo. Obodai et al. (2003) citaram a utilização de diferentes produtos lignocelulósicos como palha de arroz, folhas de bananeira, capim-elefante e serragem para o cultivo de *P. ostreatus*. Hernández et al. (2003) utilizaram composto à base de capim e polpa de café no preparo do substrato para o cultivo deste cogumelo. Entretanto, Sagir e Yildiz (2004) relataram o estudo do crescimento do micélio de cinco espécies de *Pleurotus* spp. em grãos de sorgo e de trigo e, de acordo com Moda et al. (2005a), uma série de resíduos da agricultura podem ser utilizados para produção do cogumelo comestível *Pleurotus* spp.

Delmas (1989) citado por Job (2004), relatou que um método industrial de cultivo de *P. ostreatus* em palha de trigo aconteceu pela primeira vez em 1945. Na década de 1980, o aparecimento da técnica “Jun-Cao” (Jun= cogumelo, Cao=gramíneas), iniciada na China, em 1983, promoveu uma grande mudança no cultivo de cogumelos, unindo benefícios sociais, ecológicos e econômicos, além de estabelecer melhor equilíbrio ecológico entre plantas, fungos e animais (URBEN; URIARTT, 2001). De acordo com estes mesmos autores o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) é uma das gramíneas indicadas para o cultivo de cogumelos através da técnica “Jun-Cao”.

As palhas e gramíneas apresentam relação C/N variável, mas possível de serem colonizadas pelo micélio de *P. ostreatus*. Substratos, pobres nutricionalmente devem ser enriquecidos com materiais suplementares, onde os mais utilizados são os farelos, os quais têm por função aumentar a quantidade de substâncias nutritivas,

bem como a relação C/N (carbono/nitrogênio) do substrato, visto que os cogumelos são dependentes desta relação para que ocorra um adequado desenvolvimento miceliano e conseqüente produção de cogumelos (MONTINI, 2001). Os farelos de cereais são facilmente encontrados e, conforme o teor de N, podem ser utilizados em proporções estabelecidas.

O Rio Grande do Sul é um dos principais estados brasileiros produtor e beneficiador de cereais, especialmente arroz, trigo e soja. Considerando-se a importância da obtenção de substratos que sejam mais rapidamente colonizados e que apresentem aspectos qualitativos indicadores de uma colonização mais vigorosa, este trabalho teve como objetivo avaliar a velocidade de crescimento de três linhagens de *P. ostreatus* cultivadas em capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório Experimental de Micologia (LEMICO), do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP) do Instituto de Biologia (IB), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS.

Neste experimento foram utilizadas as linhagens BF24, DF33 e HF19 (MARINO, 2002), de *P. ostreatus*, oriundas do Módulo de Cogumelos FCA/UNESP/Botucatu, depositadas na micoteca do LEMICO/DEMP/IB/UFPel. Estas linhagens, preservadas em óleo mineral, foram repicadas para meio à base de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a 28°C por 10 dias, até ser recuperada e com crescimento miceliano adequado.

Os experimentos foram realizados separadamente para cada linhagem utilizando como substrato o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). O capim-elefante foi cortado ainda quando se encontrava em estado vegetativo, posteriormente foi picado em tamanho de 2cm, e seco a temperatura ambiente. O substrato seco à temperatura ambiente e picado foi previamente umedecido por 24 horas e suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz ou milho, nas concentrações de 0, 10 e 20%, em relação à massa úmida do capim-elefante, totalizando 12 tratamentos. Assim, o substrato preparado foi colocado em tubos de ensaio, de dimensão 2,5x20cm, preenchendo 13cm do tubo. Na base de cada tubo foi colocada uma porção de algodão umedecido. Estes foram identificados de acordo com o tratamento, fechados com algodão, cobertos com papel e autoclavados à 121°C (1 atm) por 45 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, discos de cultura com 10mm de diâmetro, previamente preparados em meio de cultura CDA, à base de capim-elefante+dextrose+ágar (DONINI et al., 2005) foram repicados para os tubos de ensaio contendo o substrato, conforme o tratamento.

Após a inoculação os tubos foram incubados a 28°C. Foram realizadas leituras a partir de 72 horas após a inoculação e as demais de acordo com a linhagem e tempo que levou até a completa colonização do substrato, sendo 6 leituras (aos 3, 5, 7, 10, 12, 14 dias de incubação) para a linhagem BF24, 7 leituras (aos 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17 dias de incubação) para a linhagem DF33 e 8 leituras (aos 3, 5, 7, 10, 12, 14, 17, 19 dias de incubação) para a linhagem HF19. As leituras consistiram em medições do crescimento miceliano ao longo do tubo, em quatro pontos.

A análise de carbono e nitrogênio total dos substratos (Tab. 3A) foi realizada no Departamento de Solos/FAEM/UFPel de acordo com o método Walkey-Black para carbono orgânico e Semi-micro-Kjeldahl para nitrogênio (TEDESCO et al., 1995), e a relação C/N esta descrita na tab. 1.

**Tabela 1-** Relação C/N do substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações

<b>Substrato</b>	<b>Relação C/N</b>
<b>Capim-elefante</b>	162:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de soja</b>	43:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de soja</b>	21:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de trigo</b>	60:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de trigo</b>	55:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de arroz</b>	52:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de arroz</b>	52:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de milho</b>	71:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de milho</b>	63:1

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com fatorial AxBxC (A=farelo, B=concentração de farelo e C=período de incubação). A unidade experimental constou de um tubo, sendo 4 repetições/tratamento para cada linhagem. Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variação e ao teste de Duncan para comparação das médias, e regressão polinomial para período de incubação, utilizando-se o programa estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o crescimento miceliano, as linhagens foram avaliadas até os 14 dias de incubação para a linhagem BF24, quando semeada em substrato capim-elefante suplementado com soja a 10%, colonizou toda extensão do tubo de ensaio; 17 dias de incubação para a linhagem DF33, quando semeada em substrato capim-elefante suplementado com soja a 10%, colonizou toda extensão do tubo de ensaio; 19 dias de incubação para a linhagem HF19, quando semeada em substrato capim-elefante sem suplementação de farelos, colonizou toda extensão do tubo de ensaio.

A interação entre farelo, concentração de farelo e período de incubação foi altamente significativa ( $\alpha= 0,05$ ) na interação, para todas as linhagens estudadas (tab. 4A).

A análise das médias do crescimento miceliano, através do teste de Duncan mostrou que no geral, para todas as linhagens, os tratamentos sem adição de farelos (0%), cultivados somente em substrato capim-elefante, foram superiores aos demais tratamentos. Para as linhagens de *P. ostreatus* estudadas, apenas nos tratamentos com adição de farelo de milho não apresentou resultados tão inferiores em relação ao tratamento sem farelos, quando comparado aos demais, mas também não favoreceu o crescimento miceliano, pois não apresentou diferenças estatísticas ao tratamento sem adição deste farelo (tab. 2).

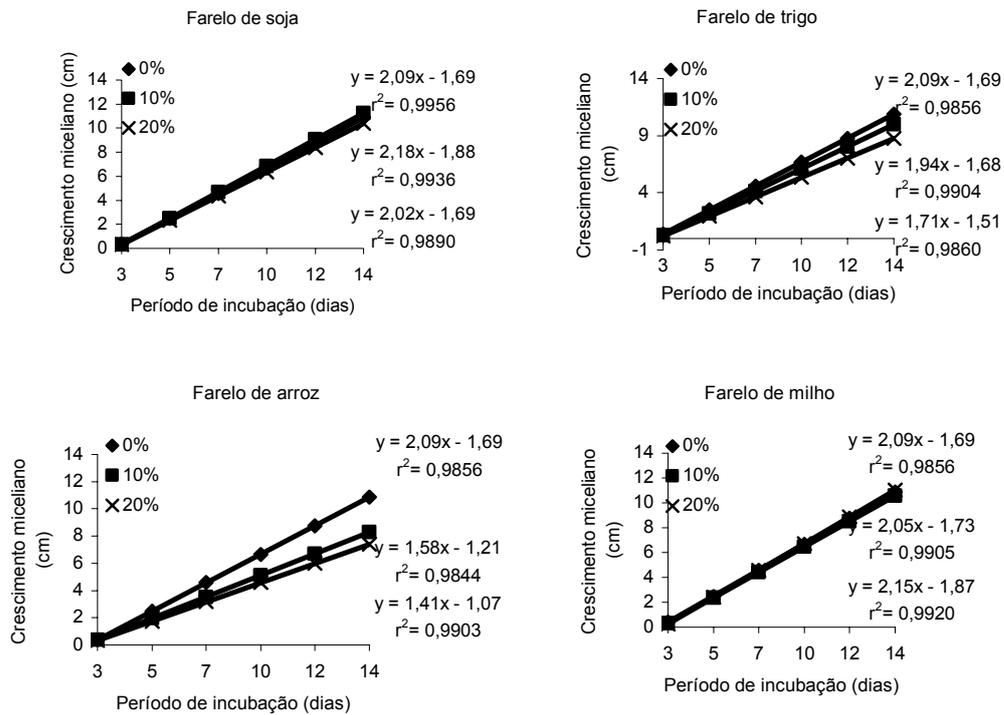
**Tabela 2-** Crescimento miceliano (cm) das linhagens BF24 (14 dias de incubação), DF33 (17 dias de incubação) e HF19 (19 dias de incubação) de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em substrato capim-elefante suplementado com farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Linhagem	Farelo	Concentração (%)		
		0	10	20
BF24	Soja	10,99 a AB	11,23 a A	10,49 b B
	Trigo	10,99 a A	10,05 c B	8,86 c C
	Arroz	10,99 a A	8,64 d B	7,54 d C
	Milho	10,99 a A	10,62 b A	11,07 a A
DF33	Soja	12,68 a A	12,68 a A	10,81 b B
	Trigo	12,68 a A	11,15 b B	9,99 c C
	Arroz	12,68 a A	9,27 c B	8,48 d C
	Milho	12,68 a A	12,61 a A	12,36 a A
HF19	Soja	12,79 a A	11,62 b B	11,21 b B
	Trigo	12,79 a A	11,08 b B	9,84 c C
	Arroz	12,79 a A	9,86 c B	9,01 d C
	Milho	12,79 a A	12,59 a A	12,31 a A

