

UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU
CENTRO DE CIÊNCIAS TECNOLÓGICAS
MESTRADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

CULTIVO AXÊNICO DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) EM RESÍDUOS DO
PROCESSAMENTO DA PALMEIRA-REAL-DA-AUSTRÁLIA
(*Archontophoenix alexandrae*)

CAROLINA NILSEN VIANNA BITTENCOURT

BLUMENAU

2007

CAROLINA NILSEN VIANNA BITTENCOURT

**CULTIVO AXÊNICO DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) EM RESÍDUOS DO
PROCESSAMENTO DA PALMEIRA-REAL-DA-AUSTRÁLIA
(*Archontophoenix alexandrae*)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à Obtenção do grau de Mestre ao Curso de Mestrado em Engenharia Ambiental, Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade Regional de Blumenau – FURB.

Orientadora: Dra. Lorena Benathar Ballod Tavares

BLUMENAU

2007

**CULTIVO AXÊNICO DE SHIITAKE
(*Lentinula edodes*) EM RESÍDUOS DO
PROCESSAMENTO DA PALMEIRA-
REAL-DA-AUSTRÁLIA (*Archontophoenix
alexandre*)**

por

CAROLINA NILSEN VIANNA BITTENCOURT

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental na Universidade Regional de Blumenau – FURB.



Profa. Dra. Lorena Benedita Ballod Tavares
Orientadora

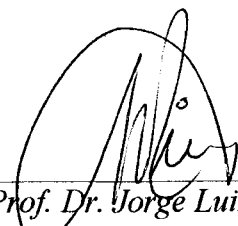


Prof. Dr. Adilson Pinheiro
Coordenador

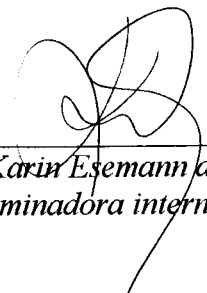
Banca examinadora:



Profa. Dra. Lorena Benedita Ballod Tavares
Presidente



Prof. Dr. Jorge Luiz Ninow
Examinador externo (UFSC)



Profa. Dra. Karim Esemann de Quadros
Examinadora interna

Blumenau, 28 de março de 2007

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABELAS	IX
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 RESÍDUOS DO AGRONEGÓCIO.....	3
2.2 CONCEITO ZERI APLICADO À PRODUÇÃO DE COGUMELOS.....	4
2.3 PALMEIRA-REAL-DA-AUSTRÁLIA (<i>Archontophoenix alexandrae</i>).....	7
2.3.1 Características da <i>Archontophoenix alexandrae</i>	7
2.3.2 Potencial econômico da <i>Archontophoenix alexandrae</i>	10
2.3.3 O resíduo do processamento do palmito da palmeira-real.....	12
2.4 REINO DOS FUNGOS.....	14
2.4.1 Fungos da Divisão Basidiomycota.....	15
2.5 SHIITAKE (<i>Lentinula edodes</i>).....	17
2.5.1 Características do <i>Lentinula edodes</i>	17
2.5.2 Propriedades medicinais e nutricionais do <i>Lentinula edodes</i>	19
2.5.3 Cultivo tradicional e axênico de shiitake.....	21
2.5.4 Suplementos nutricionais utilizados no cultivo axênico.....	27
2.5.5 Vantagens ecológicas do cultivo axênico.....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 ENSAIOS REALIZADOS.....	31

3.2	FUNGOS UTILIZADOS E CONSERVAÇÃO DAS CEPAS.....	31
3.3	MATRIZES.....	32
3.4	RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS EMPREGADOS COMO SUBSTRATO.....	33
3.5	SISTEMA EM PLACAS DE PETRI.....	36
3.6	SISTEMA EM TUBOS DE ENSAIO.....	38
3.7	SISTEMA AXÊNICO DE PRODUÇÃO DE SHIITAKE.....	38
3.7.1	Temperatura para o cultivo do <i>Lentinula edodes</i>	40
3.7.2	Umidade para o cultivo do <i>Lentinula edodes</i>	40
3.7.3	Luz para o cultivo do <i>Lentinula edodes</i>	41
3.7.4	Potencial hidrogeniônico para o cultivo do <i>Lentinula edodes</i>	41
3.7.5	Concentração de gases para o cultivo do <i>Lentinula edodes</i>	42
3.7.6	Água para o cultivo do <i>Lentinula edodes</i>	43
3.8	COLHEITA E AVALIAÇÕES.....	43
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.1	ENSAIO I: ANÁLISE DO CRESCIMENTO MICELIAL RADIAL EM PLACAS DE PETRI.....	46
4.2	ENSAIO II: ANÁLISE DO CRESCIMENTO MICELIAL AXIAL EM TUBOS DE ENSAIO.....	52
4.3	ENSAIO III: ANÁLISE DO CULTIVO AXÊNICO DE <i>Lentinula</i> <i>edodes</i>	63
5.	CONCLUSÃO.....	87
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
	GLOSSÁRIO.....	96

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 2.1	Um exemplo de agrupamento ecológico.....	7
Figura 2.2	Zoneamento agrícola para a palmeira-real em Santa Catarina.....	12
Figura 2.3	<i>Lentinula edodes</i> LE-96/13 cultivado em sistema axênico.....	18
Figura 2.4	Produção de <i>spawn</i> de shiitake 1-Matriz primária; 2-Matriz secundária; 3-Matriz terciária; 4- Matriz terciária em escala industrial e 5- Sacos de polipropileno com substratos.....	24
Figura 3.1	Matriz terciária das quatro linhagens de <i>Lentinula edodes</i> (LE-98/55, LE-96/13, CCB-515 e CCB-514).....	33
Figura 3.2	Plantação de palmeira-real-da-austrália na Empresa EWE Agro Florestal.....	33
Figura 3.3	Bainhas medianas incorporadas a plantação de palmeira-real-da-austrália da empresa EWE Agro Florestal.....	34
Figura 3.4	Bainhas medianas descartadas na empresa EWE Agro Florestal.....	34
Figura 3.5	Estipe de palmeira-real descartado na plantação.....	35
Figura 3.6	Sala de Frutificação mostrando a distribuição dos blocos de substrato, e ao fundo o sistema de controle de temperatura e manutenção de umidade.....	39
Figura 4.1	Crescimento micelial radial de <i>Lentinula edodes</i> linhagem LE-96/13, nos tratamentos com predominância de bainha.....	46
Figura 4.2	Crescimento micelial em placas de petri nos 9 tratamentos com predominância de bainha, da linhagem LE-96/13 de <i>Lentinula edodes</i>	48
Figura 4.3	Crescimento micelial radial de <i>Lentinula edodes</i> linhagem LE-96/13, nos tratamentos com predominância de estipe.....	49
Figura 4.4	Crescimento micelial em placas de petri nos 9 tratamentos com predominância de estipe, da linhagem LE-96/13 de <i>Lentinula edodes</i>	50
Figura 4.5	Crescimento médio em tubos de ensaio de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	53
Figura 4.6	Velocidade média em tubos de ensaio de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	55

Figura 4.7	Crescimento micelial da linhagem LE-96/13 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	55
Figura 4.8	Crescimento micelial da linhagem LE-96/13 de <i>Lentinula edodes</i> , com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.....	56
Figura 4.9	Crescimento micelial da linhagem LE-98/55 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	56
Figura 4.10	Crescimento micelial da linhagem LE-98/55 de <i>Lentinula edodes</i> , com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.....	57
Figura 4.11	Crescimento micelial da linhagem CCB-515 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	57
Figura 4.12	Crescimento micelial da linhagem CCB-515 de <i>Lentinula edodes</i> , com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.....	58
Figura 4.13	Crescimento micelial da linhagem CCB-514 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	58
Figura 4.14	Crescimento micelial da linhagem CCB-514 de <i>Lentinula edodes</i> , com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.....	59
Figura 4.15	Crescimento micelial de todas as linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 1 (65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).....	59
Figura 4.16	Crescimento micelial de todas as linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 2 (60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).....	60
Figura 4.17	Crescimento micelial de todas as linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 3 (95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca).....	60
Figura 4.18	Crescimento micelial de todas as linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 4 (65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).....	61

Figura 4.19	Crescimento micelial de todas as linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 5 (60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).....	61
Figura 4.20	Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 6 (95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	62
Figura 4.21	Aspecto dos blocos com 60 dias da linhagem LE-96/13 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	64
Figura 4.22	Aspecto dos blocos com 60 dias da linhagem CCB-515 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	64
Figura 4.23	Aspecto dos blocos com 90 dias da linhagem LE-96/13 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	65
Figura 4.24	Aspecto dos blocos com 90 dias da linhagem LE-98/55 de <i>Lentinula edodes</i> . (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	65
Figura 4.25	Aspecto do bloco com aproximadamente 120 dias da linhagem LE-98/55 de <i>Lentinula edodes</i> no tratamento 3 com basidiomas.....	66
Figura 4.26	Aspecto do bloco com aproximadamente 120 dias da linhagem LE-98/55, de <i>Lentinula edodes</i> no tratamento 2 com primórdios.....	66
Figura 4.27	Gráfico de <i>eficiência</i> biológica (em %) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	69
Figura 4.28	Gráfico de rendimento (em %) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	71

- Figura 4.29** Gráfico do peso fresco total dos cogumelos (em gramas/por quilograma) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca)..... 72
- Figura 4.30** Gráfico da quantidade de cogumelos (em número de basidiocarpos) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca)..... 74
- Figura 4.31** Gráfico de tempo de emissão de primórdios (em dias) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca)..... 75
- Figura 4.32** Gráfico de período de produção (em dias) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca)..... 76
- Figura 4.33** Quantidade de cogumelos obtidos nos 6 tratamentos, de acordo com o tamanho e formato, de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca)..... 78

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 2.1 Composição química e valor calórico das bainhas medianas de palmeira-real (<i>Archontophoenix alexandrae</i>).....	13
Tabela 2.2 Conteúdo de minerais em mg/100g das bainhas medianas de palmeira-real (<i>Archontophoenix alexandrae</i>).....	13
Tabela 2.3 Teor total de sais solúveis (kg.m ⁻³), condutividade elétrica (dSm ⁻¹), nitrogênio (%) e carbono (%), dos diferentes resíduos da palmeira-real (<i>Archontophoenix alexandrae</i>)..	13
Tabela 3.1 Ensaio realizados e seus objetivos.....	31
Tabela 3.2 Composição química do farelo de soja peletizado (46%) conforme certificado de garantia de qualidade da Bünge Alimentos.....	35
Tabela 3.3 Composição físico-química do bagaço de mandioca.....	36
Tabela 3.4 Fatores e níveis utilizados no estudo com Placas de Petri.....	36
Tabela 3.5 Concentração dos componentes avaliados em 3 níveis mantendo valores máximos na fração bainha de palmeira-real.....	37
Tabela 3.6 Concentração dos componentes avaliados em 3 níveis mantendo valores máximo na fração estipe de palmeira-real.....	37
Tabela 3.7 Valores percentuais de bainha, estipe, bagaço de mandioca e farelo de soja empregados no sistema de crescimento micelial em tubos de ensaio e sacos de polipropileno.....	38
Tabela 4.1 Dados sobre velocidade média radial total, intervalo de confiança, velocidade média na fase log, equação da reta e o coeficiente de determinação, dos tratamentos com predominância de bainha de <i>Lentinula edodes</i> linhagem LE-96/13. (B1 = 0,3g de estipe e 2,7g de bainha; B2 = 2,5g de estipe e 0,5g de bainha; B3 = 0,3g de estipe, 1g de bagaço de mandioca e 2,7g de bainha; B4 = 2,5g de estipe, 1g de bagaço de mandioca e 0,5g de bainha; B5 = 0,3g de estipe, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de bainha; B6 = 2,5g de estipe, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de bainha; B7 = 0,3g de estipe, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de bainha; B8 = 2,5g de estipe, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de bainha e o B0 = 1,6g de estipe, 0,5g de bagaço de mandioca, 0,075g de farelo de soja e 1,4g de bainha).....	47
Tabela 4.2 Dados sobre velocidade média radial total, intervalo de confiança, velocidade média na fase log, equação da reta e o coeficiente de determinação, dos tratamentos com predominância de estipe de <i>Lentinula edodes</i> linhagem LE-96/13. (E1 = 0,3g de bainha e 2,7g de estipe; E2 = 2,5g de bainha e 0,5g de estipe; E3 = 0,3g de bainha, 1g de bagaço de mandioca e 2,7g de estipe; E4 = 2,5g de bainha, 1g de bagaço de mandioca e 0,5g de estipe; E5 = 0,3g de bainha, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de estipe; E6 = 2,5g de bainha, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de estipe; E7 = 0,3g de bainha, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de estipe; E8 = 2,5g de bainha, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de estipe e o E0 = 1,6g de bainha, 0,5g de bagaço de mandioca, 0,075g de farelo de soja e 1,4g de estipe).....	49

Tabela 4.3	Dados do crescimento micelial em tubos de ensaio (em mm) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	52
Tabela 4.4	Valores da Análise de Variância e do Teste de Tukey para o experimento em tubos de ensaio, de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	53
Tabela 4.5	Dados de velocidade média em tubos de ensaio (em mm) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	54
Tabela 4.6	Dados de eficiência biológica (em %) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	68
Tabela 4.7	Dados de rendimento (em %) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	70
Tabela 4.8	Dados de peso fresco total dos cogumelos (em gramas/por quilograma) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	72
Tabela 4.9	Eficiência biológica obtida em várias espécies de madeira utilizadas para o cultivo de <i>Lentinula edodes</i>	73
Tabela 4.10	Dados da quantidade de cogumelos (em número de basidiocarpos) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	74

Tabela 4.11	Tempo de emissão de primórdios (em dias) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	75
Tabela 4.12	Dados de período de produção (em dias) de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	76
Tabela 4.13	Quantidade de cogumelos de acordo com o tamanho e formato de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	77
Tabela 4.14	Análise de Variância aplicada aos dados de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total dos cogumelos, tempo de emissão de primórdios e período de produção de cogumelos de <i>Lentinula edodes</i>	80
Tabela 4.15	Comparação entre tratamentos e entre linhagens, utilizando o Teste de Tukey, com relação à eficiência biológica, o rendimento, o peso fresco total dos cogumelos, a quantidade de cogumelos, o tempo de emissão de primórdios, e o período de produção de cogumelos de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	81
Tabela 4.16	Médias do Teste de Tukey de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total dos cogumelos, quantidade de cogumelos, tempo de emissão de primórdios e período de produção de cogumelos, de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	82
Tabela 4.17	Linhagens mais produtivas e tratamentos de acordo com os dados obtidos de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total, quantidade, tempo de produção de primórdios e período de produção, de <i>Lentinula edodes</i> linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).....	84

RESUMO

As agroindústrias têm gerado quantidades expressivas de resíduos, o que torna necessário rever a sua destinação na cadeia produtiva, pois além de ser um problema econômico, devido ao desperdício, é também, um sério problema ambiental. Em Santa Catarina, um dos processos tradicionais do agronegócio é a produção de palmito que, na última década, está sendo extraído, na sua maioria, da palmeira-real-da-austrália (*Archontophoenix* spp.). O processo origina quantidades expressivas de bainhas, folhas e estipes que ainda não possuem destinação adequada e, pouco tem sido estudado sobre a potencialidade econômica dos mesmos. Assim sendo, este trabalho teve como objetivo analisar a viabilidade dos resíduos de bainha mediana e estipe como substratos para a produção axênica de shiitake (*Lentinula edodes*). Para o estudo foram empregadas as linhagens de *Lentinula edodes*, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514 e, como suplementos para os cultivos, foram utilizados além dos resíduos-base, outros resíduos agroindustriais: o bagaço de mandioca e o farelo de soja. Inicialmente, foi avaliado o crescimento micelial radial em placas de Petri com diferentes combinações de substratos que resultaram em 9 tratamentos para cada resíduo (bainha e estipe). Em seguida, foi determinado o crescimento micelial axial em tubos de ensaio contendo os substratos para produção axênica (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca). Por fim, realizou-se o cultivo axênico das linhagens em sacos de polipropileno em condições controladas de temperatura e umidade durante 147 dias. O crescimento micelial radial foi superior nos meios com predominância de estipe (2,9mm/dia). No experimento com substrato axênico em tubo de ensaio, o maior crescimento ocorreu em meio contendo 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja (87,5mm). No entanto, a produção do basidioma foi superior nos meios contendo bainha mediana com o máximo de 60% de eficiência biológica. Das linhagens testadas a *L. edodes* LE-96/13 foi a que apresentou a maior produção de basidiomas, seguida da LE-98/55. Quanto ao emprego do estipe como substrato para produção axênica das linhagens testadas, o mesmo não se mostrou apropriado, uma vez que os blocos de cultivo não apresentaram a consistência e a porosidade adequadas. Desta forma, comprova-se a possibilidade de utilização das bainhas medianas no cultivo de shiitake.

Palavras chave: *Lentinula edodes*, palmeira real, resíduo, bainhas medianas, estipe.

ABSTRACT

The agroindustries have generated expressive amounts of residues, what makes important to reevaluate their role on the productive chain, because not only it means a serious economic problem due to the waste, but also it is a serious environmental problem. In Santa Catarina, one of the traditional processes of the agribusiness involves the production of heart of palm that, in the last decade, has been extracted, in the majority, from the Australian king palm tree (*Archontophoenix* spp.). The process originates expressive quantities of leaf sheaths, leaves and trunks that have not found a properly destination yet and little has been about their economic potentialities. This way, the present work aimed to analyze the viability of the residues of the median sheath and trunk as substrates for the axenic production of shiitake (*Lentinula edodes*). In this study it was used the strains of *Lentinula edodes*, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 and CCB-514 and, as supplements for cultivation, it was used other agroindustrial residues: cassava starch and soybean meal. Firstly it was evaluated the radial mycelial growth in Petri dishes with different combinations of substrates which resulted in 9 treatments for each palm residue. Then it was determined the axial mycelial growth in test tubes containing the substrates for the axenic production (T1 = 65% of sheath, 30% de of cassava starch 5% of soybean meal; T2 = 60% of sheath, 35% of cassava starch and 5% soybean meal; T3 = 95% of sheath and 5% of cassava starch; T4 = 65% of trunk, 30% of cassava starch and 5% of soybean meal; T5 = 60% of trunk, 35% of cassava starch and 5% of soy meal and T6 = 95% of trunk and 5% cassava starch). Finally it was performed the axenic cultivation of the strains in polypropylene bags under controlled conditions of temperature and humidity for 147 days. The radial mycelial growth was higher in the media that presented a predominance of trunk (2,9mm/dia). In the experiment with axenic substrate in the test tube, the higher growth took place in the medium containing 60% of trunk, 35% of cassava starch and 5% of soybean meal (87,5mm). However, the production of basidiome was higher in the media containing median sheath with a maximum of 60% of biological. From the tested strains the *L. edodes* LE-96/13 was the one that presented the higher production of basidiomes, followed by LE-98/55. In relation to the use of trunk as a substrate for the axenic production of the tested strains, it did not show to be appropriate to do so, as soon as the cultivation blocks did not present consistence and porosity. The leaf sheath utilization in the shiitake cultivation is possible proved in this way.

Keywords: *Lentinula edodes*, king palm, residue, leaf sheath, trunk.

1. INTRODUÇÃO

A industrialização do palmito nas regiões Sul e Sudeste teve início na década de 30 e, atendida a demanda interna, iniciaram-se na década de 50, as exportações, sendo o Brasil, além de maior produtor e consumidor durante alguns anos o maior exportador, com receitas anuais de 30 milhões de dólares, até 1995 (RAMOS; HECK, 2003).

Atualmente, o mercado mundial do palmito movimenta algo em torno dos 500 milhões de dólares anuais, com o Brasil produzindo cerca de 95% do palmito mundial. Embora não se compare as *commodities* do agronegócio em valor bruto da produção, a economia do palmito é expressiva e com forte apelo social, pois seu processamento envolve grande quantidade de mão de obra. Atraídas pela abundância da matéria-prima e pela simplicidade da tecnologia de processamento, as indústrias de conserva desta hortaliça se proliferaram e, conseqüentemente, esgotaram as reservas naturais de palmáceas do gênero *Euterpe*, as mais utilizadas para produção de palmito, até então, em muitas regiões do país.

Segundo Bovi (2006), devido ao caráter extrativo dessa exploração, há uma grande dificuldade em padronizar a matéria-prima, o que afeta a qualidade do palmito em conserva. Assim, procurou-se, através do uso racional de outras palmeiras, melhorar a situação atual de exploração, bem como, aumentar a qualidade do produto final. Portanto, a principal palmácea introduzida para tal finalidade em Santa Catarina, foram as palmeiras-reais-da-austrália (*Archontophoenix* spp).

O cultivo para produção de palmito proveniente da palmeira real foi desenvolvido, inicialmente, na região litorânea de Santa Catarina, tendo sido o estado pioneiro no plantio desta palmácea. A atividade, que vem crescendo ano a ano, se estendeu para o norte do Paraná e para o Rio Grande do Sul. No entanto, o desperdício e a geração de resíduos desta atividade econômica estão se tornando uma preocupação, principalmente pelo grande volume gerado e disposição final dos materiais. De acordo com dados apresentados no III Encontro Nacional de Produtores de Palmeira Real em 2005, para cada 1 kg de palmito processado, são gerados 3 a 4 kg de bainhas medianas nas unidades de processamento. Além disso, no corte da planta também são gerados resíduos que são dispensados no campo, como as bainhas externas, o restante das folhas e o estipe (caule), o que está contribuindo para o aparecimento de pragas.

Diante disso, o desenvolvimento de tecnologias para uso desta biomassa como forma primeira de redução dos passivos ambientais e, posteriormente, para fins econômicos, é

prática que vem sendo desenvolvida nos laboratórios de Engenharia Bioquímica e de Processamento de Alimentos da Universidade Regional de Blumenau, nos últimos anos.

Recentemente, a bainha mediana, pela sua qualidade nutricional, foi analisada como ingrediente potencial no desenvolvimento de produtos de panificação (VIEIRA, 2006; SCHAEFER; TAVARES, 2007). No entanto, os principais trabalhos já desenvolvidos nos citados laboratórios buscam atendimento aos processos biológicos de aproveitamento dos resíduos. Destes trabalhos, destacam-se os estudos de Santos et al. (2005), que testaram a bainha como substrato para produção de basidioma de fungos do gênero *Polyporus* e produção de metabólitos de interesse farmacêutico. Lieb et al. (2005), utilizaram a bainha como substrato para produção micelial de *Polyporus tricholoma* em reator de coluna em sistema sólido (FES – fermentação em estado sólido). Neste trabalho, os autores determinaram a atividade antimicrobiana deste fungo frente à bactéria *Staphylococcus aureus*. Foi detectada a produção do composto isodrimenediol, um sesquiterpeno já identificado como agente com atividade antibacteriana por Vieira et al. (2005), e antifúngica em cultivo de *P. arcularius* por Cabrera et al. (2002). A produção de enzimas hidrolíticas por fungos do gênero *Polyporus* também foi testada em FES com resíduo de bainha mediana (ISRAEL, 2005).

A bainha mediana de palmito juçara apresenta uma relação carbono nitrogênio de aproximadamente 64:1, com uma concentração em macro e microelementos adequada a produção axênica do cogumelo shiitake (TONINI, 2004). Este resíduo quando suplementado com bagaço de mandioca e farelo de soja, proporcionou a produção de shiitake após 100 dias de cultivo (SANTOS; TAVARES, 2004). A bainha mediana também apresenta uma concentração em lignina de aproximadamente 20% (TONINI, 2004), o que a torna um substrato adequado para cultivo axênico de fungos de podridão branca como o shiitake. No entanto, parâmetros como o rendimento e eficiência biológica na produção axênica de shiitake, neste resíduo, são desconhecidos. Além disso, não há registros sobre a potencialidade do estipe da palmeira real como substrato para cultivo de fungos. Desta maneira, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial dos resíduos bainhas medianas e estipes na produção axênica de shiitake (*Lentinula edodes*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESÍDUOS DO AGRONEGÓCIO

Agroindústrias são empresas de processamento de matérias-primas provenientes da agricultura e pecuária, que geram toneladas de resíduos. No entanto, este setor não é considerado pela sociedade como um setor que afeta o meio ambiente. Isto pode ser decorrente do fato de a sociedade dar grande valor a contribuição da atividade agro-industrial na produção de alimentos (DALSENTER, 2000).

De acordo com a mesma autora, em agosto de 1981 foi promulgada a Lei nº 6.938, que trata da Política Nacional do Meio Ambiente. Com esta lei, surgem, em nível nacional, instrumentos que apóiam a prática da gestão e planejamento ambiental, tais como o estabelecimento de padrões de qualidade ambiental, o zoneamento ambiental, a avaliação de impactos ambientais, criação de espaços territoriais para conservação, educação ambiental e o controle da poluição através do licenciamento para atividades poluidoras. No artigo 2º, inciso XII desta lei, está explícito que os complexos e unidades agro-industriais exercem atividades modificadoras do meio ambiente, dependendo, assim, da elaboração de Estudo de Impacto Ambiental – EIA, e do respectivo Relatório de Impacto Ambiental – RIMA, para que possam obter o licenciamento para suas atividades.

Diversos países, tal como o Brasil, que têm sua economia baseada nas atividades agrícolas, desperdiçam grande parte de sua produção sob a forma de resíduos com alto índice de matéria orgânica. O uso destes resíduos representa a otimização da produção agrícola, reduzindo o desperdício, canalizando-os de volta para o processo produtivo e aumentando seu valor agregado. Isso, além de propiciar a redução do seu volume, elimina um possível impacto ambiental (SANTOS, 2000).

A demanda por alimentos provoca o aumento da produtividade agrícola e pecuária e o conseqüente aumento da ocupação de áreas cultivadas e para rebanho. Amplia-se o agronegócio, e o ciclo produtivo provoca acréscimo de resíduos vegetais como palhas e folhas, cascas, bagaços e farelos. Estima-se que mais da metade dos resíduos gerados permaneça inutilizada, cerca de 30 a 60% sendo queimada, e o restante ou é incorporado ao solo como adubo ou destinado à produção de ração animal (BEUX, 1995).

Segundo Chang (2003), o Brasil produz uma grande quantidade de resíduos lignocelulósicos anualmente. Em 1999, a produção de farelo de cereais no Brasil foi estimada

em 96,4 milhões de toneladas; de bagaço, 276,6 milhões de toneladas; de resíduos de café, 1,6 milhões de toneladas; e cascas de semente de algodão, 254 mil toneladas.

Os resíduos lignocelulósicos, usualmente, possuem valor comercial insignificante e certamente não possuem valor alimentar na sua forma original. Quando são dispostos imprudentemente no ambiente do entorno, perto de depósitos, podem causar incêndios, poluição ambiental e problemas de saúde (CHANG, 2003). A incorporação ao solo de matéria orgânica não decomposta implica no processo de humidificação, mobilizando intensa atividade microbiana, o que provoca, temporariamente, uma deficiência de nitrogênio, o qual é consumido pelos microorganismos em detrimento das plantas (SANTOS, 2000). Existe também, uma limitação para uso como ração animal, pois muitos destes resíduos possuem baixo valor nutritivo e altos teores de sílica, lignina e celulose, e precisam sofrer previamente tratamento químico e, posteriormente, serem suplementados (TONINI, 2004).

2.2 CONCEITO ZERI APLICADO À PRODUÇÃO DE COGUMELOS

Os problemas ambientais sempre acompanharam a humanidade. Mas, discussões a respeito da crescente pressão exercida sobre os recursos naturais pela atividade antrópica, e da importância da educação e do desenvolvimento integrado das bacias hidrográficas, começaram a adquirir ênfase, a partir de 1949, com a Conferência Científica das Nações Unidas sobre a Conservação e Utilização dos Recursos. A questão ambiental, propriamente dita, passa a chamar a atenção a partir da década de 60. E, na Conferência de Estocolmo, em 1972, já se observava a preocupação com a conservação dos recursos naturais para atender as necessidades das gerações presentes, assim como para as gerações futuras. (DALSENER, 2000).

Capra (1996), comenta que reconectar-se com a teia da vida significa construir, nutrir e educar comunidades sustentáveis, nas quais podem satisfazer as aspirações e necessidades do ser humano, sem diminuir as chances das gerações futuras. Ser ecologicamente alfabetizado, ou “eco-alfabetizado”, significa entender os princípios de organização das comunidades ecológicas (ecossistemas) e usar esses princípios para criar comunidades humanas sustentáveis.

