UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CRESCIMENTO MICELIAL, PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DO SHIITAKE EM FUNÇÃO DE LINHAGENS E DE PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DE ESPÉCIES E CLONES DE EUCALIPTO

MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU – SP
Maio – 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CRESCIMENTO MICELIAL, PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DO SHIITAKE EM FUNÇÃO DE LINHAGENS E DE PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DE ESPÉCIES E CLONES DE EUCALIPTO

MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE

Orientadora: Profa. Dra. Marli Teixeira de Almeida Minhoni
Co-Orientador: Prof. Dr. José Luiz Stape

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU - SP
Maio – 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO – SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Andrade, Meire Cristina Nogueira de, 1978-
A553c Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto / Meire Cristina Nogueira de Andrade. – Botucatu : [s.n.], 2007.
x, 195 f. : il. color., gráfs., tabs.

Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2007
Orientador: Marli Teixeira de Almeida Minhoni
Co-orientador: José Luiz Stape
Inclui bibliografia

1. Shiitake. 2. Cogumelos comestíveis. 3. Eucalipto. 4. Produtividade. 5. Fungos. I. Minhoni, Marli Teixeira de Almeida. II. Stape, José Luiz. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. I. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: **"CRESCIMENTO MICELIAL, PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DO SHIITAKE EM FUNÇÃO DE LINHAGENS E DE PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DE ESPÉCIES E CLONES DE EUCALIPTO"**

ALUNA: MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE

ORIENTADORA: PROFª DRª MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA MINHONI
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ LUIZ STAPE

Aprovado pela Comissão Examinadora

PROFª DRª MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA MINHONI

PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO

PROF. DR. CLAUDIO ANGELI SANSÍGOLO

PROF. DR. LUIZ ANTÔNIO GRACIOLLI

DRa ARAILDE FONTES URBEN

Data da Realização: 24 de maio de 2007

DEDICO

A DEUS

"... Se algum de vocês pensa que é sábio conforme a sabedoria humana, então precisa se tornar louco para ser, de fato, sábio. Pois aquilo que este mundo acha que é sabedoria Deus acha que é loucura..." (1 Co 3:18-19).

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marli Teixeira de Almeida Minhoni pela amizade, orientação, sugestões e paciência durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Luiz Stape pela co-orietação e sugestões durante os experimentos.

Aos responsáveis pelo Programa de Pós-Graduação em Energia na Agricultura – FCA/ UNESP, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado e auxílio financeiro sempre constante para a realização deste trabalho, em especial aos Coordenadores Prof. Dr. Kleber Pereira Lanças e Prof. Dr. Zacarias Xavier de Barros.

Ao Conselho do Departamento de Ciências Florestais (ESALQ/ USP) pelo fornecimento das toras de eucalipto, especialmente ao Eng. Florestal e Agrônomo Rildo Moreira e Moreira e a todos os estagiários e funcionários do Horto Florestal de Itatinga – ESALQ/ USP pelo acompanhamento, sugestões e colaborações durante o corte das toras.

Aos Professores Dr. Cláudio Angeli Sansígolo e Dr. Elias Taylor Durgante Severo pelas importantes sugestões em algumas etapas do trabalho e pela permissão de utilização dos Laboratórios de Secagem e Preservação da Madeira e Laboratório de Análises Químicas do Departamento de Recusos Naturais – FCA/UNESP.

Ao Prof. Dr. Roberto Lyra Villas Boas pela autorização da realização de análises de nutrientes da madeira no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos – FCA/UNESP.

À professora Dra. Sheila Zambello de Pinho (IBB- Departamento de Bioestatística/ UNESP) pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos funcionários do Módulo de Cogumelos, José Antônio Fogaça, Ivando Roberto Fogaça e Márcio de Jesus Fogaça, pelo auxílio constante durante os experimentos.

À técnica de laboratório, Maria de Fátima Almeida Silva do Departamento de Produção Vegetal - FCA/UNESP pelo auxílio durante os experimentos.

Aos técnicos Renato Monteiro da Silva Diniz, Maria Conceição do Carmo Tenore e Elaine Cristina Nunes Fagundes Costa do Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/ UNESP, pelo auxílio nas análises bromatológicas.

Aos funcionários do Departamento de Recursos Naturais Aparecido Agostinho Arruda (Dicão) e Henry Fernando Venâncio de Oliveira.

À todos os funcionários da Fazenda da FCA/UNESP, que colaboram no corte e transporte das toras de eucalipto.

Ao Sr. Jairo Tavares, da Sessão de Atividades Auxiliares (transporte) – FCA/UNESP, e a todos os motoristas que colaboraram no transporte das toras durante os experimentos.

Aos funcionários da Biblioteca da FCA, pelos importantes serviços prestados para a elaboração desta Tese.

Aos funcionários da Sessão de Pós-Graduação pelo pronto atendimento e esclarecimentos prestados durante a realização deste trabalho.

À CAPES pela concedimento de uma bolsa de estudo para a realização desta pesquisa.

Aos colegas de pós-graduação, em especial ao João Kopytowski Filho, Diego Cunha Zied e Homero Ferracini Gumerato, e a todos que de uma forma ou outra contribuiram com a realização deste trabalho.

Aos meus antigos e novos amigos, em especial à Sueli Aparecida da Silva Castro, Liliane Santos de Camargos, Vanessa David Domingos, Thiago Manzano Forti e Lucimara Pinto que são verdadeiros tesouros na minha vida.

E finalmente, agradeço principalmente a Deus, aos meus amados pais Salvador e Lidia, aos meus irmãos Marcelo e Eduardo, às minhas cunhadas Sandra e Cristina, aos meus sobrinhos Marcelo, Larissa e Letícia, pelo incentivo constante, amor e paciência.

SUMÁRIO

Página

1. RESUMO..... 1

2. SUMMARY..... 3

3. INTRODUÇÃO..... 5

4. REVISÃO DE LITERATURA..... 7

4.1. Aspectos gerais do *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler..... 7

4.1.1. Histórico e taxonomia..... 7

4.1.2. Principais países produtores..... 8

4.1.3. Ciclo de vida..... 8

4.1.4. Valor nutricional e medicinal..... 9

4.2. Cultivo em toras..... 10

5. MATERIAL E MÉTODOS..... 16

5.1. Experimento 1 - Avaliação *in vitro* do crescimento micelial de duas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *Lentinula edodes* em meios de cultura à base de extrato de serragem de sete espécies e três clones de eucalipto..... 17

5.1.1. Delineamento experimental..... 17

5.1.2. Produção do inóculo..... 19

5.1.2.1. Meio de cultura..... 19

5.1.2.2. Cultivo..... 20

5.1.3. Preparo e condução dos tratamentos..... 20

5.1.3.1. Meios de cultura..... 20

5.1.3.2. Inoculação e incubação..... 21

5.1.4. Parâmetro avaliado..... 21

5.2. Experimento 2 - Avaliação *in vitro* do crescimento micelial de oito linhagens de *Lentinula edodes* em meios de cultura preparados à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp..... 21

5.2.1. Delineamento experimental..... 21

5.2.2. Produção do inóculo..... 22

5.2.2.1. Meio de cultura..... 22

5.2.2.2. Cultivo..... 23

5.2.3. Preparo e condução dos tratamentos..... 23

5.2.3.1. Meios de cultura..... 23

5.2.3.2. Inoculação e incubação..... 23

5.2.4. Parâmetro avaliado..... 23

5.3. Experimento 3 - Produção e caracterização bromatológica das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *Lentinula edodes* cultivadas em sete espécies e três clones de eucaliptos..... 24

5.3.1. Delineamento experimental..... 24

5.3.2. Produção de micélio..... 24

5.3.3. Corte das toras..... 26

5.3.4. Inoculação das toras..... 27

5.3.5. Incubação das toras..... 28

5.3.6. Indução para a formação de basidiomas..... 30

5.3.7. Colheita..... 30

5.3.8. Induções subseqüentes..... 31

5.3.9. Processamento dos basidiomas..... 32

5.3.9.1. Desidratação dos basidiomas..... 32

5.3.9.2. Moagem de basidiomas..... 33

5.3.10. Parâmetros avaliados..... 33

5.3.10.1. Produtividade..... 33

5.3.10.2. Análises bromatológicas dos basidiomas..... 35

5.3.10.2.1. Proteína bruta..... 35

5.3.10.2.2. Extrato etéreo..... 36

5.3.10.2.3. Cinzas..... 37

5.3.10.2.4. Fibra bruta..... 37

5.3.10.3. Número de basidiomas..... 38

5.4. Experimento 4 - Avaliação das propriedades físicas e químicas de sete espécies e três clones de eucalipto antes e durante o cultivo de duas linhagens de *Lentinula edodes*..... 38

5.4.1. Delineamento experimental..... 38

5.4.2. Produção de inóculo..... 38

5.4.3. Obtenção de discos e toras de eucalipto..... 38

5.4.4. Inoculação das toras..... 41

5.4.5. Incubação das toras..... 41

5.4.6. Indução para a formação de basidiomas e colheita..... 41

5.4.7. Colheita..... 41

5.4.8. Induções subsequentes..... 42

5.4.9. Parâmetros avaliados..... 42

5.4.9.1. Densidade básica da madeira e da casca..... 42

5.4.9.2. Análises químicas da madeira e da casca..... 43

5.4.9.2.1. Extrativos totais, lignina e holocelulose..... 44

5.4.9.2.2. Macro e micronutrientes..... 46

5.5. Análise estatística..... 46

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 47

7. CONCLUSÕES..... 181

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 183

APÊNDICE..... 192

1. RESUMO

Avaliou-se o crescimento micelial, produção e características bromatológica do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto. No Experimento 1, analisou-se o crescimento micelial de duas linhagens de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (LE-95/01 e LE-96/18) em meios de cultura preparados à base de extrato de serragem de sete espécies (*Eucalyptus saligna, E. grandis, E. urophylla, E. camaldulensis, E. citriodora, E. paniculata e E. pellita*) e três clones (híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*) de eucalipto. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 10, totalizando 20 tratamentos com 10 repetições, sendo que cada repetição correspondeu à uma placa de Petri. No Experimento 2, avaliou-se o crescimento micelial de oito linhagens de *L. edodes* (LE-96/17, LE-95/02, LE-95/07, LE-98/55, LE-96/18, LE-95/01, LE-96/13 e LE-98/47) em meios de cultura preparados à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 8 repetições, sendo que cada repetição correspondeu a uma

placa de Petri. No Experimento 3 avaliou-se a produção e caracterização bromatológica de duas linhagens de *L. edodes* cultivadas em sete espécies e três clones de eucaliptos. O delineamento experimental foi interamente casualizado, em esquema fatorial 2 x 10, totalizando 20 tratamentos com 40 repetições, sendo que cada repetição correspondeu a uma tora. No Experimento 4, avaliou-se as propriedades físicas e químicas de sete espécies e três clones de eucalipto antes e durante o cultivo de duas linhagens de *L. edodes*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 10, totalizando 20 tratamentos com 9 repetições, sendo que cada repetição correspondeu a uma tora. O meio de cultura que proporcionou as maiores médias de crescimento micelial das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* foi à base de extrato de serragem de *E. citriodora*. A linhagem LE-96/18 obteve médias de crescimento micelial superiores às da linhagem LE-95/01 em todos os meios de cultura avaliados. As linhagens LE-96/17, LE-96/18, LE-98/47, LE-95/02 e LE-95/07 obtiveram as maiores médias de crescimento micelial no meio de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp. O *E. saligna*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores médias de produtividade do *L. edodes* ao final do ciclo de produção. A linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, ao final do ciclo de cultivo, obteve maior média de massa fresca de basidiomas que a LE-95/01, quando cultivadas em toras de *E. citriodora* e *E. camaldulensis*. Já nos demais tipos de eucalipto, estas linhagens obtiveram resultados semelhantes entre si. As análises bromatológicas (proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta) das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 do *L. edodes* demonstraram sofrer influência da interação eucalipto x fungo. A densidade básica da madeira, ao logo do ciclo de cultivo, foi reduzida em todos os tipos de eucalipto. Houve aumentos nas médias dos teores de extrativos totais e da lignina devido a degradação da holocelulose da madeira pelas linhagens de *L. edodes* ao longo do ciclo de cultivo. O teor de N na madeira, embora tenha sido inicialmente igual em todos os tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*, verificou-se que este foi influenciado pela interação eucalipto x fungo. Fato semelhante ocorreu com o P_2O_5 e o Zn nas amostras de casca.

MYCELIUM GROWTH, PRODUCTION AND BROMATOLOGICALS CHARACTERISTICS OF SHIITAKE IN FUNCTION OF LINEAGE AND PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF EUCALYPTUS SPECIES AND CLONES. Botucatu, 2007. 195f. Thesis (PhD in Agronomy/Energy in Agriculture) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE

Advisor: MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA MINHONI

Co-advisor: JOSÉ LUIZ STAPE

2. SUMMARY

Mycelium growth, production and bromatologicals characteristics of shiitake in function of lineages and chemical and physical properties of eucalyptus clones and species were evaluated. In Experiment 1, mycelium growth of two *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (LE-95/01 and LE-96/18) species in culture mediums prepared with sawdust extract from seven species (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. camaldulensis, E. citriodora, E. paniculata e E. pellita*) and three eucalyptus clones (hybrid *E. grandis* x *E. urophylla*) was analyzed. The experimental design was totally randomized, in 2x10 factorial design, totalizing 20 treatments with 10 repetitions, being that each repetition corresponded to one Petri dish. In Experiment 2, mycelium growth of eight *L. edodes* lineages (LE-96/17, LE-95/02, LE-95/07, LE-98/55, LE-96/18, LE-95/01, LE-96/13 and LE-98/47) in culture mediums prepared with sawdust extract from *Eucalyptus* spp was evaluated. The experimental design was totally randomized, with 8 treatments and 8 repetitions, being that each repetition corresponded to one Petri dish. In Experiment 3, production and bromatological characterization of two *Lentinula edodes* lineages cultivated in seven species and three clones of eucalyptus was evaluated. The experimental design was totally randomized, in 2x10 factorial design, totalizing 20 treatments with 40 repetitions, being that each repetition corresponded to one log. In Experiment 4, physical and chemical properties of seven species and three clones of eucalyptus before and after the cultivation of two *L. edodes* lineages was evaluated. The

experimental design was totally randomized, in 2x10 factorial design, totalizing 20 treatments with 9 repetitions, being that each repetition corresponded to one log. The culture medium that provided highest averages of mycelium growth of *L. edodes* lineages LE-95/01 and LE-96/18 was the one with sawdust extract from *E. citriodora*. Lineage LE-96/18 obtained mycelium growth averages higher than LE-95/01 lineage in all culture mediums analyzed. Lineages LE-96/17, LE-96/18, LE-98/47, LE-95/02 and LE-95/07 obtained highest mycelium growth averages in culture medium with sawdust extract from *Eucalyptus* spp. *E. saligna*, *E. citriodora* and *E. camaldulensis* provided highest productivity averages of *L. edodes* at the end of the production cycle. *L. edodes* LE-96/18 lineage obtained higher average of fresh mass of basidiomes than LE-95/01, when cultivated in *E. citriodora* and *E. camaldulensis* logs. In the other sorts of eucalyptus, these lineages obtained similar results among themselves. Bromatological analyses (raw protein, ethereal extract, ashes and raw fiber) of *L. edodes* lineages LE-95/01 and LE-96/18 were influenced by the interaction eucalyptus x fungus. Wood basic density was decreased in all sorts of eucalyptus along the cultivation cycle. There were increases in the averages of total extractive contents and lignin due to wood holocellulose degradation by *L. edodes* lineages along cultivation cycle. We observed that N contents in wood, although initially even in all sorts of eucalyptus, was influenced by the interaction eucalyptus x fungus after 8 months of incubation with *L. edodes*. The same happened with P_2O_5 and Zn in bark samples.

Keywords: *Lentinula edodes*, shiitake, mycelium growth, eucalyptus, productivity.

3. INTRODUÇÃO

O sistema de cultivo em toras do *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler é ainda muito utilizado no Brasil, devido principalmente à relativa facilidade de manejo e investimento inicial baixo se comparado ao cultivo axênico. No entanto, por ser uma cultura muito recente no Brasil, os produtores vêm enfrentando, entre outros, problemas de caracterização das espécies e clones de eucalipto mais viáveis para o cultivo das linhagens de *L. edodes* existentes, resultando em inconstância de produção.

O gênero *Eucalyptus,* embora não seja nativo do Brasil, tornou-se uma cultura economicamente importante devido à sua alta produtividade em um período relativamente curto em relação às espécies florestais nativas. Assim, além do seu uso para o abastecimento de lenha, motivo de sua introdução no Brasil, atualmente passou a ter fins diversificados, entre os quais para o cultivo do *L. edodes*.

Entre as espécies de eucalipto mais utilizadas no Brasil estão o *E. grandis, E. saligna* e o *E. urophylla*, cujo uso no cultivo do *L. edodes* já vem sendo tradicionalmente adotado pelos produtores devido à produtividade satisfatória de basidiomas e

relativa facilidade de aquisição. No entanto, há uma grande variedade de outras espécies e também clones de eucalipto cujo potencial para a produção de basidiomas é desconhecido ou pouco estudado. Outro agravante é a distribuição heterogênea de plantio de espécies e de clones de eucalipto no território brasileiro. Há regiões em que há grande disponibilidade de espécies de eucalipto tradicionalmente utilizados no cultivo do *L. edodes*. Por outro lado, também existem casos em que estes eucaliptos não estão disponíveis ou estão em pequena escala, fazendo com que o produtor obtenha as mesmas de outras regiões, o que comumente aumenta de modo significativo os custos de produção, ou então, utilize eucaliptos não tradicionais, cuja viabilidade na produção de basidiomas é desconhecida, comprometendo quase sempre grandes lotes de madeira.

Desse modo, este trabalho tem como objetivo avaliar o crescimento micelial, produção e caracterização bromatológica do Shiitake em função de linhagens e de características físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Aspectos gerais do *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler

4.1.1. Histórico e taxonomia

A maioria dos cogumelos comestíveis está na Divisão Basidiomycota e os mais cultivados, são o *Agaricus bisporus*, *Pleurotus* spp., *Lentinula edodes* e o *A. blazei* (= *A. subrufescens*, *A. brasiliensis*, *A. sylvaticus* e *A. rufotegulis*) (ZADRAZIL; GRABBE, 1983; KERRIGAN, 2005; URBEN, 2005). O *L. edodes* é conhecido popularmente por diversos nomes, sendo comum a palavra japonesa Shiitake ("shii" = árvore e "take" = cogumelo) (HARRIS, 1993).

Segundo Urben et al. (2001), o Shiitake é um fungo aeróbio, lignolítico, pertencente à Classe Basidiomycetes, Subclasse Holobasidiomycetidae, Ordem Agaricales, Família Tricholomataceae.

Apesar de já ter sido referido por uma variedade de nomes científicos, Berkeley foi quem primeiro descreveu a espécie com sendo pertencente ao gênero *Lentinus* em 1941 e posteriormente Pegler, em 1975, inseriu esta espécie no gênero *Lentinula*. Assim, o nome científico utilizado atualmente é *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (MINHONI et al., 2005).

Em seu habitat natural, cresce como saprófita em madeiras de árvores de florestas da zona temperada e subtropical da China, Japão, Coréia, nas montanhas do Himalaia, norte de Bornéo, Filipinas e na parte norte da Tailândia (LEVANON, et al., 1993), sendo as árvores mais comuns a castanheira (*Castanea* spp.), faia (*Fagus* spp.), o carvalho (*Quercus* spp.) e o olmo (*Castanopsis* spp.) (BONONI et al., 1995).

4.1.2. Principais países produtores

O *L. edodes* é principalmente cultivado nos países da Ásia Oriental, como China, Japão, Taiwan, Tailândia, Coréia, Singapura, Malásia, Paquistão e outros (LEVANON et al., 1993). Na América Central e América do Sul, o cultivo comercial vêm se desenvolvendo principalmente desde 1990 (LAHMANN; RINKER, 1991).

No Brasil o cultivo ainda é incipiente, porém o interesse pela cultura está em ascensão, devido à influência de descendentes orientais no país. O estado de São Paulo destaca-se como maior produtor nacional, mas outros estados também vêm se destacando como é o caso do Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais (BONONI et al., 1995).

4.1.3. Ciclo de vida

O ciclo de vida dos basidiomicetos pode ser dividido em duas etapas: “vegetativa” e reprodutiva. A fase “vegetativa” corresponde ao micélio, o qual é formado por um conjunto de hifas. O cogumelo corresponde à fase reprodutiva, sendo macroscopicamente constituído pelo estípete e píleo. No píleo, situam-se as lamelas, em cujas superfícies estão localizados os basídios que produzem e ejetam os basidiósporos (esporos sexuais) (GUGLIOTA; CAPELARI, 1998).

Naturalmente, o Shiitake tem origem de basidiósporos, que quando em contato com o substrato em condições favoráveis, germinam e dão origem a hifas haplóides unicelulares (micélio primário). Quando duas hifas originárias de basidióspos diferentes, contendo materiais genéticos compatíveis se unem, ocorre a fusão do citoplasma, resultando em duas hifas dicarióticas (micélio secundário) (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

O Shiitake passa a maior parte do seu ciclo de vida na forma de micélio secundário. Neste estágio vegetativo o micélio coloniza e decompõe a madeira, secretando enzimas que hidrolizam os materiais existentes na madeira que, de outra forma, seriam insolúveis. Isto acontece com a celulose e hemiceluloses que se transformam em açúcares simples que são absorvidos pelas células, sendo estas as principais fontes de carbono e de energia para o Shiitake (MATHEUS; OKINO, 1998).

Uma vez estimulados com condições ambientais favoráveis, inicia-se a diferenciação do micélio secundário em terciário (o basidioma), ocorre então o surgimento do primórdio, que aumenta em tamanho e, à medida que o basidioma cresce, desenvolvem-se as lamelas na fase inferior do píleo. Quando maduros, os basidiosporos são dispersos pelo ar, para colonizar novos substratos (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

4.1.4. Valor nutricional e medicinal

Em termos nutricionais, o *L. edodes* é um cogumelo de alto valor nutritivo, contendo minerais essenciais (zinco, cálcio, fósforo, ferro, sódio, cobre, magnésio e potássio) e com quantidades significativas de vitaminas e/ou seus precursores tais como, tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina, biotina, ácido ascórbico (vitamina C), ergosterol (precursor da vitamina D), ácido pantotênico (vitamina A), vitaminas E, B6 e B12, fibras, além de conter valor calórico baixo (OEI, 2005; CHEN, 2005). Afora os benefícios nutricionais, o *L. edodes* possui compostos bioativos com propriedades medicinais tais como o lentinan, o LEM (extrato de micélio), KS2, JLS, eritradenina, EPS e EPS4. Estes compostos têm sido estudados devido aos efeitos cardiovasculares, antiviral, antibacteriano, antitumor e hepatoprotetor (KWON, HOBBS, 2005).

O Shiitake apresenta grande potencial medicinal. Dentre estes, tem-se os anticancerígenos lentinan o KS-2, o LAP1, e as enzimas polifenol oxidases, as antivirais KS-2, eritadenina, lentinan, JLS e Ac2P, imunopotenciadores EP3 e EPS4, o hipocolesterolêmico eritadenina, agente hepatoprotetor, os antibactericidas lentinan, cortinellin e lentinamicin, o antifúngico lentinan (HATVANI, 2001; MANZI; PIZZOFERRATO, 2000; WASSER; WEIS, 1999; CHANG; MILES, 1984), propriedades antioxidantes (YANG et al., 2002). Além disso, tem ação na proteção de plantas e contra infecção do vírus do tabaco TMV (FBP) (LEATHAM, 1982).

4.2. Cultivo em toras

O cultivo em toras é um método tradicional ainda muito utilizado pelos fungicultores devido à simplicidade e baixo investimento inicial (ANDRADE et al., 2002). Neste tipo de cultivo utiliza-se como substrato troncos de árvores recém derrubadas, divididas em pedaços denominadas toras, aos quais são perfuradas, com auxílio de uma furadeira elétrica e inoculadas com o micélio do fungo, crescido em serragem suplementada com farelo, e vedados com parafina fundida. Posteriormente, as toras são submetidas à incubação, ou seja, colocadas à sombra, sob condições controladas de temperatura e umidade, até que o micélio as colonize totalmente, quando então, estas são induzidas a produzir basidiomas (MINHONI et al., 2005).

No cultivo de *L. edodes* em toras, os principais fatores que podem interferir na produção de basidiomas são: linhagem do fungo, contaminantes, tipo de madeira, diâmetro das toras, métodos de manejo e condições climáticas (ANDRADE, 2003; CHEN, 2005).

A escolha da linhagem de *L. edodes* é um fator de fundamental importância para se obter sucesso no cultivo de Shiitake, pois as mesmas podem diferir quanto à velocidade de crescimento, resistência a fungos contaminantes, temperatura e umidade ótimas de incubação, formação de basidiomas, tamanho e forma dos basidiomas e produtividade (TEIXEIRA, 2000; CAMPBELL; RACJAN, 1999; PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990). Portanto é importante conhecer as exigências químicas e físicas de cada

linhagem, para posteriormente utilizar aquela que melhor se adequar às condições de cultivo existentes e assim obter uma satisfatória produtividade.

A fase de colonização das toras pelo *L. edodes* deve ser uniforme e intensa para diminuir a incidência de contaminações (BADHAM, 1991), visto que em toras propositalmente contaminadas por fungos logo após a inoculação do Shiitake não houve produção, devido à penetração e instalação dos fungos contaminantes *Hypoxylon* spp., *Poria* spp., *Trichoderma* spp., *Stemonitis* spp. e *Pycnoporus* spp. ter ocorrido antes que o Shiitake se estabelecesse na tora (ANDRADE, 1999). Já as toras testemunhas produziram, mesmo apresentando superficialmente os contaminantes. Portanto, com base nesses experimentos, observa-se que as contaminações tornam-se um problema mais grave quando ocorrem internamente, antecipando-se à colonização do Shiitake.

No cultivo de *L. edodes* em toras, a escolha da espécie arbórea deve ser feita em função de suas características químicas, físicas, de fatores econômicos e ambientais (SAN ANTONIO, 1981). Dentre as espécies arbóreas existentes no Brasil, o eucalipto tem sido o mais utilizado, devido, entre outros fatores, à sua maior disponibilidade e efeito ecológico na preservação das espécies florestais nativas. No Brasil, as espécies de eucalipto mais utilizadas têm sido o *Eucalyptus grandis* (55%), o *Eucalyptus saligna* Sm. (17%), o *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake (9%) e outras espécies (8%), bem como os híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* (11%) (SILVA, 2003).

O gênero *Eucalyptus* possui uma variabilidade genética elevada. São centenas de espécies com propriedades físicas e químicas tão diversas que fazem com que os eucaliptos sejam utilizados para as mais diversas finalidades (SILVA, 2003). Apesar da maior parte das florestas estar comprometida com a produção de madeira para os denominados "usos tradicionais" (celulose, papel, carvão vegetal, lenha e chapas de fibras), o eucalipto também vem sendo utilizado com sucesso para a produção do *L. edodes* (ANDRADE, 2003; MONTINI, 1997; QUEIROZ, 2002; TEIXEIRA, 2000).

A massa seca da madeira do eucalipto é constituída basicamente por 50 - 60% de celulose, 10 - 30% de hemiceluloses e de 20 – 30% de lignina (MASON, 1980). A celulose, um polissacarídeo linear, de massa molecular elevada e não solúvel em água é, provavelmente, o composto químico mais abundante no planeta. Trata-se do principal componente estrutural da madeira. No que se refere às hemiceluloses, deve ser observado que

o termo não designa um único composto químico definido, mas sim um conjunto de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos e que, juntamente com a celulose, forma a fração da madeira denominada de holocelulose. A lignina, por sua vez, atua como material cimentante ou adesivo entre as fibras, além de conferir dureza e rigidez à parede celular (PETTERSEN, 1984).

A madeira é um sistema biológico complexo, com extrema variabilidade em função das espécies e condições de cultivo destas. Assim, a composição química da madeira, bem como as suas propriedades físicas, além de variarem significativamente entre espécies, variam também entre árvores de uma mesma espécie e mesmo entre partes diferentes de uma mesma árvore (SHIMOYAMA, 1990).

Com relação às características químicas, estas variam com os tecidos da madeira de modo que a distribuição dos compostos químicos é heterogênea, como um resultado da estrutura anatômica da planta. Cada componente está presente em quantidades específicas e possui características bem definidas, as quais podem ser influenciadas pelas condições a que a madeira está submetida (BROWNING, 1963). Assim, para o cultivo do *L. edodes*, recomenda-se que as árvores sejam obtidas preferencialmente de áreas adubadas e que sejam de primeiro ou de segundo corte (TOKIMOTO, 2005; PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990; EIRA; MONTINI, 1997), pois nestas condições há uma maior concentração de nutrientes (como N, P, K, Ca, Mo entre outros) (BARROS, 1990), favorecendo o desenvolvimento do *L. edodes*. Também há grande variabilidade na produção do *L. edodes* em função das espécies de eucalipto, mesmo que provenientes de povoamentos que tiveram adubação em seu manejo, sendo tais resultados função das características químicas e físicas de cada espécie utilizada (TEIXEIRA, 2000).

O conteúdo dos componentes minerais da madeira é normalmente baixo, formado principalmente por óxidos, tais como: óxido de cálcio, de magnésio, de fósforo, de silício, de potássio, dentre outros (BROWNING, 1963). O teor de cinzas varia entre 0,2 e 1% do peso seco das madeiras. Especificamente para a madeira do gênero *Eucalyptus*, o teor de cinzas raramente chega a 1% do seu peso seco (TSOUMIS, 1991).

O eucalipto caracteriza-se por uma relação C/N/P elevada, próxima a 200/1/0,2. Esta relação C/N/P elevada pode explicar o porquê da produtividade do cogumelo ser maior nos primeiros fluxos de produção, diminuindo ao longo dos demais fluxos. À

medida que os fluxos ocorrem, tem-se uma diminuição na concentração de nutrientes, tais como o nitrogênio e o fósforo, por exemplo, em decorrência da absorção destes pelo micélio do *L. edodes* (TEIXEIRA, 2000).

Alguns elementos químicos como o C, N, S, P, K e Mg, são considerados “essenciais” para os fungos e absorvidos em maior quantidade, e outros, por necessitarem de pequenas quantidades, são considerados “traços” (Fe, Zn, Mn, Cu e Mo) e, alguns elementos químicos são detectados na constituição dos fungos, porém, não indicam necessariamente algum papel biológico (MILES; CHANG, 1997).

No cultivo de *L. edodes* em toras, recomenda-se que a casca seja grossa. Esta é uma característica física que funciona como uma barreira contra a perda excessiva de água, a entrada de pragas e de contaminantes, além de proteger a tora durante o manuseio da mesma, especialmente nos banhos de imersão em água (choques de indução). Ademais, sabe-se que a casca armazena cerca de 50% dos nutrientes das toras e este fato favorece o desenvolvimento do fungo. O cerne, por sua vez, por conter concentração menor de água e de nutrientes, além de teores elevados de compostos inibidores do crescimento do fungo, não deve exceder 30% do diâmetro da tora (EIRA; MONTINI, 1997).

Dentre as diversas propriedades físicas da madeira, a densidade é uma das mais importante, pois, afeta outras características da madeira, tais como a umidade e a retração. A densidade é resultante da interação entre propriedades químicas e físicas da madeira (PANSHIN; DEZEEUW, 1980).

O *Eucalyptus* spp possui densidade menor que as árvores utilizadas em outros países para o cultivo de *L. edodes*, tais como a castanheira (*Castanea* spp.), a faia (*Fagus* spp.), o carvalho (*Quercus* spp.) e o olmo (*Catanopsis* spp.), dentre outras (TOKIMOTO, 2005). Ainda segundo este autor, quanto menor a densidade da madeira mais rápida será a colonização micelial e a formação de primórdios nas toras, entretanto, a vida útil das mesmas será menor.

Com relação ao gênero *Eucalyptus*, a densidade básica pode variar com a idade, com o vigor, com o local de cultivo, com a taxa de crescimento e, na mesma árvore, varia no sentido base-topo e na distância medula-casca (FERREIRA, 1972; SOUZA et al., 1979). Também pode ocorrer variação da densidade em função da espécie de eucalipto, o que contribui para diferenças de produção de *L. edodes*. Como exemplo, o *E. urophylla* tem

densidade maior que o *E. saligna* que, por sua vez, tem densidade maior que o *E. grandis* (BARROS, 1990).

Quanto à dimensão da tora, não existe um padrão, mas, para facilitar o manuseio, tem-se adotado toras de 1 m de comprimento com 9 a 14 cm de diâmetro. As toras com diâmetro entre 5 a 8 cm produzem rapidamente mas, sua vida útil é menor e possuem a tendência de produzir basidiomas com píleo pequeno e estípete fino. Já as toras com diâmetro superior a 14 cm necessitam de um maior tempo de incubação para colonização do micélio, o que aumenta a chance de contaminações (EIRA; MONTINI, 1997) e, além disso, é dificultado devido ao peso elevado.

Alguns cuidados devem ser tomados durante o manejo das toras: transporte, tendo o máximo de cuidado para não lesionar a casca, pois qualquer orifício torna-se uma porta de entrada para contaminantes (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990; EIRA; MONTINI, 1997); a inoculação deve ser realizada logo após o corte das árvores e os orifícios devem ser feitos com equipamento adequado, evitando-se assim que o inóculo entre em contato com rebarbas que possam ser levadas para dentro do orifício, ocasionando as contaminações internas nas toras, que de acordo com Andrade (1999) será desastrosa para a produtividade.

O clima é um fator de grande importância no cultivo do Shiitake. Dentre as variáveis ambientais, a temperatura é um dos fatores mais importantes no cultivo, influenciando o tempo de colonização do substrato, a produção de basidiomas e algumas características morfológicas dos basidiomas (PRZYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990).

Na fase de incubação a faixa de temperatura recomendada para o crescimento micelial do Shiitake situa-se entre 24 a 28 ºC, sendo 25 ºC a temperatura ideal (SAN ANTONIO, 1981; EIRA; MONTINI, 1997). Em relação à umidade relativa do ar, o nível ideal situa-se entre 70 a 80 %, não devendo ultrapassar 90 % pois, nesta situação, as toras são facilmente contaminadas (CHANG; MILES, 1984).

Avaliando-se a produtividade de Shiitake em função das características das toras do *Eucalyptus saligna* Sm, do ambiente e do período de incubação, relatou-se que temperaturas mínimas, médias, máximas e umidade relativa mais elevada até dois meses antes do “choque” de indução aumentaram a produtividade (MONTINI, 1997). Verificou-se ainda, que no período de 90 dias antes do “choque” de indução, a ocorrência de

temperatura e umidade relativa elevadas, diminuíram a produção, fato que acentuou aos 120 dias, concluindo que a manifestação do potencial genético de uma linhagem de Shiitake, em condições rústicas de cultivo, é altamente dependente de fatores bióticos e abióticos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos quatro experimentos nas dependências do Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), localizada na Fazenda Experimental Lageado, Campus de Botucatu, SP.

As espécies de eucalipto utilizadas nos experimentos foram: *E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. camaldulensis, E. citriodora, E. paniculata e E. pellita*. Os clones, por sua vez, foram híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*, desenvolvidos pelas Empresas VCP, International Paper e Ripasa e identificados como clones 23, 24 e 25. Tanto as espécies como os clones de eucalipto foram obtidos na Estação Experimental de Ciências Florestais, ESALQ/ USP, Itatinga-SP. A localização da área de plantio das árvores, de acordo com os registros do Horto Florestal de Itatinga, tem as seguintes coordenadas: talhão 21, quadra A, latitude de 23º 10’S, longitude de 48º 40’ W e altitude de 860m. Estas árvores tinham 8 anos de idade e foram retirados de uma mesma área de plantio, cultivados em

latossolo vermelho-amarelo, espaçamento de 3,0 x 1,8m, evitando-se assim erros experimentais provocados por fatores ambientais.

As linhagens de *L. edodes* utilizadas foram as LE-95/01, LE-96/17, LE-96/18, LE-95/02, LE-95/07, LE-96/13, LE-98/55, LE-98/47 as quais se encontram em estoque armazenadas (conservadas em óleo mineral) na Micoteca do Módulo de Cogumelos, localizado no Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu/ SP. A forma de identificação das linhagens segue o padrão adotado no Módulo de Cogumelos, onde as iniciais "LE" indicam que se trata do fungo *L. edodes*, os dois números seguintes ao ano de isolamento da linhagem, e os dois números finais indicam, de forma ordenada, a seqüência de isolados obtidos no ano. Assim, de acordo com registros disponíveis no Módulo de Cogumelos, a linhagem LE-95/01 foi isolada de cogumelos comercializados por um produtor de Londrina – PR em 1995. A linhagem LE-96/17 foi fornecida pelo Engº Agrônomo Waldir Vieira, de Rio Claro/ SP, proveniente da linhagem de Israel MN1, em 1996. A linhagem LE-96/18 foi isolada de cogumelos comercializados por produtores da COPCO (Cooperativa dos Produtores de Cogumelos de Rio Claro) em Rio Claro-SP, proveniente de outra linhagem de Israel MN2 em 1996, também fornecida pelo Engº Agrônomo Waldir Vieira. A linhagem LE-95/02 é proveniente de Jaboticabal/SP, a LE-95/07 é proveniente de São Paulo-SP de uma Associação Japonesa de Agricultura Orgânica, a LE-96/13 de Brotas-RS, a LE-98/55 foi reisolada de outra proveniente de Taiwan (LED SII), fornecida pelo Engº Agrônomo Yeh W. Sheng. Finalmente a linhagem LE-98/47 foi reisolada de basidiomas produzidos no próprio Módulo de Cogumelos.

5.1. EXPERIMENTO 1 - Avaliação *in vitro* do crescimento micelial das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em meios de cultura preparados à base de extrato de serragem de sete espécies e três clones de eucalipto.

5.1.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 10, correspondente a 2 linhagens de *L. edodes* e 10 tipos de eucalipto (7

espécies e 3 clones) (Tabela 1). No total foram 20 tratamentos com 10 repetições. Cada repetição correspondeu à uma placa de Petri, totalizando 200 placas. Os tratamentos foram distribuídos em uma BOD a 25 °C.

Tabela 1. Tratamentos experimentais utilizados na avalição *in vitro* do crescimento micelial de duas linhagens de *L. edodes* em meios de cultura preparados à base de extrato de sete espécies e três clones de eucalipto.

Tratamentos	Linhagem de *L. edodes*	Serragem utilizada na formulação do meio de cultura
1	LE-95/01	*E. saligna*
2		*E. grandis*
3		clone 23
4		clone 25
5		clone 24
6		*E. urophylla*
7		*E. pellita*
8		*E. paniculata*
9		*E. citriodora*
10		*E. camaldulensis*
11	LE-96/18	*E. paniculata*
12		*E. camaldulensis*
13		*E. urophylla*
14		*E. citriodora*
15		*E. saligna*
16		Clone 23
17		Clone 24
18		Clone 25
19		*E. grandis*
20		*E. pellita*

5.1.2. Produção do inóculo

A produção de matriz secundária (inóculo) das linhagens de *L. edodes* LE-96/18 e LE-95/01 foram feitas a partir de matrizes primárias destas mesmas linhagens, as quais estavam armazenadas na Micoteca do Módulo de Cogumelos – FCA/UNESP, conforme já citado no item 5.

5.1.2.1. Meio de cultura

O meio de cultura utilizado para o crescimento micelial das linhagens de *L. edodes* foi o SA (substrato - ágar).

O substrato utilizado no preparo do meio de cultura foi constituído de 88% de serragem de *Eucalyptus* spp. suplementada com 12 % de farelo de soja (com base na matéria seca). Também foi utilizado cerca de 1% de calcário calcítico para correção do pH para 6,0. A mistura de todos os ingredientes foi feita manualmente, adicionando-se em um recipiente previamente limpo, a serragem, o farelo e o calcário. Após, fez-se a umidificação do substrato com água de abastecimento público até a obtenção de 60% de umidade. Em seguida, o substrato foi submetido a autoclavagem a 121 ºC durante 3 horas.

No preparo do meio de cultura, inicialmente pesou-se 80g de substrato recém preparado e submeteu este à fervura em um litro de água durante 15 minutos, sendo em seguida filtrado em peneira do tipo comum (uso doméstico) de malha fina e algodão. Posteriormente, o filtrado foi disposto em frascos Duran (capacidade de 1L), completando-se o volume para 1L e submetendo-o ao processo de tindalização, ou seja, autoclavou-se a 121 ºC por 30 minutos e, após 24 horas, adicionou-se ágar, autoclavou-se novamente a 121 ºC por mais 30 minutos, seguido de resfriamento do meio de cultura até aproximadamente 45-50 ºC. Assim preparado, o meio foi vertido em placas de Petri previamente esterilizada em câmera de fluxo laminar.

5.1.2.2. Cultivo

Após o resfriamento do meio de cultura e com auxílio de alça de platina, foram transferidos discos de 4mm de diâmetro de matriz primária das duas linhagens do *L. edodes* para as placas e incubou-se em BOD a 25 ± 1 ºC até que o micélio destas linhagens atingissem ¾ da placa, quando então foram denominadas matrizes secundárias, sendo então utilizadas como inoculantes dos tratamentos.

5.1.3. Preparo e condução dos tratamentos

5.1.3.1. Meios de cultura

Inicialmente foram selecionadas três árvores por espécie ou clone de eucalipto, de onde foram retirados 3 discos de 2,5cm por árvore, em alturas diferentes, para a obtenção da serragem. Após a derrubada de cada árvore e, com o auxílio de uma suta, foi delimitado dois extremos em cada árvore, um com 9 e outro com 14 cm de diâmetro, de onde foi removido um disco por extremidade. O terceiro disco foi retirado do meio desta área delimitada. A retirada de discos de locais diferentes foi adotado para homogeneizar as amostras.

No total foram obtidos, por tipo de eucalipto, 9 discos (3 discos por árvore). Assim, das 7 espécies e 3 clones de eucalipto, foram obtidos no geral 90 discos, provenientes de 30 árvores.

A seguir, os discos foram reduzidos a cavacos, secos ao ar livre e transformados em serragem por meio de um moinho tipo Wiley.

Após a obtenção da serragem das sete espécies e três clones de eucalipto, os meios de cultura utilizados nos tratamentos seguiram a mesma metodologia do item 5.1.2.1, com a diferença que a serragem foi específica, de acordo com os tratamentos experimentais citados na Tabela 1.

5.1.3.2. Inoculação e incubação

Após o preparo e solidificação dos meios de cultura, foram transferidos discos de 4mm de diâmetro de matrizes secundárias das duas linhagens de *L. edodes*, conforme os tratamentos citados na tabela 1, sendo posteriormente incubados em BOD a 25 ºC ± 1.

5.1.4. Parâmetro avaliado

O parâmetro avaliado no presente experimento foi o crescimento micelial das linhagens de *L. edodes*. Para tanto, a cada 48 horas, as placas inoculadas receberam oito marcas pontuais diametralmente opostas em sua parte inferior, no limite do crescimento micelial. Este procedimento ocorreu até que em um dos tratamentos, o micélio do *L. edodes* colonizou ¾ da placa.

Através desta marcação, foram obtidos quatro valores correspondentes ao crescimento radial do fungo, em milímetros, a cada 48 horas. Estes valores foram posteriormente transformados em uma média, as quais foram utilizadas para comparar os resultados obtidos entre os tratamentos.

5.2. EXPERIMENTO 2 - Avaliação *in vitro* do crescimento micelial de oito linhagens de *L. edodes* em meios de cultura preparados à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp.

5.2.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 8 tratamentos, correspondentes às linhagens LE-96/17, LE-95/02, LE-95/07, LE-98/55, LE-96/18, e LE-95/01, LE-96/13 e LE-98/47 de *L. edodes*, e 8 repetições (Tabela 2). Cada repetição correspondeu a uma placa de Petri, totalizando 64 placas.

Tabela 2. Tratamentos experimentais utilizados para avaliação *in vitro* do crescimento micelial de oito linhagens de *L. edodes* em meios de cultura preparados à base de serragem de *Eucalyptus* spp.

Tratamentos	Tipo de serragem utilizada no preparo do meio de cultura	Linhagem de *L. edodes* utilizada na inoculação do meio de cultura
1	*Eucalyptus* spp.	LE-96/17
2		LE-95/02
3		LE-95/07
4		LE-98/55
5		LE-96/18
6		LE-95/01
7		LE-96/13
8		LE-98/47

5.2.2. Produção do inóculo

A produção de matriz secundária (inóculo) das linhagens de *L. edodes* LE-95/01, LE-96/17, LE-96/18, LE-95/02, LE-95/07, LE-96/13, LE-98/55 e LE-98/47 foram feitas a partir de matrizes primárias destas mesmas linhagens, as quais estavam armazenadas na Micoteca do Módulo de Cogumelos – FCA/UNESP, conforme já citado no item 5.

5.2.2.1. Meio de cultura

O meio de cultivo utilizado na produção do inóculo foi o SA (substrato-ágar), cujo preparo seguiu a mesma metodologia do item 5.1.2.1.

5.2.2.2. Cultivo

Após o preparo e a solidificação do meio de cultura, foram transferidos discos de 4mm de diâmetro de matriz primária das oito linhagens de *L. edodes*, sendo posteriormente incubados em BOD a 25 ºC ± 1, até que o micélio destas linhagens atingissem ¾ da placa, quando então foram denominadas matrizes secundárias, sendo então utilizadas como inoculantes dos tratamentos.

5.2.3. Preparo e condução dos tratamentos

5.2.3.1. Meios de cultura

O meio de cultura utilizado foi o SA (substrato-ágar), cujo preparo já foi descrito no item 5.1.2.1.

5.2.3.2. Inoculação e incubação

Após o preparo e a solidificação dos meios de cultura, foram transferidos discos de 4mm de diâmetro de matrizes secundárias das oito linhagens de *L. edodes*, conforme os tratamentos citados na tabela 2, sendo posteriormente incubados em BOD a 25 ºC.

5.2.4. Parâmetro avaliado

O parâmetro avaliado foi o crescimento micelial das duas linhagens de *L. edodes*, cuja forma de avaliação seguiu o mesmo padrão do item 5.1.4.

5.3. EXPERIMENTO 3 - Produção e caracterização bromatológica das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *Lentinula edodes* cultivadas em sete espécies e três clones de eucaliptos.

5.3.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 10, correspondente a 2 linhagens de *L. edodes* e 10 tipos de eucalipto (7 espécies e 3 clones) (Tabela 3). Foram 20 tratamentos com 40 repetições, sendo cada repetição correspondente a uma tora, totalizando 800 toras.

5.3.2. Produção de micélio

Inicialmente, produziram-se matrizes secundárias das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, a partir de meio de cultura SA (substrato – ágar) preparado conforme já descrito no item 5.1.2.1. Ainda, no preparo de matrizes terciárias e inóculo, utilizou-se substrato preparado conforme já citado neste mesmo item.

Para a obtenção da matriz terciária, o substrato foi disposto em frascos de vidro (800 mL), na quantidade de cerca de 400g de substrato por frasco. A parte inferior das tampas havia filtro de papel, cuja função foi impedir a entrada de contaminantes e permitir as trocas gasosas. Já para o substrato destinado à produção “semente” foram utilizados sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) com cerca de 1200g de substrato. Estes sacos continham um tampão de algodão na parte superior, permitindo a entrada de ar e impedindo a penetração de outros microrganismos. Em ambos os casos, o substrato foi autoclavado a 121ºC durante 3 horas.

Tabela 3. Tratamentos experimentais utilizados para avaliação da produtividade e caracterização bromatológica de duas linhagens de *Lentinula edodes* cultivadas em sete espécies e três clones de eucaliptos.

Tratamentos	Linhagem de *L. edodes*	Tipo de toras de cultivo
1	LE-95/01	*E. saligna*
2		*E. grandis*
3		clone 23
4		clone 25
5		clone 24
6		*E. urophylla*
7		*E. pellita*
8		*E. paniculata*
9		*E. citriodora*
10		*E. camaldulensis*
11	LE-96/18	*E. paniculata*
12		*E. camaldulensis*
13		*E. urophylla*
14		*E. citriodora*
15		*E. saligna*
16		Clone 23
17		Clone 24
18		Clone 25
19		*E. grandis*
20		*E. pellita*

Após resfriamento até temperatura ambiente, os frascos foram inoculados, em câmara de fluxo laminar, com a matriz secundária. Para isso, inicialmente dividiu-se a matriz secundária em 8 partes através de cortes transversais. A seguir, inoculou-se

cada frasco com um destes pedaços de matriz secundária com o auxílio de uma pinça, trabalhando sempre próximo à chama e abrindo o mínimo possível a tampa para evitar contaminações. Finalmente fechou-se o fraco e incubou-se a 25 °C, na ausência de luz, por aproximadamente 20 dias até completa colonização de todo o substrato que ocorreu após 12 dias, quando então foi denominada matriz terciária (Figura 1A). Após este período, a matriz terciária foi utilizada para inocular os sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) contendo o mesmo tipo de substrato recém autoclavado, cujo procedimento também foi feito em câmara de fluxo laminar. Foram utilizados cerca de 1% de matriz terciária (em relação à massa fresca do substrato) por saco de substrato, cuja inoculação ocorreu com uma colher de alça longa previamente esterilizada. Após 30 dias de incubação a 25 ºC, os substratos dos sacos também estavam colonizados pelo fungo, sendo então denominados de inóculo ou "semente", e prontos para serem inoculados nas toras (Figura 1B).

Figura 1. A. Matriz terciária. **B.** Inóculo ou "Semente".

5.3.3. Corte das toras

Foram utilizadas 40 toras de eucalipto por tratamento, conforme a Tabela 3, com diâmetro entre 9 e 14cm e comprimento de 100cm.

5.3.4. Inoculação das toras

A inoculação foi realizada no dia seguinte após o corte das toras. Porém antes, alguns materiais e equipamentos foram previamente providenciados: furadeira elétrica, brocas, inoculadores, parafina, aquecedor elétrico, haste com esponja de aço, álcool 70 %, recipientes com tampa, cavaletes, dentre outros.

Todos os materiais, bem como as mãos dos operadores, foram desinfetadas com álcool 70%, diminuindo-se assim a ocorrência de contaminações. A inoculação ocorreu em ambiente coberto, protegido da incidência de raios solares, de chuva e de ventos.

No recipiente com tampa onde foi colocado o inóculo, foi adicionado uma pequena quantidade de álcool 96º seguida de sua combustão, garantindo-se assim uma melhor higienização. Após estes procedimentos de assepsia, os sacos de "semente" foram abertos e descompactados com as mãos.

Com auxílio de uma furadeira industrial flutuante de 3450 rotações por minuto, com broca de 12 mm (específica para a inoculação de toras) e com um limitador de profundidade, foram feitos orifícios ao longo de cada tora com profundidade de 20mm e diâmetro de 12mm. O número de orifícios por tora foi de aproximadamente 4 vezes o diâmetro da mesma, ou seja, uma tora de 10cm obteve cerca de 40 orifícios, com distância de 10cm entre orifícios de uma mesma linha e de 5cm entre orifícios de linhas distintas. Estes orifícios tiveram seqüências desencontradas entre linhas.

Após a abertura dos orifícios, os mesmos foram preenchidos com a "semente", utilizando-se um inoculador manual (Figura 2A), de modo que cada orifício recebesse a mesma quantidade de "semente", ou seja, 1,5 g aproximadamente, seguido da vedação dos orifícios com parafina fundida, com auxílio de um bastão com esponja de aço amarrado na extremidade (Figura 2B). Para liquefazer a parafina foi utilizado um "banho Maria" com aquecedor elétrico e termostato de modo que a temperatura fosse mantida entre 115 – 130°C. A parafina foi colocada de modo a formar uma área circular que se estendeu além das bordas dos orifícios, para que a mesma não se desprendesse da tora, formando-se assim, uma barreira física contra o ressecamento do inóculo e a entrada de contaminantes.

Cada orifício foi pincelado por duas vezes com a esponja de aço contendo a parafina liquefeita.

