

**MARGÉLI PEREIRA DE ALBUQUERQUE**

**CULTIVO DE *LENTINUS SAJOR-CAJU* (FR.) FR. [= *PLEUROTUS SAJOR-CAJU* (FR.) SINGER] E *PLEUROTUS* SPP. EM DIFERENTES SUBSTRATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Ciências (área de conhecimento: Sistemas de Produção Agrícola Familiar)

**Orientador:** Prof. Dr. José Soares do Nascimento

**Co-orientador:** Prof. Dr<sup>a</sup> Roberta Nogueira Peil

**Pelotas, 2010**

Dados de catalogação na fonte:  
( Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744 )

A345c Albuquerque, Margéli Pereira de

Cultivo de *Lentinus sajor-caju* (Fr) Fr.[=*Pleurotus sajor-caju* (Fr) Singer] e *Pleurotus* spp. em diferentes substratos / Margéli Pereira de Albuquerque ; orientador José Soares do Nascimento; co-orientador Roberta Nogueira Peil. - Pelotas,2010.-118f. ; il.- Tese ( Doutorado ) –Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1.*Pleurotus ostreatoroseus* 2.Crescimento micelial 3.Massa fresca 4.Eficiência biológica 5.*Lentinus sajor-caju* 6.*Pleurotus pulmonarius* 7.Resíduos agrícolas I Nascimento, José Soares do(orientador) II .Título.

CDD 635.8

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Soares do Nascimento  
(Departamento de Fisiologia e Patologia-CCS-UFPB)  
(Presidente da Banca Examinadora)

---

Prof. Dr. Antonio Batista Pereira  
(Departamento de Biologia-Unipampa)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anelise Vicentini Kuss  
(Departamento de Microbiologia e Parasitologia-IB-UFPel)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dulcinéia Blum Menezes  
(Departamento de Microbiologia e Parasitologia-IB-UFPel)

---

*Aos Fungos  
Aos meus pais Aidê e Daltro  
Ao meu amado esposo Filipe  
por não medir esforços para que meus  
sonhos fossem realizados*

## **AGRADECIMENTOS**

*Em primeiro lugar, quero agradecer ao Dr. José Soares do Nascimento, por ter acolhido o projeto desta tese e oportunizar o seu pleno desenvolvimento. Pelos conselhos científicos e por abraçar com otimismo os meus interesses de pesquisa. Igualmente agradeço a Dra. Roberta Marins Peil pelas valorosas sugestões e apoio nos momentos difíceis.*

*Aos professores que avaliaram este trabalho na qualificação agradeço pelas contribuições. Aos professores que ministraram as disciplinas do SPAF, obrigada pela bagagem que estas me propiciaram. Queria agradecer também a Dra. Gládis Ribeiro do departamento de Microbiologia e Parasitologia pelo incentivo. Devo agradecer também aos colegas presentes no laboratório de micologia experimental durante estes 3 anos.*

*Agradeço especialmente aos colegas André Strassburger e Kátiuscia Strassburger pela amizade e discussões. Aos doutores Meire Cristina Andrade (INPA), Nelson Colauto (Universidade Paranaense) e Maria Alice Neves (UFPA) pelas sugestões e envio de literatura.*

*Aos amigos funcionários da UFPel, a saber: Estela, Carmem, Isaias, Luis, Rodrigo, Danúbio e Sérgio. Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de estudos que me foi concedida durante o período de 30 meses.*

*Como vê-se a lista é longa mas não exaustiva. Estou certa de ter esquecido alguns. A estes igualmente Obrigada!*

*Quero agradecer do fundo do coração aos meus pais, Aidê e Daltro, por terem me apoiado incondicionalmente, pela vida, carinho e amor. A Filipe Victoria, meu esposo amado, por tudo que significa para mim. A Deus por tudo.*

## Resumo

ALBUQUERQUE, Margéli Pereira de. **Cultivo de *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. [= *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer] e *Pleurotus* spp. em diferentes substratos**. 2010. 129f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. Orientador: Dr. José Soares do Nascimento.

As espécies de *Pleurotus*, popularmente conhecidas por cogumelos ostra, são decompositoras primárias de madeira e outros resíduos vegetais biodegradáveis. Estes fungos apresentam propriedades nutricionais com elevados teores de proteínas aminoácidos essenciais, ácidos graxos insaturados, vitaminas e minerais, por isso estão tornando-se cada vez mais importantes como um recurso alimentar. A identificação de substratos que permitam o rápido desenvolvimento do micélio fúngico é uma das principais etapas nos estudos que visam melhorar a produtividade no cultivo de cogumelos. O cultivo *in vitro* e *in vivo* busca elucidar as condições ótimas de crescimento do fungo visando a seleção de meios de cultura e substratos que permitam o rápido desenvolvimento e produtividade. Deve-se considerar que no cultivo de *Pleurotus* spp. as linhagens atualmente disponíveis, foram selecionadas pelo uso de diferentes meios de cultura, visando aumento na produtividade. Portanto, este trabalho teve como objetivo comparar três isolados de cogumelos em diferentes substratos, avaliando-se a velocidade de crescimento micelial, a biomassa de micélio, a colonização do substrato *in vitro* e a produtividade. Para tanto, três experimentos foram realizados, utilizando-se os substratos palha de arroz, casca da semente da mamona e a casca de amendoim. No experimento um os isolados foram repicados para meio sólido, em placas de Petri, preparado à partir de extratos dos três substratos. A incubação ocorreu em estufa a 25°C. O crescimento miceliano foi medido diariamente com régua e ao final do experimento, recolheu-se e quantificou-se a biomassa miceliana. No experimento dois foi avaliada a capacidade de colonização *in vitro* das linhagens fúngicas, os isolados foram repicados para os substratos pasteurizados e acondicionados em tubos de ensaio de 2,5 x 20cm, incubados a 28°C em estufa. Foram medidos a cada 24h em cada tubo de ensaio a distância de alcance do micélio a partir da origem de colonização. No experimento três avaliou-se a

produtividade, eficiência biológica, massa fresca e seca e a composição centesimal dos cogumelos produzidos além da relação carbono/nitrogênio inicial e final do substrato. Neste os substratos de cultivo foram pasteurizados, inoculados e incubados durante 66 dias. O meio de cultura formulado com extrato de casca de amendoim propiciou a maior velocidade de crescimento vegetativo de *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06). A linhagem POR01/06 de *Pleurotus ostreatoroseus* apresentou maior velocidade de crescimento em meio contendo extrato da casca da semente de mamona e a linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* cresceu indiferentemente nos meios testados. Os resultados do experimento dois demonstraram que o substrato de cultivo palha de arroz proporcionou a colonização de *Lentinus sajor-caju*, mais rapidamente que os demais substratos. Os resultados do experimento três permitem concluir que a espécie *Lentinus sajor-caju* mostrou-se a mais promissora, apresentando eficiência biológica de 81,13%. Independentemente da espécie, o substrato palha de arroz proporcionou maior produtividade e eficiência biológica. A qualidade nutricional dos cogumelos variou conforme o substrato utilizado. *P. ostreatoroseus* e *P. pulmonarius* apresentaram baixo teor de gordura e acumularam mais minerais em seus basidiomas quando cultivados em casca da semente de mamona. Por último, a maior produtividade foi obtida no primeiro fluxo de produção.

**Palavras-chave:** Crescimento micelial, massa fresca e seca, eficiência biológica, *Lentinus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, resíduos agrícolas.

## Abstract

ALBUQUERQUE, Margéli Pereira de. **Cultive of *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. [= *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer] e *Pleurotus* spp. in diferent substrata.** 2010. 129f. Thesis (PhD. in Agronomy). Graduated Program in Family Agricultural Production Systems. Adviser: Dr. José Soares do Nascimento.

The *Pleurotus* species, popularly known as oyster mushroom, are primary decomposers of woods and others biodegradables wastes. These mushrooms show nutritional proprieties with higher proteins, essencial aminoacids, unsaturated fat acids, vitamins and mineral contents, however are becoming as an important food resource. The substrata identification are the mainly stage in the productivity increase studies in the fungiculture. The *in vitro* and *in vivo* cultures aim to elucidate the optimal conditions of fungi growing related to a culture media that allow the fast development and increase the productivity. For *Pleurotus* spp. the currently strains available, were selected by the use of different ways of culture, aimed to increase the productivity. Therefore, these works aim to study the *in vitro* micelial growth and colonization of substratum and the productivity of three mushrooms strains in different agricultural wastes. Three experiments were carried out to reach the objectives, using rice straw, castor bean seed husks and peanut shells as substrata. In the first experiment, the strains was repicated to a petri dishes, with a solid medium prepared with the selected substrata, and incubated at 25°C. The mycelial growing was daily mensured with ruler and at the end of experiment the mycelial biomass was quantified. In the second experiment was evaluated the colonization capacity under *in vitro* conditions. The strains were repicated to the tubes with pasteurized susbtrata and incubated at 28°C. Were measured, in intervals of 24 hours, the distance of mycelia from the colonization origin for each tube. In the third experiment were evaluated the productivity, biological efficiency, the fresh and dry mass and the centesimal composition of the basidiomata produced in the selected substrata, beyond the carbon/nitrogen ratio in each substrata before and after the 66 days of cultive. The medium formulated with peanut shells extract propritiated the higher vegetative growing of *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06) mycelia. The strain POR01/06 of *Pleurotus ostreatoroseus*, demonstrate the higher mycelial growing in the castor bean seed husks extract medium. The wild strain of

*Pleurotus pulmonarius* grows indifferently in both tested media, moreover shows the highest mycelial growing that *P. ostreatoroseus*. The results of second experiment concludes that the rice straw provides faster colonization of *Lentinus sajor-caju* when it compares with the others substrata. The castor bean seed husks and the peanut shells substrata provides a slowly linear colonization for *P. ostreatoroseus*. The results of the third experiment allow to conclude that *Lentinus sajor-caju* as revealed such the most promising for the fungiculture, showing 81,13% of biological efficiency. The rice straw substrata provides the higher productivity and biological efficiency for all tested strains. The nutritional quality of mushrooms varies as the used substratum. *P. ostreatoroseus* and *P. pulmonarius* demonstrated an lower fat content and its basidiomata acumulate more minerals when it grows in castor bean seed husks. Finally, it is observed that the most productivity was obtained at the first flow of production for all tested strains.