Na natureza, a matéria está continuamente circulando, devido a isso o saldo de resíduos gerados é zero. Por outro lado, as indústrias retiram da natureza os recursos naturais, transformam em produto, e eliminam muitos resíduos. De acordo com o princípio do projeto

ecológico, “os resíduos são alimentos”, o que significa dizer que os resíduos gerados por uma indústria devem servir para “nutrir” outra empresa, ou qualquer outra coisa (CAPRA, 2002).

De acordo com o mesmo autor, os agrupamentos ecológicos de indústrias já foram implantados em diversas partes do mundo pela organização chamada “Zero Emissions Research and Initiatives (ZERI)”. Criada pelo empresário Gunter Pauli, ele se baseou no princípio de emissão zero, ou seja, zero de resíduos e zero de desperdícios. As empresas atuais jogam fora a maior parte do que extraem da natureza. O ZERI procura agrupar as indústrias de maneira que os resíduos de uma possam ser vendidos como produto para outras, com benefício para as duas. O agrupamento ecológico aumenta a produtividade, gera empregos e diminui a poluição.

Segundo Dalsenter (2000), a UNU (United Nations University) lançou a proposta ZERI como uma forma de pesquisar estratégias para promover o desenvolvimento sustentável, que foi proclamado na Conferência de Estocolmo e consagrado na Rio-92. O objetivo do ZERI é alcançar uma produtividade sustentável: zero de emissão, zero de resíduo e completo uso de materiais não trabalhados, brutos. Todo resíduo é eliminado. Nada mais será desperdiçado.

Sendo sistemas abertos, todos os organismos de um ecossistema produzem resíduos, mas o que é resíduo para uma espécie é alimento para outra, de modo que o ecossistema como um todo permanece livre de resíduos. Um dos principais desacordos entre a economia e a ecologia deriva do fato de que a natureza é cíclica, enquanto que os sistemas industriais são lineares. As atividades comerciais extraem recursos, transforma-os em produtos e em resíduos, e vendem os produtos a consumidores, que descartam ainda mais resíduos depois de ter consumido os produtos. Os padrões sustentáveis de produção e de consumo precisam ser cíclicos, imitando os processos cíclicos da natureza (CAPRA, 1996).

A emissão zero permite a uma indústria utilizar seu próprio resíduo como material bruto, não trabalhado, ou que outra indústria possa utilizá-lo, para realizar um total ciclo de insumos, com indústrias se organizando em grupos (*clusters*), tal que o resíduo ou subproduto, sem valor para uma atividade, possa ser convertido num insumo de valor agregado para outras. O ZERI nasceu das mudanças ocorridas, principalmente, no setor industrial, para que este harmonizasse seus sistemas produtivos e sociais com os da natureza. Assim, os fundamentos conceituais do ZERI se baseiam na observação dos sistemas da natureza e da reflexão sobre os sistemas de valores da sociedade (ISRAEL, 2005).

A objeção feita com maior frequência, em relação ao conceito ZERI é a de que “zero emissão é impossível”. Mas o ZERI é um ideal que conduz a uma busca para atingir a

perfeição. Se a emissão zero é impossível, busca-se o ponto mais próximo possível a ele (DALSENTER, 2000). Nesta linha de pensamento, a produção de cogumelos é uma das atividades que tem sido bem sucedida em vários países, buscando atender o conceito ZERI, empregando resíduos lignocelulósicos.

Os resíduos lignocelulósicos consistem de três componentes basicamente: celulose, hemicelulose e lignina, com 50%, 20-30% e 10-20%, respectivamente. A bioconversão destes resíduos no cultivo de diversos fungos comestíveis promove recursos altamente nutritivos na alimentação humana (ISHIKAWA, 2001). Na área da saúde, vários cogumelos produzem uma gama de metabólitos de interesse farmacêutico, tais como compostos antimicrobianos (VIEIRA, 2005), polissacarídeos antitumores e imunostimulantes (JANSEN; GROOT, 2004).

Se o Brasil utilizasse 1/3 dos resíduos lignocelulósicos produzidos, o que equivaleria a 125,6 milhões de toneladas (estimativa feita para 1999) na produção de cogumelos poderia gerar uma produção de 84,8 milhões de toneladas de cogumelos frescos, com uma média de 67,5% de eficiência biológica (CHANG, 2003).

A civilização moderna tem enfrentado problemas com a poluição ambiental. No futuro, a população mundial deverá se conscientizar quanto à reposição dos resíduos ao meio ambiente, associado à necessidade de produção de alimento nutritivo, com baixo custo. Além disso, o sistema enzimático produzido pelos cogumelos converte os resíduos lignocelulósicos em materiais mais solúveis, possibilitando a sua utilização como adubos para plantas e reposição para o solo (SILVA, 2003).

Através de tratamento adequado, os resíduos podem ser convertidos em substratos de cultivo para fungos comestíveis e posteriormente adicionados ao solo como fertilizantes, sendo este o fundamento do princípio ZERI (BEUX, 1995).

O cultivo de cogumelos é um processo biotecnológico muito importante na sociedade moderna, não apenas pelos produtos alimentícios de alto valor nutricional e medicinal, mas também porque esses fungos podem crescer em resíduos agro-industriais, representando um dos meios mais eficientes para que estes resíduos sejam reciclados, conforme pode ser visto na Figura 2.1. A aplicação de resíduos agro-industriais nos bioprocessos, além de promover substratos alternativos, também ajuda a resolver problemas de poluição, causados pela sua disposição (SANTANA; KASUYA; VANETTI, 2004).

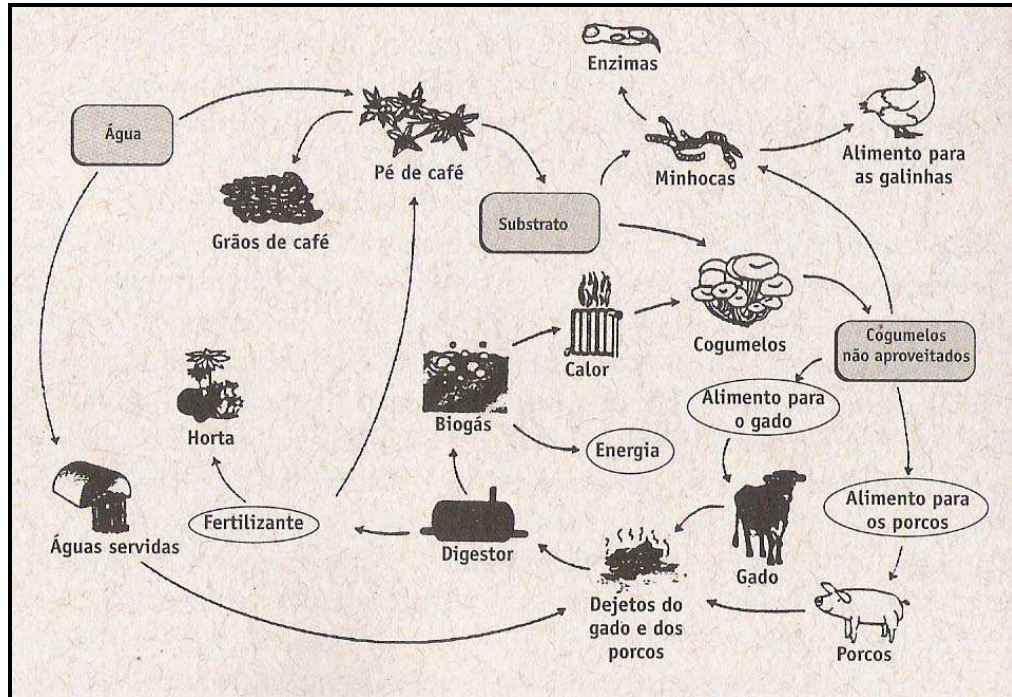


Figura 2.1: Um exemplo de agrupamento ecológico (CAPRA, 2002).

2.3 PALMEIRA-REAL-DA-AUSTRÁLIA (*Archontophoenix alexandrae*)

2.3.1 Características da *Archontophoenix alexandrae*

As palmeiras são plantas monocotiledôneas, da família Arecaceae (Palmae). São cerca de 2.600 espécies reunidas em mais 240 gêneros. Juntamente com as árvores, arbustos, gramados e plantas rasteiras, constituem elementos componentes de parques e jardins. As palmeiras estão entre as plantas mais antigas, e seus vestígios remontam a mais de 120 milhões de anos. A maior ocorrência de gêneros e espécies verifica-se nas regiões tropicais da Ásia, Indonésia, Ilhas do Pacífico e Américas (LORENZI et al., 2004).

Com relação à palmeira-real, Lorenzi et al. (2004); Vallilo et al. (2004), a descrevem como sendo solitária, chegando a 18-22m de altura, provida de palmito grosso e vistoso, de cor verde-clara. É uma palmeira rústica e adaptada às condições do sul e sudeste do Brasil, cultivada a pleno sol, porém também tolerando a meia-sombra. É exigente em água, podendo até se desenvolver em solos com pouca drenagem. Apresenta rápido crescimento, chegando a atingir até 1m por ano, tolerante ao frio subtropical. Sua origem é a Austrália, na floresta costeira da parte norte e central de Queensland. É muito utilizada em parques e jardins,

adequada para plantio isolado, em grupos ou fileiras, em amplos espaços. Nos últimos anos vem sendo cultivada no sul do Brasil para produção de palmito.

Na Austrália existem cerca de seis espécies de palmeiras do gênero *Archontophoenix*. Entre estas se conhecem e cultivam-se atualmente, no Brasil, duas espécies, *A. alexandrae* e *A. cunninghamiana*, com características morfológicas e fisiológicas próprias que as identificam (RAMOS, 2005b). *A. alexandrae*, comumente conhecida como palmeira-real, palmeira-alexandra ou seafórtia. Produz o palmito do tipo nobre, com alta qualidade e sabor superior comparado com a *Euterpe oleracea* (palmeira-açaí) (MARTINS; BOVI; NAKAGAWA, 2003). Adequada para altitudes menores que 1.000m, possui estipe único, proeminente na base, cicatrizes foliares regularmente dispostas no sentido horizontal. As folhas em plantas adultas apresentam coloração esbranquiçada na face inferior. A sua altura chega até 25m, mas pode alcançar 30 a 32m. As flores novas possuem coloração branca ou creme, os frutos possuem coloração vermelha, e as sementes são amarelo-esverdeadas (RAMOS; HECK, 2002).

De acordo com Cronquist (1988), a classificação da palmeira real *Archontophoenix alexandrae* é a seguinte:

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Liliopsida

Subclasse: Arecidae

Ordem: Arecales

Família: Arecaceae

Gênero: *Archontophoenix*

Espécie: *Archontophoenix alexandrae* (F. Muell.) H. Wendl & Drude

Essas palmeiras são adequadas ao clima subtropical ou tropical, quente e úmido, com temperatura média anual entre 20 e 22°C e não toleram condições de geadas. A precipitação pluviométrica deve variar de 1.500 a 1.970mm, com boa distribuição sazonal. A área de cultivo pode ser plana ou ondulada, desde que o suprimento de água seja adequado. Apresentam tolerância a áreas úmidas ou com encharcamentos temporários. Desenvolvem-se desde solos extremamente arenosos a solos com alto conteúdo de argila, desde que bem estruturados, sem compactação (RAMOS; HECK, 2002; VALLILO et al., 2004).

As palmeiras apresentam o sistema radicular bem denso, isso ajuda a evitar a erosão nas margens dos rios. Cultivada especialmente em regiões tropicais e subtropicais, precisa de

proteção do clima nos primeiros 2 anos. As sementes levam de 1 a 3 meses para germinar, e as plântulas são transplantadas com facilidade (BOVI, 1997).

De acordo com Lorenzi et al. (2004), os caules das palmeiras têm o nome especial de estipe ou estípite. O caule é duro e não possui casca no sentido que comumente se compreende como tal nas árvores. Possuem uma grande diversidade de folhas quanto ao tamanho, forma e divisão. As folhas são formadas essencialmente por um eixo no qual são distinguidas três partes ou regiões: bainha, pecíolo, lâmina. A bainha é a base ou região mais inferior que envolve o caule parcial ou totalmente. O pecíolo é a continuação da bainha e consiste da parte livre da folha. A lâmina ou limbo é a parte folhosa verde da folha. As inflorescências constituem a parte reprodutiva das palmeiras. As flores das palmeiras são pouco atraentes por serem muito pequenas e geralmente desprovidas de colorido vistoso. Os frutos das palmeiras são muito variáveis no tipo, cor, tamanho e forma, são popularmente conhecidos como “cocos” e “coquinhos”. A cavidade dos frutos é preenchida geralmente por uma única semente, dura e densa, com forma variada.

De acordo com a classificação agrônômica, o palmito é um alimento obtido da extremidade apical do estipe ou tronco de certas palmeiras, composto por folhas em formação (RAMOS; HECK, 2002). É encontrado nas pontas das palmeiras, onde se formam as folhas, sendo constituído por três camadas: bainhas externas, bainhas medianas e o coração do palmito. A camada externa que envolve o palmito é fibrosa, de cor esverdeada ou marrom e não é utilizada na industrialização do palmito, representa de 25% a 35% do seu peso seco, dependendo da espécie de palmito. A segunda camada, de cor mais clara e que representa de 25% a 30%, são as bainhas medianas, que também não são utilizadas na industrialização do palmito. Por fim, tem-se o miolo, também denominado coração do palmito, que contém baixo teor de fibras. Desta parte é que se produz o palmito em conserva (TONINI, 2004).

De acordo com Cronquist (1981) e Judd et al. (1999), o estipe não é ramificado e é coberto por cicatrizes das bases das folhas. Possuem ráfides e acúmulo de sílica e vários tipos de polifenóis, flavonóides e taninos. O tecido vascular é firme, com fibras silicificadas. As folhas são verdes, alternadas, geralmente grandes e com bainha basal, sendo que primeiramente é tubular, mas durante o crescimento ocorre o rompimento e abre-se na maturidade, num padrão pinado a palmado com folhas expandidas.

O estipe de algumas espécies de palmeiras é composto de material plástico, como fibras, proteínas e polissacarídeos (celulose), o que lhes confere a forma, e de material nutritivo, que preenche o interior das células como carboidratos simples e amido (VALLILO et al., 2004).

2.3.2 Potencial econômico da *Archontophoenix alexandrae*

Muitas palmeiras são de grande importância econômica pelos diferentes produtos que delas podem ser obtidos. Os produtos destinados à alimentação humana ocupam o primeiro lugar (LORENZI et al., 2004). Um dos principais produtos extraídos de palmeiras é o palmito, conhecido e usado como alimento desde épocas remotas. Várias palmeiras são usadas para tal fim, sendo mais comuns aquelas do gênero *Euterpe* (YASUDA; VITORINO; BUSS, 2005).

A industrialização do palmito começou nas regiões Sul e Sudeste na década de 30, e na década de 50 tiveram início as exportações. A primeira espécie utilizada para a produção do palmito no Brasil foi a *Euterpe edulis*, o palmito-juçara. É uma palmeira nativa da Mata Atlântica, ocorrendo desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, alcançando ainda países vizinhos, como a Argentina, Paraguai e Uruguai. Tem como principais desvantagens o fato de ser palmeira de estipe único, além de apresentar desenvolvimento lento e baixa sobrevivência a campo. Esses fatores, associados às exigências da legislação vigente e aos freqüentes roubos praticados por palmiteiros profissionais, desestimulam o cultivo e/ou manejo dessa espécie (BOVI, 2006). Devido à abundância de matéria-prima e a simplicidade do processamento, o extrativismo esgotou os estoques naturais de *Euterpe edulis*, nativa da Floresta Atlântica. A partir de 1975 as indústrias migraram para o norte, iniciando o processo extrativista da *Euterpe oleracea*, a palmeira-açaí. Tornou-se necessária a busca por alternativas para produção de palmito, em cultivos racionalmente conduzidos. Existem palmeiras adequadas para este tipo de cultivo, uma delas é a *Archontophoenix* spp. O cultivo para produção de palmito foi desenvolvido inicialmente na região litorânea de Santa Catarina, onde foi usada *A. alexandrae* e também *A. cunninghamiana*, além de híbridos entre as mesmas, que há várias décadas eram usadas em jardins e alamedas, como plantas ornamentais (BOVI, 2006; RAMOS; HECK, 2002).

Entre 1970 e 1974 houve o fechamento de diversas indústrias no Paraná, São Paulo e Santa Catarina, e a transferência de empresas para o Pará. Entre 1974 e 1976 a produção (extração) de palmito teve um crescimento de 600%. No entanto, como o sistema de extrativismo não é mais permitido, iniciaram-se as lavouras de palmeira-real, comercialmente, em 1997. Estima-se que a área plantada desta palmeira seja de 1.500 ha no estado de Santa Catarina. Existem 23 agroindústrias legalizadas, mas existe muito envase clandestino (RODRIGUES, 2003).

A prática extrativista do palmito-juçara (*E. edulis*) vem comprometendo a sua regeneração natural a ponto de eliminar a espécie em vastas áreas dentro de sua área de

distribuição natural. Assim, a palmeira-real-da-austrália (*Archontophoenix* spp.), além de outras espécies, vem sendo produzida em plantios programados, cultivos racionalmente conduzidos, justamente para suprir a demanda da indústria, no intuito de minimizar a pressão sobre as áreas em que ocorre o palmito-juçara, já que estas são protegidas por lei (YASUDA; VITORINO; BUSS, 2005).

O Brasil é responsável por 95% do mercado mundial de palmito. De acordo com dados do IBGE, a produção anual de palmito é de 210 mil toneladas, 92% vêm do estado do Pará, e 10% do palmito é exportado. Quanto maior a exportação, maior é a exploração predatória, e estima-se de que em poucos anos, o país não disponha de volume suficiente para o mercado interno (BOVI, 1997). Em 2000 a extração e o cultivo de palmito chegaram a 41.510t, em 2001 foi de 43.272t e em 2002 alcançou 55.648t (RODRIGUES, 2005).

Estima-se que o mercado mundial de palmito movimenta algo entre US\$ 300 milhões a US\$ 500 milhões anuais. Esta atividade cresceu e se expandiu de forma extrativista, gerando problemas sócio-econômicos e ambientais. Devido à exaustão dos estoques do palmito *Euterpe oleracea* na região da Mata Atlântica e do escasseamento do açaí no Amapá, Maranhão, Pará e Tocantins, aumenta a pressão do governo e outras entidades para regular, fiscalizar e impedir a extração dos recursos naturais. Devem-se então buscar novas formas de manejo e extração, para produzir matéria-prima. Os clientes buscam cada vez mais qualidade nos produtos, e o agronegócio deve se profissionalizar e investir para responder à esta exigência (RODRIGUES, 2003).

O Zoneamento Agrícola para a *Archontophoenix* (Figura 2.2) visa viabilizar soluções tecnológicas para um agronegócio competitivo, na medida em que seu foco central é de procurar reduzir os riscos climáticos na agricultura brasileira, diminuindo, substancialmente, as perdas agrícolas devidas a fatores climáticos e orientar o crédito e o seguro agrícola para tomada de decisão referente ao calendário de plantio (PANDOLFO et al., 2005).

De acordo com Yasuda, Vitorino e Buss, (2005) a espécie *A. alexandrae* é cultivada em monocultura. Aliada a sua forma de plantio e manejo, e as características climáticas das áreas de plantios, favorecendo o aumento de pragas na cultura, que depois de estabelecidas causam prejuízos de ordem econômica.

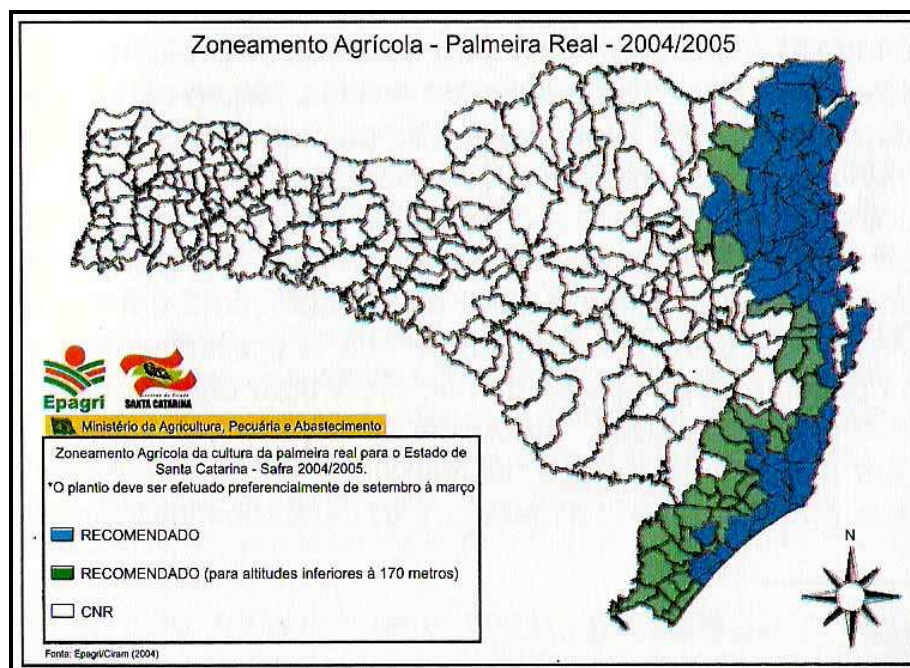


Figura 2.2: Zoneamento agrícola para a palmeira-real em Santa Catarina (RODRIGUES, 2005).

2.3.3 O resíduo do processamento do palmito da palmeira-real

As plantas cultivadas comercialmente podem, às vezes, ter uso múltiplo, ou seja, aproveitamento comercial de outras partes além daquelas convencionalmente projetadas. No caso das palmeiras cultivadas para produção de palmito, partes não aproveitáveis podem constituir matéria-prima para outros fins (RAMOS, 2005a).

O mesmo autor dividiu as palmeiras em: estipe – parte exposta do caule, do solo à base da bainha mais velha (externa); bainha – subdividida em vários componentes: bainhas, material descartado e o palmito; folhas. Em média, 34,6% equivalem ao estipe, 27,7% as folhas, 37,7% as bainhas, onde estaria incluído o palmito com 1,4% do peso total da palmeira.

As bainhas de palmeira real foram avaliadas por Vieira (2006), sendo determinados diversos parâmetros nutricionais. A composição química das bainhas medianas da palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*) está apresentada na Tabela 2.1, onde se observam altos teores de fibras alimentares, proteínas e resíduo mineral fixo (cinzas).

Tabela 2.1: Composição química e valor calórico das bainhas medianas de palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*).

Composição	Bainhas medianas g/100g
Umidade	8,81 ± 0,02
Cinzas	4,28 ± 0,05
Extrato Etéreo	0,98 ± 0,08
Proteína (N x 6,25)	3,62 ± 0,09
Fibra alimentar total	72,9 ± 0,03
Fibras solúveis	3,65 ± 0,02
Fibras insolúveis	69,2 ± 0,03
Carboidratos totais	82,3 ± 0,05
Kcal/100g	352 ± 0,07

Fonte: VIEIRA, (2006).

Vieira (2006), também constatou a presença dos oito macrominerais (Tabela 2.2) na bainha, sendo os de maior quantidade o cálcio, seguido do magnésio.

Tabela 2.2: Conteúdo de minerais em mg/100g das bainhas medianas de palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*).

Elementos	Bainhas medianas Mg/100g
Ca	892 ± 2,50
Mg	850 ± 7,00
Fe	6,94 ± 0,07
Zn	3,11 ± 0,15
Mn	5,19 ± 0,04
Na	3,87 ± 0,01
P	31,5 ± 0,05
K	695 ± 0,60

Fonte: VIEIRA, (2006).

Quanto ao estipe, este apresenta alto teor em fibra, apresentando algumas características conforme apresentado na Tabela 2.3.

Tabela 2.3: Teor total de sais solúveis ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$), condutividade elétrica (dSm^{-1}), nitrogênio (%) e carbono (%), dos diferentes resíduos da palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*).

Tratamentos	TTSS ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Ce (dSm^{-1})	pH	N (%)	C (%)
Bainha	1,05	0,19	3,59	-	36,65
Estipe	1,99	2,55	6,00	0,33	4,93
Folículo	2,31	2,52	7,54	1,04	6,14

Fonte: ADENESKY, (2007).

2.4 REINO DOS FUNGOS

Os fungos são organismos eucariotos, com parede celular rígida e podem ser uni ou multicelulares. Não ingerem alimentos, mas devem absorver os nutrientes dissolvidos no ambiente. Dentre os fungos terrestres têm-se as leveduras, bolores, orelhas-de-pau, fungos em forma de taça, bufa-de-lobo e cogumelos. Todos se caracterizam pela nutrição através de absorção e, com exceção das leveduras, a maioria produz um micélio bem desenvolvido constituído de hifas septadas (possuem um septo que divide os filamentos em células distintas contendo núcleo) ou cenocíticas (não possuem septo, é uma célula longa, contendo muitos núcleos) (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

Os fungos possuem as seguintes características: são incapazes de sintetizar seu próprio alimento; a digestão é externa, através da absorção de materiais dissolvidos; geralmente são filamentosos, com parede celular feita de celulose ou quitina e a reprodução é feita por esporos. Existem muitos tipos de fungos, cerca de 100.000 espécies (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Os fungos reproduzem-se sexuadamente por intermédio de esporos ou, assexuadamente (reprodução vegetativa), pela multiplicação de qualquer fragmento do corpo de frutificação ou do micélio (EIRA, 2003). Os fungos possuem dois tipos de micélio: primário e secundário. Essas diferenças só podem ser observadas com o auxílio do microscópio. A mais importante diferença é que o micélio primário possui apenas um núcleo por célula (monocariótico). O micélio secundário possui um par de núcleos em cada célula (dicariótico). Os cogumelos produzem corpos de frutificação do micélio secundário (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990). Uma hifa cresce por alongação de sua extremidade, e cada fragmento que contenha núcleos pode gerar um novo organismo (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

Diferenciações morfológicas e fisiológicas do micélio formam os corpos de frutificação, conhecidos como basidiocarpos, carpóforos ou cogumelos. No desenvolvimento dos cogumelos, distinguem-se duas fases conhecidas como estágio vegetativo e estágio reprodutivo. O estágio vegetativo refere-se ao desenvolvimento do micélio e o reprodutivo à formação dos basidiocarpos. Durante a colonização do substrato, enzimas extracelulares são secretadas degradando a matéria orgânica transformando-a em compostos orgânicos solúveis, absorvidos pelas hifas. O crescimento do micélio resulta de uma fusão de hifas, gerando uma associação entre hifa e substrato que proporciona um forte suporte físico necessário à formação dos corpos de frutificação. Quando este estado é atingido, o micélio é considerado como estabilizado e a mudança para o estágio reprodutivo está normalmente condicionada à

variação de fatores físicos como decréscimo de temperatura e aumento de umidade (BEUX, 1995).

2.4.1 Fungos da Divisão Basidiomycota

Existe mais de 25.000 espécies de basidiomycotas, que possuem como estrutura característica o basídio (do grego = pequeno pedestal ou base pequena), uma estrutura reprodutiva microscópica em forma de clava onde ocorre a cariogamia (fusão de núcleos gaméticos) e a meiose. Cada basídio produz quatro basidiósporos haplóides, resultado de uma meiose. Os cogumelos são um basidiocarpo, e as lamelas superficiais sob o chapéu são carregadas de basídios, com os basidiósporos. No solo, um amplo sistema subterrâneo de micélios sustenta o basidiocarpo, fornecendo-lhe nutrientes (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

A maioria dos fungos é constituída por filamentos microscópicos denominados hifas, que, em conjunto, formam um emaranhado de filamentos denominado micélio. As paredes das hifas são, em geral, formadas por celulose e quitina. O cogumelo ou basidioma é constituído pelo estípite e píleo. No píleo, situam-se as lamelas em cuja superfície estão localizados os basídios que produzem e ejetam os basidiósporos, que são esporos sexuais (MINHONI et al., 2005).