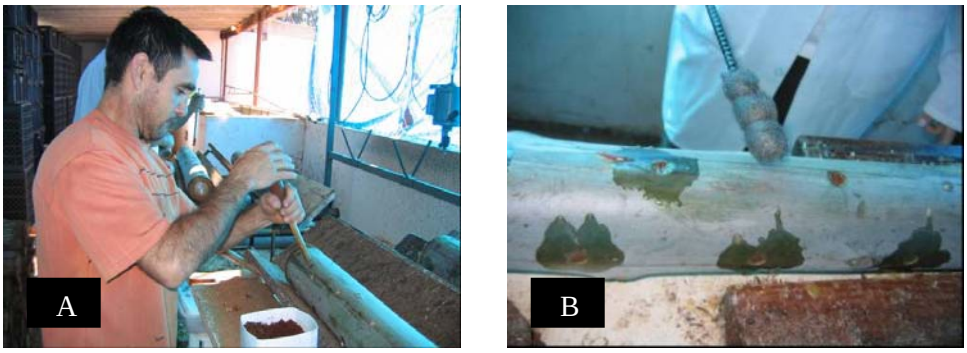

Figura 2. A. Inoculação da "semente" na tora; **B.** Vedação com parafina dos orifícios recém-inoculados.

Ao final da inoculação, todas as toras foram identificadas, pesadas e medido seu diâmetro médio.

5.3.5. Incubação das toras

Após a inoculação, as toras foram levadas a uma estufa onde permaneceram incubadas por 6 meses. A estufa possuía dimensão 20 x 10m (comprimento x largura), cobertura de plástico leitoso (150 micras), laterais compostas por sombrite (70%) e cortinas de plástico leitoso com opção de abertura e fechamento (Figura 3A). No entanto, apenas a metade da estufa foi utilizada para a incubação, sendo a outra metade reservada para a fase de produção de basidiomas. Os dois ambientes foram delimitados por plástico leitoso (150 micras). Durante o transporte das toras para a estufa, tomou-se muito cuidado para não se danificar a casca, evitando-se assim sua remoção e a incidência de contaminações na madeira.

Foram feitas 10 pilhas com 80 toras cada. A distribuição das 800 toras nas pilhas foi inteiramente ao acaso. Em cada pilha, as toras foram dispostas em 11 níveis de 7 toras cada, e um nível superior com apenas 3 toras, totalizando 80 toras. Os níveis de toras de

cada pilha tiveram direções diferentes, de modo que níveis consecutivos formaram um ângulo de 90º entre si.

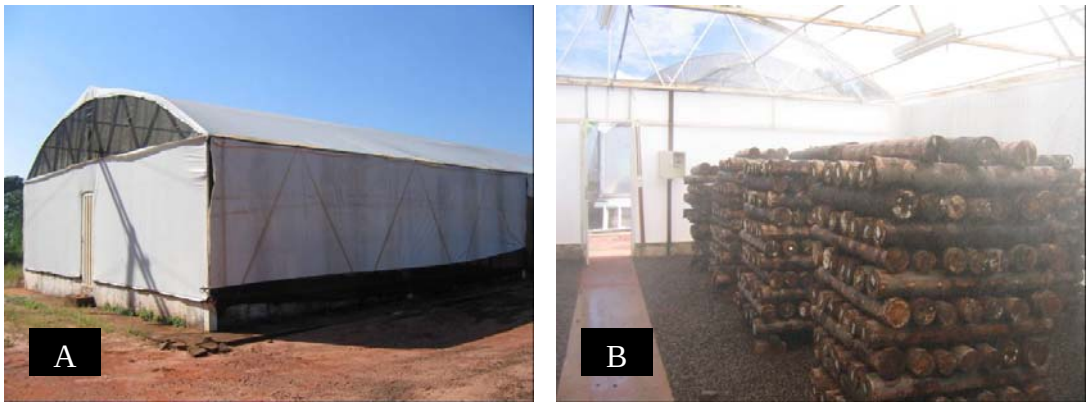

Figura 3. A. Vista externa da estufa de incubação das toras; **B.** Vista interna da estufa de incubação mostrando o sistema de irrigação por microaspersores.

As toras foram mantidas úmidas, através de irrigação diária por microaspersores de alta vazão (15 L h^{-1}) (Figura 3B) e também de forma manual, quando necessário, utilizando-se mangueira de jardim. O monitoramento da temperatura e da umidade relativa do ar foi feita por meio de termo-higrômetros instalados em três pontos diferentes da estufa. A umidade relativa do ar foi mantida elevada (60 – 80%). Quanto à temperatura, esta se situou a 25 ± 5 ºC.

Durante os primeiros 6 meses de incubação, foi feito o remonte das pilhas a cada dois meses, de tal forma que toras dispostas nas partes inferiores da pilha passassem a ocupar a parte superior e vice-versa. Este procedimento foi adotado para que todas as toras fossem submetidas às mesmas condições na estufa.

5.3.6. Indução para a formação de basidiomas

A primeira indução para a formação de basidiomas ocorreu após 6 meses de incubação das toras, momento em que se observou o surgimento espontâneo de primórdios em algumas toras.

A indução para a formação de basidiomas constou de imersão das toras em tanque de água. Para isso, as toras foram transferidas para um tanque vazio e presas com correntes ao fundo do mesmo. Em seguida, as toras foram submersas em água de abastecimento público por um período de 24 horas.

5.3.7. Colheita

Após a indução, as toras foram dispostas na parte da estufa de cultivo destinada a produção, em posição vertical inclinada, com espaçamento de 10 cm entre toras (Figura 4A).

Nesta fase de colheita, a irrigação foi controlada por meio de microaspersores de vazão baixa (menos que 7 L h^{-1}), além de irrigação manual, com mangueira, sempre após a colheita, para que os basidiomas não fossem atingidos e não apresentassem um aspecto “melado” indesejado. Os primeiros primórdios surgiram em média 3 dias após a retirada das toras do tanque de indução (Figura 4B).

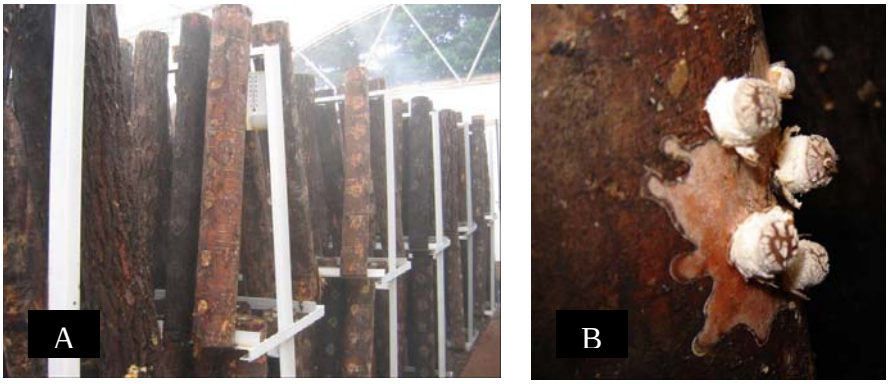

Figura 4. A. Disposição das toras na fase de produção de basidiomas; **B.** Formação de primórdios nas toras.

Os basidiomas foram colhidos quando o píleo apresentou abertura de 70 - 80%, que ocorreu entre o 5° e o 10° dia após o choque de indução (Figura 5).

Figura 5. A. Vista lateral dos basidiomas em ponto de colheita (70 - 80% de abertura de píleo); **B.** Vista superior dos basidiomas.

Durante a colheita muito cuidado foi tomado para não danificar os basidiomas. Uma leve torção no estípete foi o suficiente para sua retirada do basidioma da tora. Não foram utilizados facas e outros instrumentos cortantes, pois, estes deixam restos difíceis de serem removidos e que podem servir de substrato para desenvolvimento de pragas e de contaminações.

5.3.8. Induções subseqüentes

Após a colheita dos basidiomas, as toras foram novamente empilhadas na parte da estufa destinada à incubação e submetidas à irrigação diária até a próxima indução para a formação de basidiomas a qual ocorreu após 2 meses.

No total foram feitos 4 induções, resultando, durante o ciclo produtivo do *L. edodes*, em 4 fluxos de produção.

5.3.9. Processamento dos basidiomas

Após a primeira colheita foram separadas, ao acaso, amostras de basidiomas inteiros de cada um dos tratamentos citado na Tabela 3.

5.3.9.1. Desidratação dos basidiomas

Inicialmente, as amostras de basidiomas inteiros de cada tratamento, previamente separadas, foram desidratadas. Porém, antes destes procedimentos fez-se uma limpeza nos mesmos, com auxílio de um estilete, removendo-se restos de madeira que ainda poderiam estar aderidos ao estípete. Na seqüência, estes basidiomas foram colocados em bandejas de estrutura de madeira e tela de plástico (Figura 6A), em desidratador com fonte elétrica de aquecimento e ventilação forçada (Figura 6B). O processo de desidratação ocorreu em temperaturas de 50 - 60 °C por aproximadamente 72 horas. Após a desidratação, as amostras de basidiomas foram acondicionados em sacos de polipropileno (PP), devidamente identificadas em função de cada tratamento. Este procedimento foi tomado para evitar a reidratação das amostras até a moagem.

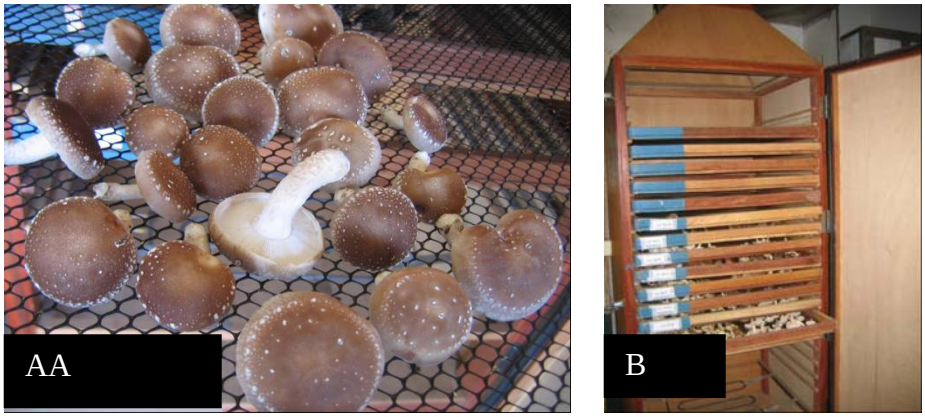

Figura 6. A. Detalhe de uma bandeja utilizada na secagem de basidiomas. **B.** Vista parcial do desidratador elétrico.

5.3.9.2. Moagem de basidiomas

Procedeu-se à moagem dos basidiomas em moinho de facas, peneira 30 mesh. Após a moagem, acondicionou-se as amostras em frascos de vidro tipo conserva de 800 mL com tampa de metal, previamente identificados.

5.3.10. Parâmetros avaliados

5.3.10.1. Produtividade

A produtividade é definida como o rendimento da biomassa em termos de massa seca de basidiomas por massa seca de substrato em determinado fluxo ou em fluxos acumulados de produção:

P = MSB/MST * 100, em que:

P = Produtividade, %

MSB = Massa seca de basidiomas, g

MST = Massa seca de toras, g

Para a determinação da massa seca de basidiomas (MSB) foi necessário primeiramente determinar o teor de umidade das amostras (U%). Para isto, foram coletadas 3 amostras de basidiomas ao acaso, de acordo com cada tratamento citado na tabela 3. Estas amostras foram pesadas em balança digital com precisão de 0,1g para a obtenção da massa úmida de basidiomas (MUB) e em seguida colocadas em estufa a 50-60 °C por aproximadamente 72 horas, até obtenção de massa seca de basidiomas (MSB). Assim, em posse dos dados de MUB e MSB, o teor de umidade das amostras foram calculadas pela equação:

$$U\% = \frac{MUB - MSB}{MUB} * 100$$, em que:

U% = teor de umidade com base em massa úmida dos basidiomas, %

MUB = massa úmida de basidiomas, g

MSB = massa seca de basidiomas, g

Do valor do teor de umidade das amostras de basidiomas foi obtido um fator de conversão (em porcentagem) por tratamento, que multiplicado à massa fresca de basidiomas, foram estimados seus valores de massa seca, em gramas.

Para a determinação da massa seca das toras (MST) foram utilizados 3 discos coletados de uma mesma árvore em alturas diferentes (9cm, meio e 14cm de diâmetro), com 2,5 cm de espessura, por espécies e clones de eucalipto. Logo após o corte dos discos, estes foram pesados em balança digital com precisão de 0,1g. Após, estes discos colocados em estufa com circulação de ar forçada a 103 ± 2 °C, até obtenção de massa constante. Assim, o teor de umidade dos discos foram calculados pela equação:

$$U\% = \frac{MUD - MSD}{MUD} * 100$$, em que:

U% = teor de umidade com base em massa úmida dos discos, %

MUD = massa úmida dos discos, g

MSD = massa seca dos discos, g

Do valor do teor de umidade das amostras de de discos de eucalipto foi obtido um fator de conversão (em porcentagem) para cada tipo de eucalipto, que multiplicado à massa fresca das toras, foram estimados seus valores de massa seca, de acordo com as espécies e clones de eucalipto utilizados.

Após os passos acima descritos a produtividade foi expressa em porcentagem em determinado fluxo ou em fluxos acumulados.

5.3.10.2. Análises bromatológicas dos basidiomas

As análises bromatológicas dos basidiomas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/ UNESP, Botucatu-SP. Foram analisadas 2 amostras de basidiomas inteiros, desidratados e moídos, por tratamento (conforme Tabela 3), coletados no 1° fluxo de colheita e processados de acordo com os itens 5.3.9.1 e 5.3.9.2. No total foram analisadas 40 amostras de basidiomas desidratados e moídos, sendo avaliados seus os teores de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta, de acordo com a metodologia de Silva e Queiroz (2002).

5.3.10.2.1. Proteína bruta

Para a determinação do teor de proteína bruta das amostras, pesou-se inicialmente 1g de material moído e seco em tubo de digestão de 300mL (25 x 250 mm). Após, adicionou-se uma medida padronizada de mistura catalizadora (composta de 100g de sulfato de potássio, 10g de sulfato de cobre) e 3mL de ácido sulfúrico concentrado - P.A. Em seguida, as amostras foram levadas a um bloco digestor, inicialmente ajustado a uma temperatura de 250 °C, sendo a mesma elevada gradativamente até atingir 400 °C. O extrato ficou pronto quando adquiriu coloração verde, quando estão foram retirados do digestor. Após o resfriamento do extrato, foi transferido água para o tubo de destilação, o qual, por sua vez, foi colocado em um destilador manual, cuja extremidade de saída ficou mergulhada em ácido bórico. Quando o volume de destilado atingiu 50mL, o aquecimento foi desligado e o Erlenmeyer e os tubos de digestão foram retirados. Após, o Erlenmeyer contendo a solução foi levada para titular com ácido sulfúrico (0,05 N). A titulação ocorreu até verificar visualmente a mudança de cor, quando então foi anotado o volume de ácido utilizado.

Os cálculos efetuados para a determinação da proteína bruta foram:

$$\%N = [(14 * 0{,}05 * 100)/100] * (\text{Vol. } H_2SO_4 - \text{Vol.branco})$$

$$\%\ PB = \%N * 6{,}25$$

Em que:

%N= Porcentagem de nitrogênio

14 = Equivalente do nitrogênio

0,05= Normalidade do ácido sulfúrico

Vol. H_2SO_4= Volume de ácido consumido até o ponto de viragem

Vol.branco= Volume de ácido consumido até o ponto de viragem do branco

%PB= Porcentagem de proteína bruta

5.3.10.2.2. Extrato etéreo

Para a determinação do teor de extrato etéreo, pesou-se inicialmente 1g de amostra seca em um papel filtro e secou-se em estufa a 105 °C, durante 3 horas (secagem definitiva). Após esfriar em dessecador por 30 minutos, fez-se um embrulho da amostra contida no papel filtro, em forma de cartucho. Em seguida, colocou-se a amostra no recipiente próprio do aparelho de extração. Ao Becker previamente limpo e de peso conhecido, em balança analítica, adicionou-se 40 mL de éter de petróleo e colocou-se sob o condensador fixando-o ao anel de rosca e em seguida, ligou-se a água do condensador, o qual ficou funcionando 4 horas, com verificações ocasionais.

Após completar a extração, removeu-se a amostra do recipiente e colocou-se o tubo de vidro, coletor de éter, sob o condensador. Na seqüência, repôs-se o Becker, levantando-se o aquecedor e destilando o éter no tubo coletor. Antes que o Becker secasse, retirou-se o aquecedor e derramou-se o éter do tubo coletor num recipiente para éter usado. Em seguida, completou-se a secagem do Becker na estufa a 105 °C, por 30 minutos. Finalmente esfriou-se num dessecador à temperatura ambiente e pesou. A diferença entre este último peso e o Becker vazio correspondeu ao peso do extrato etéreo.

5.3.10.2.3. Cinzas

Na determinação do teor de cinzas colocou-se inicialmente os cadinhos de porcelana vazios na mufla à 550-600 °C, durante 15 minutos e, em seguida, esfriando-os em dessecador, durante 1 hora. Posteriormente, pesou-se o cadinho vazio e depois com 1g da amostra seca e procedeu-se a incineração, até a obtenção de cinza clara, durante 4 horas à 600 °C. Após este tempo, esfriou-se as amostras em dessecador e fez-se as pesagens.

5.3.10.2.4. Fibra bruta

Inicialmente pesou-se 2 gramas de amostra seca e a colocou em copo de 600 mL, próprio para ser adaptado ao digestor. Em seguida, adicionou-se 100 mL de H_2SO_4 a 1,25%, fervente, e colocou-se no aparelho digestor. A fervura foi iniciada dentro de 1 minuto quando então foi prolongada por 30 minutos. Ao final da digestão ácida, procedeu-se à filtração, fazendo-se lavagens sucessivas com água destilada fervente sobre o resíduo até a neutralização do material. O material retido no linho foi quantificativamente transferido para o copo de digestão, usando-se para essa transferência 100 mL da solução de NaOH a 1,25%, fervente quando então procedeu-se a digestão básica, seguindo os mesmos princípios da digestão ácida.

Após as hidrólises, o resíduo (fibra e minerais) foi transportado, quantitativamente, com auxílio de uma piseta com álcool, para o cadinho filtrante adaptado a um kitassato e este a uma bomba de vácuo. Em seguida, lavou-se o material com álcool (20 mL) e, posteriormente, com éter (10 mL), a fim de facilitar a secagem e eliminar compostos provenientes das digestões. Na seqüência, fez-se a secagem dos cadinhos em estufa a 105 °C e os levou ao dessecador. A pesagem forneceu o peso do cadinho, da fibra bruta e dos minerais. Finalmente, fez-se a calcinação em mufla a 500 °C, durante 2 horas, quando toda a fibra foi oxidada, restando somente minerais insolúveis. A diferença de peso, antes e após a calcinação forneceu o peso da fibra bruta da amostra.

5.3.10.3. Número de basidiomas

A determinação do número de basidiomas foi realizada através da simples contagem de basidiomas por tora e por fluxo de produção, de acordo com os tratamentos já citados na tabela 3.

5.4. Experimento 4 - Avaliação das propriedades físicas e químicas de sete espécies e três clones de eucalipto antes e durante o cultivo de duas linhagens de *Lentinula edodes*.

5.4.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 10, correspondente a 2 linhagens de *L. edodes* e 10 tipos de eucalipto (7 espécies e 3 clones) (Tabela 4). Foram 20 tratamentos com 9 repetições, sendo cada repetição correspondente a uma tora, totalizando 180 toras.

5.4.2. Produção de inóculo

A produção de micélio (inóculo) das linhagens de *L. edodes* LE-96/18 e LE-95/01 seguiu o mesmo procedimento adotado no ítem 5.3.2.

5.4.3. Obtenção de discos e toras de eucalipto

Inicialmente, para cada espécie e clone de eucalipto, foram selecionadas ao acaso 6 árvores, totalizando 60 [(7 espécie + 3 clones de eucalipto) x 6 árvores]. Estas árvores foram abatidas e retirou-se de cada uma 3 discos em alturas distintas com 2,5 cm de espessura (Figura 7). Para tanto, com o auxílio de um suta, foi delimitado dois

extremos em cada árvore, um com 9 e outro com 14 cm de diâmetro, de onde foi removido um disco por extremidade. O terceiro disco foi retirado do meio desta área delimitada.

Tabela 4. Tratamentos experimentais utilizados para avaliação das propriedades físicas e químicas de sete espécies e três clones de eucalipto utilizados no cultivo de duas linhagens de *Lentinula edodes*.

Tratamentos	Linhagem de *L. edodes*	Tipo de toras de cultivo
1	LE-95/01	*E. saligna*
2		*E. grandis*
3		clone 23
4		clone 25
5		clone 24
6		*E. urophylla*
7		*E. pellita*
8		*E. paniculata*
9		*E. citriodora*
10		*E. camaldulensis*
11	LE-96/18	*E. paniculata*
12		*E. camaldulensis*
13		*E. urophylla*
14		*E. citriodora*
15		*E. saligna*
16		Clone 23
17		Clone 24
18		Clone 25
19		*E. grandis*
20		*E. pellita*

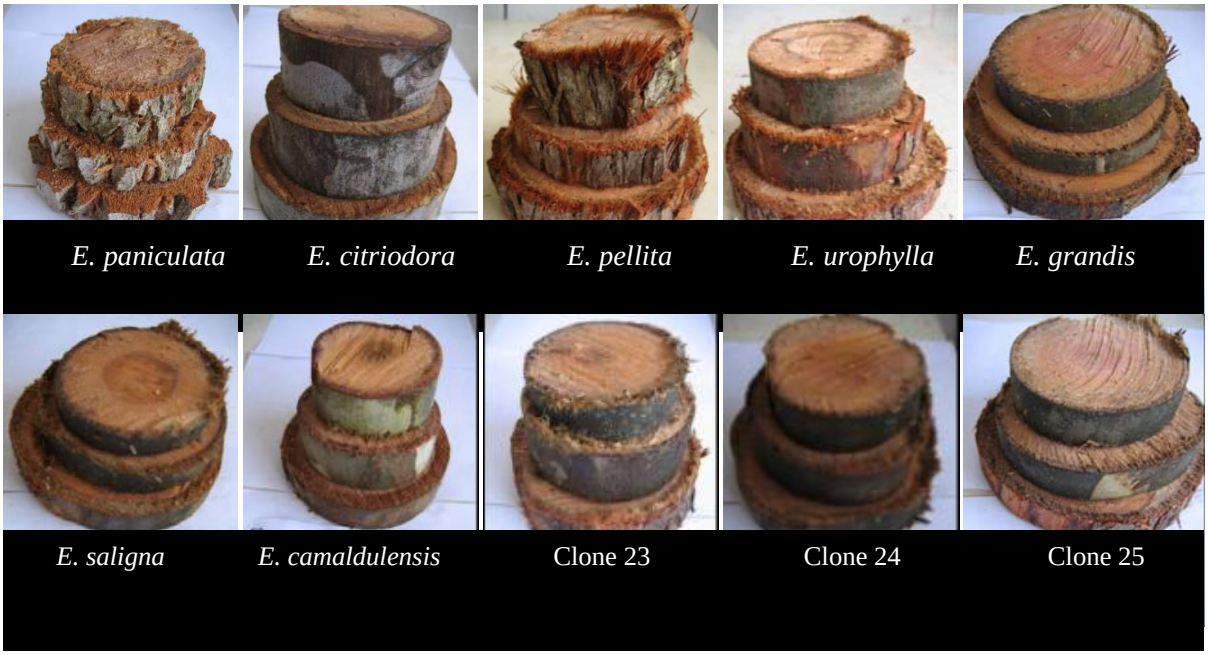

Figura 7. Discos das 7 espécies e 3 clones de eucalipto coletados em três alturas diferentes da árvore (9cm, meio e 14cm). Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Desta forma, o total de discos coletados foi 180 [(7 espécies + 3 clones de eucalipto) x 6 árvores x 3 discos] os quais foram identificados ainda em campo. Posteriormente cada disco foi dividido em quatro cunhas com ângulo de 90° entre si. A primeira cunha foi utilizada para a determinação da densidade básica; a segunda para avaliação de extrativos totais, lignina e holocelulose; e a terceira para a determinação de macro e micronutrientes e a quarta foi guardada como reserva.

Logo após a retirada de cada disco, também foram cortadas toras de 1m de comprimento do mesmo local onde foram removidos os discos, ou seja, foram restiradas 3 toras por árvore em alturas distintas (9cm, meio e 14cm), sempre após o corte dos discos. As toras foram identificadas ainda em campo para que, após a inoculação das linhagens de *L. edodes*, pudesse ser feito o acompanhamento das alterações físicas e químicas provocadas pelo fungo nas diferentes espécies e clones de eucalipto.

Assim, das 6 árvores abatidas por tipo de eucalipto, 3 árvores foram destinadas à obtenção de 9 toras para a inoculação da linhagem LE-96/18 e as outras 3 árvores para a obtenção de 9 toras para a inoculação com a linhagem LE-95/01 do *L. edodes*.

5.4.4. Inoculação das toras

A inoculação das toras foi feita conforme o item 5.3.4.

5.4.5. Incubação das toras

Na fase de incubação as toras foram levadas à uma estufa onde permaneceram por 6 meses. A estufa utilizada nesta fase do cultivo foi a mesma citada no item 5.3.5.

As toras foram dispostas em 3 pilhas com 60 toras cada. A distribuição das 180 toras nas pilhas foi inteiramente ao acaso. Em cada pilha, as toras foram dispostas em 10 níveis de 6 toras cada, totalizando 80 toras. Os níveis de toras de cada pilha tiveram direções diferentes, de modo que níveis consecutivos formaram um ângulo de 90º entre si.

O manejo das toras durante a incubação, referentes a temperatura, umidade relativa do ar e umidade das toras, seguiu os mesmos procedimentos do item 5.3.5.

5.4.6. Indução para a formação de basidiomas e colheita

A indução para a formação de basidiomas seguiu a mesma metodologia adotada no item 5.3.6.

5.4.7. Colheita

A colheita dos basidiomas seguiu os mesmos procedimentos descritos no item 5.3.7.

5.4.8. Induções subseqüentes

As induções subseqüentes parar a formação dos basidiomas foram feitas no mesmo período e seguindo os mesmos procedimentos citados no item 5.3.8.

5.4.9. Parâmetros avaliados

5.4.9.1. Densidade básica da madeira e da casca

A avaliação da densidade básica da madeira foi feita no Laboratório de Secagem e Preservação da Madeira, localizado no Departamento de Ciências Florestais – FCA/ UNESP.

A densidade básica da madeira é definida como a relação entre a massa de uma amostra seca em estufa a 103 ± 2 °C e seu volume saturado em água. Esta determinação foi efetuada através do método da balança hidrostática (Norma ABTCP M 14/70) em cunhas de discos e cascas de eucalipto recém cortadas (sem inoculação das linhagens de *L. edodes*) e em cunhas de discos retirados de toras já inoculadas com as linhagens de *L. edodes* após 8 e 12 meses de incubação.

Para a determinação da densidade básica, separou-se inicialmente a madeira da casca, para que as densidades básicas de ambos fossem avaliadas isoladamente. Assim, da madeira, foram avaliadas 180 cunhas obtidas de discos recém cortados, constituindo a densidade básica inicial (DB_0) e mais 180 cunhas aos 8 e 12 meses após a inoculação com o fungo, por período, para o cálculo da densidade básica com 8 e 12 meses de incubação (DB_8 e DB_{12}). Já para a determinação da densidade básica da casca, adotou-se o mesmo procedimento, com a diferença que as três amostras pertencentes a uma mesma árvore foram agrupadas em única amostra e esta determinação somente foi realizada nos discos recém cortados das árvores (DB_0), uma vez que após a inoculação com as linhagens de *L. edodes* a casca das madeiras estavam em estado deteriorativo imprópio para a avaliação.

Assim, no total, foram avaliadas 180 cunhas de madeira por período (aos 0, 8 e 12 meses após a inoculação do fungo) e 60 amostras de casca obtidas das árvores recém cortadas. Estas amostras foram devidamente identificadas e imersas em água até a

saturação, quando então determinou-se a massa saturada sob efeito de empuxo, utilizando-se uma balança de precisão de 0,1g. A diferença entre a massa saturada (M_{SA}) e a massa sob efeito de empuxo (M_{EA}) resultou na determinação do volume das amostras (V_A). Assim:

$V_A = M_{SA} - M_{EA}$, em que:

V_A = volume das amostras, cm^3

M_{SA} = massa saturada das amostras, g

M_{EA} = massa sob efeito do empuxo das amostras, g

Após a determinação destas variáveis, as amostras foram dispostas em estufa a 103 ± 2 ºC até massa constante, obtendo-se assim a massa seca das mesmas (M_{SA}), quando então foi possível calcular suas respectivas densidades básicas (DB_A), através da equação:

$DB_A = M_{SA}/V_A$, em que:

DB_A = densidade básica das amostras, g $(cm^3)^{-1}$

M_{SA} = massa seca das amostras, g

V_A = volume das amostras, cm^3

5.4.9.2. Análises químicas da madeira e da casca

Para a determinação das análises químicas da madeira foram utilizadas cunhas de madeira coletadas logo após o corte das árvores e com 8 meses de incubação, com o micélio das linhagens de *L. edodes*.

Inicialmente, foram retiradas as cascas das cunhas para análise individual de ambas. Na seqüência, três cunhas de cada árvore (coletadas de alturas distintas da árvore: 9cm, meio e 14cm) foram agrupadas e reduzidas manualmente a cavacos e depois a palitos, constituindo 60 amostras de madeira e 60 amostras de casca, as quais foram utilizadas na determinação da porcentagem de extrativos totais, lignina e holocelulose. O mesmo procedimento foi feito novamente com a segunda cunha de cada disco, constituído mais 120 amostras (60 amostras de madeira e 60 amostras de casca), que foram na seqüência destinadas para a análise de macro e micronutrientes. Finalmente, as amostras foram reduzidas a

serragem em macro-moinho Wiley. A serragem obtida foi classificada em vibrador Produtest para obtenção da fração 40/60 mesh. Portanto, as amostras de madeira e casca utilizadas nas análises químicas foi uma composta de cunhas obtidas em alturas distintas das árvores.

Assim, foram avaliadas 240 amostras: 120 amostras provenientes de discos de árvores coletados logo após o corte (60 amostras de madeira e 60 amostras de casca), e 120 amostras coletadas de discos de toras provenientes destas mesmas árvores após 8 meses de incubação com as linhagens de *L. edodes* (60 amostras de madeira e 60 amostras de casca).

5.4.9.2.1. Extrativos totais, lignina e holocelulose

As análises de extrativos totais, lignina e holocelulose foram feitas, de acordo com as análises citadas na tabela 5, no Departamento de Recursos Naturais – Laboratório de Análises Químicas – FCA/ UNESP.

Tabela 5. Análises efetuadas para a avaliação de extrativos totais, lignina e holocelulose.

Extrativos totais	ABTCP M 3/69
Lignina Klason	TAPPI T 222 om - 83
Holocelulose	100 - % Extrativos totais - % Lignina

Fez-se a determinação simultânea de extrativos totais, lignina e holocelulose, levando-se em consideração o peso seco das amostras. Para isso, inicialmente pesou-se o equivalente a 1g seco de serragem de cada amostra e as transferiu para saquinhos de papel de filtro previamente identificados. Em seguida as amostras foram colocadas em extrator com etanol tolueno (1/2) e etanol durante 8 horas em cada solvente, deixando secar ao ar livre após cada extração. Após, as amostras foram colocadas em Becker (capacidade para 250 mL), submersas em água destilada e submetidas a banho-Maria (80 °C) durante 3 horas,

sendo agitadas suavemente a cada 15 minutos, com auxílio de um bastão de vidro. Na seqüência as amostras foram filtradas em cadinhos de vidro sinterizado (n° 2) tarado e lavadas descontinuamente com 250 mL de água quente (quase fervendo). Finalmente os cadinhos contendo as amostras foram submetidos à estufa até massa constante. A perda de massa ao final deste processo correspondeu aos extrativos totais de cada amostra, de acordo com a equação:

$$ET = (1 - M) \times 100$$

Em que:

ET = Extrativos totais, %

M = Massa seca da serragem após extração, g

Posteriormente, para a determinação da lignina, utilizou-se a mesma serragem contida nos cadinhos, sendo estas transferidas para Becker de 50 mL e submersas em ácido sulfúrico (H_2SO_4 - 72%) resfriado a 10-12 °C, mantidos em banho-Maria durante 2 horas, sendo agitados a cada 15 minutos. Após, as amostras foram transferidas para Erlenmeyer de 1L, sendo completado seu volume até 560 mL com água destilada. Esta solução foi mantida sob fervura durante 4 horas, sendo seu volume mantido por adição periódica de água destilada. Ao final deste processo, a solução foi submetida a descanso até a completa sedimentação da lignina, quando então as amostras foram filtradas em cadinhos de vidro sinterizado (n°. 2) tarado, fazendo um fundo com papel de filtro e lavadas descontinuamente com 250 mL de água destilada quente (quase fervendo). Finalmente as amostras foram submetidas à estufa até massa constante. O cálculo da percentagem de lignina foi feito a partir da equação:

$L = M_{SR} \times 100$, em que:

L = Lignina, %

M_{SR} = massa seca do resíduo, g

Finalmente a percentagem de holocelulose foi calculada pela seguinte equação:

$H = 100 - (ET + L)$, em que:

H = Holocelulose, %

ET = Extrativos totais, %

L = Lignina, %

5.4.9.2.2. Macro e micronutrientes

As amostras de madeira e casca foram encaminhadas ao Laboratório de Análise Química de Fertilizantes e Corretivos, pertencente ao Departamento de Recursos Naturais – Ciência do Solo – FCA/ UNESP para a determinação da composição de macro e micronutrientes, de acordo com a metodologia do LANARV (1988).

5.6. Análise estatística

Em todos os experimentos os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) (SNEDECOR; COCHRAN, 1972). Para tanto, utilizou-se o programa SISVAR 4.2 desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras, MG (UFLA).

As análises de regressão foram feitas no programa SigmaStat for Windows version 2.0.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1 - Crescimento micelial das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *Lentinula edodes* em meios de cultura preparados à base de extrato de serragem de sete espécies e três clones de eucalipto.

Os resultados do crescimento micelial das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, após dez dias de cultivo nos meios de cultura estão apresentados na tabela 6. Houve interação significativa dos meios de cultura, das linhagens e da interação entre estes dois fatores, sendo que a linhagem LE-96/18 obteve o maior crescimento micelial em todos os meios de cultura utilizados.

A influência das características físicas e químicas dos substratos no crescimento micelial de linhagens fúngicas têm sido enfatizada em estudos recentes (DONINI et al., 2006; KOPYTOWSKI FILHO, 2006; ÖZÇELIK; PEKSEN, 2006; DIAS et al. 2003), assim como as diferenças de crescimento micelial entre linhagens fúngicas cultivadas em um mesmo tipo de substrato e nas mesmas condições de cultivo (ANDRADE;

GRACIOLLI, 2005; SILVA et al., 2005; MAKI et al., 2001; BOYLE, 1998). A eficiência da biodegradação de diferentes substratos por fungos varia em função da linhagem (ROYSE, 1985; ROYSE; SANCHEZ-VAZQUEZ, 2003). Donini et al. (2005), avaliando a velocidade de crescimento micelial de linhagens de *Pleurotus* spp. em diferentes substratos observaram diferenças significativas na interação entre linhagens, substratos e dias de avaliação.

O meio de cultura que proporcionou maior crescimento micelial após dez dias de incubação a 25 ± 1ºC foi o meio à base de extrato de serragem de *E. citriodora*, para ambas as linhagens estudadas (Tabela 6). Resultados semelhantes foram observados por Menin et al. (2000) que, avaliando o efeito do óleo essencial, da serragem e do extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* no crescimento micelial de *L. edodes*, observaram que o meio de cultura à base de extrato de serragem de *E. citriodora* proporcionou crescimento micelial mais rápido do que o BDA (batata-dextrose-ágar).

As menores médias de crescimento micelial foram observadas nos meios de cultura à base extrato de serragem dos clones 23 e 25 e da espécie *E. pellita* para a linhagem LE-95/01, e nos meios de cultura à base de extrato de serragem de *E. grandis* e *E. urophylla* para a linhagem LE-96/18 (Tabela 6).

A habilidade de linhagens de *L. edodes* para o crescimento depende, entre outros fatores, dos tipos de materias lignocelulósicos utilizados (ROYSE, 2001; SILVA et al., 2005). O cultivo de *L. edodes* em serragens de diferentes espécies de eucalipto condicionaram desenvolvimentos diferentes do micélio (TARUI, 1997; TEIXEIRA, 2000). As diferenças existentes entre substrato de cultivo, a escolha do substrato e genótipos adaptados a este é uma forma de aumentar a produção de *L. edodes* e para obter informações sobre espécies de fungos adaptadas a substratos lignocelulósicos (SILVA et al., 2005).

Tabela 6. Crescimento micelial (mm) *in vitro* das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em meios de cultura sólidos à base de extrato de serragem de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora* e *E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*) de eucalipto, após dez dias de desenvolvimento, a 25 ºC ±1°C.

Extrato de Serragem	Linhagens de *L. edodes*	
	LE-95/01	LE-96/18
E. saligna	50,33 B b[(1)]	58,10 A bc
E. grandis	48,78 B bcd	53,43 A e
Clone 23	46,85 B ef	56,48 A cd
Clone 25	45,13 B f	58,23 A bc
Clone 24	47,30 B de	59,08 A b
E. urophylla	47,33 B de	53,45 A e
E. pellita	46,63 B ef	55,75 A d
E paniculata	49,33 B bc	57,30 A bcd
E. citriodora	53,23 B a	61,40 A a
E. camaldulensis	47,58 B cde	55,48 A d

[(1)] Médias seguidas de letras iguais, maiúscula em cada linha e minúscula em cada coluna, não diferem entre si (Tukey, 5%). CV (%) = 2,54.

A figura 8 ilustra o crescimento micelial das duas linhagens de *L. edodes* LE-96/18 e LE-95/01, em cada meio de cultura, durante dez dias de desenvolvimento *in vitro*. Obseva-se que em todos os meios de cultura há uma tendência de maior crescimento micelial da linhagem LE-96/18 se comparado à da linhagem LE-95/01.

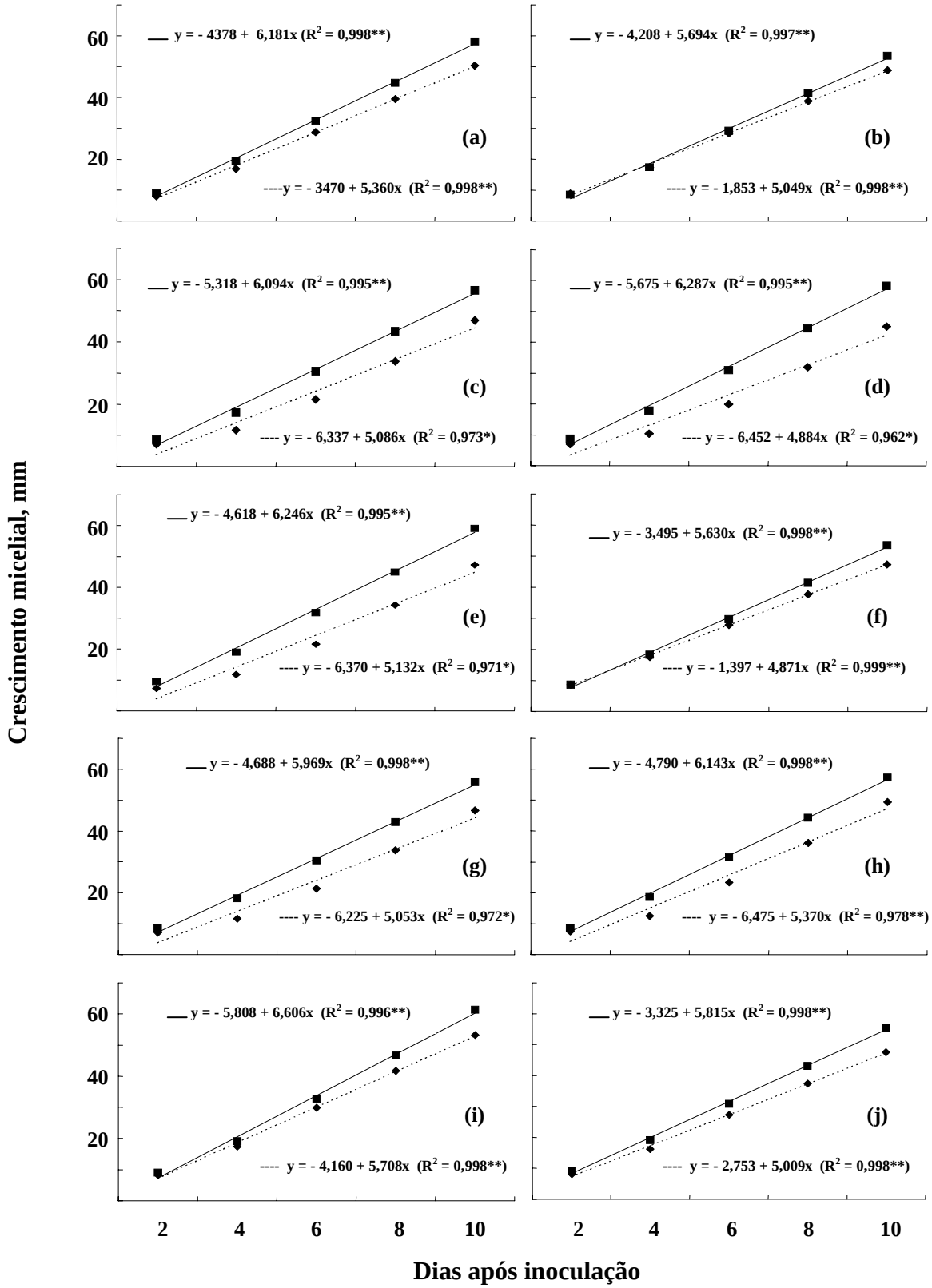

Figura 8. Crescimento micelial (mm) de duas linhagens de *L. edodes* LE-96/18 (■) e LE-95/01 (♦) em meios de cultura à base de extrato de serragem de (a) *E. saligna*, (b) *E. grandis*, (c) Clone[(1)] 23, (d) Clone 25, (e) Clone 24, (f) *E. urophylla*, (g) *E. pellita*, (h) *E. paniculata*, (i) *E. citriodora*, (j) *E. camaldulensis*, a 25 ºC. * e ** significativos a 5 e 1% respectivamente.

[(1)]Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E.grandis* x *E. urophylla*.

EXPERIMENTO 2 - Crescimento micelial de oito linhagens de *Lentinula edodes* em meio de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp.

O resultado comparativo das médias de crescimento micelial das oito linhagens de *L. edodes*, em meio de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp., está apresentado na tabela 7. Houve diferenças significativas no crescimento micelial entre as linhagens de *L. edodes* em todos os dias de avaliação, sendo que as linhagens LE-96/17 e LE-96/18 foram as únicas a manterem o melhor desempenho de crescimento micelial durante todo o período de avaliação.

Tabela 7. Crescimento micelial (mm) *in vitro* das linhagens LE-96/17, LE-98/55, LE-96/18, LE-98/47, LE-96/13, LE-95/01, LE-95/01 e LE-95/07 de *L. edodes* em meios de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp., durante dez dias de desenvolvimento, a 25°C.

Linhagens	Dias após a inoculação				
	2	4	6	8	10
LE-96/17	9,19 A[(1)]	19,53 AB	34,41 AB	49,38 AB	61,97 AB
LE-98/55	8,91 AB	19,63 AB	32,22 CD	44,78 C	57,06 C
LE-96/18	8,47 ABC	19,56 AB	35,13 A	51,44 A	65,38 A
LE-98/47	8,28 BC	18,94 C	34,47 A	50,44 AB	64,50 AB
LE-96/13	8,16 BC	18,53 C	32,94 BC	48,34 B	61,78 B
LE-95/01	8,13 BC	18,22 C	31,44 D	44,84 C	56,72 C
LE-95/02	7,91 C	18,44 C	32,81 CD	48,66 B	63,31 AB
LE-95/07	7,75 C	20,88 A	35,25 A	49,88 AB	64,38 AB
DMS	0,89	1,66	1,50	2,46	3,49
CV (%)	6,70	5,47	2,82	3,21	3,57

[(1)]Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si (Tukey, 5%).

Após 2 dias de inoculação, as linhagens LE-96/17 e LE-98/55 resultaram nas maiores médias de crescimento. Média intermediária foi obtida pela linhagem LE-96/18. Finalmente, as menores médias de crescimento foram obtidas pelas linhagens LE-95/02, LE-95/07, LE-98/47, LE-96/13 e LE-95/01 (Tabela 7).

Após 4 dias de inoculação, observou-se que as linhagens LE-95/07, LE-96/17, LE-98/55 e LE-96/18 resultaram nas maiores médias de crescimento. Já as menores médias de crescimento foram observadas nas linhagens LE-98/47, LE-96/13, LE-95/01 e LE-95/02 (Tabela 7).

Após 6 dias de inoculação, as linhagens LE-96/18, LE-98/47, LE-95/07 e LE-96/17 obtiveram os melhores médias de crescimento. Já as menores médias de crescimento foram observadas nas linhagens LE-95/01, LE-98/55 e LE-95/02 (Tabela 7).

Após 8 dias de inoculação, as linhagens LE-96/18, LE-96/17, LE-98/47 e LE-95/07 resultaram nas maiores médias de crescimento. Por outro lado, as menores médias de crescimento foram observados nas linhagens LE-98/55 e LE-95/01 (Tabela 7).

Finalmente, aos 10 dias de inoculação, as maiores médias de crescimento foram obsevadas nas linhagens LE-96/18, LE-96/17, LE-98/47, LE-95/02 e LE-95/07. Por outro lado, as menores médias foram observadas nas linhagens LE-98/55 e LE-95/01 (Tabela 7).

Este comportamento distinto de crescimento micelial entre as linhagens de *L. edodes* testadas no presente trabalho estão de acordo com Teixeira (2000), que, comparando o crescimento micelial entre linhagens de *L. edodes*, relata a existência de diferenças significativas entre elas quando cultivadas em serragem de *E. saligna*, ou seja, as linhagens BMA LE-96/22, JAB M e BMA LE-96/14 foram as de crescimento mais rápido, não diferindo entre si, mas diferindo das demais estudadas. Ainda neste trabalho, a linhagem JAB P foi a de colonização mais lenta, e as demais, intermediárias. Montini (2001) e Regina (2001) também concluiram em seus trabalhos que a cinética de crescimento miceliano é influenciado pelas linhagens, bem como pelos substratos de cultivo.

A figura 9 ilustra o crescimento micelial das oito linhagens de *L. edodes* em meio de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp, durante dez dias de desenvolvimento *in vitro*.

Os resultados obtidos evidenciaram um crescimento progressivo de todas as linhagens de *L. edodes* analisadas, durante os dias de avaliação, resultando em um aumento linear para todas as linhagens. Entretanto, para cada tipo de substrato é importante conhecer, entre outros fatores, quais as linhagens mais favoráveis para o crescimento fúngico. Nas condições do presente experimento as linhagens LE-96/18, LE-96/17, LE-98/47, LE-95/02 e LE-95/07 apresentaram as maiores médias de crescimento micelial ao final do período de avaliação (Tabela 7). Devido às diferenças existentes entre linhagens de *L. edodes*, conhecer os genótipos fúngicos mais adaptados a determinados substratos lignocelulósicos é um modo para aumentar a produção de *L. edodes*, uma vez que, como já relatado por Silva et al. (2005) o crescimento do micélio influencia a produção de cogumelos. De acordo com este mesmo autor, a taxa de formação de primórdios está diretamente relacionada com a biomassa micelial que é formada durante o crescimento fúngico.

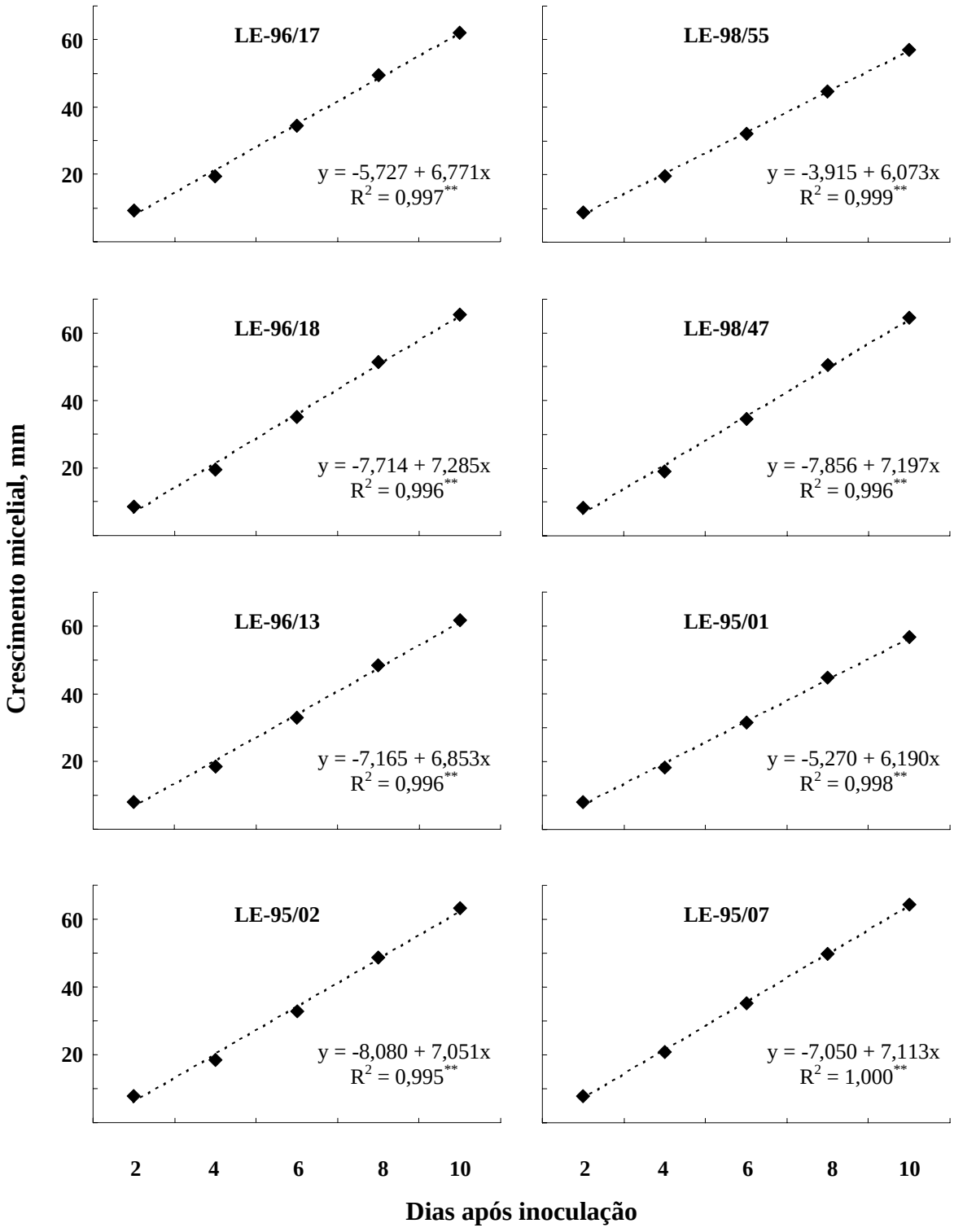

Figura 9. Crescimento micelial (mm) das linhagens LE-96/17, LE-98/55, LE-96/18, LE-98/47, LE-96/13, LE-95/01, LE-95/01 e LE-95/07 de *L. edodes* em meios de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp. , a 25 ºC. ** significativo a 1%.

EXPERIMENTO 3 - Produção e caracterização bromatológica das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *Lentinula edodes* cultivadas em sete espécies e três clones de eucalipto.

Os efeitos do tipo de eucalipto, da linhagem do fungo ou da interação entre este dois fatores sobre o número e massa fresca de basidiomas foram variados, de acordo com os fluxos de colheita.

Na tabela 8, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de número e massa de basidiomas, para os diferentes tipos de eucalipto e linhagem de fungo, na primeira colheita. Neste período, verificou-se efeito signficativo do tipo de eucalipto, da linhagem do fungo e da interação entre estes dois fatores.