**Keywords:** Micelial growth, fresh and dry mass, biological efficiency, *Lentinus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, agricultural wastes.

## S mario

	Página
RESUMO -----	v
ABSTRACT -----	vii
PROJETO DE PESQUISA -----	13
1 – TÍTULO -----	14
2 – INSTITUI�OES ENVOLVIDAS -----	14
3 – RESPONSÁVEIS -----	14
4 – LOCAIS DE EXECU�O -----	14
5 – DURA�O -----	14
6 – FONTE FINANCIADORA -----	14
7 – JUSTIFICATIVA -----	15
8 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	16
8.1 – Importância alimentar e medicinal dos cogumelos -----	16
8.2 – Aspectos taxonômicos, ocorrência e cultivo de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> -----	18
8.3 – Importância nutricional e medicinal de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> -----	19
9 – OBJETIVOS -----	20
9.1 – Objetivo geral -----	20
9.2 – Objetivos específicos -----	20
10 – HIPÓTESES -----	21
11 – MATERIAL E MÉTODOS -----	22
11.1 – Aspectos Gerais -----	22
11.2 – Obten�o e manuten�o dos isolados -----	22
11.3 – Obten�o do inóculo -----	23
11.4 – Experimentos -----	23
11.4.1 – Experimento 1. Velocidade de crescimento micelial <i>in vitro</i> dos isolados <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> -----	23
11.4.2 – Experimento 2. Capacidade de coloniza�o micelial dos isolados de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> em diferentes substratos -----	25
11.4.3 – Experimento 3. Cultivo dos cogumelos <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> em diferentes substratos -----	25

12 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	26
13 – RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO-----	37
14 – ARTIGO 1 – Crescimento micelial de <i>Lentinus sajor-caju</i> e <i>Pleurotus</i> spp em diferentes substratos -----	45
14.1 – Resumo -----	45
14.2 – Abstract -----	46
14.3 – Introdução -----	47
14.4 – Materiais e Métodos-----	48
14.5 – Resultados e Discussão -----	50
14.6 – Conclusões -----	56
14.7 – Referências -----	56
15 – ARTIGO 2– Capacidade de colonização micelial de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> , <i>P. pulmonarius</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> em diferentes substratos-----	63
15.1 – Resumo -----	63
15.2 – Abstract -----	64
15.3 – Introdução -----	64
15.4 – Materiais e Métodos-----	66
15.5 – Resultados e Discussão -----	68
15.6 – Conclusões -----	73
15.7 – Referências -----	74
16 – ARTIGO 3– Cultivo dos cogumelos <i>Pleurotus ostreatoroseus</i> , <i>Pleurotus pulmonarius</i> e <i>Lentinus sajor-caju</i> em diferentes substratos-----	82
16.1 – Resumo-----	82
16.2 – Abstract -----	83
16.3 – Introdução -----	83
16.4 – Materiais e Métodos-----	86
16.5 – Resultados e Discussão -----	89
16.6 – Conclusões -----	94
16,7 – Referências -----	95
17 – CONCLUSÕES GERAIS-----	104
18 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	106
19 – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA -----	118

## **PROJETO DE PESQUISA**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS  
DE PRODUÇÃO AGRÍCOLA FAMILIAR**



**Projeto de Pesquisa**

**CULTIVO DE UM ISOLADO DE *Pleurotus ostreatoroseus* Singer E UM ISOLADO DE *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. [= *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer] EM PALHA DE ARROZ E CASCAS DE AMENDOIM E DE MAMONA**

Margéli Pereira de Albuquerque

Projeto de Pesquisa apresentado ao Curso de  
Pós-Graduação em Sistemas de Produção  
Agrícola Familiar

Novembro de 2008

## **1 – TÍTULO**

Cultivo de um isolado de *Pleurotus ostreatoroseus* Singer e um isolado de *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. (= *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer) em palha de arroz e cascas de amendoim e de mamona

## **2 – INSTITUIÇÃO ENVOLVIDA**

UFPel/Instituto de Biologia/Departamento de Microbiologia e Parasitologia

UFPel/ Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/Departamento de Fitotecnia

## **3 – RESPONSÁVEIS**

-José Soares do Nascimento

Professor Adjunto, Departamento de Fisiologia e Patologia/CCS/UFPB)

-Roberta Nogueira Peil

Professora Adjunta, Departamento de Fitotecnia/Faem/UFPEL

-Margéli Pereira de Albuquerque

Aluna de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar/UFPEL

## **4 - LOCAL DE EXECUÇÃO**

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto de Biologia/UFPel

## **5 – DURAÇÃO**

36 MESES: de março de 2007 a março de 2010.

## **6 – FONTE FINANCIADORA PREVISTA**

Agência de fomento- CAPES

## 7 – JUSTIFICATIVA

O Brasil é um dos países com produção de cogumelos que não atende à demanda nacional. Por outro lado tem um grande potencial para aumentar a produção de cogumelos, pois dispõe de grande diversidade de resíduos agrícolas, apropriados para uso como substratos.

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* apresentam grande potencial de cultivo no Brasil em razão de sua maior rusticidade e menor exigência em relação ao clima (RAJARATHNAM; BANO,1987). Tradicionalmente os cogumelos são cultivados a partir de substrato compostado sendo este à base de camas de cavalo ou de palhas. Como o preparo da compostagem é laborioso, alguns produtores compram o composto procedente de outros estados, por valores exorbitantes e, assim, não conseguem obter lucro na fungicultura. Uma alternativa para a substituição do substrato compostado é o cultivo em substrato esterilizado ou pasteurizado, considerando que alguns basidiomicetos através de seu sistema enzimático são capazes de metabolizar até mesmo lignina, a exemplo das espécies de *Pleurotus*.

A geração de resíduos e subprodutos é inerente a qualquer setor produtivo, assim a agricultura, atendendo a demanda de alimentos, acaba também produzindo materiais que são resíduos da produção. De acordo com Pelizer *et al.* (2007), os resíduos da agricultura podem conter substâncias de valor e se for empregada uma tecnologia adequada, este material pode ser convertido em importantes produtos para processos secundários. A região Sul do Estado do Rio Grande do Sul possui condições climáticas satisfatórias, especialmente temperatura amena e umidade alta e uma vasta disponibilidade de resíduos agrícolas gerados regionalmente, que são dois aspectos importantes para se estabelecer o cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais. Dentre estes resíduos destaca-se a palha de arroz, excelente substrato utilizado pelos países asiáticos na produção de cogumelos.

O Rio Grande do Sul também vem investindo em pesquisa no desenvolvimento da cultura da mamona, a partir do programa de biocombustível estabelecido no país. O processo de descascamento e extração do óleo de mamona produz dois importantes resíduos: a casca do fruto e a torta. As cascas de mamona são geradas na propriedade rural, enquanto a torta é gerada na indústria de extração do óleo (SEVERINO *et al.*, 2005). Segundo o mesmo autor, para cada tonelada de semente de mamona processada, são gerados 620 kg de casca. Segundo Nascimento et

al, (2007) a casca de mamona apresenta características promissoras como substrato para o cultivo de cogumelos.

Outro resíduo disponível no estado é a casca do amendoim, o Rio Grande do Sul o sétimo maior produtor do Brasil. O município de Pelotas produziu entre 15-50 toneladas de amendoim no período de 2004 a 2006. No mesmo período, o município de Canguçu, distante 61 km de Pelotas, produziu acima de 100 toneladas permanecendo junto aos maiores produtores de amendoim do estado. A casca do amendoim torna-se disponível após a secagem natural das vagens e retirada manual dos grãos (CARGININ, 2002).

A diversificação das técnicas relacionadas à fungicultura incentiva o consumo, pois apresenta novas tecnologias que melhoram a produtividade e conseqüentemente torna mais atraente seu custo ao consumidor. Mais de 50 espécies são cultivadas no mundo e, além disso, sabe-se que todas as espécies saprófitas de fungos comestíveis são susceptíveis de serem cultivadas, desde que haja pesquisas sobre métodos de cultivo (GUZMÁN et al 1993). Apesar do consumo no Brasil ( $0,6 \text{ g.hab.ano}^{-1}$ ) ser bastante inferior o de países com consumo elevado ( $3,5 \text{ kg.hab.ano}^{-1}$ ) nota-se um aumento na demanda por produtos de maior valor nutricional e provenientes de uma produção orgânica. Além das propriedades gastronômicas, os cogumelos do gênero *Pleurotus* são alimentos ricos em proteínas e vitaminas e contêm fibras, elementos minerais e baixo teor de gorduras (BREENE, 1990).

No Brasil, as pesquisas sobre cultivo de cogumelos estão limitadas a apenas alguns estados e muitas espécies de cogumelos, incluindo espécies de *Pleurotus*, nunca foram testadas quanto à viabilidade de cultivo. Neste contexto, é desejável o aumento de produtividade nos cultivos de *Pleurotus*, bem como a diversificação dos modos de cultivo, visto que o Rio Grande do Sul possui clima apropriado e disponibilidade de resíduos agrícolas. O presente estudo mostra-se relevante e objetiva contribuir, para melhoria de produtividade de *Pleurotus*, gerando informações acadêmicas aplicáveis aos interesses dos agricultores da região.

## **8.- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **8.1- Importância alimentar e medicinal dos cogumelos**

Muitos cogumelos possuem uma história antiga como elementos de importância alimentar e propósitos medicinais. Segundo Wasser et al. (2002), 650 das 14.000 espécies de cogumelos conhecidas possuem propriedades de significado farmacológico. Apenas 100 destas espécies têm sido testadas para cultivo, sendo aos poucos difundidas no mercado alimentício (HOBBS 1995, KIRK et al., 2001). Cogumelos são alimentos de alto valor nutritivo, com baixo teor de carboidratos

e gorduras e com significativas quantidades de proteínas e vitaminas (PUTZKE; PUTZKE, 1998), variando a composição química de acordo com a espécie (BONONI; TRUFEN, 1985).