Os basidiósporos são resultado de recombinação sexual. Durante a produção de esporos, a recombinação genética e a mutação ajudam o fungo a se adaptar as mudanças de condições. Em adição, muitos fungos se reproduzem assexuadamente, sem recombinação sexual, pela fragmentação da hifa. Fragmentos de micélio podem colonizar novos substratos, continuar a crescer e estabelecer uma nova colônia (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990). Os fungos multicelulares podem ser disseminados no ambiente através do vento, da água de chuva ou irrigação, em partículas de solo, por insetos, pelo homem e em materiais contaminados. O esporo, uma vez germinado, dará origem às hifas que colonizarão algum substrato (PASCHOLATI, 1998).

Como afirma Santos (2000), na divisão Basidiomycota estão incluídos os cogumelos comestíveis, e o basidiocarpo tem sua forma variável de acordo com o grupo, sendo, portanto, a base para a classificação sistemática dentro da divisão.

Os cogumelos constituem no mínimo 14.000, e talvez mais de 22.000 espécies conhecidas. O número de espécies de cogumelos é estimado em 140.000, sugerindo que apenas 10% são conhecidas (LINDEQUIST; NIEDERMEYER; JÜLICH, 2005).

Cerca de 2.000 espécies de cogumelos, pertencentes à pelo menos 30 gêneros, são consideradas comestíveis, mas apenas 20 são cultivadas comercialmente e somente sete espécies são produzidas em nível industrial, destacando-se: *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* (cogumelo ostra ou shimeji), *Volvariella volvacea*, *Pholiota nameko* (nameko), *Flammulina velutipes* (cogumelo de inverno ou talo veludo) e *Agaricus blazei* (PASCHOLATI, 1998).

Os cogumelos, através do seu complexo lignocelulolítico formado por celulases, ligninases, peroxidases, lacases, proteases, manganases e fenol oxidases dentre outras enzimas, possuem a capacidade de degradar a lignina, retirando seus grupos metoxílicos e fazendo a ruptura das ligações éster, liberando substâncias mais solúveis e expondo cadeias restantes à ação das demais enzimas (SANTOS, 2000; TONINI, 2004).

Moléculas simples têm preferência na utilização pelo fungo, sendo então, reprimida a formação de enzimas para moléculas mais complexas. Os especialistas têm distinguido três tipos principais de formas de degradação, nomeando-as de podridão branca, podridão marrom e podridão mole (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996). Os fungos de podridão mole, podem eficientemente decompor celulose, porém a degradação da lignina por estes fungos é devagar e incompleta; os fungos de podridão marrom exibem preferência pelos carboidratos que compõem a madeira, e os fungos de podridão branca, são conhecidos pela completa degradação da lignina e celulose (ISRAEL, 2005).

A maioria dos basidiomycotas pode utilizar os componentes da madeira para seu crescimento, porque possuem um sistema enzimático que os torna capazes de degradar fontes complexas de carbono, como a celulose, a hemicelulose e a lignina (TONINI, 2004).

De acordo com a mesma autora, os fungos produtores de corpos frutíferos comestíveis e medicinais são aptos para crescer em uma grande variedade de resíduos agrícolas. Essa utilização, pelos fungos, depende da sua capacidade de secretar enzimas lignocelulolíticas, que, ao degradarem estes compostos, liberam nutrientes para o crescimento fúngico.

A celulose é uma substância microfibrilar, composta por moléculas de β -1,4-glucano, com regiões cristalinas e amorfas. O complexo enzimático da celulase constitui-se em um dos mais importantes grupos de exoenzimas fúngicas, composto por celobiohidrolases e endoglucanases. As hemiceluloses são compostas por misturas complexas de polissacarídeos com vários monômeros de açúcares diferentes, tais como glicose, galactose, manose, arabiase,

xilose e ácido glucorônico. Muitas enzimas diferentes são requeridas para degradar hemicelulose, enumerando-se a arabinosidase, galactanase, glucuronidase, acetil-esterase e xilanase. A lignina é composta por polímeros ramificados de monômeros derivados do álcool cinamil, sendo o polímero orgânico aromático natural mais abundante nas plantas vasculares, vindo depois da celulose, como fonte de carbono mais disponível no planeta. Até o presente momento, apenas os fungos são conhecidos como degradadores de lignina em CO₂, apesar de algumas bactérias conseguirem até 20% de degradação. A degradação da lignina é realizada para facilitar o acesso do fungo aos demais polissacarídeos existentes na madeira. Os fungos lignolíticos não conseguem crescer em meio contendo somente lignina como fonte de carbono. As exoenzimas envolvidas no processo de degradação da lignina são a lignina-peroxidase, ligninase (peroxidase manganês-dependente) e lacase (PUTZKE; PUTZKE, 2002).

Baixos níveis de nitrogênio estimulam a degradação da lignina em diversos fungos de podridão branca; ao mesmo tempo, altas concentrações de nitrogênio promovem a degradação de polissacarídeos. A produção de endoglucanase é associada à formação de primórdios e corpos de frutificação, estágios em que ocorre um significativo incremento na atividade enzimática. Nos primeiros estágios do crescimento do shiitake (*Lentinula edodes*), a celulose e a xilana são os componentes mais abundantes no substrato, ao mesmo tempo em que a lignina é altamente decomposta (GAITÁN-HERNÁNDEZ et al., 2006).

2.5 SHIITAKE (*Lentinula edodes*)

2.5.1 Características do *Lentinula edodes*

O cogumelo *Lentinula edodes* é mundialmente conhecido como shiitake ou cogumelo japonês, cogumelo da floresta, cogumelo da árvore shii ou cogumelo chinês. Anteriormente, o shiitake era incluído no gênero *Lentinus*, mas passou ao gênero *Lentinula* a partir do trabalho de Pegler, em 1983 (EIRA, 2003).

De acordo com Moore-Landecker (1996), o shiitake possui o seguinte enquadramento taxonômico:

Reino: Fungi

Divisão: Basidiomycota

Classe: Basidiomycetes

Ordem: Agaricales

Família: Tricholomataceae

Gênero: *Lentinula*

Espécie: *Lentinula edodes* (Beck.) Pegler

O *L. edodes* (Figura 2.4) possui o píleo em forma convexa, circular ou reniforme, com 5 a 20 cm de diâmetro. A coloração da epiderme superior varia de ocre-claro a marrom escuro, sendo o restante de cor creme. O estipe é cilíndrico e varia de 3 a 7 cm de comprimento. As lamelas são aderidas ao estipe, e não possui volva nem véu (TONINI, 2004).



Figura 2.3: *Lentinula edodes* LE-96/13 cultivado em sistema axênico. (Foto da autora)

O chapéu ou píleo situa-se no topo do corpo de frutificação, é carnudo, e é a principal parte comestível, e a espessura do chapéu indica o grau de qualidade do cogumelo. As lamelas estão situadas na parte inferior do chapéu, possuem disposição radial. Nas lamelas crescem os basídios e os basidiósporos. O estipe se conecta na parte central do chapéu, dando suporte ao mesmo e transportando nutrientes e água (URBEN, 2001).

O ciclo de vida do shiitake começa com um cogumelo maduro que liberou os basidiósporos no ar, que são dispersos pelo vento. A maioria morre; no entanto, aqueles que encontrarem um lugar com substrato adequado e condições propícias, germinam e estabelecem uma nova colônia. Quando o basidiósporo germina, ele produz uma nova hifa que cresce e forma o micélio primário. Este continua a crescer indefinidamente enquanto houver substrato. Para desenvolver o micélio secundário, duas hifas primárias

(monocarióticas), contendo núcleos compatíveis (nem todos os micélios primários são compatíveis), precisam crescer juntas para formar o micélio dicariótico. No estágio vegetativo, o micélio coloniza e digere a madeira, absorve e armazena nutrientes, na preparação para a frutificação. Quando nutrientes suficientes tenham sido armazenados, o fungo vai para o estágio de frutificação. Os cogumelos são produzidos em resposta ao ambiente, mostrando frequentemente o estresse do micélio, sinalizando que é tempo de colonizar novos substratos. A formação do cogumelo começa com um pequeno grupo de hifas, chamado primórdio. Esse primórdio aumenta de tamanho, e se o ambiente for favorável, a água e os nutrientes não forem limitados, ele continua a se expandir desenvolvendo um cogumelo maduro. O cogumelo cresce e no topo cria um chapéu e desenvolve lamelas embaixo do mesmo. Com a maturação dos esporos ocorre a expansão do chapéu, expondo as lamelas. A superfície lamelar é coberta de basídios contendo basidiósporos. A fusão do núcleo dicariótico ocorre com o basídio, que imediatamente sucede a divisão reducional (meiose), e resulta em quatro basidiósporos geneticamente únicos. Os esporos maduros caem das lamelas e através de correntes de ar são carregados para novos substratos (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

2.5.2 Propriedades medicinais e nutricionais do *Lentinula edodes*

Os cogumelos necessitam de componentes antibacterianos e antifúngicos para sobreviver no seu ambiente natural. Não é de surpreender que esses componentes tenham sido isolados de muitos cogumelos, e que os mesmos possam trazer benefícios para os seres humanos. Até o momento, entre 80 a 85% de todos os produtos medicinais de cogumelos são derivados dos corpos de frutificação, que são produzidos comercialmente ou coletados da natureza. Apenas 15% dos produtos, aproximadamente, são baseados em extratos do micélio e uma pequena porcentagem de produtos é obtida de filtrados de culturas (LINDEQUIST; NIEDERMEYER; JÜLICH, 2005)

O teor de proteína bruta dos fungos comestíveis é, em média, superior ao de algumas frutas e vegetais e inferior ao de proteínas convencionalmente ingeridas como carne, peixe e ovos (TONINI, 2004).

Nas culturas orientais o shiitake (*Lentinula edodes*) é considerado o elixir da vida, e os cogumelos são parte integral de dieta diária. O shiitake é nutritivo, contém proteína, lipídios e carboidratos, e um alto número de vitaminas e minerais. Entretanto, concentrações de nutrientes e atividade biológica são afetadas pelas diferenças entre as linhagens, substrato,

condições de frutificação e método de processamento (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990). O interesse no consumo de shiitake é atribuído às suas ricas propriedades nutricionais e medicinais, e ao seu apreciável sabor, tornando-o o segundo cogumelo mais consumido no mundo (PAULA; TARSITANO; GRACIOLLI, 2001).

O *Lentinula edodes* apresenta um sabor e aroma característico, sendo o sabor oriundo da presença da guanosina 5' monofosfato e o aroma é derivado da lentionina, composto sulfuroso cíclico formado a partir da degradação do ácido lentínico durante a frutificação (BEUX, 1995; TONINI, 2004).

Contém duas vezes mais fibra dietética total que o *Agaricus bisporus*, sendo estas fibras polissacarídeos da parede celular (quitina e glucanas) os quais não são digeridos pelo homem. Dessa forma são considerados como fibras dietéticas, sendo que estas foram declaradas nutrientes em 1993 (MINHONI et al., 2005).

O recente interesse por remédios tradicionais para várias desordens fisiológicas, fez surgir o “Mushroom Nutraceuticals”, que pode ser definido como um extrato de cogumelo, consumido na forma de cápsulas ou tabletes, como um suplemento na dieta, com aplicações potencialmente terapêuticas. O uso regular causa respostas do sistema imunológico humano, como resistência a doenças e em alguns casos, regressão do estado da doença (CHANG, 1997).

São várias as atribuições medicinais ao *L. edodes*. De acordo com Chang (1997), ele é usado na prevenção de raquitismo, e auxilia no excesso de ácido gástrico. Segundo Pascholati (1998), um grande número de compostos biologicamente ativos já foram isolados e purificados do shiitake, evidenciando que ele pode reduzir os níveis de colesterol no sangue e influenciar o sistema imunológico, inibir o desenvolvimento de tumores, além de apresentar atividade antibiótica contra bactérias, fungos e vírus causadores de doenças em seres humanos. Minhoni et al. (2005), citam que o *L. edodes* possui agente hepatoprotetor, antioxidante e na proteção contra infecção do vírus do tabaco.

Muitos dos compostos do shiitake já foram identificados e purificados. A lentinana estimula o sistema imunológico, aumentando a resistência ao vírus da imunodeficiência humana (HIV). Atua também como antiviral, antibacteriano, antifúngico, no controle da diabetes e do crescimento de tumores cancerígenos. A medicina popular indica que, em humanos, o shiitake é um alimento com funções de fortificar e restaurar o organismo. Atualmente é recomendado para todas as doenças que envolvam diminuição das funções imunológicas (CAMPBELL; RACJAN, 1999; SILVA, 2003). A aplicação de lentinana em

adição a quimioterapia, leva a um prolongamento do tempo de vida, restauração dos parâmetros imunológicos e melhora na qualidade de vida de pacientes com câncer no estômago, no cólon e outros carcinomas, em comparação com pacientes que fizeram apenas quimioterapia (LINDEQUIST; NIEDERMEYER; JÜLICH, 2005).

O ácido oxálico é um dos agentes responsáveis pelo efeito antimicrobiano do *Lentinula edodes* contra o *Staphylococcus aureus* e outras bactérias. E o extrato etanólico do micélio de *L. edodes* apresenta atividade anti-protozoária contra o *Paramecium caudatum* (LINDEQUIST; NIEDERMEYER; JÜLICH, 2005).

O fungo shiitake também tem mostrado atividade contra a encefalite VSV (Vírus da estomatite vesicular) e do vírus de Abelson, com 100% de cura. Extratos dos corpos de frutificação têm se mostrado inibidores potenciais de vírus de plantas. O efeito do fungo *L. edodes* é descrito contra a levedura *Candida albicans*, pois um dos componentes isolados, denominado cortinellina, mostrou atividade antibiótica contra a levedura. Além disso, duas linhagens inibiram efetivamente a replicação do VSV e uma linhagem teve efeito sobre os fungos filamentosos. Assim, é possível ampliar a lista de efeitos benéficos de algumas linhagens de *L. edodes* no controle e prevenção de vírus patogênicos animais e de fungos filamentosos (SASAKI et al., 2001).

2.5.3 Cultivo tradicional e axênico de shiitake

Tradicionalmente, o shiitake é produzido em toros de eucalipto, mas o cultivo axênico em substratos sintéticos à base de diversos resíduos agrícolas vem ganhando espaço na produção comercial deste cogumelo, uma vez que a colheita acontece mais rapidamente e a eficiência biológica do fungo é mais elevada (ROSSI; MONTEIRO; MACHADO, 2001; TONINI, 2004).

De acordo com Beux (1995), nos países orientais o shiitake é cultivado em troncos de árvores da família Fagaceae, principalmente em *Quercus acutissima* e *Q. serrata* (carvalho), espécies vegetais típicas da região asiática e nas quais o *Lentinula edodes* desenvolve-se espontaneamente. No Brasil, em virtude da indisponibilidade destas espécies, o cultivo é realizado em troncos de *Pinus* sp. Em média, são necessários dezesseis meses para que ocorra a frutificação dos primeiros basidiocarpos. O *L. edodes* é um fungo saprófita decompositor de madeira de árvores decíduas (*Quercus serrata*, *Q. acutissima*, *Q. variabilis*, *Q. mongolica*, *Carpinus laxiflora* e *C. tschonoskii*). O micélio se desenvolve no interior dos troncos, absorvendo nutrientes. A casca protege o crescimento do micélio, e é importante no

desenvolvimento dos corpos de frutificação. Normalmente são usados toros de 13 a 25 anos, com 9cm a 40cm de diâmetro.

Os toros são cortados, e feitos pequenos orifícios, onde são colocados os inóculos (aproximadamente 1g), e depois selados com parafina. São dispostos em um local de incubação e depois de 40 a 50 dias, pode-se observar o micélio pelas laterais do tronco. A colonização completa leva de 6 a 16 meses. A frutificação requer uma queda de temperatura e aumento de umidade e luminosidade. Isso é estimulado pela imersão dos troncos em tanques com água e transferência para uma câmara com temperatura entre 15 e 20°C e umidade entre 80 e 90%. Os corpos de frutificação aparecem após alguns dias e alcançam a maturidade em 4 dias. O número de colheitas por tronco é de 3 por ano. A vida útil de cada tronco é de 3 a 4 anos. Em média, o rendimento é de 10 a 15 kg de cogumelos, para cada 100 kg de tronco, em cada colheita. A eficiência biológica dos troncos é, em média, de 18 a 27% (BEUX, 1995).

Paula, Tarsitano e Graciolli (2001), estudaram a viabilidade econômica do cultivo de shiitake em toros. Foram usadas escalas de 1000, 2000, 3000 e 4000 toros, e os valores obtidos para a implantação foram de R\$ 6.817,06; R\$ 11.382,83; R\$ 16.765,93 e R\$ 21.586,99, respectivamente. Para efetuar os cálculos, consideraram o peso inicial fresco dos toros como sendo em média 5 kg, com uma produtividade média de 150 g de cogumelo por toro por colheita, levando 1 ano e 2 meses para o início da mesma.

Existem linhagens mais apropriadas para a produção em toros de madeira e outras para cultivo axênico, existindo também interações significativas entre linhagens e substratos de cultivo. Quando o cultivo de shiitake é efetuado em condições rústicas e por período prolongado de incubação, o potencial genético de uma linhagem pode ser totalmente comprometido pela influência direta de fatores bióticos e do ambiente (EIRA, 2003).

No entanto, cada vez mais, o shiitake vem sendo produzido em cultivo axênico, em substratos a base de diversos resíduos agrícola-florestais. Isso ocorre devido à colheita acontecer de forma mais rápida e com alta eficiência biológica (TONINI et al., 2005). A utilização de resíduos representa a otimização da produção agrícola, reduzindo as perdas, agregando valores e, ainda, propiciando a redução do seu volume, diminuindo um possível impacto ambiental provocado pelo seu acúmulo. O cultivo em sacos plásticos é um método recente, se comparado ao cultivo em toros de madeira. Este método reduz o tempo de cultivo, aumenta o rendimento e produz corpos de frutificação de qualidade similar aos obtidos em troncos (SANTOS et al., 2005).

Altas e consistentes produtividades têm sido relatadas sobre o cultivo em resíduos lignocelulósicos, mais eficientes e se estendendo a novas latitudes. Diversas formulações para a preparação dos substratos têm sido registradas nos últimos 10 anos (LOPEZ et al., 2005). Estas formulações são baseadas em resíduos orgânicos, localmente disponíveis. O uso de resíduos agrícolas para o cultivo de shiitake é uma alternativa para muitos produtores. A melhor formulação de substrato é aquela que gera alto rendimento, alta qualidade dos cogumelos, com baixa taxa de contaminação (WAMBUA, 2005). Várias estratégias têm sido desenvolvidas, em muitas regiões da Ásia, para utilizar parte da vasta quantidade de resíduos lignocelulósicos gerados através dos processos das indústrias agrícola, florestal e alimentícia. (PEREIRA Jr.; CORREIA; OLIVEIRA, 2003).

O shiitake pode ser produzido em cultivo axênico, em diversos tipos de substratos ricos em lignina e celulose, pois tem a capacidade de utilizá-los como fonte de nutrientes. Para que o fungo possa utilizar estes substratos, ele precisa ter a capacidade de secretar enzimas para obter nutrientes para o seu crescimento (CHANG, 2003; PASCHOLATI, 1998; ROSSI, 1999; ROSSI; MONTEIRO; MACHADO, 2001; SILVA, 2003; SILVA; MACHUCA; MILAGRES, 2005a). O *Lentinula edodes* é considerado um fungo moderadamente lignocelulósico, pois em substratos sintéticos utiliza monossacarídeos como a glicose e polissacarídeos diversos, sendo um forte degradador de amido (BEUX, 1995).

O *L. edodes* produz grandes quantidades de hidrolases e oxidases para a bioconversão de resíduos lignocelulósicos. As diferenças das atividades enzimáticas entre as diversas linhagens promovem informações úteis sobre a participação das enzimas no desenvolvimento dos corpos de frutificação. As atividades de duas destas enzimas, a lacase e a celulase (endoglucanase) são fortemente reguladas durante o desenvolvimento dos corpos de frutificação (SILVA; MACHUCA; MILAGRES, 2005b). A produção de enzimas é parte crucial do processo de colonização do substrato e é importante na determinação do rendimento da produção de cogumelos (SANTOS et al., 2005).

Quando as hifas de cogumelos crescem em grandes quantidades de substratos (grãos, serragem, materiais celulósicos ou minerais enriquecidos), sob condições axênicas, tem-se o inóculo (termo diretamente ligado aos propágulos viáveis do fungo, as hifas), inoculante (que, além do inóculo, inclui o veículo sólido ou substrato, como serragem, grãos e outros – traduz melhor esse material sólido com o crescimento do fungo) (EIRA, 2003). O termo *spawn* é derivado do vocábulo francês *expandre*, que significa expandir, propagar (BEUX, 1995). O inóculo é o veículo de dispersão do micélio no substrato e sua preparação é a fase mais crítica do cultivo, devendo ser realizada sob condições de absoluta assepsia (SANTOS, 2000).

O inóculo consiste em um meio de crescimento que tenha sido permeado pelo micélio. É muito importante que os produtores de shiitake utilizem inóculos de alta qualidade. O inóculo é produzido a partir de uma linhagem pura do micélio de um tubo de cultura, que é multiplicado (Figura 2.5). Os grãos inoculados (*spawn*) são incubados por 2 ou 3 semanas.

Meios de cultura bastante ricos e de composição muito diferente do substrato de produção do basidioma podem levar à adaptação fisiológica do cogumelo, que pode não estar adaptado ao substrato de cultivo. Culturas de *Lentinula edodes* cujo desenvolvimento ocorreu em meio de extrato de madeira, conseguiram adaptar-se melhor aos efeitos inibitórios dos compostos presentes na madeira (MINHONI et al., 2005).

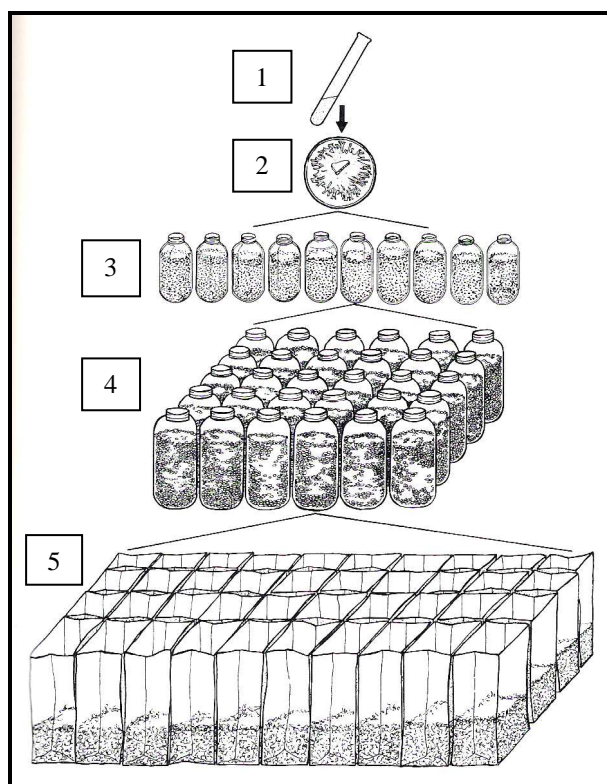


Figura 2.4: Produção de *spawn* de shiitake – 1-Matriz primária; 2-Matriz secundária; 3-Matriz terciária; 4-Matriz terciária em escala industrial e 5- Sacos de polipropileno com substratos. (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

O *spawn* de shiitake pode ser produzido em serragem enriquecida com farelo de arroz na proporção de 4:1. O uso de *spawn* obtido de substratos da mesma natureza que os usados para o cultivo do fungo podem promover um crescimento mais rápido e vigoroso do microorganismo (ROSSI et al., 2003b).

O inoculante não deve ser usado após longo período de armazenamento, pois, mesmo linhagens muito produtivas, podem apresentar diminuição no crescimento ou produção, sendo

um fenômeno comum, que pode ser atribuído à variação genética induzida por ambiente muito favorável ou desfavorável (MINHONI et al., 2005).

A biomassa microbiana cresce em um período de tempo que resulta em uma típica curva sigmoideal, que podem ser divididas em diferentes fases com características fisiológicas próprias. A primeira fase é chamada fase lag, e é caracterizada pela pequena taxa de crescimento; a segunda fase é a exponencial, ou log, caracterizada pela taxa de crescimento máxima e constante; a terceira fase descreve um declínio na taxa de crescimento e, às vezes, é observada uma fase estacionária de curta duração, e por fim a quarta e última fase, a morte do fungo (MONTINI; PASSOS; EIRA, 2006).

Usando um inóculo mais vigoroso e adaptado ao meio de substrato, evita-se uma extensa fase lag, com possível contaminação. A contaminação pode ocorrer quando o micélio demora a se desenvolver (ROSSI, 1999). Um dos principais objetivos da manutenção das coleções de linhagens de diversos cogumelos por um período longo é a preservação de características desejáveis. A contínua re-semeação nos meios de cultura fornece uma efetiva opção a curto-prazo para a preservação. O nitrogênio líquido é o meio preferido para estocar linhagens que não chegaram ao estágio de esporulação do micélio, no entanto, este processo precisa ser mais estudado, mesmo que o micélio seja congelado e adequadamente recuperado com êxito. Em estudos, obteve-se uma taxa entre 96,8 a 99,2% de espécimes recuperadas com êxito após a criopreservação, mostrando que este método pode ser usado em larga escala com linhagens de cogumelos comerciais, reduzindo os custos de mão-de-obra na produção (MATA; PÉREZ-MERLO, 2003).

No cultivo axênico, depois da mistura do substrato ser preparada, é necessário um tratamento em alta temperatura, para eliminar ou reduzir populações de organismos competidores neste substrato. O tempo e a temperatura a ser utilizada dependem do volume de substrato nos sacos de polipropileno. O tempo requerido para esterilizar é função da temperatura: se utilizar alta temperatura diminui o tempo necessário para a esterilização. A temperatura mais utilizada é 121°C. A pasteurização também é utilizada, mas não afeta os organismos termo-tolerantes, pois ela ocorre com temperaturas entre 60°C a 80°C. A inoculação é o processo de introdução de um micélio ativo dentro de um saco contendo o meio para o crescimento do shiitake. Uma vez, o substrato sendo inoculado, deve ser mantido em ambiente confortável para incubação e o rápido crescimento micelial. Durante o estágio vegetativo, a maioria das linhagens possui um melhor crescimento próximo aos 25°C. Já na frutificação, as temperaturas podem variar entre 10 - 25°C, de acordo com a linhagem (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

O micélio usualmente requer de 30 a 120 dias para a frutificação. Este período é influenciado pela linhagem utilizada, a formulação e a eficácia do substrato, a velocidade de miceliação, a distribuição do inóculo e a temperatura durante a incubação. Depois da colonização, o substrato aparece totalmente branco, e as partículas do substrato não são mais visíveis. Algumas áreas na superfície do substrato podem se tornar marrons, especialmente onde incide luz. Esse fenômeno é causado pela oxidação das polifenol-oxidases, reagindo com a luz e o oxigênio. Esse micélio marrom forma uma camada protetora por fora do substrato, atuando como barreira e defesa contra a invasão de organismos (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Durante a incubação, o micélio do shiitake está ligado ao substrato, juntos dentro do saco plástico de polipropileno. Essa massa de substrato e micélio é chamada de bloco. A partir do momento que este bloco está formado pode ser retirado o saco de polipropileno. A indução para a frutificação começa com a mudança de temperatura de 25°C para algo em torno de 16°C. A frutificação requer condições ambientais específicas: temperaturas entre 13-20°C, umidade relativa entre 75 a 95%, luz, ar fresco, nutrientes e água suficiente no bloco. É comum que no primeiro fluxo de cogumelos, tenha-se alta porcentagem de abortos e cogumelos deformados. No entanto, cogumelos normais são produzidos durante os fluxos subsequentes. Geralmente, cada fluxo termina com a colheita em 2 a 3 semanas. O tempo de colheita total dos blocos de substrato termina em 3 a 6 meses ou mais, dependendo das condições do ambiente durante a frutificação, da fórmula do substrato e tamanho do bloco (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

O crescimento micelial pode afetar enormemente a produtividade de cogumelos, dados demonstram que a formação de corpos de frutificação está diretamente relacionada à biomassa micelial do substrato (SILVA; MACHUCA; MILAGRES, 2005b).