Tabela 8. Valores de F obtidos na análise de variância de número e massa fresca de basidiomas das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* cultivadas em sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) na primeira colheita, após 6 meses de incubação.

Fator de variação	Número	Massa fresca
Eucalipto (E)	25,40**	25,50**
Fungo (F)	77,32**	40,76**
E x F	16,38**	8,93**

**Significativo ao nível de 1%.

Nas figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação eucalipto x linhagem de fungo para a variável número e massa fresca de basidiomas, na primeira colheita.

Na figura 10, referente ao número de basidiomas produzidos pela linhagem LE-95/01 de *L. edodes* na primeira colheita, observa-se que não houve diferença significativa das médias em função do tipo de eucalipto testado.

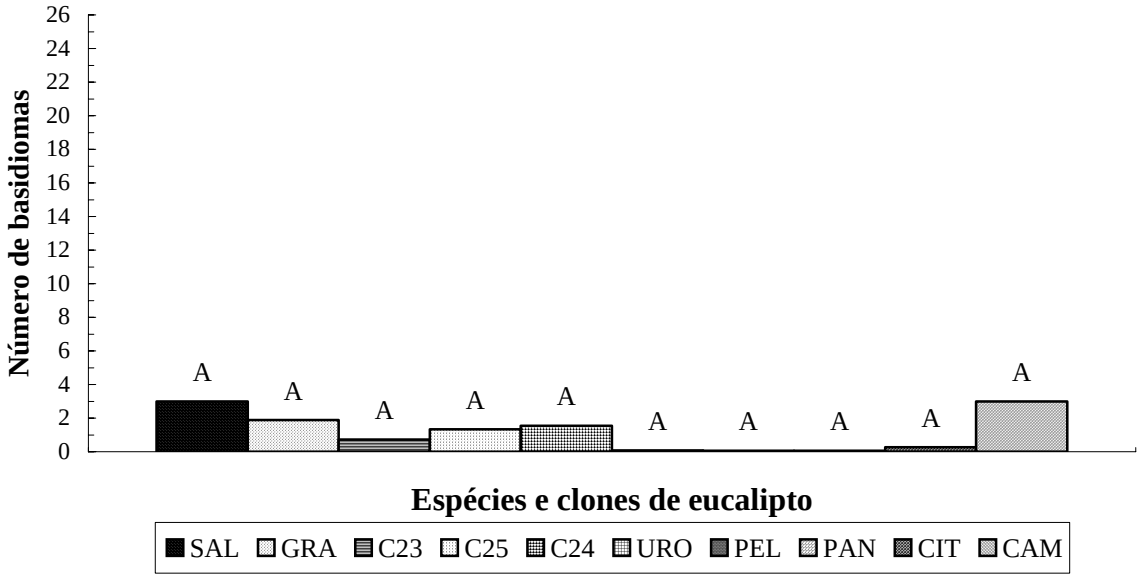

Figura 10. Número de basidiomas da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*, na primeira colheita (após 6 meses de incubação), cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 5,24; CV(%)= 211,22.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 11 observa-se que o *E. camaldulensis* proporcionou a maior média de número de basidiomas. O clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. pellita* e o *E. paniculata*, por sua vez, resultaram nas menores médias.

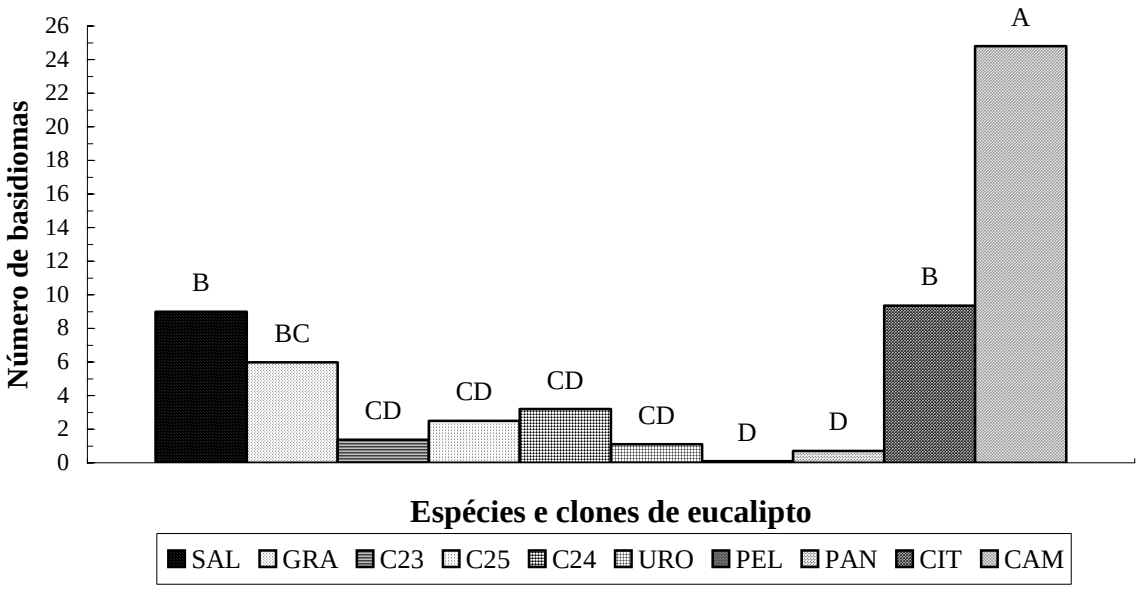

Figura 11. Número de basidiomas da linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, na primeira colheita (após 6 meses de incubação), cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 5,24; CV(%)= 211,22.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 12 é demostrada a comparação do número médio de basidiomas produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, na primeira colheita. O número de basidomas produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. grandis*, *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que em todos os casos a linhagem LE-96/18 resultou

na maior média de número de basidiomas. Já nos demais tipos de eucaliptos, o número de basidiomas produzidos foram semelhante entre si, independente da linhagem de *L. edodes* inoculada. De acordo com Przybylowicz e Donoghue (1990) e Stamets e Chilton (1983) o *L. edodes* entra na fase sexuada, ou seja, de produção de basidiomas, devido a estímulos diversos como mudanças na umidade e temperatura, bem como na disponibilidade de nutrientes. Entretanto, as linhagens podem diferir entre si quanto às suas respostas a estes estímulos, podendo ser mais ou menos exigentes e que algumas requerem condições muito específicas para uma boa produção de basidiomas.

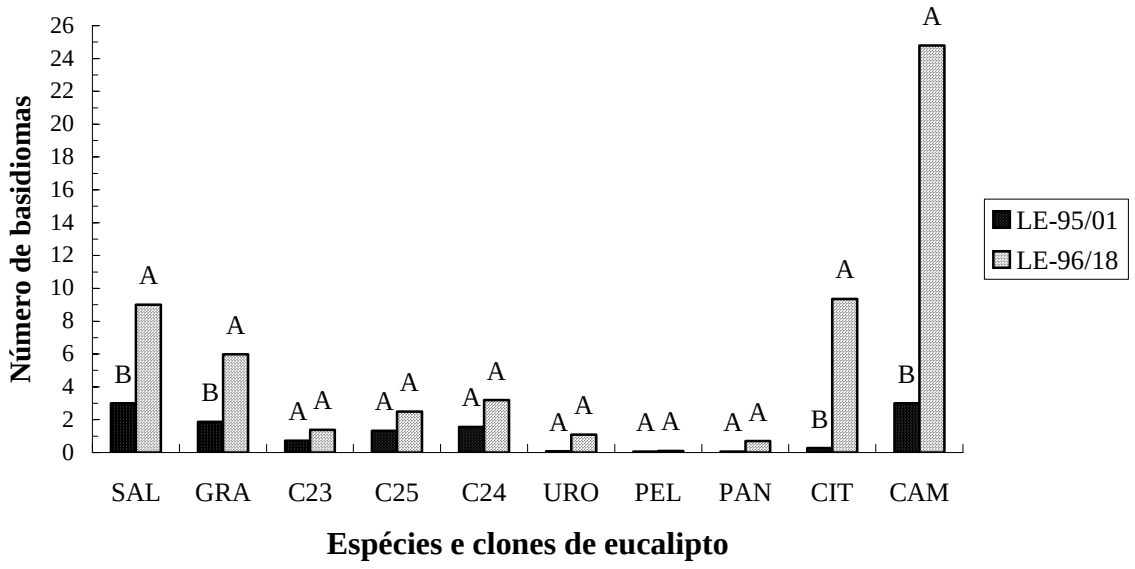

Figura 12. Comparação do número de basidiomas produzidos na primeira colheita (após 6 meses de incubação) pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais dentro de um mesmo tipo de eucalipto não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 3,24; CV(%)= 211,22.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 13 está demonstrada a massa média de basidiomas frescos da linhagem LE-95/01, na primeira colheita. O *E. camaldulensis* e o *E. saligna* resultaram nas maiores médias. Já o *E. grandis*, clone 23, clone 25 e clone 24 resultaram em médias intermediárias. Finalmente, o *E. urophylla*, *E. pellita*, *E. paniculata* e o *E. citriodora* proporcionaram as menores médias. Assim, como não houve diferença significativa na média do número de basidiomas da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* produzidos nos diferentes tipos de eucaliptos (Figura 10), pode se inferir que os basidiomas produzidos nas toras de *E. camaldulsensis* eram providos de massa maior que os produzidos pelo *E. urophylla*, *E. pellita* e *E. paniculata* e pelo *E. citriodora* (Figura 13), justificando assim as diferenças observadas entre estes quanto à massa de basidiomas frescos.

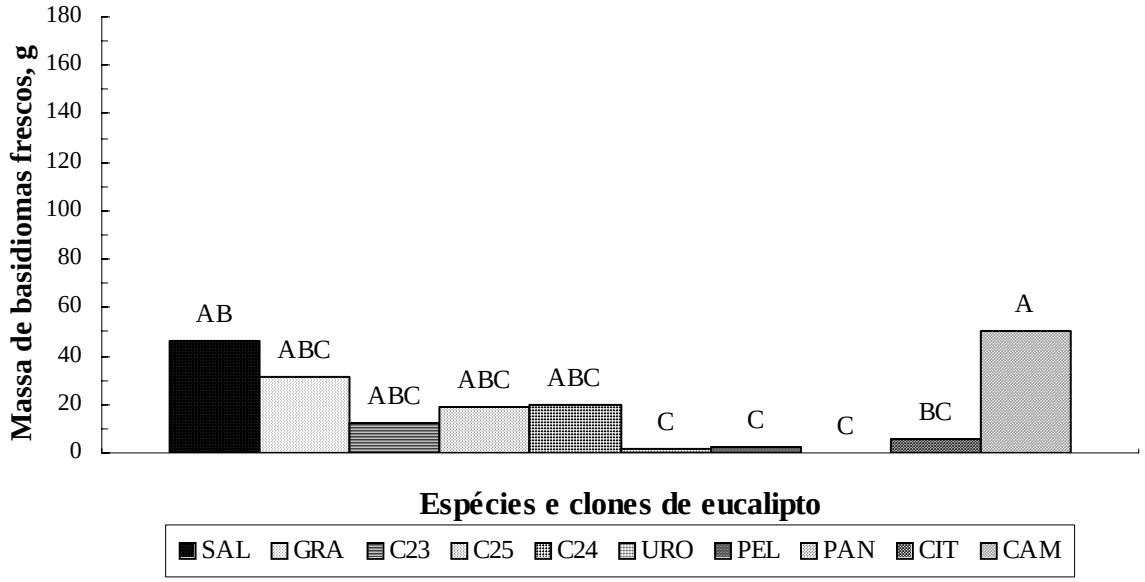

Figura 13. Massa de basidiomas frescos (em gramas) produzida na primeira colheita (após 6 meses de incubação) pela linhagem LE-95/01 de *L. edodes*, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 72,24; CV(%)= 182,57.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 14 estão demostradas as massas médias de basidiomas frescos da linhagem LE-96/18, na primeira colheita. O *E. camaldulensis* resultou na maior média de basidiomas frescos. Por outro lado, as menores médias foram proporcionadas pelo clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. pellita* e pelo *E. paniculata.*

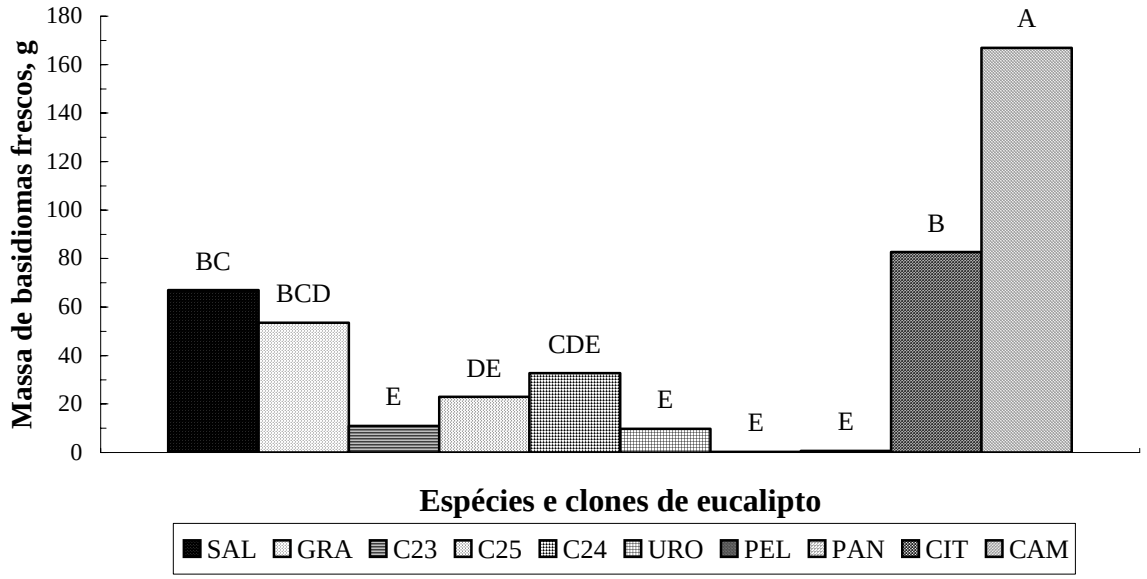

Figura 14. Massa de basidiomas frescos (em gramas) produzida na primeira colheita (após 6 meses de incubação) pela linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 72,24; CV(%)= 182,57.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 15 é demostrada a comparação da massa média de basidiomas frescos produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada

tipo de eucalipto, na primeira colheita. As massas de basidiomas frescos produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 diferiram significativamente entre si dentro do *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que em ambos os casos a linhagem LE-96/18 resultou na maior massa média de basidiomas por tora, ou seja, 82,7g e 167,0g, respectivamente. Estes resultados foram inferiores aos relatados por Montini (1997) que, trabalhando com a linhagem LE-95/01, resultou na produção média de 298,3g de basidiomas frescos por tora de *E. grandis*, no 1º fluxo de produção. Já nos demais tipos de eucaliptos, a massa de basidiomas frescos produzidos foram semelhante entre si, independente da linhagem de *L. edodes* inoculada.

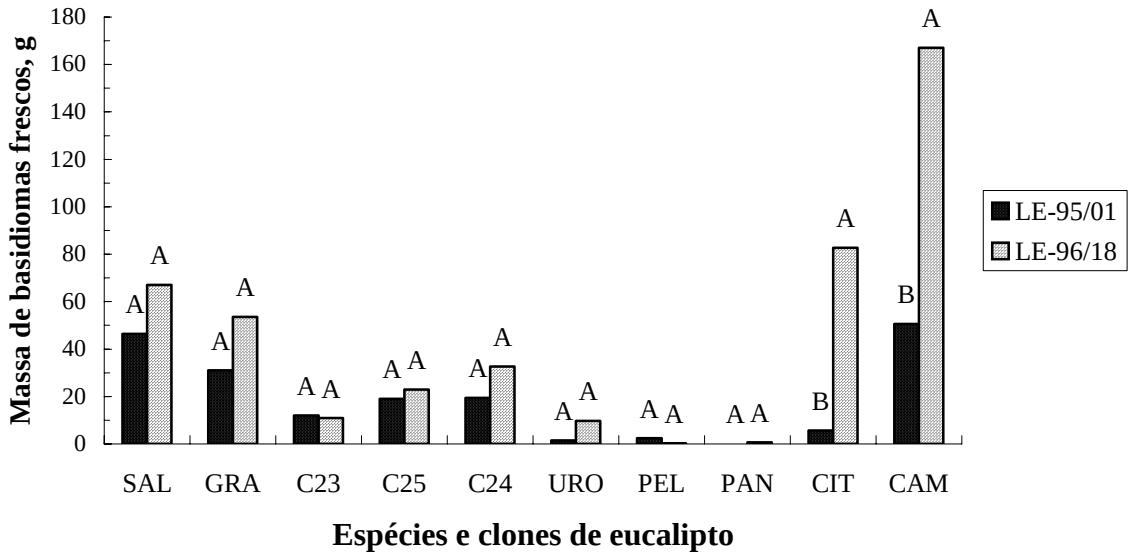

Figura 15. Comparação da massa de basidiomas frescos (em gramas) produzida na primeira colheita (após 6 meses de incubação) pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 25,68; CV(%)= 182,57.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Os resultados demonstrados na figura 15 mostram que para o *E. citriodora* e para o *E. camaldulensis* a linhagem LE-96/18 foi mais promissora do que a linhagem LE-95/01 no 1º fluxo de produção, em termos de massa fresca de basidiomas. Assim, o fato de que o desenvolvimento micelial pode influenciar a produção do *L. edodes* é notório no presente trabalho, uma vez que, na figura 8, foi demonstrado que a linhagem LE-96/18 de *L. edodes* também manteve as melhores médias de crescimento *in vitro* do que a linhagem LE-95/01 nos meios de cultura à base de extrato de serragem de *E. citriodora* e de *E. camaldulensis* durante todo o período de avaliação. Esta relação entre crescimento micelial e produção também já foi relatada por vários autores (ANDRADE; GRACIOLLI, 2005; SILVA et al., 2005; MAKI et al., 2001; BOYLE, 1998).

Na tabela 9, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de número e massa de basidiomas, para os diferentes tipos de eucalipto e linhagem de fungo, na segunda colheita. Para a variável número de basidiomas, houve efeito do eucalipto, do fungo e da interação entre este dois fatores. Já para a variável massa de basidiomas frescos, houve efeito apenas do fator eucalipto.

Tabela 9. Valores de F obtidos na análise de variância de número e massa de basidiomas frescos das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* cultivadas em sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto na segunda colheita, após 8 meses de incubação.

Fator de variação	Número	Massa
Eucalipto (E)	$41{,}89^{**}$	$47{,}94^{**}$
Fungo (F)	$33{,}65^{**}$	$0{,}024^{ns}$
E x F	$3{,}73^{**}$	$0{,}558^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 16, 17 e 18 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação eucalipto x linhagem de fungo para a variável número de basidiomas, na segunda colheita.

Na figura 16, relativa ao número de basidiomas produzidos pela linhagem LE-95/01 de *L. edodes* na segunda colheita, as maiores médias foram proporcionadas pelo *E. camaldulensis*, *E. citriodora*, *E. saligna*, *E. grandis* e pelo clone 24. Já as menores médias foram foram proporcionadas pelo *E. urophylla*, *E. pellita*, *E. paniculata*, clone 23 e pelo clone 25.

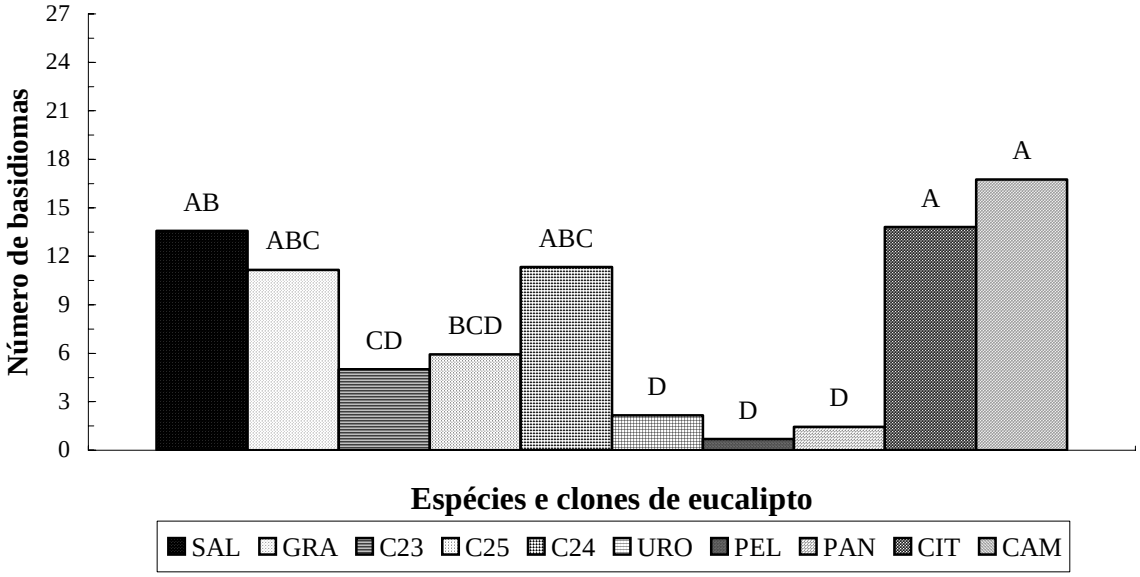

Figura 16. Número de basidiomas da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*, na segunda colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 7,67; CV(%)= 103,96.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 17, relativa ao número de basidiomas produzidos pela linhagem LE-96/18 de *L. edodes* na segunda colheita, as maiores médias ocorreram no *E. saligna*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis*. Já as menores médias foram proporcionadas pelo *E. pellita*, clone 23, *E. urophylla* e pelo *E. paniculata*.

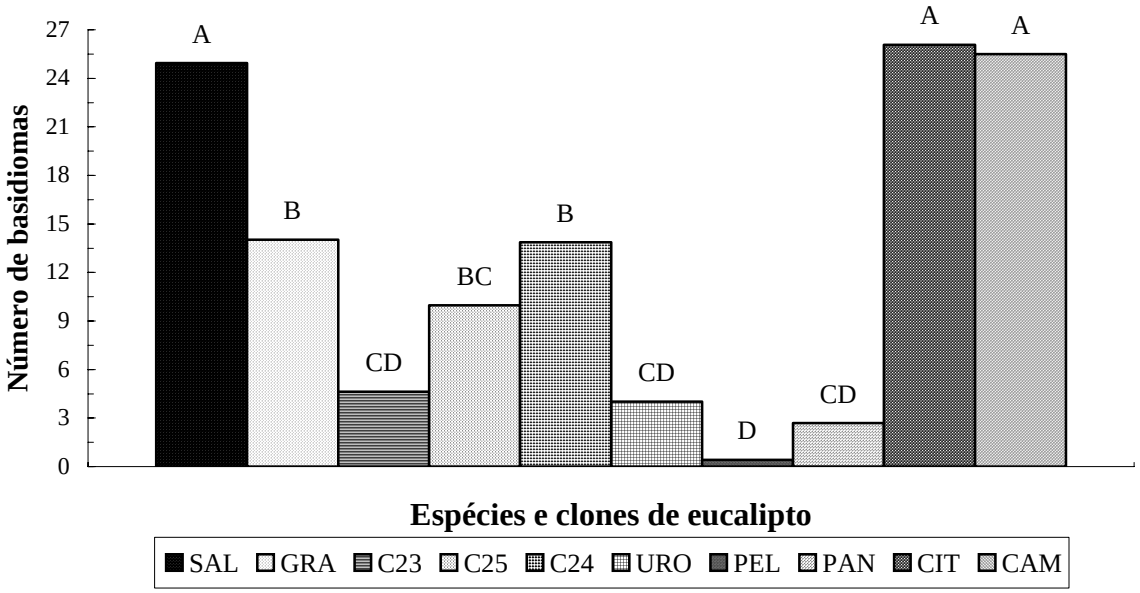

Figura 17. Número de basidiomas da linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, na segunda colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 7,67; CV(%)= 103,96.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 18 é demostrada a comparação do número médio de basidiomas produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, na segunda colheita. Os números de basidomas produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 diferiram entre si dentro do *E. saligna*, *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que em todos os casos a linhagem LE-96/18 resultou na maior média. Já para cada um dos demais tipos de eucaliptos, os números de basidiomas produzidos foram semelhantes entre si, independente da linhagem de *L. edodes* inoculada.

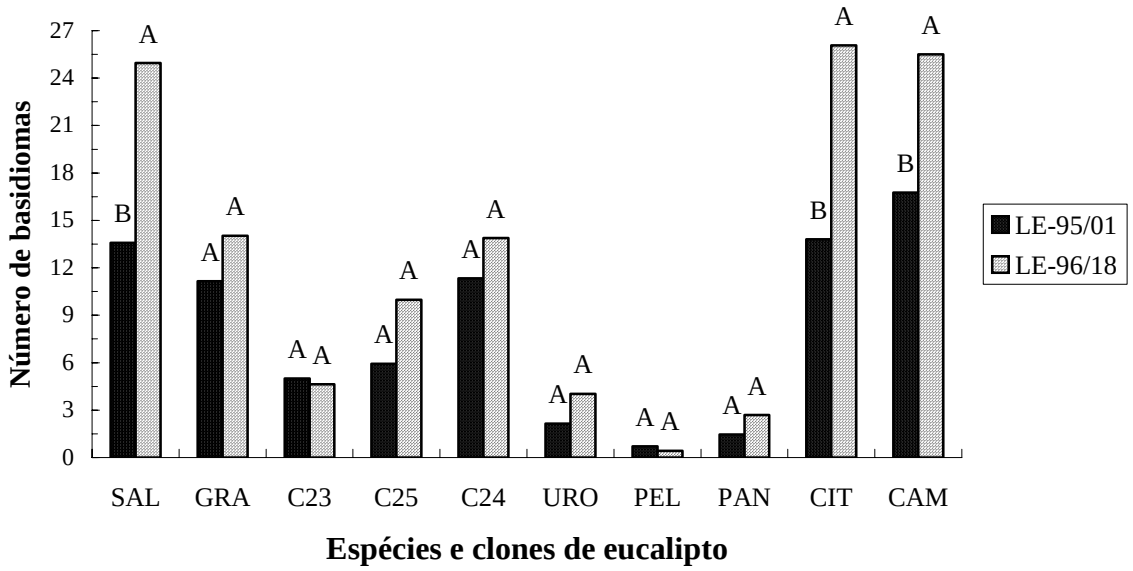

Figura 18. Comparação do número de basidiomas produzidos na segunda colheita pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 6 meses de incubação. Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 4,75; CV(%)= 103,96.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 19 apresenta a comparação da massa média de basidiomas frescos (independente da linhagem de *L. edodes*) em função do tipo de eucalipto utilizado na segunda colheita. O *E. citriodora* resultou na maior média de massa de basidiomas frescos por tora, ou seja, 256,1g (Figura 19). Assim, pode se inferir uma relação entre o crescimento micelial e a produção, em termos de massa de basidiomas frescos, uma vez que o meio de cultura à base de extrato de *E. citriodora* foi o que proporcionou as maiores médias de crescimento micelial tanto para a linhagem LE-95/01 como para a LE-96/18, após 10 dias de desenvolviemento *in vitro* (Tabela 6). Já as menores médias de massa de basiomas frescos foram proporcionadas pelo *E. pellita*, *E. paniculata*, clone 23 e pelo *E. urophylla* (Figura 19).

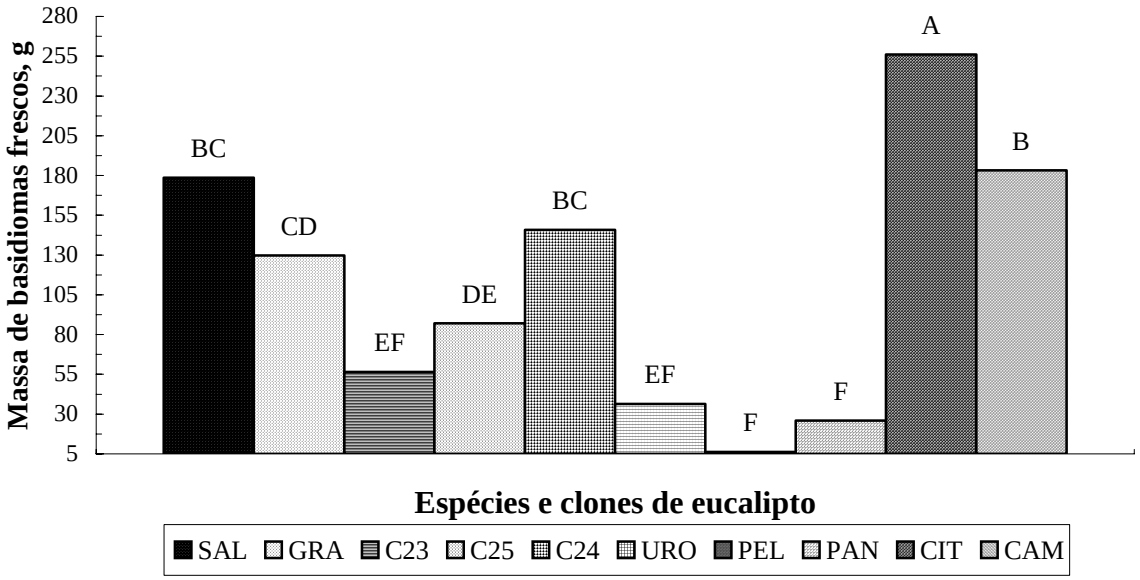

Figura 19. Massa de basidiomas frescos (em gramas) produzida pelo *L. edodes* (independente da linhagem), na segunda colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 52,83; CV(%)= 95,20.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 10, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de número e massa de basidiomas frescos, para os diferentes tipos de eucalipto e linhagem de fungo, na terceira colheita. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para ambas as variáveis.

Tabela 10. Valores de F obtidos na análise de variância de número e massa de basidiomas das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* cultivadas em sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) na terceira colheita, após 10 meses de incubação.

Fator de variação	Número	Massa
Eucalipto (E)	$8,33^{**}$	$10,96^{**}$
Fungo (F)	$2,39^{ns}$	$0,52^{ns}$
E x F	$1,11^{ns}$	$0,47^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

As figuras 20 e 21 ilustram a comparação do número e da massa média de basidiomas frescos produzidos pelo *L. edodes* (independente da linhagem) na terceira colheita em função do tipo de eucalipto utilizado.

Na figura 20, observa-se que o *E. citriodora* e o *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores médias de número de basidiomas na terceira colheita. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. grandis*, clone 23, clone 25, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

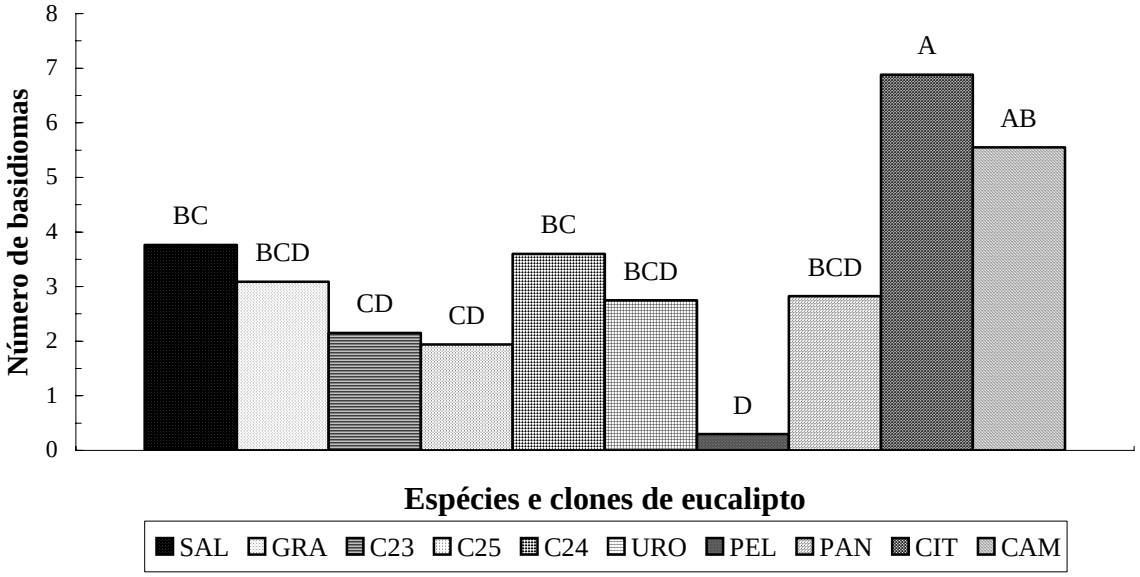

Figura 20. Número de basidiomas produzida pelo *L. edodes* (por ambas as linhagens, LE-95/01 e LE-96/18), na terceira colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 10 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 2,88; CV(%)= 174,82.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 21 observa-se que o *E. citriodora* e o *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores médias de massa de basidiomas frescos na terceira colheita. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23 e no clone 25.

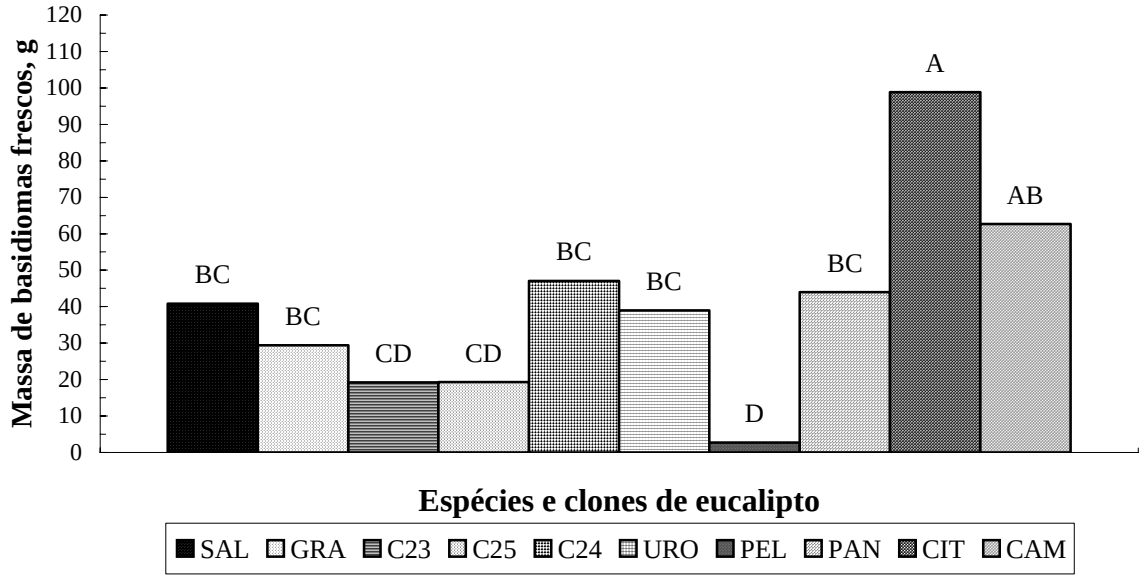

Figura 21. Massa de basidiomas frescos (em gramas) produzida pelo *L. edodes* (independente da linhagem), na terceira colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 10 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 36,17; CV(%)= 178,82.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 11, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de número e massa de basidiomas, para os diferentes tipos de eucalipto e linhagens de fungo, na quarta colheita. Houve efeito apenas do eucalipto para ambas as variáveis.

Tabela 11. Valores de F obtidos na análise de variância de número e massa de basidiomas das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* cultivadas em sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) na quarta colheita, após 12 meses de incubação.

Fator de variação	Número	Massa
Eucalipto (E)	$5{,}93^{**}$	$8{,}10^{**}$
Fungo (F)	$0{,}23^{ns}$	$0{,}06^{ns}$
E x F	$1{,}00^{ns}$	$0{,}74^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 22 e 23 estão ilustradas as comparações do número e da massa média de basidiomas frescos, respectivamente produzidos na quarta colheita por ambas as linhagens de *L. edodes*, LE-95/01 e LE-96/18, em função do tipo de eucalipto utilizado.

Na figura 22, verifica-se que o *E. paniculata* e o *E. urophylla* proporcionaram as maiores médias de número de basidiomas na quarta colheita (independente da linhagem). Média intermediária foi proporcionada pelo *E. citriodora*. Já as menores médias foram obtidas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25 e clone 24, *E. pellita* e no *E. camaldulensis*.

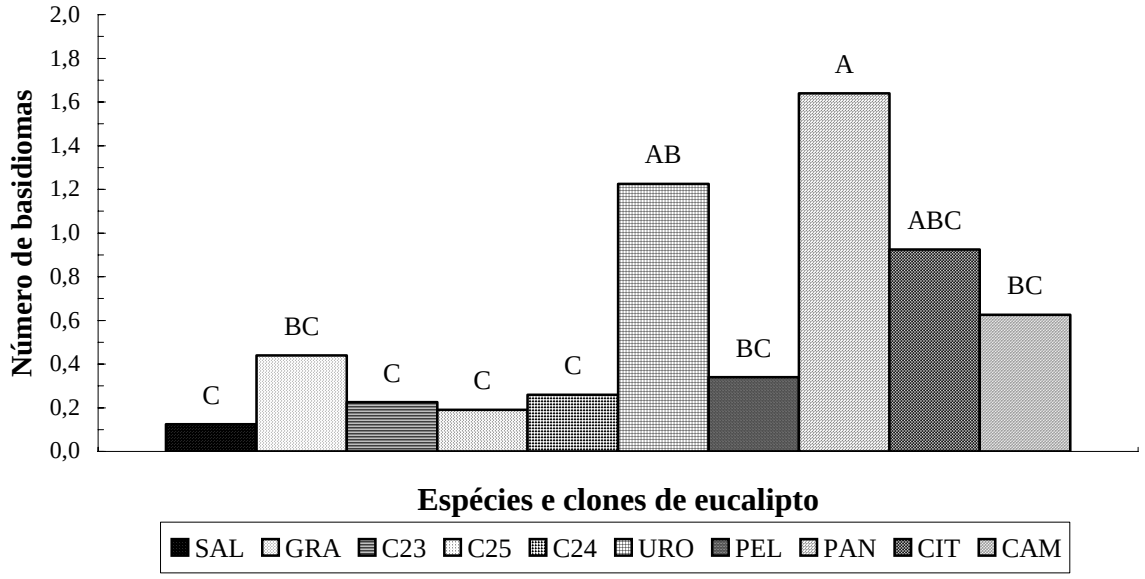

Figura 22. Número de basidiomas produzidos pelo *L. edodes* (independente da linhagem), na quarta colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 12 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,94; CV(%)= 311,40.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Na figura 23, verifica-se que o *E. paniculata* e o *E. urophylla* proporcionaram as maiores médias de massa de basidiomas frescos na quarta colheita (independente da linhagem). Média intermediária foi obtida pelo *E. citriodora*. Já as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25 e clone 24, *E. pellita* e no *E. camaldulensis*.

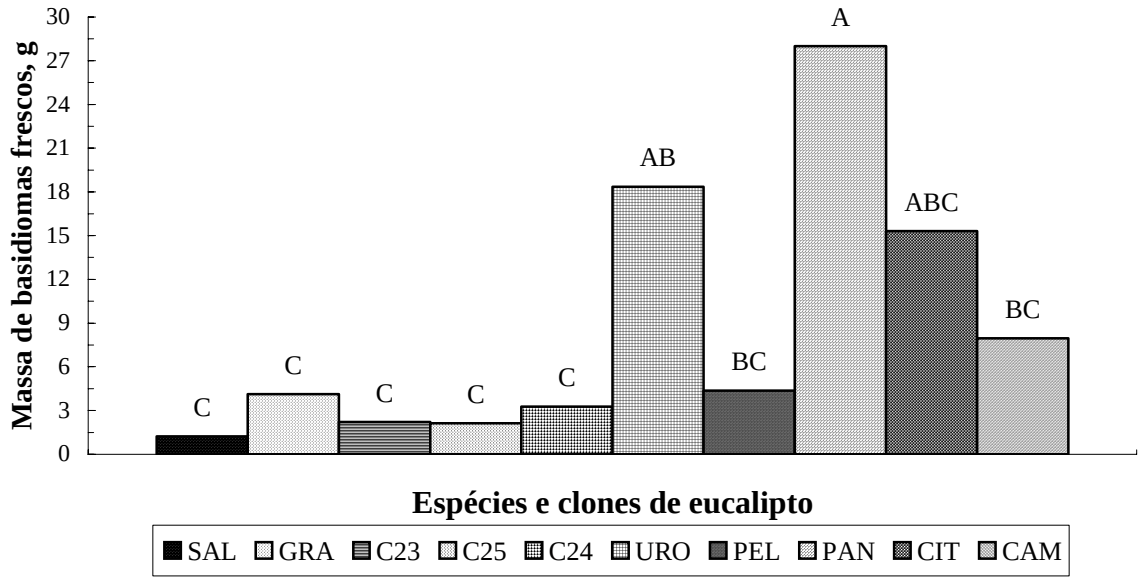

Figura 23. Massa de basidiomas frescos (em gramas) produzida pelo *L. edodes* (independente da linhagem), na quarta colheita, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 12 meses de incubação. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 14,12; CV(%)= 323,58.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

O fato do *E. paniculata* e do *E. urophylla* proporcionarem médias de produção inferiores em relação à maioria dos demais tipos de eucalipto na 1ª e 2ª colheita (Figuras 13, 14 e 19), pode ser um indicativo de que as características físicas e químicas tenham possibilitado um melhor desempenho de produção somente a partir da 3ª colheita (Figura 21) e finalmente, obtendo as maiores médias de produção na 4ª colheita (Figura 23). Rajarathnam e Bano (1992) relatam que a fase de "frutificação" só se concretiza caso a energia acumulada pelo fungo, durante a degradação da madeira, for suficiente para a formação dos basidiomas.

Na tabela 12, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados totais (soma das 4 colheitas) de número e massa de basidiomas, para os diferentes tipos de eucalipto e linhagem de fungo. Para a variável número de basidiomas, houve efeito significativo do eucalipto, do fungo e da interação entre este dois fatores. Já para a variável massa de basidiomas frescos, houve efeito significativo do eucalipto e da interação eucalipto x fungo.

Tabela 12. Valores de F obtidos na análise de variância de número e massa de basidiomas total (referente as 4 colheitas) das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* cultivadas em sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*).

Fator de variação	Número	Massa
Eucalipto (E)	54,15**	50,79**
Fungo (F)	75,71**	3,91ns
E x F	10,59**	2,18*

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 24, 25, 26, 27, 28 e 29 estão ilustradas as médias totais (referente as 4 colheitas) do desdobramento da interação entre tipo de eucalipto x linhagem de fungo para as variáveis número e massa de basidiomas.

Na figura 24, relativa ao número total médio de basidiomas produzidos pela linhagem LE-95/01, observou-se que as maiores médias ocorreram no *E. camaldulensis*, *E. saligna*, *E. grandis*, clone 24 e no *E. citriodora*. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23, clone 25, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

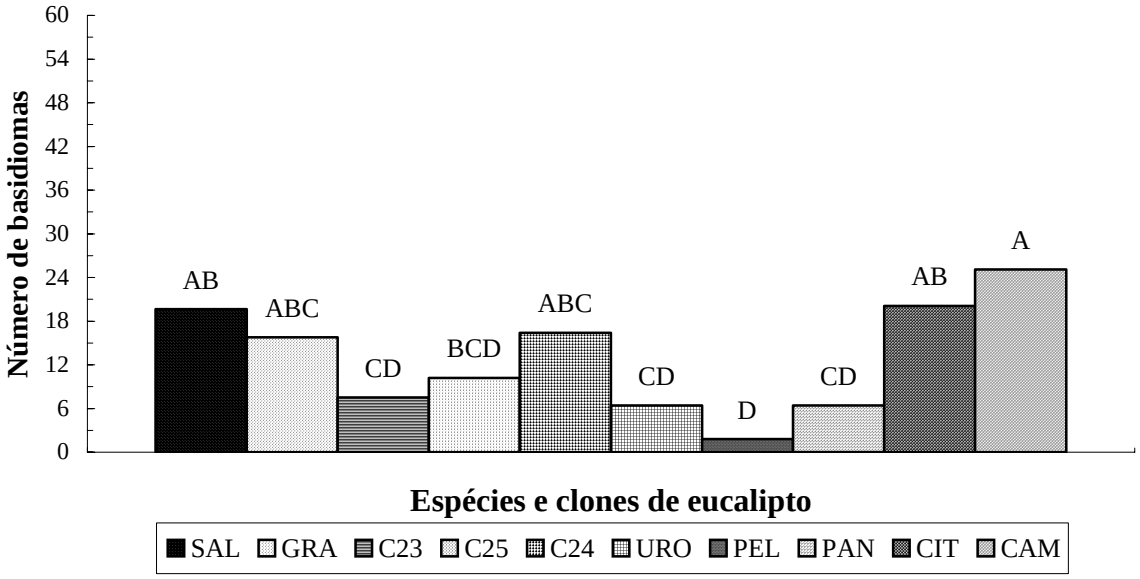

Figura 24. Número total médio de basidiomas da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* durante o ciclo de cultivo (12 meses), cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 11,21; CV(%)= 88,82.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 25, relativa ao número total médio de basidiomas produzidos pela linhagem LE-96/18, a maior média total ocorreu no *E. camaldulensis*. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

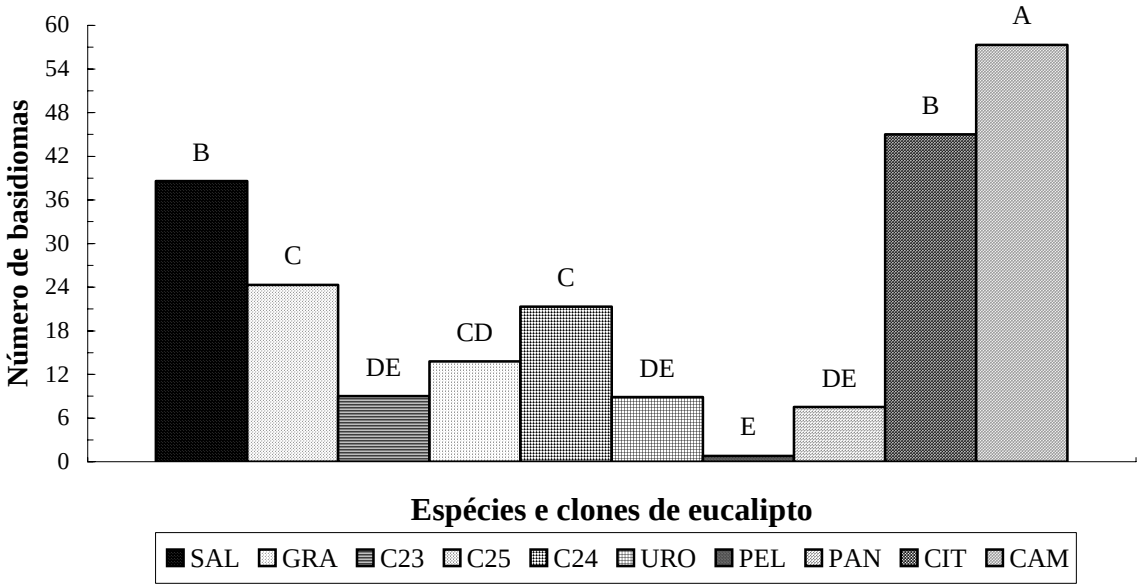

Figura 25. Número total médio de basidiomas da linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, durante o ciclo de cultivo (12 meses), cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 11,21; CV(%)= 88,82.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 26 é demostrada a comparação do número total médio de basidiomas produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto. As médias obtidas pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E grandis*, *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que em todos estes tipos de eucaliptos, a linhagem LE-96/18 resultou na maior média total de número de basidiomas. Já para cada um dos demais tipos de eucaliptos, as médias foram semelhante entre si, independente da linhagem de *L. edodes* inoculada.

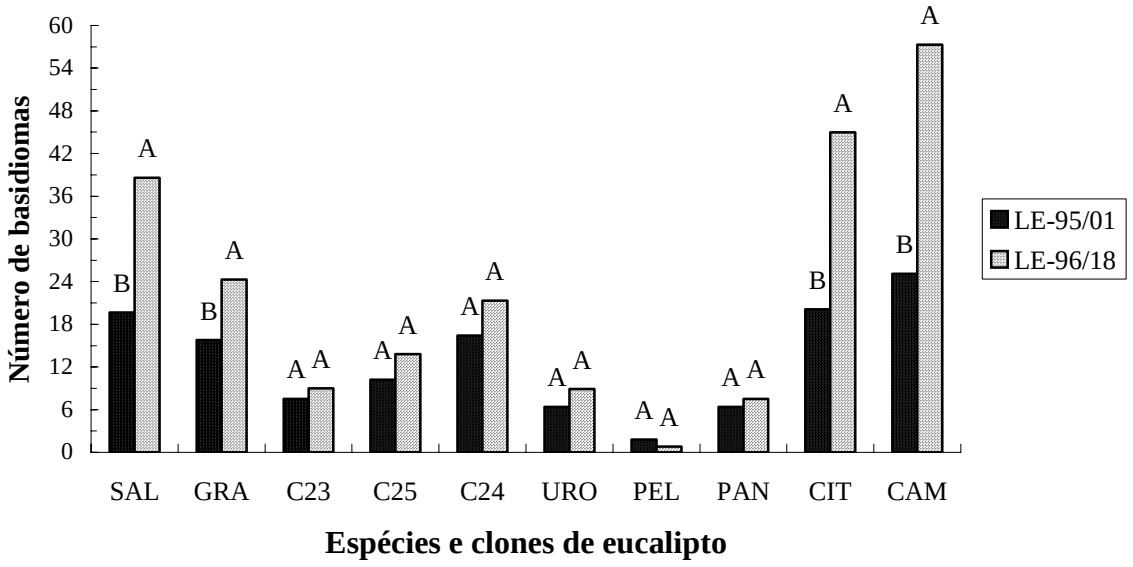

Figura 26. Comparação do número de basidiomas produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, durante o ciclo de cultivo (12 meses), em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 6,93; CV(%)= 88,82.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 27, relativa à massa total média de basidiomas frescos produzidos pela linhagem LE-95/01, as maiores médias ocorreram no *E. citriodora*, *E. saligna* e no *E camaldulensis*. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23, clone 25, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

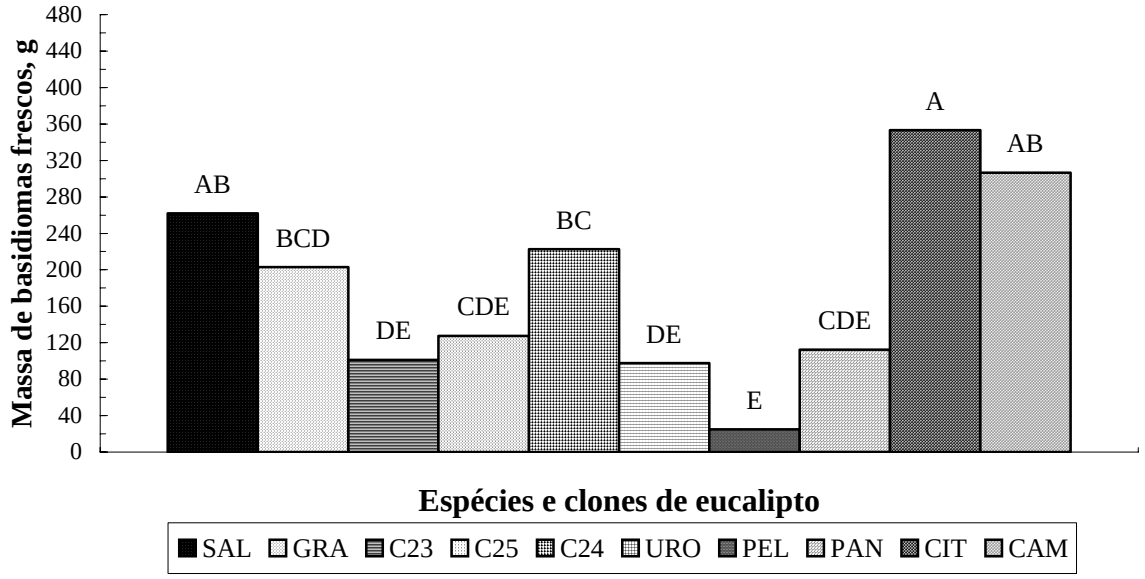

Figura 27. Massa total média de basidiomas frescos (em gramas) produzida pela linhagem LE-95/01 de *L. edodes* durante o ciclo de cultivo (12 meses) em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 114,91; CV(%)= 84,50.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 28, relativa à massa total média de basidiomas frescos produzidos pela linhagem LE-95/01, as maiores médias ocorreram no *E. citriodora* e no *E. camaldulensis*. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

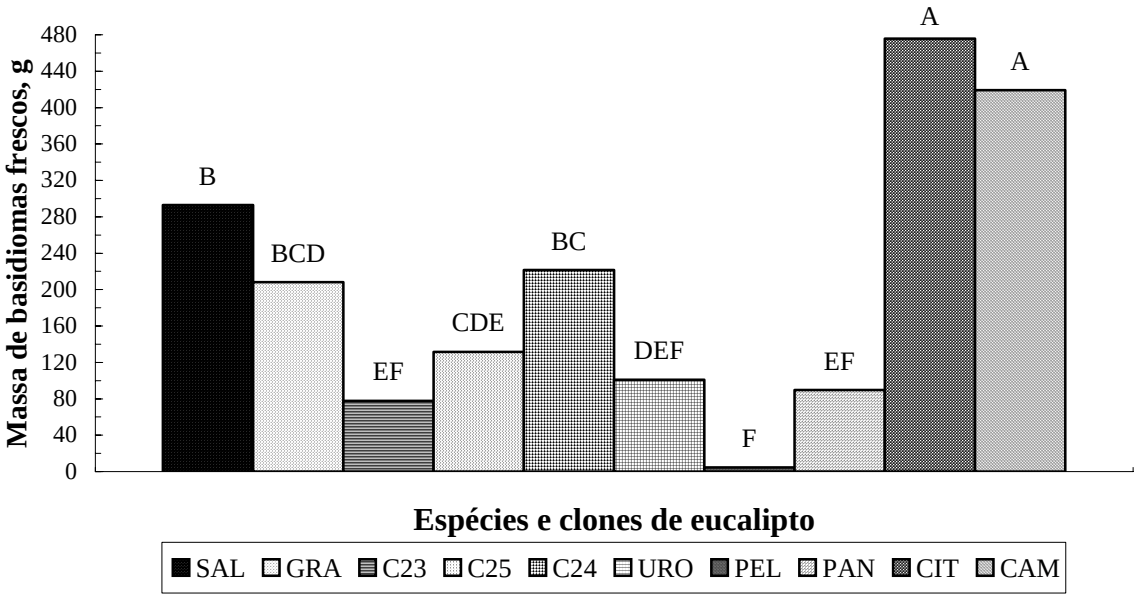

Figura 28. Massa total média de basidiomas frescos (em gramas) produzidos pela linhagem LE-96/18 de *L. edodes* durante o ciclo de cultivo (12 meses) em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 114,91; CV(%)= 84,50.
*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Ao contrário das suspeitas de que o *E. citriodora* poderia prejudicar o desenvolvimento do *L. edodes*, uma vez que possui compostos secundários com atividade antifúngica (SCHWAN-ESTRADA et al., 1997), as toras desta espécie de eucalipto

proporcionaram as maiores médias em termos de massa fresca de basidiomas para as duas linhagens de *L. edodes* testadas. Assim possivelmente, o efeito negativo desta espécie de eucalipto no crescimento fúngico não esteja concentrado na madeira. Sobre isto, Menin et al. (2000) relata que, na presença de serragem do *E. citriodora*, não houve qualquer tipo de inibição do crescimento micelial de *L. edodes*. Por outro lado, o óleo essencial desta mesma espécie de eucalipto inibiu totalmente o crescimento micelial deste fungo.