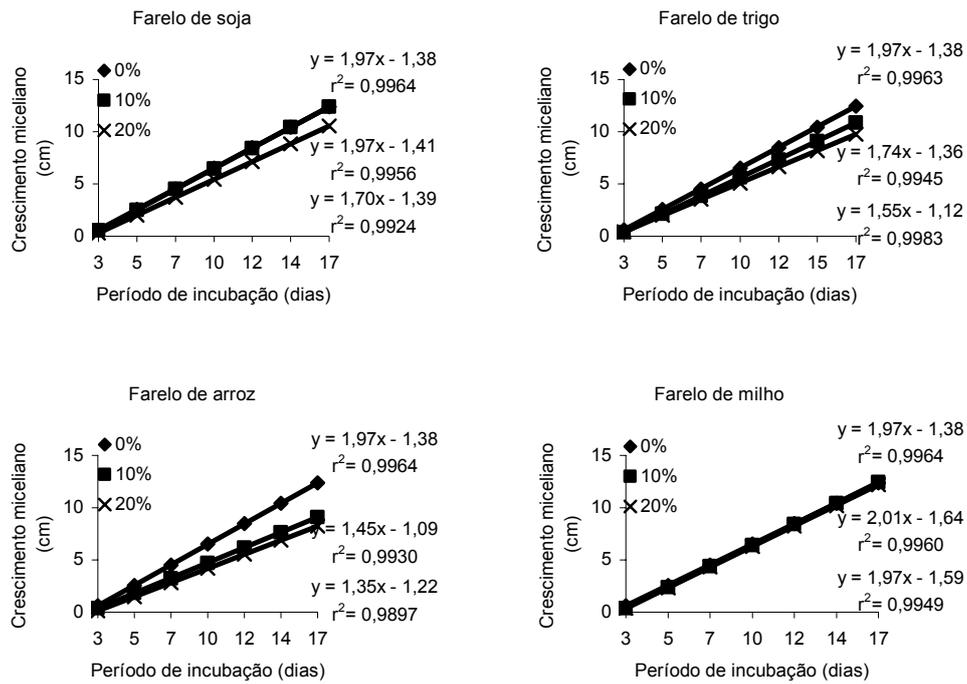
Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $\alpha= 0,05$ ).

Os dados referentes à velocidade de crescimento diário do micélio das linhagens BF24, DF33 e HF19 foram ajustados a modelos lineares e as equações foram descritas juntamente com as curvas de crescimento ( $\alpha= 0,05$ ).

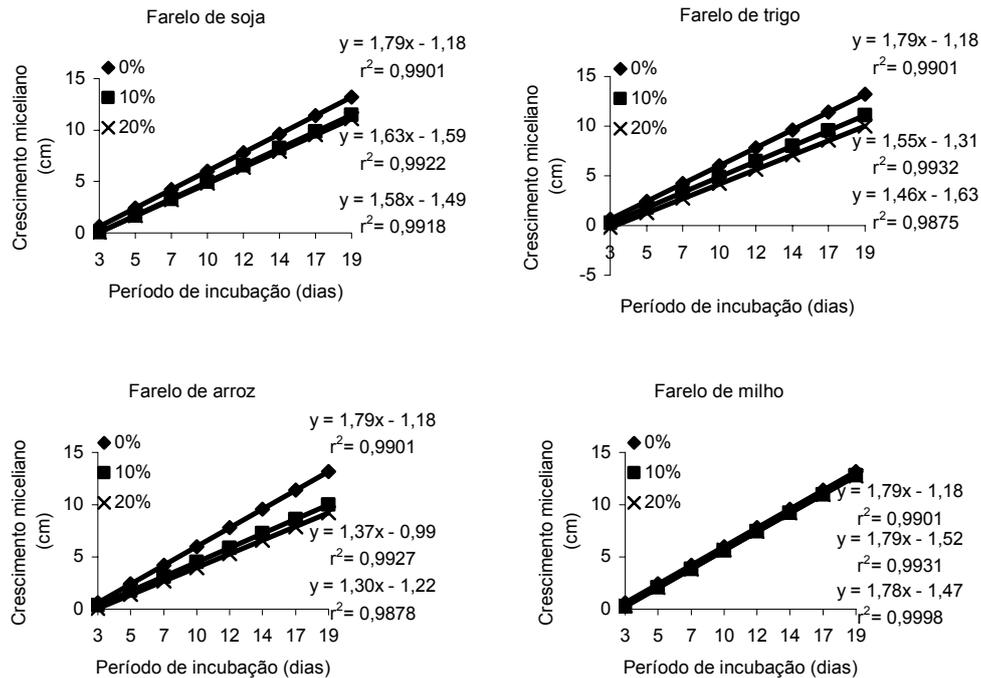
Conforme observado para a linhagem BF24, os farelos de soja, trigo e arroz adicionados ao substrato capim-elefante diminuíram a velocidade de crescimento, sendo maior este efeito conforme o aumento da concentração. No entanto, o farelo de milho não exerceu efeito sobre a velocidade de crescimento ao longo do período de incubação (Fig. 1). Resultados similares também foram verificados para a linhagem DF33. Nesta linhagem, o farelo de soja a 10% apresentou efeito similar às concentrações de farelo de milho, ou não diferiram da concentração de 0%, enquanto os demais influenciaram negativamente o crescimento miceliano, aumentando o efeito durante a incubação (Fig. 2). Para a linhagem HF19, a diminuição da velocidade de crescimento foi verificada, mais em relação à concentração de farelo do que durante o período de incubação. Nesta linhagem, os farelos de arroz e trigo foram os mais atuaram na diminuição da velocidade de crescimento (Fig. 3).



**Figura 1-** Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem BF24 de *Pleurotus ostreatus*, cultivada em substrato capim-elefante suplementado com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.

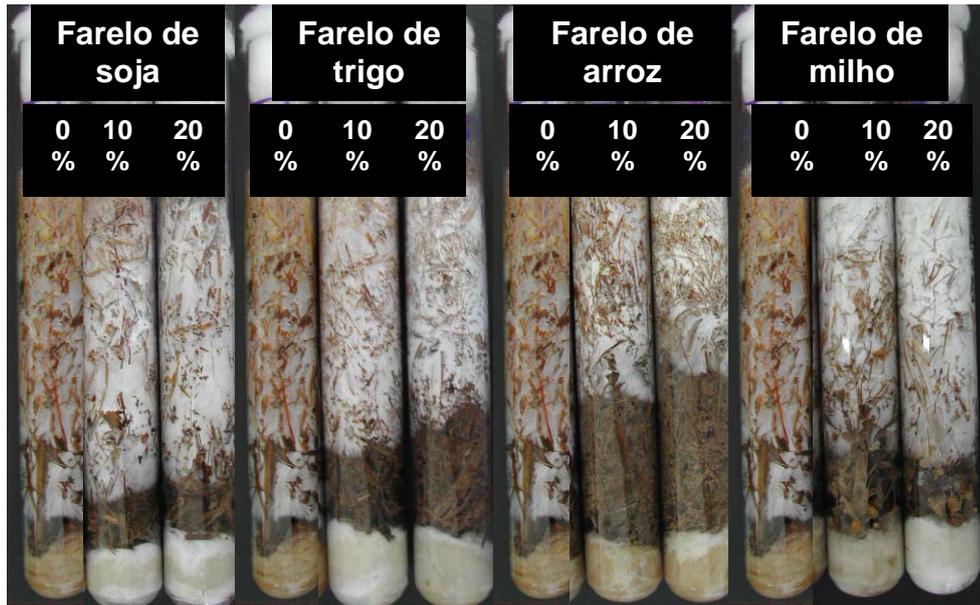


**Figura 2-** Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm.dia}^{-1}$ ) da linhagem DF33 de *Pleurotus ostreatus*, cultivada em substrato capim-elefante suplementado com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.