Cogumelos shiitake são adaptados a crescer numa variedade de resíduos lignocelulósicos (ROSSI et al., 2003a). Bagaço-de-cana, melaço de cana, extrato de malte e levedura, farelo de arroz, farelo de trigo, milheto e farinha de aveia (ROSSI, 1999); palhas e outros resíduos do trigo, arroz, milho, algodão, madeira, resíduos de serraria e outros (EIRA, 2003); resíduos diversos da agroindústria como do processamento do café (SOCCOL; FAN, 2003); farelo de cereais, serragem, resíduos de fábricas têxteis, folhas de banana, jacinto d'água e resíduos do processamento de óleo de semente de girassol (CHANG, 2003); resíduos de folhas de chá, palha de trigo, de sorgo, de milho, folhas de bananeira, de mangueira, da indústria de suco de frutas, bagaço de cana-de-açúcar (SANTOS, 2000), são exemplos de substratos que podem ser utilizados. Tonini (2004), utilizou a bainha mediana do palmito

Euterpe edulis, no entanto, trabalhos com estipe para produção de basidioma ainda não foram realizados.

Silva (2003), utilizou resíduo de *Eucalyptus saligna*. Gaitán-Hernández et al. (2006), usaram resíduos de videiras, farelo de cevada e farelo de trigo. Santana, Kasuya e Vanetti (2004), utilizaram sabugo de milho fragmentado, casca de eucalipto e serragem de eucalipto, suplementados com farelo de arroz. Wambua (2005), utilizou serragem de eucalipto, mistura de serragem de várias espécies, serragem de pinheiro, bagaço-de-cana, sabugo de milho, jacinto aquático e farelo de soja, suplementados com farelo de trigo e de arroz. No entanto, a suplementação do substrato é necessária para a efetiva produção de shiitake.

2.5.4 Suplementos nutricionais utilizados no cultivo axênico

Segundo Eira (2003), se for utilizado o substrato enriquecido e a relação C/N (Carbono/Nitrogênio) estiver entre 15 a 25/1, pode ser realizado o cultivo axênico. A principal razão da utilização de substratos com relação C/N estreita, no cultivo axênico, é obter elevadas produtividades visando cobrir os custos dos processos de esterilização e assepsia e, principalmente, para obter produções no tempo e quantidades requeridas pelo mercado consumidor.

A relação C/N ideal depende da disponibilidade e concentração das fontes de carbono e nitrogênio no substrato, da linhagem e das condições de cultivo (MINHONI et al., 2005). O *Lentinula edodes* é um fungo saprófita decompositor de árvores decíduas. Nos troncos a lignina, a celulose e a hemicelulose são as fontes de carbono encontradas em maiores quantidades, gerando uma relação C/N entre 350/1 a 500/1 (BEUX, 1995).

Fontes de carbono como lignina, glicose, frutose, entre outras, são importantes fornecedoras de energia para a atividade metabólica dos cogumelos e constituem a base para síntese de diversas moléculas que resultam em aproximadamente 50% do peso da matéria seca dos corpos de frutificação, em carbono (ROSSI, 1999; ROSSI; MONTEIRO; MACHADO, 2001).

Os fungos não obtêm o carbono a partir do CO₂, mas somente do catabolismo de compostos orgânicos, como monossacarídeos, polissacarídeos, ácidos orgânicos, compostos policíclicos e lignina. O carbono é considerado uma fonte principal de energia. O nitrogênio é indispensável para assegurar a síntese de ácidos aminados e de proteínas, como as enzimas que permitem a degradação do substrato (BEUX, 1995).

Nitrogênio suplementar pode ser adicionado aos substratos lignocelulósicos, servindo de nutriente que promove um ótimo crescimento médio. Farelos de cereais, palhas de trigo contendo malte, por serem produtos do processo de fabricação de cerveja, são ricos em nitrogênio. Os farelos comerciais mais usados são os de arroz, de trigo e de soja. Acredita-se que a baixa quantidade de nitrogênio, avaliada nos substratos lignocelulósicos, é um fator limitante para a utilização dos componentes da madeira. A adição de nitrogênio estimula a mineralização do carbono tornando acessíveis os constituintes dos resíduos, semelhante a celulose não-lignificada, sendo a decomposição da lignina e materiais lignificados reduzida (SILVA; MACHUCA; MILAGRES, 2005a).

Os suplementos são adicionados ao substrato para acelerar o crescimento e incrementar a produtividade. Com a adição de nitrogênio, deseja-se aumentar a produtividade, no entanto, acima de certos níveis, ele inibe a frutificação. Níveis de nitrogênio de 0,5% têm sido registrados como o máximo da produtividade de shiitake. Açúcares e amido constituem carboidratos facilmente assimilados. Mas a rápida colonização e degradação do meio reduzem o tempo útil de frutificação (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

2.5.4.1 Bagaço de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta*), é uma cultura amplamente difundida no mundo, sendo a principal fonte de energia para a alimentação humana e animal em países de clima tropical. O bagaço de mandioca é gerado em grandes quantidades, cerca de 930 kg com 85% de umidade para cada tonelada de raiz processada, sendo um grande problema para os industriais, que doam ou vendem este resíduo a preços muito baixos a fazendeiros para a alimentação animal (TONINI, 2004).

O processamento de produtos agroindustriais, tais como a mandioca, geram grandes quantidades de resíduo, cujo acúmulo tem constituído grave problema de poluição ambiental. Do que é produzido no Brasil, 35% se destinam somente à produção de fécula, cujo resíduo industrial é de aproximadamente 20 a 25% da matéria-prima utilizada. Uma quantidade equivalente a 17% da fécula total é perdida com o não aproveitamento do bagaço (DALSENTER, 2000). De acordo com a ABAM (Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca - 2006) a produção brasileira de amido de mandioca em 2005 foi de 546.460 toneladas e em Santa Catarina foi de 21.125, equivalendo a 3,9% da produção nacional.

O processo de produção de fécula de mandioca compreende as seguintes etapas: lavagem e descascamento das raízes, desintegração das células, liberação dos grânulos de amido, separação das fibras e do material solúvel e, finalmente, a secagem. Nesse processo é gerado o bagaço, massa ou farelo. Como resíduos da industrialização da mandioca tem-se: sólidos – casca marrom, entrecasca, descarte, crueira, fibra, bagaço (farelo) e varredura; líquidos – manipueira e a água de lavagem das raízes (DALSENTER, 2000).

2.5.4.2 Farelo de soja

A soja (*Glycine max*) pertence à família das Leguminosas. Originária das regiões norte e central da China, a soja foi domesticada há cerca de cinco mil anos, juntamente com o arroz, o trigo, a cevada e o painço, que são considerados os “grãos sagrados”. O grão de soja contém aproximadamente 38% de proteína, 18% de óleo, 30% de carboidratos e fibras e 14% de umidade, cinzas e componentes secundários. Também possui importantes minerais e vitaminas como A, B1 e B2, tocoferol, fitoestrógenos e fitoesteróis. É usada como suplemento para a criação de gado, suínos e aves domésticas. Da soja é extraído o óleo, que após a extração, o resíduo vira uma torta, que é tostado e moído produzindo o farelo de soja (TONINI, 2004).

Os farelos são obtidos a partir do fruto dos grãos de cereais. O pericarpo é triturado junto com o interior do grão e pode ser separado por peneiração. É composto de celulose e hemicelulose (BEUX, 1995).

Segundo Tonini (2004), esta fonte de nitrogênio é importante, pois, atua na síntese de aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos e de algumas vitaminas pelo fungo. Normalmente, a velocidade de miceliação diminui à medida que se aumenta a concentração de nitrogênio. Acredita-se que altas concentrações de nitrogênio limitam a degradação da lignina presente no substrato. Conforme a autora, quando se aumentou a suplementação de farelo de soja no meio de cultura, diminuiu a velocidade de crescimento micelial, e aumentou o vigor micelial acompanhada da formação de micélio aéreo.

2.5.5 Vantagens ecológicas do cultivo axênico

A utilização sustentável dos resíduos lignocelulósicos produzidos no Brasil pode trazer um melhoramento na qualidade de vida, redução das emissões de resíduos e adição de valores aos produtos, todos esses são elementos chave do ZERI (CHANG, 2003).

As regiões tropicais e semi-úmidas apresentam características que as tornam áreas propícias ao cultivo de fungos comestíveis oferecendo, além de condições climáticas favoráveis, atividades agro-florestais que produzem uma enorme quantidade de resíduos lignocelulósicos que podem ser utilizados como excelentes substratos (ISRAEL, 2005).

O uso de fungos no processo de bioconversão pode reduzir a quantidade de resíduos, minimizar a poluição, formar produtos de interesse das indústrias de alimentos, de papel e na biorremediação. Esta conversão dos resíduos orgânicos também apresenta como vantagens, a remoção proveitosa do resíduo e a sua reintegração por processos naturais ao ecossistema como fertilizante, além de fontes de carbono que dificilmente seriam utilizadas serem transformadas em biomassa rica em proteínas (BEUX, 1995; TONINI, 2004).

Os processos de bioconversão ajudam na prevenção de impactos ambientais causados pela acumulação de resíduos florestais e agrícolas e podem também prover o uso de resíduos para o cultivo de cogumelos. De acordo com análises obtidas, para a bioconversão eficaz do substrato e o sucesso do cultivo de *Lentinula edodes*, é necessário, essencialmente, o desenvolvimento do micélio e a completa colonização do substrato. (SILVA, MACHUCA, MILAGRES, 2005a).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia Bioquímica, no Laboratório de Processamento de Alimentos e na Sala de Frutificação do Departamento de Engenharia Química, do Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade Regional de Blumenau (FURB).

3.1 ENSAIOS REALIZADOS

Na Tabela 3.1 são descritos os objetivos dos três grupos de ensaios realizados neste trabalho e que envolveram atividades para avaliação da viabilidade dos resíduos e suplementos empregados no cultivo de cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*).

Tabela 3.1: Ensaios realizados e seus objetivos.

Ensaio	Sistema	Objetivos
I	Placas de Petri	Estudar o potencial dos resíduos da palmeira-real como substrato para o crescimento micelial de <i>L. edodes</i> .
II	Tubos de Ensaio	Avaliar o crescimento micelial axial de quatro linhagens de <i>L.edodes</i> , nos substratos de produção axênica.
III	Axênico de produção de shiitake	Analisar a eficiência biológica de quatro linhagens de <i>L.edodes</i> em cultivo axênico empregando substratos constituídos por resíduos do processamento da palmeira-real.

3.2 FUNGOS UTILIZADOS E CONSERVAÇÃO DAS CEPAS

Para os diversos ensaios foram utilizadas as seguintes linhagens de *L. edodes*: CCB-515 e CCB-514 fornecidas pelo Instituto de Botânica de São Paulo/SP, e as linhagens LE-96/13 e LE-98/55, fornecidas pelo Módulo de Cogumelos da Universidade Estadual Paulista/UNESP – Botucatu/SP. As linhagens foram conservadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar), e armazenadas em refrigerador a $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, no Laboratório de Engenharia Bioquímica / FURB, sendo denominadas de Matriz Primária.

3.3 MATRIZES

Para transferir a Matriz Primária, foi preparado um meio de cultura específico chamado Composto-Ágar. Para a preparação deste meio foi utilizado o resíduo (bainha e estipe de palmeira-real) previamente triturado e seco. 60g destes resíduos foram fervidas em 900mL de água destilada por 15 minutos. Após resfriamento, o líquido obtido foi filtrado a vácuo e transferido para um erlenmeyer, onde se completou o volume em água até alcançar 1 litro. O erlenmeyer foi fechado com algodão e levado para autoclave, a 121°C e 1 atm, por 30 minutos. Após 24 horas, foi adicionado 15g de ágar e autoclavado novamente por 30 minutos. O meio, parcialmente resfriado, foi vertido para placas de Petri (20mL por placa) e, após solidificação, foi inoculado com um fragmento (1cm²) de micélio proveniente da Matriz Primária, no centro da placa, em câmara de fluxo laminar. As placas foram mantidas em estufa BOD sob temperatura controlada de 25°C ± 1°C na ausência de luz, até completo preenchimento da placa pelo micélio. Estas placas foram denominadas Matriz Secundária.

Para a produção da Matriz Terciária (inóculo) foi empregado um meio de cultivo com a seguinte composição: 10% de bagaço de mandioca (3g), 10% de farelo de soja (3g), 80% de serragem (22g) e 120mL água destilada para umidificação dos componentes. A mistura foi colocada em frascos cilíndricos de 500mL, vedados com tampa metálica com abertura de 1 polegada, coberta com papel filtro. Os frascos foram autoclavados, a 121°C e 1 atm, por 30 minutos. Depois de 24 horas, foram novamente autoclavados por 30 minutos. Após resfriamento, foi realizada a inoculação do meio em câmara de fluxo laminar. Para tanto, a Matriz Secundária foi fracionada em porções triangulares (fatias), equivalentes a 1/8 da placa. Uma porção foi colocada em cada frasco. Os frascos foram levados para a Sala de Frutificação, com temperatura de 25°C ± 1°C e umidade relativa de aproximadamente 85%, com ausência de luz, por 15 dias ou até completa colonização do meio (Figura 3.1).



Figura 3.1: Matriz terciária das quatro linhagens de *Lentinula edodes* (LE-98/55, LE-96/13, CCB-515 e CCB-514). (Foto da autora)

3.4 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS EMPREGADOS COMO SUBSTRATO

Foram utilizados como substrato para o crescimento micelial e produção de basidioma das linhagens de *Lentinula edodes*, quatro tipos de resíduos agroindustriais.

Estipe da palmeira-real e bainhas medianas do processamento do palmito da palmeira-real foram utilizados como substratos base, após a trituração e secagem. Estes resíduos foram fornecidos pela EWE Agro Florestal situada no município de Gaspar/SC. A empresa possui 15.000 a 20.000 indivíduos de palmeira-real por hectare, contando com 70 hectares plantados no entorno da empresa (Figura 3.2).



Figura 3.2: Plantação de palmeira-real-da-austrália na Empresa EWE Agro Florestal. (Foto da autora)

As bainhas medianas (Figura 3.3 e 3.4) e os estipes (Figura 3.5) foram triturados em triturador de forrageira e, em seguida, foram acondicionados em bandejas apropriadas em uma desidratadora de alimentos. Todo material triturado foi desidratado a 80°C, até obtenção de umidade em torno de 15%.



Figura 3.3: Bainhas medianas incorporadas a plantação de palmeira-real-da-austrália da empresa EWE Agro Florestal. (Foto da autora)



Figura 3.4: Bainhas medianas de palmeira-real descartadas na empresa EWE Agro Florestal. (Foto da autora)



Figura 3.5: Estipe de palmeira-real descartado na plantação. (Foto da autora)

O farelo de soja, resíduo da agroindústria de óleo de soja, utilizado como fonte de nitrogênio, foi cedido pela Empresa Bünge Alimentos, unidade localizada em São Francisco do Sul/SC. O farelo segue as especificações fornecidas pelo laudo da empresa. (Tabela 3.2.).

Tabela 3.2: Composição química do farelo de soja peletizado (46%) conforme certificado de garantia de qualidade da Bünge Alimentos.

Composição	Porcentagem (%)
Umidade	12,62
Óleo	1,84
Proteína	45,25
Fibra	6,20
Cinzas	5,43
Sílica	0,03
Urease (mg N/g.min)	0,07

Fonte: TONINI (2004).

O bagaço de mandioca, utilizado como fonte de carbono proveniente de amido, foi fornecido pela empresa Hercílio de Féculas, de Ibirama/SC. As características físico-químicas do bagaço de mandioca se encontram na Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Composição físico-química do bagaço de mandioca.

pH	5,10
Umidade	13,91
Cinzas (g/100gMS)	3,07
Lipídios (g/100gMS)	0,14
Proteínas (g/100gMS)	1,56
Fibras (g/100gMS)	42,04
Amido (g/100gMS)	51,27
Açúcares Redutores Totais (g/100gMS)	53,97
Açúcares Redutores (g/100gMS)	1,06
Capacidade máxima de retenção de água (% v/v)	65

Fonte: DALSENTER, (2000).

3.5 SISTEMA EM PLACAS DE PETRI

Os ensaios em placas de Petri visaram estudar a influência dos resíduos e dos suplementos na velocidade de crescimento micelial radial. Para este estudo foi utilizada uma matrix de planejamento experimental fatorial nos níveis -1, 0, +1 (ATKINSON; DONEV, 1992; BARROS NETO et al., 2001) (Tabela 3.4.), para identificar o nível de significância dos fatores e as possíveis interações entre eles. O planejamento fatorial 2³ foi conduzido com experimentos realizados em quadruplicata, inclusive no ponto central (0), totalizando 9 tratamentos realizados aleatoriamente (Tabela 3.5). Para este estudo foi utilizada a linhagem LE-96/13.

Tabela 3.4: Fatores e níveis utilizados no estudo com Placas de Petri.

Fatores	+1	0	-1
Estipe	2,5g	1,6g	0,3g
Bainha	2,7g	1,4g	0,5
Bagaço de mandioca	1g	0,5g	0g
Farelo de soja	0,15g	0,075g	0g

Tabela 3.5: Concentração dos componentes avaliados em 3 níveis mantendo valores máximos na fração bainha de palmeira-real.

Tratamento	Estipe	Bagaço de mandioca	Farelo de soja	Bainha
B1	-1 (0,3g)	-1 (0g)	-1 (0g)	+1 (2,7g)
B2	+1 (2,5g)	-1 (0g)	-1 (0g)	-1 (0,5g)
B3	-1 (0,3g)	+1 (1g)	-1 (0g)	+1 (2,7g)
B4	+1 (2,5g)	+1 (1g)	-1 (0g)	-1 (0,5g)
B5	-1 (0,3g)	-1 (0g)	+1 (0,15g)	+1 (2,7g)
B6	+1 (2,5g)	-1 (0g)	+1 (0,15g)	-1 (0,5g)
B7	-1 (0,3g)	+1 (1g)	+1 (0,15g)	+1 (2,7g)
B8	+1 (2,5g)	+1 (1g)	+1 (0,15g)	-1 (0,5g)
B0	0 (1,6g)	0 (0,5g)	0 (0,075g)	0 (1,4g)

Os resíduos foram misturados de acordo com os tratamentos estabelecidos na Tabela 3.5, levando em consideração que cada tratamento deveria conter 3g, conteúdo ideal a ser colocado em cada placa de Petri. Os 3 gramas foram colocados em béquer com 0,15g de ágar e 30mL de água destilada. Após esterilização em autoclave (121°C e 1 atm por 1 hora), os meios dos diferentes tratamentos foram distribuídos em placas de Petri em câmara de fluxo laminar. Após resfriamento, foram inoculadas com um disco de inóculo de 7 mm de diâmetro de Matriz Primária recente, no centro de cada placa. As placas foram mantidas em estufa BOD a temperatura de 25°C ± 1°C, na ausência de luz. As placas foram divididas em quatro quadrantes para a leitura do crescimento micelial, a cada 24 horas, até ocorrer a colonização completa das placas. O ensaio foi realizado em quadruplicata.

Para avaliação estatística da influência dos resíduos da palmeira-real na velocidade de crescimento micelial radial, foi realizado um ensaio invertendo-se os valores de estipe e de bainha da Tabela 3.5, o que deu origem a Tabela 3.6. Este estudo seguiu a mesma metodologia do experimento anterior.

Tabela 3.6: Concentração dos componentes avaliados em 3 níveis mantendo valores máximos na fração estipe de palmeira-real.

Tratamento	Bainha	Bagaço de mandioca	Farelo de soja	Estipe
E1	-1 (0,3g)	-1 (0g)	-1 (0g)	+1 (2,7g)
E2	+1 (2,5g)	-1 (0g)	-1 (0g)	-1 (0,5g)
E3	-1 (0,3g)	+1 (1g)	-1 (0g)	+1 (2,7g)
E4	+1 (2,5g)	+1 (1g)	-1 (0g)	-1 (0,5g)
E5	-1 (0,3g)	-1 (0g)	+1 (0,15g)	+1 (2,7g)
E6	+1 (2,5g)	-1 (0g)	+1 (0,15g)	-1 (0,5g)
E7	-1 (0,3g)	+1 (1g)	+1 (0,15g)	+1 (2,7g)
E8	+1 (2,5g)	+1 (1g)	+1 (0,15g)	-1 (0,5g)
E0	0 (1,6g)	0 (0,5g)	0 (0,075g)	0 (1,4g)

3.6 SISTEMA EM TUBOS DE ENSAIO

O sistema em tubo de ensaio foi conduzido objetivando avaliar o desempenho das linhagens (CCB-514, CCB-515, LE-96/13 e LE-98/55) quanto ao crescimento micelial, nos 6 tratamentos utilizados para o estudo de produção axênica (Ensaio III). Na Tabela 3.7 são apresentadas as quantidades dos substratos e suplementos utilizados para o crescimento micelial no sistema em tubos de ensaio e no experimento de produção axênica. Os valores da Tabela 3.7 foram baseados no trabalho de Tonini (2004), utilizando somente os tratamentos em que houve produção de basidiomas.

Tabela 3.7: Valores percentuais de balsa, estipe, bagaço de mandioca e farelo de soja empregados no sistema de crescimento micelial em tubos de ensaio e sacos de polipropileno.

Tratamento	Resíduo utilizado	Fonte de carbono	Fonte de nitrogênio
1	Balsa – 65%	Bagaço de mandioca – 30%	Farelo de soja – 5%
2	Balsa – 60%	Bagaço de mandioca – 35%	Farelo de soja – 5%
3	Balsa – 95%	Bagaço de mandioca – 5%	Ausente
4	Estipe – 65%	Bagaço de mandioca – 30%	Farelo de soja – 5%
5	Estipe – 60%	Bagaço de mandioca – 35%	Farelo de soja – 5%
6	Estipe – 95%	Bagaço de mandioca – 5%	Ausente

Os resíduos e suplementos foram misturados e umedecidos a 70% com água destilada e colocados em tubos de ensaio com comprimento de ± 15 cm. O material preencheu até 10 cm de comprimento de cada tubo de ensaio, que foram fechados com papel alumínio e filme PVC. Em seguida foram autoclavados, a 121°C e 1atm, por uma hora, e esfriados naturalmente. Em seguida, foram levados à câmara de fluxo laminar para a inoculação com a Matriz Terciária. Foram utilizados, aproximadamente, 0,5g de inóculo para cada tubo de ensaio. Os tubos foram tampados com papel filtro e levados para a Sala de Frutificação com temperatura de 25°C \pm 1°C, umidade relativa de 85% e ausência de luz. A cada dois dias foram realizadas medidas do crescimento micelial longitudinal em cada tubo de ensaio. O experimento foi concluído, quando o primeiro tubo foi preenchido até o final pelo micélio. Isto aconteceu no 22º dia de cultivo. Este estudo foi realizado em triplicata.

3.7 SISTEMA AXÊNICO DE PRODUÇÃO DE SHIITAKE

Sacos de polipropileno (PP) liso com dimensões de 18 cm de largura por 30 cm de altura e com espessura de 0,005 μ m, foram preenchidos com os substratos apresentados na Tabela

3.7, formando blocos com volume aproximado de 400 mL. Após o preenchimento dos sacos, um tubo cilíndrico de vidro (10 mL) foi colocado no centro dos sacos para formar um orifício para introdução do inóculo. Os sacos foram vedados com respiradores de PVC cilíndricos, intercalados por papel filtro formando anéis que se encaixam um no outro conforme Tonini (2004).

Os sacos foram embrulhados com papel craft, para evitar perfurações, e esterilizados em autoclave a $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 1 atm, por 60 minutos. Após esfriamento foram autoclavados novamente por 60 minutos. A inoculação foi feita na câmara de fluxo laminar, através do preenchimento do espaço formado pelo tubo cilíndrico de vidro no centro do saco com substrato, com o auxílio de uma pinça. Como inóculo foram usados aproximadamente 4g de Matriz Terciária. Este ensaio foi realizado em quintuplicata.

Feita a inoculação, os sacos foram colocados na Sala de Frutificação, em temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, com umidade relativa em torno de 85% e ausência de luz. A Sala de Frutificação tem uma área de 18m^2 e possui controle de temperatura (com aparelho de ar condicionado de 10.000 BTUs) e um sistema automático de manutenção de umidade (Figura 3.6).



Figura 3.6: Sala de Frutificação mostrando a distribuição dos blocos de substrato, e ao fundo o sistema de controle de temperatura e manutenção de umidade (Foto da autora).

A indução dos primórdios foi realizada após a completa colonização dos blocos pelo micélio (cerca de 60 dias), por meio da redução da temperatura da Sala de Frutificação para $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 10 dias.

3.7.1 Temperatura para o cultivo do *Lentinula edodes*

O shiitake sobrevive entre temperaturas de -30 a 45°C , mas a exposição prolongada ao mínimo ou ao máximo dessas temperaturas pode matar o micélio. A temperatura ótima é entre $24-28^{\circ}\text{C}$, usualmente 25°C . Para iniciar a frutificação, ou a formação dos primórdios, são necessárias temperaturas mais baixas, entre 10 e 25°C , usualmente $10-16^{\circ}\text{C}$. A temperatura não afeta somente a produtividade, mas o formato do cogumelo. Altas temperaturas formam estipes longos e píleo fino, no entanto, se o cogumelo crescer em condições frias ele terá estipe curto e píleo grosso (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Na frutificação, a temperatura ótima é de 5°C abaixo da do crescimento do micélio e o número de basidiocarpos tende a aumentar quando a temperatura é diminuída (BEUX, 1995; KÜES; LIU, 2000; SILVA, 2003).

Sakai et al. (2004), descobriram uma linhagem capaz de produzir corpos de frutificação em substrato a base de serragem sem a redução na temperatura. Nos experimentos esta linhagem não necessitou de redução de temperatura para a formação dos corpos de frutificação.

A temperatura foi regulada através do aparelho de ar-condicionado. A mesma foi mantida em aproximadamente 25°C durante o crescimento micelial e, para a indução de primórdios, a temperatura foi reduzida para $\pm 20^{\circ}\text{C}$ por 10 dias. Após este período, houve a manutenção da temperatura em 25°C , mas os primeiros cogumelos e os primeiros primórdios surgiram antes da mudança de temperatura, demonstrando, assim como Sakai et al. (2004), que a mudança na temperatura não seja um fator condicionante na produção de cogumelos.

3.7.2 Umidade para o cultivo do *Lentinula edodes*

A evaporação da água é importante durante o cultivo de shiitake. O cogumelo consiste de 85 a 95% de água e está constantemente perdendo água para o ar. A perda de água é controlada pela regulação dos níveis de umidade. Cogumelos que crescem em altas umidades possuem mais água que aqueles que crescem em umidades baixas (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

O controle da umidade do ar é fundamental, a partir do momento em que os sacos plásticos são abertos para que a frutificação tenha início. O teor de umidade ótimo situa-se entre 80 e 95% (BEUX, 1995). Alta umidade (90-95%) favorece a formação de primórdios e corpos de frutificação (KÜES; LIU, 2000). A umidade ideal do substrato para o crescimento do *Lentinula edodes* situa-se entre 55 a 70% (MINHONI et al., 2005).

A umidade dentro da Sala de Frutificação foi mantida em torno de 85%, para ocorrer a frutificação e evitar a perda excessiva de água pelos blocos de substrato.

3.7.3 Luz para o cultivo do *Lentinula edodes*

A diferenciação e o desenvolvimento de muitos fungos são controlados também por condições de luminosidade, especialmente por faixas de luz que variam do azul a um espectro próximo do ultravioleta. A luz adequada e aeração são essenciais na formação do basidioma do *Lentinula edodes* (PUTZKE; PUTZKE, 2002).

O shiitake necessita de luz durante os estágios vegetativo e de frutificação. A duração necessária não é bem definida e uma breve exposição (20 min/dia) pode ser o suficiente. A iluminação artificial pode ser utilizada com lâmpadas fluorescentes. A luz tem seu papel no desenvolvimento dos corpos de frutificação, especialmente das lamelas e esporos. A cor do cogumelo é afetada pela luz durante a sua maturação. Cogumelos que crescem no escuro são descoloridos e freqüentemente deformados (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Em substratos preparados, a luz não é necessária durante o período de desenvolvimento do micélio, mas é imprescindível na frutificação, proporcionando a pigmentação dos basidiocarpos. O mínimo de intensidade necessária para estimular a frutificação é entre 0,01 lux e 0,0001 lux, sendo a intensidade ótima em torno de 10 lux. Doze horas de luz são ideais na formação de basidiocarpos normais (BEUX, 1995).