É importante argumentar que a recomendação de uso de uma determinada linhagem de *L. edodes* e/ou tipo de eucalipto não deve ser generalizada para todas as condições de cultivo existentes, ou seja, existem outros fatores que podem influenciar nos resultados de produção, tais como condições climáticas do ambiente de cultivo e procedência e idade da madeira. Teixeira (2000), avaliando a produção das linhagens JAB L, JAB K, LE-96/17, LE-95/01 e LE-96/22 de *L. edodes* em função da espécie de eucalipto e clima, relata que em regiões de temperaturas elevadas a linhagem LE-95/01 está entre as mais indicadas quando inoculadas em *E. urophylla* ou em *E. saligna.* Já em regiões de temperaturas amenas a linhagem mais indicada, entre as avaliadas, foi a JAB L quando inoculada em totas de *E. urophylla*.

Na figura 29 é demostrada a comparação da massa total média de basidiomas frescos produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, durante o ciclo de cultivo. As médias produzidas pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 diferiram significativamente entre si dentro do *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que nestes casos a linhagem LE-96/18 resultou na maior média de massa fresca de basidiomas (Figura 29). Já para cada um dos demais tipos de eucaliptos, as médias obtidas foram semelhante entre si, independente da linhagem de *L. edodes* inoculada (Figura 29).

A massa total média de basidiomas frescos por tora obtidas pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 quando cultivadas no *E. citriodora* foram 353,1g e 475,7g respectivamente. Já as médias destas mesmas linhagens quando cultivadas no *E. camaldulensis* foram de 306,4g e 419,1g respectivamente. Estes valores estão inferiores ao obtidos por Tarui (1997) que, utilizando a linhagem JAB K, relatou produção total média de 870,31g de basidiomas frescos por tora de *E. saligna.* Estes resultados também são inferiores

aos de Sant'anna (1998), cujo cultivo com a linhagem CCB-48 em três choques de indução, resultou em produção média de 729,7g de basidiomas frescos por tora de *E. urophylla*.

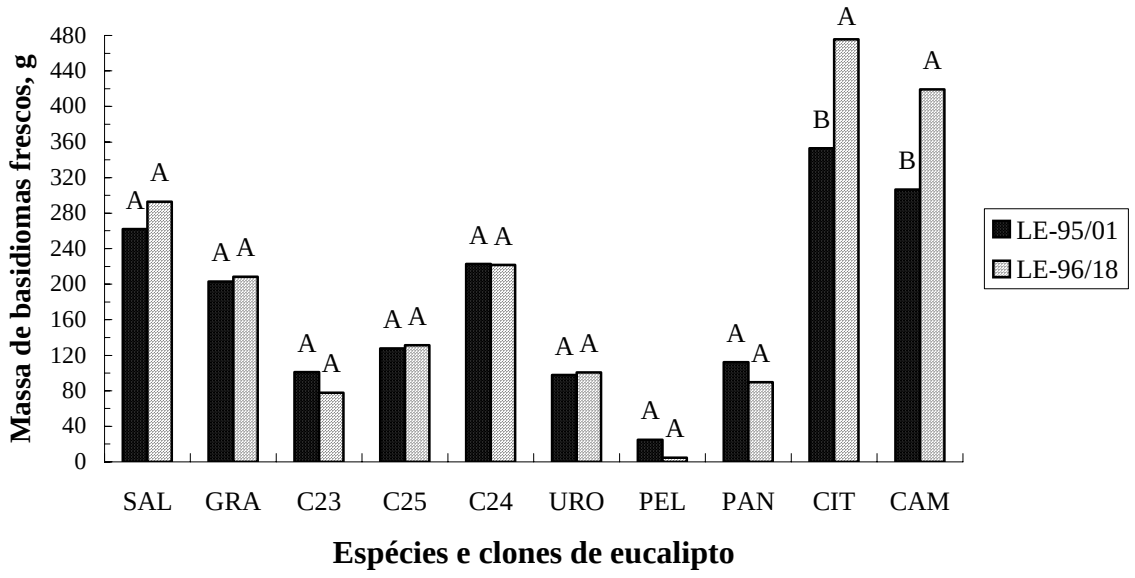

Figura 29. Comparação da massa média total de basidiomas frescos (em gramas) produzidos pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, durante o ciclo de cultivo (12 meses), em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 71,08; CV(%)= 84,50.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

De acordo com Przybylowicz e Donoghue (1990) o tempo de colonização (precocidade) do *L. edodes* varia em função da linhagem. Os resultados do experimento 1, *in vitro*, (Tabela 6) mostra que a linhagem LE-96/18 de *L. edodes* é mais precoce que a linhagem LE-95/01, independente do tipo de eucalipto, possivelmente devido a sua maior eficiência biodegradativa. Assim, ao final do ciclo de cultivo verificou-se que a

linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, em todos os tipos de eucaliptos, ou obteve médias de produção semelhantes ou maiores do que as médias obtidas pela linhagem LE-95/01 (Figuras 26 e 29). Assim, de uma forma geral, a linhagem LE-95/18 é mais favorável para o cultivo de *L. edodes* do que a LE-95/01, levando-se em consideração as condições experimentais a que foram submetidas.

Quanto ao tipo de eucalipto mais recomendado para o cultivo, analisando-se somente os dados de produção referentes à linhagem LE-96/18, verifica-se que o *E. camaldulensis* foi o tipo de eucalipto que proporcionou as maiores médias de número de basidiomas (Figura 25). Já em relação a massa de basidiomas frescos, o *E. citriodora* e o *E. camaldulensis* resultaram nas melhores médias (Figura 28). Estes dados evidenciam que o *E. camaldulensis* obteve um maior número de basidiomas pequenos. Assim, como comumente basidiomas grandes são mais aceitos comercialmente, o tipo de eucalipto mais recomendado para o cultivo é o *E. citriodora*.

Na tabela 13, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de produtividade acumulada ao longo dos fluxos de produção, para os diferentes tipos de eucalipto e linhagem de fungo. No primeiro fluxo de produção houve efeito significativo do tipo de eucalipto, do fungo e da interação entre este dois fatores. Já nos fluxos de produção subsequentes, houve efeito significativo apenas do tipo de eucalipto utilizado.

A escolha dos parâmetros de avaliação é um dos aspectos mais importantes em um trabalho científico. No entanto, para facilitar a comparação de resultados com os já relatados na literatura, os critérios mais frequentemente adotados em pesquisas científicas nem sempre são as mais coerentes. A unidade de representação da produtividade de *L. edodes* ou rendimento de biomassa comumente encontrada na literatura é descrita como a relação da massa úmida de basidiomas por massa seca de substrato, ou ainda a relação da massa úmida de basidiomas por massa úmida de substrato. No entanto, a fim de eliminar-se a variável água e assegurar-se, consequentemente, uma avaliação mais precisa, neste trabalho a produtividade foi descrita com base na matéria seca (massa seca de basidiomas por massa seca de substrato).

Tabela 13. Valores de F obtidos na análise de variância da produtividade acumulada das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* cultivadas em sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones de eucalipto (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*), ao longo dos 4 fluxos de produção.

Fator de variação	Fluxos de produção			
	1	2	3	4
Eucalipto (E)	24,31**	55,89**	49,93**	46,03**
Fungo (F)	32,27**	3,33ns	1,10ns	0,84ns
E x F	7,17**	1,35ns	1,18ns	1,31ns

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 30, 31 e 32 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação tipo de eucalipto x linhagem de fungo para a variável produtividade no primeiro fluxo de produção.

Na figura 30, relativa aos dados médios de produtvidade da linhagem LE-95/01 no primeiro fluxo de produção, as maiores médias de produtividade ocorreram no *E. saligna* e *E camaldulensis*. Médias intermediárias foram obtidas pelo *E. grandis*, clone 23, clone 25 e pelo clone 24. Já as menores médias foram observadas no *E. uropylla*, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. citriodora*.

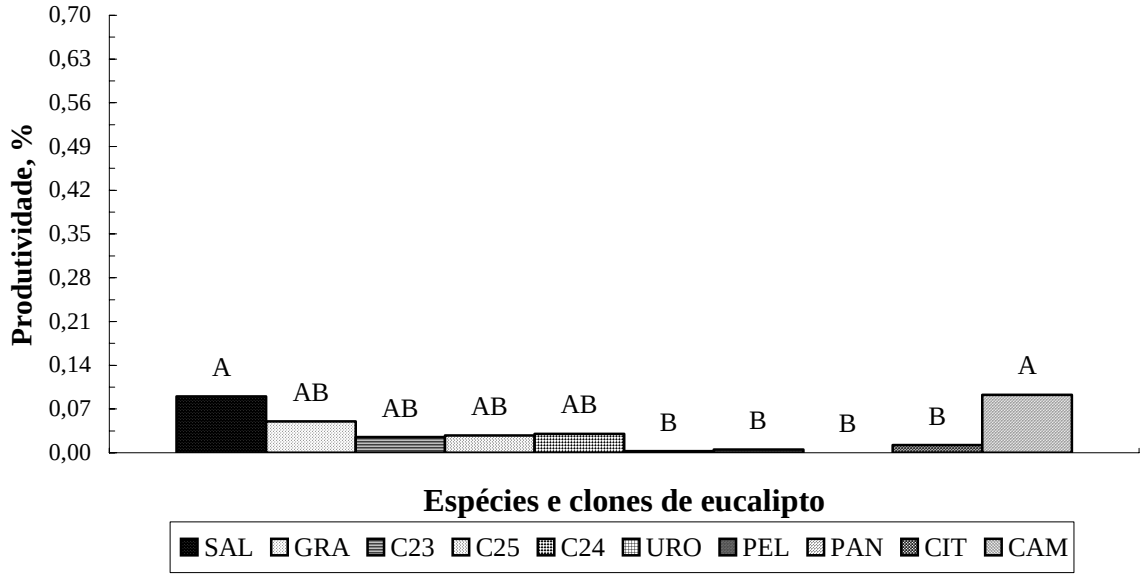

Figura 30. Produtividade (em porcentagem) da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), no primeiro fluxo de produção. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,07; CV(%)= 192,55.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Na figura 31, relativa aos dados médios de produtividade da linhagem LE-96/18 no primeiro fluxo de produção, a maior média ocorreu no *E camaldulensis*. Já as menores médias foram observadas no *E. uropylla*, *E. pellita*, *E. paniculata*, clone 23, clone 25 e no clone 24.

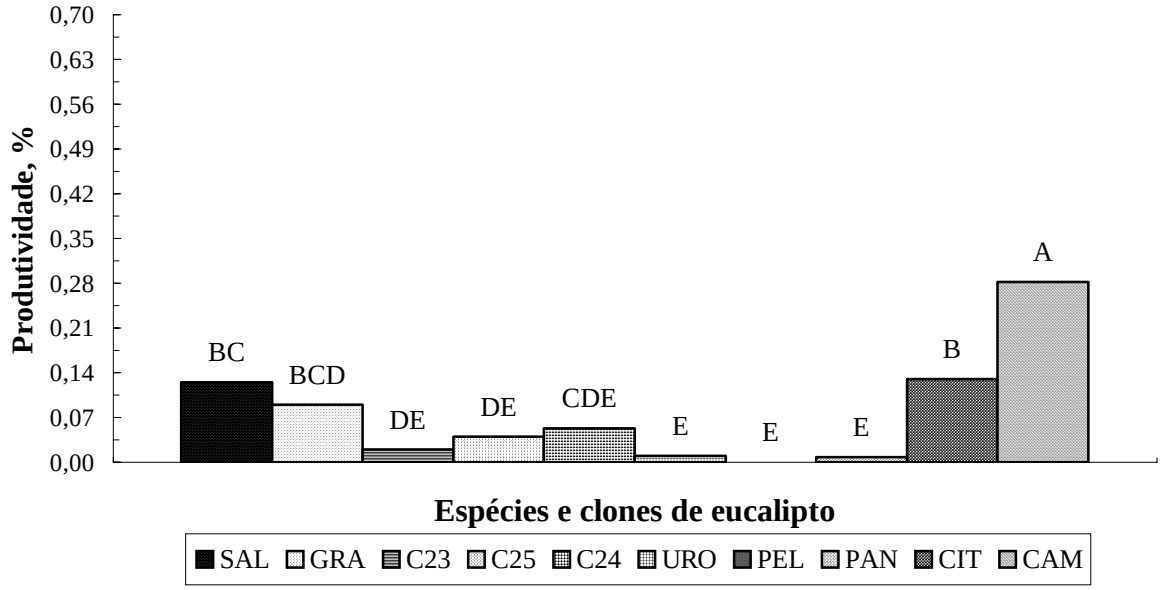

Figura 31. Produtividade (em porcentagem) da linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), no primeiro fluxo de produção. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,07; CV(%)= 192,55.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 32 é ilustrada a comparação das produtividades obtidas pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto. As produtividades obtidas por estas linhagens diferiram significativamente entre si dentro do *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que em todos os casos a linhagem LE-96/18 resultou na maior produtividade. Já para cada um dos demais tipos de eucaliptos, as produtividades obtidas pelas linhagens de *L. edodes* foram semelhantes entre si.

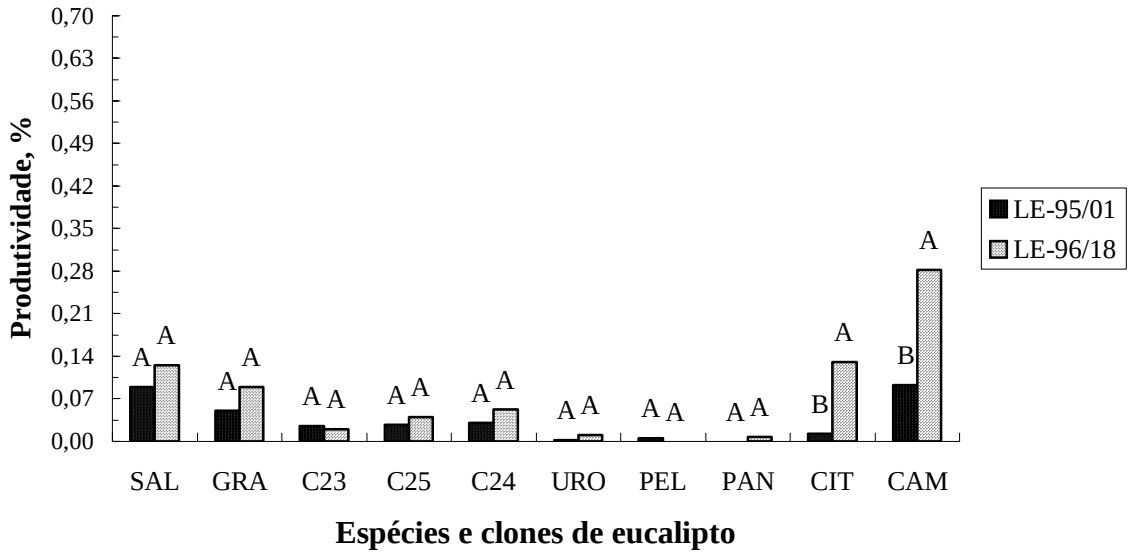

Figura 32. Comparação das produtividades (em porcentagem) obtidas pelas linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) no primeiro fluxo de produção. Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,046; CV(%)= 192,55.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

No *E. citriodora* e no *E. camaldulensis* a linhagem LE-96/18 de *L. edodes* obteve melhor desempenho do que a linhagem LE-95/01 (Figura 32). Resultados semelhantes foram obtidos por Queiroz (2002) que, utilizando toras de *E. saligna*, verificou que a linhagem LE-96/18 obteve maiores médias de produtividade do que a linhagem LE-95/01.

As figuras 33, 34 e 35 apresentam a comparação das médias de produtividade acumulada do *L. edodes* (independente da linhagem) no 2º, 3º e 4º fluxo de produção, respectivamente, em função do tipo de eucalipto.

Na figura 33, considerando o 1º e 2º fluxo de produção, verifica-se que o *E. saligna*, *E. citriodora* e o *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores média de produtividade acumulada do *L. edodes* (independente da linhagem). Já as menores médias foram observadas no *E. urophylla*, *E. pellita* e *E. paniculata* e no clone 23.

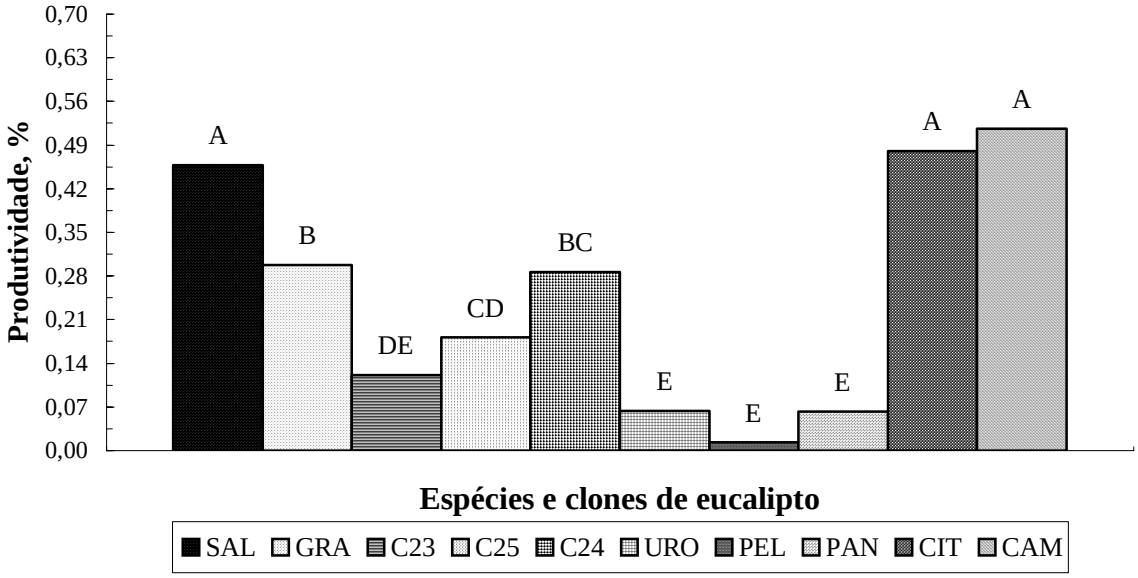

Figura 33. Produtividade acumulada (em porcentagem) do *L. edodes* (independente da linhagem) cultivado em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), nos dois primeiros fluxos de produção. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,11; CV(%)= 90,59.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Na figura 34, considerando o 1º, 2º e 3º fluxos de produção, verifica-se que o *E. saligna*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores médias de produtividade acumulada do *L. edodes* (independente da linhagem). Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

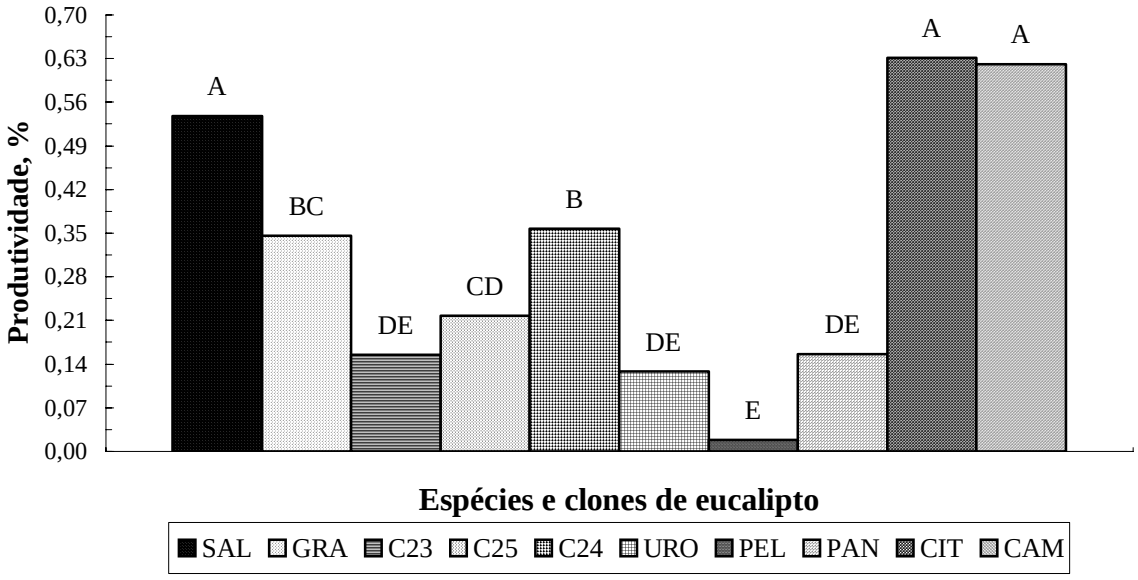

Figura 34. Produtividade acumulada (em porcentagem) do *L. edodes* (independente da linhagem) cultivado em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), nos três primeiros fluxos de produção. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,14; CV(%)= 87,16.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Na figura 35, considerando o 1º, 2º, 3º e 4º fluxos de produção, do *L. edodes* (independente da linhagem), verifica-se que o *E. saligna, E. citriodora* e o *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores médias de produtividade acumulada. Já as menores médias foram observadas no *E. pellita*, clone 23 e no *E. urophylla*.

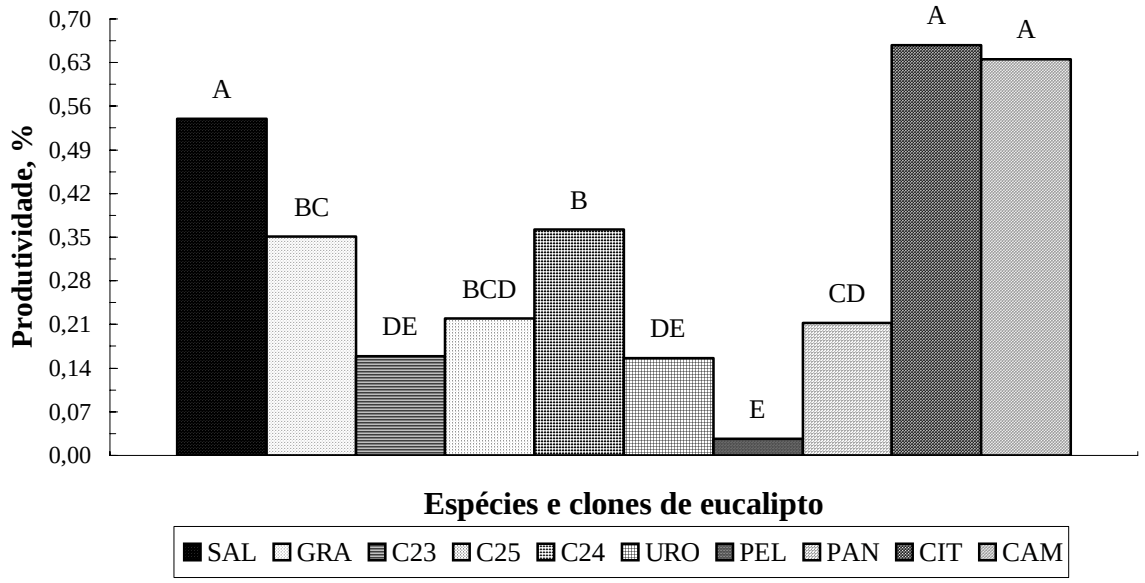

Figura 35. Produtividade acumulada (em porcentagem) do *L. edodes* (independente da linhagem) cultivado em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), nos quatro fluxos de produção. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,14; CV(%)= 86,15.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Nas figuras 33, 34 e 35 observa-se que as maiores médias da produtividade acumulada do *L. edodes* (independente da linhagem) ao longo do 2º, 3º e 4º

fluxo de produção ocorrem em toras de *E. saligna*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis.* Estes resultados diferem dos relatados por Teixeira (2000) que, no experimento instalado em Botucatu/SP, verificou que o *E. urophylla* foi o mais indicado para o cultivo de *L. edodes*, entre três espécies testadas (*E. urophylla, E. grandis* e *E. saligna*). No entanto, é relevante resaltar que esta autora utilizou toras provenientes de árvores com 3 anos de idade, obtidas do município de Luiz Antônio/SP. Já as toras utilizadas no presente experimento foram provenientes de árvores com 8 anos de idade do município de Itatinga/SP. De acordo com Barros (1990), se considerarmos uma mesma espécie de eucalipto, porém cultivadas em solos diferentes, há variações nutricionais na composição da madeira, o que possivelmente justifica as diferenças de produtividade entre o presente trabalho e o de Teixeira (2000).

Na tabela 14, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta dos basidiomas produzidos no 1º fluxo de colheita utilizando diferentes tipos de eucalipto e linhagens de fungo. Verificou-se que todas estas variáveis houve efeito significativo do eucalipto e da interação eucalipto x fungo.

Tabela 14. Valores de F obtidos na análise de variância de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta de basidiomas produzidos no 1º fluxo de colheita de duas linhagens de *L. edodes*, LE-95/01 e LE-96/18, cultivadas em toras de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto.

Fator de variação	Proteína bruta	Extrato etéreo	Cinzas	Fibra bruta
Eucalipto (E)	$7{,}70^{**}$	$5{,}97^{**}$	$2{,}25^{*}$	$32{,}00^{**}$
Fungo (F)	$2{,}52^{ns}$	$0{,}13^{ns}$	$0{,}37^{ns}$	$2{,}35^{ns}$
E x F	$16{,}24^{**}$	$4{,}22^{**}$	$8{,}32^{**}$	$22{,}01^{**}$

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 36, 37 e 38 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação tipo de eucalipto x linhagem de fungo para a variável proteína bruta. Já nas figuras 39, 40 e 41 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação tipo de eucalipto x linhagem de fungo para a variável extrato etéreo.

Na figura 36 observa-se que o teor de proteína bruta na linhagem LE-95/01 variou de 20% a 23,67%, sendo que as maiores médias ocorreram em basidiomas colhidos de toras de *E. grandis*, *E. saligna*, clone 25 e de *E. citriodora*. Já as menores médias foram observadas no clone 23, clone 24, *E. uropylla*, *E. paniculata* e no *E. camaldulensis*. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido à insuficiência de material para análise.

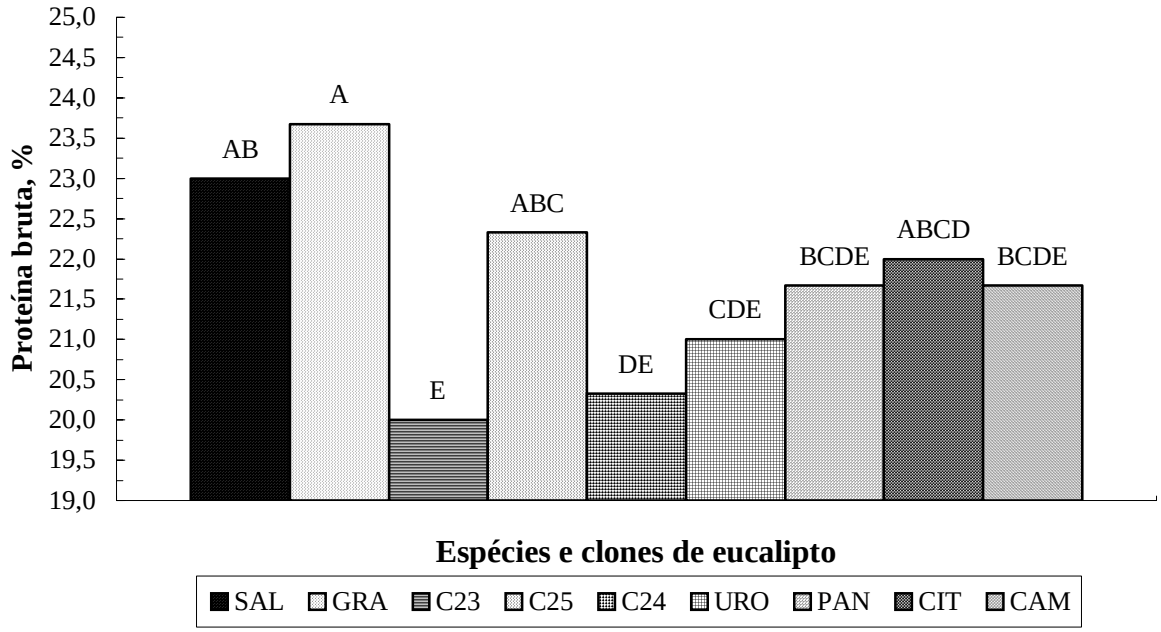

Figura 36. Teor de proteína bruta (em porcentagem) em basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,85; CV(%)= 3,13.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 37 observa-se que o teor de proteína bruta na linhagem LE-96/18 variou de 20,0% a 24,3%, sendo que as maiores médias ocorreram nos basidiomas colhidos de toras de *E. urophylla*, *E. paniculata* e de *E. citriodora*. Já as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24 e no *E. camaldulensis*. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido à insuficiência de material para análise. A boa produtividade proporcionadas nas toras de *E. saligna* e *E. camaldulensis* (Figura 35) não resultou em elevados teores protéicos dos basidiomas colhidos, os quais apresetaram médias de 20,0% e 20,7%, respectivamente. Por outro lado, o *E. urophylla* e o *E. paniculata*, que proporcionaram uma baixa produtividade do *L. edodes* (Figura 35), apresentaram alto teor de proteína bruta, ou seja, 24,3% e 23,7%, respectivamente.

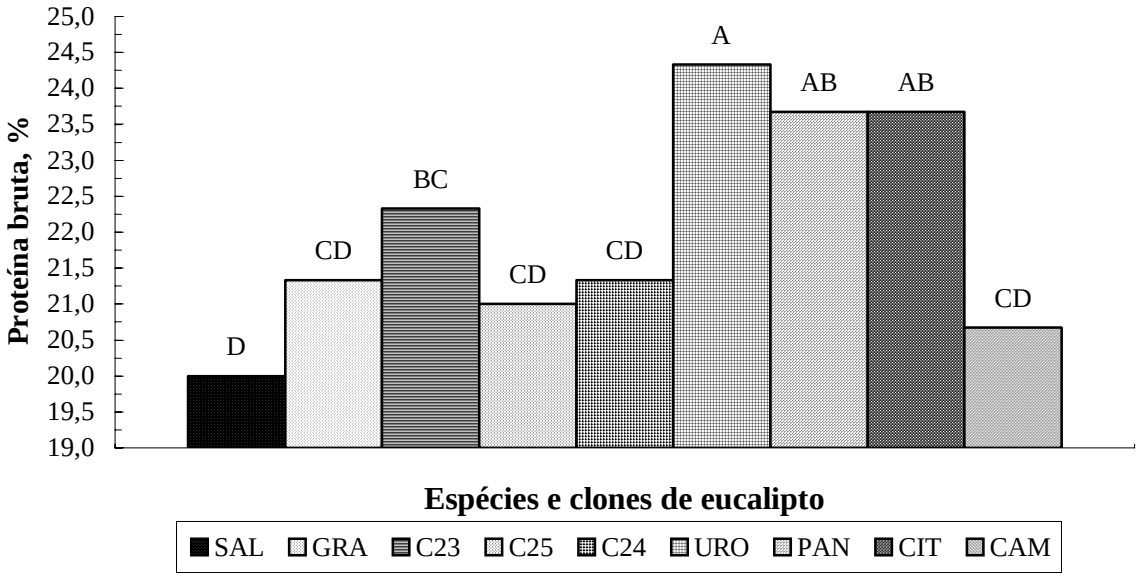

Figura 37. Teor de proteína bruta (em porcentagem) em basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-96/18 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,85; CV(%)= 3,13.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Para a linhagem LE-95/01 de *L. edodes* a melhor média de teor de proteína bruta foi observada em basidiomas coletados de toras de *E. grandis*, ou seja, 23,67% (Figura 36), mas esta não diferiu significativamente dos basidiomas coletados de toras de *E. saligna*, clone 25 e *E. citriodora*. Já para a linhagem LE-96/18 de *L. edodes* a maior média foi observada nos basidiomas coletados de toras de *E. urophylla*, ou seja, 24,33% (Figura 37), a qual não diferiu significativamente do *E. paniculata* e do *E. citriodora*. Maio et al. (2003), estudando a influência da composição do substrato na velocidade de crescimento do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, observaram correlação significativa entre o tipo de substrato e a composição nutricional dos basidiomas.

Na figura 38 é ilustrada a comparação dos teores de proteína bruta de basidiomas colhidos do 1º fluxo de produção, obtidos das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, com exceção do *E. pellita* cuja quantidade de material foi insuficiente. O teor de proteína bruta obtido por estas linhagens diferiu significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. grandi*s, clone 23, clone 25, *E. urophylla*, *E. paniculata* e *E. citriodora*, sendo que para os basidiomas colhidos do *E. saligna*, *E. grandis* e do clone 25 o teor de proteína da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já nos basidiomas colhidos do clone 23, *E. urophylla*, *E. paniculata* e *E. citriodora* o teor de proteína bruta da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Finalmente para o clone 24 e *E. camaldulensis* o teor de proteína bruta obtido pelas linhagens de *L. edodes* foram semelhantes entre si.

A maioria dos eucaliptos analisados (com exceção do clone 24 e do *E. camaldulensis*) proporcionaram teores de proteína bruta distintos nos basidiomas, em função da linhagem de *L. edodes* (Figura 38). Nos resultados obtidos por Crisan e Sands (1978), o conteúdo de proteína bruta do *L. edodes* variou de 10 % a 17,5 %, enquanto Yang et al. (2002) encontrou 19,7 % e Mizuno (1995) 22,7%. No presente trabalho, o teor de proteína bruta variou de 20% a 24,33% (Figura 38).

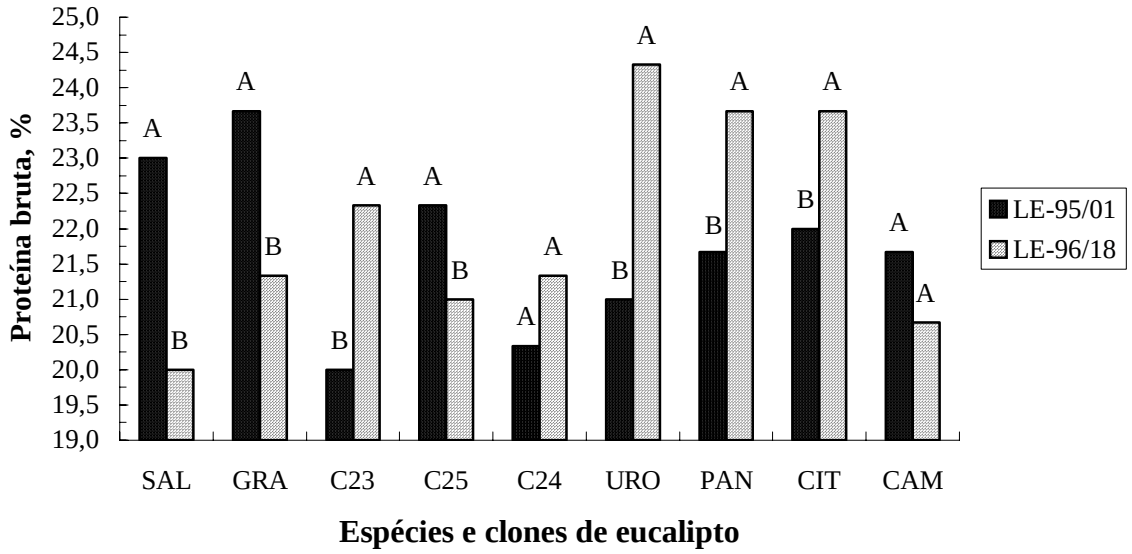

Figura 38. Comparação do teor de proteína bruta (em porcentagem) de basidiomas, colhidos do 1º fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, quando cultivados em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,14; CV(%)= 3,13.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 39 relativa à linhagem LE-95/01, observou-se que a procedência dos basidiomas, ou seja, o tipo de eucalipto de onde foram cultivados não resultou em diferenças significativas no teor de extrato etéreo. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados devido à insuficiência de material.

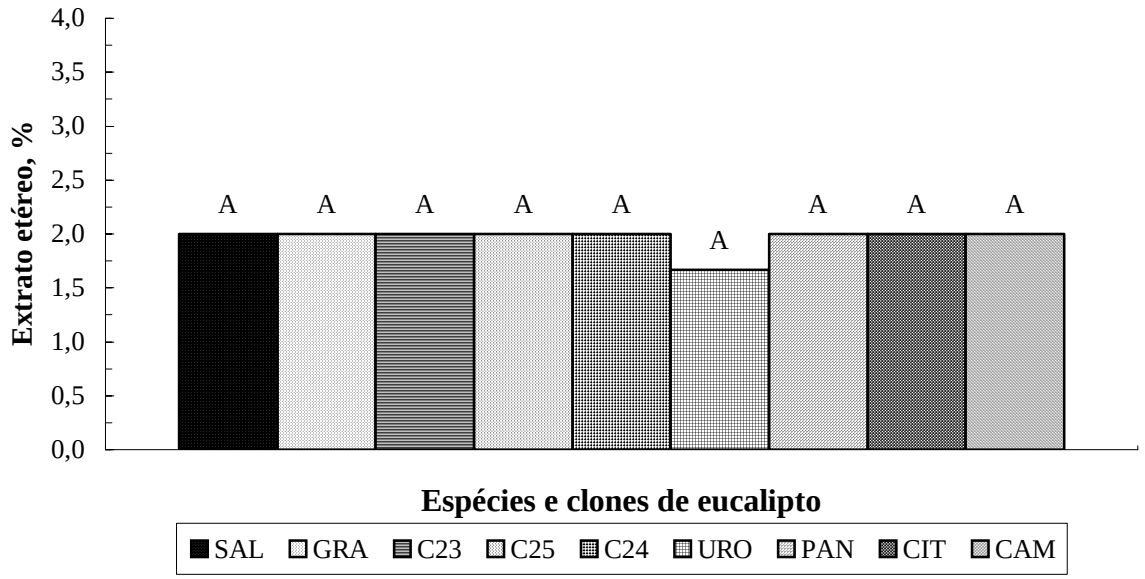

Figura 39. Teor de extrato etéreo (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,02; CV(%)= 19,06.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 40, relativa à linhagem LE-96/18, a maior média de extrato etéreo ocorreu em basidiomas colhidos de toras do clone 23, *E. saligna*, clone 25, e do *E. citriodora*. Médias intermediárias foram obtidas pelo *E. grandis* e pelo clone 24. Já as menores médias foram proporcionadas pelo *E. urophylla*, *E. paniculata* e pelo *E. camaldulensis*. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido à insuficiência de material.

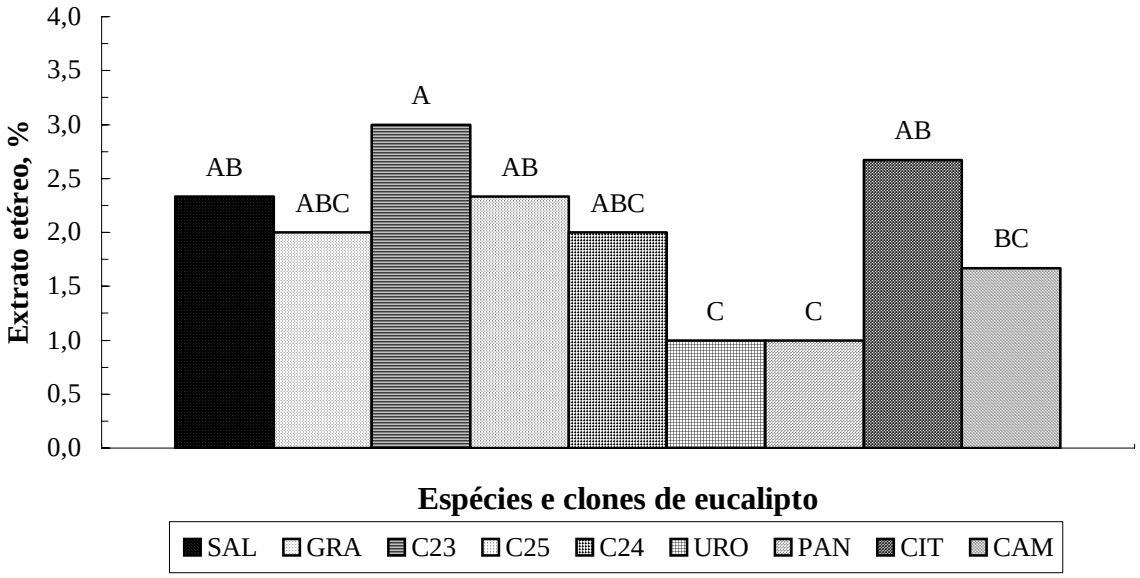

Figura 40. Teor de extrato etéreo (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-96/18 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,02; CV(%)= 19,06.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 41 é ilustrada a comparação das médias do teor de extrato etéreo em basidiomas colhidos do 1º fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes,* em cada tipo de eucalipto, com exceção do *E. pellita* cuja quantidade de material foi insuficiente. O teor de extrato etéreo obtido por estas linhagens diferiu significativamente entre si dentro do clone 23, *E. urophylla*, *E. paniculata* e *E. citriodora*, sendo que para os basidiomas colhidos do *E. urophylla* e *E. paniculata* o teor de extrato etéreo da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já nos basidiomas colhidos do clone 23 e *E. citriodora* o teor de extrato etéreo da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Finalmente para o *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24 e *E. camaldulensis* o teor de extrato etéreo obtido pelas linhagens de *L. edodes* foram semelhantes entre si.

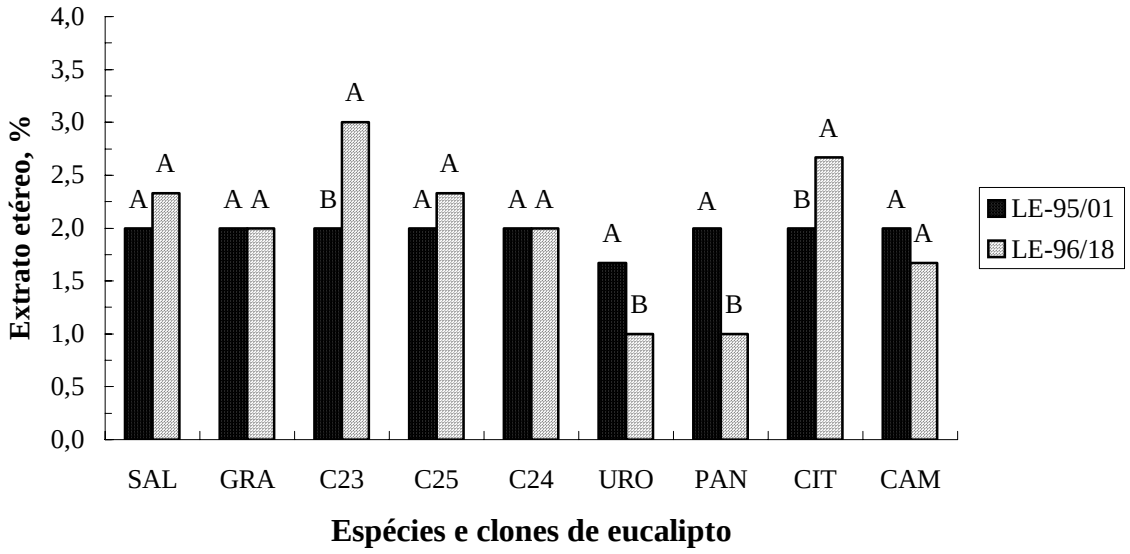

Figura 41. Comparação do teor de extrato etéreo (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* quando cultivadas em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,63; CV(%)= 19,06.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Nas figuras 42, 43 e 44 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação tipo de eucalipto x linhagem de fungo para a variável cinzas.

Na figura 42, verifica-se que o teor de cinzas da linhagem LE-95/01 variou de 3% a 5%. As maiores médias ocorreram nos basidiomas colhidos de toras do *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 24 e do *E. citriodora*. Médias intermediárias foram obtidas pelo clone 25, *E. urophylla* e pelo *E. camaldulensis*. Finalmente, a menor média foi observada no *E. paniculata*. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido a insuficiência de material.

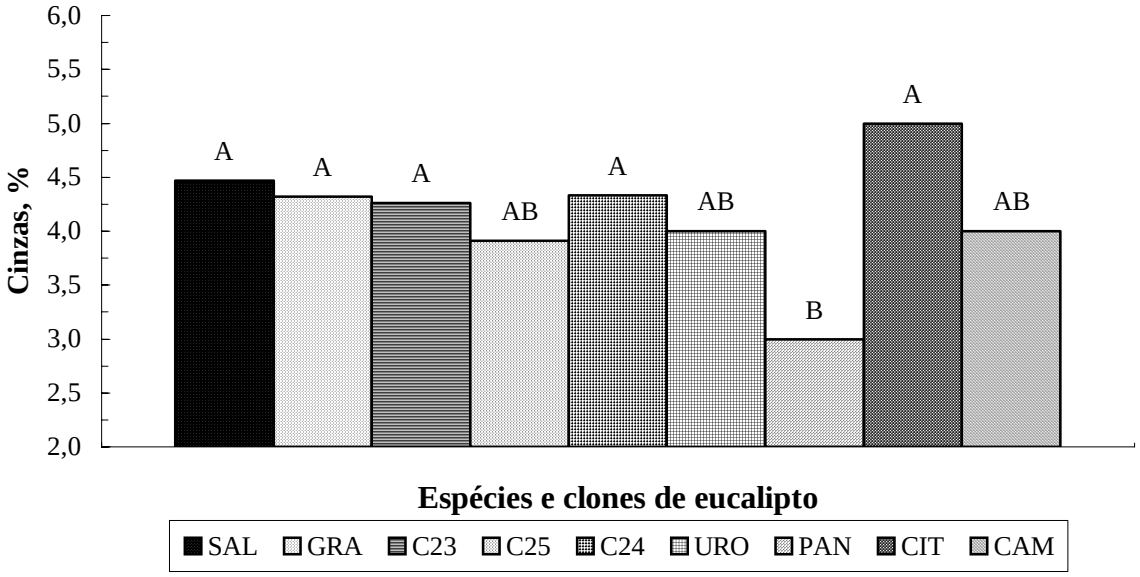

Figura 42. Teor de cinzas (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,16; CV(%)= 10,42.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 43, verifica-se que o teor de cinzas da linhagem LE-96/18 variou de 3,3% a 5%. As maiores médias ocorreram nos basidiomas colhidos de toras de *E. paniculata* e de *E. camaldulensis*. Médias intermediárias foram obtidas pelo *E. saligna*, *E. urophylla* e pelo *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, clone 25 e no clone 24. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido a insuficiência de material.

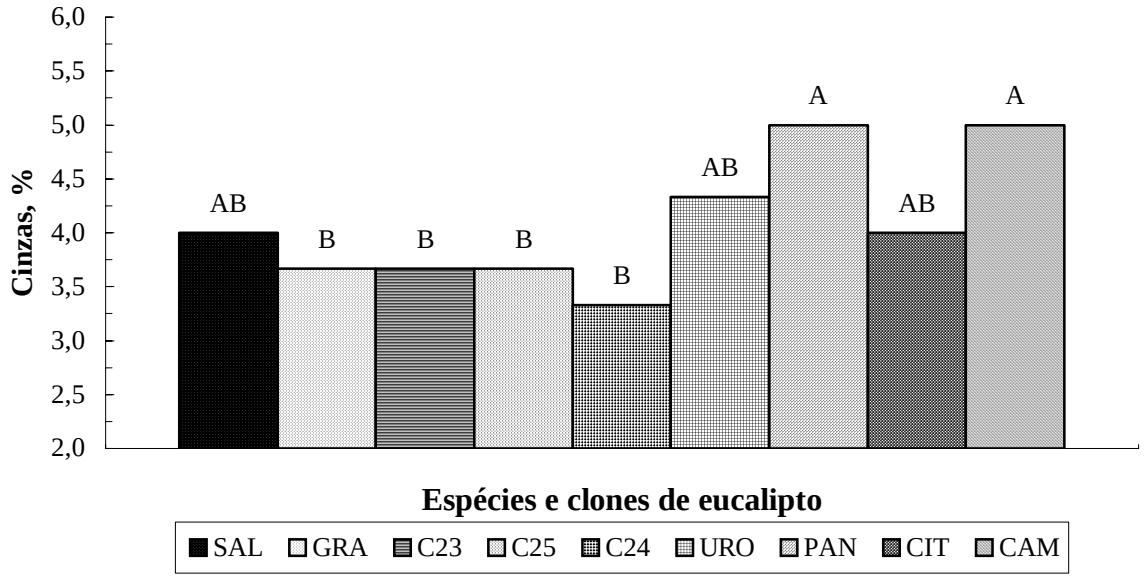

Figura 43. Teor de cinzas (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-96/18 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,16; CV(%)= 10,42.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 44 é ilustrada a comparação das médias do teor de cinzas nos basidiomas, colhidos do 1º fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, com exceção do *E. pellita* cuja quantidade de material foi insuficiente. Verificou-se que o teor de cinzas obtida por estas linhagens diferiu significativamente entre si dentro do clone 24, *E. paniculata*, *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que para os basidiomas colhidos do clone 24 e *E. citriodora* o teor de cinzas da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já nos basidiomas colhidos do *E. paniculata* e do *E. camaldulensis* o teor de cinzas da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Finalmente para cada um dos demais tipos de eucalipto, ou seja, *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25 e *E. urophylla* o teor de cinzas obtido pelas linhagens de *L. edodes* foram semelhantes entre si.