Entre os cogumelos comestíveis mais cultivados no mundo, podem ser destacados: *Agaricus bisporus* (Lange) Pilát, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, *Pleurotus djamor* (Rumph. Ex. Fr.) Boedjin., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm., *Agaricus bitorquis* (Quél) Sacc., *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer, *Armillaria mellea* (Vahl) Kumm., *Coprinus comatus* (Müll.) Gray, *Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Singer, *Stropharia rugosoannulata* Farl. ex Murril, *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer e *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer (GUZMÁN *et al.*, 1993). Para Wasser *et al.* (2000), os cogumelos representam uma fonte de substâncias com efeitos antitumorais e imunoestimuladores ainda pouco explorada e, segundo estes autores, apenas 10% das espécies potenciais foram estudadas. Afirmam ainda que não basta somente desenvolver pesquisas biológicas sobre os cogumelos, mas é necessário também estudar técnicas de cultivo em grande escala.

Os principais cogumelos cultivados no Brasil são: *Agaricus bisporus* (Lange) Pilát (champignon), *Lentinula edodes* Berk. (shiitake) e espécies do gênero *Pleurotus* (EIRA; MINHONI, 1997). Segundo Shibata & Demiate (2003), as maiores barreiras encontradas na comercialização de cogumelos no Brasil estão ligadas, entre outros fatores, ao cultivo com produtividade baixa.

Shibata & Demiate (2003), citam que cerca de 40 espécies têm sido exploradas em escala industrial. Muitos destes cogumelos atraem o interesse da farmacologia. Os princípios ativos considerados benéficos à saúde foram popularizados, e no mercado estes cogumelos são comercializados com diferentes nomes categóricos, como suplementos alimentares, alimentos funcionais, alimentos de desempenho, entre outros nutracêuticos (WASSER *et al.*, 2000; NASCIMENTO, 2003).

Em alguns países, principalmente na América Latina, além das espécies cultivadas, certas espécies são colhidas na natureza e comercializadas (MONTROYA *et al.*, 2003). Esse procedimento pode ser arriscado, pois algumas espécies do gênero *Agaricus* são acumuladoras de substâncias potencialmente nocivas. Vetter & Berta (1997), em monitoramentos realizados desde 1970 em cogumelos comestíveis silvestres e cultivados na Alemanha, Suíça, Finlândia, Áustria, França, Espanha, Yugoslávia, Reino Unido e Itália, demonstraram que espécies do gênero *Agaricus* são bioacumuladores naturais de mercúrio.

Segundo Mizuno e Zhuang (1995), dos polissacarídeos extraídos do cogumelo *Pleurotus* fresco, cinco destes apresentaram atividades antitumorais contra o Sarcoma 180 em camundongos.

Para os autores acima, esses resultados demonstram que esse cogumelo pode ser útil para o desenvolvimento de drogas antitumorais e outras propriedades farmacêuticas.

## 8.2 - Aspectos taxonômicos, ocorrência e cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju*

A posição sistemática do gênero *Pleurotus* (Fr.) P. Kummer tem sido bastante discutida. Muitas espécies de *Pleurotus* foram transferidas para os gêneros *Hohenbuehelia* Schulzer e *Lentinus* Fr. (SINGER, 1951; KÜHNER; ROMAGNESI, 1953). Adotaremos o nome *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. por ser este o nome aceito e publicado na obra de referência de posicionamento taxonômico e nomenclatural para macromicetos (KIRK et al, 2001). Várias espécies de *Pleurotus* têm sido coletadas e cultivadas como cogumelos comestíveis. Estimativas mundiais de diversidade do gênero *Pleurotus* excedem a 38 espécies (SINGER, 1986). Guzmán (2000), menciona a existência de 1.000 espécies descritas, porém destaca que somente 50 destas são consideradas válidas pelos taxonomistas. Os membros do gênero *Pleurotus* possuem basidiomas normalmente grandes e carnosos. Seu desenvolvimento pode ocorrer de forma solitária ou cespitosa, lisos ou tomentosos. As cores do basidioma variam, podem ser brancos, creme, cinza, rosa, marrom, amarelo, lilás e raramente azul. A descrição acima demonstra que o gênero não apresenta caracteres distintivos claros como ocorrem em outros gêneros, sendo necessário agregar informações sobre os sistemas hifais, camada cortical e esporos para caracterização do gênero e subgêneros de *Pleurotus*. (LECHNER, et al., 2004).

Espécies comestíveis como *Pleurotus ostreatus*, (Jacq.) P. Kumm, Quélet, *Pleurotus ostreatoroseus* Singer, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. e *Lentinus sajor-caju* são espécies de distribuição paleotropical e neotropical, crescem sobre madeira e são os principais responsáveis pela podridão branca.

Com fins comerciais *Pleurotus* pode ser cultivado a partir de diversos resíduos lignocelulósicos, resultando em alimento de elevado valor nutricional, sendo fonte de proteínas e minerais (SILVA et al., 2002). Entre os resíduos usados para cultivo de *Pleurotus*, destacam-se no Brasil por serem freqüentemente empregados: bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), palha de soja [*Glycine max* (L.) Merr.], sabugo de milho (*Zea mays* L.) e capim-elefante (*Pennisetum* sp.), a exemplo dos que foram utilizados em experimentos de cultivo de *Pleurotus*, em pesquisa de laboratório realizada por Dononi et al. (2005). Estes autores obtiveram resultados mais expressivos no cultivo de cogumelo, utilizando substratos alternativos como capim-elefante quando comparados com o substrato convencionalmente adotado (substrato compostado).

Em estudos de cultivo do cogumelo *Lentinus sajor-caju* (= *Pleurotus sajor-caju*), realizado no estado de Minas Gerais, foram testados os resíduos: casca de café, palha de milho triturada, palha do sabugo e palha da planta de feijoeiro; os autores concluíram que os melhores resultados foram obtidos com o uso da palha de feijoeiro e para a região os autores sugerem a combinação da palha de feijão com a palha de milho, já que essa última não apresentou bons resultados quando utilizada pura. Segundo esta pesquisa a combinação de diferentes resíduos deve ser uma das principais estratégias para a redução de custos (DIAS et al., 2003).

Segundo Paz et al. (2006), o uso do bagaço de uva para o cultivo de *Pleurotus* apresentou, devido sua baixa relação C/N, uma baixa eficiência biológica, mas os autores apontam como vantagem do uso do bagaço da uva, o aproveitamento de resíduos agroindustriais e, por consequência a redução desses resíduos no ambiente. Bernardi et al. (2006), estudando o desenvolvimento de *Pleurotus ostreatus* em substrato formulado com capim-elefante puro e suplementado com diferentes farelos, sugerem que a relação C/N é um fator importante para o crescimento desta espécie. Os autores encontraram os melhores resultados com uso de capim-elefante sem suplementação, este resultado positivo foi atribuído a alta relação C/N do capim-elefante sem suplementação, com relação de 162:1. De acordo com Sturion (1994), durante a fase de miceliação é necessária uma relação C/N alta para o crescimento dos fungos. Felinto (1999), ao avaliar a velocidade de colonização de linhagens de *P. ostreatus*, em diferentes substratos, observou que aqueles elaborados com 50% de farelo de mandioca apresentaram os menores rendimentos, enquanto que os substratos sem a suplementação de farelos, ou com adição destes em concentrações baixas, promoveram melhores resultados. Dias et al. (2003), observaram resultados semelhantes ao utilizarem substrato puro e suplementado com farelos no cultivo de *L. sajor-caju*, onde a palha de feijão pura apresentou menor tempo de crescimento miceliano, quando comparada à palha suplementada com 10% de farelo de trigo. Estes autores atribuem o resultado ao fato de existir alguma substância, presente em excesso no substrato, que pode inibir o crescimento miceliano, sugerindo a utilização do resíduo puro para otimizar o crescimento do fungo.

### **8.3 - Importância nutricional e medicinal de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju***

Além das propriedades gastronômicas, os cogumelos do gênero *Pleurotus* são alimentos ricos em proteínas e vitaminas e contêm fibras, elementos minerais e baixo teor de gorduras (BREENE, 1990).

Os fungos do gênero *Pleurotus* apresentam propriedades nutricionais com elevados teores de proteínas (19 a 35% da massa seca), aminoácidos essenciais, ácidos graxos insaturados,

vitaminas e minerais, bem como um vasto potencial de uso medicinal. Segundo Pramanik et al. (2005), o extrato aquoso de *Lentinus sajor-caju*, contém vitaminas B1, B2 e C e pode reduzir o nível de colesterol no sangue. Em função dessas propriedades, essa espécie de cogumelo tem sido bastante estudada, sendo que alguns polissacarídeos importantes estão sendo isolados e identificados a partir de espécies de *Pleurotus* ssp. (Cheung; Lee, 2000). Segundo Gregori et al. (2007), estes polissacarídeos induzem apoptose, causando o fim do ciclo celular, o que torna estas substâncias importantes armas anticâncer. Uma nova molécula de  $\alpha$ -glucano, isolada a partir do micélio de *Pleurotus ostreatoroseus*, induz a apoptose de células carcinógenas cultivadas in vitro (Lavi et al., 2006).

Diversos trabalhos sugerem a existência de compostos com efeitos terapêuticos produzidos por cogumelos. Como exemplo, podemos citar a produção de lecitina por *Pleurotus ostreatus* (RESHETNIKOV et al., 2001). Segundo Rajarathnam e Bano (1989), esta substância apresenta fator de coagulação sangüínea e possui ação anti-tumoral, estimulando o sistema imunológico. Conhece-se ainda a ação preventiva de doenças cardíacas e de arteriosclerose, promovida pela reação da absorção do colesterol pela lovastatina, produzida por fungos relacionados à *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* como *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. eryngii* e *P. sapidus*, e sua ação antimicrobiana pela produção de antibióticos, como, por exemplo, a pleurotina, produzida por *P. griseus* (GUNDE-CIMERMAN, 1999).