Na Sala de Frutificação não havia um controle automático de luminosidade. Devido a isso, os blocos de substrato receberam pouca luminosidade. Uma média de 1 hora por dia. Mas, acredita-se que isto não tenha alterado a produção de cogumelos e a sua qualidade. Os cogumelos apresentavam a coloração normal da espécie.

3.7.4 Potencial hidrogeniônico para o cultivo do *Lentinula edodes*

O crescimento do fungo é influenciado pelo pH de diversas maneiras. O pH afeta diretamente a reação entre as enzimas de degradação e a madeira ou substrato. O pH afeta a

solubilidade dos componentes. O pH ótimo para a degradação da madeira é entre 4,5 a 5,5. Registros apontam para o crescimento micelial em um pH entre 3,5 a 4,3. O pH ótimo para a frutificação é entre 3,5 a 5 (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Com relação ao pH, é desejável que o microorganismo tenha um amplo limite de variação deste parâmetro (DALSENER, 2000). O teor de acidez condiciona as atividades enzimáticas. No cultivo de *L. edodes*, o pH ótimo do inóculo é entre 3,9 e 5,7. O pH do substrato de frutificação deve situar-se entre 4,3 e 7,7 (BEUX, 1995). O crescimento micelial é pouco afetado pelo pH, sendo que o *L. edodes* suporta um pH em torno de 4,0 (KÜES; LIU, 2000).

O pH do substrato utilizado estava dentro do desejável para o *L. edodes*, entre 4 e 5. Não houve necessidade de alteração do pH em nenhum dos experimentos.

3.7.5 Concentração de gases para o cultivo do *Lentinula edodes*

Os cogumelos são aeróbios, usando oxigênio e liberando dióxido de carbono. A composição da atmosfera, especialmente a concentração de dióxido de carbono e outros voláteis, como o etileno, influencia o crescimento e o desenvolvimento do cogumelo. Estudos mostram que níveis acima de 0,6% de dióxido de carbono melhoram o crescimento micelial. No entanto, níveis de 0,4 a 0,6% inibem completamente a formação de primórdios. Em concentrações de CO₂ entre 0,2 e 0,4%, os primórdios são deformados e os cogumelos possuem estipes longos e píleos pequenos. Níveis de dióxido de carbono abaixo de 0,2% são ótimos para frutificação (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

De acordo com Kües e Liu (2000); Rossi, (1999); Rossi, Monteiro e Machado, (2001); Rossi et al. (2003b), um maior fornecimento de oxigênio ao fungo aumenta a atividade lignolítica. O O₂ estimula o crescimento do fungo e altas concentrações de CO₂ afetam a sua atividade enzimática, diminuindo assim a velocidade de miceliação. A aeração do ambiente de frutificação estimula a produção de basidiocarpos, pelo maior fornecimento de O₂, e remoção de metabólitos voláteis inibitórios, como o CO₂. Substratos com partículas maiores apresentam teores mais elevados de O₂ e menores de CO₂, devido a necessidade de espaços no interior do substrato.

A Sala de Frutificação não possuía um sistema para a troca do excesso de CO₂ por O₂. O excesso de CO₂ pode gerar algumas deformações nos cogumelos, mas necessita-se de mais estudos para detectar estas alterações.

3.7.6 Água para o cultivo do *Lentinula edodes*

A água em quantidades ideais é um elemento indispensável à vida dos cogumelos. A água presente nos basidiocarpos é totalmente absorvida pelo micélio a partir do substrato. O píleo contém mais de 90% de água (BEUX, 1995).

A água disponível durante o cultivo do shiitake é provavelmente o fator mais importante que influencia o crescimento e a produção de corpos de frutificação. Misturas contendo grande quantidade de água livre inibem o crescimento micelial. Este fenômeno pode ser devido a carência de oxigênio, produzindo uma insuficiente troca de gases. Altos níveis de umidade são necessários durante a frutificação, pois, reduzem a evaporação do substrato, desse modo promovendo a formação de primórdios. O melhor crescimento de basidiocarpos pode ser relacionado a alta umidade atmosférica e o crescimento micelial muda conforme a mistura contida no substrato (OGHA, 1999).

De acordo com o mesmo autor, somente uma pequena porcentagem do total de água contida no substrato está disponível para o crescimento micelial, o resto está ligado a estrutura química do substrato e não está disponível. O micélio absorve a maior parte da água para a formação dos corpos de frutificação do substrato. As culturas de cogumelos perdem água com a colheita dos corpos de frutificação e pela evaporação e transpiração da superfície do substrato.

Os substratos foram preparados com a quantidade ideal de água para o desenvolvimento normal dos cogumelos. Essa quantidade podia ser notada quando se espreme o substrato entre os dedos, e um pouco de água escorria do mesmo, sem, é claro, haver água livre dentro do saco de polipropileno. Isso significava $\pm 70\%$ de água.

3.8 COLHEITA E AVALIAÇÕES

Com o surgimento dos primórdios, os sacos plásticos que protegiam os blocos foram sendo removidos gradativamente para permitir o desenvolvimento dos basidiomas e para evitar possíveis contaminações e perda da umidade. A colheita dos fungos foi realizada um pouco antes da abertura total do píleo, cerca de 5 a 7 dias depois do surgimento do primórdio.

Após a colheita, os cogumelos foram quantificados, pesados e classificados por tamanho. Em seguida, foram colocados em estufa com circulação forçada de ar, entre 35°-45°C para secagem, até o peso ficar constante, para a determinação da massa seca.

Para a avaliação da produção, foram usados os seguintes parâmetros: peso fresco dos cogumelos (PF), eficiência biológica (EB), peso seco dos cogumelos (PS), rendimento (R), número total de cogumelos (NT), tempo de emissão de primórdios (EP) e período de produção de cogumelos (PP).

A eficiência biológica (Equação 1) foi determinada segundo Rossi (1999); Royse e Sanchez-Vazquez (2001). Este é o parâmetro mais utilizado para avaliar a produção de basidiomas em relação ao substrato. Sua definição original é a correlação do substrato seco em corpos frutíferos frescos (SANTOS, 2000). Outro parâmetro de produção adotado foi o rendimento (Equação 2) em peso seco (R), para representar a conversão de substrato seco em corpos frutíferos secos, uma vez que o teor de umidade dos basidiomas varia em função das condições de cultivo. Ou seja, a obtenção do valor real em massa de cogumelos.

Eficiência biológica - EB (%):

$$EB = \frac{PF}{MS} * 100 \quad (1)$$

Onde:

PF = peso fresco dos cogumelos (g)

MS = massa seca do substrato (g)

Rendimento – R (%):

$$R = \frac{PS}{MS} * 100 \quad (2)$$

Onde:

PS = peso seco dos cogumelos (g)

MS = massa seca do substrato (g)

A velocidade de crescimento micelial radial foi obtida pela declividade da Equação 3, que pode ser genericamente representada desta forma:

$$r(t) = \alpha + \beta * t \quad (3)$$

Onde:

r(t) = raio da colônia no tempo t (mm)

α = constante de regressão linear
 β = velocidade de crescimento micelial radial da colônia (mm/dia)
 t = tempo (dias)

A equação 3 tem validade para o intervalo de tempo compreendido entre o final da fase lag, ou fase de latência, e o final do experimento, que representa o início da fase exponencial de crescimento. Já a velocidade média de crescimento micelial do *Lentinula edodes* foi obtida através da razão entre a distância total percorrida pelo micélio e o tempo gasto para que ocorresse tal crescimento. Esta velocidade média do crescimento micelial final foi calculada pela Equação 4:

$$V_m = \frac{V_f - V_i}{T_f} \quad (4)$$

Onde:

V_m = velocidade média de crescimento micelial (mm/dia)
 V_f = medida do crescimento micelial no tempo final (mm)
 V_i = medida do crescimento micelial no tempo inicial (mm)
 T_f = tempo final (dias)

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através de análise de variância (ANOVA) e do Teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Utilizou-se o programa confeccionado pelo professor Carlos Efrain Stein, do Departamento de Matemática (FURB), com desenvolvimento em planilha Excell.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIO I: ANÁLISE DO CRESCIMENTO MICELIAL RADIAL EM PLACAS DE PETRI

Neste ensaio foram utilizadas diferentes concentrações dos resíduos estipe e bainha mediana, como substratos base, e dos suplementos (farelo de soja e bagaço de mandioca), para verificar o crescimento micelial radial de *Lentinula edodes*, linhagem LE-96/13.

Na Figura 4.1 são apresentados os valores médios do crescimento micelial radial obtidos a cada dia nos diferentes tratamentos com predominância do substrato bainha.

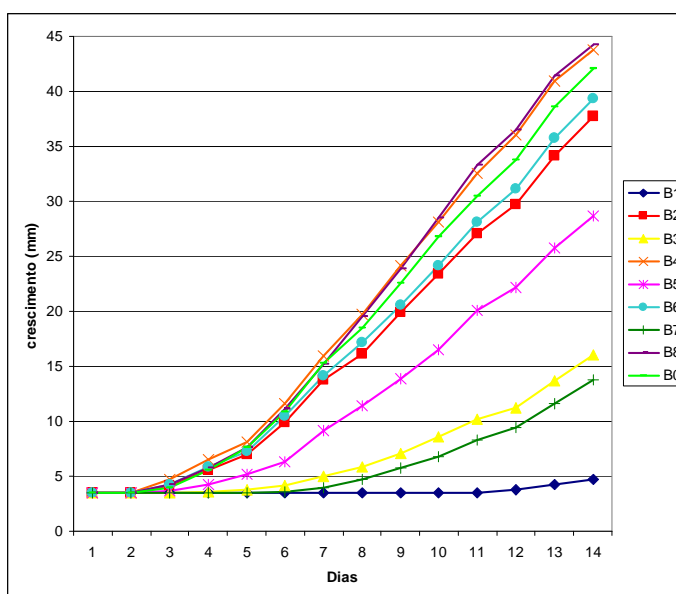


Figura 4.1: Crescimento micelial radial de *Lentinula edodes* linhagem LE-96/13, nos tratamentos com predominância de bainha.

Na tabela 4.1 são apresentados, para cada tratamento, a velocidade média total (V_m), o intervalo de confiança, a velocidade média na fase log ($V_{m_{log}}$), a equação obtida dos dados desta fase e o coeficiente de determinação da mesma.

Tabela 4.1: Dados sobre velocidade média radial total, intervalo de confiança, velocidade média na fase log, equação da reta e o coeficiente de determinação, dos tratamentos com predominância de bainha de *Lentinula edodes* linhagem LE-96/13. (B1 = 0,3g de estipe e 2,7g de bainha; B2 = 2,5g de estipe e 0,5g de bainha; B3 = 0,3g de estipe, 1g de bagaço de mandioca e 2,7g de bainha; B4 = 2,5g de estipe, 1g de bagaço de mandioca e 0,5g de bainha; B5 = 0,3g de estipe, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de bainha; B6 = 2,5g de estipe, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de bainha; B7 = 0,3g de estipe, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de bainha; B8 = 2,5g de estipe, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de bainha e o B0 = 1,6g de estipe, 0,5g de bagaço de mandioca, 0,075g de farelo de soja e 1,4g de bainha).

Tratamento	V _m radial total (mm/dia)	Intervalo para 95% de Confiança para a velocidade média total de crescimento micelial	V _m _{log} na fase log (mm/dia)	Equação da reta	Coefficiente de Determinação
B1	0,089	0 < V _m < 0,196	0,50	y(t) = 0,5t - 2,2633	0,997
B2	2,446	1,577 < V _m < 3,314	3,40	y(t) = 3,4065t - 10,474	0,998
B3	0,892	0,405 < V _m < 1,378	1,65	y(t) = 1,6561t - 7,8468	0,984
B4	2,875	1,914 < V _m < 3,835	4,05	y(t) = 4,0539t - 12,411	0,999
B5	1,798	1,048 < V _m < 2,547	2,90	y(t) = 2,9011t - 12,135	0,997
B6	2,560	1,684 < V _m < 3,435	3,56	y(t) = 3,5604t - 11,009	0,998
B7	0,736	0,272 < V _m < 1,20	1,74	y(t) = 1,746t - 10,974	0,983
B8	2,910	1,885 < V _m < 3,93	4,20	y(t) = 4,2065t - 13,826	0,998
B0	2,754	1,807 < V _m < 3,70	3,85	y(t) = 3,8536t - 11,957	0,999

Pela tabela acima se constata que as maiores velocidades médias radiais totais foram nos tratamentos B8, B4, B0 e B6, com 2,9mm/dia, 2,8mm/dia, 2,7mm/dia e 2,5mm/dia, respectivamente. Já as menores velocidades foram nos tratamentos B1, B7 e B3, com 0,08mm/dia, 0,7mm/dia e 0,8mm/dia, respectivamente. Comportamentos semelhantes foram obtidos nas velocidades médias na fase log. Os tratamentos com maior velocidade média total apresentaram redução da fase de latência. Estes tratamentos continham níveis superiores de estipe, em relação a bainha no meio. Nos tratamentos com concentrações maiores de bainha o crescimento foi mais lento. O tratamento com maior velocidade média de crescimento - B8, possuía índices maiores em estipe e suplementos.

Segundo Montini, Passos e Eira (2006), a duração da fase lag depende da natureza do inóculo e dos nutrientes disponíveis no meio de cultura. Em meios de cultura mais enriquecidos, a velocidade de crescimento foi menor e o vigor micelial maior. O mesmo padrão foi observado neste trabalho.

Momm e Tavares (2003), estudando o crescimento micelial radial de *Lentinula edodes*, linhagens CCB-514 e CCB-515, obtiveram em ágar com bagaço de mandioca, 4,08mm/dia e 1,48mm/dia, respectivamente. Com ágar, farelo de arroz e bagaço de mandioca obtiveram 4,54mm/dia com a linhagem CCB-514 e 3,36mm/dia com a linhagem CCB-515. Já em ágar, farelo de soja e bagaço de mandioca foi obtido 4,26mm/dia com a linhagem CCB-514 e 1,87mm/dia com a linhagem CCB-515. Valores similares a estes foram obtidos quando o

farelo de soja foi substituído por extrato de levedura acrescido de bagaço de mandioca (4,15mm/dia com a linhagem CCB-514 e 1,03mm/dia com a CCB-515). Este comportamento demonstra a influência dos nutrientes sobre o crescimento micelial.

Na Figura 4.2, pode-se observar a área do crescimento micelial da linhagem LE-96/13 em meio com predominância de bainha, ao final do experimento.



Figura 4.2: Crescimento micelial em placas de petri nos 9 tratamentos com predominância de bainha, da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes*.

Na Figura 4.3 são apresentados os valores médios de crescimento micelial radial obtidos a cada dia nos diferentes tratamentos, em meio com predominância do resíduo estipe. Na Tabela 4.2 são apresentados os valores da velocidade média radial total da linhagem LE-96/13, intervalo de confiança, velocidade média na fase log, equação da reta e coeficiente de determinação, dos 9 tratamentos com predominância de estipe.

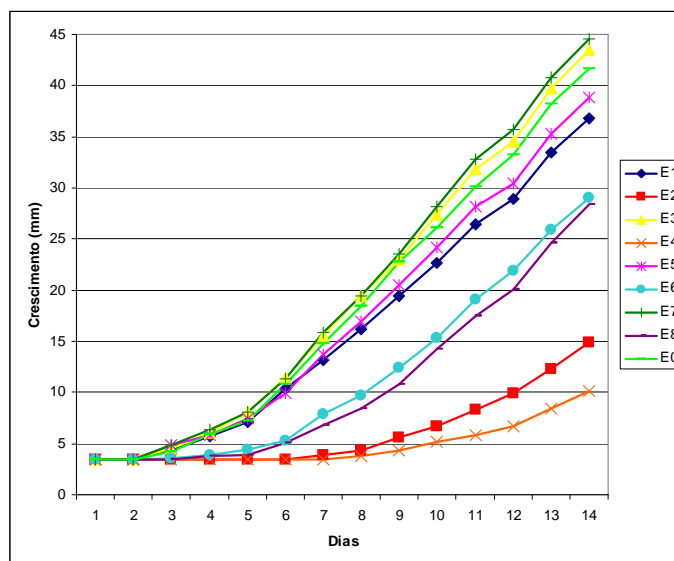


Figura 4.3: Crescimento micelial radial de *Lentinula edodes* linhagem LE-96/13, nos tratamentos com predominância de estipe.

Tabela 4.2: Dados sobre velocidade média radial total, intervalo de confiança, velocidade média na fase log, equação da reta e o coeficiente de determinação, dos tratamentos com predominância de estipe de *Lentinula edodes* linhagem LE-96/13. (E1 = 0,3g de bainha e 2,7g de estipe; E2 = 2,5g de bainha e 0,5g de estipe; E3 = 0,3g de bainha, 1g de bagaço de mandioca e 2,7g de estipe; E4 = 2,5g de bainha, 1g de bagaço de mandioca e 0,5g de estipe; E5 = 0,3g de bainha, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de estipe; E6 = 2,5g de bainha, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de estipe; E7 = 0,3g de bainha, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 2,7g de estipe; E8 = 2,5g de bainha, 1g de bagaço de mandioca, 0,15g de farelo de soja e 0,5g de estipe e o E0 = 1,6g de bainha, 0,5g de bagaço de mandioca, 0,075g de farelo de soja e 1,4g de estipe).

Tratamento	V _m radial total (mm/dia)	Intervalo para 95% de Confiança para a velocidade média total de crescimento micelial	V _m _{log} na fase log (mm/dia)	Equação da reta	Coefficiente de Determinação
E1	2,375	1,556 < V _m < 3,193	3,27	y(t) = 3,2784t - 9,6855	0,997
E2	0,814	0,274 < V _m < 1,354	2,04	y(t) = 2,041t - 14,06	0,987
E3	2,857	1,882 < V _m < 3,831	3,95	y(t) = 3,9587t - 12,161	0,998
E4	0,477	0,113 < V _m < 0,840	1,73	y(t) = 1,735t - 14,125	0,999
E5	2,522	1,639 < V _m < 3,404	3,51	y(t) = 3,5157t - 10,858	0,997
E6	1,823	0,970 < V _m < 2,676	3,27	y(t) = 3,2718t - 16,928	0,997
E7	2,932	1,934 < V _m < 3,930	4,11	y(t) = 4,1127t - 13,041	0,998
E8	1,776	0,866 < V _m < 2,685	3,32	y(t) = 3,3293t - 18,895	0,993
E0	2,727	1,78 < V _m < 3,674	3,82	y(t) = 3,8298t - 12,035	0,999

Pela Tabela 4.2 constata-se que as maiores velocidades médias radiais foram obtidas nos tratamentos E7, E3, E0 e E5, com 2,9mm/dia, 2,8mm/dia, 2,7mm/dia e 2,5mm/dia, respectivamente. Já as menores velocidades foram observadas nos tratamentos E4 e E2, com 0,4mm/dia e 0,8mm/dia, respectivamente. O mesmo pode ser observado com relação à velocidade média na fase log. Novamente, se observa que as maiores velocidades ocorrem

onde há maior quantidade de estipe, e com os fatores mais altos de todos os resíduos (menos a bacia) - E7.

Na Figura 4.4, pode-se observar a área do crescimento micelial da linhagem LE-96/13 em meio com predominância de estipe, ao final do experimento.

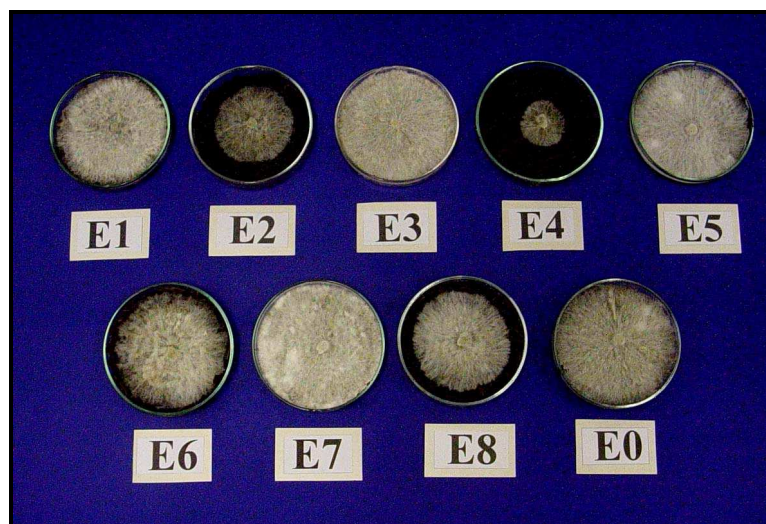


Figura 4.4: Crescimento micelial em placas de petri nos 9 tratamentos com predominância de estipe, da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes*.

Silva, Machuca e Milagres (2005a), constataram que o tipo e a concentração dos suplementos nutricionais influenciam o crescimento de *Lentinula edodes*. Formulações com farelo de arroz e de trigo aumentaram o crescimento micelial, mas foram significativamente menores que as formulações com farelo de soja. O nitrogênio adicionado aos substratos lignocelulósicos promove o crescimento do micélio.

A adição de suplementos naturais melhora a produção de enzimas pelo *L. edodes*, e por consequência, o seu crescimento micelial, sendo o extrato de malte o que promoveu o melhor crescimento (HATVANI; MÉCS, 2002).

Em condições experimentais, o meio de cultura sólido, com ágar, pode ser considerado mais adequado, pois, na natureza, os fungos, usualmente, se beneficiam de materiais sólidos (MONTINI; PASSOS; EIRA, 2006).

O crescimento muito rápido indica falta de nutrientes, já o crescimento muito lento também se torna um problema, pois faz com que a fase lag (fase de latência) seja muito extensa, tornando a miceliação prolongada (redução da velocidade de formação de micélio), podendo facilmente adquirir contaminações nesta etapa, o que não é viável se aplicado ao cultivo axênico de fungos. De acordo com Silva, Machuca e Milagres (2005b), o crescimento

micelial pode afetar enormemente a produtividade de cogumelos e dados demonstram que a formação de corpos de frutificação está diretamente relacionada à biomassa micelial do substrato.

Considerando a composição química dos resíduos balsa e estipe, pode-se constatar, pelos resultados obtidos de velocidade de crescimento micelial, a efetiva influência das fontes de carbono e nitrogênio dos substratos. O estipe possui uma relação C/N de 15:1, enquanto a balsa apresenta uma relação cerca de quatro vezes superior, 63:1. Isso indica o desequilíbrio entre os níveis de carbono e nitrogênio, uma vez que o nitrogênio promove o crescimento do micélio. Na relação C/N a balsa possui sete vezes mais carbono que o estipe. Portanto, a balsa possui maior desequilíbrio nutricional para estes elementos.

4.2 ENSAIO II: ANÁLISE DO CRESCIMENTO MICELIAL AXIAL EM TUBOS DE ENSAIO

Neste ensaio foram testados os substratos empregados no sistema de cultivo axênico. Desta forma, utilizaram-se todas as linhagens (CCB-514, CCB-515, LE-96/13 e LE-98/55), dos ensaios para a produção de basidiomas (Ensaio III).

Na tabela 4.3 pode-se observar os valores de crescimento médio do micélio ao longo da dimensão axial dos tubos de ensaio de cada linhagem, em cada tratamento. Na Figura 4.5, observa-se o gráfico representando estes dados, ressaltando que a linhagem LE-98/55 teve um crescimento micelial médio menor que as demais linhagens, com crescimento superior no tratamento 5.

Tabela 4.3: Dados do crescimento micelial em tubos de ensaio (em mm) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Tratamentos	Linhagens			
	LE-98/55	LE-96/13	CCB-515	CCB-514
T1	39,8	72,0	72,8	79,8
T2	31,6	70,6	62,5	69,1
T3	25,5	58,0	60,5	68,1
T4	38,1	80,0	81,5	87,5
T5	81,6	84,6	88,7	95,1
T6	57,5	55,3	59,6	60,1

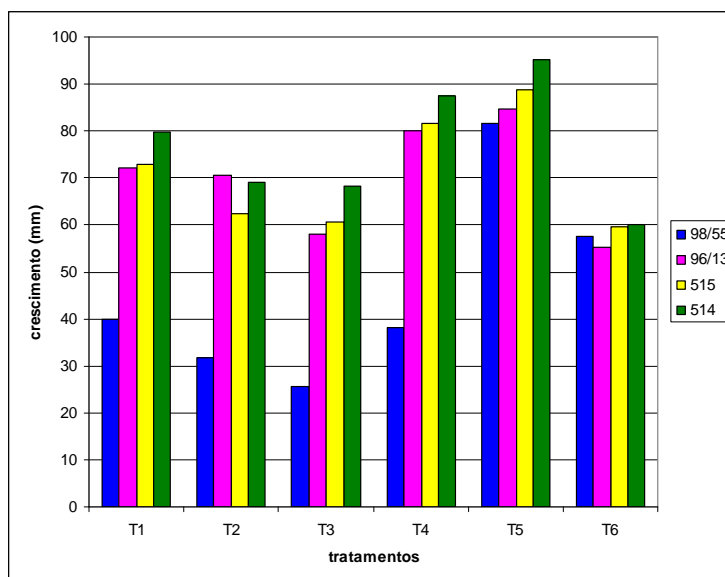


Figura 4.5: Crescimento médio em tubos de ensaio de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Com os resultados dos valores médios de crescimento micelial axial, aplicou-se a Análise de Variância e o Teste de Tukey. Na Tabela 4.4 pode-se observar, considerando, independentemente, linhagem e tratamentos, onde existem diferenças significativas em nível de 5% de significância.

Tabela 4.4: Valores da Análise de Variância e do Teste de Tukey para o experimento em tubos de ensaio de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Linhagem	Crescimento Médio (mm)	Velocidade de crescimento médio (mm)
LE-98/55	45,71 a	2,07 a
LE-96/13	70,10 b	3,18 b
CCB-515	70,94 b	3,22 b
CCB-514	76,66 b	3,47 b
Tratamentos	Crescimento Médio (mm)	Velocidade de crescimento médio (mm)
T1	66,12 A	3,00 A
T2	58,50 A	2,65 A
T3	53,04 A	2,40 A
T4	71,79 AB	3,25 AB
T5	87,55 B	3,97 B
T6	58,16 A	2,64 A

Médias seguidas da mesma letra na vertical (minúscula para linhagens e maiúsculas para tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

A linhagem LE-98/55 teve o menor crescimento médio (45,71mm) e menor velocidade média (2,07mm/dia), sendo que as demais linhagens (CCB-514, CCB-515 e LE-96/13), tiveram o crescimento médio e a velocidade média iguais em nível de 5% de significância.

Com relação aos tratamentos, o tratamento 5 teve o maior crescimento médio (87,55mm) e maior velocidade média (3,97mm/dia), sendo igual, estatisticamente ao tratamento 4. Todos os outros tratamentos foram semelhantes entre si ($p \leq 0,05$), sendo também semelhantes ao T4.

O mesmo pode-se dizer dos dados de velocidade média de crescimento micelial (Tabela 4.5 e Figura 4.6), que foram muito semelhantes aos observados no crescimento micelial.

Tabela 4.5: Dados de velocidade média em tubos de ensaio (em mm) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Tratamentos	Linhagens			
	LE-98/55	LE-96/13	CCB-515	CCB-514
T1	1,8	3,2	3,3	3,6
T2	1,4	3,2	2,8	3,1
T3	1,1	2,6	2,7	3,0
T4	1,7	3,6	3,7	3,9
T5	3,7	3,8	4,0	4,3
T6	2,6	2,5	2,7	2,7

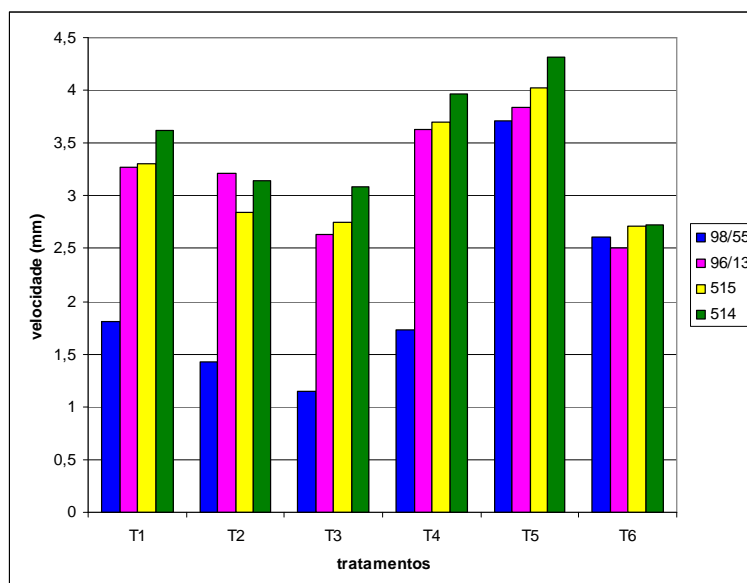


Figura 4.6: Velocidade média em tubos de ensaio de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

O crescimento micelial em cada linhagem pode ser observado nas Figuras 4.7 a 4.14. Já o crescimento em cada tratamento está representado nas Figuras 4.15 a 4.20. Nestas figuras pode-se confirmar o menor crescimento da linhagem LE-98/55, e o maior crescimento do tratamento 5.