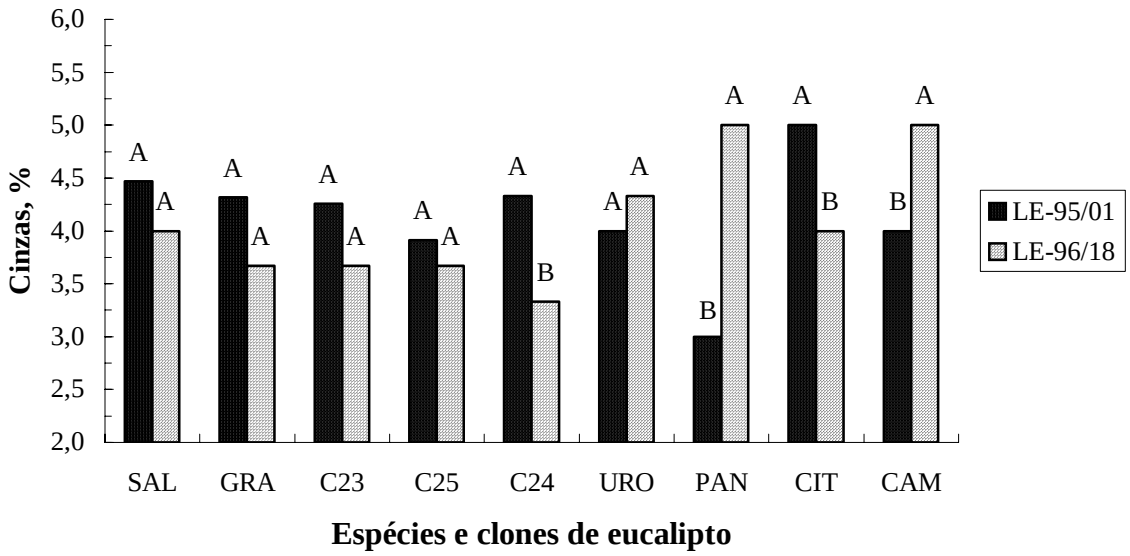

Figura 44. Comparação do teor de cinzas (em porcentagem) nos basidiomas, colhidos do 1º fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* quando cultivadas em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,71; CV(%)= 10,42.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Nas figuras 45, 46 e 47 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação tipo de eucalipto x linhagem de fungo para a variável fibra bruta.

Na figura 45, verifica-se que o teor de fibra bruta da linhagem LE-95/01 variou de 6,35% a 20,5%. A maior média ocorreu nos basidiomas colhidos de toras do *E. paniculata*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25 e no *E. camaldulensis*. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido a insuficiência de material.

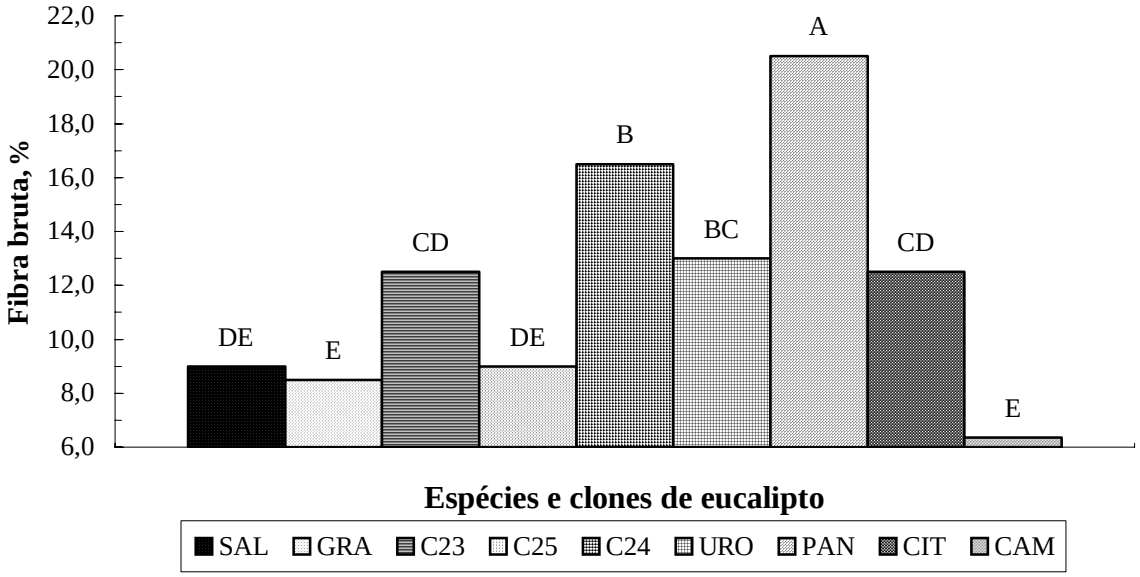

Figura 45. Teor de fibra bruta (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 3,57; CV(%)= 8,26.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 46, verifica-se que o teor de fibra bruta da linhagem LE-96/18 variou de 16,5% a 8,5%. As maiores médias de fibra bruta ocorreram nos basidiomas colhidos de toras do *E. saligna*, *E. paniculata*, *E. grandis*, clone 25 e do clone 24. Por outro lado, as menores médias foram observadas nos basidiomas colhidos do *E. urophylla*, *E. citriodora*, clone 23 e do *E. camaldulensis*. É importante destacar que os basidiomas coletados de toras de *E. pellita* não foram analisados, devido a insuficiência de material.

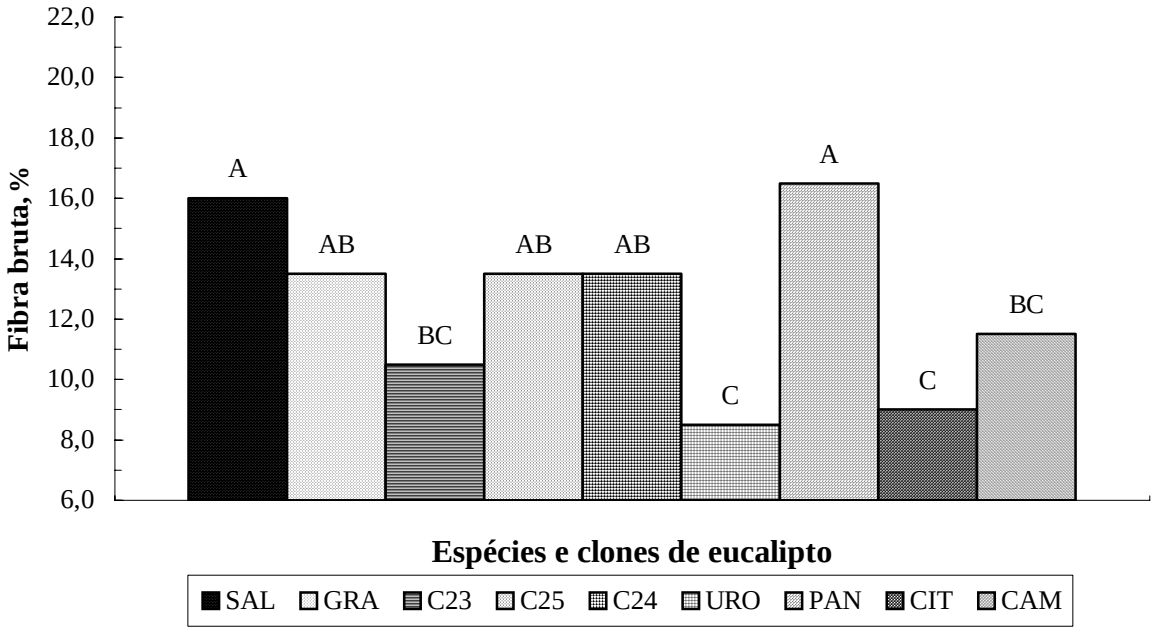

Figura 46. Teor de fibra bruta (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, da linhagem LE-96/18 de *L. edodes* cultivada em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 3,57; CV(%)= 8,26.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 47 é ilustrada a comparação das médias do teor de fibra bruta em basidiomas obtidos no 1º fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-

96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, com exceção do *E. pellita*, cuja quantidade de material para análise foi insuficiente. O teor de fibra bruta obtido pelos basidiomas destas linhagens diferiu significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. paniculata*, *E. citriodora* e do *E. camaldulensis*, sendo que para os basidiomas colhidos do *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25 e *E. camaldulensis* o teor de fibra bruta da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já nos basidiomas colhidos do clone 24, *E. urophylla*, *E. paniculata* e *E. citriodora* o teor de fibra bruta da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Finalmente para o clone 23 o teor de fibra bruta obtido pelas linhagens de *L. edodes* foram semelhantes entre si. Shibata e Demiate (2003), avaliando a composição química do cogumelo *Agaricus blazei*, identificaram diferenças nutricionais entre as duas linhagens de *A. blazei* e que a linhagem AbM é mais rica em fibras e minerais, enquanto que a linhagem Jun-17 apresenta teor mais elevado de carboidratos.

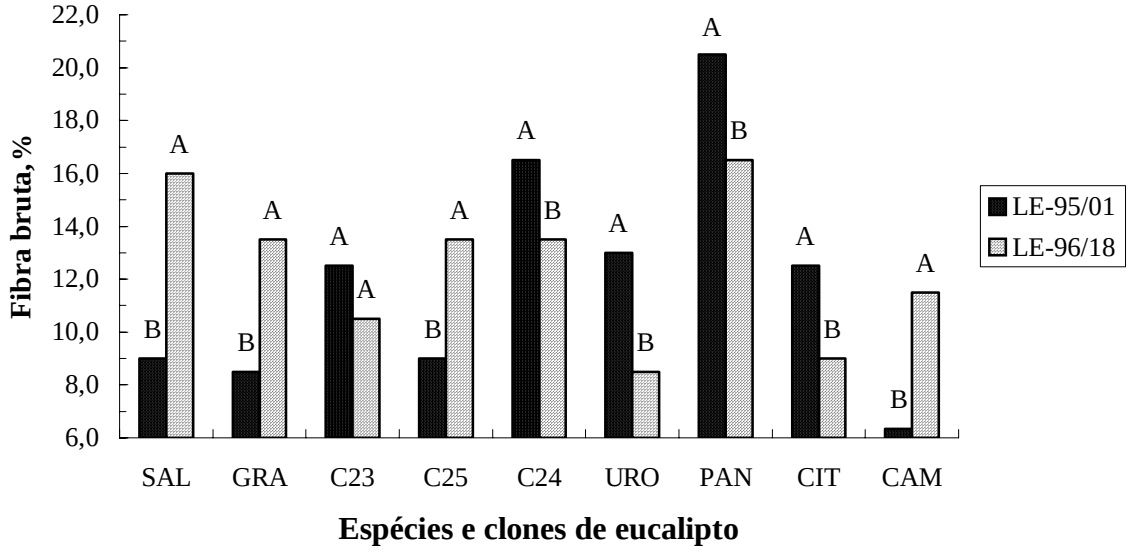

Figura 47. Comparação do teor de fibra bruta (em porcentagem) de basidiomas, colhidos no 1º. fluxo de produção, entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* quando cultivadas em toras de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM). Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 2,13; CV(%)= 8,26.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

EXPERIMENTO 4 - Avaliação de propriedades físicas e químicas de toras de sete espécies e três clones de eucalipto antes e durante o cultivo de duas linhagens de *Lentinula edodes*.

A figura 48 ilustra a comparação de médias de densidade básica da madeira, sem a casca, de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no *E. paniculata* e *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis* e no *E. saligna*.

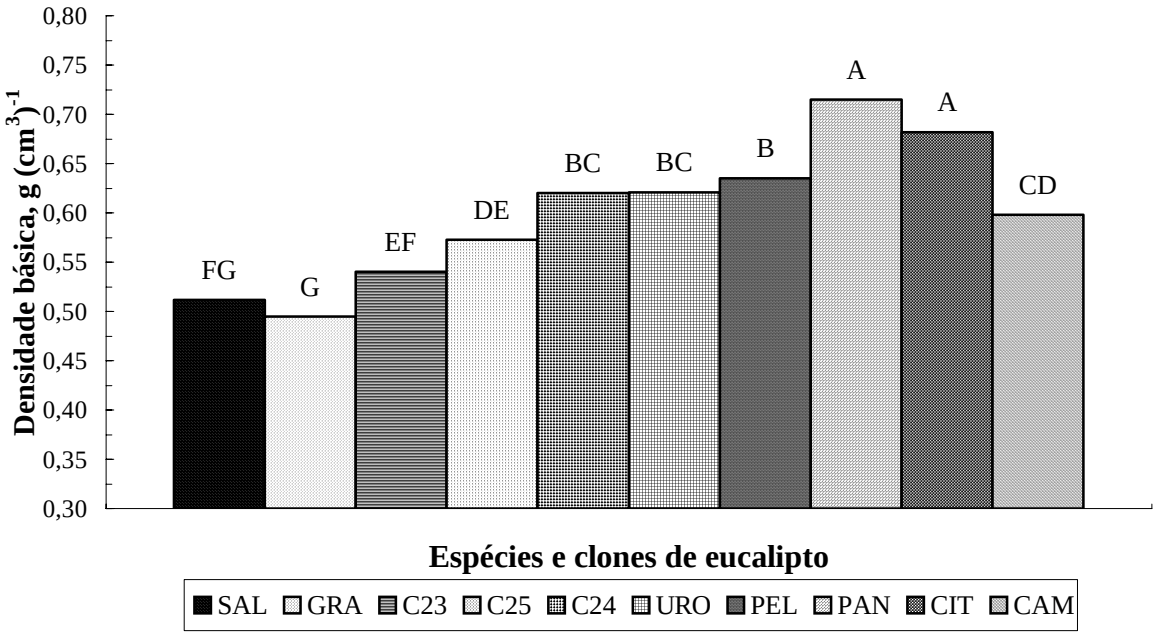

Figura 48. Densidade básida da madeira sem a casca [g(cm^3)$^{-1}$] de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS= 0,04; CV(%)= 5,72.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 49 ilustra a comparação de médias de densidade básica da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. A maior média foi observada no *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. saligna*, clone 23, clone 25, *E. urophylla* e no *E. paniculata*.

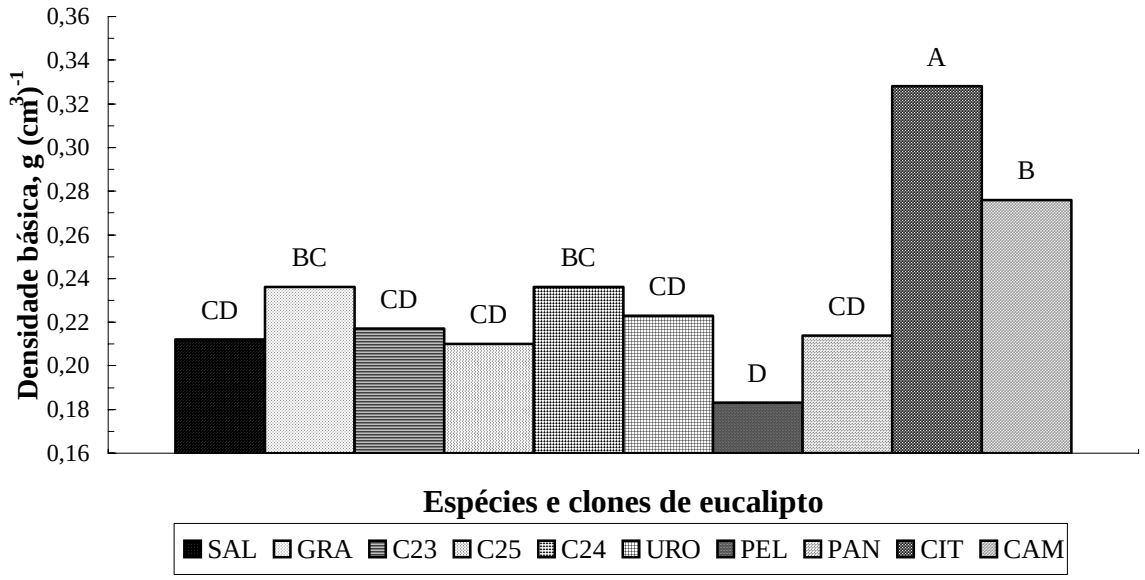

Figura 49. Densidade básida da casca [g(cm^3)$^{-1}$] de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS= 0,04; CV(%)= 9,48. *Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

O estudo da densidade básica da madeira e da casca de eucalipto já vem sendo feito por vários pesquisadores (FOELKEL, 1974; GONZAGA et al., 1983). Verifica-se no presente trabalho que as maiores médias de densidade básica da madeira (sem

casca) foram obtidos pelas espécies *E. paniculata* e *E. citriodora*, ou seja, 0,715 e 0,682 g/cm^3 respectivamente (Figura 48). Médias semelhantes foram obtidos Foelkel et al. (1975) que, realizando estudo comparativo das madeiras de *E. saligna*, *E. paniculata*, *E. citriodora*, *E. maculata* e *E. tereticornis* para produção de celulose Kraft, obtiveram médias de densidade básica para *E. paniculata* com 6 e 10 anos entre 0,680 a 0,721 g/cm^3 e para o *E. citriodora* com 7 e 13 anos de 0,637 a 0,738 g/cm^3. Já na figura 49 observa-se que a maior média de densidade de casca foi obtida pelo *E. citriodora*, ou seja, 0,328 g/cm^3, cuja média está de acordo com Miranda e Barrichelo (1991), os quais obtiveram média de 0,363 g/cm^3 em cascas de *E. citriodora* com 6 anos de idade.

Teixeira (2000) verificou que há influência das características físicas da madeira na produção do *L. edodes*. Ainda de acordo com a mesma autora, entre as espécies *E. urophylla*, *E. saligna* e *E. grandis* a maior produtividade de *L. edodes* foi obtida quando utilizou-se toras de *E. urophylla*, seguido pelo *E. saligna* e pelo *E. grandis*. A média de densidade básica variou também nesta mesma ordem, ou seja, o *E. urophylla* > *E. saligna* > *E. grandis*, evidenciando uma relação entre a densidade básica e a produção do *L. edodes*. No presente estudo, as maiores médias de densidade básica da madeira e casca do *E. citriodora* (Figuras 48 e 49) podem ter sido fatores favoráveis a produção do *L. edodes* (Figura 35). No entanto, é importante destacar que a manifestação do potencial genético de uma linhagem de *L. edodes*, em condições rústicas de cultivo, também é altamente dependente de fatores bióticos e abióticos, conforme já relatado por Montini (1997). Prova disto é o *E. saligna* e o *E. camaldulensis* que, embora tenham tido médias de densidade básica da madeira e casca menor ao do *E. citriodora* (Figuras 48 e 49), proporcionaram médias de produtividade semelhantes ao *E. citriodora* (Figura 35).

Na tabela 15 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de densidade básica da madeira (sem a casca) de dez tipos de toras de eucalipto, após 8 meses de cultivo com as linhagens de *L. edodes*. Houve efeito significativo do eucalipto e da interação eucalipto x fungo. A análise das cascas não foi efetuada neste período devido ao estado deteriorativo de alguns tipos de eucalipto.

Tabela 15. Valores de F obtidos na análise de variância de densidade básica da madeira, sem a casca, de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto, após 8 meses de cultivo com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	Densidade básica
Eucalipto (E)	36,29**
Fungo (F)	2,72ns
E x F	2,79 **

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 50, 51, e 52 estão ilustrados os resultados do desdobramento da interação tipo de eucalipto x linhagem de fungo para a variável densidade básica da madeira (sem a casca), após oito meses de incubação.

A figura 50 mostra a comparação de médias de densidade básica da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. pellita*, *E. urophylla* e no *E. paniculata*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 24 e no *E. camaldulensis*.

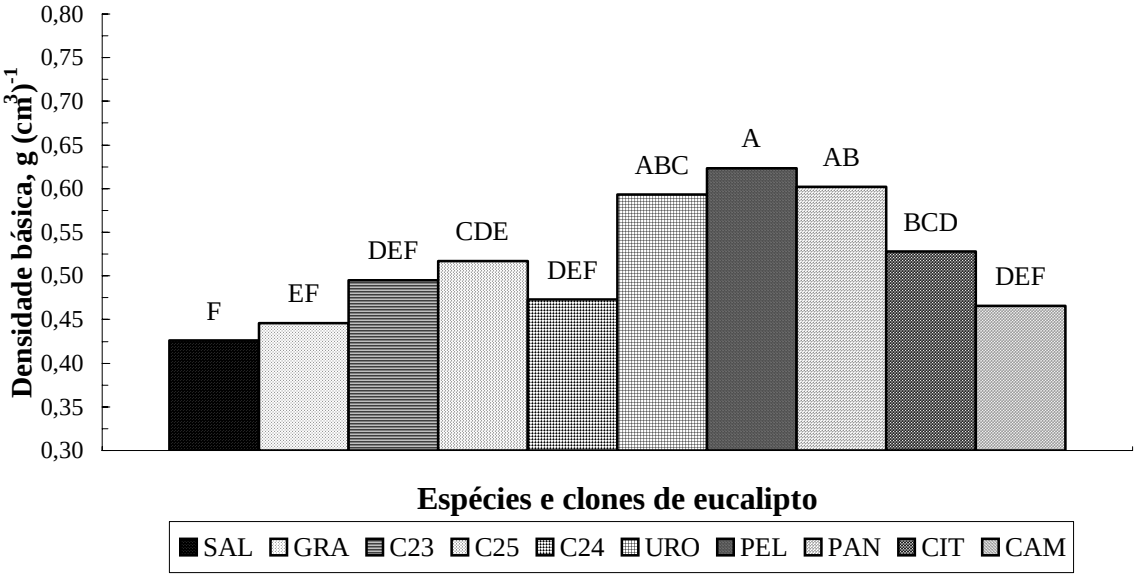

Figura 50. Densidade básida da madeira sem a casca [g(cm^3)$^{-1}$] de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS= 0,079; CV(%)= 10,18.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 51 mostra a comparação de médias de densidade básica da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. paniculata* e no *E. pellita*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis* e no *E. camaldulensis*. Como já discutido anteriormente, a pouca variação dos valores de densidade básica ao longo do ciclo de cultivo pode ser uma evidência de que o substrato foi pouco degradado pelo fungo e, consequentemente, isto comumente resulta em uma menor produtividade do *L. edodes* ao final do ciclo de cultivo, conforme pode ser observado na figura 35 quando utilizou-se no cultivo de *L. edodes* toras de *E. urophylla*, *E. pellita* e de *E. paniculata*. É claro que a densidade básica da madeira é apenas um dos muitos fatores que podem interferir na produtividade do *L. edodes* e não deve ser analisada isoladamente.

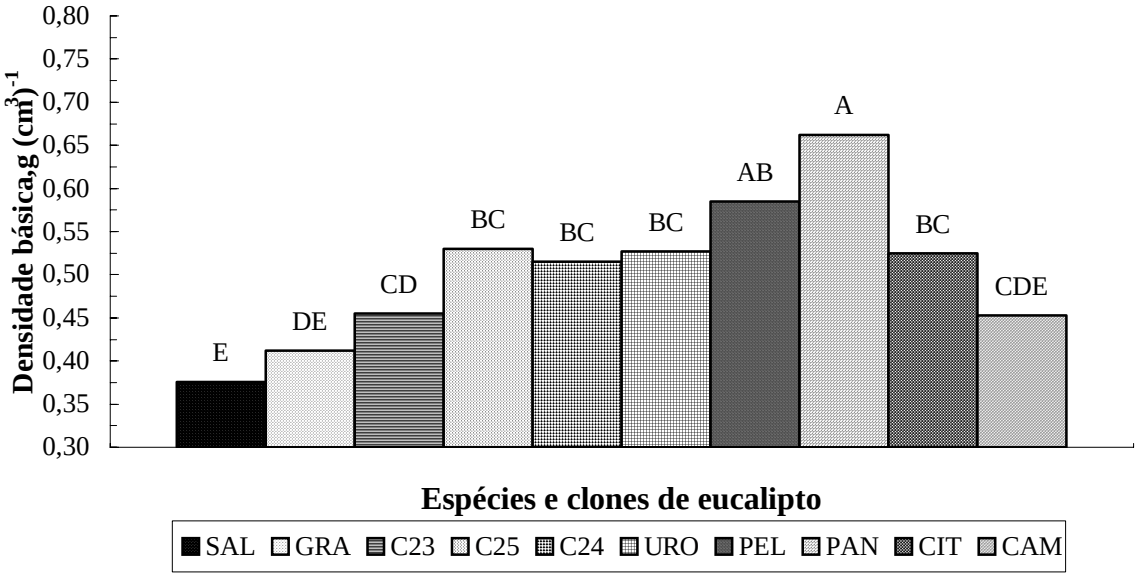

Figura 51. Densidade básica da madeira sem a casca [g(cm^3)$^{-1}$] de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS= 0,079; CV(%)= 10,18.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Houve redução da densidade básica da madeira de todos os tipos de eucalipto após 8 meses de cultivo com o *L. edodes* (Figuras 50 e 51) em relação à condição inicial das madeiras recém cortadas (Figura 48). No entanto, para o clone 23, *E. urophylla* e para o *E. pellita*, inoculados com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes* (Figura 50), a redução foi relativamente menor do que a dos demais tipos de madeiras analisadas. Indiretamente, este fato evidencia uma menor degradação da madeira pela linhagem LE-95/01 de *L. edodes*, já que a densidade básica representa a relação entre a massa de madeira e o seu volume. Consequentemente, a produtividade relativamente menor do *L. edodes* (independente da linhagem) observada nas toras do clone 23, *E. urophylla* e *E. pellita* ao final do ciclo de cultivo (Figura 35), pode estar associado, entre outros fatores, às propiedades físicas e químicas destas madeiras.

Na figura 52 é ilustrada a comparação da densidade básica da madeira (sem a casca) após 8 meses de cultivo com com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto. Os valores médios de densidade básica obtidos diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna* e *E. urophylla* e *E. paniculata*, sendo que para o *E. saligna* e *E. urophylla* a densidade básica quando influenciada pela linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já no *E. paniculata* a densidade básica sob efeito da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Nos demais tipos de madeira, o efeito do fungo na densidade básica da madeira tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si.

No *E. saligna* e no *E. urophylla* a influência da linhagem LE-96/18 resultou em médias de densidade básica significativamente inferiores às da linhagem LE-95/01 de *L. edodes* (Figura 52), ou seja, o aproveitamento do substrato, em termos de massa de tora, pela linhagem LE-96/18 foi maior do que o apresentado pela linhagem LE-95/01. Por outro lado, para o *E. paniculata*, o aproveitamento do substrato pela linhagem LE-95/01 foi maior que para a linhagem LE-96/18, confirmando que a eficiência degradativa do *L. edodes* no substrato, e consequentemente sua produtividade, é também dependente da linhagem fúngica, conforme já citado por outros pesquisadores (ROYSE, 1985; QUEIROZ, 2002). Teixeira (2000) relata que a produtividade de do *L. edodes* em toras é influenciada por fatores nutricionais (composição da madeira), e físicos (densidade da madeira), mas que as respostas a estas influências não são as mesmas para todas as linhagens.

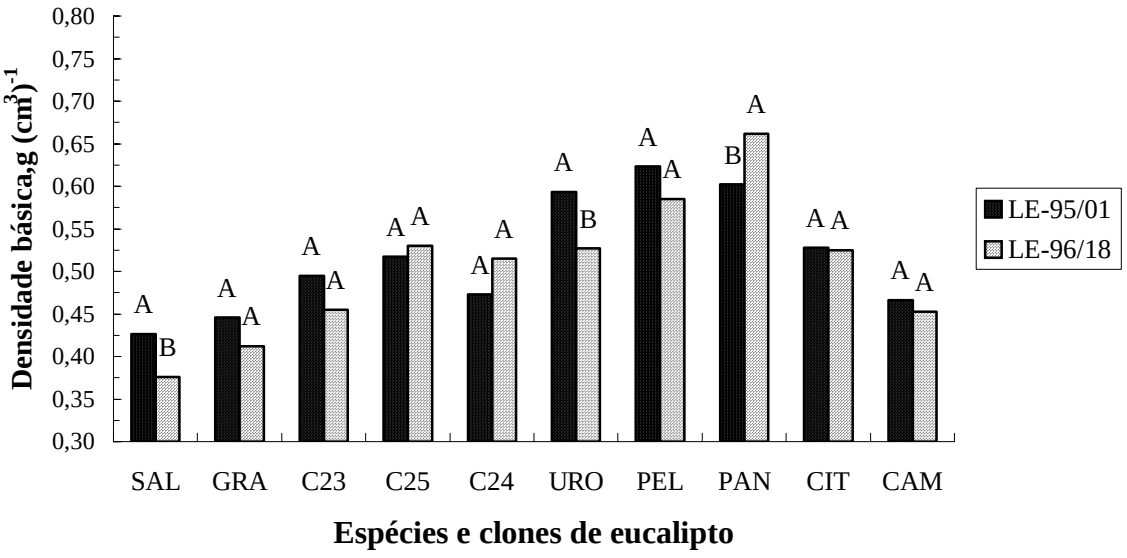

Figura 52. Comparação da densidade básica da madeira sem a casca [g(cm^3)$^{-1}$] de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,484; CV(%)= 10,18.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 16, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de densidade básica de toras de dez tipos de eucalipto submetidas à ação de duas linhagens de *L. edodes*, após 12 meses de incubação. Houve efeito significativo apenas do eucalipto nas médias de densidade básica.

Tabela 16. Valores de F obtidos na análise de variância de densidade básica da madeira (sem a casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto após 12 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	Densidade básica
Eucalipto (E)	$19{,}07^{**}$
Fungo (F)	$0{,}01^{ns}$
E x F	$1{,}01^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Na figura 53 observa-se a comparação de médias da densidade básica da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto após 12 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. urophylla*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23 e no *E. camaldulensis*.

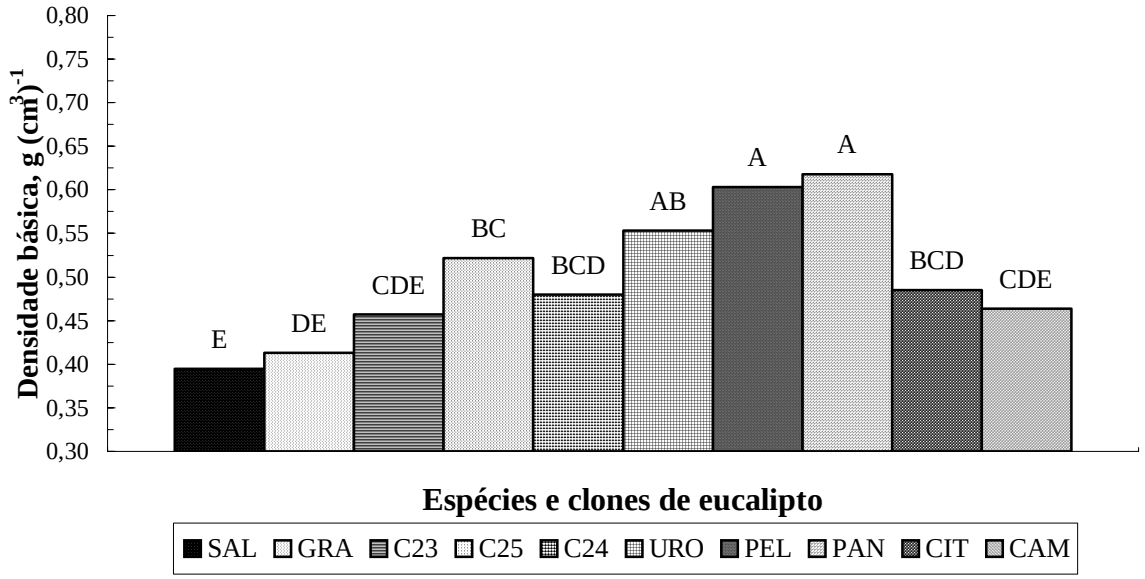

Figura 53. Densidade básida da madeira sem a casca [g(cm^3)$^{-1}$] de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 12 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS= 0,078; CV(%)= 14,53.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 17 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de extrativos totais, lignina e holocelulose da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto logo após o corte. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto em todas as variáveis analisadas.

Tabela 17. Valores de F obtidos na análise de variância de extrativos totais (ET), lignina (LIG) e holocelulose (HOL) da madeira (sem a casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto logo após o corte.

Fator de variação	Extrativos totais	Lignina	Holocelulose
Eucalipto	4,04**	13,61**	10,12**
DMS	2,34	2,66	3,58
CV (%)	48,24	5,80	2,55

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 54, 55 e 56 observam-se as comparações das médias de extrativos totais, lignina e holocelulose da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto logo após o corte.

A figura 54 mostra a comparação de médias de extrativos totais da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no *E. urophylla* e no *E. citriodora*. Médias intermediárias foram observadas no *E. saligna*, clone 25, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. camaldulensis*. As menores médias foram observadas no *E. grandis*, clones 23 e no clone 24. Os extrativos são compostos químicos acidentais considerados não essenciais para a extrutura das paredes celulares e lamela média (BARRICHELO; BRITO, 1985). No entanto, alguns de seus componentes (terpenos, resinas, óleos voláteis, graxas, ceras e os taninos entre outros), em proporções elevadas, podem influenciar o crescimento do *L. edodes*, uma vez que, como já relatado por Pettersen (1984) alguns deles podem apresentar efeito antifúngico.

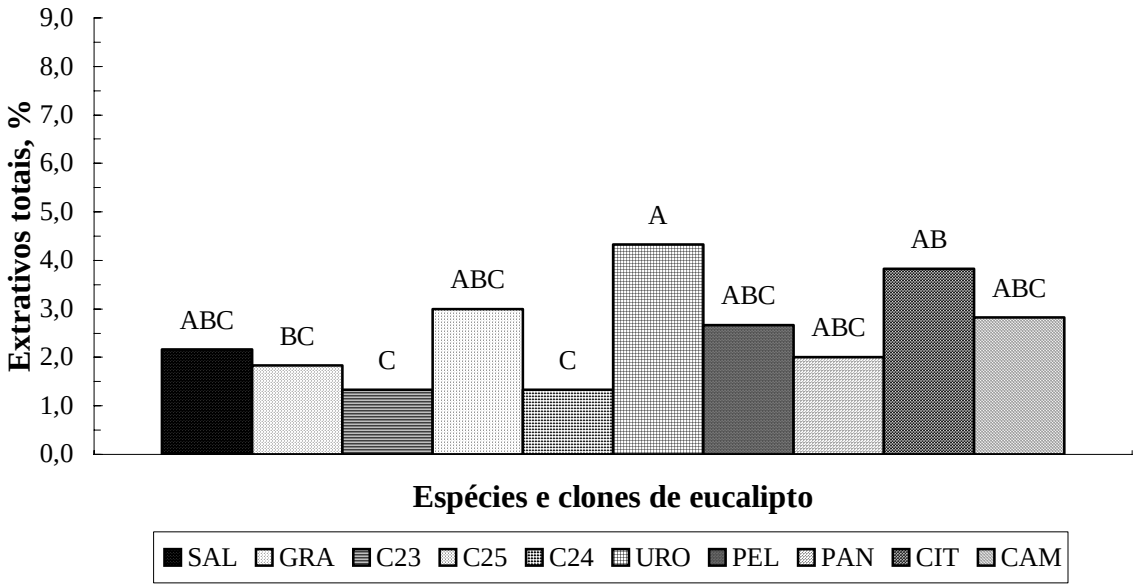

Figura 54. Extrativos totais da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 55 mostra a comparação de médias de lignina da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no *E. camaldulensis* e no *E. pellita*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. citriodora*, *E. grandis*, clone 23, clone 25 e no *E. paniculata*.

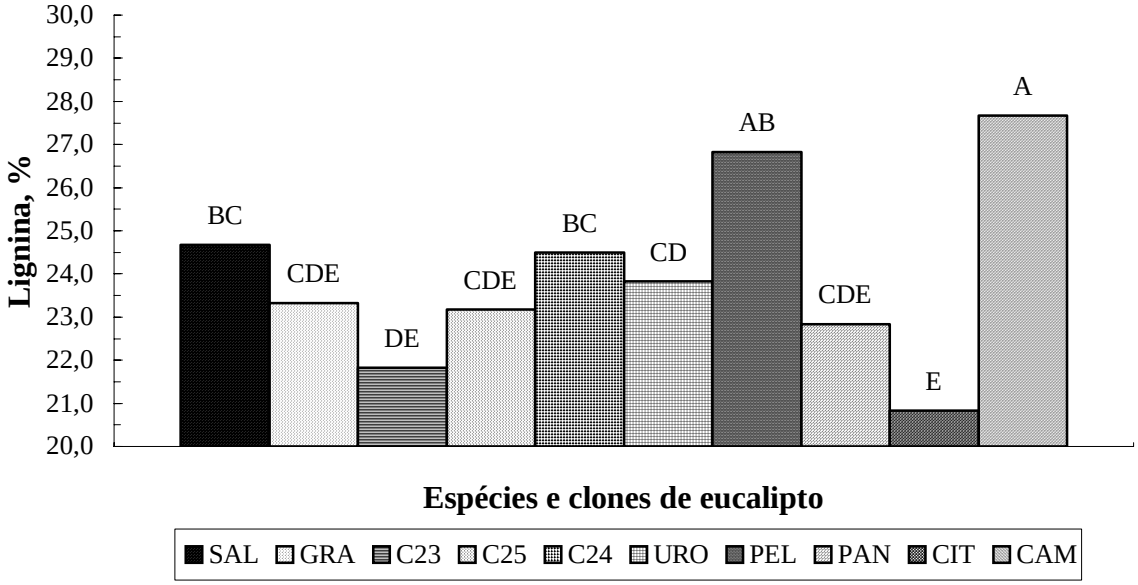

Figura 55. Lignina da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Inicialmente, se analisarmos a influência do teor de lignina da madeira (sem a casca) na produtividade do *L. edodes*, podemos verificar que no 1º fluxo de produção, uma das maiores médias de produtividade foram obtitdas nas toras de *E. camaldulensis* e uma das piores nas toras de *E. pellita* (Figuras 30 e 31), embora ambos os tipos de eucalipto possuam teores de lignina semelhantes entre si (Figura 55). Assim, fica evidente que um único fator, como por exemplo o teor de lignina, não pode ser usado isoladamente para explicar os diferentes resultados em termos de produtividade. Em outras palavras, uma vez identificado que ambos os tipos de eucalipto possuem teor de lignina semelhantes (Figura 55), poderia-se erroneamente deduzir que os resultados em termos de produtividade destes dois tipos de eucalipto seriam semelhantes também, o que na realidade não ocorreu, de acordo com os resultados demonstrados nas figuras 30 e 31.

Crestini et al. (1998) demonstrou que o *L. edodes* é capaz de degradar a lignina, exercendo um efeito positivo no crescimento e formação do basidioma. Na figura 32 verifica-se que, quando se utiliza como substrato toras de *E. pellita*, a produtividade das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 foram semelhantes entre si. No entanto, quando se utiliza o *E. camaldulensis*, a linhagem LE-96/18 proporcionou uma maior média de produtividade que a linhagem LE-95/01. Assim, possivelmente a linhagem LE-96/18 possui um maior eficiência na degradação da lignina do que a linhagem LE-95/01 quando se utiliza como substrato toras de *E. camaldulensis*.

A figura 56 mostra a comparação de médias de holocelulose da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no clone 23, *E. grandis*, clone 25, clone 24, *E. paniculata* e no *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. camaldulensis*, *E. urophylla* e no *E. pellita*.

A madeira é composta principalmente por celulose e hemiceluloses, que juntas formam a fração da madeira denominada holocelulose, a qual está envolta numa matriz de lignina (RAYNER; BODDY, 1988). Tanto a holocelulose como a lignina são constituidas exclusivamente de carbono, hidrogênio e oxigênio e servem como fontes de energia e carbono para o crescimento fúngico. No entanto, mesmo que o clone 23 e o *E. paniculata* tenham proporcionado as maiores médias de holocelulose na madeira recém cortada (Figura 56), estes eucaliptos não apresentaram uma boa produtividade do *L. edodes*

(Figura 35). Por outro lado, o *E. citriodora* que também está entre os eucaliptos que apresentaram as maiores médias de holocelulose da madeira recém cortada (Figura 56), está entre os tipos de eucaliptos que resultaram nas melhores médias de produtividade (Figura 35). Assim, estes resultados reforçam o fato de que uma única característica do eucalipto não pode ser utilizada para explicar de forma generalizada os resultados de produtividade das linhagens de *L. edodes*. Royse (1985) relata que o *L. edodes* demonstra habilidade de biodegradação da celulose e lignina, mas o grau de benefício destes depende do conteúdo de carboidratos dos materiais orgânicos.

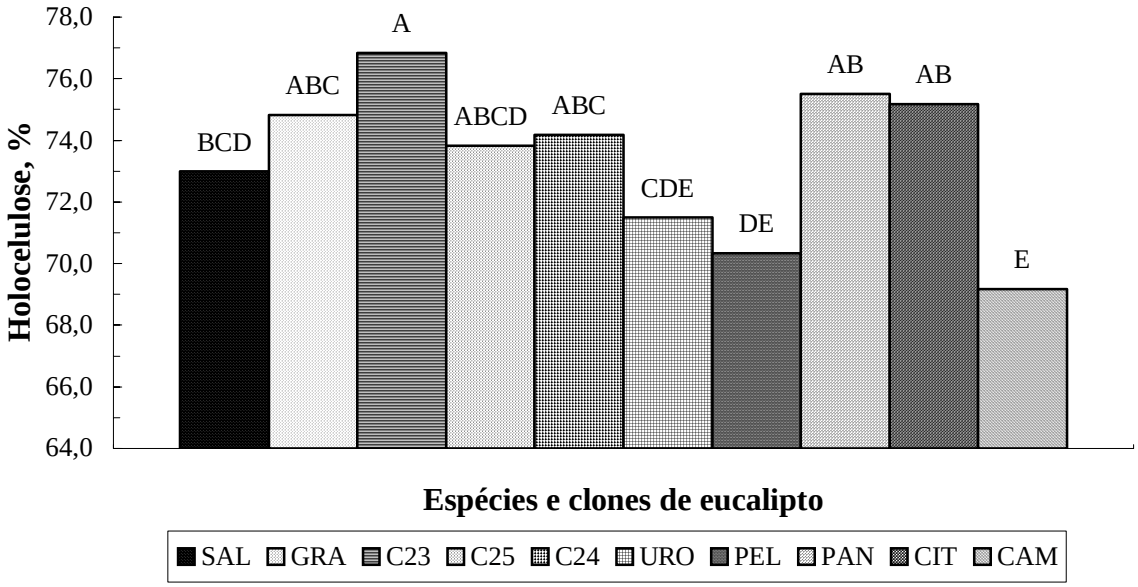

Figura 56. Holocelulose da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 18 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de extrativos totais, lignina e holocelulose da casca de dez tipos de eucalipto logo após o corte. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto em todas as variáveis analisadas, ou seja, extrativos totais, lignina e holocelulose.

Tabela 18. Valores de F obtidos na análise de variância de extrativos totais (ET), lignina (LIG) e holocelulose (HOL) da casca de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto logo após o corte.

Fator de variação	Extrativos totais	Lignina	Holocelulose
Eucalipto	2,15*	25,90**	13,88**
DMS	6,27	4,89	6,67
CV (%)	51,76	10,09	5,12

**Significativo ao nível de 1%; *significativo ao nível de 5%.

Nas figuras 57, 58 e 59 observa-se a comparação de médias de extrativos totais, lignina e holocelulose da casca em função do tipo de eucalipto logo após o corte.

A figura 57 mostra a comparação das médias de extrativos totais da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. Não houve diferença significativa das médias de extrativos totais em função do tipo de eucalipto. Verifica-se também que o teor de extrativos totais na casca (Figura 57) é bem mais elevado que na madeira (Figura 54).

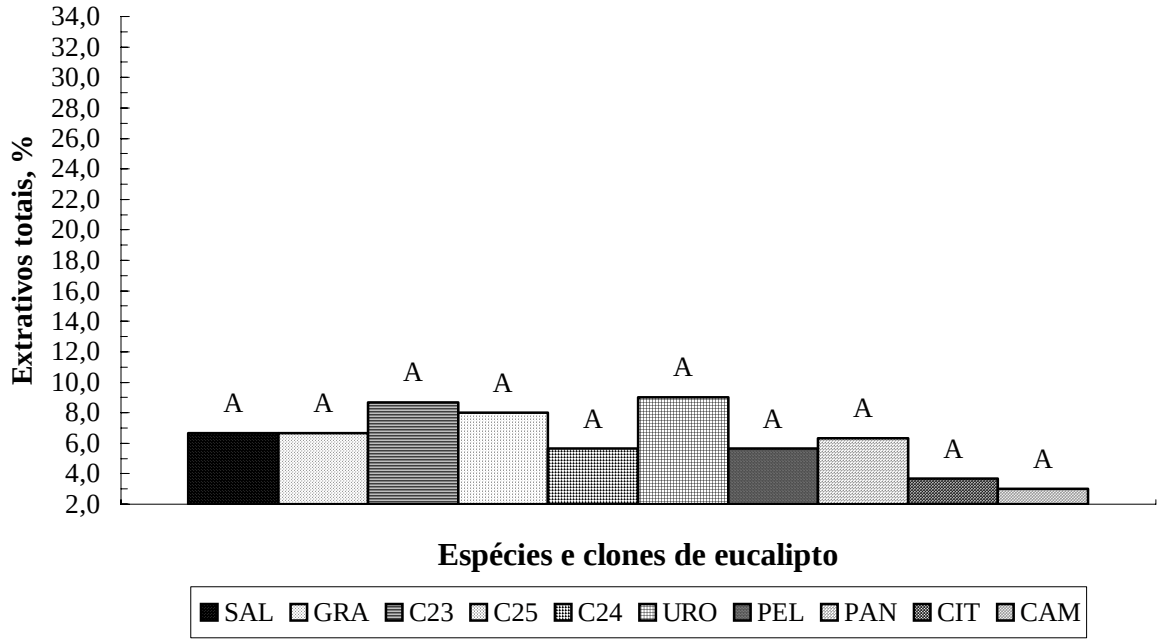

Figura 57. Extrativos totais da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 58 mostra a comparação das médias do teor de lignina da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. A maior média foi observada no *E. paniculata*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. citriodora* e no *E. camaldulensis*.

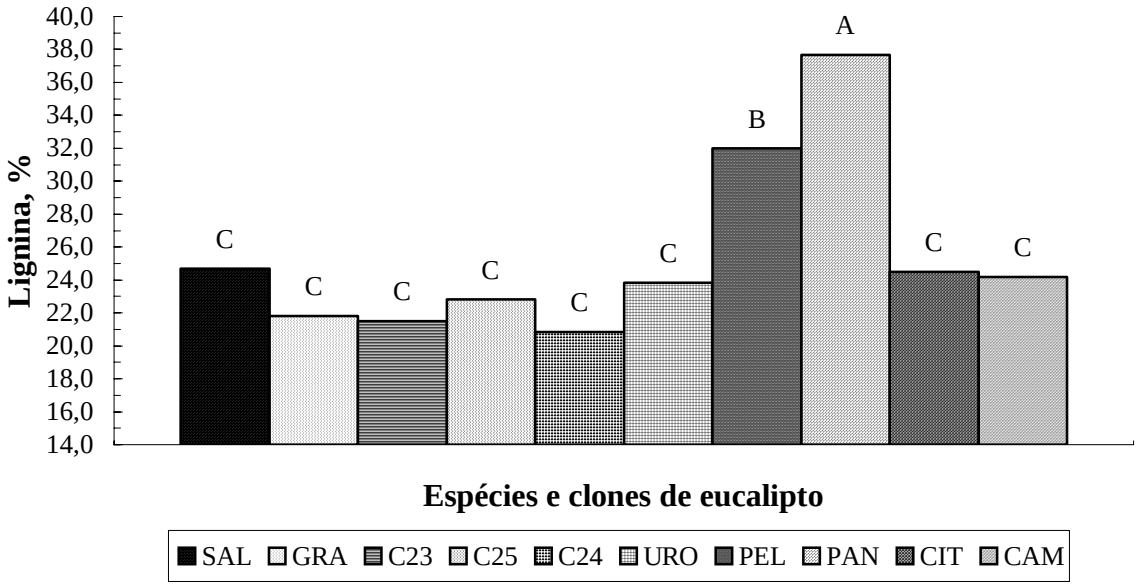

Figura 58. Lignina da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 59 mostra a comparação das médias do teor de holocelulose da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, clone 24, *E. citriodora*, *E. camaldulensis*, *E. saligna*, clone 25 e no *E. urophylla*. Por outro lado, a menor média foi observada no *E. paniculata*. Assim, embora a lignina e a holocelulose possam ser utilizadas pelo fungo durante o seu metabolismo, a lignina é, porém, o elemento que limita a acessibilidade dos polissacarídeos do ataque por enzimas hidrolíticas (CRAWFORD, 1981; ERIKSSON et al, 1990).

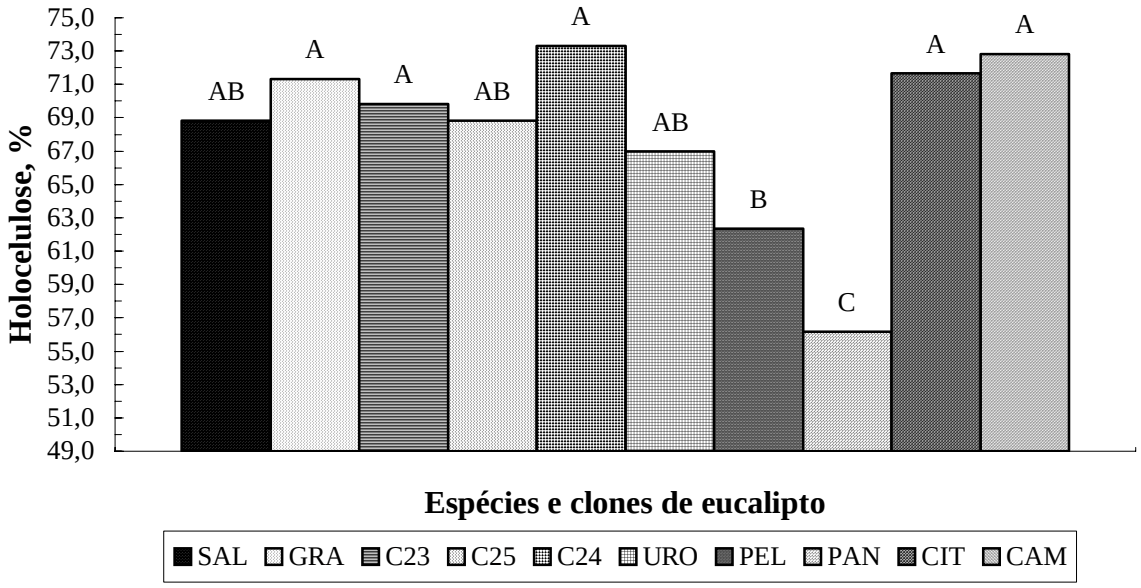

Figura 59. Holocelulose da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 19 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de extrativos totais, lignina e holocelulose da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto em todas as variáveis analisadas.