Wisbeck et al. (2002), apontam a capacidade de várias espécies do gênero *Pleurotus* de produzir agentes antimicrobianos, tais como: *Pleurotus japonicus*; que produz o antibiótico 6-deoxyilludin M, com atividade contra *Bacillus subtilis*; *P. griseus*, *P. palmatus* e *P. sapidus*, que possuem atividade antibiótica especialmente sobre *Staphylococcus aureus* (GUNDE-CIMERMAN, 1999); e *P. ostreatus*, com ação antimicrobiana principalmente contra *B. subtilis* (BELTRAN-GARCIA et al. 1997).

## 9- OBJETIVOS

### 9.1 - Objetivos gerais

- ❖ Estudar a produção de cogumelos *Pleurotus* usando resíduos provenientes da agricultura da região de Pelotas-RS.

### 9.2 - Objetivos específicos

- ❖ Estudar a capacidade de colonização nos meios de cultura a base de palha de arroz, casca de amendoim e casca de mamona pelos isolados de *Lentinus sajor-caju* (= *Pleurotus sajor-caju*) e *Pleurotus ostreatoroseus*.
- ❖ Avaliação da produtividade e eficiência biológica das estirpes estudadas;

## 10 – HIPÓTESES

Objetivo 1: Estudar a capacidade de colonização nos meios de cultura formulados separadamente a base de palha de arroz, casca de amendoim e casca de mamona pelas linhagens de cogumelos *Lentinus sajor-caju* (= *Pleurotus sajor-caju*) e *Pleurotus ostreatoroseus*.

Hipótese: Micélios destas linhagens podem ser cultivados com maior ou menor eficiência dependendo do substrato utilizado. Em experimentos realizados com diferentes materiais para formulação dos meios, observaram-se diferenças significativas na velocidade de colonização pelo micélio do fungo. A velocidade de colonização na fase miceliana é fundamental para o cultivo de cogumelos, pois quanto mais rápido ocorrer o seu desenvolvimento, menor será o risco de contaminação por outros fungos ou bactérias. Para, Reyes et al. (1998), o meio de cultura mais adequado para determinada linhagem refletirá melhores respostas do fungo nas fases seguintes da produção (cultivo em substrato pasteurizado ou esterilizado).

Estratégia: Os materiais palha de arroz, casca de amendoim e casca de mamona, serão avaliados quanto à capacidade de colonização pelas linhagens de *Lentinus sajor-caju* (= *Pleurotus sajor-caju*) e *Pleurotus ostreatoroseus*. Cada placa de Petri com meios de cultura formulados a partir destes materiais serão individualmente inoculadas com os micélios dos fungos. A capacidade de colonização será determinada pela velocidade de crescimento do micélio nos meios testados. Também será determinada a biomassa miceliana que juntamente com o crescimento micelial indicará qual substrato foi mais rapidamente colonizado e em qual destes o micélio apresentou maior biomassa.

Objetivo 2: Avaliação da produtividade e eficiência biológica das linhagens de *Lentinus sajor-caju* (= *Pleurotus sajor-caju*) e *Pleurotus ostreatoroseus*

Hipótese: Basidiomas de *Lentinus sajor-caju* (= *Pleurotus sajor-caju*) e *Pleurotus ostreatoroseus* podem ser produzidos com diferentes resultados em relação a produtividade e eficiência biológica, dependendo de características da espécie, da linhagem e do substrato utilizado.

Estratégia: As linhagens de cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* serão cultivadas no módulo de cultivo do Laboratório Experimental de Micologia (IB, DMP, UFPel), em substratos elaborados com casca de mamona, casca de amendoim e palha de arroz. Estes resíduos, serão fornecidos pela Embrapa Clima Temperado e por produtores de Pelotas. Com a finalidade, de verificar o comportamento das linhagens em cada um dos 3 substratos escolhidos, e selecionar os melhores resultados, serão analisadas a eficiência biológica e a produtividade.

## 11 – MATERIAL E MÉTODOS

### 11.1 – Aspectos gerais

Os experimentos serão desenvolvidos no Laboratório Experimental de Micologia (LEMICO), do departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia (IB), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil. Neste trabalho serão utilizados isolados comerciais dos cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju*, oriundos do Módulo de Cogumelos FCA/UNESP/Botucatu. As variáveis analisadas seguem o proposto por Nascimento e Eira (2007) e incluem: porcentagem de colonização, massa média de cogumelos frescos e produtividade.

### 11.2 - Obtenção e manutenção dos isolados

As linhagens oriundas do Módulo de Cultivo/UNESP/BOTUCATU de *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatoroseus*, preservados em óleo mineral (CASTELLANI, 1967), serão repicadas para meio à base de batata-dextrose-ágar (BDA) e capim-elefante+dextrose+ágar (CDA) conforme os requerimentos nutricionais de cada espécie (GUZMÁN et al.,1993; DONINI et al., 2005). Os meios de cultura, supra mencionados, são amplamente utilizados, conforme a metodologia disponível na literatura sobre o cultivo de espécies de *Pleurotus* (STAMETS, CHILTON, 1983; GÚZMAN,1993; DIAS et al., 2003; DONINI et al., 2006; BERNARDI et al., 2007; BERNARDI et al., 2008).

O meio BDA será elaborado utilizando-se 150g de batata, cortadas em fatias finas, em um litro de água destilada, fervidas por 15 min e, no extrato líquido obtido, será adicionado 10g de dextrose e 15 de ágar. Após o volume será completado para 1000 mL com água destilada. O meio será esterilizado em autoclave a 121°C por 30 min. O meio capim-elefante será obtido usando-se um preparado a partir da infusão de 30g de capim-elefante seco em água fervente por 15 min acrescido de 10 g de dextrose e 15g de ágar. Após o volume será completado para 1000 mL com água destilada. O meio será esterilizado em autoclave a 121°C por 30 min. Concluída a esterilização o meio será resfriado até que seja possível a manipulação dos mesmos e serão vertidos em câmara de fluxo laminar nas placas de Petri de dimensões (90 mm x 15mm).

As linhagens serão inoculadas nestes meios e reproduzidas assexuadamente para que seja obtido um volume de micélio suficiente para o desenvolvimento do experimento. Este procedimento é realizado em câmara de fluxo laminar cortando-se fragmentos do micélio e inoculando-os em outras placas de Petri. Após as placas são incubadas a 28° por 7dias.

O valor de pH descrito na literatura para os meios de cultura para *Pleurotus* é entre 5- 7,5 (GÚZMAN,1993). Dessa forma, o mesmo será verificado utilizando-se pHmêtro multiprocessado (PHtek) com precisão de  $\text{pH} \pm 0,1$ , e, caso necessário, será corrigido com auxílio de ácido clorídrico (HCL, 1 M) e hidróxido de sódio (NaOH, 1 M).

Os fungos podem produzir enzimas adaptativas na presença de um substrato que, normalmente, não utiliza, ao selecionar por pressão de seleção, um núcleo mutante dentro da população de núcleos, que têm a potencialidade de sintetizar enzimas necessárias para utilização do substrato em questão (GALVAGNO; FORCHIASSIN, 2004). Dessa forma esta etapa do trabalho objetiva a obtenção de micélio em quantidade e qualidade, optando-se por utilizar-se meios de cultura que pouco interfiram na variabilidade dos fungos.

### **11.3 - Obtenção do inóculo**

O inóculo, também denominado semente ou (Spawn, em inglês), é o desenvolvimento em grande quantidade do micélio do fungo sobre um substrato determinado que podem ser grãos de arroz, sorgo, milho, entre outros.

Para obtenção do inóculo, serão utilizados grãos de arroz cozidos por 15 minutos. Em seguida os grãos de arroz serão escorridos e acondicionados em sacos de polietileno com capacidade para 2 L, os quais serão fechados com algodão, barbante e papel alumínio e, autoclavados a 121 °C (1 atm) por 15 min, aguardarão 24 horas resfriando e serão novamente autoclavados a 121 °C por 15 min.

Após o processo de esterilização os sacos serão inoculados em câmara de fluxo laminar com discos de 10 mm de diâmetro com a cultura dos fungos *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* previamente preparada. Os sacos serão incubados a 28°C até a colonização dos grãos pelos fungos, obtendo-se assim o inóculo.

## **11.4 - EXPERIMENTOS**

### **11.4.1 – Experimento 1. Velocidade de crescimento micelial *in vitro* dos isolados de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos**

As estirpes serão testadas quanto à velocidade de crescimento micelial em relação aos diferentes substratos. Inóculos de 10 mm de diâmetro de cada linhagem serão transferidos para placas de Petri (90 mm x 15 mm), e posicionados no centro destas placas que conterão os meios de cultura formulados por cada substrato. Todos os substratos utilizados (cascas de mamona, de amendoim e palha de arroz) serão obtidos secos e submetidos à caracterização físico-química na

Fundação de Pesquisa Agropecuária-FEPAGRO/RS, a fim de relacioná-los com os resultados obtidos do cultivo das espécies *P. ostratoroseus* e *L. sajor-caju*. Todos os resíduos utilizados serão adquiridos após secagem natural, ainda em campo, sob sol. Em laboratório os resíduos serão secos em estufa a 40 °C e triturados em moinho mecânico do departamento de solos da UFPel.

Para elaboração do meio de cultivo, as cascas de amendoim, mamona e a palha de arroz, serão trituradas em moinho até atingirem dimensões aproximadas de 2 à 5 cm. Após esse procedimento, 30 g de cada resíduo (casca de amendoim, casca de mamona e palha de arroz) será adicionado de 1000 mL de água destilada e permanecerão em temperatura de fervura durante 15 minutos. Obtêm-se assim três extratos que serão filtrados com algodão e, devido a evaporação durante a fervura, terão seus volumes completados para 1000 mL com água destilada. A estes, serão adicionados 15 g de ágar e 10 g de dextrose.