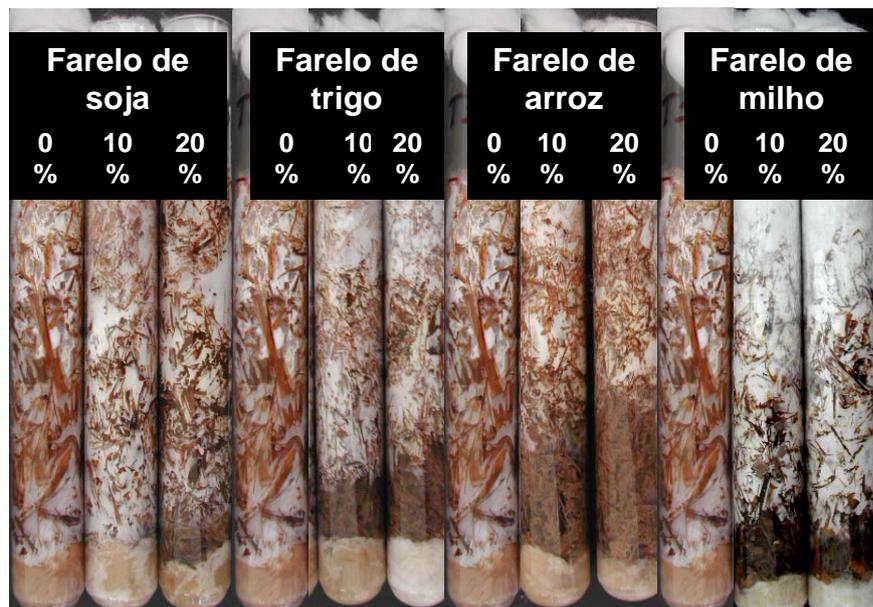


**Figura 3-** Velocidade de crescimento miceliano ( $\text{cm}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) da linhagem HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivada em substrato capim-elefante suplementado com farelo de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%.

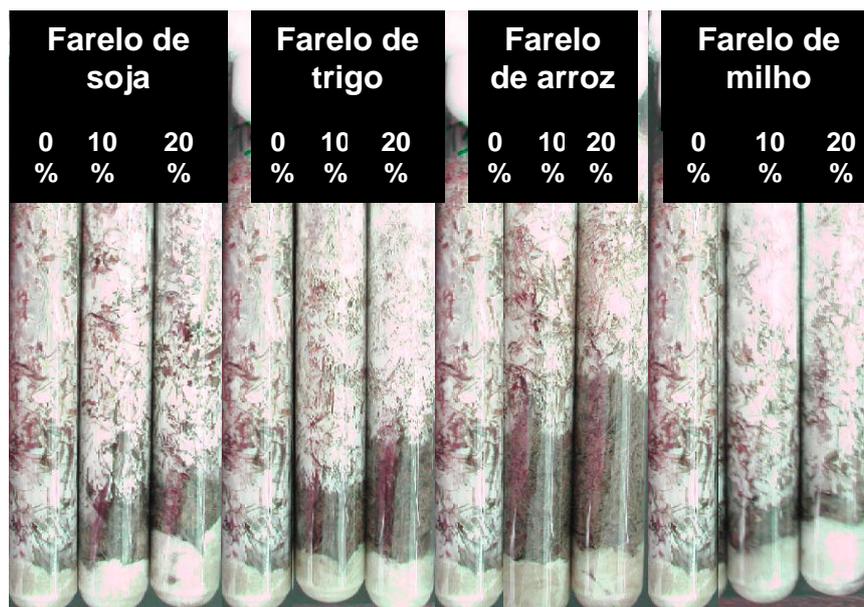
Apesar do crescimento miceliano significativamente reduzido no substrato capim-elefante suplementado com os farelos, em relação aos tratamentos sem adição destes, houve um aumento na densidade miceliana, observada através da intensidade do micélio no substrato colonizado (Fig. 4, 5 e 6).



**Figura 4-** Crescimento miceliano da linhagem BF24 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos 14 dias de incubação.



**Figura 5-** Crescimento miceliano da linhagem DF33 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos 17 dias de incubação.



**Figura 6-** Crescimento miceliano da linhagem HF19 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%), aos 19 dias de incubação.

Em todas as linhagens estudadas pode-se observar que, através dos resultados da tab. 2 e Fig.1 a 3, os tratamentos suplementados com diferentes concentrações de farelo de arroz proporcionaram as menores velocidades de crescimento. Regina (2001) atribui ao fato de que em alguns casos, as fontes de N mais simples aumentam a concentração de proteínas das culturas, diminuindo o crescimento e a degradação da lignina, sugerindo que existe relação negativa entre alta concentração de proteína e crescimento.

Os fungos possuem capacidade de degradar materiais à base de celulose, a partir da produção de enzimas lignocelulíticas, conforme evidenciado por Schmidt et al. (2003a,b), para *Pleurotus* spp. ao avaliar a ação enzimática deste fungo em feno de *Brachiaria decumbens*, diminuiu o teor de hemicelulose do substrato. Além disso, as trocas gasosas dos substratos são importantes para a produção das enzimas celulase e hemicelulase, onde a velocidade de miceliação pode ser alterada à medida que o fungo se aprofunda no substrato, onde a limitação do O<sub>2</sub> não estimula o crescimento do fungo. Altas concentrações de CO<sub>2</sub> afetam a atividade enzimática, como também a dimensão das partículas pode dificultar trocas gasosas e possivelmente implicar sobre a velocidade de miceliação da porção inferior do substrato no recipiente (ROSSI et al., 2001).

Para todas as linhagens, o substrato à base de capim-elefante sem suplementação destacou-se apresentando médias superiores de velocidade de crescimento, algumas vezes não diferindo estatisticamente de outros tratamentos, como já relatado anteriormente. Isso pode ter acontecido devido a maior relação C/N do capim-elefante sem suplementação, com relação de 162:1 (tab. 1). De acordo com Sturion (1994), durante a fase de miceliação é necessária uma relação C/N mais alta. Felinto (1999) ao avaliar a velocidade de colonização das linhagens L1 e L2 de *P. ostreatus*, em diferentes substratos, observou que aqueles elaborados com 50% de farelo de mandioca apresentaram os menores rendimentos, enquanto que os sem farelo ou adicionados de menor concentração promoveram maiores resultados. Dias et al. (2003) observaram resultados semelhantes ao utilizarem substrato puro e suplementado com farelos no cultivo de *P. sajor-caju* (Fr.) Singer, onde a palha de feijão pura apresentou menor tempo de crescimento miceliano, quando comparada à palha suplementada com 10% de farelo de trigo. Estes autores atribuem isso ao fato de existir alguma substância presente, em excesso, que pode inibir o crescimento miceliano do fungo, sendo melhor a utilização do resíduo puro. Maio (2003), ao utilizar palha e farelo de arroz no cultivo de *P. ostreatus* (POS97/14), observou que o aumento da concentração de farelo de arroz de 10 para 20% levou ao decréscimo na eficiência biológica.

Como já observado, para as linhagens BF24, DF33 e HF19, os substratos adicionados de farelo de milho apresentaram médias de crescimento miceliano estatisticamente similares ao tratamento apenas com capim, sem, no entanto, interferir na velocidade de crescimento. Moda et al. (2005a), ao utilizarem bagaço de cana-de-açúcar suplementado com quirela de milho e com solução mineral no cultivo de *P. sajor-caju*, observaram que esta suplementação mostrou o menor desempenho na eficiência biológica deste cogumelo.