Tabela 19. Valores de F obtidos na análise de variância de extrativos totais (ET), lignina (LIG) e holocelulose (HOL) da madeira (sem a casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	Extrativos totais	Lignina	Holocelulose
Eucalipto (E)	$2,49^{*}$	$7,08^{**}$	$5,82^{**}$
Fungo (F)	$0,20^{ns}$	$2,68^{ns}$	$1,16^{ns}$
E x F	$1,02^{ns}$	$1,53^{ns}$	$1,38^{ns}$
DMS (E)	3,40	3,96	5,09
CV (%)	40,51	8,37	3,68

**Significativo ao nível de 1%; significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

Nas figuras 60, 61 e 62 observa-se a comparação das média de extrativos totais, lignina e holocelulose da madeira (sem casca) em função do tipo de eucalipto após 8 meses de incubação com o *L. edodes*.

A figura 60 mostra a comparação das médias do teor de extrativos totais da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Não houve diferença significativa entre estas médias obtidas dos dez tipos eucaliptos avaliados.

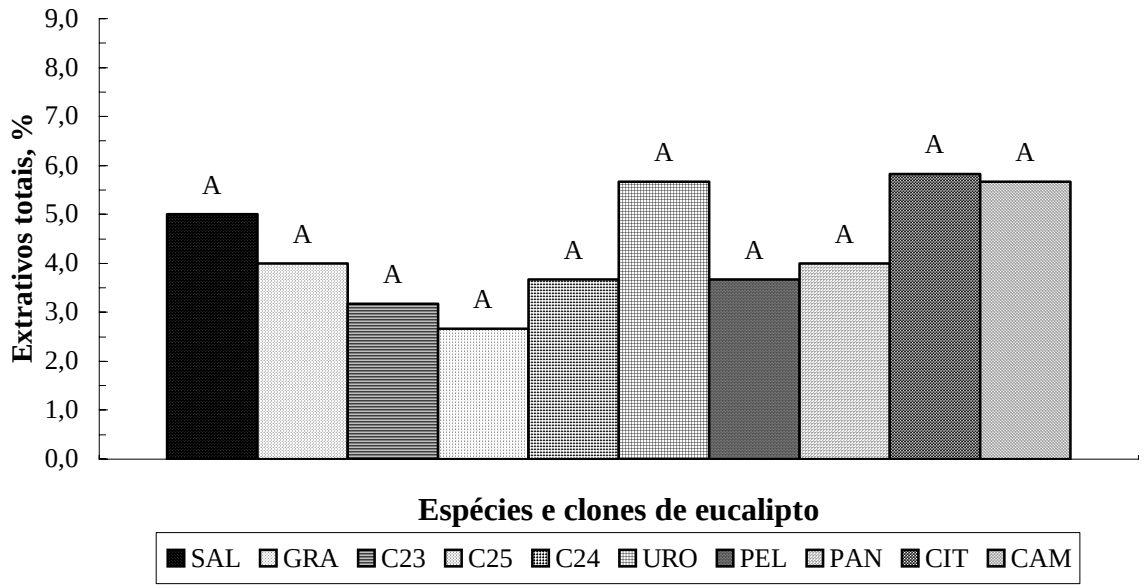

Figura 60. Extrativos totais da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 61 mostra a comparação de médias do teor de lignina da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. saligna* e no *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. paniculata* e no *E. citriodora*.

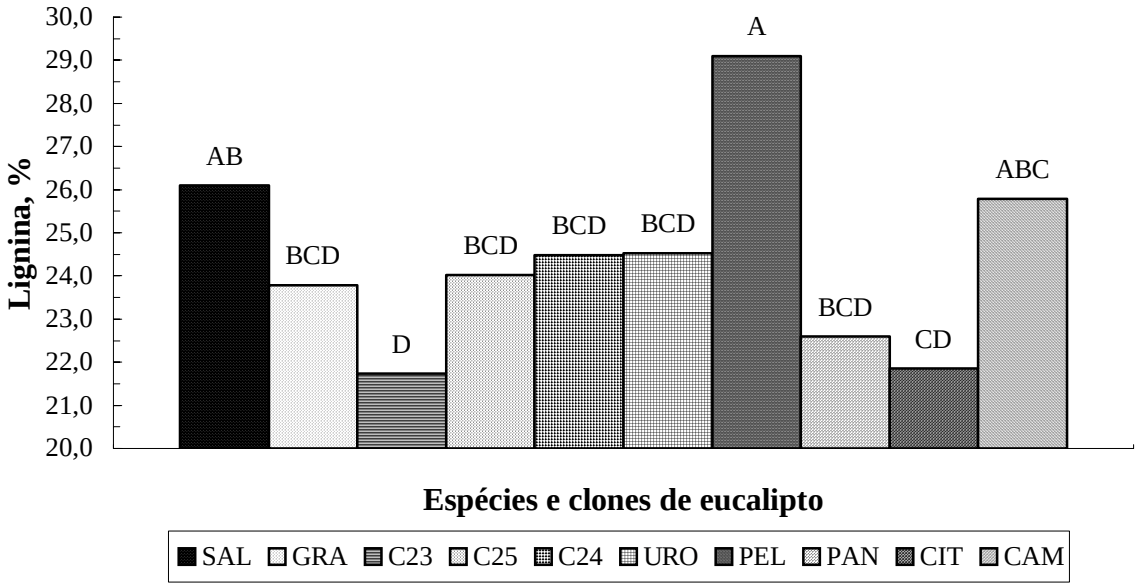

Figura 61. Lignina da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 62 mostra a comparação de médias do teor de holocelulose da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no clone 23, *E. grandis*, clone 25, clone 24, *E. paniculata* e no *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. saligna*, *E. urophylla* e no *E. camaldulensis*.

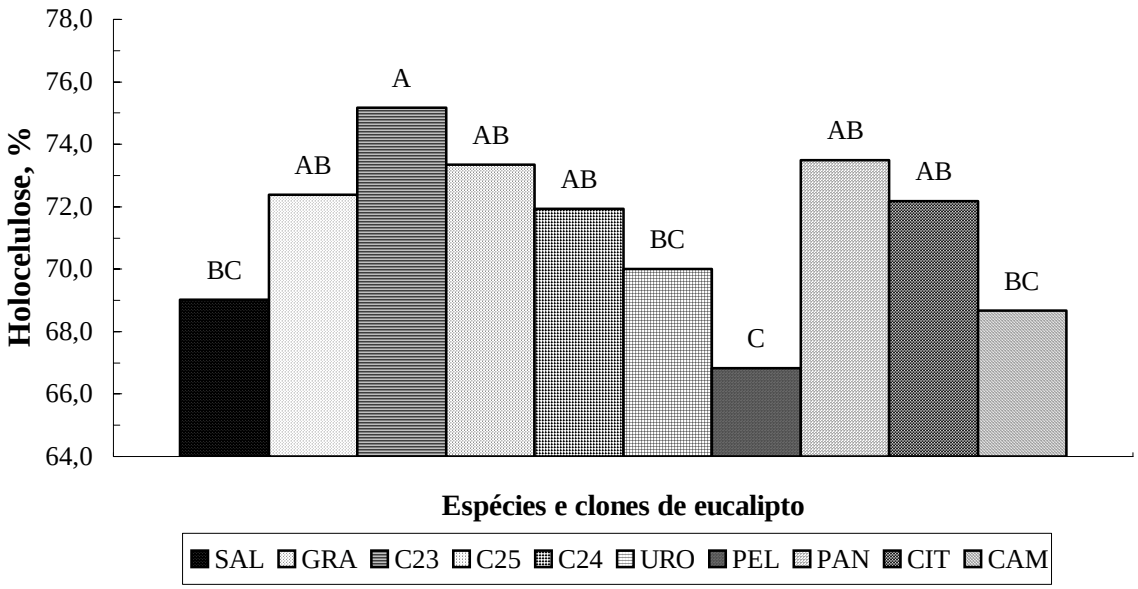

Figura 62. Holocelulose da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Nas toras de *E. saligna* e o *E. citriodora* verifica-se que suas médias iniciais de teor de holocelulose (Figura 56) foram reduzidas após de 8 meses de cultivo (Figura 62), evidenciando a degradação dos componentes da holocelulose na nutrição fúngica. Assim, estes resultados indicam a importancia da energia acumulada durante o período de colonização da madeira, sendo a resposta positiva expressa em termos de produtividade proporcionado por estes tipos de eucalipto, conforme pode ser observado na figura 35. Já para o *E. camaldulensis* esta redução de média de holocelulose ao longo do tempo foi relativamente menor (Figuras 56 e 62) e no entanto este eucalipto está entre os que proporcionaram as maiores médias de produtividade ao final do ciclo de cultivo (Figura 35). Assim, provavelmente o *E. camaldulensis* tenha obtido a maior parte da energia necessária para a formação dos basidiomas de outras fontes e/ou a redução observada foi suficiente para a produção obtida.

Na tabela 20 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de extrativos totais, lignina e holocelulose da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Verificou-se que houve efeito significativo do tipo de eucalipto para todas as variáveis analisadas e do tipo de fungo para a variável lignina.

Tabela 20. Valores de F obtidos na análise de variância de extrativos totais (ET), lignina (LIG) e holocelulose (HOL) da casca de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	Extrativos totais	Lignina	Holocelulose
Eucalipto (E)	$3,64^{**}$	$23,54^{**}$	$3,63^{**}$
Fungo (F)	$0,22^{ns}$	$9,48^{**}$	$3,19^{ns}$
E x F	$0,58^{ns}$	$0,97^{ns}$	$0,63^{ns}$
DMS (E)	11,83	5,72	11,70
DMS (F)	_	1,54	_
CV (%)	32,29	13,20	10,27

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 63, 64 e 65 são ilustradas as comparações de médias de extrativos totais, lignina e holocelulose da casca em função do tipo de eucalipto após 8 meses de incubação com o *L. edodes* e na figura 66 é mostrada a comparação das médias do teor de lignina em função da linhagem de *L. edodes* inoculada.

A figura 63 mostra a comparação de médias do teor de extrativos totais da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no clone 24 e no *E. saligna*. Médias intermediárias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, clone 25, *E. urophylla*, *E. pellita* e no *E. camaldulensis*. Finalmente, as menores médias foram observadas no *E. citriodora* e no *E. paniculata*.

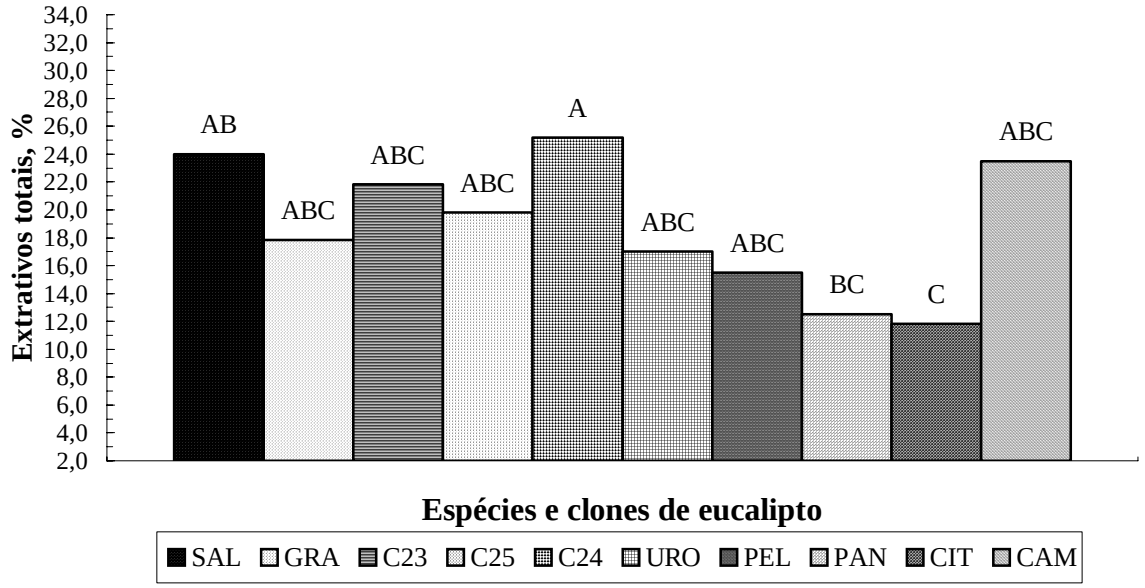

Figura 63. Extrativos totais da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).
*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 64 mostra a comparação de médias do teor de lignina da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. pellita* e no *E. paniculata*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 24, *E. saligna*, clone 23, clone 25, *E. citriodora* e no *E. camaldulensis*.

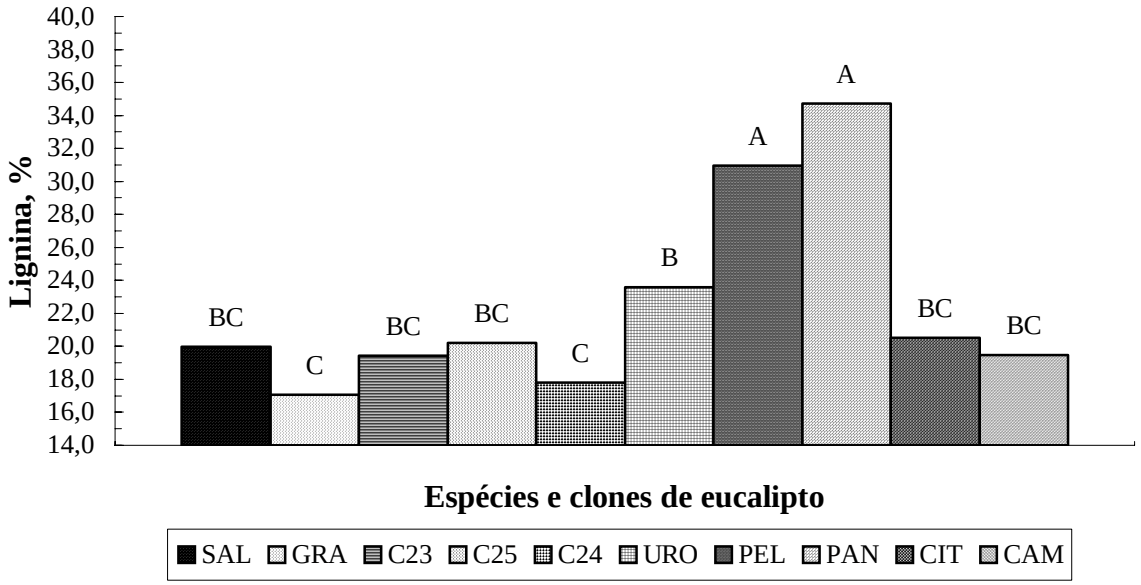

Figura 64. Lignina da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).
*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Verifica-se que as maiores médias do teor de lignina após 8 meses de incubação com o *L. edodes* ocorreram no *E. pellita* e *E. paniculata* (Figura 64), assemelhando-se à condição inicial (Figura 58). Uma observação interessante a destacar é que os eucaliptos que menos sofreram redução do teor de lignina da casca ao longo do tempo

foram o *E. urophylla* e o *E. pellita* (Figuras 58 e 64), os quais também estavam entre os eucaliptos que resultaram nas menores médias de produtividade (Figura 35).

A figura 65 mostra a comparação de médias do teor de holocelulose da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. citriodora* e no *E. grandis*. Médias intermediárias foram observadas no clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla* e no *E. camaldulensis*. Finalmente, as menores médias foram obtidas no *E. saligna*, *E. pellita* e no *E. paniculata*.

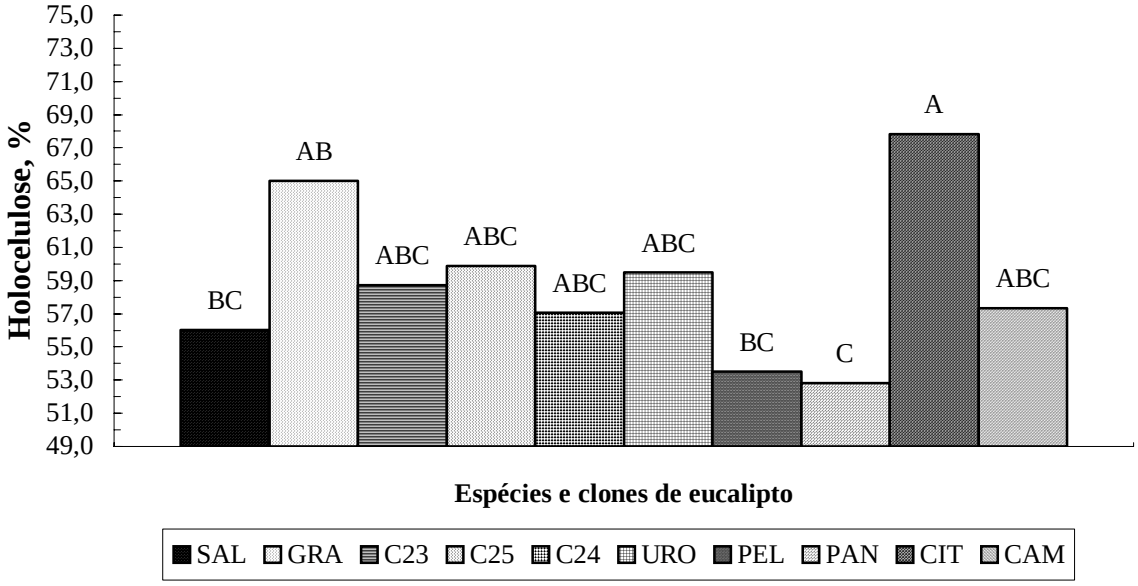

Figura 65. Holocelulose da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

As médias do teor de holocelulose inicial da casca de todos os tipos de eucalipto analisados (Figura 59) foram reduzidas consideravelmente após 8 meses de cultivo com o *L. edodes* (Figura 65). Assim, fica evidente a importância da casca na colonização do fungo disponibilizando nutrientes, além de que, a casca também funciona como uma barreira física que proteje a madeira, já que a mesma está em contato direto com o ambiente e todas as suas variações.

A figura 66 mostra a comparação de médias do teor de lignina da casca do eucalipto (independente do tipo) em função do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada, após 8 meses de incubação. A maior média foi observada na casca do eucalipto sob influência da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. De acordo com estes resultados, há diferenças da eficiência degradativa da casca entre as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. No entanto, a degradação de lignina só é importante para o crescimento fúngico se disponibilizar para os fungos acesso ao nitrogênio contidos nos componentes da madeira (BOYLE, 1998).

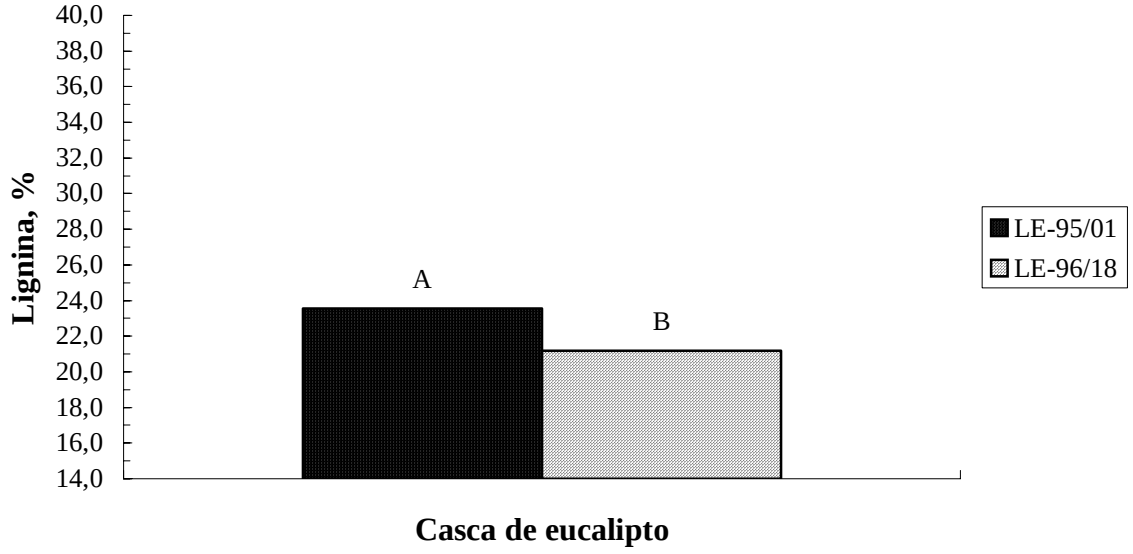

Figura 66. Teor de lignina da casca de eucalipto (em porcentagem), independente do tipo, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*, em função da linhagem de *L. edodes* inoculada. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 21 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de macronutrientes da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto apenas para a variável teor de magnésio (Mg).

Tabela 21. Valores de F obtidos na análise de variância de macronutrientes da madeira (sem a casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto logo após corte.

Fator de variação	N	P_2O_5	K_2O	C	Ca	Mg
Eucalipto	$1,43^{ns}$	$1,75^{ns}$	$1,73^{ns}$	$0,64^{ns}$	$1,74^{ns}$	$2,70^{*}$
DMS	0,06	0,03	0,04	1,61	0,06	0,01
CV (%)	17,54	41,36	35,33	1,58	97,38	38,30

*Significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

Na figura 67 é ilustrada a comparação de média de magnésio (Mg) da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto logo após o corte. Já o teor dos demais macronutrientes na madeira logo após o corte estão ilustrados no apêndice (Tabela 29).

A figura 67 mostra a comparação de médias do teor de magnésio da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no clone 25 e no *E. citriodora*. Médias intermediárias foram observadas *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 24, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. camaldulensis*. Por outro lado, a menor média foi observada no *E. urophylla*.

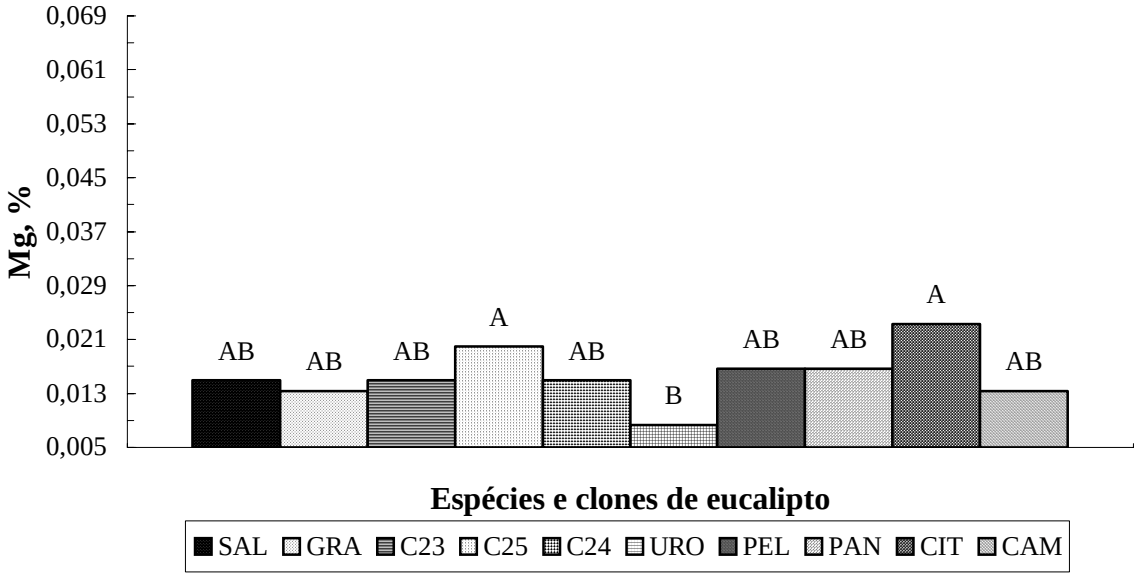

Figura 67. Teor de magnésio (Mg) da madeira (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 22 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de micronutrientes da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para as variáveis teor de sódio (Na) e de manganês (Mn).

Tabela 22. Valores de F obtidos na análise de variância de micronutrientes da madeira (sem casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto logo após corte.

Fator de variação	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
Eucalipto	$6,71^{**}$	$1,74^{ns}$	$1,45^{ns}$	$12,72^{**}$	$1,69^{ns}$
DMS	131,43	28,98	54,87	12,49	134,76
CV (%)	32,75	156,83	71,64	52,43	151,94

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 68 e 69 são ilustradas as comparações das médias do teor de sódio e de manganês da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto logo após o corte. Devido as médias dos outros micronutrientes da madeira (sem casca), logo após o corte, não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 29).

A figura 68 mostra a comparação de médias do teor de sódio da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. Verificou-se que a maior média foi observada no *E. citriodora*, a qual diferiu significativamente de todos os demais tipos de madeiras analisadas.

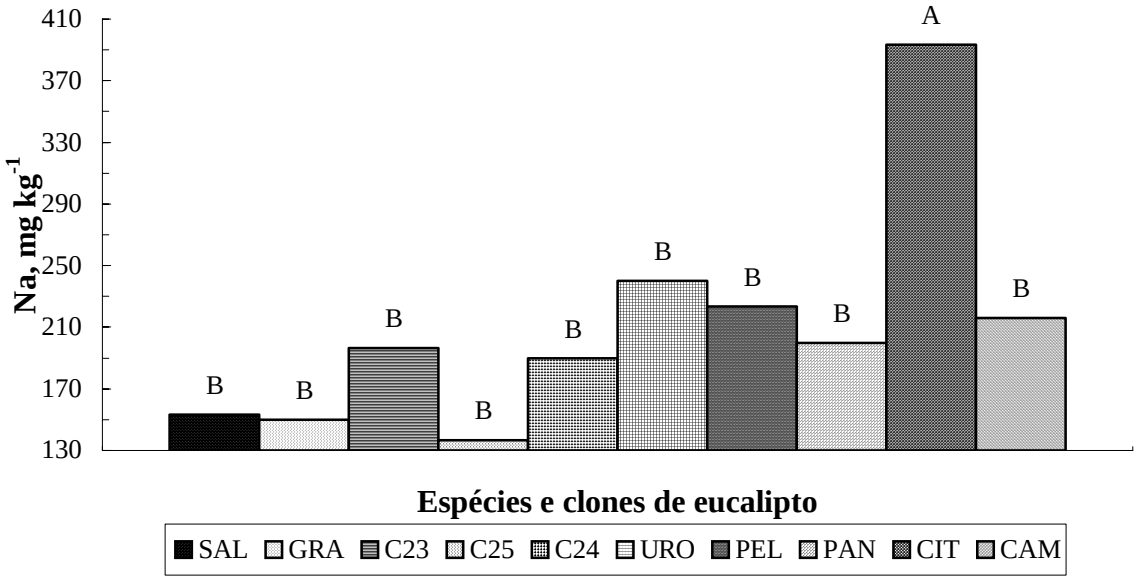

Figura 68. Teor de sódio (Na) da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 69 mostra a comparação de médias do teor de manganês da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no *E. paniculata*, *E. citriodora* e no *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25 e *E. urophylla*, clone 24 e no *E. pellita*.

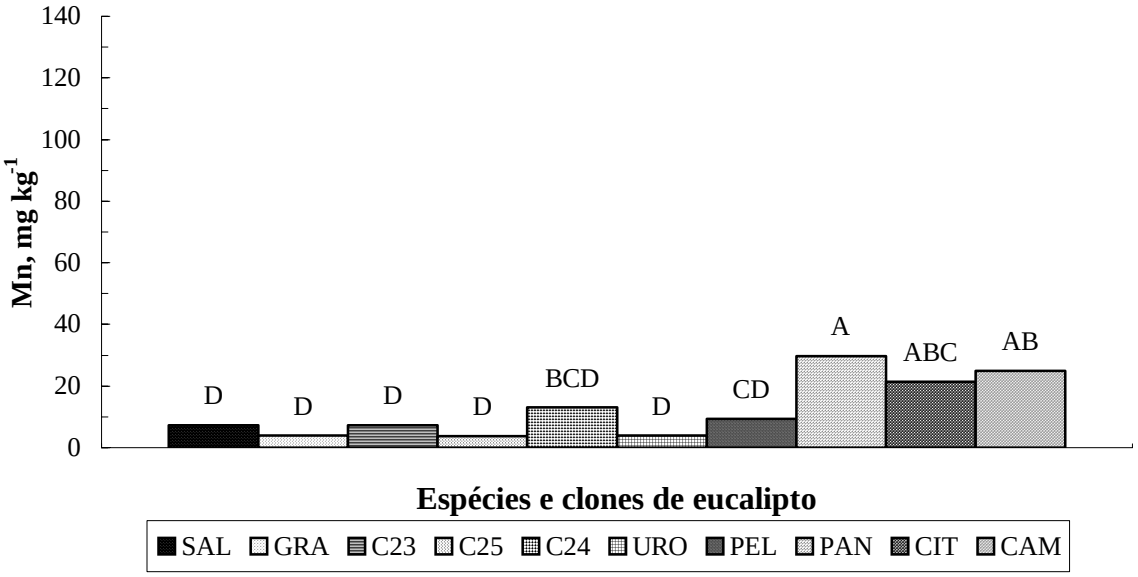

Figura 69. Teor de manganês (Mn) da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Não há na literatura relatos que apontem a influência da concentração de sódio (Na) ou de manganês (Mn) na produtividade de *L. edodes*. Os dados apresentados nas figuras 68 e 69 não foram sufientes para afirmar que estes nutrientes influenciaram na produtividade das linhagens de *L. edodes*. Prova disto são o *E. saligna* e o *E. citriodora* que, embora estejam entre os eucaliptos que proporcionaram as melhores médias de produtividade do *L. edodes* (Figura 35), suas médias de teores de sódio (Na) e de manganês (Mn) diferiram entre si (Figuras 68 e 69). Possivelmente as quantidades de nutrientes disponíveis nas madeiras foram suficientes para o cultivo de *L. edodes*. Com isso, o fato de um tipo de eucalipto ter uma maior disponibilidade de determinados nutrientes não lhe proporcionou vantagem na produção de basidiomas.

Na tabela 23, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de macronutrientes da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para as variáveis teor de monóxido de potássio (K_2O) e carbono (C).

Tabela 23. Valores de F obtidos na análise de variância de macronutrientes da casca de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto logo após corte.

Fator de variação	N	P_2O_5	K_2O	C	Ca	Mg
Eucalipto	$1,97^{ns}$	$1,95^{ns}$	$3,44^{**}$	$3,01^{**}$	$0,97^{ns}$	$0,66^{ns}$
DMS	0,07	0,05	0,09	2,15	1,89	0,54
CV (%)	15,15	84,12	21,42	2,25	39,49	46,66

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 70 e 71 são ilustradas as comparações das médias do teor de monóxido de potássio (K_2O) e carbono (C) da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Devido as médias dos outros macronutrientes da casca, logo após o corte, não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 30).

A figura 70 mostra a comparação de médias do teor monóxido de potássio (K_2O) da madeira (sem casca) de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. A maior média foi observada no *E. grandis*. Médias intermediárias foram obtidas pelo *E. saligna*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. paniculata* e pelo *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. pellita* e no *E. citriodora*.

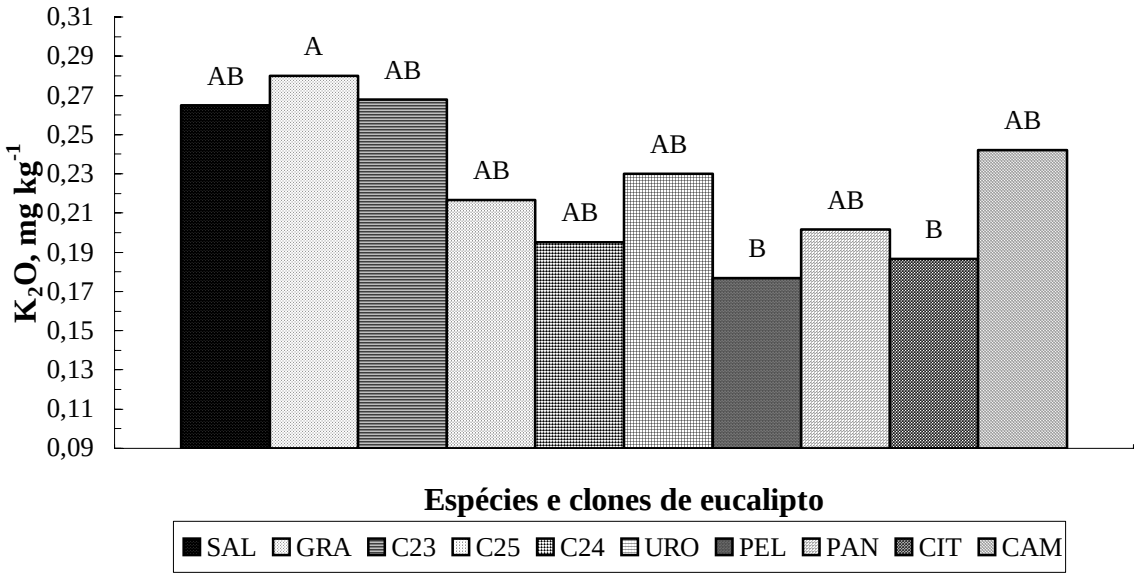

Figura 70. Teor de monóxido de potássio (K_2O) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 71 mostra a comparação de médias do teor de carbono da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. A maior média foi observada no *E. urophylla*. Médias intermediárias foram obtidas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. citriodora*. Finalmente, a menor média foi observada no *E. camaldulensis*.

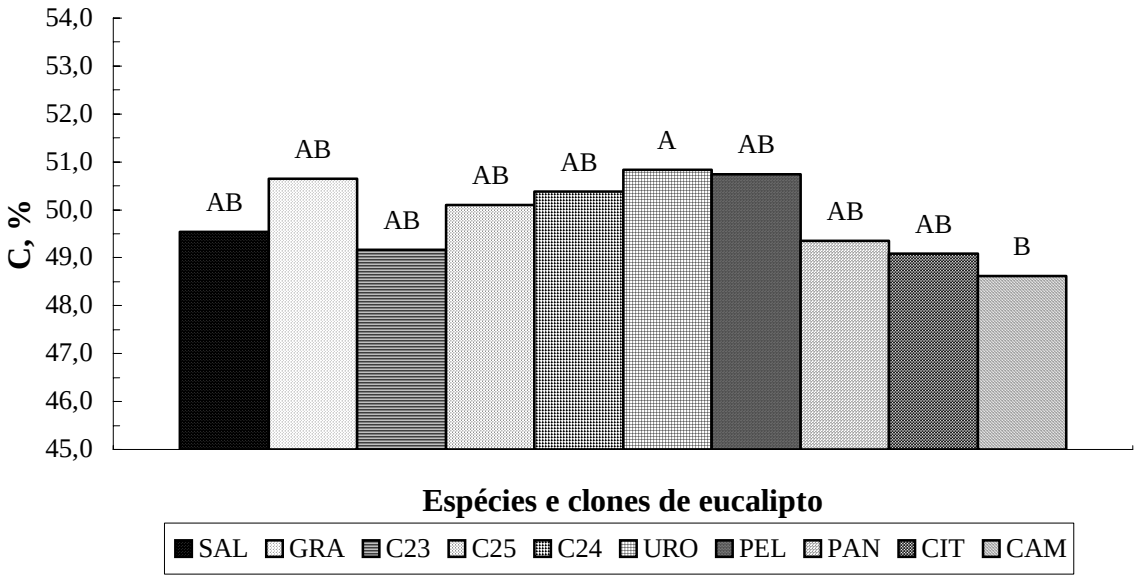

Figura 71. Teor de carbono (C) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 24, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de micronutrientes da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para as variáveis de teor de cobre (Cu) e de manganês (Mn).

Tabela 24. Valores de F obtidos na análise de variância de micronutrientes da casca de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto logo após corte.

Fator de variação	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
Eucalipto	$0,94^{ns}$	$7,01^{**}$	$0,57^{ns}$	$3,81^{**}$	$1,66^{ns}$
DMS	380,65	15,58	81,71	524,27	50,60
CV (%)	38,10	85,20	56,39	83,37	55,17

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Nas figuras 72 e 73 são ilustradas as comparações das médias do teor de cobre (Cu) e de manganês (Mn) da casca em função do tipo de eucalipto, logo após o corte. Devido as médias dos outros micronutrientes da casca, logo após o corte, não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 30).

A figura 72 ilustra a comparação de médias do teor de cobre da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. As maiores médias foram observadas no *E. paniculata*, *E. urophylla* e no *E. camaldulensis*. Médias intermediárias foram observadas no *E. pellita* e no *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 25, clone 24, *E. saligna* e no clone 23.

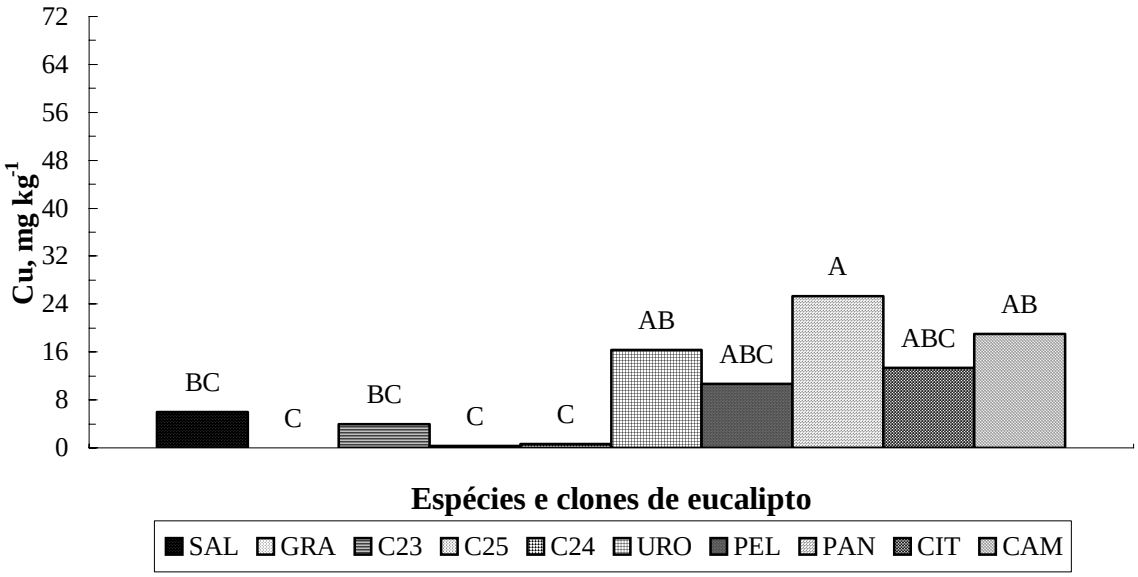

Figura 72. Teor de cobre (Cu) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 73 ilustra a comparação de médias do teor de manganês da casca de dez tipos de eucalipto, logo após o corte. A maior média foi observada no clone 23. Médias intermediárias foram observadas no *E. citriodora* e no *E. camaldulensis*. Finalmente, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. pellita* e no *E. paniculata*.

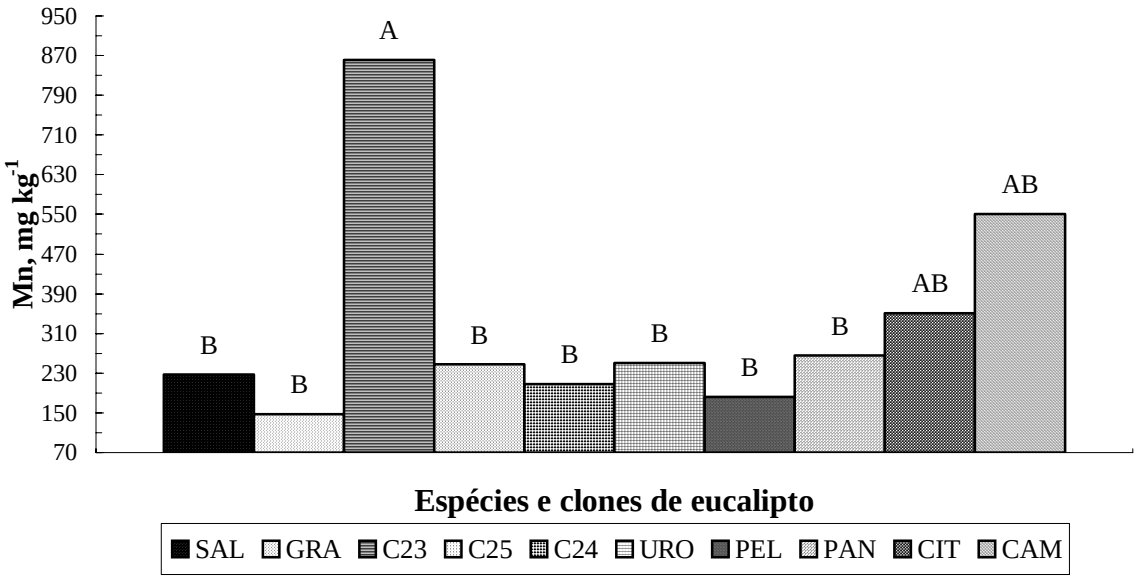

Figura 73. Teor de manganês (Mn) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) logo após o corte. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%).

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 25, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de macronutrientes da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para as variáveis de teor de nitrogênio (N), monóxido de potássio (K_2O), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Já para as variáveis pentóxido de fósforo (P_2O_5) e carbono (C) houve efeito significativo do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada. Finalmente para o teor de nitrogênio (N) houve também efeito da interação eucalipto x fungo.

Tabela 25. Valores de F obtidos na análise de variância de macronutrientes da madeira (sem a casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	N	P_2O_5	K_2O	C	Ca	Mg
Eucalipto (E)	$7,55^{**}$	$1,75^{ns}$	$6,18^{**}$	$0,85^{ns}$	$6,05^{**}$	$4,38^{**}$
Fungo (F)	$0,91^{ns}$	$15,73^{**}$	$0,49^{ns}$	$12,65^{**}$	$0,73^{ns}$	$1,19^{ns}$
E x F	$2,65^{*}$	$1,73^{ns}$	$1,34^{ns}$	$0,83^{ns}$	$1,43^{ns}$	$1,06^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; *significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

Nas figuras 74, 75 e 76 são ilustradas as comparações das médias do teor de nitrogênio da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto e da linhagem de *L. edodes*, após 8 meses de incubação. Já as figuras 77 e 79 ilustram as comparações das médias do teor de nitrogênio da madeira (sem casca) em função da linhagem de *L. edodes* inoculada. Finalmente as figuras 78, 80 e 81 ilustram as comparações das médias do teor de nitrogênio da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto. Devido as médias dos outros macronutrientes da madeira (sem casca), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*,

não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 31).

A figura 74 mostra a comparação de médias do teor de nitrogênio da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. saligna*. Médias intermediárias foram obtidas pelo *E. urophylla* e pelo *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. citriodora*.

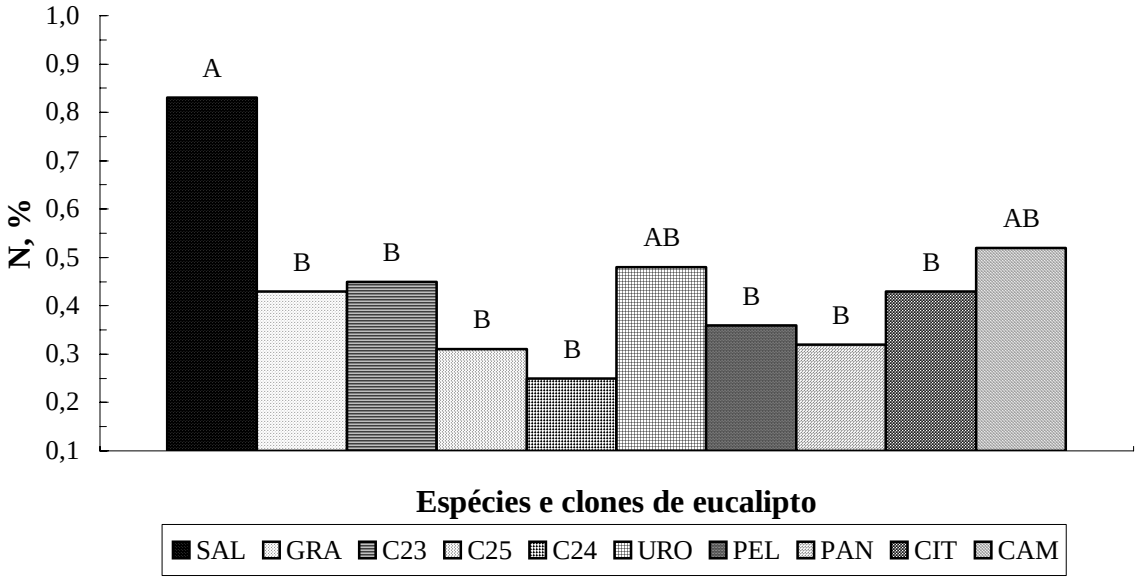

Figura 74. Teor de nitrogênio da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,36; CV(%)= 30,78.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 75 mostra a comparação de médias do teor de nitrogênio da madeira (sem casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis* e no clone 25. Médias intermediárias foram obtidas no clone 24 e do *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. citriodora*, clone 23, *E. urophylla*, *E. pellita* e no *E. paniculata*.

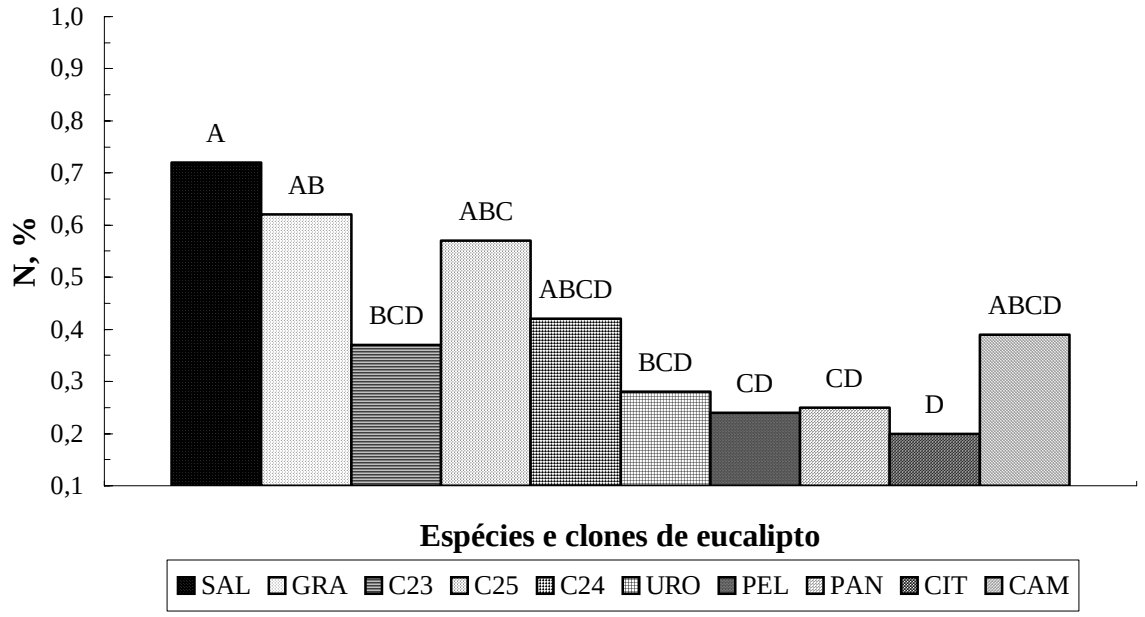

Figura 75. Teor de nitrogênio da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,36; CV(%)= 30,78.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 76 é ilustrada a comparação do teor de nitrogênio da madeira (sem a casca) quando submetida à ação das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação. Os valores médios de teor de

nitrogênio obtidos diferiram significativamente entre si dentro do clone 25 e do *E. citriodora*, sendo que para o clone 25 o teor de nitrogênio sob efeito da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Já no *E. citriodora* o teor de nitrogênio sob efeito da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Nos demais tipos de madeira, o efeitos dos fungos no teor de nitrogênio da madeira (sem a casca) tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si. Assim, pode-se dizer que o teor de nitrogênio observado em determinado substrato sob ação fúngica também varia em alguns tipos de substratos em função da linhagem de fungo utilizada. Boyle (1998) relata que a disponibilidade de N limita a taxa de crescimento da madeira de fungos decompositores, enquanto Philippoussis et al. (2002), demonstra que o baixo conteúdo de N de substratos é um fator limintante no crescimento do *L. edodes*.

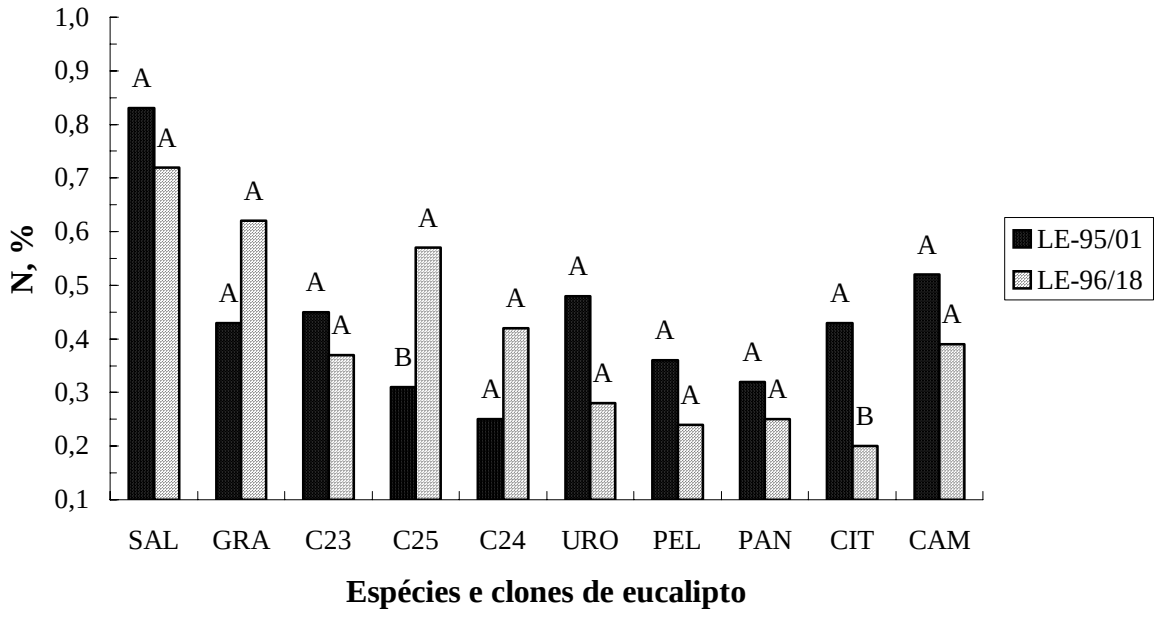

Figura 76. Comparação do teor de nitrogênio da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,21; CV(%)= 30,78.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

As médias iniciais do teor de nitrogênio (N) das madeiras (sem a casca) de eucaliptos estudados demonstraram não haver diferenças significativas entre si (Tabela 29). No entanto, após 8 meses de incubação, agora sob influência das linhagens de *L. edodes*, algumas destas médias diferiram entre si (Figuras 74 e 75). Estes resultados evidenciam que uma mesma linhagem de *L. edodes* possue atuações distintas na absorção de nitrogênio da madeira, conforme o tipo de eucalipto. Sobre isto Boyle (1998) relata que não basta um elevado teor de nitrogênio na composição da madeira, mas é necessário que este elemento esteja presente em uma forma acessível.

A figura 77 mostra a comparação de médias do teor de pentóxido de fósforo (P_2O_5) da madeira (sem a casca) de eucalipto em função do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada, após 8 meses de incubação. A maior média foi observada em madeira (sem a casca) sob influência da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. Neste caso, a linhagem LE-96/18 de *L. edodes* possivelmente tenha utilizado mais P_2O_5 durante o seu crescimento micelial do que a linhagem LE-95/01, uma vez que ambas as linhagens inicialmente foram inoculadas em toras que não apresetaram efeito de tipo de eucalipto em suas médias de teor de P_2O_5 (Figura 21 e Tabela 29).