As placas serão incubadas a 25°C±1 até que o crescimento micelial atinja a borda de uma das placas. O crescimento micelial radial será medido com auxílio de régua, pelo verso da placa a cada 24h em 8 direções ortogonais (quatro diâmetros), em intervalos de 24h, e a primeira leitura será realizada após 48h de incubação. As médias dos diâmetros serão calculadas para cada tratamento e cada isolado. A última medida do crescimento será realizada quando o micélio de qualquer um dos tratamentos atingir a borda da placa.

A avaliação da produção de biomassa será determinada usando-se as mesmas placas da avaliação do crescimento superficial após o micélio de uma das colônias ter coberto toda superfície do meio de cultura da placa.

Para isso, serão utilizados béqueres de 500 ml onde serão adicionados 250 ml de água destilada e o meio de cultura com os micélios serão dissolvidos durante 4 minutos em microondas. O micélio será recolhido em uma peneira fina, e colocado sobre papel alumínio para ser pesado e obter-se a biomassa fúngica úmida (Mmu). Após obter-se o valor da biomassa fúngica úmida o micélio será colocado para secar durante 24 horas a 50°C e será novamente pesado para obter-se a biomassa fúngica seca (Mms) (NEVES et al., 2004). O experimento será conduzido em delineamento inteiramente casualizado e constará de um fatorial: A x B x C (A = isolado; B = substrato; C = dias de incubação) para variável velocidade de crescimento; e A x B (A = isolado; B = substrato) para variável massa miceliana. A unidade experimental constará de uma placa de Petri, com 8 repetições por tratamento, totalizando 48 placas. Os resultados obtidos serão submetidos a análise de variância e teste de Duncan para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

#### **11.4.2 – Experimento 2. Capacidade de colonização micelial da linhagem de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju***

As linhagens serão testadas em relação ao potencial de colonização dos substratos: palhas de arroz, casca de amendoim e casca de mamona, disponíveis na região. Os substratos serão submergidos em água, durante 24 horas. Tubos de ensaio de 2,5 x 20 cm serão preparados colocando-se um pedaço de algodão umedecido em água destilada no fundo de cada tubo. Os resíduos fragmentados em partículas de 2-5 cm em moinho mecânico serão acondicionados preenchendo-se 13 cm dos tubos de ensaio. Os tubos serão cobertos com algodão, envoltos por papel alumínio e autoclavados à temperatura de 121°C (1 atm) por 45 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, próximo ao bico de Bunsen, discos de 10 mm de diâmetro contendo micélio, previamente preparados em meio de cultura à base de capim-elfante+dextrose+ágar serão transferidos para os tubos de ensaio contendo os substratos. Os tubos serão identificados conforme o tratamento e incubados em estufa a 28°C±1. As medições do crescimento ocorrerão a partir de 72 horas após a inoculação, e posteriormente a cada 48h até a completa colonização do substrato em um dos tratamentos. As leituras consistirão em medições do crescimento micelial ao longo do tubo, em quatro pontos, utilizando-se uma régua conforme descrito por Donini (2006). Ao final será determinada a velocidade de colonização de cada substrato pelo micélio fúngico. O delineamento experimental será inteiramente ao acaso com fatorial AxB (A= linhagem de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* e B= substrato). A unidade experimental constará de um tubo de ensaio, havendo oito (8) repetições por tratamento, totalizando 48 tubos. Os resultados obtidos serão submetidos à análise da variação e ao teste de Tukey, para comparação das médias, e regressão polinomial para período de incubação, utilizando-se o programa estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

#### **11.4.3 – Experimento 3. Cultivo dos cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos**

Os resíduos casca de amendoim, casca de mamona e palha de arroz secos a temperatura ambiente serão triturados de 2-7 cm em um triturador de forragens, serão separadamente imersos em água durante 24 horas. Após, serão escorridos para eliminar o excesso de água e acondicionados em sacos de polietileno com volume de 2 L. Os sacos de polietileno terão suas aberturas fechadas com algodão e barbante e serão identificados conforme o tratamento. Após este procedimento, os substratos serão submetidos ao tratamento térmico: pasteurização a 80-90°C, durante 40 minutos.

Após o tratamento térmico os sacos de polietileno serão resfriados a temperatura ambiente até que atinjam 25° C. A partir disto os sacos com os substratos pasteurizados serão inoculados com 3% (em relação ao peso úmido de substrato) do inóculo dos fungos.

A inoculação do substrato submetido à pasteurização será realizada ao ar livre, colocando-se o substrato em bandejas plásticas e misturando-se o inóculo com as linhagens de *P. ostreatoroseus* e *L. sajor-caju*. O substrato será novamente colocado nos sacos de polietileno e serão incubados no módulo de cultivo do Laboratório Experimental de micologia a temperatura de 20- 25°C até a colonização dos substratos e frutificação dos basidiomas. Haverá monitoramento da temperatura e da umidade.

Os cogumelos serão coletados manualmente no estágio maturo. Logo em seguida, serão limpos para retirar resíduos do substrato aderido a base do estipe, e em seguida, quantificados, pesados e medidos. Para calcular a produtividade e eficiência biológica do cultivo serão empregadas as seguintes expressões matemáticas (ANDRADE et al., 2007):

$$\text{Produtividade (P)} = \frac{\text{massa fresca dos cogumelos produzidos}}{\text{Massa úmida do substrato}} \times 100$$

$$\text{Eficiência biológica (EB)} = \frac{\text{massa fresca dos cogumelos produzidos}}{\text{Massa seca do substrato}} \times 100$$

Será avaliada a relação C/N em cada substrato, antes e após o cultivo de acordo com os métodos Walkey-Black e Semi-micro-Kjeldahl (TEDESCO et al., 1995), onde 12 (doze) amostras serão enviadas ao laboratório de rotina do departamento de solos-FAEM para estas análises.

O delineamento experimental será inteiramente ao acaso constando de um fatorial A x B sendo: (A= linhagem de *Pleurotus ostreatoroseus*; *Lentinus sajor-caju* e B= substrato). A unidade experimental será um saco, havendo 8 repetições por tratamento. Os resultados obtidos serão submetidos a análises estatísticas, aplicando-se o Teste de Tukey pelo Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores-SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

## 12 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. C. N.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M. T. A.; COUTINHO, L. N.; FIGUEIREDO, M. B. Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.2, 2007.

BELTRAN-GARCIA M. J., ESTARRON-ESPINOSA M., OGURA T. **Volatile Compounds Secreted by the Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and Their Antibacterial Activities.** *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.45, n.10, p. 4049–4052, 1997.

BONONI, V. L. R. & TRUFEM, S. F. B. **Cogumelos comestíveis.** 2ª ed., São Paulo: Ícone, 1985. 83p.

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

BREENE WM. Nutritional and medicinal value of speciality mushrooms. **Journal of Food Protection.** Des moines, v. 53, p. 883-94, 1990.

BREITENBACH, J. & KRÄNZLIN, F. **Champignons de Suisse. IV. Agaricales. 2ª partie.** Cidade: Mykologia Lucerne, Lucerne. 1995, 371p + il.

CARGININ, A. P. (Org.). Atlas Socioeconômico do Rio Grande do Sul. Porto alegre. Secretaria de Coordenação e Planejamento, 2ª edição. 2002.

CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile water. Futher researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 10, p. 181-4, 1967.

CHEUNG, P. C.; LEE, M. Y. Fractionation and characterization of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) as potential nutraceuticals from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) singer. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 48, p. 3148–3151. 2000.

DIDUKH, M. YA., WASSER, S. P; NEVO, E. Lectotypification of the name *Agaricus subrufescens* Peck (Agaricaceae, Higher Basidiomycetes). **Ukraine Botanical Journal** v. 60, n. 5, p. 494-500, 2003.

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

DONINI, L.P. BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento *in vitro* de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.6, p.995-999, 2006.

- EIRA, A.F.; MINHONI, M. T. A. 1997. **Manual teórico prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas Florestais, 1997. p.3446.
- FELINTO, A. S. *Cultivo de cogumelos comestíveis do gênero Pleurotus spp. em resíduos agroindustriais*. Piracicaba, 1999. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, 1999.
- GALVAGNO, M. A.; FORCHIASSIN, F. Fisiologia dos fungos: nutrição e metabolismo. *In*: ESPOSITO, E.; AZEVEDO (orgs.). Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul, EDUCS, 2004. p. 125-169.
- GREGORI, A.; VAGELJ, M.; POHLEVEN, J. Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. **Food Technol. Biotechnol**, v.45 n.3 238–247 2007.
- GUNDE-CIMERMAN, N. Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (agaricales s.l., Basidiomycetes). **International Journal of medicinal Mushrooms**, v.1, p.69-80. 1999.
- GUZMÁN, G MATA, G., SALMONES, D., SOTO-VELAZCO, C.; GUZMÁN-DÁVALOS, L. **El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales**. Instituto Politécnico Nacional. México D.F., 1993. 245p.
- HOBBS, C. **Medicinal Mushrooms: an exploration of tradition, healing and culture**. Botanica Press, Santa Cruz, Califórnia, 1995, 252p.
- HORNA, S. L.; ROYSE, D.J. Selection of lines os *Agaricus brunnescens* Peck for higher production temperatures. **HortScience**, v. 18, n. 6, p. 866-868, 1983.
- KIRK, P. M., CANNON, P. F., DAVID, J. C. & STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi, 9<sup>th</sup>**. CAB International, Wallingford, 2001, 655p.
- KÜHNER R; Romagnesi H. **Flore analytiques des champignons supérieurs**. Masson et Cie, 1953, 554p.

LAVI, I.; FRIESEM, D.; GERESH, S.; HADAR, Y.; SCHWARTZ, B. An aqueous polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects on HT-29 colon cancer cells. **Cancer Letters**, v. 244, p. 61-70. 2006.

LECHNER, B. E.; WRIGHT, J. E.; ALBERTÓ, E. The genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia** v.96, n.4, p. 844-85, 2004.

MIZUNO, T.; ZHUANG, C. Maitake, *Grifola frondosa*: pharmacological effects. **Food Reviews International**, v.11, p. 135–149, 1995.

MONTOYA, A.; Hernández-Totomoch, O.; Estrada-Torres, A & Kong, A. Tradicional knowledge about mushrooms in a nahuacommunity in the state of Tlaxcala, México. **Mycologia** v.95, n. 5, p.793-806, 2003.