No presente trabalho, onde os tubos foram incubados a 28°C, observou-se um máximo de 14, 17 e 19 dias para a completa colonização de 13cm do tubo, respectivamente, para as linhagens BF24, DF33 e HF19 de *P. ostreatus*, onde a linhagem BF24 reproduziu seu efeito de colonização mais rápida que as demais. Capelari (1996), observou que a taxa de crescimento em substrato sólido foi dependente da temperatura e das espécies utilizadas, onde a linhagem CCB068 de *P. ostreatus* incubada a 25°C cresceu em toda extensão do tubo (9cm), em 24 dias de incubação. Em substratos mais pobres, o micélio tende a crescer mais

rapidamente, como forma de suprir suas necessidades nutricionais, tornando-se menos vigoroso, conforme Fig. 4, 5 e 6. Deste modo, considerar apenas a variável crescimento miceliano para qualificar a colonização do substrato não foi suficiente, sendo necessário também considerar a densidade ou vigor do micélio. Neste sentido, mesmo não resultando em aumento na velocidade de crescimento, a suplementação com farelos, especialmente com os de soja, trigo e milho foram importantes no aumento do vigor do micélio.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa pode-se concluir que:

- A velocidade de crescimento miceliano das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *P. ostreatus*, cultivadas em substrato capim-elefante não foi favorecida com a suplementação com os farelos de soja, trigo, arroz e milho;

### CAPÍTULO 3

**AVALIAÇÃO DA PRODUTIVIDADE E EFICIÊNCIA BIOLÓGICA DE *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer CULTIVADO EM SUBSTRATO CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum* Schum) SUPLEMENTADO COM FARELOS**

## INTRODUÇÃO

As espécies de *Pleurotus* apresentam uma grande variedade de cores, que vão do branco ao azul escuro, marrom, amarelo, rosa, que variam de acordo com a espécie, incidência de luz durante a frutificação, necessidades nutricionais e tempo de incubação. Neste gênero são encontradas muitas espécies comestíveis como *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Quélet, *P. ostreatoroseus* Sing., *P. pulmonarius* (Fries) Quélet, *P. sajor-caju* (Fr.) Singer, *P. eous* (Berkeley) Saccardo, entre outros (EIRA & MINHONI, 1997).

Bononi et al. (1991) ressaltaram que os cogumelos são alimentos excelentes para dietas, pois nutrem e não engordam. Isso se deve às características nutricionais que se assemelham ao leite, apresentando alto teor de proteína (27-48%), baixos valores de lipídeos (2-8%), além da presença de vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina), minerais (cálcio, ferro, fósforo), beta-glucanos e compostos com atividade antioxidante (SOTO-CRUZ et al., 1999; URBEN; URIARTT, 2001; SAVÓN et al., 2002; ZHANG et al., 2002). Atualmente, a existência de substâncias terapêuticas ativas de fungos deste gênero tem sido comprovada, com efeitos na redução do colesterol e atividades antiinflamatória, antiviral, antimicrobiana e antitumoral (WISBECK, 2003).

O cultivo de cogumelos, no Brasil, concentra-se nas regiões Sul e Sudeste, destacando-se os cultivos de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, *A. brasiliensis* Wasser et al., *Lentinula edodes* (Berck) Pegler, *P. sajor-caju*, *P. ostreatus*. Até a década de 80, cultivava-se apenas *A. bisporus* e, desde então, o cultivo de cogumelos vem sendo diversificada pela introdução de outras espécies com maior facilidade de cultivo (EIRA; MINHONI, 1997; MARINO, 1997). No Brasil, o consumo de cogumelos ainda é muito insignificante, em torno de 0,06 Kg/ano, quando comparado aos países europeus com consumo de 3,5 Kg/ano, sendo a falta de

tradição de consumo e o preço relativamente elevado os fatores determinantes nessa realidade (DIAS et al., 2003).

A produção de cogumelos apresenta diversas vantagens em relação as outras culturas, como o fato de exigir menor área de cultivo, apresentar um ciclo de vida curto e a utilização de resíduos agrícolas como meio para seu crescimento (SILVA, 2004). Anualmente, são produzidos cerca de 4 milhões de toneladas de cogumelos comestíveis, sendo os principais produtores os Estados Unidos, França, Alemanha, Holanda, China e Japão, tendo como os principais consumidores a Alemanha, Holanda, Japão e China (MODA et al., 2005a). Nos últimos anos uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos estão sendo indicados como substrato para o cultivo de *Pleurotus* spp. como a palha de vários cereais, resíduos de algodão, resíduos de cana-de-açúcar, sarragens, polpa e casca de frutas, resíduos cítricos, folhas de bananeira, polpa de café (EICKER, 1995; LI et al., 2001; URBEN; CORREIA, 2001; EIRA, 2003; RAGUNATHAN; SWAMINATHAN, 2003; JOB, 2004; MODA et al., 2005a; MOLINA, 2005). A utilização de diversos tipos de substratos pelo fungo dependerá da sua capacidade de secretar enzimas como celulasas, hemicelulasas e ligninases, assim liberando nutrientes para o seu crescimento (ROSSI et al., 2001; MATA et al., 2001).

De acordo com Eira e Minhoni (1997), as técnicas de produção de cogumelos podem envolver substratos naturais previamente compostados e pasteurizados ou pode ser utilizado o cultivo axênico, que consiste em utilizar substrato estéril. Segundo Felinto (1999), a técnica de cultivo axênico é antieconômica em escala comercial, devido ao investimento em equipamentos. No entanto, em países desenvolvidos é a técnica que se obtém maior rendimento.

A produção de *Pleurotus* depende das condições genéticas das espécies de fungos, da qualidade nutricional e da estrutura do substrato. As condições de cultura são fatores determinantes na eficiência da produção (STURION, 1994; ROYSE, 2002). De acordo com Moda et al. (2005a), a suplementação do substrato é comumente utilizada para aumentar a produtividade, que é avaliada pela eficiência biológica.

Entre os suplementos mais utilizados no cultivo destacam-se os farelos de cereais, como fontes de N orgânico necessários ao aumento da massa miceliana, o qual pode interferir na produtividade e eficiência biológica do fungo. A quantidade e

o tipo de farelo pode ser variável, conforme a espécie ou linhagem em desenvolvimento, bem como o estágio de crescimento.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o cultivo de três linhagens de *Pleurotus ostreatus* em substrato capim-elefante suplementado com diferentes farelos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório Experimental de Micologia (LEMICO), do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP) do Instituto de Biologia (IB), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS.

Neste experimento foram utilizadas as linhagens BF24, DF33 e HF19 (MARINO, 2002), de *P. ostreatus*, oriundas do Módulo de Cogumelos FCA/UNESP/Botucatu, depositadas na micoteca do LEMICO/DEMP/IB/UFPel. Estas linhagens, preservadas em óleo mineral, foram repicadas para meio à base de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a 28°C por 10 dias, até ser recuperada e com crescimento miceliano adequado. Estas linhagens, preservadas em óleo mineral, foram repicadas para meio à base de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a 28°C por 10 dias, até ser recuperada e com crescimento miceliano adequado, considerando-se esta como matriz primária (Fig. 1a).

Para o preparo do inóculo ('spawn') foram utilizados grãos de sorgo, previamente cozidos por 20 minutos. Após o cozimento, estes foram colocados em frascos de vidro de 8,6x14cm, que foram fechados com papel alumínio e filme plástico e autoclavados a 121°C (1 atm) por 45 minutos. Com o substrato à temperatura ambiente, discos de cultura de cada linhagem, com 10mm de diâmetro, previamente preparados em meio de cultura à base de capim-elefante+dextrose+ágar (DONINI et al., 2005), foram repicados para frascos contendo os grãos de sorgo. Estes foram incubados a 28°C até a colonização dos grãos pelo fungo, constituindo-se, assim, o inóculo ou "spawn" (Fig. 1b).



**Figura 1-** Matriz primária (a) e 'spawn' (b) de *Pleurotus ostreatus* produzida em grãos de sorgo.

Como substrato foi utilizado o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) que foi cortado ainda quando se encontrava em estado vegetativo, posteriormente foi picado em tamanho de 2cm, e seco a temperatura ambiente. Para o preparo do material a ser utilizado no experimento, o substrato foi previamente umedecido por 24 horas e suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho nas concentrações de 0, 10 e 20%, em relação à massa úmida do capim, totalizando 12 tratamentos para cada linhagem.

Os substratos utilizados foram colocados em frascos de 9x16,8cm, recebendo cada tratamento a altura de 13cm, correspondendo a 250g de substrato. Os frascos foram identificados, fechados com papel alumínio e filme plástico e autoclavados duas vezes a 121°C (1atm) por 60 minutos, com intervalo de 48 horas.

Em câmara de fluxo laminar, o substrato foi inoculado com 3% de inóculo. Os frascos foram incubados em condições ambientais (20-28°C) durante 23 dias, sendo que a colonização completou-se, na maioria dos tratamentos aos 14 dias. Entretanto, os tratamentos permaneceram nestas mesmas condições por mais 9 dias até o início da formação dos primórdios (Fig. 2).



**Figura 2-** *Pleurotus ostreatus* em fase de formação de primórdios 23 dias de incubação.

Em seguida, os frascos foram abertos retirando-se a tampa de alumínio e transferidos para a câmara de frutificação (Fig. 3), em condições ambientais (20-28°C) e umidade relativa do ar de 75-90%. A coleta dos cogumelos foi feita durante 25 dias e iniciou aos 28 dias após a inoculação. Os cogumelos foram coletados manualmente e pesados para obtenção de massa úmida (Fig. 4).



**Figura 3-** Incubação dos frascos em sala de crescimento para frutificação, a 20-28°C.



**Figura 4-** Cogumelos de *Pleurotus ostreatus* em fase de coleta, produzidos em substratos capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).