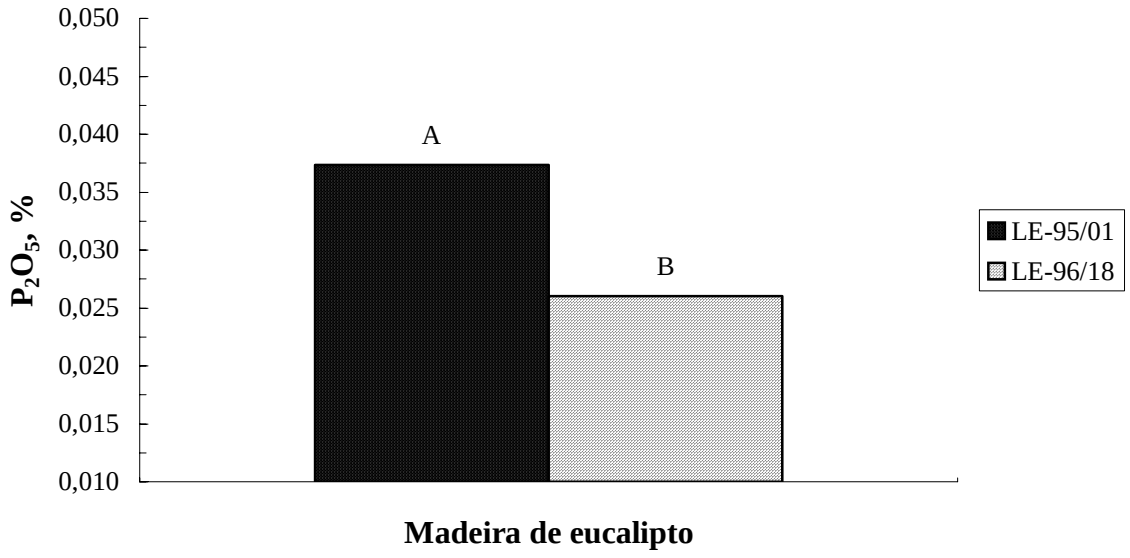

Figura 77. Comparação do teor de nitrogênio da madeira de eucalipto sem a casca (em porcentagem) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,006; CV(%)= 34,95.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 78 mostra a comparação de médias do teor de monóxido de potássio da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As médias obtidas não diferiram entre si.

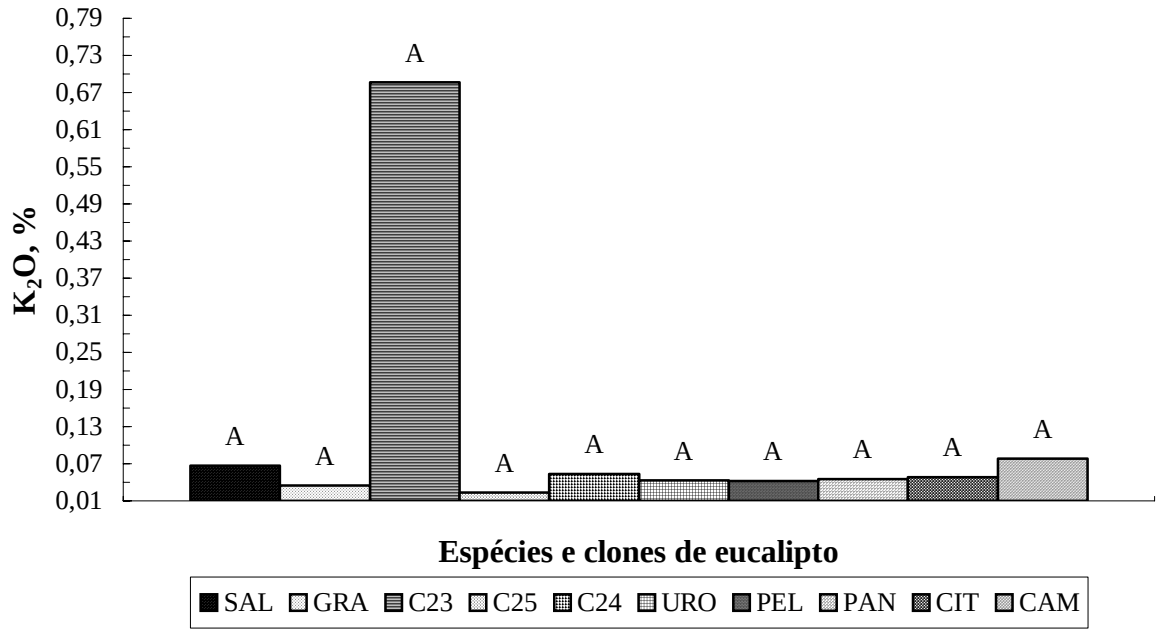

Figura 78. Teor de monóxido de potássio (K_2O) da madeira (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,998; CV(%)= 36,06.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 79 mostra a comparação de médias do teor de carbono da madeira (sem a casca) do eucalipto em função do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada, após 8 meses de incubação. Verificou-se que a maior média foi observada na madeira (sem casca) de eucalipto sob influência da linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. Como inicialmente o teor de carbono na madeira (sem a casca) não sofreu influencia do tipo de eucalipto (Tabela 21), as diferenças de médias apresentadas na figura 79 evidenciam que as linhagens de *L. edodes* influenciaram nestes resultados. Boyle (1998) relata que o uso eficiente de carbono (massa de fungos produzida por quantia usada de carbono) dos fungos evidenciam mudanças (aumentos) nos índices de crescimento e nas quantias de substratos utilizada, no entanto Royse (1985) cita que embora o *L. edodes* tenha habilidade em biodegradar a lignina e a celulose (cujo principal elemento constituiente é o carbono) o grau de benefício destes depende do conteúdo de carboidratos dos materiais orgânicos.

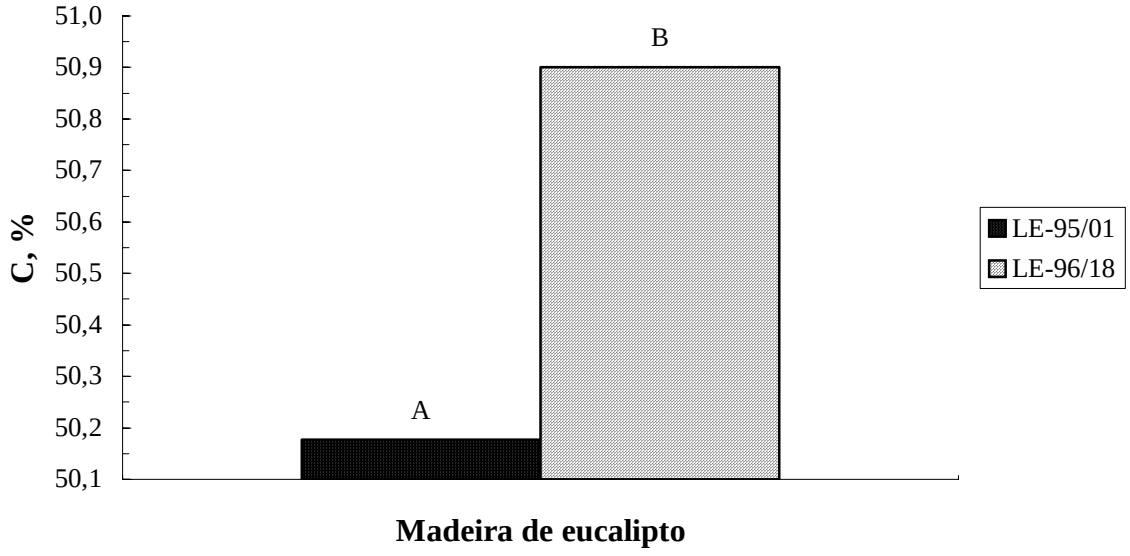

Figura 79. Comparação do teor de carbono (C) da madeira de eucalipto sem a casca (em porcentagem) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,412; CV(%)= 1,56.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 80 mostra a comparação de médias do teor de cálcio da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. citriodora.* Médias intermediárias foram obtidas no clone 24 e no *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25, *E. urophylla*, *E. pellita* e no *E. paniculata*. Estes resultados evidenciam que o teor de cálcio não influencia nos dados de produtividade. Prova disto é que embora o *E. saligna* tenha apresentado média de teor de cálcio menor do que do *E. citriodora* após 8 meses de incubação com o *L. edodes* (Figura 80), suas médias de produtividade ao final do ciclo produtivo não diferiram significativamente entre si (Figura 35).

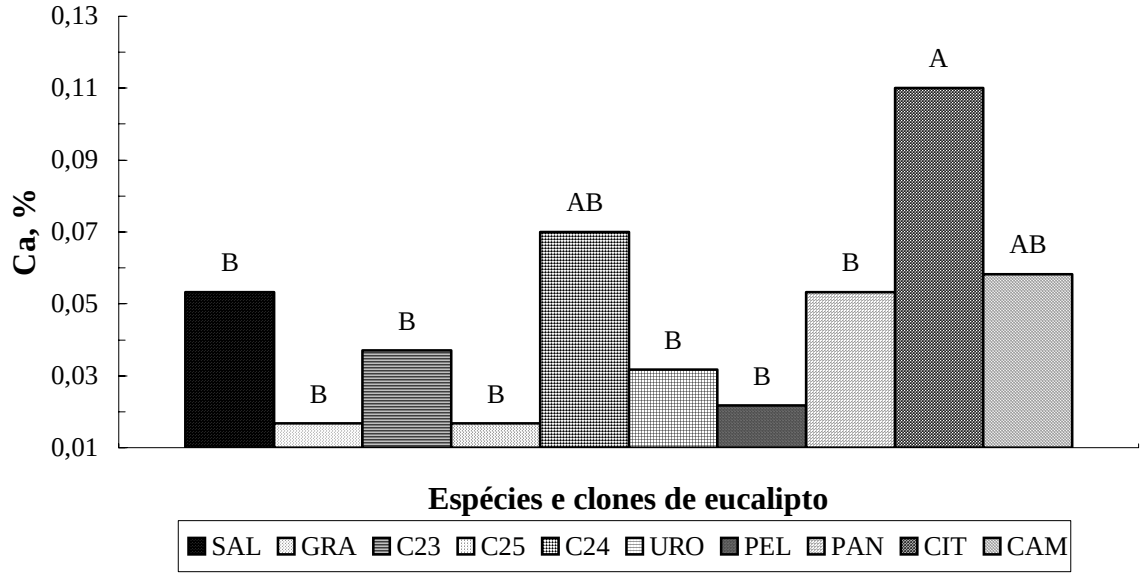

Figura 80. Teor de cálcio (Ca) da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,056; CV(%)= 61,50.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 81 mostra a comparação de médias do teor de magnésio da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. camaldulensis* e no clone 24. Médias intermediárias foram observadas no *E. saligna*, clone 25, *E. paniculata* e no *E. citriodora*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, *E. urophylla* e no *E. pellita*.

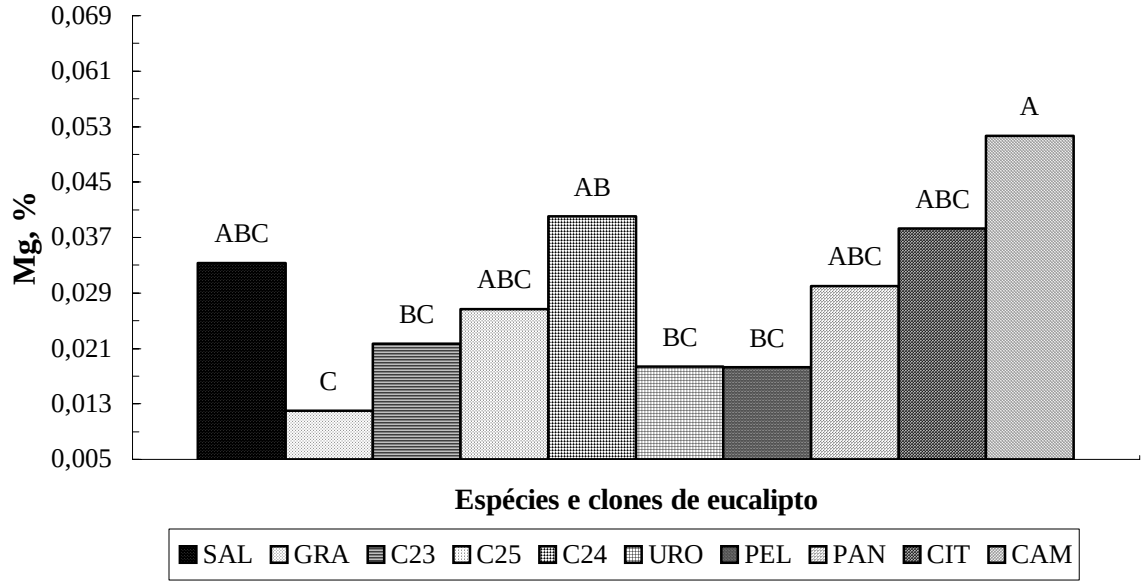

Figura 81. Teor de magnésio (Mg) da madeira (sem a casca) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,028; CV(%)= 49,05.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 26 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de micronutrientes da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para a variável de teor de manganês (Mn).

Tabela 26. Valores de F obtidos na análise de variância de micronutrientes da madeira (sem casca) de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
Eucalipto (E)	$1,97^{ns}$	$1,37^{ns}$	$1,48^{ns}$	$14,09^{**}$	$1,32^{ns}$
Fungo (F)	$0,02^{ns}$	$1,5^{ns}$	$0,20^{ns}$	$0,82^{ns}$	$0,85^{ns}$
E x F	$0,84^{ns}$	$1,39^{ns}$	$1,05^{ns}$	$1,71^{ns}$	$0,99^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Na figura 82 é ilustrada a comparação de média do teor de manganês (Mn) da madeira (sem a casca) em função do tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Devido as médias dos outros micronutrientes da madeira (sem casca), após 8 meses de incubação com o *L. edodes*, não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 31).

A figura 82 mostra a comparação de médias do teor de manganês da madeira (sem a casca) de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. camaldulensis*, a qual diferiu significativamente de todos os demais tipos de madeira.

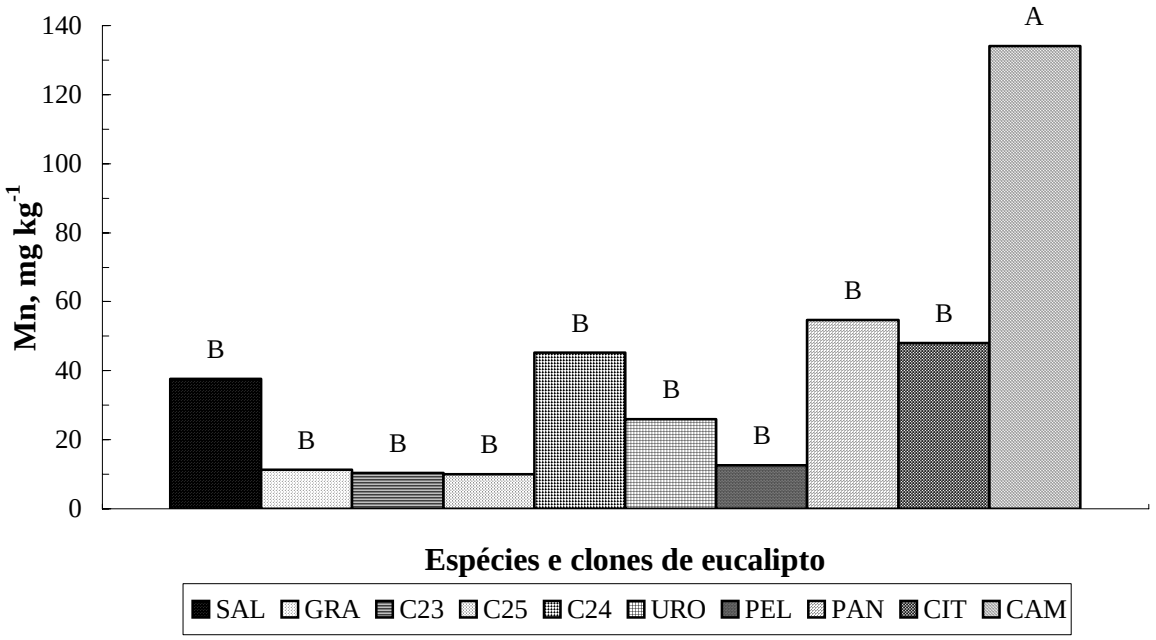

Figura 82. Teor de manganês (Mn) da madeira sem a casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 47,50; CV(%)= 62,81.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 27 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de macronutrientes da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Houve efeito significativo do tipo de eucalipto para todas as variáveis avaliadas (N, P_2O_5, K_2O, C, Ca, Mg e S). Já o efeito significativo de tipo de fungo foi observado para as variáveis N, C, Mg e S. Finalmente, houve efeito significativo da interação eucalipto x fungo para P_2O_5, K_2O e C.

Tabela 27. Valores de F obtidos na análise de variância de macronutrientes da casca de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	N	P_2O_5	K_2O	C	Ca	Mg	S
Eucalipto (E)	$4,18^{**}$	$2,67^{*}$	$7,34^{**}$	$16,08^{**}$	$15,59^{**}$	$6,32^{**}$	$2,67^{*}$
Fungo (F)	$16,50^{**}$	$3,17^{ns}$	$1,46^{ns}$	$22,63^{**}$	$0,71^{ns}$	$4,60^{*}$	$7,45^{**}$
E x F	$1,43^{ns}$	$2,34^{*}$	$2,59^{*}$	$6,14^{**}$	$0,85^{ns}$	$2,09^{ns}$	$0,53^{ns}$

**Significativo ao nível de 1%; significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

Nas figura 83, 94, 95 e 97 são ilustradas as comparações de médias dos teores de N, Ca, Mg e S da casca, respectivamente, em função do tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes* (independente do tipo de linhagem). Já as figuras 84, 96 e 98 mostra a comparação de médias dos teores de N, Mg e S da casca (independente do tipo de eucalipto), respectivamente, em função do tipo de fungo (linhagem de *L. edodes*), após 8 meses de incubação. As figuras 85, 88 e 91 ilustram a comparação de médias dos teores de P_2O_5, K_2O e C da casca em função do tipo de eucalipto após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01. Já as figuras 86, 89 e 92 ilustram a comparação de médias dos teores de P_2O_5, K_2O e C da casca em função do tipo de de eucalipto após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18. Finalmente as figuras 87, 90 e 93 mostram a comparação de médias dos teores de P_2O_5, K_2O e C da casca (independente do tipo de eucalipto) sob a influências das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Devido as médias dos outros macronutrientes da casca, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*, não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 32).

A figura 83 mostra a comparação de médias do teor de nitrogênio da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. saligna*. Médias intermediárias foram obtidas no clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. pellita* e no *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. grandis*, clone 23, *E. paniculata* e no *E. citriodora*.

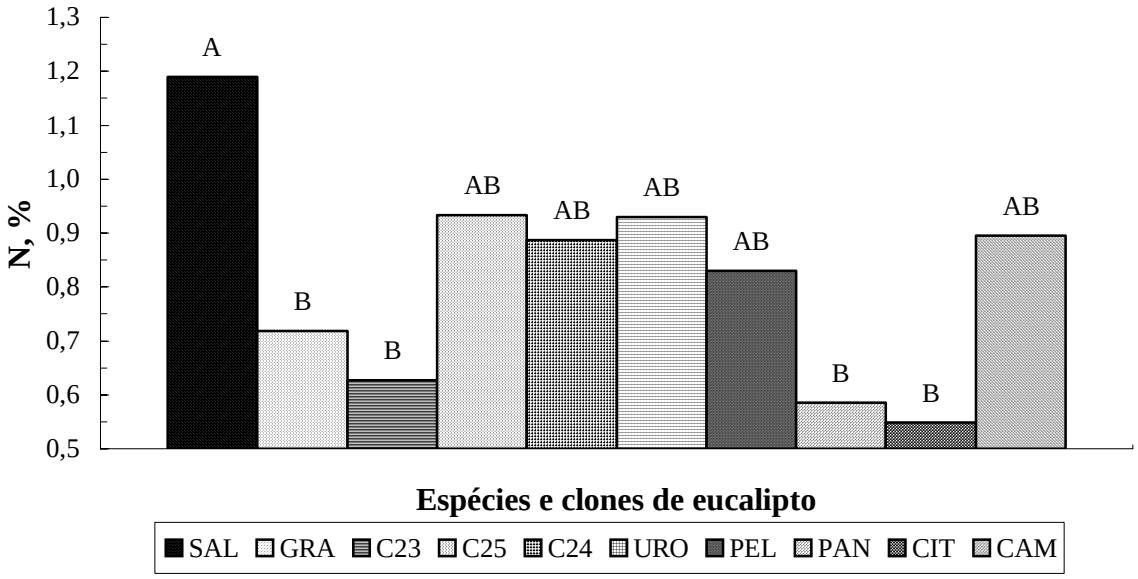

Figura 83. Teor de nitrogênio (N) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com o *L. edodes* (independente da linhagem). Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,457; CV(%)= 28,96.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 84 mostra a comparação de médias do teor de nitrogênio da casca do eucalipto em função do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada, após 8 meses de incubação. A maior média foi observada na casca de eucalipto sob influência da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*.

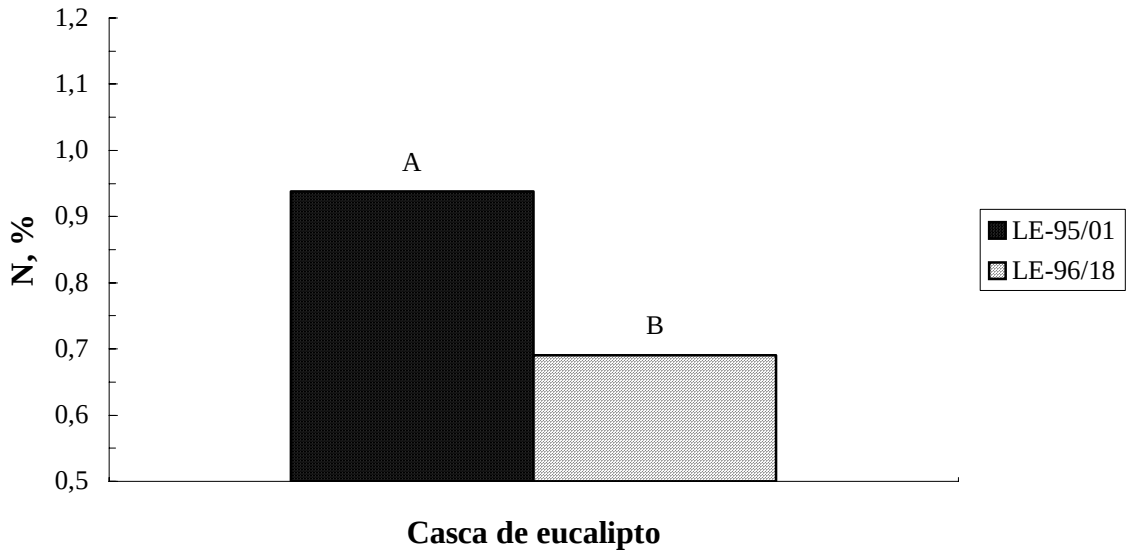

Figura 84. Comparação do teor de nitrogênio (N) da casca de eucalipto (em porcentagem), após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,123; CV(%)= 28,96.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 85 mostra a comparação de médias do teor de pentóxido de fósforo da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. Não houve diferenças significativas do teor de P_2O_5 na casca dos diferentes tipos de eucalipto avaliados.

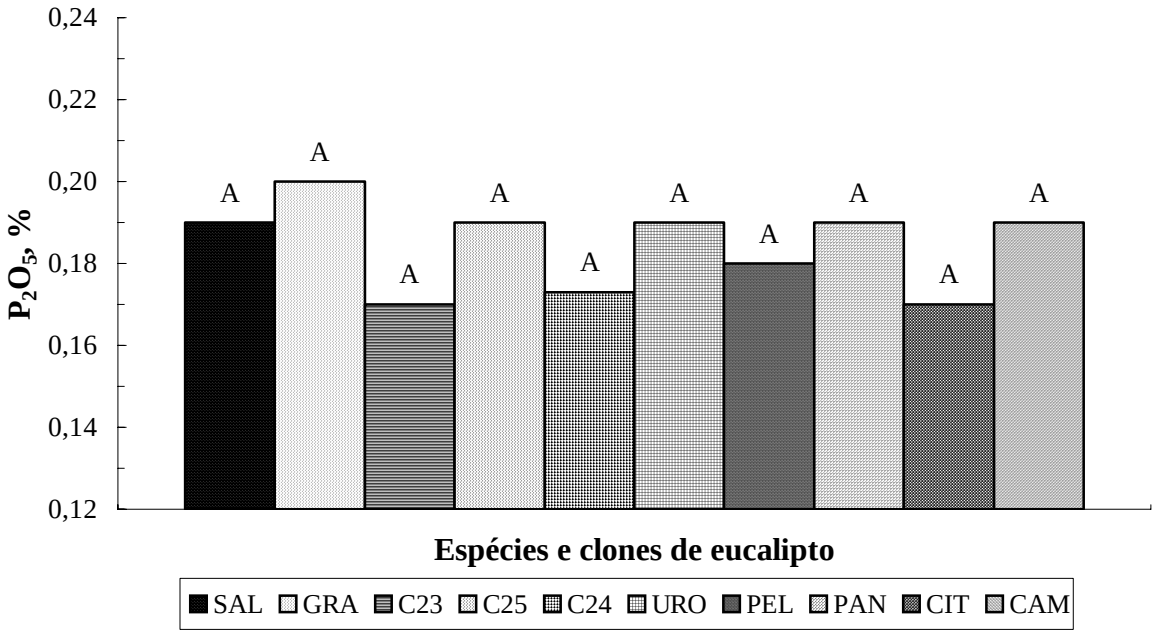

Figura 85. Teor de pentóxido de fósforo (P_2O_5) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,064; CV(%)= 13,0.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 86 mostra a comparação de médias do teor de pentóxido de fósforo (P_2O_5) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. saligna* e no *E. urophylla*. Médias intermediárias foram obtidas no *E. grandis*, clone 23, clone 25 clone 24 e no *E. camaldulensis*. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. citriodora*.

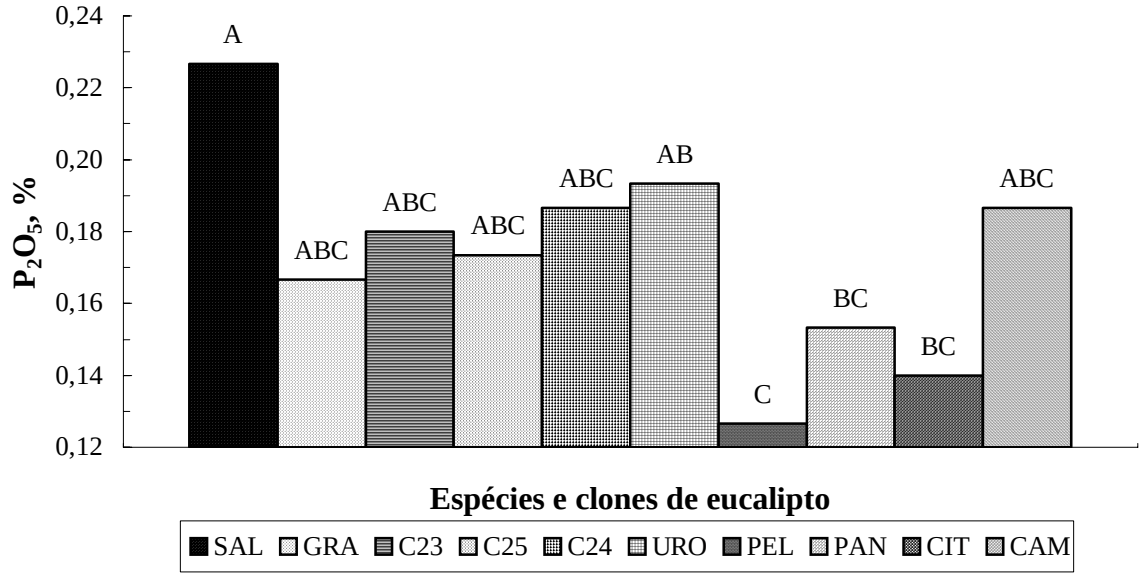

Figura 86. Teor de pentóxido de fósforo (P_2O_5) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,064; CV(%)= 13,0.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 87 é ilustrada a comparação do teor de pentóxido de fósforo (P_2O_5) da casca de dez tipos de eucalipto quando submetida a ação das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação. Os valores médios de teor P_2O_5 obtidos diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. pellita* e *E. paniculata*, sendo que para o *E. saligna* o teor de P_2O_5 sob efeito da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Já no *E. pellita* e *E. paniculata* o teor de P_2O_5 da casca sob efeito da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Nos demais tipos de eucalipto, o efeito do fungo no teor de P_2O_5 da casca tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si.

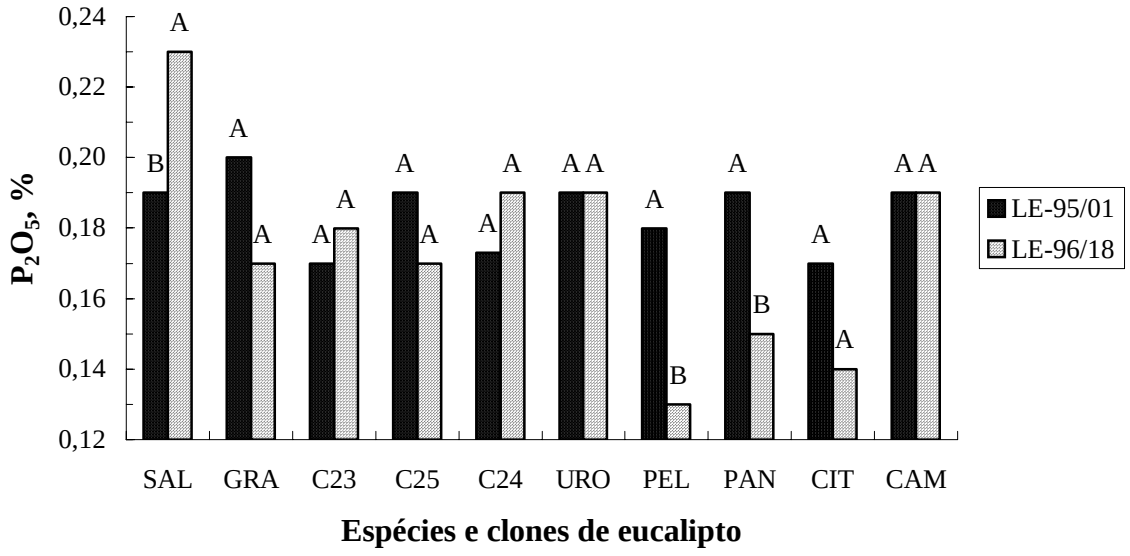

Figura 87. Comparação do teor de pentóxido de fósforo (P_2O_5) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,384; CV(%)= 13,0.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 88 mostra a comparação de médias do teor de monóxido de potássio (K_2O) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. Não houve diferenças significativas do teor de K_2O na casca dos diferentes tipos de eucalipto avaliados.

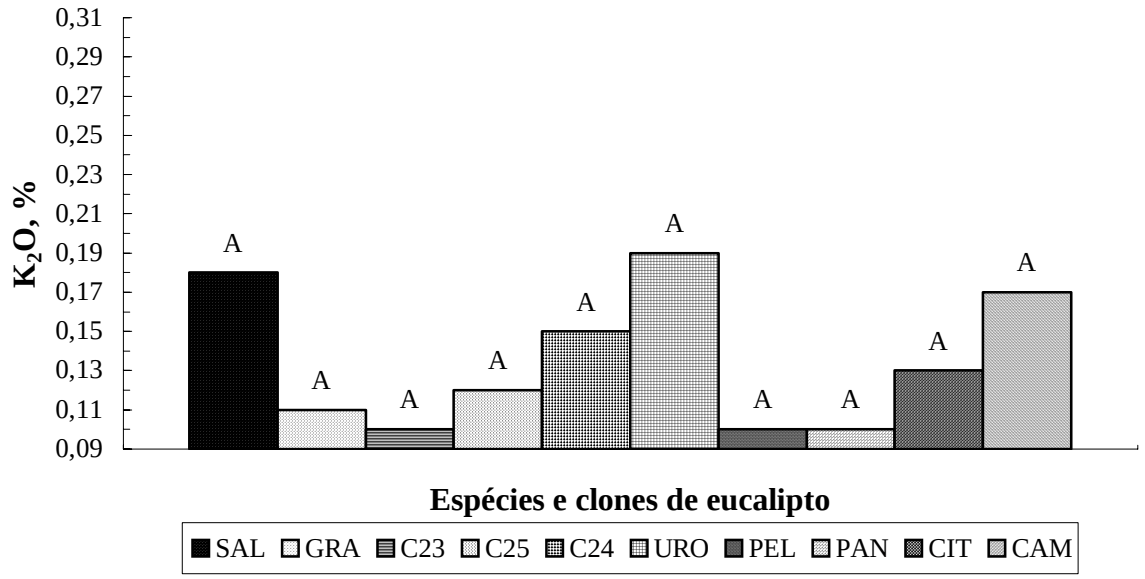

Figura 88. Teor de monóxido de potássio (K_2O) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,019; CV(%)= 25,02.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 89 mostra a comparação de médias do teor de monóxido de potássio da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. A maior média ocorreu no *E. camaldulensis*, o qual diferiu de todos os demais tipos de casca de eucalipto.

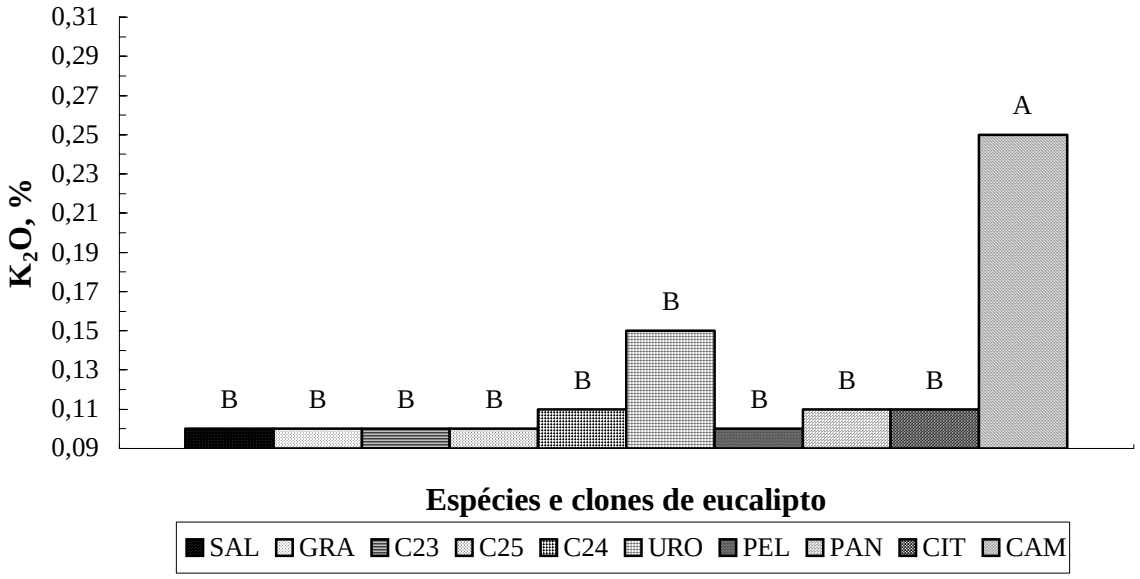

Figura 89. Teor de monóxido de potássio (K_2O) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,019; CV(%)= 25,02.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 90 é ilustrada a comparação do teor de monóxido de potássio (K_2O) da casca quando submetida a ação das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* em cada tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação. Os valores médios de teor K_2O diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna* e do *E. camaldulensis*, sendo que para o *E. saligna* o teor de K_2O sob efeito da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já no *E. camaldulensis* o teor de K_2O da casca sob efeito da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Nos demais tipos de eucalipto, o efeito do fungo no teor de K_2O da casca tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si.

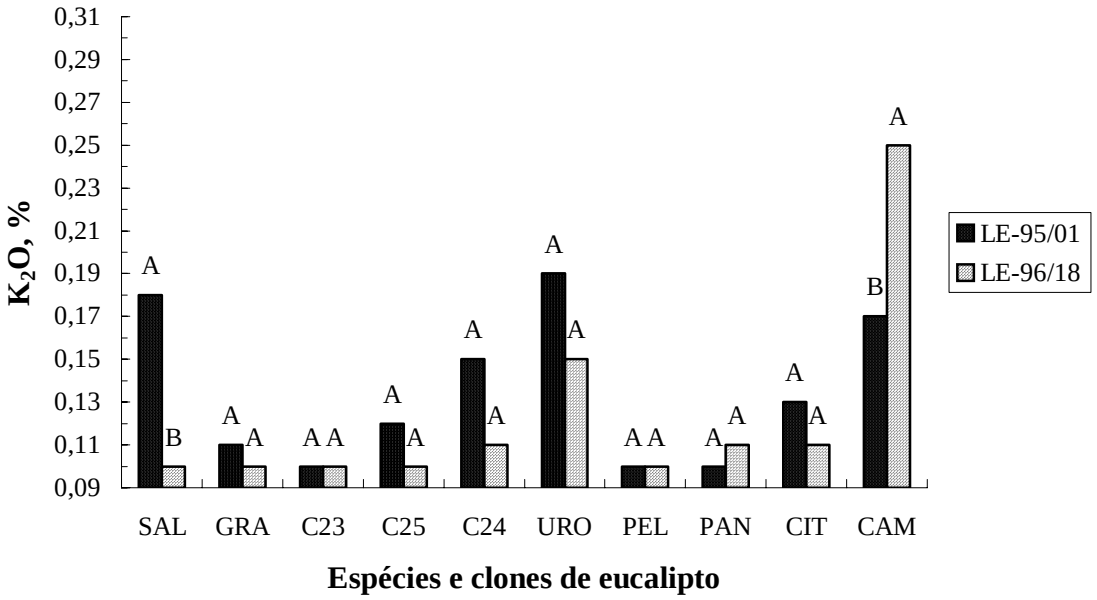

Figura 90. Comparação do teor de monóxido de potássio (K_2O) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,053; CV(%)= 25,02.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 91 mostra a comparação de médias do teor de carbono da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25 e no *E. pellita*. Por outro lado, a menor média foi observada no *E. camaldulensis*.

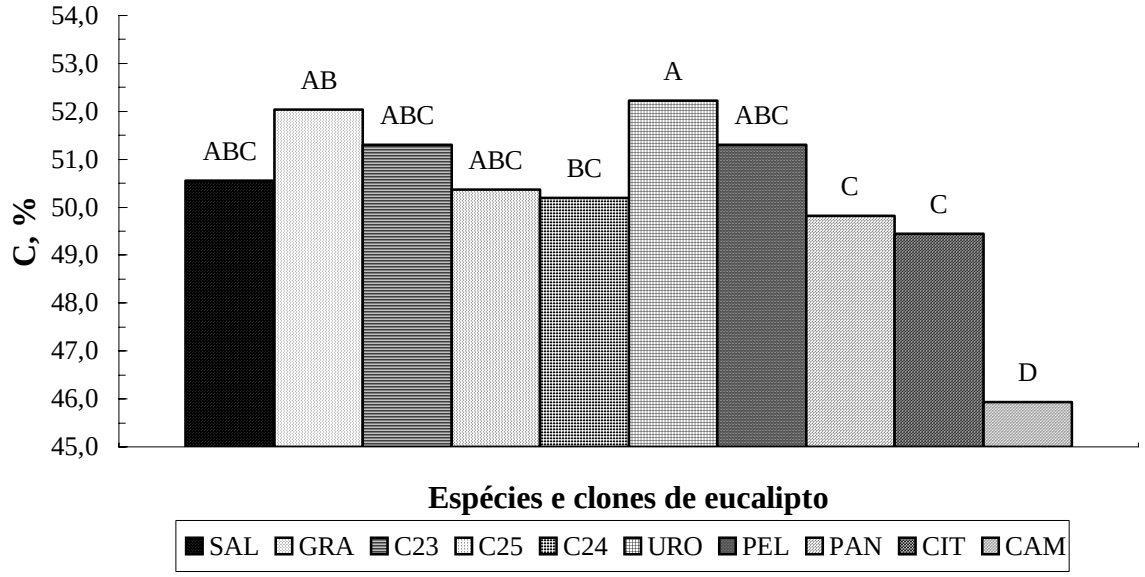

Figura 91. Teor de carbono (C) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,985; CV(%)= 1,45.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 92 mostra a comparação de médias do teor de carbono da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. citriodora*, *E. grandis*, *E. pellita* e no *E. paniculata*. Médias intermediárias foram obtidas no *E. saligna*, clone 23, clone 25 e no *E. urophylla*. Finalmente, as menores médias foram observadas no clone 24 e no *E. camaldulensis*.

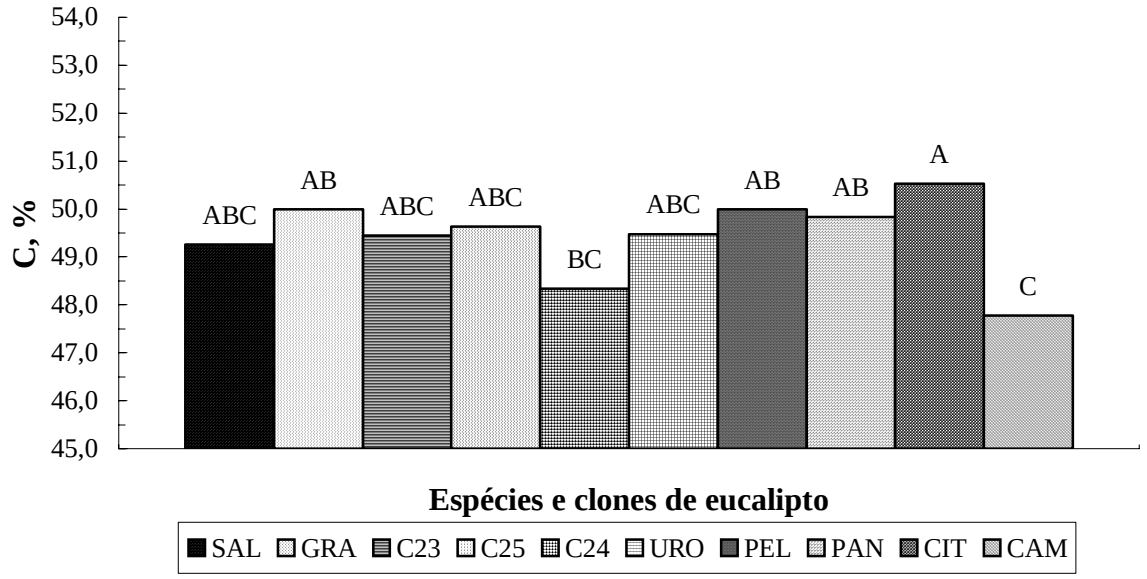

Figura 92. Teor de carbono (C) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,985; CV(%)= 1,45.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 93 é ilustrada a comparação do teor de carbono (C) da casca de dez tipos de eucalipto quando submetida a ação das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, após 8 meses de incubação. Os valores médios de teor carbono obtidos diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 24, *E. urophylla*, *E. pellita* e do *E. camaldulensis*, sendo que para o *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 24, *E. urophylla* e *E. pellita* o teor de carbono sob efeito da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Já no *E. camaldulensis* o teor de carbono da casca sob efeito da linhagem LE-96/18 foi superior ao da LE-95/01. Nos demais tipos de eucalipto, o efeito do fungo no teor de carbono da casca tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si.

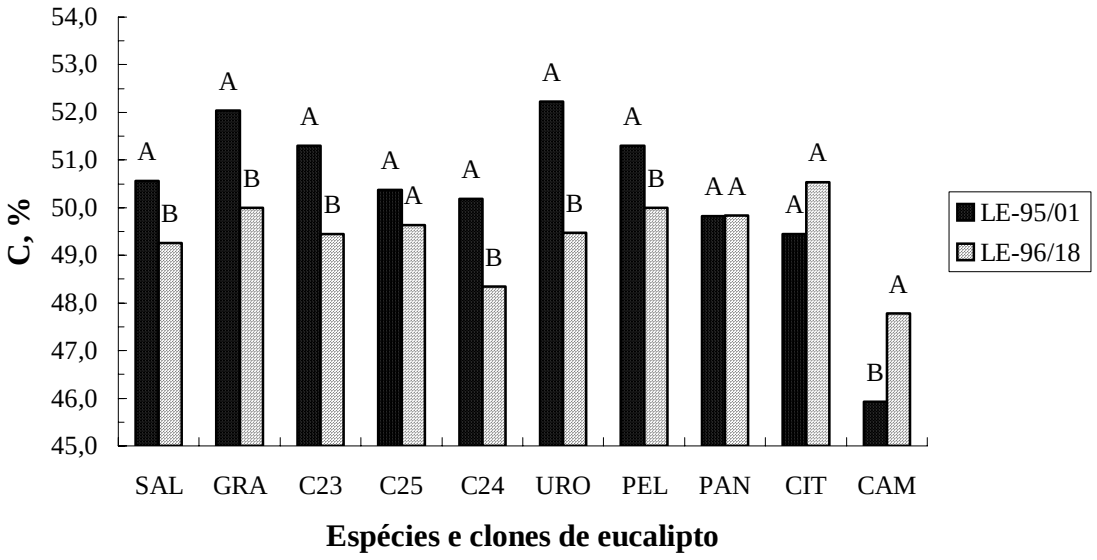

Figura 93. Comparação do teor de carbono (C) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 1,196; CV(%)= 1,45.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 94 mostra a comparação de médias do teor de cálcio da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. camaldulensis* e no clone 24. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. pellita*, *E. paniculata*, *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, *E. urophylla* e no *E. citriodora*.

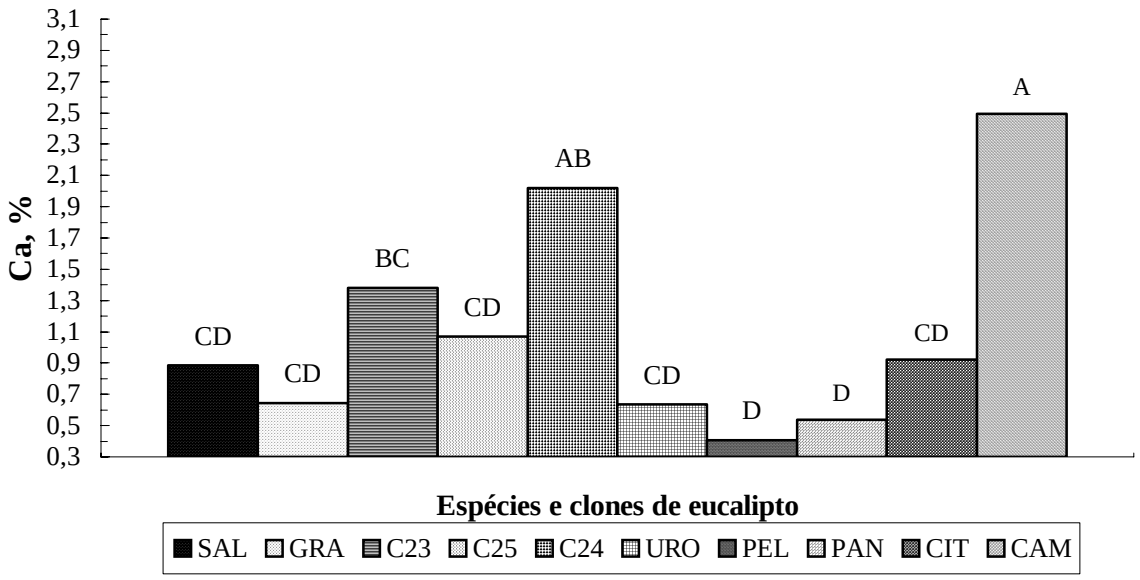

Figura 94. Teor de cálcio (Ca) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,819; CV(%)= 38,41.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 95 mostra a comparação de médias do teor de magnésio da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. camaldulensis*, clone 24 e no E. *paniculata*. Médias intermediárias foram observadas no clone 23 e no *E. urophylla*. Finalmente, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, *E. pellita* e no *E. citriodora*.

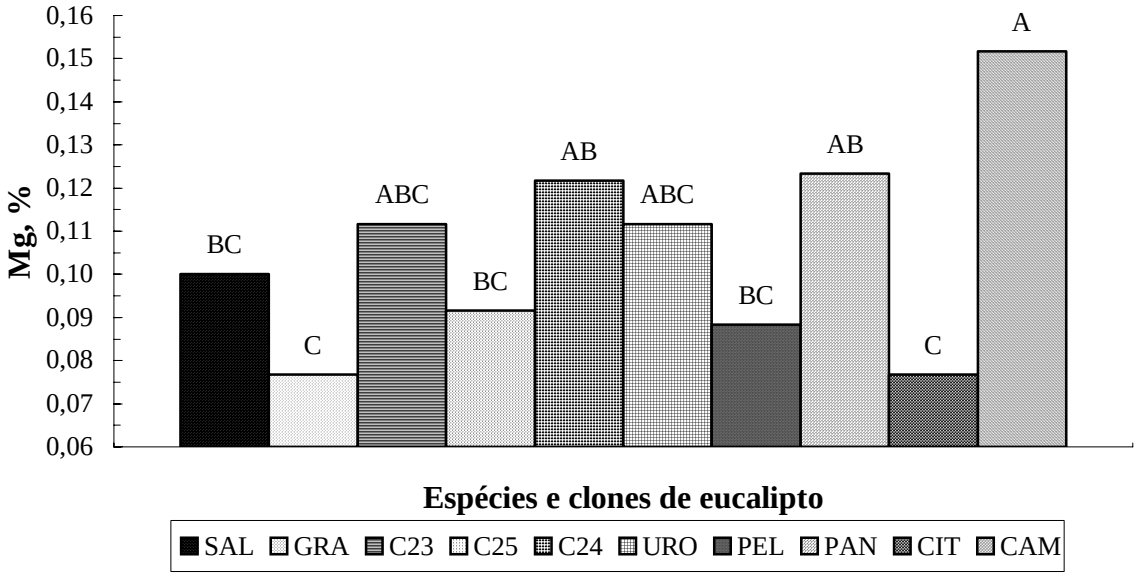

Figura 95. Teor de magnésio (Mg) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,044; CV(%)= 21,73.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 96 mostra a comparação de médias do teor de magnésio (Mg) da casca do eucalipto em função do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada, após 8 meses de incubação. Verificou-se que a maior média foi observada na casca de eucalipto sob influência da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*.

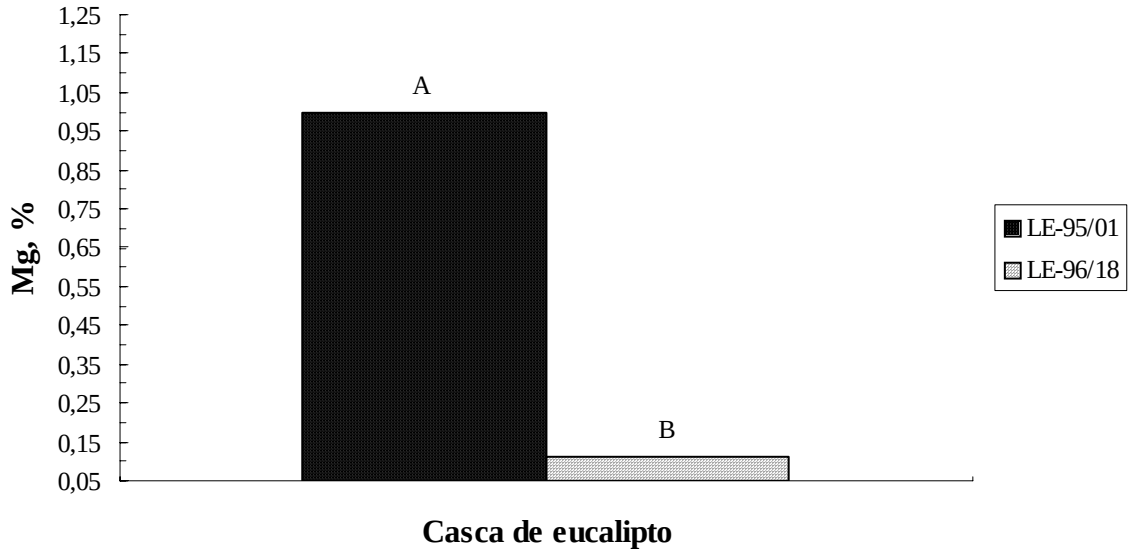

Figura 96. Comparação do teor de magnésio (Mg) da casca de eucalipto (em porcentagem) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,120; CV(%)= 21,73.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 97 mostra a comparação de médias do teor de enxofre da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. pellita*. Médias intermediárias foram obtidas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. paniculata* e no *E. camaldulensis*. Finalmente, a menor média foi observada no *E. citriodora*.