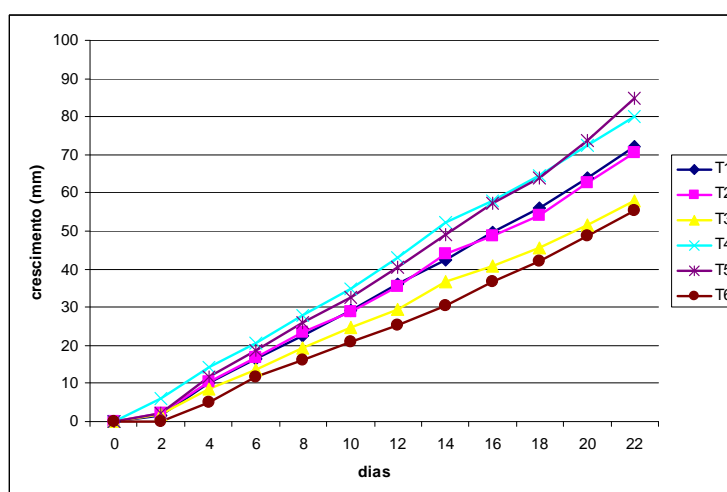


Figura 4.7: Crescimento micelial da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.8: Crescimento micelial da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes* com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.

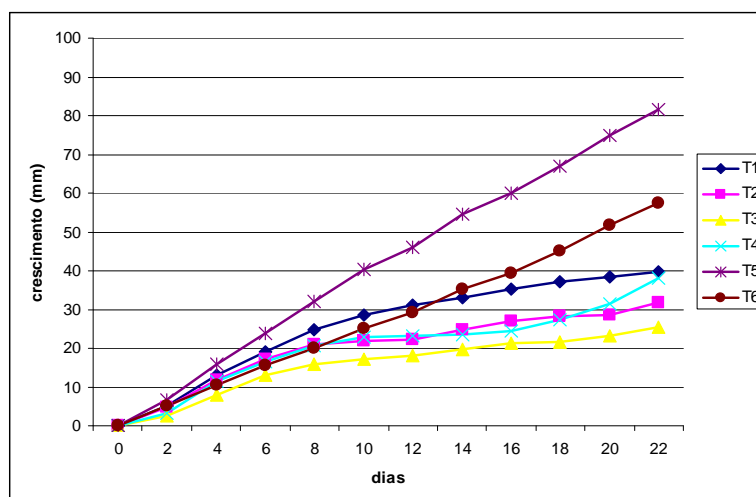


Figura 4.9: Crescimento micelial da linhagem LE-98/55 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

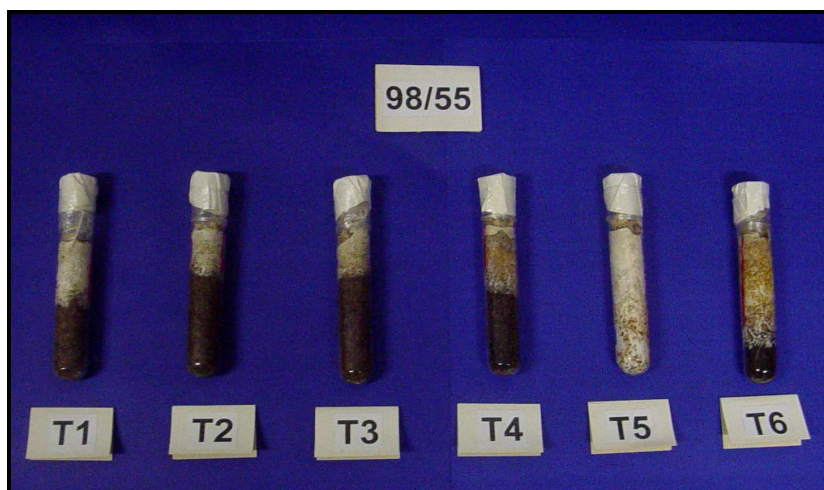


Figura 4.10: Crescimento micelial da linhagem LE-98/55 de *Lentinula edodes* com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.

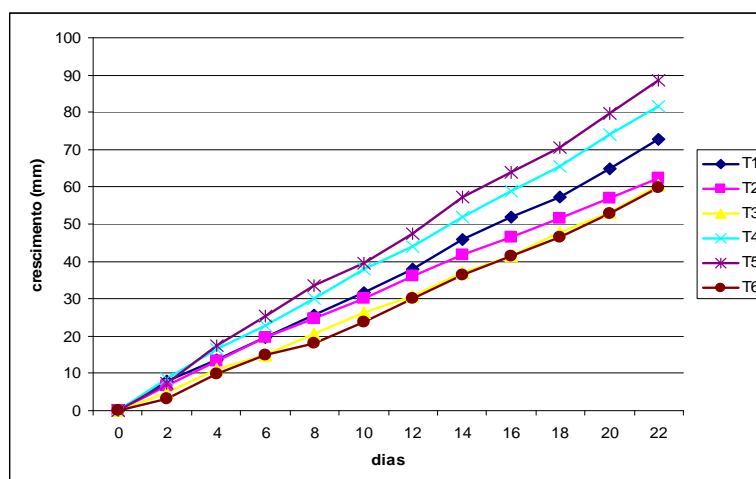


Figura 4.11: Crescimento micelial da linhagem CCB-515 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.12: Crescimento micelial da linhagem CCB-515 de *Lentinula edodes* com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.

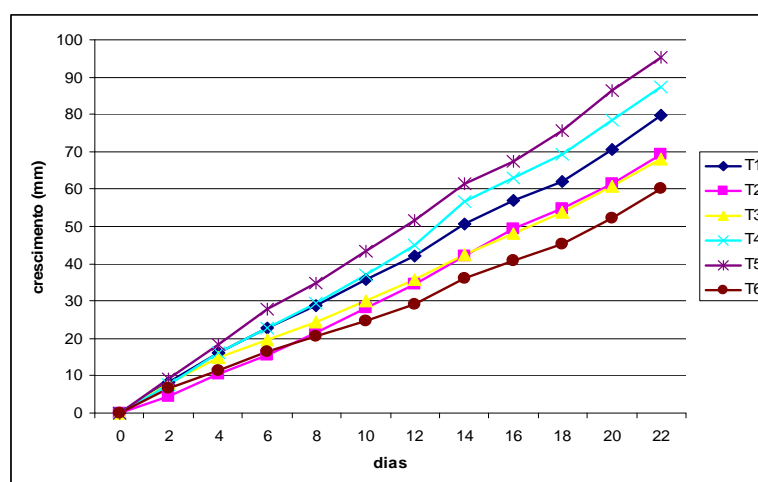


Figura 4.13: Crescimento micelial da linhagem CCB-514 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.14: Crescimento micelial da linhagem CCB-514 de *Lentinula edodes* com 22 dias de cultivo em tubos de ensaio.

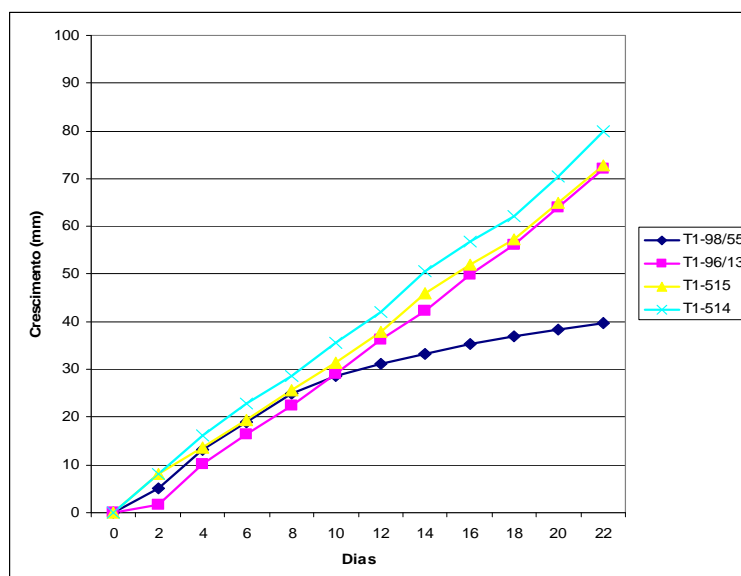


Figura 4.15: Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 1 (65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).

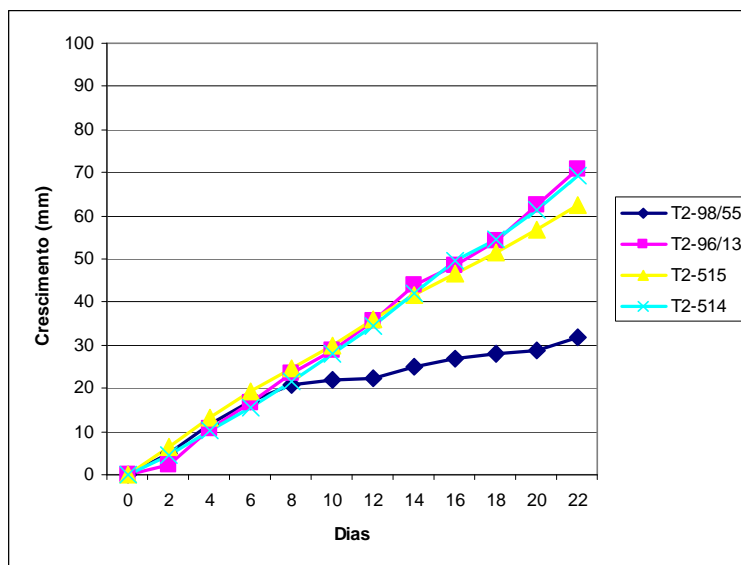


Figura 4.16: Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 2 (60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).

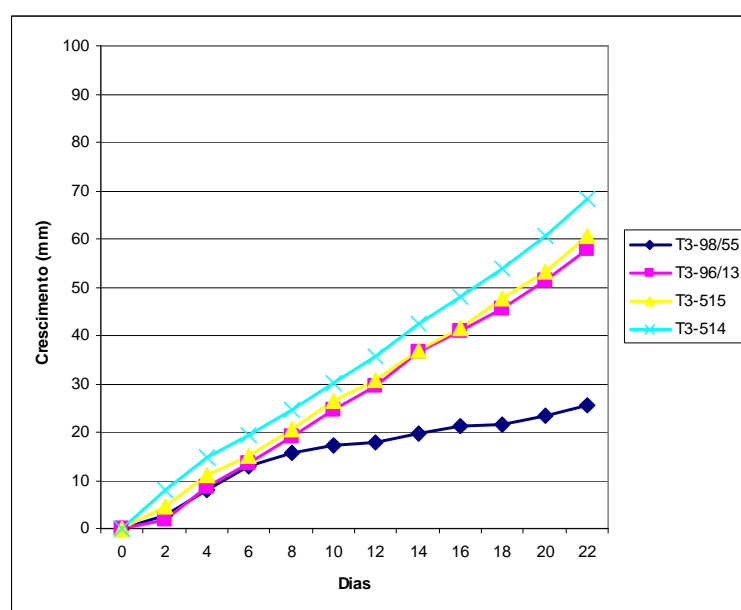


Figura 4.17: Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 3 (95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca).

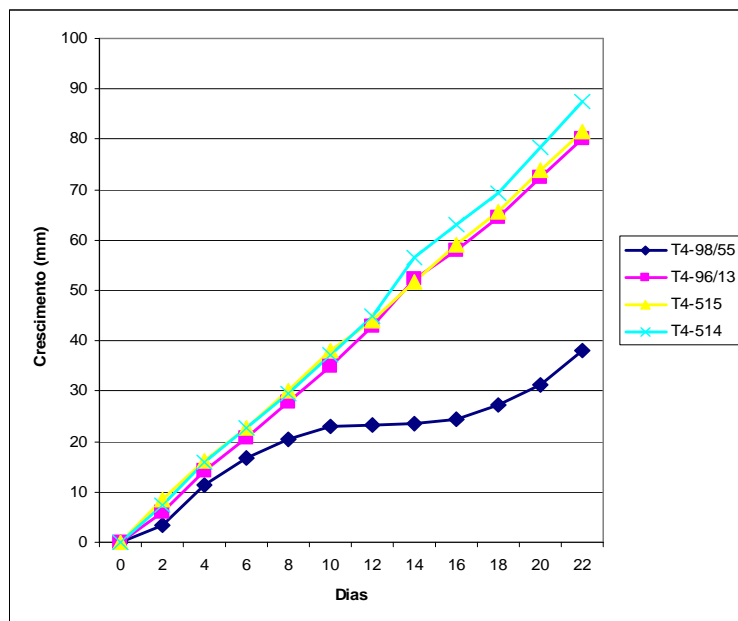


Figura 4.18: Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 4 (65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).

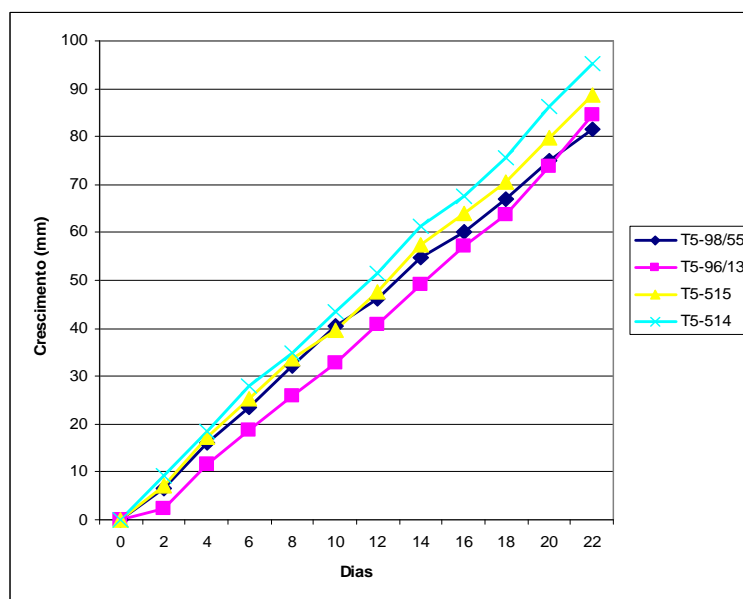


Figura 4.19: Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 5 (60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja).

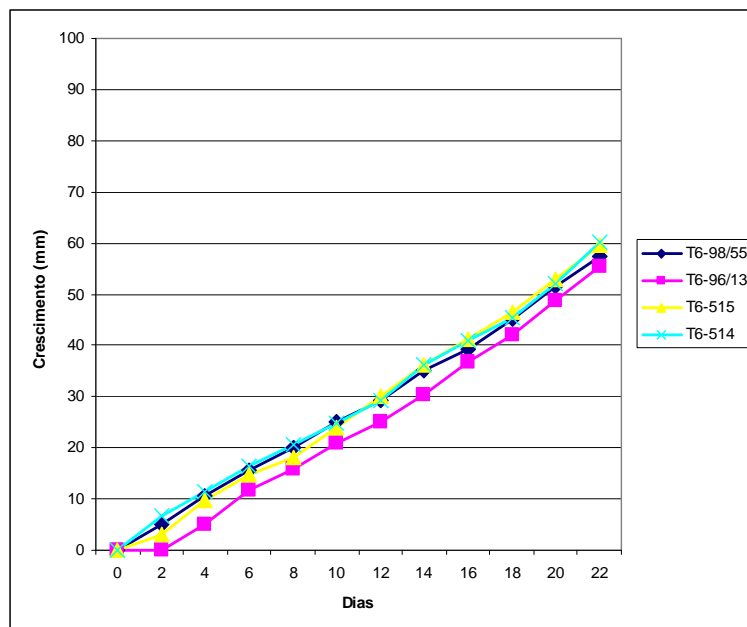


Figura 4.20: Crescimento micelial de todas as linhagens, LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514, no tratamento 6 (95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Os dados alcançados com o tratamento 5 vão ao encontro aos obtidos no experimento de crescimento micelial radial, no qual, na presença do estipe, a velocidade de crescimento foi superior aos demais tratamentos.

4.3 ENSAIO III: ANÁLISE DO CULTIVO AXÊNICO DE *Lentinula edodes*

Este ensaio teve como objetivo avaliar a produção de *Lentinula edodes* em diferentes substratos a base de estipe e bainha de palmeira-real.

O processo de produção foi acompanhado ao longo de 147 dias. Após 30 dias de cultivo, os blocos apresentam completa colonização, com início de formação da capa marrom em praticamente todos os tratamentos. Após 50 dias, foi constatada a presença de basidiomas nas linhagens LE-96/13 e CCB-515 (Figuras 4.21 e 4.22). Aos 90 dias, alguns blocos mantiveram a produção de primórdios e, na maioria deles, houve a completa formação de capa marrom protetora (Figuras 4.23 e 4.24). Ao final do experimento (120 dias), foi constatada contaminação em diversos blocos, sendo que os tratamentos 1, 2 e 3 permaneceram produzindo basidiomas (Figura 4.25).

Os tratamentos 1 e 2 que continham a capa protetora bem estruturada, não sofreram contaminação. Já no tratamento 3, além da contaminação, houve produção de líquido amarelado, alterando a coloração dos basidiomas. Além disso, não ocorreu a produção completa da capa marrom. Nos tratamentos 4, 5 e 6, a produção foi baixa. Não houve formação completa da capa marrom e foi observada contaminação e produção de líquido amarelo.

Segundo Beux (1995), a produção axênica de *L. edodes* ocorre em 80 dias após a inoculação, podendo haver formação de basidioma entre 50 e 114 dias, dependendo do substrato utilizado. O mesmo foi observado neste trabalho com resíduo de palmeira real.

Tonini (2004), constatou que a falta da película marrom, em alguns substratos, e a presença de um líquido amarelo nas linhagens que não apresentaram primórdios, afetou a estrutura do substrato, tornando-o menos rígido e propenso a contaminações. Para os tratamentos e linhagens estudados neste trabalho, não foi desenvolvida a película marrom nos substratos inoculados com a linhagem CCB-514.

Sobre a colonização do substrato, quanto mais rápido for o desenvolvimento da biomassa fúngica, menor a probabilidade de contaminação do meio de cultivo por outros fungos e bactérias (SILVA, 2003). Usando um inóculo mais vigoroso e adaptado ao meio de substrato, evita-se uma extensa fase lag, com possível contaminação. A contaminação pode ocorrer quando o micélio demora a se desenvolver (ROSSI, 1999).

Santos et al. (2005), observaram uma película marrom característica do cultivo axênico de cogumelos apenas na linhagem CCB-514. Observou-se, também, a formação de um líquido

amarelo na linhagem que não apresentou primórdios, fato que afetou a estrutura do substrato, tornando-o menos rígido.

Essa película marrom forma uma camada protetora por fora do substrato, atuando como barreira e defesa contra a invasão de organismos (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).



Figura 4.21: Aspecto dos blocos com 60 dias da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.22: Aspecto dos blocos com 60 dias da linhagem CCB-515 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.23: Aspecto dos blocos com 90 dias da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.24 Aspecto dos blocos com 90 dias da linhagem LE-98/55 de *Lentinula edodes*. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).



Figura 4.25: Aspecto do bloco com aproximadamente 120 dias da linhagem LE-98/55 de *Lentinula edodes* no tratamento 3 com basidiomas.



Figura 4.26: Aspecto do bloco com aproximadamente 120 dias da linhagem LE-98/55 de *Lentinula edodes* no tratamento 2 com primórdios.

Pode-se dizer que, a colonização do substrato é dividida em duas fases: a corrida do micélio e a estabilidade ou maturação do micélio. A corrida do micélio refere-se ao crescimento micelial do fungo imediatamente após a inoculação, até que o substrato seja completamente colonizado pelo fungo. Durante a corrida, o micélio absorve nutrientes, os quais serão utilizados na sua estrutura e na conversão da energia necessária para o seu metabolismo e crescimento. Nesta fase, o micélio utiliza o oxigênio e libera gás carbônico e

água. A fase de estabilidade ou maturação do micélio começa ao final da corrida do micélio e vai até o endurecimento da capa micelial que se torna amarronzada. Esta capa protetora é resultado de mudanças metabólicas do micélio, uma resposta natural à maturação ou exposição à luz por algumas semanas (MINHONI et al., 2005).

O micélio está estabilizado quando apresenta externamente ao substrato uma película que o reveste e protege. Nessa fase, acumulam-se os nutrientes necessários à frutificação. A frutificação ocorre quando há limite de nutrientes e em substratos que contenham carboidratos de fácil degradação (TONINI, 2004).

Na fase de estabilidade do micélio, observa-se a formação de “botões” de micélio que são considerados corpos de frutificação em potencial, além de a capa micelial tornar-se marrom. Os sacos plásticos devem ser abertos para permitir a entrada de ar e, conseqüentemente, estimular a pigmentação dos basidiocarpos. Os corpos de frutificação alcançam a maturidade entre 6 a 10 dias. A remoção dos sacos plásticos, na fase de formação de basidiomas, pode ser parcial ou total, em função das condições do ambiente de cultivo. A indução de primórdios e a formação de basidiomas são as fases em que o controle do ambiente é um fator crítico e decisivo para a obtenção de adequadas colheitas. A colheita deve ser realizada quando o basidioma apresentar características físicas desejadas para a comercialização e/ou consumo. Os basidiomas podem ser colhidos manualmente, segurando-os pela base do estípe e provocando, simultaneamente, um movimento de rotação e pressão em direção ao bloco de substrato. O tempo total de colheita de um bloco varia entre 3 a 6 meses ou mais, dependendo das condições ambientais durante a frutificação, forma de indução de primórdios, fórmula do substrato e tamanho do bloco (MINHONI et al., 2005).

No estudo realizado, após 50 dias de cultivo houve o surgimento do primeiro basidioma da linhagem LE-96/13, tratamento 2. O mesmo rompeu o papel filtro saindo pela abertura do respirômetro. Simultaneamente, ocorreu a produção de primórdios nos demais tratamentos e linhagens. Isso demonstra a precocidade observada nestes experimentos.

Rossi et al., (2003a), obtiveram, na primeira colheita, por volta de 90 dias, um baixo número de basidiomas. Isto se deu, de acordo com os autores, ao período de incubação e ao uso de dois sacos plásticos para evitar contaminação. Um período de 60 a 90 dias é citado como necessário para incubação, mas os resultados sugerem que a frutificação precoce foi induzida antes da maturação do micélio, por volta de 75 dias. Esperava-se que o uso de dois sacos plásticos mantivesse as condições assépticas do substrato, não prejudicando a produção de cogumelos. Vários autores citam o prejuízo ao desenvolvimento de *Lentinula edodes* causado pela troca gasosa inadequada do substrato.

Pode-se observar neste trabalho, a formação de basidiomas antes mesmo da indução, que foi feita aos 60 dias, devido a precocidade apresentada pelos blocos. Os sacos plásticos foram mantidos para evitar contaminações, sendo retirados somente quando surgia um primórdio.

O crescimento do micélio resulta de uma fusão de hifas, gerando uma associação entre hifa e substrato que proporciona um forte suporte físico necessário à formação dos corpos de frutificação. Quando este estado é atingido, o micélio é considerado como estabilizado e a mudança para o estágio reprodutivo está normalmente condicionada à variação de fatores físicos como decréscimo de temperatura e aumento de umidade (BEUX, 1995).

Neste trabalho, nos tratamentos em que não houve a formação da capa micelial, não ocorreu este suporte físico necessário à formação dos corpos de frutificação, fazendo com que os mesmos não se desenvolvessem ou tivessem má formação.

Abaixo são apresentados e discutidos os valores calculados de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total, tempo de emissão dos primórdios e período de produção dos basidiomas.

Na Tabela 4.6 são apresentados os dados de eficiência biológica e na Figura 4.27, o gráfico correspondente. Observa-se que a melhor eficiência biológica foi apresentada pela linhagem LE-96/13 no tratamento 2, com 60%. A mesma linhagem apresentou desempenho geral superior as demais nos outros tratamentos. A linhagem LE-98/55 apresentou eficiência biológica inferior em relação a LE-96/13, com máximo de 39% nos tratamentos 1 e 2. A linhagem CCB-515 produziu corpos de frutificação apenas nos tratamentos 1 e 2, com 23 e 22%, respectivamente e a CCB-514 apresentou eficiência biológica insignificante apenas nos tratamentos 5 e 6, e ausência nos demais.

Tabela 4.6: Dados de eficiência biológica (em %) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE – 96/13	LE – 98/55	CCB - 515	CCB - 514
Tratamento 1	47,4	39,1	23,7	0
Tratamento 2	60,3	38,9	22,5	0
Tratamento 3	27,8	35,8	0	0
Tratamento 4	23,4	11,3	0	0
Tratamento 5	36,6	18,9	0	1,9
Tratamento 6	37,1	12,0	0	1,6

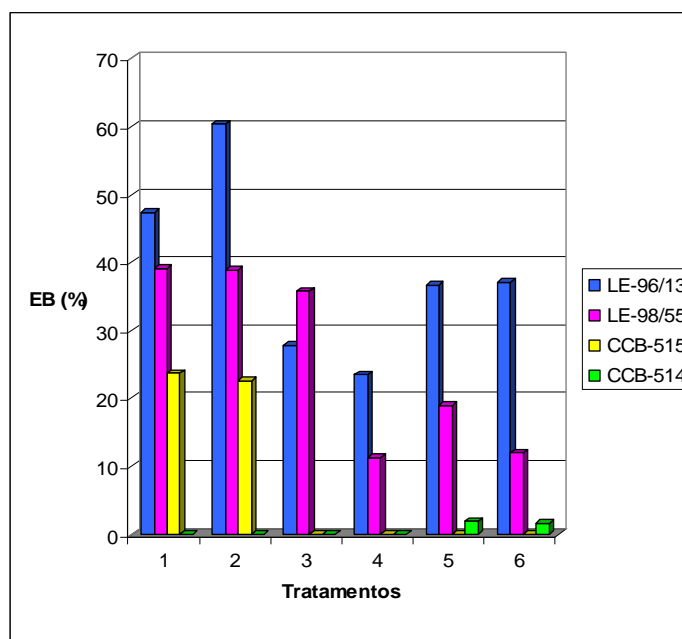


Figura 4.27: Gráfico de eficiência biológica (em %) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

A maior eficiência biológica obtida, neste experimento, foi de 60%. A eficiência biológica é afetada pela interação entre genótipo da cepa, inóculo, tempo de colonização e substrato de frutificação (BEUX, 1995).