As variáveis avaliadas foram produtividade em base úmida (KOPYTOWSKI FILHO, 2002) e eficiência biológica (EIRA, 2003), calculados, respectivamente, da seguinte forma:

#### **Produtividade**

$$\text{MUC/MUS} \times 100 = \%$$

**MUC**= massa úmida do cogumelo

**MUS**= massa úmida do substrato

#### **Eficiência Biológica**

$$\text{MUC/MSS} \times 100 = \%$$

**MUC** = massa úmida do cogumelo

**MSS** = massa seca do substrato

A análise de carbono e nitrogênio total dos substratos (tab. 3A) foi realizada no Departamento de Solos/FAEM/UFPel de acordo com o método Walkey-Black para carbono orgânico e Semi-micro-Kjeldahl para nitrogênio (TEDESCO et al., 1995), e a relação C/N esta descrita na tab. 1.

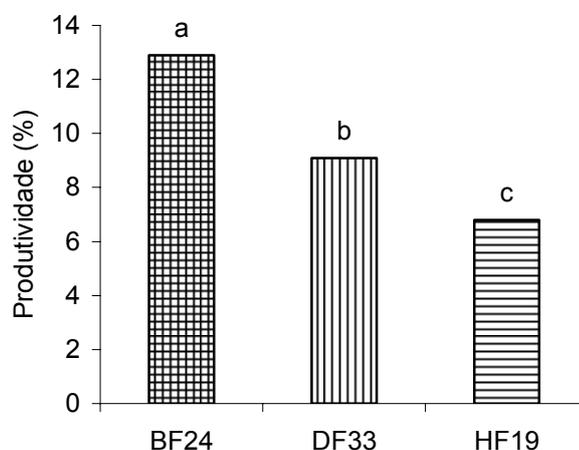
**Tabela 1-** Relação C/N do substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações

<b>Substrato</b>	<b>Relação C/N</b>
<b>Capim-elefante</b>	162:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de soja</b>	43:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de soja</b>	21:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de trigo</b>	60:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de trigo</b>	55:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de arroz</b>	52:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de arroz</b>	52:1
<b>Capim-elefante + 10% farelo de milho</b>	71:1
<b>Capim-elefante + 20% farelo de milho</b>	63:1

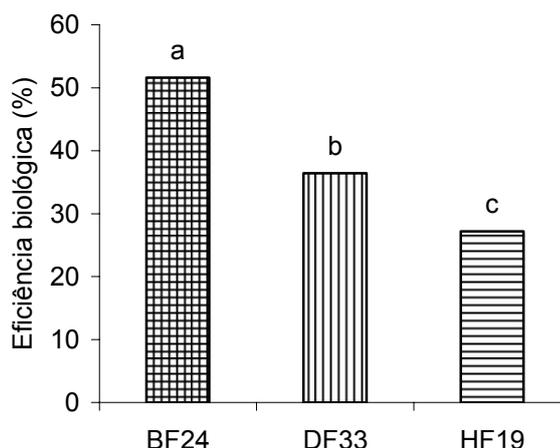
O experimento constou de um fatorial AxBxC (A=linhagem, B=farelo, C=concentração de farelo). O delineamento experimental constou de quatro repetições/tratamento, sendo cada frasco a unidade experimental. Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variação e ao teste de Duncan para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que houve diferenças altamente significativas ( $\alpha= 0,05$ ) para linhagem e para a interação entre farelos e concentrações de farelos para produtividade e eficiência biológica (tab. 5A). A análise das médias pelo teste de Duncan mostrou que para linhagens, BF24 se destacou tanto para produtividade (Fig. 5) quanto para eficiência biológica (Fig. 6), apresentando as maiores médias, sendo esta linhagem superior às demais, praticamente o dobro em relação a HF19.



**Figura 5-** Produtividade média das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *P. ostreatus* cultivadas no substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.



**Figura 6-** Eficiência biológica média das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *P. ostreatus* cultivadas no substrato capim-elefante suplementado com farelos em diferentes concentrações.

Para a variável produtividade e eficiência biológica observa-se que os tratamentos com adição de farelo nas concentrações de 10 e 20% de trigo, arroz e milho, nas linhagens BF24, DF33 e HF9, foram superiores ao tratamento sem adição de farelo (0%). Para a linhagem HF19, o farelo de milho só foi eficiente a 20%. A suplementação com farelo de soja apresentou efeito inferior quanto a produtividade e eficiência biológica em relação aos demais tratamentos para as três linhagens (tab. 2 e 3).

Naqueles farelos em que a concentração de 10% foi superior, não houve efeito deletério quando a concentração foi aumentada para 20%, mas também não aumentou a produtividade ou eficiência biológica. Diferentemente do que ocorreu no experimento do Capítulo 2, onde concentrações mais elevadas diminuíram a velocidade de crescimento miceliano.

As médias de produtividade e eficiência biológica no fator concentrações de farelo foram ajustadas a um modelo linear e as equações foram descritas juntamente com as curvas de crescimento ( $\alpha = 0,05$ ). O efeito negativo da suplementação e aumento da concentração farelo de soja no capim-elefante, nas linhagens estudadas pode ser observado nas Fig. 7 a 9.

**Tabela 2-** Média de produtividade (%) das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus* cultivado no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

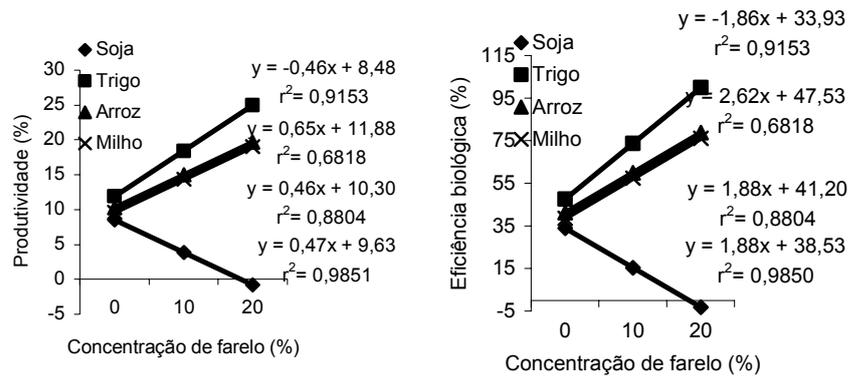
Linhagem	Farelo	Concentração (%)		
		0	10	20
BF24	Soja	9,30 a A	2,20 c B	0,00 b B
	Trigo	9,30 a B	23,59 a A	22,40 a A
	Arroz	9,30 a B	17,00 b A	18,69 a A
	Milho	9,30 a B	15,00 b A	18,70 a A
DF33	Soja	3,60 a A	0,60 c A	0,00 c A
	Trigo	3,60 a B	17,50 a A	21,60 a A
	Arroz	3,60 a B	15,10 ab A	15,80 b A
	Milho	3,60 a B	10,00 b A	14,10 b A
HF19	Soja	2,00 a A	0,00 c A	0,00 b A
	Trigo	2,00 a B	16,70 a A	12,40 a A
	Arroz	2,00 a B	14,20 a A	10,40 a A
	Milho	2,00 a B	6,00 b B	13,80 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

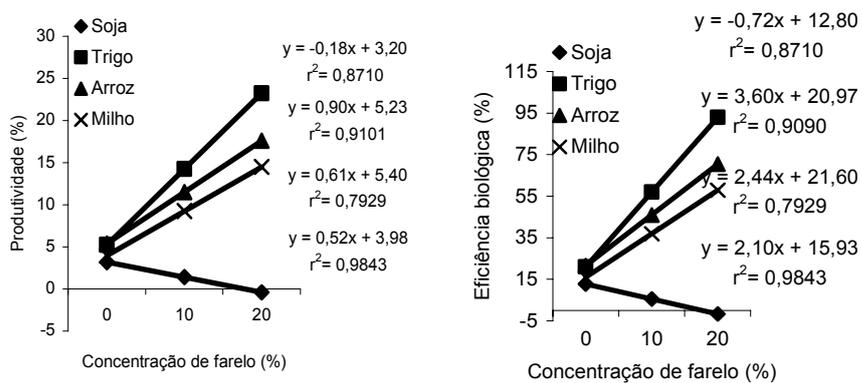
**Tabela 3-** Média de eficiência biológica (%) das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus* cultivado no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Linhagem	Farelo	Concentração (%)		
		0	10	20
BF24	Soja	37,20 a A	8,80 c B	0,00 b B
	Trigo	37,20 a B	94,39 a A	89,59 a A
	Arroz	37,20 a B	68,00 b A	74,79 a A
	Milho	37,20 a B	60,00 b A	74,80 a A
DF33	Soja	14,40 a A	2,40 c A	0,00 c A
	Trigo	14,40 a B	70,12 a A	86,40 a A
	Arroz	14,40 a B	60,40 ab A	63,20 b A
	Milho	14,40 a B	40,00 b A	56,40 b A
HF19	Soja	8,00 a A	0,00 c A	0,00 b A
	Trigo	8,00 a B	66,80 a A	49,59 a A
	Arroz	8,00 a B	56,79 a A	41,59 a A
	Milho	8,00 a B	24,00 b B	55,20 a A

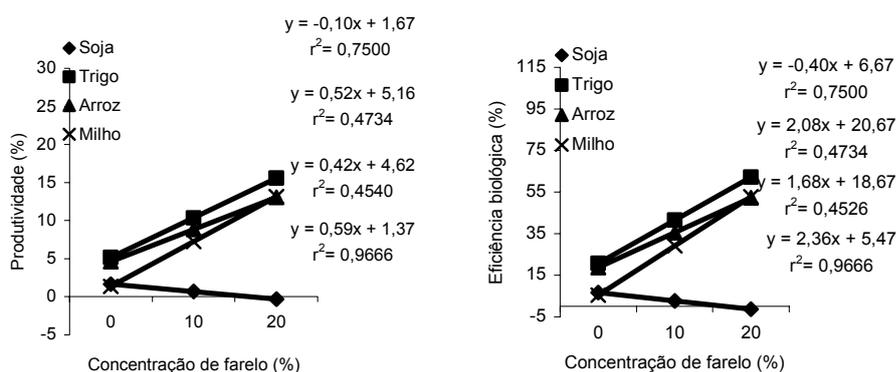
Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).