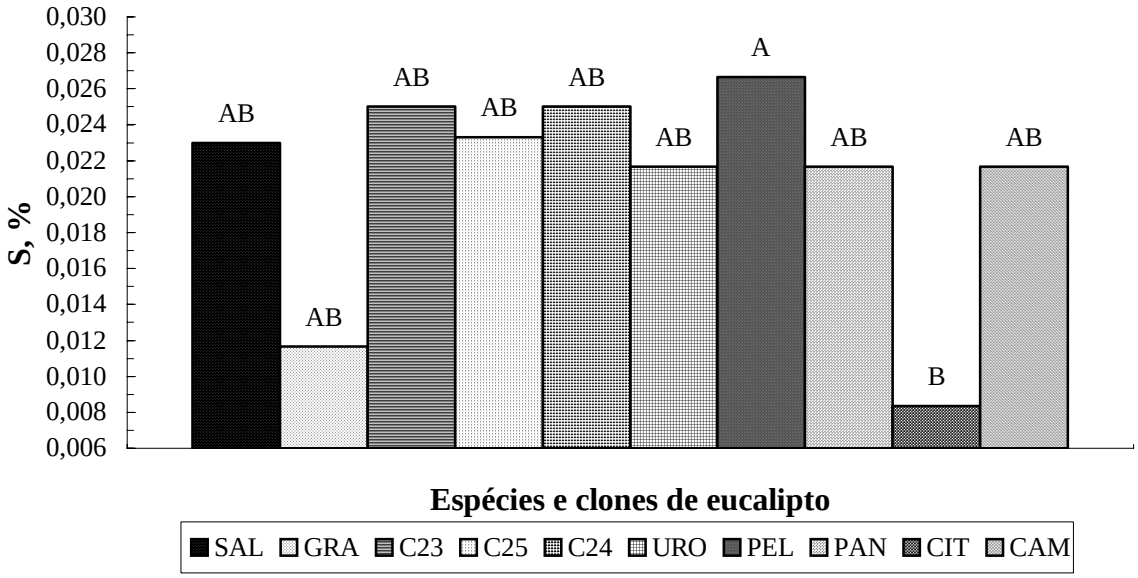

Figura 97. Teor de enxofre (S) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,017; CV(%)= 43,14.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 98 mostra a comparação de médias do teor de enxofre (S) da casca do eucalipto em função do tipo de linhagem de *L. edodes* inoculada, após 8 meses de incubação. Verificou-se que a maior média foi observada na casca de eucalipto sob influência da linhagem LE-95/01 de *L. edodes*.

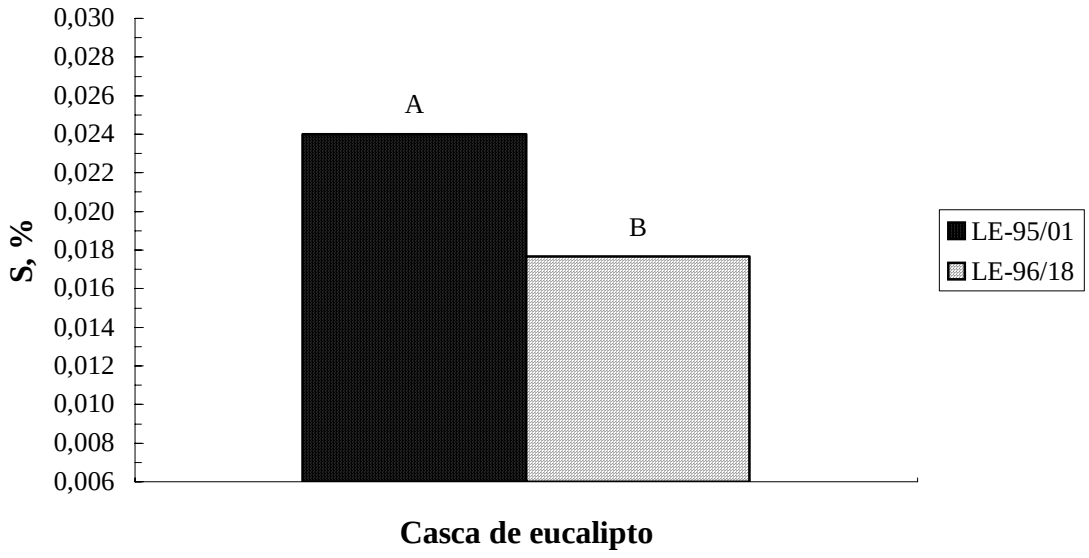

Figura 98. Comparação do teor de enxofre (S) da casca de eucalipto (em porcentagem) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,005; CV(%)= 43,14.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na tabela 28 encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de micronutrientes da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Verificou-se que houve efeito significativo do tipo de eucalipto para as variáveis Na, Cu, Mn e Zn. Já o efeito significativo de tipo de fungo foram observados nas variáveis Cu e Zn. Finalmente, houve efeito significativo da interação eucalipto x fungo para Cu e Zn.

Tabela 28. Valores de F obtidos na análise de variância de micronutrientes da casca de sete espécies (*E. saligna, E. grandis, E. urophylla, E. pellita, E. paniculata, E. citriodora e E. camaldulensis*) e três clones (híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis*) de eucalipto após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*.

Fator de variação	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
Eucalipto (E)	$2,55^{*}$	$4,21^{**}$	$1,80^{ns}$	$12,13^{**}$	$7,78^{**}$
Fungo (F)	$0,18^{ns}$	$84,21^{**}$	$0,76^{ns}$	$0,12^{ns}$	$39,86^{**}$
E x F	$0,42^{ns}$	$6,21^{**}$	$1,08^{ns}$	$1,11^{ns}$	$12,71^{**}$

**Significativo ao nível de 1%; *significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

Nas figuras 99 e 103 são ilustradas as comparações das médias dos teores de Na e Mn da casca, respectivamente, em função do tipo de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Já as figuras 102, e 106 ilustram a comparação de médias do teores de Cu e Zn da casca, respectivamente, em função da interação eucalipto x fungo. Devido as médias dos outros micronutrientes da casca, após 8 meses de incubação com o *L.*

edodes, não terem diferido significativamente entre si, não foram discutidas neste trabalho, apenas citadas no apêndice (Tabela 32).

A figura 99 mostra a comparação de médias do teor de sódio (Na) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. urophylla* e no *E. citriodora*. Médias intermediárias foram obtidas pelo *E. saligna*, clone 23, clone 25, clone 24, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. camaldulensis*. Finalmente a menor média foi obtida no *E. grandis*.

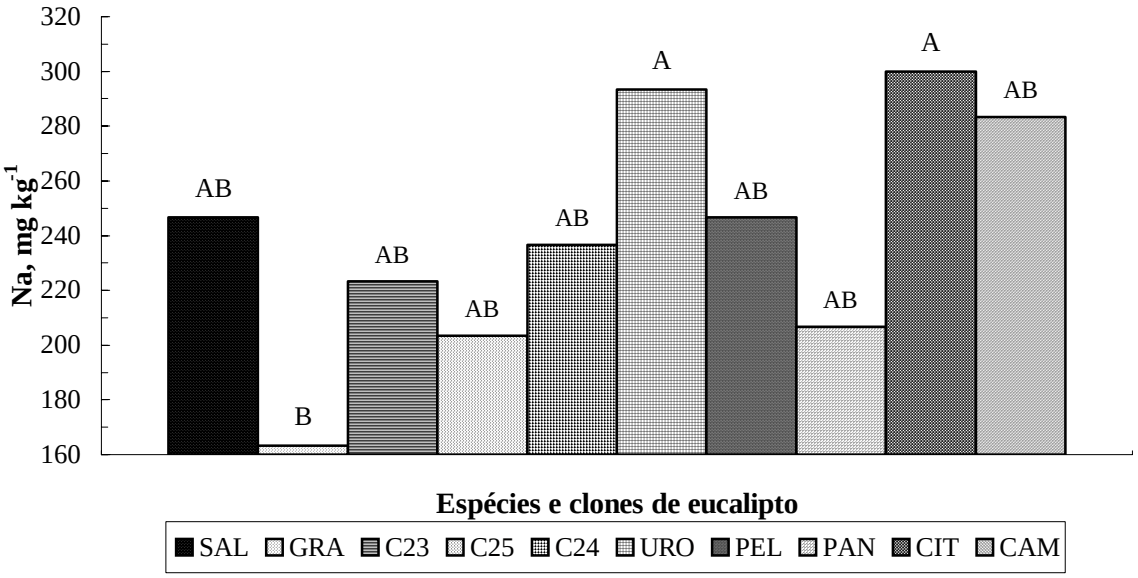

Figura 99. Teor de sódio (Na) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 129,37; CV(%)= 27,76.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 100 mostra a comparação de médias do teor de cobre (Cu) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. grandis*, *E. saligna* e no clone 25. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. paniculata*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis*, clone 23, clone 24, *E. urophylla* e no *E. pellita*.

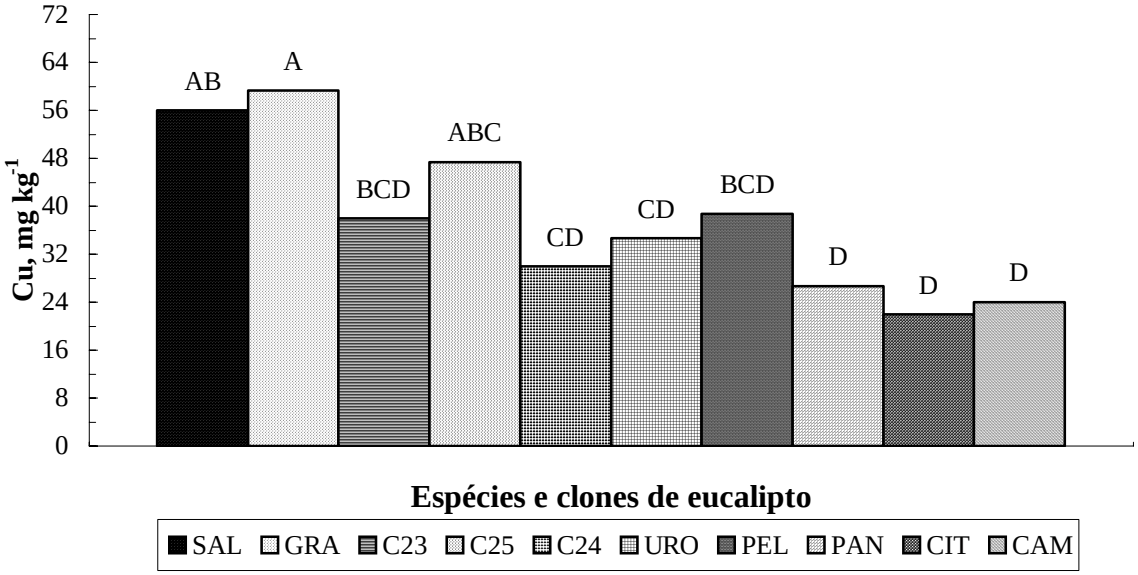

Figura 100. Teor de cobre (Cu) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 19,598; CV(%)= 24,48.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 101 mostra a comparação de médias do teor de cobre (Cu) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. Não houve diferença significativa entre as médias do teor de cobre dos diferentes tipos de casca.

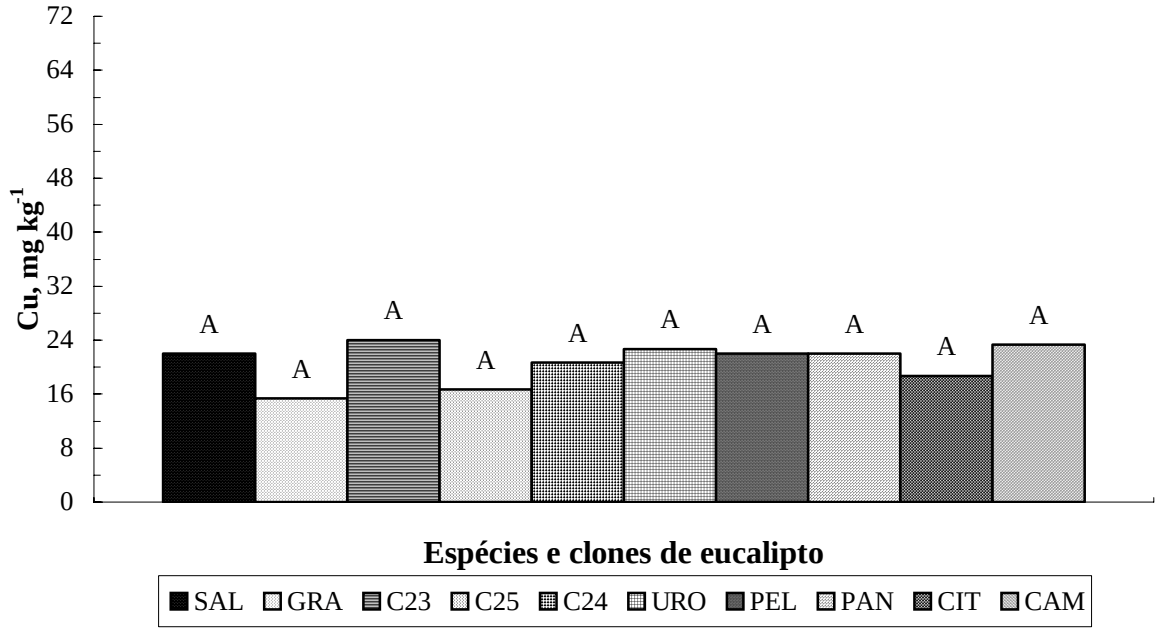

Figura 101. Teor de cobre (Cu) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 19,598; CV(%)= 24,48.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 102 é ilustrada a comparação do teor de cobre (Cu) da casca de dez tipos de eucalipto quando submetida a ação das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, após 8 meses de incubação. Verificou-se que os valores médios de teor cobre obtidos diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. grandis*, clone 23, clone 25, *E. urophylla*, *E. pellita* e do *E. camaldulensis*, sendo que para estes tipos de eucalipto o teor de cobre sob efeito da linhagem LE-95/01 foi superior ao da LE-96/18. Nos demais tipos de eucalipto (clone 24, *E. paniculata*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis*), o efeito do fungo no teor de carbono da casca tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si.

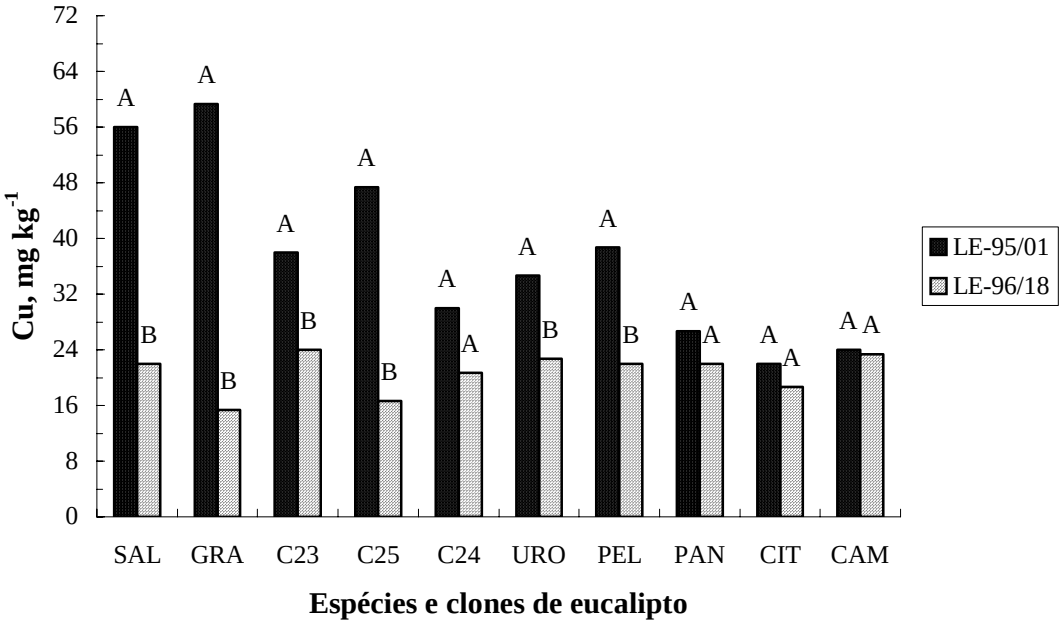

Figura 102. Comparação do teor de cobre (Cu) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 11,813; CV(%)= 1,45.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 103 mostra a comparação de médias do teor de manganês da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. camaldulensis*, a qual diferiu significativamente de todas as demais.

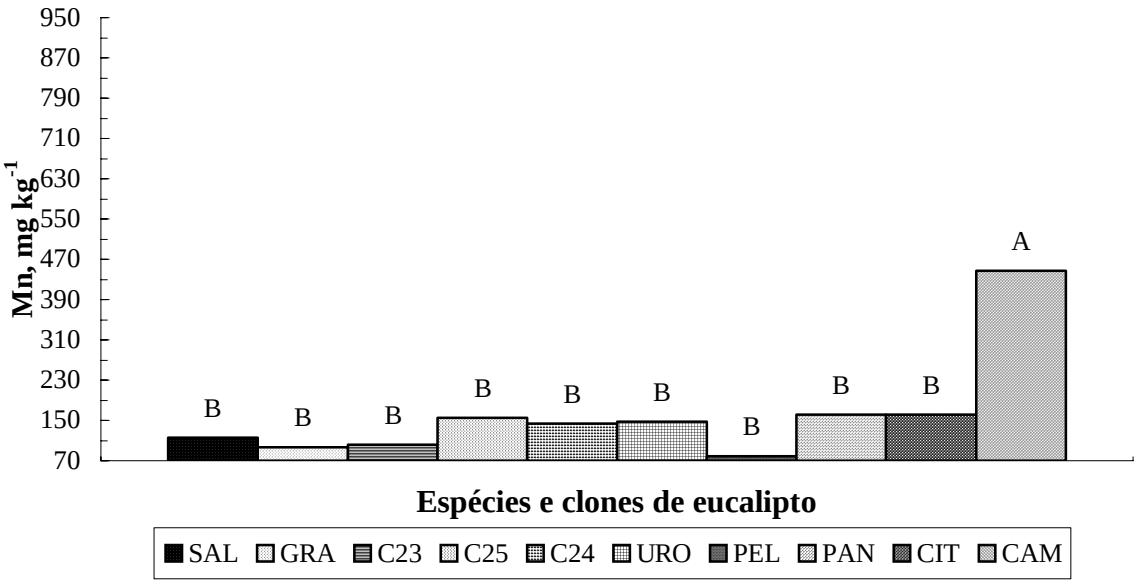

Figura 103. Teor de manganês (Mn) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com o *L. edodes*. Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 143,08; CV(%)= 45,81.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

A figura 104 mostra a comparação de médias do teor de zinco (Zn) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes*. As maiores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, e no clone 25. Por outro lado, as menores médias foram observadas no *E. paniculata*, clone 23, *E. urophylla*, *E. pellita*, *E. citriodora* e no *E. camaldulensis*.

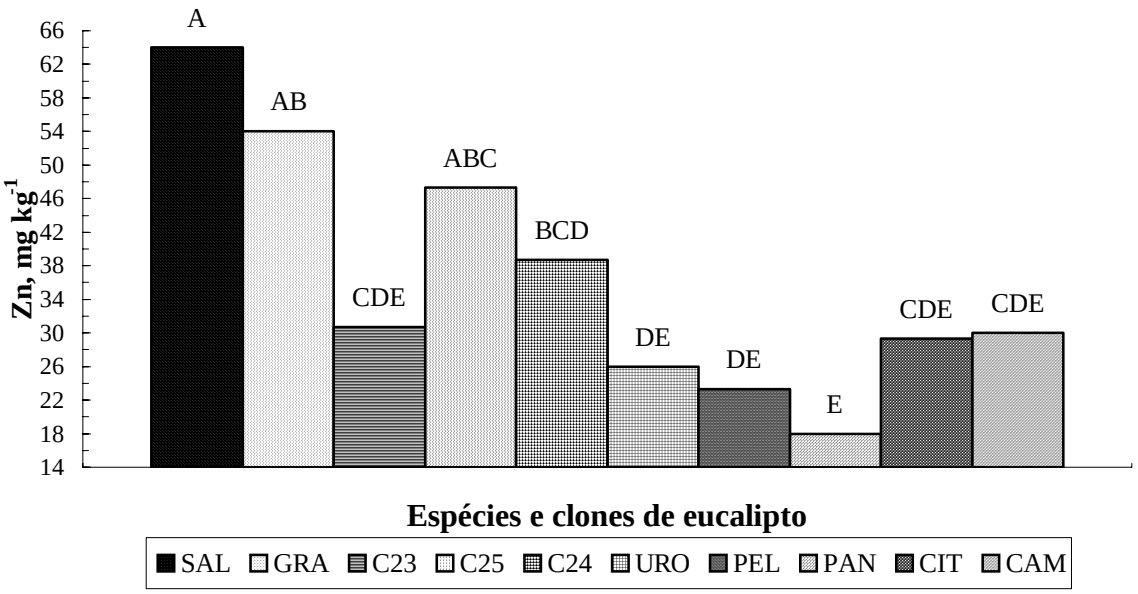

Figura 104. Teor de zinco (Zn) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-95/01 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 19,288; CV(%)= 23,14.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

A figura 105 mostra a comparação de médias do teor de zinco (Zn) da casca de dez tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes*. A maior média foi observada no *E. camaldulensis.* Média intermediária foi observada no clone 23. Finalmente, as menores médias foram observadas no *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24, *E. urophylla*, *E. pellita*, *E. paniculata* e no *E. citriodora*.

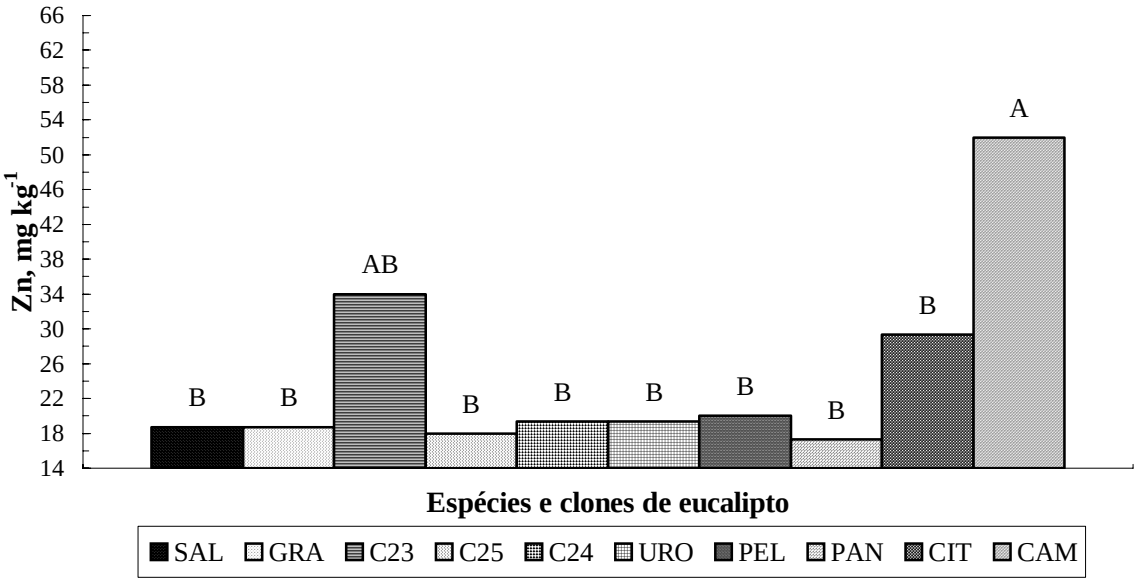

Figura 105. Teor de zinco (Zn) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com a linhagem LE-96/18 de *L. edodes.* Médias com letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 19,288; CV(%)= 23,14.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Na figura 106 é ilustrada a comparação do teor de zinco (Zn) da casca de dez tipos de eucalipto quando submetida a ação das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*, após 8 meses de incubação. Verificou-se que os valores médios de teor zinco obtidos diferiram significativamente entre si dentro do *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24 e do *E. camaldulensis*, sendo que para o *E. saligna*, *E. grandis*, clone 25, clone 24 o teor de zinco sob efeito da linhagem LE-95/01 foi superior ao da linhagem LE-96/18. Já no *E. camaldulensis* o teor de zinco sob efeito da linhagem LE-96/18 foi superior ao da linhagem LE-95/01. Finalmente, nos demais tipos de eucalipto (clone 23, *E. urophylla*, *E. pellita*, *E. paniculata* e *E. citriodora*) o efeito do fungo no teor de zinco da casca tiveram comportamentos semelhantes, não diferindo significativamente entre si.

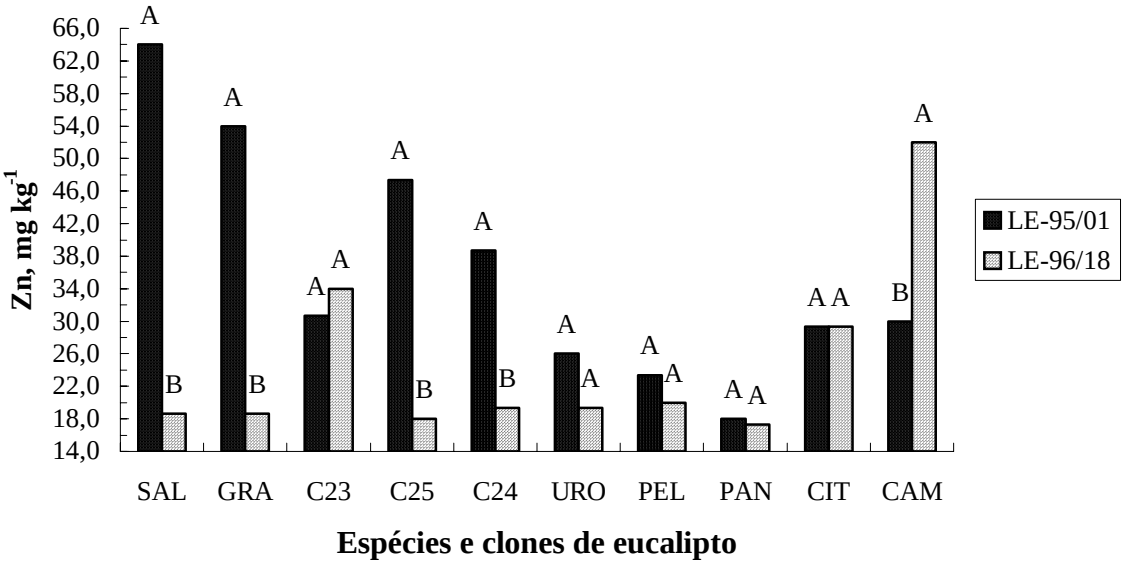

Figura 106. Comparação do teor de zinco (Zn) da casca (em porcentagem) de *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de incubação com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Médias com letras iguais, dentro de um mesmo tipo de eucalipto, não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 11,627; CV(%)= 23,14.

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e de acordo com a condução dos experimentos propostos, conclui-se que:

- O meio de cultura que proporcionou as maiores médias de crescimento micelial das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes* foi à base de extrato de serragem de *E. citriodora*.
- A linhagem LE-96/18 obteve médias de crescimento micelial superiores às da linhagem LE-95/01 em todos os meios de cultura avaliados.
- As linhagens LE-96/17, LE-96/18, LE-98/47, LE-95/02 e LE-95/07 obtiveram as maiores médias de crescimento micelial no meio de cultura à base de extrato de serragem de *Eucalyptus* spp.
- O *E. saligna*, *E. citriodora* e *E. camaldulensis* proporcionaram as maiores médias de produtividade do *L. edodes* ao final do ciclo de produção.

- A linhagem LE-96/18 de *L. edodes*, ao final do ciclo de cultivo, obteve maior média de massa fresca de basidiomas que a LE-95/01, quando cultivadas em toras de *E. citriodora* e *E. camaldulensis*. Já nos demais tipos de eucalipto, estas linhagens obtiveram resultados semelhantes entre si.

- As análises bromatológicas (proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta) das linhagens LE-95/01 e LE-96/18 do *L. edodes* demonstraram sofrer influência da interação eucalipto x fungo.

- A densidade básica da madeira, ao logo do ciclo de cultivo, foi reduzida em todos os tipos de eucalipto.

- Houve aumentos nas médias dos teores de extrativos totais e da lignina devido a degradação da holocelulose da madeira pelas linhagens de *L. edodes* ao longo do ciclo de cultivo.

- O teor de N na madeira, embora tenha sido inicialmente igual em todos os tipos de eucalipto, após 8 meses de incubação com o *L. edodes*, verificou-se que este foi influenciado pela interação eucalipto x fungo. Fato semelhante ocorreu com o P_2O_5 e o Zn nas amostras de casca.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, F. A. **Efeitos de fungos contaminantes na produção de shiitake (*Lentinula edodes* (Berk) Pegler) em toras de *Eucapyptus saligna* Sm.** 1999. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

ANDRADE, M. C. N.; TARSITANO, M. A. A.; GRACIOLLI, L. A.; SANT'ANA, A. L.; NEVES, C. Q. Análise de um sistema de produção do cogumelo comestível shiitake na região de Ilha Solteira – SP. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 11, n. 1, p. 109-123, 2002.

ANDRADE, M. C. N. **Controle de fungos contaminantes no cultivo do cogumelo comestível Shiitake (*Lentinula edodes*) em toros de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*).** 2003. 54 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Sistemas de Produção)–Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2003.

ANDRADE, M. C. N.; GRACIOLLI, L. A. Controle de fungos contaminantes no cultivo do cogumelo comestível shiitake em toros de eucalipto. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 293-299, 2005.

BADHAM, E. R. Growth and competition between Lentinula edodes and *Trichoderma harzianum* on sawdust substrates. **Mycologia**, New York, v. 83, n. 4, p. 455-463, 1991.

BARROS, N. F. **Relação solo-planta**. Viçosa: Folha de Viçosa, 1990. 330 p.

BARRICHELO, L. E. G.; BRITO, J. O. **Química da madeira**. Piracicaba: ESALQ, 1985. 125p.

BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M.; TRUFEM, S. F. B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995. 206 p.

BOYLE, C. D. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. **Soil Biology & Biochemistry**, Exeter, v. 30, p. 817-823, 1998.

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

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

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

CHEN, A. W. What is shiitake? In: _____. ***L. edodes* cultivation**. Korea: MushWord, 2005. cap. 1, p. 3-32.

CRAWFORD, R. L. **Lignin biodegradation and transformation**. New York: Wiley, 1981. 154p.

CRESTINI, C.; SERMANNI, G.; ARGYROPOULOS, D. Structural modifications induced during biodegradation of wheat lignin by *Lentinula edodes*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, Kidlington, v. 6, p. 967-973, 1998.

CRISAN, E. V.; SANDS, A. Nutritional value. In: CHANG, S. T.; HAYES, W. A. (Eds.). **The biology and cultivation of edible mushrooms**. New York: Academic, 1978. p. 137-165.

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

DONINI, L. P. et al. *In vitro* development of *Agaricus brasiliensis* in media supplemented with different brans. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 41, n. 6, p. 995-999, 2006.

DONINI, L.P. et al. Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivo do Instituto Biológico,** São Paulo, v. 72, n. 3, p. 331-338, 2005.

EIRA, A. F.; MONTINI, R. M. C. **Manual teórico prático de cultivo de cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler).** Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 38 p.

ERIKSSON, K.-E.; BLANCHETTE, R. A.; ANDER, P. **Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components**. Berlin: Springer-Verlag, 1990. 416 p.

FERREIRA, M. Variação da densidade básica da madeira de povoamentos comerciais de *Eucalyptus grandis* Hill ex-Maiden nas idades de 11, 12, 13, 14 e 16 anos. **IPEF**, Piracicaba, n. 4, p. 65-89, 1972.

FOELKEL, C. E. B.; BARRICHELO, L. E. G.; MILANEZ, A. F. Estudo comparativo da madeiras de *Eucalyptus saligna, E. paniculata, E. citriodora, E. maculata e E. tereticornis* para produção de celulose sulfato. **IPEF**, Piracicaba, n. 10, p. 17-37, 1975.

FOELKEL, C. E. B. Rendimentos em celulose sulfato de *Eucalyptus* spp em função do grau de deslignificação e da densidade da madeira. **IPEF**, Piracicaba, n. 9, p. 61-77, 1974.

GONZAGA, J. V. et al. Qualidade da madeira e da celulose kraft branqueada de treze espécies de *Eucalyptus*. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CELULOSE E PAPEL, 3. 1983, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ABTCP, 1983. p. 7-29.

GUGLIOTA, A. M.; CAPELARI, M. Taxonomia de basidiomicetos. In: BONONI, V. L. R. (Org.). **Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos**: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. São Paulo: Instituto de Botânica; Secretaria do Estado do Meio Ambiente, 1998. cap. 3, p.69-106.

HARRIS, B. **Growing shiitake commercially.** 2nd ed. Tennessee: Foundation Publications, 1993. v. 2, 71 p.

HATVANI, N. Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinula edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 17, n. 1, p. 71-74, 2001.

KERRIGAN, R. W. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. **Mycologia**, v. 97, n. 1, p. 12-24, 2005.

KOPYTOWSKI FILHO, J. **Produtividade e eficiência biológica de *Agaricus blazei* (Murrill) Heinemann, em diferentes condições de cultivo.** 2006. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura)–Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

KWON, H.; HOBBS, C. Nutritional and medicinal values of Shiitake. In: _____. **Shiitake cultivation**. Korea: MushWord. cap. 1, 2005, p. 17-28.

LAHMANN, O.; RINKER, D. L. **Historical development of commercial mushroom production in central and South America**. In: PROCEEDINGS PHASE OF A SHIITAKE (*Lentinula edodes*) CULTURE, v. 3. New York: Marcel Dekker, 1991. p.221-40.

LANARV. Laboratório de Referência Vegetal. **Análise de fertilizantes e inoculantes**: métodos oficiais. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1988. 104 p.

LEATHAN, G. F. Cultivation of shiitake, the Japanese forest mushroom, on logs: a potential industry for the United States. **Forest Products Journal**, Madison, v. 32, n. 8, p. 29-35, 1982.

LEVANON, D.; ROTHSCHILD, N.; MASAPHY, S. Bulk treatment of substrate for the cultivation of Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) on straw. **Bioresource Technology**, Essex, v. 45, p. 63-64, 1993.

MAIO, C. S. S. et al. Influência da composição do substrato na velocidade de crescimento do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. **Trabalhos completos...** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <http://www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos_completos/t218.doc>. Acesso em: 29 nov. 2006.

MAKI, C. S. et al. Analyses of genetic variability in *Lentinula edodes* through mycelia responses to different abiotic conditions and RAPD molecular markers. **Brazilian journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, p. 170-175, 2001.

MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L. Betaglucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, Oxford, v. 68, n. 3, p. 315-318, 2000.

MASON, C. F. **Decomposição.** São Paulo: EPU; EUSP, 1980. 63 p.

MATHEUS, D. R.; OKINO, L. K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V. L. R. (org.). **Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. São Paulo: Instituto de Botânica; Secretaria do Estado do Meio Ambiente, 1998. cap. 4, p. 106-109.

MENIN, A. M. et al. Efeito do óleo essencial, da serragem e do extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* no crescimento micelial de *Lentinula edodes*. 2000. Disponível em: <http://www.cca.uem.br/anu7300.htm>. Acesso em: 29 nov. 2006.

MILES, P. G; CHANG, S. T. **Mushroom biology-concise basics and current developments.** London: World Scientific, 1997. 177 p.

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

MIRANDA, C. R. E.; BARRICHELO, L. E. G. Celulose de madeira de *E. citriodora*: influência do tamanho de cavacos. **O Papel**, São Paulo, v. 52, n. 12, p. 119-139, 1991.

MIZUNO, T. Shiitake, *Lentinus edodes*: functional properties for medicinal and food purposes. **Food Reviews International**, Monticello, v. 11, p. 111-128, 1995.

MONTINI, R. M. C. **Produtividade de shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), no primeiro choque de indução, em função de características dos toros do *Eucalyptus saligna*, Sm, variáveis do ambiente e período de incubação**. 1997. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

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

OEI, P. **Mushroom cultivation**. 3rd ed. The Netherlands: Backhuys Publishers, 2005. 429 p.

ÖZÇELIK, E.; PEKSEN, A. Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 14, p. 2652-2658, 2006.

PANSHIN, A. J.; DEZEEUW, C. **Textbook of wood technology**. 3rd ed. New York: McGraw Hill, 1980. 722 p.

PETTERSEN, R. C. The chemical composition of wood. In: ROWELL, R. (Ed.). **The chemistry of solid wood.** Washington: American Chemical Society, 1984. p. 54-126.

PHILIPPOUSSIS, A.; DIAMANTOPOULOU, P.; ZERVAKIS, G. Monitoring of mycelium growth and fructification of *Lentinula edodes* on several lignocellulosic residues. In: SÁNCHEZ, J. E.; HUERTS, G.; MONTIEL, E. (Eds.), **Mushroom biology and mushroom products.** Cuernavaca: UAEM, 2002. p. 279-287.

PRZYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. **L. edodes grower's handbook**: the art and science of mushroon cultivation. Dubuque: Kendall, 1990. 217 p.

QUEIROZ, E. C. **Efeito da suplementação mineral na conversão de energia e produtividade do Shiitake em toros de eucalipto.** 2002. 73 f. Dissertação (Mestrado em

Agronomia/ Energia na Agricultura)–Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

RAYNER, A. D. M.; BODDY, L. **Fungal decomposition in wood: it is biology and ecology**. New York: John Wiley, 1988. 587 p.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Biopotencialites of basidiomacromycetes. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 37, p. 233-361, 1992.

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

ROYSE, D. J. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. **Mycologia**, New York, v. 77, p. 756-762, 1985.

ROYSE, D. J.; SANCHEZ-VAZQUEZ, J. E. Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield**. Bioresource Technology**, Essex, v. 76, n. 3, p. 229-233, 2001.

ROYSE, D. J.; SANCHEZ-VAZQUEZ, J. E. Influence of precipitated calcium carbonate ($CaCO_3$) on shiitake (*Lentinula edodes*) yield and mushroom size. **Bioresource Technology**, Essex, v. 90, p. 225-228, 2003.

SAN ANTONIO, J. P. Cultivation of the shiitake mushroom. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 2, p. 151-156, 1981.

SANT'ANNA, A. **Cultivo do cogumelo shiitkake *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler em serragem e em toras de eucalipto.** 1998. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/ Microbiologia Aplicada)–Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1998.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. et al. Efeito do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 20., 1997, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Summa Phytopathologica, 1997. p.62.

SHIBATA, C. K. R.; DEMIATE, I. M. Cultivo e análise da composição química do cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril). **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 21-32, jun. 2003.

SHIMOYAMA, V.R. **Variações da densidade básica e características anatômicas e químicas da madeira em *Eucalyptus* sp**. 1990. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 2002. 235 p.

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

SILVA, J. C. Eucalipto: pesquisa amplia usos: perspectivas do setor florestal brasileiro. **Revista da Madeira**, São Paulo, v. 13, n. 75, p. 4-6, 2003.

SNEDECOR, G. W. E.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 6th ed. Ames: Iwoa State University Press, 1972. 325 p.

SOUZA, A. P.; DELLA LUCIA, R. M.; RESENDE, G. C. Estudo da densidade básica da madeira de *Eucalyptus microcorys*. F. Muell, cultivado na região de Dionísio, MG. **Revista Árvore**, Viçosa, v.3., n.1, p.16-27, 1979.

STAMETS, P.; CHILTON, J. S. **The mushroom cultivator**. Washington: Agarikon, 1983. 415 p.

TARUI, H. P. **Colonização de serragens e produção de basidiocarpos em diferentes espécies de eucalipto, pelo cogumelo comestível *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (shiitake).** 1997. 44 p. Monografia (Curso)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

TEIXEIRA, E. M. **Caracterização isoenzimática e molecular de *Lentinula edodes* e avaliação da produção em função da espécie de eucalipto e clima**. 2000. 123 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia/ Biotecnologia)–Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

TOKIMOTO, K. Shiitake log cultivation. In: _____. **Shiitake cultivation**. Korea: MushWord, 2005. cap. 3, p. 56-87.

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

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

URBEN, A. F. Morphological and physiological characterization of both *Agaricus blazei* Murril and *Agaricus sylvatiucs* Schaeffer accessions. In: THE 3RD INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON JUNCAO INDUSTRY DEVELOPMENT & THE 6TH CHINA JUNCAO TECHNOLOGY POVERTY ALLEVIATION SYMPOSIUM. **Proceedings**…Yinchuan-China, 2005.

WASSER, S. P.; WEIS, A. L. Medicional properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspective (review). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, New York, v. 1, p. 31-62, 1999.

YANG, J. H.; LIN, H. C.; MAU, J. L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. **Food Chemistry**, Oxford, v. 77, n. 2, p. 229-235, 2002.

ZADRAZIL, F.; GRABBE, K. Edible mushrooms. **Biotechnology**, Weinhein, v. 3, n. 1, p. 145-187, 1983.

APÊNDICE

Tabela 29. Resultados da análise de nutrientes da madeira (sem casca) do *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), logo após o corte. Os resultados de macronutrientes (N, P_2O_5, K_2O, C, Ca, Mg e S) estão em porcentagem e os resultados de micronutrientes (Na, Cu, Fe, Mn e Zn) estão em mg/kg.

Eucaliptos	N	P_20_5	K_2O	C	Ca	Mg	S	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
SAL	0,19	0,03	0,06	53,85	0,03	0,02	0,00	153,33	0,00	56,00	7,33	12,00
GRA	0,18	0,02	0,06	53,65	0,02	0,01	0,00	150,00	0,00	49,33	4,00	3,00
C23	0,15	0,02	0,06	53,55	0,02	0,02	0,00	196,67	18,67	39,00	7,33	94,33
C25	0,17	0,02	0,06	53,12	0,03	0,02	0,00	136,67	0,00	36,00	3,67	2,33
C24	0,17	0,04	0,08	53,65	0,02	0,02	0,00	190,00	10,33	53,33	13,00	62,67
URO	0,16	0,03	0,04	53,65	0,01	0,01	0,00	240,00	18,67	34,00	4,00	87,67
PEL	0,18	0,03	0,06	53,37	0,07	0,02	0,00	223,33	13,00	20,33	9,33	57,00
PAN	0,17	0,04	0,07	53,93	0,04	0,02	0,00	200,00	20,00	25,33	29,67	83,33
CIT	0,21	0,04	0,07	53,18	0,06	0,02	0,00	393,33	12,00	30,67	21,33	56,67
CAM	0,18	0,04	0,08	53,28	0,03	0,01	0,00	216,00	4,00	56,67	25,00	5,00

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Tabela 30. Resultados da análise de nutrientes da casca do *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM), logo após o corte. Os resultados de macronutrientes (N, P_2O_5, K_2O, C, Ca, Mg e S) estão em porcentagem e os resultados de micronutrientes (Na, Cu, Fe, Mn e Zn) estão em mg/kg.

Eucaliptos	N	P_20_5	K_2O	C	Ca	Mg	S	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
SAL	0,26	0,08	0,27	49,54	2,90	0,76	0,01	496,67	6,00	72,67	227,33	64,00
GRA	0,23	0,07	0,28	50,65	2,73	0,68	0,00	420,00	0,00	64,67	146,67	43,83
C23	0,25	0,02	0,27	49,17	2,86	0,66	0,00	653,33	4,00	65,00	861,33	44,00
C25	0,27	0,03	0,22	50,10	2,90	0,72	0,00	586,67	0,33	74,67	247,33	46,33
C24	0,24	0,02	0,20	50,38	3,44	0,93	0,00	683,33	0,67	103,00	207,67	36,33
URO	0,26	0,03	0,23	50,84	1,99	0,51	0,00	643,33	16,33	104,00	250,33	47,33
PEL	0,30	0,02	0,18	50,75	1,39	0,39	0,00	610,00	10,67	104,67	181,67	27,33
PAN	0,27	0,01	0,20	40,36	1,97	0,42	0,00	436,67	25,33	82,67	265,67	42,67
CIT	0,22	0,01	0,19	40,08	1,87	0,35	0,00	236,67	13,33	26,00	351,00	76,67
CAM	0,23	0,04	0,24	48,62	3,02	0,68	0,01	460,00	19,00	60,67	550,67	51,33

*Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Tabela 31. Resultados da análise de nutrientes da madeira (sem casca) do *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de cultivo com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Os resultados de macronutrientes (N, P_20_5, K_2O, C, Ca, Mg e S) estão em porcentagem e os resultados de micronutrientes (Na, Cu, Fe, Mn e Zn) estão em mg/kg.

Tratamentos	N	P_20_5	K_2O	C	Ca	Mg	S	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
T1	0,83	0,04	0,08	50,40	0,04	0,04	0,00	320,00	28,00	17,33	49,33	41,67
T2	0,43	0,04	0,03	50,20	0,01	0,01	0,00	246,67	25,33	17,33	10,67	40,00
T3	0,45	0,04	1,34	50,20	0,04	0,02	0,00	260,00	36,67	17,33	13,33	41,33
T4	0,31	0,04	0,03	50,20	0,01	0,04	0,00	246,67	26,00	14,67	12,67	34,00
T5	0,25	0,05	0,07	50,20	0,09	0,04	0,00	326,67	32,00	26,67	66,00	40,00
T6	0,48	0,03	0,04	50,80	0,03	0,02	0,00	266,67	38,67	33,33	51,33	176,00
T7	0,36	0,03	0,03	50,23	0,02	0,02	0,00	240,00	44,67	15,33	14,00	53,33
T8	0,32	0,03	0,04	48,73	0,05	0,03	0,00	233,33	51,33	48,67	62,00	56,67
T9	0,43	0,02	0,06	50,40	0,08	0,04	0,00	253,33	46,67	19,33	53,33	60,00
T10	0,52	0,05	0,07	50,40	0,06	0,05	0,00	253,33	35,33	32,00	104,00	61,33
T11	0,25	0,03	0,05	50,80	0,05	0,03	0,00	260,00	38,00	24,67	47,33	40,00
T12	0,39	0,03	0,09	51,20	0,06	0,06	0,00	286,67	40,00	28,67	164,00	46,67
T13	0,28	0,02	0,04	50,80	0,03	0,02	0,00	253,33	77,33	28,00	18,67	68,67
T14	0,20	0,02	0,04	50,60	0,14	0,04	0,00	306,67	35,33	25,33	42,67	74,00
T15	0,72	0,04	0,06	50,60	0,06	0,03	0,00	413,33	42,67	28,00	26,00	52,67
T16	0,37	0,03	0,03	51,20	0,04	0,02	0,00	246,67	36,00	13,33	7,33	56,00
T17	0,42	0,02	0,04	50,80	0,05	0,04	0,00	233,33	32,00	10,00	24,67	46,00
T18	0,57	0,02	0,02	51,20	0,02	0,01	0,00	220,00	37,33	29,33	7,33	49,33
T19	0,62	0,03	0,04	51,00	0,03	0,01	0,00	213,33	42,00	24,00	12,00	49,33
T20	0,24	0,02	0,05	50,80	0,02	0,02	0,00	240,00	36,67	14,00	11,33	38,00

T1= *E. saligna* - LE-95/01; T2=*E. grandis* - LE-95/01; T3= Clone 23 - LE-95/01; T4= Clone 25 - LE-95/01; T5= Clone 24 - LE-95/01; T6= *E. urophylla* - LE-95/01; T7= *E. pellita* - LE-95/01; T8= *E. paniculata* - LE-95/01; T9= *E. citriodora* - LE-95/01; T10= *E. camaldulensis* - LE-95/01; T11= *E. paniculata* - LE-96/18; T12= *E. camaldulensis* - LE-96/18; T13= *E. urophylla* - LE-96/18; T14= *E. citriodora* - LE-96/18; T15= *E. saligna* - LE-96/18; T16= Clone 23 - LE-96/18; T17= Clone 24 - LE-96/18; T18= Clone 25 - LE-96/18; T19= *E. grandis* - LE-96/18; T20= *E. pellita* - LE-96/18. *Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla.*

Tabela 32. Resultados da análise de nutrientes da casca do *E. saligna* (SAL), *E. grandis* (GRA), clone 23* (C23), clone 25 (C25), clone 24 (C24), *E. urophylla* (URO), *E. pellita* (PEL), *E. paniculata* (PAN), *E. citriodora* (CIT) e de *E. camaldulensis* (CAM) após 8 meses de cultivo com as linhagens LE-95/01 e LE-96/18 de *L. edodes*. Os resultados de macronutrientes (N, P_20_5, K_2O, C, Ca, Mg e S) estão em porcentagem e os resultados de micronutrientes (Na, Cu, Fe, Mn e Zn) estão em mg/kg.

Tratamentos	N	P_20_5	K_2O	C	Ca	Mg	S	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
T1	1,56	0,19	0,18	50,56	0,87	0,10	0,02	233,33	56,00	353,33	118,67	64,00
T2	0,82	0,20	0,11	52,04	0,56	0,07	0,01	153,33	59,33	168,00	84,67	54,00
T3	0,65	0,17	0,10	51,30	1,00	0,10	0,03	206,67	38,00	221,33	103,33	30,67
T4	1,12	0,19	0,12	50,37	1,29	0,10	0,03	200,00	47,33	280,00	171,33	47,33
T5	1,03	0,17	0,15	50,19	1,85	0,13	0,03	280,00	30,00	205,33	173,33	38,67
T6	0,97	0,19	0,19	52,23	0,65	0,12	0,03	293,33	34,67	108,00	164,67	26,00
T7	0,93	0,18	0,10	51,30	0,47	0,09	0,03	240,00	38,67	256,00	90,67	23,33
T8	0,63	0,19	0,10	49,82	0,54	0,10	0,03	193,33	26,67	135,33	162,67	18,00
T9	0,55	0,17	0,13	49,45	0,82	0,06	0,01	300,00	22,00	140,00	144,67	29,33
T10	1,13	0,19	0,17	45,93	2,48	0,12	0,02	266,67	24,00	186,00	363,33	30,00
T11	0,54	0,15	0,11	49,83	0,54	0,15	0,02	220,00	22,00	174,00	159,33	17,33
T12	0,66	0,19	0,25	47,78	2,50	0,18	0,02	300,00	23,33	228,00	532,00	52,00
T13	0,89	0,19	0,15	49,47	0,62	0,11	0,02	293,33	22,67	141,33	131,33	19,33
T14	0,55	0,14	0,11	50,53	1,02	0,10	0,01	300,00	18,67	91,33	179,33	29,33
T15	0,82	0,23	0,10	49,26	0,90	0,10	0,02	260,00	22,00	180,67	114,00	18,67
T16	0,61	0,18	0,10	49,45	1,76	0,12	0,02	240,00	24,00	250,00	100,67	34,00
T17	0,74	0,19	0,11	48,34	2,19	0,11	0,02	193,33	20,67	280,00	114,00	19,33
T18	0,75	0,17	0,10	49,63	0,84	0,08	0,02	206,67	16,67	148,67	138,00	18,00
T19	0,62	0,17	0,10	50,00	0,73	0,08	0,01	173,33	15,33	147,33	108,67	18,67
T20	0,73	0,13	0,10	50,00	0,34	0,09	0,02	253,33	22,00	196,00	66,67	20,00

T1= *E. saligna* - LE-95/01; T2=*E. grandis* - LE-95/01; T3= Clone 23 - LE-95/01; T4= Clone 25 - LE-95/01; T5= Clone 24 - LE-95/01; T6= *E. urophylla* - LE-95/01; T7= *E. pellita* - LE-95/01; T8= *E. paniculata* - LE-95/01; T9= *E. citriodora* - LE-95/01; T10= *E. camaldulensis* - LE-95/01; T11= *E. paniculata* - LE-96/18; T12= *E. camaldulensis* - LE-96/18; T13= *E. urophylla* - LE-96/18; T14= *E. citriodora* - LE-96/18; T15= *E. saligna* - LE-96/18; T16= Clone 23 - LE-96/18; T17= Clone 24 - LE-96/18; T18= Clone 25 - LE-96/18; T19= *E. grandis* - LE-96/18; T20= *E. pellita* - LE-96/18. *Os clones 23, 24 e 25 são híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*.