Existem diversos resultados de produtividade de shiitake em cultivo axênico. Soccol e Fan (2003), obtiveram 858g de cogumelos frescos por kg de casca de café seco tratado, EB de 85%, 887g de cogumelos frescos por kg de borra seca de café, EB de 88%, e 784g de cogumelos frescos por kg de 50% de casca e 50% de borra, EB de 78%, com fluxos que iniciaram entre 56 a 65 dias. Curvetto (2003), utilizou resíduos da indústria de processamento de óleo de semente de girassol e obteve uma eficiência biológica (EB) acumulada de 108%, com um crescimento micelial de 2,93mm/dia, levando 25-30 para colonizar o substrato. Rossi (1999), obteve EB variando entre 75 a 125%, mas relata que houveram casos na literatura de 135 a 140%. Beux (1995), obteve eficiência biológica de 72,91% com um substrato contendo 80% de bagaço de mandioca e 20% de bagaço de cana. Silva (2003), utilizou resíduos de eucalipto com farelo de arroz, com farelo de trigo e com farelo de soja. Constatou que o crescimento de *Lentinula edodes* não variou entre a suplementação com farelo de arroz e de trigo, mas o crescimento foi maior quando a suplementação foi com farelo de soja. Gaitán-Hernández et al. (2006), obtiveram o melhor resultado no resíduo de videira, com a formação

de primórdios em 28 dias, com um período de produção de 69 dias. As médias de EB foram entre 44,61 a 93,25% para resíduo de videira, 64,08 a 88,60% para farelo de cevada e 37,02 a 78,48% para farelo de trigo. Ohga (1999), usou serragem de *Quercus mongolica* (70%), farelo de trigo (10%), farelo de arroz (10%) e farinha de sabugo de milho (10%), com água adicionada a mistura final (60%), e obteve produção em todas as linhagens, com uma eficiência biológica variando de 27% até 61%. Santana, Kasuya e Vanetti (2004), obtiveram cogumelos em todos os substratos, com mais alta produtividade em sabugo de milho, com uma eficiência biológica de 37,56%. Lopez et al. (2005), obtiveram eficiências biológicas entre 22,3 a 35,5% em uma linhagem e 24,8 a 77,5% com outra linhagem. Wambua (2005), utilizou quatro linhagens e obteve eficiências biológicas máximas de 53,4%, 40,25%, 33,62% e 31,12%, em dois fluxos. Royse e Sanchez-Vazquez (2001), obtiveram EBs que variaram entre 74,6% a 121,8%. Estes dados mostram que os resultados obtidos neste trabalho estão dentro do que se é esperado de eficiência biológica para este cogumelo.

Na Tabela 4.7 são apresentados os dados de rendimento e na Figura 4.28 o gráfico correspondente. Podem-se observar altos rendimentos para os casos que obtiveram alta eficiência biológica, mas em alguns casos houve uma alteração, como na linhagem CCB-515 que nos tratamentos 1 e 2 teve uma média de EB inferior, enquanto que o rendimento foi superior. Isso pode ser explicado pela quantidade superior de cogumelos produzidos nestes tratamentos, por esta linhagem. E, como o rendimento tem seu cálculo baseado na massa seca dos cogumelos, este valor também foi elevado. A quantidade maior de cogumelos propiciou uma maior área superficial em cada um deles. Já em basidiomas de maior tamanho, a quantidade de água a ser perdida durante a desidratação é maior, diminuindo o rendimento.

Tabela 4.7: Dados de rendimento (em %) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE – 96/13	LE – 98/55	CCB - 515	CCB - 514
Tratamento 1	9,18	4,53	7,50	0
Tratamento 2	8,67	4,04	8,10	0
Tratamento 3	4,57	2,47	0	0
Tratamento 4	3,45	1,36	0	0
Tratamento 5	5,77	2,48	0	0,27
Tratamento 6	5,58	1,66	0	0,21

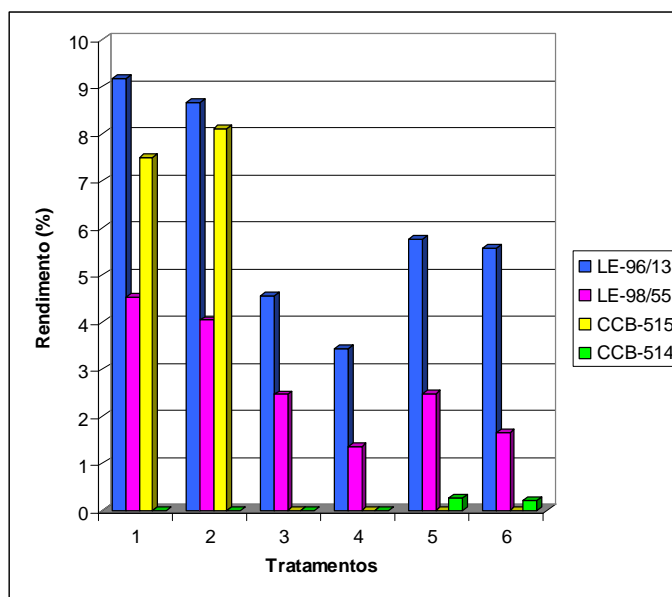


Figura 4.28: Gráfico de rendimento (em %) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Com relação ao peso fresco total dos cogumelos, na Tabela 4.8 são apresentados os valores em gramas obtidos em cada tratamento, e respectiva linhagem. Na Figura 4.29 pode-se observar o gráfico correspondente. O peso fresco está diretamente relacionado à eficiência biológica, porque para se realizar o cálculo de EB é utilizado o peso fresco. Deste modo, as linhagens que apresentaram as maiores eficiências biológicas possuem os maiores pesos frescos totais. O maior peso foi atingido pela linhagem LE-96/13 no tratamento 2, com 603,6g, seguido da mesma linhagem no tratamento 1, com 474,3g, e em terceiro a LE-98/55 no tratamento 1, com 391,2g. O peso fresco total foi calculado através da soma da produção dos cinco blocos.

A Sala de Frutificação utilizada possui 18m², caso fosse ocupado todo o espaço disponível para o cultivo axênico, tem-se o seguinte cálculo de produção estimada:

- 8 estantes poderiam ser colocadas na sala;
- de cada estante utilizar-se-iam 5 prateleiras, aquelas acima de 1m do chão;
- em cada prateleira caberiam 12 sacos com substrato;
- 8 estantes * 5 prateleiras = 40 * 12 sacos com substrato = 480 sacos com substratos;
- com a linhagem LE-96/13 no tratamento 2 atingiu-se, em média, 88,50g de cogumelos por saco com substrato;

- 480 sacos * 88,5g = 42.480g de cogumelos em apenas um fluxo de 5 meses (125 dias - período de produção da LE-96/13).

Tabela 4.8: Dados de peso fresco total dos cogumelos (em gramas/por quilograma) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE – 96/13	LE – 98/55	CCB - 515	CCB - 514
Tratamento 1	474,3g	391,2g	237,1g	0
Tratamento 2	603,6g	389,4g	225,5g	0
Tratamento 3	278,0g	357,9g	0	0
Tratamento 4	234,7g	113,1g	0	0
Tratamento 5	366,7g	189,7g	0	19,91g
Tratamento 6	371,2g	120,0g	0	16,16g

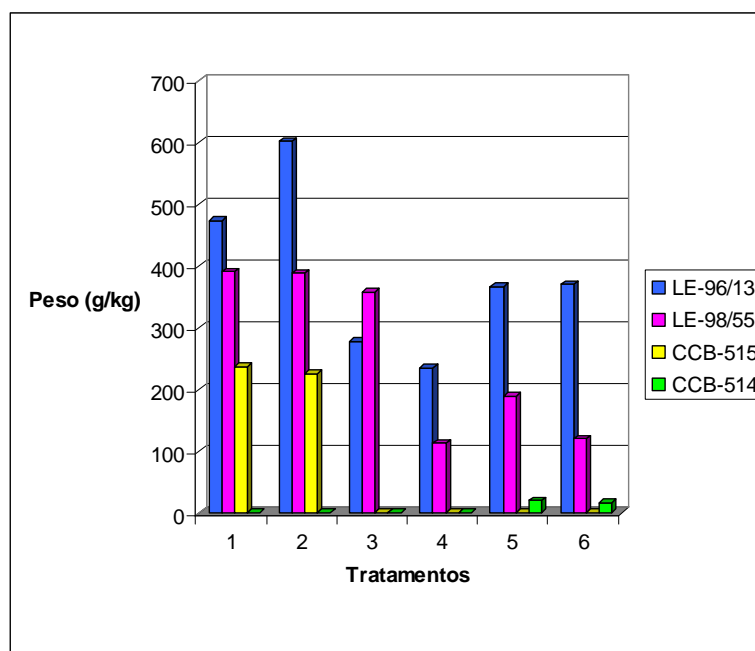


Figura 4.29: Gráfico do peso fresco total dos cogumelos (em gramas/por quilograma) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

A produção média do cultivo axênico é de 18 a 20 kg de cogumelos por 100 kg de substrato (TONINI, 2004). Neste trabalho, a linhagem LE-96/13, apresentou valores 3 vezes superiores aos mencionados pela autora acima, com valores de até de 60kg por 100kg de substrato. Os valores de produção também foram superiores quando comparados com o tipo

de substrato, ou seja, onde havia bainha (tratamentos 1, 2 e 3), houve maior produção de basidiomas, em comparação ao substrato contendo estipe (tratamentos 4, 5 e 6).

Rossi (1999), verificou um aumento no peso fresco dos cogumelos com a adição de melaço de cana. Neste trabalho, observou-se que nos tratamentos com alta concentração em bagaço de mandioca (30 e 35%), obteve-se os mesmos resultados do autor citado. O bagaço é rico em amido e, como o shiitake é um fungo com capacidade de expressão da enzima alfa-amilase, o teor em monossacarídeo de fácil assimilação, como os do melaço de cana, estão disponíveis para o metabolismo celular. Mas, isto somente ocorreu quando a base do substrato era composta por bainha mediana. Isto pode ser explicado pelo fato de o estipe apresentar uma alta condutividade elétrica, indicativo da presença de grande teor em sódio.

De acordo com Paula, Tarsitano e Graciolli (2001), o peso de um toro seria em média 5kg, com uma produtividade média de 150 g de cogumelo por toro por colheita, levando 1 ano e 2 meses para o início da mesma. Se compararmos com o cultivo axênico, tem-se o seguinte: 730g de substrato produziram 443g de cogumelos (linhagem LE-96/13, tratamento 2), em 147 dias, ou em aproximadamente 5 meses. São 7 vezes menos peso de que um tronco, com 3 vezes mais produção de cogumelos. Campbell e Racjan (1999), obtiveram 0,9kg de shiitake por toro, por ano, um equivalente a 289,38g de peso fresco/kg de madeira inoculada, ou seja, uma eficiência biológica de 28,9%. Demonstrando que o cultivo axênico produz muito mais cogumelos que o cultivo tradicional.

Na Tabela 4.9 podem ser observadas as eficiências biológicas obtidas em algumas espécies de árvores no cultivo tradicional. As espécies em que se obtêm altas eficiências biológicas não são encontradas no Brasil. Além de que alguns dados de EB em cultivo axênico apresentarem valores maiores que 89%. Mostrando novamente o melhor êxito que se obtêm no cultivo axênico, com substratos alternativos.

Tabela 4.9: Eficiência biológica obtida em várias espécies de madeira utilizadas para o cultivo de *Lentinula edodes*.

Espécie (nome vulgar)	Eficiência Biológica (%)
<i>Quercus rubra</i> (carvalho vermelho)	89,4
<i>Alnus serrulata</i> (aveleira)	88,6
<i>Castanea crenata</i> (castanheira japonesa)	67,8
<i>Quercus alba</i> (carvalho branco)	61,4
<i>Betula nigra</i> (vidoeiro)	37,0
<i>Pinus virginiana</i> (pinheiro da Virgínia)	5,0
<i>Malus sylvestris</i> (macieira)	0,0

Fonte: BEUX, (1995).

As quantidades de cogumelos obtidas, neste trabalho, estão apresentadas na Tabela 4.10 e o gráfico na Figura 4.30. As maiores quantidades foram apresentadas pela linhagem LE-96/13 nos tratamentos 4, 5 e 6, e pela CCB-515 no tratamento 1. Como já foi observado anteriormente, este número superior de cogumelos da linhagem CCB-515 fizeram com que a produtividade desta linhagem fosse alta.

Tabela 4.10: Dados da quantidade de cogumelos (em número de basidiocarpos) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE - 96/13	LE - 98/55	CCB - 515	CCB - 514
Tratamento 1	23	23	49	0
Tratamento 2	34	22	32	0
Tratamento 3	25	34	0	0
Tratamento 4	46	13	0	0
Tratamento 5	52	11	0	2
Tratamento 6	51	15	0	1

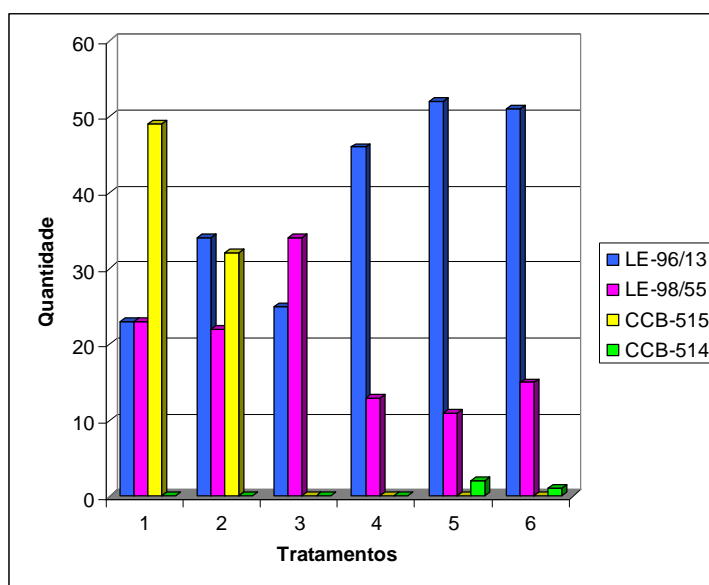


Figura 4.30: Gráfico da quantidade de cogumelos (em número de basidiocarpos) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

De acordo com Rossi (1999), o número de cogumelos não apresentou muita alteração de acordo com o tipo de suplemento adicionado ao substrato. O mesmo pode ser observado neste

trabalho, onde a maior influência para a quantidade de cogumelos ocorreu pela linhagem e não pelo tratamento.

O tempo que as linhagens levaram para apresentar primórdios está apresentado na Tabela 4.11 e o gráfico na Figura 4.31. Não houve grandes diferenças entre os tempos que as linhagens levaram para produzir primórdios. Mas pode-se observar que a linhagem CCB-514 apresentou primórdios, mas estes não desenvolveram corpos de frutificação. As linhagens e tratamentos que tiveram maiores produtividades tiveram a emissão dos primórdios dentro do que se espera para o cultivo axênico.

Tabela 4.11: Tempo de emissão de primórdios (em dias) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE - 96/13	LE - 98/55	CCB - 515	CCB - 514
Tratamento 1	62	90	62	90
Tratamento 2	71	90	65	90
Tratamento 3	71	90	0	0
Tratamento 4	71	90	0	0
Tratamento 5	74	90	0	97
Tratamento 6	71	92	0	117

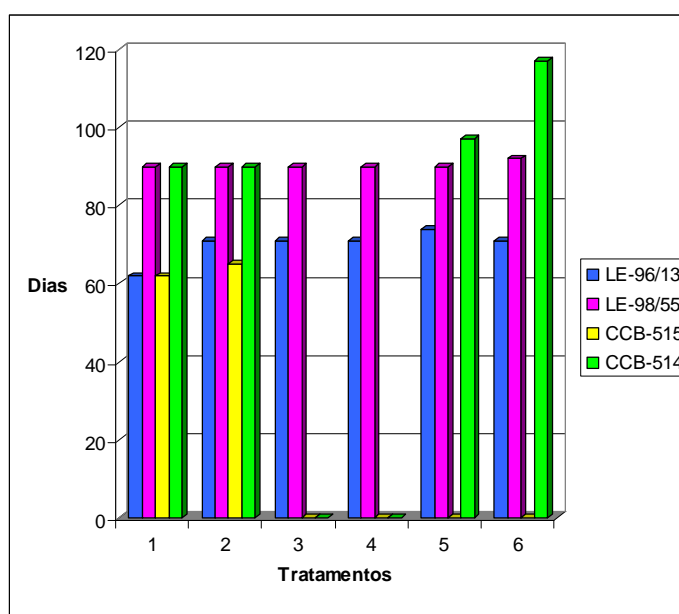


Figura 4.31: Gráfico de tempo de emissão de primórdios (em dias) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

O período de produção de cogumelos está apresentado na Tabela 4.12, e seu respectivo gráfico na Figura 4.32. A linhagem LE-96/13 teve os maiores períodos de produção com 78 dias no tratamento 1, e 63 dias no tratamento 3. Estes números devem ser analisados juntamente com a eficiência biológica, pois houve pouca colheita, num período de produção longo. Por exemplo, o tratamento 2, com a linhagem LE-96/13, obteve eficiência biológica superior, de 60%, esta produção ocorreu em 51 dias, enquanto que a mesma linhagem no tratamento 1, teve 47% de EB, em 78 dias. Uma EB superior, num curto período de tempo se torna mais vantajosa economicamente, pois, diminui o tempo de cultivo, que exige ambiente climatizado, produz mais, e permite iniciar outra produção quando esta finaliza.

Tabela 4.12: Dados de período de produção (em dias) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE - 96/13	LE - 98/55	CCB - 515	CCB - 514
Tratamento 1	78	50	58	0
Tratamento 2	51	53	15	0
Tratamento 3	63	50	0	0
Tratamento 4	39	15	0	0
Tratamento 5	36	13	0	8
Tratamento 6	39	20	0	1

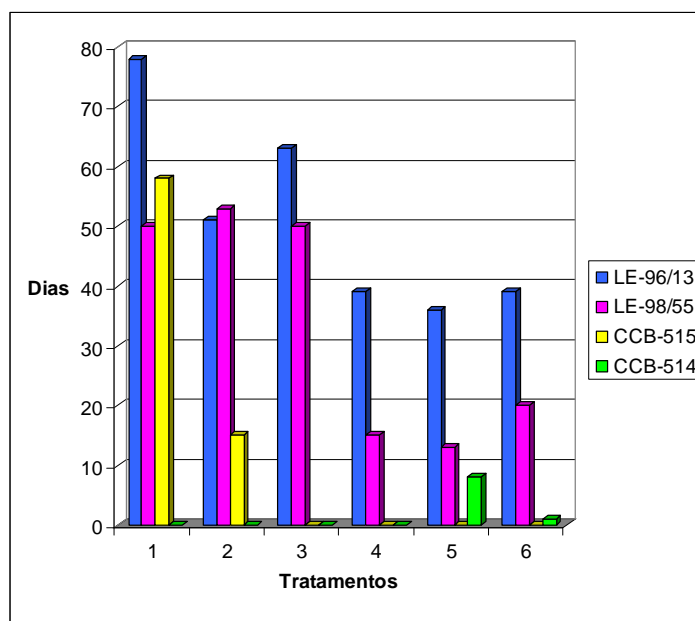


Figura 4.32: Gráfico de período de produção (em dias) de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Na Tabela 4.13 estão apresentadas as quantidades de cogumelos produzidas de acordo com o tamanho e forma do píleo ou chapéu e na Figura 4.33 se encontra o gráfico correspondente. Os cogumelos pequenos não são considerados viáveis comercialmente. Desta maneira, considerando apenas os médios e grandes, as melhores quantidades foram da LE-98/55 nos tratamentos 3 e 1, e da LE-96/13 nos tratamentos 2 e 5.

Tabela 4.13: Quantidade de cogumelos de acordo com o tamanho e formato de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de balsa, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de balsa, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de balsa e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

	LE – 96/13				LE – 98/55				CCB -515				CCB -514			
	P	M	G	A	P	M	G	A	P	M	G	A	P	M	G	A
Tratamento 1	2	2	8	11	2	6	13	2	30	9	4	6	-	-	-	-
Tratamento 2	4	9	11	10	4	5	9	4	5	13	4	10	-	-	-	-
Tratamento 3	1	13	1	10	12	16	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Tratamento 4	25	12	1	8	-	5	1	7	-	-	-	-	-	-	-	-
Tratamento 5	24	19	1	8	1	3	3	4	-	-	-	-	-	1	-	1
Tratamento 6	17	14	2	18	3	2	1	9	-	-	-	-	-	-	-	1

P = pequeno (até 2 cm de comprimento)

M = médio (de 2 a 4 cm de comprimento)

G = grande (acima de 4 cm de comprimento)

A = amorfo

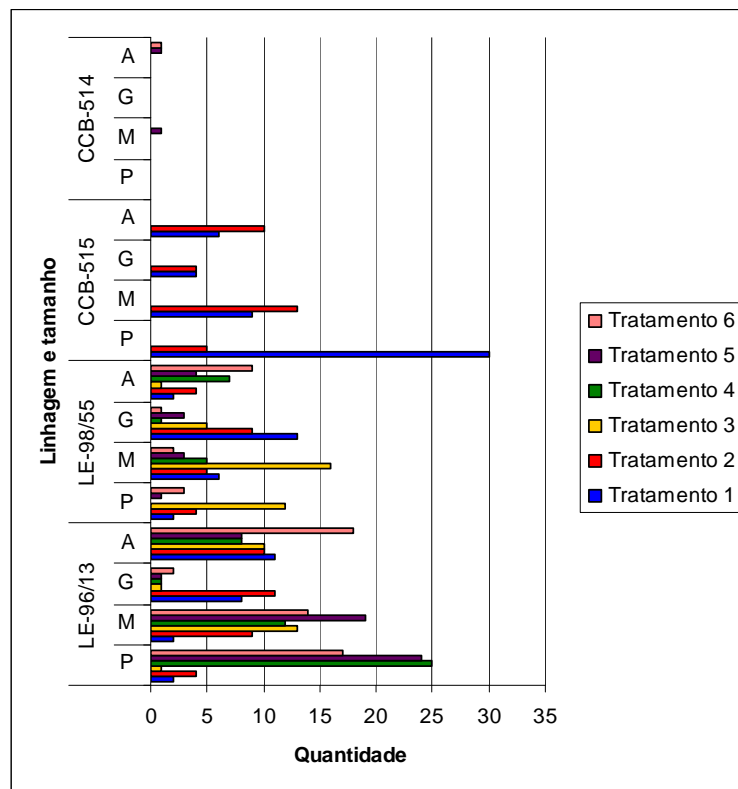


Figura 4.33: Quantidade de cogumelos obtidos nos 6 tratamentos, de acordo com o tamanho e formato de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de baidha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de baidha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de baidha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

P = pequeno (até 2 cm de comprimento)

M = médio (de 2 a 4 cm de comprimento)

G = grande (acima de 4 cm de comprimento)

A = amorfo

O píleo é a principal parte comestível e a mais valorizada comercialmente. Para o mercado, a qualidade do shiitake é função principalmente do seu tamanho, espessura e cor do píleo e das lamelas (MINHONI et al., 2005).

Na primeira colheita, várias linhagens podem ter elevada porcentagem de basidiocarpos com píleos deformados, isto melhora devido a um melhor balanceamento nutricional, na segunda colheita. A qualidade do cogumelo, em termos de tamanho, peso e deformação também são afetadas pela formulação do substrato. Comercialmente, os cogumelos com diâmetro maior que 5 cm são os mais importantes (ROSSI, 1999).

É comum que no primeiro fluxo de cogumelos, tenha-se alta porcentagem de abortos e cogumelos deformados. No entanto, cogumelos normais são produzidos durante os fluxos subseqüentes. As eficiências biológicas registradas variam de 40 a 100%, sendo mais altas que o cultivo em toros. As linhagens do shiitake apresentam respostas diferentes para as

condições do ambiente durante a frutificação. Algumas linhagens produzem um fluxo de cogumelos em um curto período. Outras linhagens produzem cogumelos continuamente em números mais baixos (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Nas primeiras colheitas obteve-se uma grande quantidade de cogumelos deformados, isto foi melhorado conforme foram sendo realizadas mais colheitas. Não foi possível relacionar as deformações com o tratamento, ou a linhagem utilizada. O máximo de eficiência biológica está dentro da média, e como foi relatado pelo autor, algumas linhagens produziram cogumelos num curto período, enquanto outras ficaram produzindo cogumelos continuamente.

Quando uma linhagem coloniza rapidamente, ela precisa de um longo período para acumular recursos necessários à frutificação. De modo contrário, num crescimento lento, a linhagem pode estar pronta para frutificação depois da total colonização do substrato. (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Com os dados da produção de basidioma foi feita a Análise de Variância (Tabela 4.14) e a comparação entre os tratamentos e entre as linhagens (Tabela 4.15), baseadas nos dados obtidos de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total dos cogumelos, tempo de emissão de primórdios e período de produção. Nas tabelas 4.14 e 4.15 pode-se observar quando existe diferença significativa entre os dados em nível de significância de 5% e na tabela 4.16 tem-se o Teste de Tukey aplicado aos dados obtidos para demonstrar quais tratamentos e linhagens são semelhantes ou diferentes entre si.

Tabela 4.14: Análise de Variância aplicada aos dados de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total dos cogumelos, tempo de emissão de primórdios e período de produção de cogumelos de *Lentinula edodes*.

Parâmetro avaliado	Fonte da variação	SQ	g.l.	QM	Fcal	p	Ftab
Eficiência biológica	Linhagens	5435,7	3	1811,9	27,072	< 0,001*	3,287
	Tratamentos	1513,9	5	302,79	4,524	0,0102*	2,901
	Resíduo(erro)	1003,9	15	66,929			
	Total	7953,6	23				
Rendimento	Linhagens	113,84	3	37,949	11,969	0,00029*	3,287
	Tratamentos	67,693	5	13,538	4,27	0,0129*	2,901
	Resíduo(erro)	47,558	15	3,1705			
	Total	229,09	23				
Peso fresco total dos cogumelos	Linhagens	543367,0	3	181122,3	27,065	< 0,001*	3,287
	Tratamentos	151392,9	5	30278,5	7,524	0,010*	2,901
	Resíduo(erro)	100379,3	15	6691,9			
	Total	795139,4	23				
Quantidade de cogumelos	Linhagens	4497,1	3	1499,04	6,947	0,0037*	3,287
	Tratamentos	299,20	5	59,841	0,277	0,918	2,901
	Resíduo(erro)	3236,6	15	215,77			
	Total	8032,9	23				
Emissão de primórdios	Linhagens	-15261,2	3	-5087,0	1,757	0,1983	3,287
	Tratamentos	-24523,9	5	-4904,7	1,694	0,1965	2,901
	Resíduo(erro)	43417,4	15	2894,4			
	Total	3632,2	23				
Período de produção	Linhagens	1558,6	3	519,53	0,789	0,518	3,287
	Tratamentos	-3859,8	5	-771,96	1,173	0,367	2,901
	Resíduo(erro)	9867,6	15	657,84			
	Total	7566,4	23				

* diferença significativa a 5%.

Tabela 4.15: Comparação entre tratamentos e entre linhagens, utilizando o Teste de Tukey, com relação à eficiência biológica, o rendimento, o peso fresco total dos cogumelos, a quantidade de cogumelos, o tempo de emissão de primórdios, e o período de produção de cogumelos de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Variáveis	Comparação	Eficiência biológica		Rendimento		Peso fresco total		Quantidade		Emissão de primórdios		Período de produção	
		diferenças	d.m.s.	diferenças	d.m.s.	diferenças	d.m.s.	diferenças	d.m.s.	diferenças	d.m.s.	diferenças	d.m.s.
Tratamentos	T1 x T2	2,905	18,775	0,100	4,087	28,975	187,741	1,750	33,712	3,000	123,472	22,333	58,863
	T1 x T3	11,66	18,775	3,543	4,087	116,675	187,741	9,000	33,712	4,500	123,472	5,500	58,863
	T1 x T4	18,86*	18,775	4,100*	4,087	188,70*	187,741	9,000	33,712	4,500	123,472	35,000	58,863
	T1 x T5	13,15	18,775	3,173	4,087	131,573	187,741	7,500	33,712	11,000	123,472	43,000	58,863
	T1 x T6	14,87	18,775	3,440	4,087	148,810	187,741	7,000	33,712	17,333	123,472	42,000	58,863
	T2 x T3	14,56	18,775	3,443	4,087	145,650	187,741	7,250	33,712	1,500	123,472	16,833	58,863
	T2 x T4	21,77*	18,775	4,000	4,087	217,675*	187,741	7,250	33,712	1,500	123,472	12,667	58,863
	T2 x T5	16,05	18,775	3,073	4,087	160,548	187,741	5,750	33,712	8,000	123,472	20,667	58,863
	T2 x T6	17,78	18,775	3,340	4,087	177,785	187,741	5,250	33,712	14,333	123,472	19,667	58,863
	T3 x T4	7,205	18,775	0,558	4,087	72,025	187,741	0,000	33,712	0,000	123,472	29,500	58,863
	T3 x T5	1,490	18,775	0,370	4,087	14,898	187,741	1,500	33,712	6,500	123,472	37,500	58,863
	T3 x T6	3,213	18,775	0,103	4,087	32,135	187,741	2,000	33,712	12,833	123,472	36,500	58,863
	T4 x T5	5,715	18,775	0,928	4,087	57,128	187,741	1,500	33,712	6,500	123,472	8,000	58,863
	T4 x T6	3,993	18,775	0,660	4,087	39,890	187,741	2,000	33,712	12,833	123,472	7,000	58,863
T5 x T6	1,723	18,775	0,268	4,087	17,238	187,741	0,500	33,712	6,333	123,472	1,000	58,863	
Linhagens	96/13 x 98/55	12,785	13,627	3,447*	2,966	127,867	136,258	18,833	24,467	20,333	89,613	17,500	42,721
	96/13 x 515	31,10*	13,627	3,603*	2,966	310,983*	136,258	25,000*	24,467	6,500	89,613	14,500	42,721
	96/13 x 514	38,21*	13,627	6,123*	2,966	382,072*	136,258	38,000*	24,467	28,500	89,613	46,500*	42,721
	98/55 x 515	18,31*	13,627	0,157	2,966	183,117*	136,258	6,167	24,467	26,833	89,613	3,000	42,721
	98/55 x 514	25,42*	13,627	2,677	2,966	254,205*	136,258	19,167	24,467	8,167	89,613	29,000	42,721
	515 x 514	7,110	13,627	2,520	2,966	71,088	136,258	13,000	24,467	35,000	89,613	32,000	42,721

* diferença significativa em nível de 5%.