**Figura 7-** Produtividade e eficiência biológica média (%) de cogumelos da linhagem BF24 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).



**Figura 8-** Produtividade e eficiência biológica média (%) de cogumelos da linhagem DF33 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).



**Figura 9-** Produtividade e eficiência biológica média (%) de cogumelos da linhagem HF19 de *Pleurotus ostreatus* cultivada no substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%).

No geral, os tratamentos com capim-elefante suplementados com farelo de trigo apresentaram os maiores resultados para produtividade e eficiência biológica nas três linhagens. Observou-se que as duas concentrações de farelo de trigo (10 e 20%) não apresentaram diferenças, o que indica que a utilização de 10% foi suficiente para obtenção de máxima produtividade e eficiência biológica, tendo com vantagem a redução de custos na produção. Observou-se também que os tratamentos com capim-elefante suplementados com farelo de soja apresentaram as menores médias para as duas variáveis, em todas as linhagens, sendo estatisticamente inferior a todos os substratos, inclusive ao tratamento sem a adição deste farelo (0%) (tab. 2 e 3, Fig. 7 a 9).

De acordo com Sturion (1994), na fase de desenvolvimento dos basidiomas a existência de uma relação C/N mais baixa no substrato de cultivo é mais favorável, o que não ocorreu neste experimento nos substratos suplementados com farelo de soja, com menor relação C/N (tab.1). Deduz-se que nos substratos demasiadamente enriquecidos com farelos influenciaram a produtividade e eficiência biológica, bem como a natureza ou algum componente presente no farelo de soja. Além de afetar a formação de basidioma o excesso de nitrogênio pode ter afetado a degradação da lignina, podendo até o micélio nem se desenvolver, o que não ocorreu neste trabalho. De acordo com Zanetti e Ranal (1997), se por um lado o baixo teor de N diminui a produtividade, por outro lado, teores elevados desse nutriente também afetam negativamente a produção de basidiomas, onde existe uma concentração

ótima de N para miceliação e produção, mas divergências no método e no cálculo dificultam identificação deste valor.

O farelo de soja foi importante na formulação do meio de cultivo e durante a fase de colonização, mas em relação a produtividade e eficiência biológica estas reduziram acentuadamente. Estes resultados discordantes aos encontrados por Zanetti e Ranal (1997) ao cultivar *Pleurotus* sp. 'Florida' em sacos contendo 1Kg de bagaço de cana-de-açúcar suplementada com guandu, onde observaram maior produtividade de cogumelos e eficiência biológica (94,73%) quando a suplementação foi de 15%. Vogel e Salmones (2000) adicionaram farinha de soja na proporção de 5,5% a massa seca do substrato palha de trigo no cultivo de três diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. e observaram eficiência biológica de 58,8, 64,8 e 80,47%, respectivamente para as linhagens IE-227, 1314 e IE-226. Em outro experimento, estes mesmos autores, utilizaram uma suplementação comercial, ao invés da farinha de soja, e observaram que a eficiência biológica da linhagem IE-226 aumentou para 99,3%.

A suplementação de casca de semente de girassol com  $\text{NH}_4^+$  para a produção de *P. ostreatus*, segundo Curvetto et al. (2002), aumenta a produtividade desta espécie em até 50%, pois promove o desenvolvimento miceliano através da adequação da relação C/N do substrato utilizado. Isto foi verificado neste trabalho, principalmente quando utilizado o farelo de trigo como suplemento. Uma das hipóteses discutidas por Royse (2002), é a adequação da relação C/N, o qual relata a suplementação dos substratos com diferentes nutrientes como um fator determinante para a produção de *P. cornucopiae* (Paulet : Pers.) Rolland.

Wang et al. (2001) ao pesquisarem o cultivo de *P. ostreatus* verificaram que a suplementação do substrato, a base de palha de cevada, com farelo de trigo até 45% proporcionou aumento na eficiência biológica do cogumelo. Sendo que a partir do acréscimo nos valores da suplementação ocorreu diminuição nos valores da variável eficiência biológica. Logo, estes resultados podem ser associados aos encontrados durante este experimento, onde para as três linhagens estudadas o acréscimo do mesmo farelo propiciou aumento nos resultados de produtividade e eficiência biológica (Fig. 7 a 9).

Ao cultivarem *P. sajor-caju* em substrato à base de palha de milho pura e com suplementação de 10% de farelo de trigo, Dias et al. (2003) obtiveram 51% de eficiência biológica com a palha pura e, com a suplementação, aumentou para 83%.

Já quando estes mesmos autores cultivaram em palha de feijão pura ou com a mesma suplementação não observaram diferenças, concluindo que não é necessário suplementar a palha de feijão para o cultivo desta espécie. Conforme observado para o capim-elefante, o aumento na suplementação com farelo de trigo, de 10 para 20% não aumentou a produtividade e a eficiência biológica. De acordo com a composição dos substratos utilizados no cultivo de cogumelos, a disponibilidade de nutrientes pode ser alterada, evidenciando o que ocorreu neste experimento, entre a suplementação com farelo de soja e farelo de trigo, com resultados díspares de produtividade e eficiência biológica.

Yildiz et al. (2002) citam 79,4% de eficiência biológica para *P. ostraetus* quando cultivado em palha de trigo pura. Já Banik e Nandi (2004) descrevem o aumento da eficiência biológica de *P. sajor-caju* cultivado em palha de arroz suplementada com esterco na proporção de 1:1, mas com aumento desta relação ocorreu uma diminuição da variável analisada. Por outro lado Moda et al. (2005a), citam que para o cultivo deste mesmo cogumelo em bagaço de cana-de-açúcar suplementado com quirela de milho diminui a eficiência biológica. Isto não ocorreu no experimento realizado, onde o farelo de milho não afetou a velocidade de crescimento do micélio, mas aumentou a produtividade e eficiência biológica.

A suplementação de resíduos de papel com farelo de arroz é descrita por Baysal et al. (2003), onde estes autores obtiveram aumento da eficiência biológica com o aumento da concentração (10 e 20%) do farelo durante a produção de *P. ostreatus*, fato este que pode ser relacionado a este trabalho onde com o aumento da suplementação do capim-elefante com o mesmo tipo de farelo se obteve acréscimo tanto da produtividade quanto na eficiência biológica, exceto para a linhagem HF19, a qual com o aumento na concentração de farelo (20%) ocorreram decréscimo nas duas variáveis citadas.

Salmones et al. (2005) trabalhando com *P. ostreatus* citam eficiência biológica diferenciada para duas linhagens deste cogumelo, IE38 e IE49, sendo 50,2 e 54,2 %, respectivamente. Logo, estes dados vêm a corroborar com os obtidos neste trabalho, onde se observam variação na eficiência biológica para as diferentes linhagens da mesma espécie de fungo, comprovando, assim, as diferentes exigências quanto à composição do substrato utilizado.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa pode-se concluir que:

- A linhagem BF24 de *Pleurotus ostreatus* apresenta a maior produtividade e eficiência biológica, quando produzida com substrato capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho;
- A suplementação do capim-elefante com farelo de trigo, nas concentrações de 10 e 20% favorece a maior produtividade e eficiência biológica para as linhagens BF24, DF33 e HF19 de *P. ostreatus*, seguidos dos farelos de arroz e milho;
- O farelo de soja utilizado na suplementação do capim-elefante diminui a produtividade e eficiência biológica das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus*.

## REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACK WELL, M. **Introductory mycologi**. 4. ed. New York: John Wiley e Sons, Inc., 1996. 869p.