NASCIMENTO, J. S.; EIRA, A. F. Isolation and mycelial growth of *Diehliomyces microsporus*: effect of culture medium and incubation temperature. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 50, p. 587-595, 2007.

NASCIMENTO, J.S. **Etiologia, controle e demanda de energia na prevenção da falsa trufa em cultivos de *Agaricus blazei***. 2003. 111p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

NEVES, M. A.; KASUYA, M. C. M.; ARAÚJO, E. F.; LOGUERCIO LEITE, C.; CAMELINI, C. M.; RIBAS, L. C. C.; MENDONÇA, M. M. Physiological and Genetic Variability of Commercial Isolates of Culinary-Medicinal Mushroom *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. (Agaricomycetidae) Cultivated in Brazil. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v.7, p. 553-564, 2004.

PAZ, M. F.; VIEIRA, E. ; BREYER, C.A. ; GIOVANNI, Rodrigo Nogueira ; BERTOLDI, F.C. . Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de Uva Isabel. *Evidência: Biotecnologia e Alimentos*, v. 6, p. 187-194, 2006.

PATRABANSH, S; MADAN M. Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes. **Acta Biotechnologica**, v.17, n.2, p.107-122, 1997.

PRAMANIK, M.; MONDAL, S.; CHAKRABORTY, I.; ROUT, D.; ISLAM, S. S. Structural investigation of a polysaccharide (Fr. II) isolated from the aqueous extract of an edible mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. **Carbohydrate Research**, Oxford, v. 340, n. 4, p. 629-636, 2005.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. Vol. 1. Editora da Universidade de Santa Cruz do Sul, 1998. 606p.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms. Part III. Biotransformations of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.28, n.1, p.31-113, 1989.

RESHETNIKOV, S. V.; WASSER, S. P.; TAN, K. K. Higher Basidiomycota as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides (Review). **International Journal of Medicinal Mushrooms**. v. 3, p. 361-394, 2001.

REYES, R. G.; EGUCHI, F.; IJIMA, T.; HIGAKI, M. Physiological considerations for efficient mycelial colonization of Philippine strains of *Volvariella volvacea*. **Journal of Wood Science**. v. 44, p. 408-413, 1998.

SEVERINO, L. S.; MORAES, C. R. A.; GONDIM, T. M. S.; CARDOSO, G. D.; SANTOS, J. W. **Fatores de conversão do peso de cachos e frutos para peso de sementes de mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, Boletim de Pesquisa n. 56, 2005. 14 p.

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

SILVA, S.O.; COSTA, S.M.G. AND CLEMENTE E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel., substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, 45(4), 531-535, 2002.

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

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

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

VETTER, J.; BERTA, E. Mercury content of some edible mushrooms. *Z. Lebensm Unters Forsch A*. v. 205, 316-320, 1997.

WASSER, E. P.; WEISS, A.L. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms, *Agaricus bisporus*. **Transactions of British Mycological Society**, v. 63, p. 541-547, 1974.

WASSER, S. DIDUKH, M. YA, DE AMAZONAS, M. A. L., NEVO, E., STAMETS, P.; DA EIRA, A. F. IS widely cultivated culinary-medicinal Royal Sun *Agaricus* (the Himematsutake mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murril? **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 4, p. 267-290, 2002.

WASSER, S. NEVO, E., Sokolov, D., RESHETNIKOV, S. V. & TIMOR-TISMENETSKY, M. Dietary supplements from medicinal mushrooms: diversity of types and variety of regulations. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 2, p. 1-19, 2000.

WISBECK, E.; ROBERT, A. P. ; FURLAN, S. A. Avaliação da produção de agentes antimicrobianos por fungos do gênero *Pleurotus*. **Revista Saúde e Ambiente**. UNIVILLE, v. 3, p. 7-10, 2002.

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





**14 - ORÇAMENTO**

Material permanente existente		
Quantidade	Especificação	Valor R\$
01	Microscópio estereoscópico	4.500,00
01	Microscópio biológico	6.000,00
01	Computador e impressora	3.000,00
01	Fluxo laminar	4.600,00
02	Geladeiras	1.200,00
03	Autoclaves	9.000,00
02	Termômetros de Máximo e Mínimo	76,00
06	Prateleiras em Madeira	500,00
09	Bandejas Plásticas	180,00
01	Sala de Frutificação	4.000,00
01	Sala de Incubação	3.500,00
	<b>Total de material existente</b>	<b>36.556,00</b>

Material permanente solicitado		
Quantidade	Especificação	Valor R\$
03	Câmara incubadora BOD	13.500,00
01	Geladeira	600,00
02	Bandejas Plásticas	350,00
01	Pasteurizador	1.750,00
01	Balança Digital 15 Kg	680,00
01	Ventilador Centrífugo	190,00
01	Freezer 546 L	1.599,00
01	Ocular micrométrica	1.000
	<b>Total de material permanente</b>	<b>19.669,00</b>

<b>Material de consumo solicitado</b>		
<b>Quantidade</b>	<b>Especificação</b>	<b>Valor R\$</b>
6000 Kg	Palha de Arroz	Doação
1000	Placas de Petri plástica	300,00
1000	Luvras descartáveis	50,00
10L	Álcool	50,00
500	Sacos Plásticos 2KG	150,00
02	Filme Plástico (1000m)	100,00
03	Barbante	10,00
20	Livros, revistas, cópias	1.500
	<b>Sub-total material de consumo</b>	<b>2.160,00</b>

<b>Manutenção de equipamentos</b>	<b>Valor R\$</b>
Reparo equipamentos laboratório	800,00
<b>Sub-total da manutenção</b>	<b>800,00</b>

<b>TOTAL DO PROJETO</b>	<b>Valor R\$</b>
Material permanente existente	36.556,00
Material permanente solicitado	19.669,00
Material de consumo solicitado	2.160,00
Manutenção de equipamentos	800,00
<b>TOTAL</b>	<b>58.185,00</b>

## **RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO**

## Relatório do trabalho de campo e de laboratório

O início do trabalho de campo deu-se no dia 14 de janeiro de 2008, com a coleta de basidiomas em campo no Horto Botânico-UFPEL. Também foram utilizadas as linhagens preservadas em óleo mineral, *P. ostreatoroseus* Singer (POR1/06) oriunda da UFSC e de *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. (PSC01/06) oriundas do Módulo de Cogumelos/Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP e o isolado nativo de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél.

A cultura inicial foi obtida a partir dos discos preservados para cada uma das linhagens testadas e de basidiomas isolados da linhagem nativa. Para a espécie nativa o micélio foi inoculado em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e incubado à 28°C. Cada isolado foi repicado para novas placas contendo o meio de cultura CDA, à base de capim-elefante-dextrose-ágar e foram incubadas a 28°C por 10 dias. Buscou-se junto a produtores rurais os resíduos que foram utilizados na elaboração dos meios. Após, novamente em laboratório, os resíduos foram secos em estufa a 40°C e triturados em moinho mecânico (Fig. 1).



Figura 1. Moinho mecânico, departamento de zootecnia-FAEM/UFPEL. (Foto: Margéli Albuquerque).

Foram elaborados três diferentes meios à base de ágar-dextrose e extratos da casca de mamona, casca de amendoim e palha de arroz. Cada 30g. de resíduo misturado a água destilada foi submetido a fervura durante 15 minutos. Obtiveram-se assim três extratos. A estes, foram adicionados 15g de ágar e 10g de dextrose e esterilizados em autoclave a 121°C/20 minutos. Os meios preparados foram distribuídos em placas de Petri (90mm x 15mm).

Para as mensurações e taxa de crescimento radial utilizou-se câmara de fluxo laminar, onde os discos de cada linhagem foram transferidos para o centro de placas contendo os meios de cultura. As placas foram incubadas a 25°C±1 até que o crescimento micelial, em algum dos tratamentos, atingisse a borda de uma das placas (Fig. 2).



Figura 2. Placas contendo meio de cultura em fase de crescimento micelial, incubadas em estufa  $25^{\circ}\text{C}\pm 1$ .  
(Foto: Margéli Albuquerque).

O crescimento micelial radial foi medido com auxílio de régua, pelo verso da placa a cada 24h em oito direções ortogonais (quatro diâmetros), (Fig. 3A) em intervalos de 24h, e a primeira leitura foi realizada após 48h de incubação. As médias dos diâmetros foram calculadas para cada tratamento e cada isolado. A última medida do crescimento foi realizada quando o primeiro micélio de um dos tratamentos cresceu até atingir a borda da placa.

A avaliação da produção de biomassa foi determinada usando-se as mesmas placas da avaliação do crescimento superficial após a última leitura do crescimento micelial. Para isso, foram utilizados béqueres de 500mL nos quais foram adicionados 250mL de água destilada mais o meio de cultura com os micélios. Os meios de cultura foram dissolvidos em água fervente durante 5 minutos, recolhendo-se o micélio disperso do meio do cultivo liquefeito [biomassa fúngica úmida (Mmu)] (Fig. 3B).

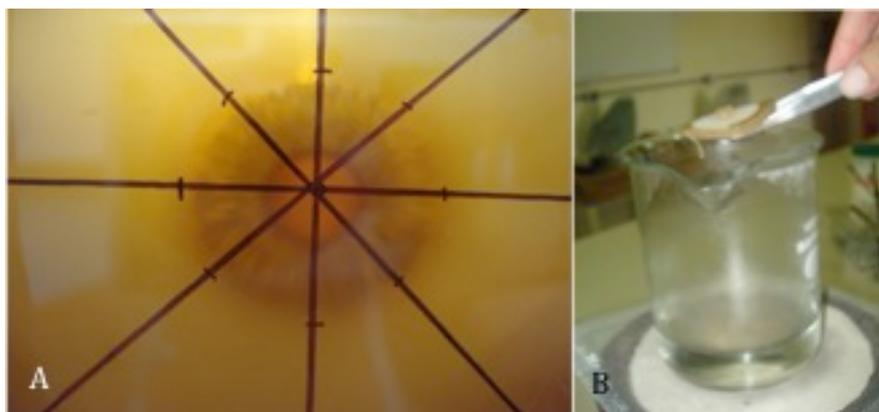


Figura 3. A. Crescimento micelial medido em cm, em 8 direções ortogonais. B. Procedimento para retirada do micélio do meio de cultura para aferir a biomassa fúngica úmida. (Fotos: Margéli Albuquerque).