Tabela 4.16: Médias do Teste de Tukey de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total dos cogumelos, quantidade de cogumelos, tempo de emissão de primórdios e período de produção de cogumelos de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Linhagem	Eficiência biológica	Rendimento	Peso fresco total	Quantidade	Emissão de primórdios	Período de produção
LE-96/13	38,81 b	6,20 b	388,08 b	38,50 b	70,00 a	51,00 b
LE-98/55	26,03 b	2,75 a	260,21 b	19,66 ab	90,33 a	33,50 ab
CCB-515	7,71 a	2,60 a	77,10 a	13,50 a	63,50 a	36,50 ab
CCB-514	0,60 a	0,08 a	6,01 a	0,50 a	98,50 a	4,50 a
Tratamento	Eficiência biológica	Rendimento	Peso fresco total	Quantidade	Emissão de primórdios	Período de produção
T1	27,57 B	5,30 B	275,65 B	23,75 A	76,00 A	62,00 A
T2	30,47 B	5,20 AB	304,63 B	22,00 A	79,00 A	39,67 A
T3	15,90 AB	1,76 AB	158,98 AB	14,75 A	80,50 A	56,50 A
T4	8,69 A	1,20 A	86,95 A	14,75 A	80,50 A	27,00 A
T5	14,41 AB	2,13 AB	144,08 AB	16,25 A	87,00 A	19,00 A
T6	12,69 AB	1,86 AB	126,84 AB	16,75 A	93,33 A	20,00 A

Médias seguidas de mesma letra na vertical (minúscula para linhagens e maiúsculas para tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

De acordo com o Teste de Tukey (Tabela 4.16), as linhagens CCB-514 e CCB-515 tiveram as menores médias de eficiência biológica, não diferindo entre si ($p \leq 0,05$), ao contrário das linhagens LE-96/13 e LE-98/55, que tiveram as maiores médias e também não diferem em nível de 5% de significância. Quanto aos tratamentos, o T4 apresentou a menor média, embora não tenha apresentado diferença ($p \leq 0,05$) dos tratamentos 3, 5 e 6, que tiveram valores intermediários de eficiência biológica. Os tratamentos 1 e 2 apresentaram as melhores médias de eficiência, não diferindo ($p \leq 0,05$) dos tratamentos 3, 5 e 6.

Para os dados de rendimento, as linhagens LE-98/55, CCB-515 e CCB-514 não tiveram diferenças estatísticas entre si. Por sua vez, a LE-96/13 apresentou média superior que as demais linhagens a $p \leq 0,05$. Nos tratamentos, o T1 teve o melhor desempenho. Já os tratamentos 2, 3, 5 e 6 apresentaram rendimento intermediário, não diferindo a nível de 5% do tratamento 1. A menor média foi do tratamento 4, que não apresentou diferença em relação aos tratamentos 2, 3, 5 e 6, a $p \leq 0,05$.

Nos dados de peso fresco total, as linhagens CCB-514 e CCB-515 tiveram as menores médias, não diferindo entre si ($p \leq 0,05$). E as linhagens LE-96/13 e LE-98/55 apresentaram as melhores médias de peso fresco, não havendo diferenças significativas entre elas. O tratamento 4 apresentou a menor média, não havendo diferença entre ele e o 3, o 5 e o 6 em nível de 5%. As maiores médias de peso fresco foram dos tratamentos 1 e 2, estes não apresentaram diferenças entre si e nem diferiram do 3, do 5 e do 6, em nível de 5% de significância.

A quantidade de cogumelos das linhagens CCB-514 e CCB-515 não diferiram entre si, tendo as menores quantidades médias, a LE-98/55 teve uma quantidade intermediária não diferindo das outras três linhagens, e a maior quantidade de cogumelos foi da LE-96/13 ($p \leq 0,05$). Nos tratamentos não houve diferenças significativas em nível de 5% de significância.

Os tempos de emissão de primórdios foram muito semelhantes entre si, não havendo diferenças significativas em nível de 5%, nem entre as linhagens e nem entre os tratamentos.

Para o período de produção de cogumelos, a linhagem CCB-514 teve a menor média. As linhagens CCB-515 e LE-98/55 tiveram períodos de produção intermediários, não diferindo da CCB-514 ($p \leq 0,05$). A linhagem LE-96/13 apresentou a maior média, não diferindo da CCB-515 e LE-98/55 a $p \leq 0,05$. Nos tratamentos não houve diferenças significativas em nível de 5% de significância.

Reunindo todos os dados obtidos se pode afirmar quais são as linhagens mais produtivas, nos tratamentos mais adequados (Tabela 4.17).

Tabela 4.17: Linhagens mais produtivas e tratamentos de acordo com os dados obtidos de eficiência biológica, rendimento, peso fresco total, quantidade de cogumelos, tempo de produção de primórdios e período de produção de *Lentinula edodes* linhagens LE-96/13, LE-98/55, CCB-515 e CCB-514. (T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T3 = 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca; T4 = 65% de estipe, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; T5 = 60% de estipe, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e T6 = 95% de estipe e 5% de bagaço de mandioca).

Linhagem	Tratamento
LE-96/13	T2
LE-96/13	T1
LE-98/55	T1
LE-96/13	T5
LE-98/55	T3
LE-98/55	T2
LE-96/13	T6
CCB-515	T1
CCB-515	T2

Como foram destacados anteriormente, alguns tratamentos não formaram a capa de proteção, produziram líquido amarelo que tornou os cogumelos também amarelos, e dessa maneira contaminaram facilmente. Os tratamentos que apresentaram estas características foram: T3, T4, T5 e T6.

Desta maneira, os tratamentos mais adequados são o T1 e o T2. Já com relação as linhagens, apenas a CCB-514 não apresentou produção viável de cogumelos, todas as outras três linhagens (CCB-515, LE-96/13 e LE-98/55) podem ser utilizadas para produção de shiitake, sendo que as melhores são a LE-96/13 e LE-98/55. Sendo que os tratamentos T1 e T2 possuem a seguinte composição: T1 = 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja e no T2 = 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja.

Tonini (2004), observou que entre as linhagens CCB-515 e CCB-514, apenas a primeira formou basidiocarpos. Isso ocorreu nos tratamentos com: 65% de bainha, 30% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; 60% de bainha, 35% de bagaço de mandioca e 5% de farelo de soja; e no tratamento com 95% de bainha e 5% de bagaço de mandioca. Pode-se observar o mesmo neste experimento, sendo que os tratamentos utilizados foram baseados nestes resultados obtidos por Tonini (2004).

Os melhores tratamentos foram aqueles que apresentavam bainha, bagaço de mandioca e farelo de soja, demonstrando que estes dois suplementos são necessários para a produção de cogumelos, com o resíduo utilizado. A bainha torna-se um ótimo resíduo para ser empregado no cultivo de cogumelos, além de evitar a poluição causada pela disposição inadequada destes resíduos no ambiente, ou a poluição atmosférica, caso os mesmos sejam queimados,

tornando-se ainda, um ótimo recurso a ser adicionado ao solo, como fertilizante, após o cultivo axênico.

Grandes quantidades dos mais variados resíduos orgânicos são geradas anualmente através de atividades agrícolas e de processamento de alimentos. A aplicação de tecnologias de bioconversão adequadas faz com que não aumente a poluição do ambiente e que os resíduos sejam um potencial recurso valorável (CHANG, 1997).

Segundo Santos (2000) e Tonini (2004), significativas quantidades destes resíduos são usadas para combustão em diversas partes do mundo, destino que vem sendo alvo de crescente reprovação devido à poluição atmosférica resultante, além da enorme perda de energia. O importante potencial de uso desta imensa quantidade de resíduos como fonte de carbono renovável, pode contribuir decisivamente para o equilíbrio do seu ciclo, do qual dependem todos os seres vivos.

Os processos de bioconversão oferecem uma alternativa nutricional, porque os corpos de frutificação dos fungos contêm altas porcentagens de carboidratos totais e proteínas e seu valor nutricional é alto (GAITÁN-HERNÁNDEZ et al., 2006).

Os suplementos são adicionados ao substrato para acelerar o crescimento e incrementar a produtividade, para aumentar os níveis de nitrogênio e carboidratos utilizáveis. Açúcares e amido promovem carboidratos facilmente assimilados. (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Segundo Tonini (2004), o farelo de soja como fonte de nitrogênio é importante, pois, atua na síntese de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos e de algumas vitaminas pelo fungo. Normalmente, a velocidade de miceliação diminui à medida que se aumenta a concentração de nitrogênio.

Os cogumelos possuem capacidade de absorver íons metálicos que se encontram nos substratos. Pode-se, assim, selecionar os íons desejados, que sejam importantes para o organismo, como o ferro, zinco, germânio, cálcio, selênio e iodo. Com estas substâncias presentes no substrato o cogumelo forma os corpos de frutificação e os transfere (YUEXIN, 2003).

A produção anual de *Lentinula edodes* no Brasil é de 150.000 toneladas. Para vários autores, o consumo de shiitake vem crescendo, assim como sua produção. Como motivos que levaram a este aumento tem-se o bom retorno econômico, o cultivo, que pode ser feito em pequenas áreas, e o investimento inicial, que é relativamente baixo (URBEN, 2001).

A produção de *Lentinula edodes* em substrato, sob condições axênicas, apresenta grande potencial para garantir a oferta de shiitake no mercado, dificilmente conseguida no cultivo natural em toros de madeira. Este método visa diminuir o período para o início da produção (3 a 4 meses) e aumentar a produtividade em comparação com toros em condições naturais (EIRA, 2003). As vantagens em se utilizar os substratos são: maior disponibilidade de ingredientes para compor o substrato, maior oportunidade de enriquecê-lo, maior facilidade de manuseio dos sacos, miceliação rápida e vigorosa, resultando em rápido retorno econômico (ROSSI, 1999).

O uso de substratos diminui o tempo de produção e aumenta a eficiência biológica do fungo. O cultivo pode ser feito em menor espaço, com o aproveitamento de resíduos agroindustriais e, por conseqüência, diminui a poluição (SILVA, 2003). O cultivo em substratos pode ser feito durante todos os meses do ano, o micélio desenvolve-se rapidamente e resulta em maior produtividade em relação ao cultivo tradicional em toros (MINHONI et al., 2005).

5. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos conclui-se que:

As linhagens LE-96/13 e LE-98/55 mostraram-se mais produtivas que as CCB-514 e CCB-515, independente do tratamento utilizado.

O suplemento bagaço de mandioca quando em ausência do farelo de soja não produziu basidiomas com a mesma eficiência. Isso é um indicativo da necessidade da fonte de nitrogênio para a produção do shiitake.

Nos substratos com bainha foram produzidos cogumelos com morfologia mais característica, o bloco apresentou maior resistência física e formou um ambiente mais resistente à contaminação, uma vez que este produziu a película marrom.

A relação C/N teve influência sobre o tamanho e a quantidade dos basidiomas. Nos blocos contendo bainha, os basidiomas mostraram-se superiores no tamanho, mas inferiores na quantidade.

A bainha como resíduo do processamento do palmito da palmeira-real, tem um grande potencial para o cultivo de *Lentinula edodes*. Trazendo, desta maneira, os seguintes benefícios: destinação adequada dos resíduos do processamento do palmito; produção de alimento saudável e nutritivo e com um grande mercado a ser explorado na região; geração de emprego e renda; conservação das árvores, evitando o seu corte para o cultivo de cogumelos no método tradicional; possibilidade de ampliação de empreendimentos que realizam o processamento do palmito; geração de resíduos parcialmente degradados, com possibilidade de utilização em outros cultivos; prevenção de possíveis pragas que possam instalar-se nas plantações de palmeira-real, onde existe a disposição inadequada dos resíduos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAM – **Associação Brasileira de Produtores de Amido de Mandioca**. Disponível em: <<http://www.abam.com.br>>. Acesso em: 01 nov. 2006.

ADENESKY, E. **Resíduo agroindustrial da palmeira real-da-austrália (*Archontophoenix alexandrae* H. Wendl. & Drude) como componente para substrato de espécies ornamentais**. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional de Blumenau. 2007. 135p.

ATKINSON, A. C.; DONEV, A. N. **Optimum experimental designs**. Inglaterra: Oxford University Press, 1992.

BARROS NETO, B.; SCARMINO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas SP: Editora da Unicamp, 2001.

BEUX, M.R. **Biotransformação de resíduos agroindustriais do estado do Paraná no cultivo do fungo saprófita comestível *Lentinula edodes* (Shiitake)**. 1995. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995. 130p.

BOVI, M.L.A. **Cultivo da palmeira real visando a produção de palmito**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997, 14p. (Boletim Técnico, 172)

BOVI, M.L.A. Palmeiras cultivadas para processamento de palmito. Características agrônomicas e comerciais. In: CURSO – PROCESSAMENTO DO PALMITO EM CONSERVA, 2006, Campinas. **Apostila...** Campinas: ITAL – FRUTHOTEC, 2006.

CABRERA, G. M.; ROBERTI, M. J.; WRIGHT, J. E.; SELDES, A. M., Cryptoporic and isocryptoporic acids from the fungal cultures of *Polyporus arcularius* and *P. ciliatus*. **Phytochemistry**, v. 61, p. 189-193. 2002.

CAMPBELL, A.C.; RACJAN, M. The commercial exploitation of the white rot fungus *Lentinula edodes* (shiitake). **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 43, p. 101-107, 1999.

CAPRA, F. **A teia da vida – uma nova compreensão científica dos sistemas vivos**. São Paulo: Cultrix, 1996. 256p.

CAPRA, F. **As conexões ocultas: ciência para uma vida sustentável.** São Paulo: Cultrix, 2002, 296p.

CHANG, S.T. Bioconversion Technology: composting and production of microbial protein and metabolites. **In: Workshop Sul-Americano sobre usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana**, 1997, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA – Florestas, 1997. p. 71-82.

CHANG, S.T. Mushroom cultivation using the “Zeri” principle: potencial for application in Brazil. **In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL**, 1.,2003, Brasília. **Proceedings...** Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p. 32-41.

CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants.** New York: Columbia University Press, 1981, 1261p.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants.** 2 ed. New York: The New York Botanical Garden, 1988, 529p.

CURVETTO, N.R. Cultivo de *Pleurotus*, *Lentinula edodes* y *Ganoderma lucidum* sobre substrato conteniendo cáscara de semilla de girasol. **In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL**, 1.,2003, Brasília. **Proceedings...** Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p. 81-87.

DALSENTER, F.D.H. **Contribuição ao estudo da aplicação da proposta ZERI para um resíduo agroindustrial utilizando processo biotecnológico.** 2000. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2000. 127p.

EIRA, A.F. Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais: situação atual e perspectivas para o Brasil. **In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL**, 1.,2003, Brasília. **Proceedings...** Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p. 42-70.

GAITÁN-HERNÁNDEZ, R. et al. Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes*: the high potencial of viticulture residues. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 71, p. 432-439, 2006.

HATVANI, N.; MÉCS, I. Effect of nutrient composition on dye decolorisation and extracellular enzyme production by *Lentinus edodes* on solid medium. **Enzyme and Microbial Technology.** v. 30, p.381-386, 2002.

ISHIKAWA, N.K. **Antimicrobial Metabolites of Edible Mushroom** *Flamulina velutipes* (Enokitake). PhD Thesis. Sapporo, Japan. 2001. 182p.

ISRAEL, C.M. **Utilização do resíduo do processamento do palmito para a produção de enzimas hidrolíticas por fungos do gênero *Polyporus***. 2005. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2005. 135p.

JANSEN, B.J.M.; GROOT, A. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. **Nature Products Rep.** v.21, p.449-477, 2004.

JUDD, W.S. et al. **Plant Systematics – A Phylogenetic Approach**. Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 1999, 464p.

KÜES, U.; LIU, Y. Fruiting body production in basidiomycetes. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 54, p. 141-152, 2000.

LIEBL, M., VIEIRA, G. R. T.; GUEDES, A; ENDER, L.TAVARES, L.B.B.. Produção de Antibiótico em Reatores de Coluna em Sistema Sólido utilizando *Polyporus tricholoma*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS (SINAFERM), 15, 2005, Recife. **Anais...** p.1-7. CD-Rom.

LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T.H.J.; JÜLICH, W.D. The pharmacological potencial of mushrooms. **eCAM.** v. 2, p.285-299, 2005.

LOPEZ, E. et al. Supplementation of sawdust for production of *Lentinula edodes*. **Mushworld**. 2005 Disponível em: <<http://www.mushworld.com>> Acesso em: 27 jun. 2005.

LORENZI, H. et al. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2004. 432p.

MARTINS, C.C.; BOVI, M.L.A.; NAKAGAWA, J. Desiccation effects on germination and vigor of King palm seeds. **Horticultura Brasileira.** v. 21, n.1, p. 88-92, 2003.

MATA, G.; PÉREZ-MERLO, R. Spawn viability in edible mushrooms after freezing in liquid nitrogen without a cryoprotectant. **Cryobiology.** v. 47, p.14-20, 2003.

MINHONI, M.T.A.; et al. **Cultivo de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler – (Shiitake)**. 2 ed. Botucatu: FEPAF – Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2005. 72p.

MOMM, R.C.; TAVARES, L.B.B. Crescimento micelial radial de diferentes linhagens de *Lentinula edodes* cultivadas em bagaço de mandioca. In: ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 8., 2003, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2003. CD-ROM.

MONTINI, R.M.C.; PASSOS, J.R.S.; EIRA, A.F. Digital monitoring of mycelium growth kinetics and vigor of shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) on agar medium. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 37, p. 90-95. 2006.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the Fungi**. 4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996, 574p.

OHGA, S. Effect of water potencial on fruit body formation of *Lentinula edodes* in sawdust-based substrate. **J Wood Sci**. v. 45, p. 337-342, 1999.

PANDOLFO, C. et al. Notas sobre zoneamento agrícola para a cultura da palmeira-real-da-austrália em Santa Catarina. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUTORES DE PALMEIRA-REAL, 3.,2005, Balneário Camboriú. **Anais...** Florianópolis: ABRAPALMER – EPAGRI, 2005. p. 27-29.

PASCHOLATI, S.F. **Cogumelos – Cultivo e Comercialização** (Shiitake e Cogumelo do sol). Cuiabá: SEBRAE/MT, 1998. 85p. (Coleção Agroindústria nº 17)

PAULA, D.P.; TARSITANO, M.A.A.; GRACIOLLI, L.A. Viabilidade econômica do cultivo de shiitake em diferentes escalas de produção. **Scientia Agricola**, v. 58, n.2, p.431-436, 2001.

PELCZAR Jr., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia – Conceitos e Aplicações**. v. 1. 2 ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524p.

PEREIRA Jr., J.A.S.; CORREIA, M.J.; OLIVEIRA, N.T. Cellulase activity of a *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. Strain grown in media containing carboximetilcellulose or microcrystalline cellulose. **Brazilian archives of biology and technology**. v. 46, n.3, p.333-337, 2003.

PRZYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. **Shiitake Growers Handbook – The art and science of mushroom cultivation**. Dubuque, Iowa: Kendall / Hunt, 1990. 217p.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M.T.L. **Os reinos dos fungos**. v.2. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2002. 214p.

RAMOS, M.G.; HECK, T.C. **Cultivo da palmeira-real-da-austrália para produção de palmito**. Florianópolis: EPAGRI, 2002. 32p. (Boletim didático nº40)

RAMOS, M.G. Dissecção e características dos componentes de plantas de palmeira-real-da-austrália. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUTORES DE PALMEIRA-REAL, 3.,2005, Balneário Camboriú. **Anais...** Florianópolis: ABRAPALMER – EPAGRI, 2005. p. 63-65.(a)

RAMOS, M.G. Características e produtividade de espécies e híbridos de palmeira-real-da-austrália nas condições da Região Litoral Norte de Santa Catarina. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUTORES DE PALMEIRA-REAL, 3.,2005, Balneário Camboriú. **Anais...** Florianópolis: ABRAPALMER – EPAGRI, 2005. p. 73-76.(b)

RODRIGUES, A. O agronegócio do palmito no Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUTORES DE PALMEIRA-REAL-DA-AUSTRÁLIA, 1. 2003, Balneário Camboriú. **Apostila...** Balneário Camboriú, 2003, 100p.

RODRIGUES, A. O mercado do palmito: situação e perspectivas. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUTORES DE PALMEIRA-REAL, 3.,2005, Balneário Camboriú. **Anais...** Florianópolis: ABRAPALMER – EPAGRI, 2005. p. 11-20.

ROSSI, I.H. **Suplementação de bagaço de cana para cultivo axênico do cogumelo Shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler]**. 1999. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999. 129p.

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. et al. Shiitake *Lentinula edodes* production on a sterilized bagasse substrate enriched with rice bran and sugarcane molasses. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 34, p.66-71, 2003a.

ROSSI, I.H. et al. 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, 2003b.

ROYSE, D.J.; SANCHEZ-VAZQUEZ, J.E. Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. **Bioresource Technology**. v. 76, p.229-233, 2001.

SAKAI, H. et al. Biological and inherited characteristics of a newly identified *Lentinula edodes* strain capable of forming a fruiting body without a shift to low temperature. **Mycoscience**. v. 45, p.158-159, 2004.

SANTANA, C.C.; KASUYA, M.C.M.; VANETTI, M.C.D. Production of shiitake (*Lentinula edodes*) mushrooms in lignocellulosic residues. **Mushworld**. 2004. Disponível em: <<http://www.mushworld.com>>. Acesso em: 27 jun. 2005.

SANTOS, V.M.C.S. **Contribuição ao estudo da produção de *Pleurotus* spp. em resíduos lignocelulósicos**. 2000. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000. 149p.

SANTOS, F.; TAVARES, L.B.B. Resíduo do processamento de palmito como substrato para a caracterização biológica e frutificação de fungos basidiomicetos. **In: Fórum Anual de Iniciação Científica – FAIC/FURB**, Blumenau (SC). 2004.

SANTOS, F.; TONINI, R.C.G.; VALLE, R.C.S.C.; GUGLIOTTA, A M.; CAPELARI, M.; TAVARES, L.B.B. Caracterização biológica e frutificação de fungos do gênero *Polyporus* cultivados em resíduo do processamento do palmito. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS (SINAFERM), 15, 2005, Recife. **Anais...** p.1-7. CD-Rom

SASAKI, S.H. et al. Strains of *Lentinula edodes* suppress growth of phytopathogenic fungi and inhibit alagoas serotype of vesicular stomatitis virus. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 32, p. 52-55, 2001.

SCHAEFER, M; TAVARES, L.B.B. **Relatório Técnico – Edital FAPESC 05/2006**. Desenvolvimento de produtos de panificação empregando farinha obtida de resíduos de processamento da palmeira-real-da-austrália (*Archontophoenix alexandrae*). 2007.

SILVA, E.M. **Análise do crescimento micelial e das atividades lignocelulolíticas produzidas durante o cultivo de *Lentinula edodes* em resíduo de *Eucalyptus saligna***. 2003. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2003. 81p.

SILVA, E.M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A.M.F. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. **Letters in Applied Microbiology**. v. 40, p. 283-288, 2005.(a)

SILVA, E.M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A.M.F. Evaluating the growth and enzyme production from *Lentinula edodes* strains. **Process Biochemistry**. v. 40, p.161-164, 2005.(b)

SOCCOL, C.R.; FAN, L. Desenvolvimento de bioprocessos para produção de fungos comestíveis do tipo *Pleurotus*, *Lentinus*, *Flammulina* a partir dos resíduos da agroindústria do café no Brasil. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL, 1.,2003, Brasília. **Proceedings...** Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p. 79-80.

TONINI, R.C.G. **Utilização da bainha mediana de palmito (*Euterpe edulis* Mart. – *Arecaceae*) como substrato para cultivo de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.** 2004. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2004. 125p.

TONINI, R.C.G.; SANTOS, F.; ISHIKAWA, N.K.; TAVARES, L.B.B., Crescimento Micelial de *Lentinula edodes* em Resíduo do Processamento do palmito. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS (SINAFERM), 15, 2005, Recife. **Anais...** p.1-7. CD-Rom.

URBEN, A.F. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada.** Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001, 151p.

VALLILO, M.I. et al. Composição química das sementes de *Archontophoenix alexandrae* H. Wendl. & Drude (*Arecaceae*). **R. Árvore**, v. 28, n.5, p.676-679, 2004.

VIEIRA, G.R.T. **Otimização das condições de cultivo de *Polyporus tricholoma* Mont. visando a produção de substâncias antibacterianas.** 2005. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. 112p.

VIEIRA, M.A. **Caracterização de farinhas obtidas dos resíduos da produção de palmito da palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*) e desenvolvimento de biscoito fibroso.** 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006. 164p.

VIEIRA, G. R. T.; LIEBL, M.; TAVARES, L.B.B.; SMÂNIA; A.. Condições de Cultivo Submerso para a Produção de Substâncias Antibacterianas pelo Basidiomiceto *Polyporus tricholoma* Mont. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS (SINAFERM), 15, 2005, Recife. **Anais...** p.1-7. CD-Rom.

YASUDA, M.E.; VITORINO, M.D.; BUSS, A.L. Levantamento de potenciais pragas associadas à cultura da palmeira-real-da-austrália – *Archontophoenix* spp. (*Arecaceae*) em Santa Catarina. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUTORES DE PALMEIRA-REAL, 3.,2005, Balneário Camboriú. **Anais...** Florianópolis: ABRAPALMER – EPAGRI, 2005. p. 30-39.

YUEXIN, L. Development of medicinal mushrooms in China. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL, 1.,2003, Brasília. **Proceedings...** Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p. 131-137.

WAMBUA, J. Possibility of Shiitake growing in Kenya. **Mushworld**. 2005. Disponível em: <<http://www.mushworld.com>>. Acesso em: 27 jun. 2005.

GLOSSÁRIO

Basídio – local onde ocorre a recombinação e a divisão por redução, resultando nos basidiósporos.

Basidiocarpo – corpo de frutificação.

Basidioma – corpo de frutificação.

Basidiósporo – esporo sexual de um basidiomiceto, produzido pelo basídio.

Carpóforo – corpo de frutificação.

Corpo de frutificação – estrutura especial onde existem células produtoras de esporos sexuais. Mais conhecido como cogumelo.

Frutificação – o ato de formação do corpo de frutificação.

Hifa – um único filamento de células fúngicas.

Inoculação – o ato de transferir o micélio para um novo substrato ou meio.

Inóculo – semente.

Linhagem – um micélio geneticamente uniforme possuindo características distintas.

Meio – recurso nutricional servindo de suporte para o crescimento do fungo.

Miceliação – crescimento completo do micélio por todo o meio.

Micélio – conjunto de hifas. Formam a fase vegetativa do fungo.

Primórdio – início do desenvolvimento do corpo de frutificação.

Semente – micélio do fungo crescido em um substrato, preparado com o propósito de propagação dos cogumelos.

Substrato – fonte de nutrientes para o crescimento do fungo.

Suplementos – resíduos agroindustriais ou outras substâncias adicionadas ao substrato para melhorar o desenvolvimento do fungo.

Toros – parte do tronco de árvores usados para o cultivo tradicional de cogumelos.