BANIK, S.; NANDI, R. Effect of supplementation of rice straw with biogas residual slurry manure on the yield, protein and mineral contents of oyster mushroom. **Industrial Crops and Products**, v.20, p.311-319, 2004.

BAYSAL, E.; PEKER, H.; YALINKILIÇ, M.K.; TEMİZ, A. Cultivation of oyster mushroom on waste paper with some added supplementary materials. **Bioresource Technology**, v.89, p.95-97, 2003.

BERMÚDEZ, R.C.; GARCÍA, N.; GROSS, P.; SERRANO, M. Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. **Micologia Aplicada International**, v.13, n.1, p.25-29, 2001.

BILAY, V.T.; SOLONKO, E.F.; BUCHALO, A.S. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In: L.J.L.D. VAN GRIENSVEN (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 2000. v.2, p.779-782.

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**, v.88, p.425-428, 2004.

BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatoroseus* of edible fungi. In: L.J.L.D. VAN GRIENSVEN (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 1991. v.2, p.531-532.

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**, Botucatu, v.14, n.1, p.39-52, 1999.

BRIZUELA, M.A.; GARCÍA, L.; PÉREZ, L.; MANSUR, M. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundários. **Revista Iberoamericana de Micologia**, 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. 154f. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CASTRO, A.L.A.; PAIVA, P.C.A.; DIAS, E.S.; SANTOS, J. Avaliação das alterações bromatológicas e de degradabilidade do resíduo de lixadeira do algodão após tratamento biológico com *Pleurotus sajor-caju*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.3, p.608-613, 2004.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.58, p.582-594, 2002.

CRUZ, O.S.; CASTAÑEDA, G.S.; HACH, J.L.P.; ROJAS, M.G.; TORRES, E.F. Effect of substrate composition on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodologies. **Process Biochemistry**, v.39, p.127-133, 1999.

CURVETTO, N.R.; FIGLAS, D.; DEVALIS, R.; DELMASTRO, S. Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls

supplemented with  $N-NH_4^+$  and/or Mn(II). **Bioresource Technology**, v.84, p.171-176, 2002.

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

DIAS, E.S.; KOSHIKUMO, E.M.S.; SCHWAN, R.F; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.6, p.1363-1369, 2003.

DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* sp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.331-338, 2005.

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**, v.11, p. 279-287, 2000.

EICKER, A. The South African experience in growing *Pleurotus* spp. In: T.J. ELLIOTT (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 1995. v.2, p.869-875.

EIRA, A.F. **Cultivo do “cogumelo-do-sol” (*Agaricus blazei* (Murrill) ss. Heinemann)**. Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 2003. 203p.

EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. 2.ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 115p.

FELINTO, A.S. **Cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* spp. em resíduos agroindustriais**. 1999. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

HERNÁNDEZ, D.; SANCHEZ, J. E.; YAMASAKI, K. A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. **Bioresource Technology**, v.90, n.2, p.145-150, 2003.

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**, v.21, p.195-197, 2004.

KOPYTOWSKI FILHO, J. **Relação C/N e proporção de fontes nitrogenadas na produtividade de *Agaricus blazei* Murril e poder calorífico do composto**. 2002. 101f. (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

LABUSCHAGNE, P.M.; EICKER, A.; AVELING, T.A.S., MEILLON, S.; SMITH, M.F. Influence of wheat cultivars on straw quality and *Pleurotus ostreatus* cultivation. **Bioresource Technology**, v.71, p.71-75, 2000.

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**, v.80, p. 157-161, 2001.

LÓPEZ, C.J.; VALÉNCIA, N.R. Simplified cultivation of *Pleurotus* spp. On coffee pulp. In: C.P. ROMAINERINKER (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 2004. v.1, p.303-306.

MAIO, C.S.S. **Influência da composição do substrato sobre o valor nutricional do cogumelo *Pleurotus ostreatus* e seu potencial na redução da hipercolesterolemia experimental**. 2003. 88f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Departamento de Química, Rio Grande.

MANDEEL, Q.A.; AL-LAITH, A.A.; MOHAMED, S.A. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.601-607, 2005.

MARINO, R.H. **Produtividade de *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. em função dos métodos de isolamento e produção de inoculantes.** 1997. 134f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química do Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

MARINO, R.H. **Melhoramento genético de *Pleurotus ostreatus* visando o cultivo axênico de linhagens resistentes ao calor.** 2002. 109f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Química do Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIC, J.M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.18, p.118-122, 2001.

MAZIERO, R.; BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; Cultivo e produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. Florida em Mogi das Cruzes, Brasil. **Hoehnea**, v.19, n.1/2, p.1-7, 1992.

MODA, E.M. **Produção de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de cana-de-açúcar lavado e uso de aditivos visando sua conservação “in natura”.** 2003. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MODA, E.M.; HORII, J.; SPOTO, M.H.F. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Scientia Agricola**, v.62, p.127-132, 2005a.

MODA, E.M.; SPOTO, M.H.F.; HORII, J.; ZOCCHI, S.S. Uso de peróxido de hidrogênio e ácido cítrico na conservação de cogumelos *Pleurotus sajo-caju in natura*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p.291-296, 2005b.

MOLINA, J.C. Producción de hongos comestibles, compost y vermicompost a partir substratos agroindustriales: experiência CYTED. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICOLOGIA, 5, 2005, Brasília. **Anais do...** Brasília: Sociedade Latino-americana de Micologia, 2005. p.173.

MONTINI, R.M.C. **Efeito de linhagens e substratos no crescimento miceliano e na produtividade do cultivo axênico de shiitake *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.** 2001. 97f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

NERONA, A. M.; LATEZA, A. S. Mushroom culture in bagasse and mudpress. **Philippine Sugar Technologists**, p.348-352, 1994.

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 & Biotechnology**, v.30, n.3, p.146-149, 2003.

OHGA, S.; ROYSE, D.J. Cultivation of *Pleurotus eryngii* on umbrella plant (*Cyperus alternifolius*) substrate. **Journal Wood Science**, v.50, p.466-469, 2004.

OLIVEIRA, H.C.B.; URBEN, A.F. Cultivo de *Pleurotus* sp. utilizando a técnica "Jun-Cao". In: URBEN, A.F. **Produção de cogumelos por meio da tecnologia chinesa modificada.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2001.151p.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C.L. Determinação da concentração de  $\beta$ -glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murril por método enzimático. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.312-316, 2003.

PETRENKO, B.F.; BSKO, N.A. Influence of the addition of soybean supplements to the compost on the yield of *Agaricus bisporus*. In: C.P. ROMAINERINKER (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi.** Rotterdam: Balkema, 2004. v.1, p.353-357.

QUIMIO, T.H.; CHANG, S.T.; ROYSE, D.J. **Technical guidelines for mushroom growing in the tropics.** Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1990. 157p.

RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHAN, K. Nutritional status of *Pleurotus* spp. Grown on various agro-wastes. **Food Chemistry**, n.80, p. 371-375, 2003.

RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKHA, M.N.; BANO, Z. Biodegradation of gossypol by the white oyster mushroom, *Pleurotus florida*, during culturing on rice straw growth substrate, supplemented with cottonseed powder. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.17, n. 221-227, 2001.

REGINA, M. **Cinética do crescimento miceliano de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler em bagaço de cana-de-açúcar e serragem de eucalipto**. 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

REGINA, M. **Atividade de enzimas lignocelulíticas no crescimento de *Lentinula edodes* em subprodutos energéticos**. 2004. 86f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RODRIGUES, S.B.; JABOR, I.A.S.; MARQUES-SILVA, G.G.; ROCHA, C.L.M.S.C. Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo-do-sol (*Agaricus blazei*) no sistema *menthG1* em *Aspergillus (=Emericella) nidulans*. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.25, n.2, p. 513-517, 2003.

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. **Microbiology Letters**, n.21, p.261-265, 2002.

ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.6, p.887-891, 2001.

ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O.; BARBOSA, J.C. Supplementation of sugarcane bagasse with rice bran and sugarcane molasses for shiitake (*Lentinula edodes*) spawn production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p.61-65, 2003.

ROYSE, D.J. Influence of spawn rate and commercial delayed release nutrient levels on *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) yield, size, and time to production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.58, p.527-531, 2002.

SAGIR, A.; YILDIZ, A. Growth of mycelium of *Pleurotus* spp. on different grains and determination of their competition with some contaminant fungi. **Acta Alimentaria**, v.33, n.2, p.249-257, 2004.

SALAS, N. Cultivo de hongos comestibles potenciadores del sistema inmunológico. In: V CONGRESO LATINO AMERICANO DE MICOLOGIA, 2005, Brasília. **Anais do...** Brasília: Sociedade Latino-americana de Micologia, 2005, p.169-173.