A biomassa fúngica úmida foi submetida a secagem durante 24 horas a 50°C e novamente pesada para obter-se a biomassa fúngica seca (Mms). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e constou de um fatorial: A x B x C (A = isolado; B = substrato; C = dias de incubação) para variável crescimento; e A x B (A = isolado; B = substrato) para variável massa miceliana. A unidade experimental constou de uma placa de Petri, com 8 repetições por tratamento, totalizando 72 placas.

Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico STATISTIX 9.0 for Windows e regressão polinomial para o período de incubação utilizando o software GraphPad Prism 5.0 para MacOSX. Concomitante a essas atividades foram coletadas amostras dos substratos para análise da relação C:N inicial. Demais atividades incluem a manutenção dos isolados através de constantes repicagens das culturas, registros das linhagens preservadas e monitoramento dos equipamentos do laboratório.

O segundo experimento teve como objetivo avaliar a colonização dos diferentes substratos *in vitro*. Para isto mediu-se o crescimento micelial de duas espécies de *Pleurotus* e uma de *Lentinus* no substratos de palha de arroz, casca do grão de amendoim e casca da semente de mamona, também desenvolvido no Laboratório Experimental de Micologia - LEMICO - Departamento de Microbiologia e Parasitologia – DEMP- Instituto de Biologia – IB da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Foram utilizadas as mesmas linhagens preservadas usadas no primeiro experimento, que foram repicadas para meio de cultura CDA, à base de capim-elefante+dextrose+ágar incubadas a 28°C até a completa colonização do meio. Transcorrido o crescimento micelial, a linhagem foi novamente transferida e cultivada nas mesmas condições até obtenção de crescimento para a realização do experimento.

Para avaliar a capacidade de colonização de *P. ostreatoroseus*, *L. sajor-caju* e *P. pulmonarius* foram utilizados como substrato palha de arroz, casca da semente de mamona e casca de amendoim, adquiridos na agroindústria da cidade de Pelotas, RS. Em laboratório o tratamento dos resíduos constou de secagem em estufa a 40°C e triagem dos resíduos com separação de fragmentos não desejáveis, a fim de assegurar a homogeneidade do material.

No laboratório de análise de substratos da FEPAGRO/RS (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária/RS), as amostras de substrato foram submetidas a análises físico-química para determinação da densidade úmida, umidade atual, densidade seca, porosidade total, capacidade de retenção de água, condutividade elétrica e valor de pH.

Os substratos permaneceram submersos em água de abastecimento público por 24 horas. Tubos de ensaio de 2,5 x 20cm foram preparados colocando-se na base destes uma porção de

algodão umedecido em água, acima da camada de algodão foi adicionada uma coluna de substrato de 11cm de altura. Estes foram fechados com algodão, cobertos com papel alumínio, identificados conforme o tratamento e autoclavados à temperatura de 121°C (1 atm) por 45 minutos.

Em câmara de fluxo laminar e com auxílio de pinça, cada tubo de ensaio contendo o substrato foi inoculado com um disco de CDA de 10mm de diâmetro colonizado com o micélio dos fungos. Os tubos de ensaio foram riscados a caneta com 4 linhas longitudinais e equidistantes, que serviram de orientação para marcar o crescimento linear do micélio. Foi medido, em cada tubo de ensaio, a distância de alcance do micélio a partir da origem de colonização (disco de micélio posicionado no ápice do tubo sobre o substrato) em quatro pontos/dia delimitados pelas linhas longitudinais. Os tubos de ensaio foram incubados a 28°C (Fig. 4), sendo oito repetições para cada linhagem utilizada, em arranjo inteiramente casualizado.



Figura 4. Tubos de ensaio contendo substrato e os discos de micélio, em câmara de incubação à 28°C  
(Foto: Margéli Albuquerque).

As mensurações iniciaram após 72 horas da inoculação e a partir deste momento ocorreram em intervalos de 24 horas. As medidas foram tomadas com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo, até que um dos tubos de ensaio fosse completamente colonizado, o que ocorreu no décimo dia.

O terceiro experimento teve o objetivo de selecionar substratos e indicar as linhagens mais adequadas a produção de cogumelos. Para isso avaliou-se a produtividade, eficiência biológica, massa fresca e composição centesimal dos cogumelos: *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06); *Pleurotus ostreatoroseus* e uma linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* produzidos no substrato composto por resíduos agrícola pasteurizado e a relação carbono/nitrogênio inicial e final do substrato. As linhagens foram repicadas usando a mesma metodologia do segundo experimento.

O inóculo, também denominado “semente” ou *Spawn*, foi obtido utilizando-se como substratos de cultivo grãos de arroz previamente cozidos por 15 minutos. Os grãos de arroz foram

escorridos e acondicionados em frascos de vidro de 8,6 x 14cm, sendo estes fechados com papel alumínio e filme plástico. A esterilização em autoclave foi realizada à 121°C (1atm) por 15 minutos, em duas etapas, após 24 horas foram novamente autoclavados. Após resfriados naturalmente os frascos foram inoculados em câmara de fluxo laminar com discos de 10mm de diâmetro com a cultura dos fungos (matriz primária). Este material foi incubado a 28°C até a colonização dos grãos pelos fungos, sendo esta denominada matriz secundária. A fim de obter-se o volume necessário de *spawn* o procedimento foi repetido substituindo-se os frascos por sacos de polietileno com capacidade para 2L, os quais foram inoculados a matriz secundária. Previamente, no preparo, sacos contendo os grãos foram fechados com algodão, barbante e papel alumínio e esterilizados de forma similar ao preparo da matriz secundária, obtendo-se dessa forma o inóculo em volume suficiente para o experimento (Fig. 5).

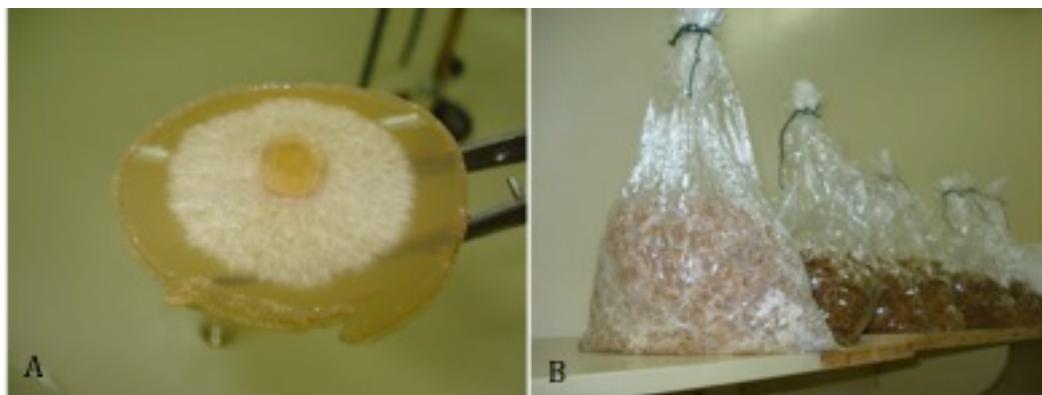


Figura 5. A. Matriz primária. B. *Spawn* de *Pleurotus* produzido em grãos de arroz.  
(Fotos: Margéli Albuquerque).

Como substrato de cultivo foram usadas cascas de amendoim, casca da semente da mamona e a palha de arroz, os quais foram secos a temperatura ambiente e a palha de arroz fragmentada a 7cm. Os resíduos foram separadamente imersos em água por 24 horas, após, escoados para eliminar o excesso de água e acondicionados em sacos de polietileno com capacidade de 2L (Fig. 6A).



Figura 6. Preparo do substrato: A. Casca demamona imersa em água. B. Substrato sendo inoculado, manualmente homogenizado e ensacado. (Fotos: Margéli Albuquerque).

Os sacos de polietileno tiveram suas aberturas fechadas com algodão e barbante, sendo identificados conforme o tratamento. Após este procedimento, os substratos foram submetidos ao tratamento à pasteurização a 80-90°C, durante 40 minutos. Transcorrido o tratamento térmico, os sacos de polietileno foram resfriados a temperatura ambiente até atingirem 25°C. A partir disto os sacos com os substratos pasteurizados foram inoculados com 3% (em relação a massa úmida de substrato) do inóculo dos fungos e uniformizados. A uniformização consistiu em dispor o substrato em bandejas plásticas e mistura-los ao inóculo (Fig. 6B). O substrato agora inoculado foi novamente colocado nos sacos de polietileno e dispostos em prateleiras no módulo de cultivo do Laboratório Experimental de Micologia à temperatura de 20-25°C até a colonização dos substratos e frutificação dos basidiomas. Após a formação dos primórdios os cogumelos foram coletados manualmente no estágio maduro e separados por tratamento (Fig. 7).



Figura 7. Basidiomas em fase de colheita após 18 dias da inoculação. A. *Pleurotus ostreatoroseus*. B. *Pleurotus pumonarius*. (Fotos: Margéli Albuquerque).

Logo em seguida, foram limpos para retirar resíduos do substrato aderido a base do estipe e pesados. Foi avaliada a relação C/N em cada substrato, antes e após o cultivo de acordo com os métodos Walkey-Black e Semi-micro-Kjeldahl (TEDESCO et al., 1995), para isso 12 (doze) amostras foram enviadas ao laboratório de rotina do Departamento de Solos FAEM–UFPEL. Também foram analisados os seguintes parâmetros físicos dos substratos: Densidade Úmida ( $\text{g L}^{-1}$ ), Umidade Atual ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ ), Densidade Seca ( $\text{g L}^{-1}$ ), Porosidade Total ( $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ), Capacidade de Retenção de Água 10cm ( $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ), Condutividade Elétrica ( $\text{dS m}^{-1}$ ), Valor de pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Estas análises foram realizadas na Fepagro- Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária- de acordo com a Instrução Normativa Nº 17, de 21 de maio de 2007 (Fig. 8).