SALMONES, D.; MATA, G.; WALISZEWSKI, K.N. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. **Bioresource Technology**, v.96, p.537-544, 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 Aliment Nutr.** v.16, n.1, p.13-18, 2002.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F.S.; NASCIMENTO, J.S.; VARGAS JUNIOR, F.M. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1866-1871, 2003a.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F.S.; VARGAS JUNIOR, F.M.; ROSSI, P. Valor nutritivo do feno de braquiária amonizado com uréia ou inoculado com *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.2040-2049, 2003b.

SILVA, S.M. **Formulação de meios de crescimento para o cultivo sólido de *Pleurotus sajor-caju*, à base de serragem de *Pinus* spp.** 2004. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

SOTO-CRUZ, O; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; PABLOS-HACH, J. L.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; FAVELA-TORRES, E. Effect of substrate composition on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodologies. **Process Biochemistry**, v.35, p. 127-133, 1999.

STURION, G.L. **Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.)**. 1994. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais** (Boletim Técnico, 5) 2.ed. Departamento de Solos, Porto Alegre, 1995.

URBEN, A.F.; CORREIA, M.J. Biologia, morfologia, fisiologia e reprodução de cogumelos. In: URBEN, A.F. (Ed.) **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. p.17-42.

URBEN, A.F.; URIARTT, A.H. Princípios do cultivo de cogumelos pela técnica "Jun-Cao". In: URBEN, A.F. **Produção de cogumelos por meio da tecnologia chinesa modificada**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2001.151p.

VOGEL, F.; SALMONES, D. Análisis comparativo de la productividad de cepas de *Pleurotus* spp. cultivadas em uma planta comercial. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.17, p.138-141, 2000.

WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource Technology**, v.78, p.293-300, 2001.

WISBECK, E. **Estudo do cultivo submerso de *Pleurotus ostreatus* DSM 1833 para a produção de biomassa e de exopolissacarídeos**. 2003. 196f. Tese

(Doutorado Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

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

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

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

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **SANEST - Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores**. Registrado na Secretaria Especial de Informática sob nº 066060 - categoria A. Pelotas, RS: Universidade Federal de Pelotas, 1984.

## APÊNDICES

**Tabela 1A-** Análise da variação e testes de significância para massa miceliana das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

<b>Linhagem</b>	<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>Prob.&gt;F</b>
<b>BF24</b>	<b>Farelo</b>	3	0,0006	95,82	0,00001
	<b>Concentração</b>	2	0,0002	33,25	0,00001
	<b>Farelo x concentração</b>	6	0,0002	30,95	0,00001
	<b>Resíduo</b>	36	0,0000		
	<b>Média geral</b>			0,013	
	<b>Coefficiente de variação (%)</b>			19,21	
<b>DF33</b>	<b>Farelo</b>	3	0,0008	97,61	0,00001
	<b>Concentração</b>	2	0,0004	51,35	0,00001
	<b>Farelo x concentração</b>	6	0,0003	44,27	0,00001
	<b>Resíduo</b>	36	0,0000		
	<b>Média geral</b>			0,013	
	<b>Coefficiente de variação (%)</b>			21,55	
<b>HF19</b>	<b>Farelo</b>	3	0,0008	19,49	0,00001
	<b>Concentração</b>	2	0,0000	1,74	0,18839
	<b>Farelo x concentração</b>	6	0,0002	5,84	0,00042
	<b>Resíduo</b>	36	0,0000		
	<b>Média geral</b>			0,018	
	<b>Coefficiente de variação (%)</b>			35,08	

**Tabela 2A-** Análise da variação e testes de significância para velocidade de crescimento miceliano das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em meios à base de capim-elefante suplementados com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Linhagem	Fonte de variação	GL	QM	F	Prob.>F
BF24	Farelo	3	24,83	872,40	0,00001
	Concentração	2	6,09	214,08	0,00001
	Período	3	131,76	4629,30	0,00001
	Farelo x concentração	6	6,45	226,84	0,00001
	Farelo x período	9	0,43	15,03	0,00001
	Concentração x período	6	0,57	19,99	0,00001
	Farelo x concentração x período	18	0,11	4,05	0,00001
	Resíduo	144	0,03		
	Média geral			3,42	
	Coefficiente de variação (%)			4,90	
DF33	Farelo	3	7,00	168,18	0,00001
	Concentração	2	4,05	97,17	0,00001
	Período	2	135,15	3244,73	0,00001
	Farelo x concentração	6	2,03	48,84	0,00001
	Farelo x período	6	1,36	32,65	0,00001
	Concentração x período	4	0,17	4,15	0,00383
	Farelo x concentração x período	12	0,35	8,43	0,00001
	Resíduo	143	0,04		
	Média geral			3,31	
	Coefficiente de variação (%)			6,17	
HF19	Farelo	3	6,07	83,57	0,00001
	Concentração	2	5,00	68,86	0,00001
	Período	4	172,01	2367,24	0,00001
	Farelo x concentração	6	1,65	22,76	0,00001
	Farelo x período	12	0,53	7,33	0,00001
	Concentração x período	8	0,49	6,84	0,00001
	Farelo x concentração x período	24	0,15	2,06	0,00432
	Resíduo	180	0,07		
	Média geral			3,83	
	Coefficiente de variação (%)			7,02	

**Tabela 3A-** Análise de carbono e nitrogênio orgânico dos substratos

Substrato	Carbono	Nitrogênio
	gKg <sup>-1</sup>	
Capim-elefante	842,16	5,20
Capim-elefante + 10% farelo de soja	704,30	16,48
Capim-elefante + 20% farelo de soja	708,12	33,13
Capim-elefante + 10% farelo de trigo	719,61	11,97
Capim-elefante + 20% farelo de trigo	842,16	15,09
Capim-elefante + 10% farelo de arroz	708,12	13,53
Capim-elefante + 20% farelo de arroz	704,30	13,53
Capim-elefante + 10% farelo de milho	696,64	9,88
Capim-elefante + 20% farelo de milho	719,61	11,28

**Tabela 4A-** Análise da variação e testes de significância para velocidade de crescimento das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Linhagem	Fonte de variação	GL	QM	F	Prob.>F
BF24	Farelo	3	15,72	120,16	0,00001
	Concentração	2	14,62	111,75	0,00001
	Período	5	647,10	4944,78	0,00001
	Farelo x concentração	6	4,77	36,48	0,00001
	Farelo x período	15	1,57	12,01	0,00001
	Concentração x período	10	1,10	8,44	0,00001
	Farelo x concentração x período	30	0,48	3,70	0,00001
	Resíduo	216	0,13		
	Média geral			5,21	
	Coefficiente de variação (%)			6,94	
DF33	Farelo	3	25,01	133,50	0,00001
	Concentração	2	44,65	238,28	0,00001
	Período	6	730,85	3900,42	0,00001
	Farelo x concentração	6	7,29	38,91	0,00001
	Farelo x período	18	1,60	8,57	0,00001
	Concentração x período	12	2,02	10,77	0,00001
	Farelo x concentração x período	36	0,45	2,44	0,00009
	Resíduo	252	0,18		
	Média geral			5,84	
	Coefficiente de variação (%)			7,40	
HF19	Farelo	3	20,62	78,27	0,00001
	Concentração	2	76,11	288,90	0,00001
	Período	7	778,33	2954,25	0,00001
	Farelo x concentração	6	6,11	23,18	0,00001
	Farelo x período	21	1,19	4,51	0,00001
	Concentração x período	14	2,14	8,12	0,00001
	Farelo x concentração x período	42	0,32	1,20	0,19415
	Resíduo	288	0,26		
	Média geral			6,04	
	Coefficiente de variação (%)			8,50	

**Tabela 5A-** Análise da variação e testes de significância para produtividade e eficiência biológica de cogumelo das linhagens BF24, DF33 e HF19 de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas em capim-elefante suplementado com os farelos de soja, trigo, arroz e milho em diferentes concentrações (0, 10 e 20%)

Variável	Fonte de variação	GL	QM	F	Prob.>F	
Produtividade	Linhagem	2	457,40	33,15	0,00001	
	Farelo	3	1032,04	74,79	0,00001	
	Concentração	2	780,24	56,54	0,00001	
	Linhagem x farelo	6	14,90	1,08	0,37894	
	Linhagem x concentração	4	15,95	1,15	0,33417	
	Farelo x concentração	6	283,79	20,57	0,00001	
	Linhagem x farelo x concentração	12	13,08	0,94	0,50328	
	Resíduo	108	13,79			
	Média geral				9,59	
	Coeficiente de variação (%)				38,72	
Eficiência Biológica	Linhagem	2	7308,45	33,06	0,00001	
	Farelo	3	16523,71	74,77	0,00001	
	Concentração	2	12472,93	56,42	0,00001	
	Linhagem x farelo	6	238,62	1,07	0,37946	
	Linhagem x concentração	4	254,74	1,15	0,33581	
	Farelo x concentração	6	4540,46	20,54	0,00001	
	Linhagem x farelo x concentração	12	208,83	0,94	0,50632	
	Resíduo	108	221,06			
	Média geral				38,38	
	Coeficiente de variação (%)				38,74	