Figura 8. Realização das análises químico-físicas. A. Homogeneização das amostras (em pó) de palha de arroz, casca de amendoim e casca de mamona em água destilada para as análises. B. Filtragem das amostras homogeneizadas. C. Obtenção dos extratos de cada substrato. D. Avaliação do pH dos extratos de cada substrato em pHmêtro de bancada. E. Preparação das amostras para a avaliação de capacidade de retenção de água. F. Análise da capacidade de retenção de água em mesa de tensão. (Fotos: Margéli Albuquerque).

**Artigo 1-Crescimento micelial de *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus* spp. em  
diferentes substratos**

**(Submetido a Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira)**

## **Crescimento micelial de *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus* spp. em diferentes resíduos agrícolas**

**Margeli Pereira de Albuquerque<sup>(1)</sup>; Roberta Marins Nogueira Peil<sup>(1)</sup>; José Soares do Nascimento<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Fitotecnia, Cep 96010-900 Pelotas, RS Brasil Email:margeli\_albuquerque@hotmail.com, robertapiel@ufpel.edu <sup>(2)</sup>Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde – Campus I. Campos universitário 58059-900 - João Pessoa, PB – Brasil. Email: jsnufpel@hotmail.com

Resumo-O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento *in vitro* de três linhagens de cogumelos (*Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju*), cultivadas em meios de cultura formulados à base de resíduos agrícolas, como a palha de arroz, casca de mamona e a casca de amendoim. No meio sólido formulado foi adicionado um disco de cultura no centro da placa, estas foram incubadas a 25°C até a colonização do meio. Avaliou-se, diariamente, o diâmetro da colônia e obteve-se, aos cinco dias de cultivo, a massa miceliana. O meio contendo extrato da casca de amendoim foi o mais adequado para o crescimento da linhagem utilizada de *Lentinus sajor-caju*, que colonizou 68,3% da placa de Petri. O meio contendo extrato de casca de mamona foi mais favorável ao crescimento de *Pleurotus ostreatoreoseus* que colonizou 40,01% da placa. A linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* cresceu indiferentemente nos meios testados e teve maior crescimento comparada a linhagem de *Pleurotus ostreatoroseus*. A linhagem de *Lentinus sajor-caju* no meio contendo extrato da casca de amendoim, apresentou massa micelial seca significativamente maior que todas as demais. O crescimento micelial das linhagens de *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatoroseus* é influenciado pelo meio de cultivo, enquanto o da linhagem nativa utilizada não é influenciado pelos meios testados.

Termos para indexação: *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, fungos comestíveis, crescimento micelial, resíduos agrícolas.

***Mycelial growth of Lentinus sajor-caju and Pleurotus spp. in different agro-wastes***

Abstract - The aim of this study was evaluate the *in vitro* development of three mushrooms strains (*Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju*), growing media based in agricultural wastes, such rice straw, castor bean seed husks and peanut shells. In the solid medium was added a culture disc in the center of a petri dish and than was incubated at 25°C even the completly colonization of the medium. Was evaluated, daily, the colony diameter and was obtained the micelial mass after five days of culture. The medium containing peanut husks extract provides the optimal development for the *Lentinus sajor-caju* strain, when a average of 68.3% of each petri dishes was colonized by mycelia. The medium containig castor bean seed shells was most favorable for *Pleurotus ostreatoreoseus* development, such colonizing 40,01% of each petri dishes. The wild strain of *Pleurotus pulmonarius* grew indifferently in the tested media and reaches the higher development when compared with *Pleurotus ostreatoroseus* strain. *Lentinus sajor-caju* demonstrate siginificantly more mycelial dry mass in the peanut shells medium when compared with the others strains. This result suggests that the mycelial growing of *Lentinus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatoroseus* are influenciad by the media. For the wild strain the mycelial growing its not significantly influenciad by the tested media.

Index terms: *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, edible mushrooms, mycelial growing, agricultural wastes.

## Introdução

Os cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus* Singer, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Qué. e *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. são espécies exploradas no cultivo com significativa importância gastronômica. Também podem ser consideradas espécies importantes para prospecção de substâncias anticancerígenas e antimicrobianas. Estes fungos podem ser cultivados em diferentes substratos formulados à base de resíduos da agroindústria, variando a produtividade em função do substrato elegido.

A identificação de substratos que permitam o rápido desenvolvimento do micélio fúngico é uma das principais etapas nos estudos que visam melhorar a produtividade no cultivo de cogumelos. A evolução da produtividade do Champignon de Paris, com maior desenvolvimento nos anos 80, demonstra que a fungicultura é dependente de variáveis biotecnológicas (Hayes, 1980; Eira, 2004). A condução de experimentos sobre crescimento micelial é importante para antever a influência das características físicas e químicas dos substratos no crescimento vegetativo. Os estudos sobre a influência dos substratos no crescimento micelial de linhagens fúngicas foi enfatizado em trabalhos recentes (Salmones et al., 2004; Donini et al., 2006; Özçelik & Peksen, 2007, Sales-Campos et al., 2008). A capacidade do fungo de crescer e produzir cogumelos em substratos lignocelulósicos está relacionada com o vigor do micélio e com a capacidade de ativar mecanismos fisiológicos (Mata et al., 2001). O cultivo *in vitro* busca elucidar as condições ótimas de crescimento do fungo, em relação a meios de cultura, temperatura e tempo de incubação (Hatvani, 2001), sendo estes conhecimentos pré-requisitos para o seu cultivo comercial. Em condições experimentais de crescimento fúngico é considerado adequado o uso de meio de cultura sólido para avaliação do crescimento, pois na natureza os fungos comumente desenvolvem-se em substratos sólidos, como resíduos vegetais e animais, ou no solo (Bononi et al., 1995).

Savoie et al. (1995) recomendam o uso de um meio de cultura de composição semelhante a que será empregada no substrato de cultivo. No presente trabalho objetivou-se avaliar a velocidade de crescimento micelial e a biomassa seca de três linhagens de cogumelos em três diferentes meios de cultura contendo extratos de casca de mamona, casca de amendoim e palha de arroz. Estas matérias primas são abundantes na região sul do estado do Rio Grande do Sul e possuem potencial para formulação de substratos de cultivo para fungicultura.

## **Material e Métodos**

### **Organismo**

Foram utilizadas as linhagens de *P. ostreatoroseus* Singer (POR1/06), oriunda da Universidade Federal de Santa Catarina, e de *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. (PSC01/06), oriunda do Módulo de Cogumelos/Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista/Campus de Botucatu, Botucatu, SP (Marino, 2002), ambas preservadas em óleo mineral. Foi utilizado também um isolado nativo de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. A cultura inicial foi obtida a partir do micélio (matriz primária) na forma de discos de meio de cultura preservados para cada uma das linhagens testadas. Para a espécie nativa, um fragmento do basidioma foi inoculado em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e incubado a 28°C., segundo o protocolo estabelecido para cultura micelial *in vitro* (Donini et al., 2005). Cada isolado foi repicado para novas placas contendo o meio de cultura CDA, à base de capim-elefante-dextrose-ágar (Donini et al., 2005) e foram incubadas a 28°C por 10 dias, até serem recuperadas e apresentarem crescimento miceliano adequado para inoculação nos meios a serem avaliados.

### **Meios Testados**

Os resíduos utilizados na elaboração dos meios foram adquiridos com produtores rurais após a colheita e secagem natural feita ainda em campo, sob sol. Em laboratório o tratamento

dos resíduos constou de secagem em estufa a 40°C por 24 horas e trituração em moinho mecânico.

Foram elaborados três diferentes meios à base de ágar-dextrose e extratos da casca da semente da mamona (testa/tegumento externo da semente), casca de amendoim e palha de arroz. Estes resíduos foram triturados a pó, em moinho. Cada 30g. de resíduo misturado a água destilada foi fervido durante 15 minutos. Obtiveram-se assim três extratos que foram filtrados com algodão e, devido à evaporação durante a fervura, seus volumes foram completados para 1000mL com água destilada. A estes, foram adicionados 15g de ágar e 10g de dextrose. O volume obtido foi esterilizado em autoclave a 121°C/20 minutos. Os meios preparados foram distribuídos em placas de Petri (90mm x 15mm).

O experimento foi conduzido durante 45 dias no módulo experimental de cultivo do Laboratório Experimental de Micologia (LEMICO), Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Pelotas, RS.

### **Mensurações e taxa de crescimento radial**

Em câmara de fluxo laminar, discos de 10mm de diâmetro de cada linhagem foram transferidos para o centro de placas contendo os meios de cultura. Os discos foram posicionados no centro das placas de Petri com a face do micélio voltada para os meios de cultura. As placas foram incubadas a 25°C±1 até que o crescimento micelial, em algum dos tratamentos, atingisse a borda de uma das placas. O crescimento micelial radial foi medido com auxílio de régua, pelo verso da placa a cada 24h em 8 direções ortogonais (quatro diâmetros), calculando-se, então, a média dos diâmetros. A primeira leitura foi realizada após 48h de incubação e as médias dos diâmetros foram calculadas para cada tratamento e cada isolado. A última, medida do crescimento foi realizada quando o primeiro micélio de um dos tratamentos cresceu até atingir a borda da placa.

A avaliação da produção de biomassa foi determinada usando-se as mesmas placas da avaliação do crescimento superficial após a última leitura do crescimento micelial. Para isso, foram utilizados béqueres de 500mL, nos quais foram adicionados 250mL de água mais o meio de cultura com os micélios. Os meios de cultura foram dissolvidos em água fervente durante 5 minutos, recolhendo-se o micélio disperso do meio do cultivo liquefeito. A biomassa fúngica úmida foi submetida a secagem durante 24 horas a 50°C e novamente pesada para obter-se a biomassa fúngica seca (Mms) (Donini et al., 2006).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e constou de um fatorial: A x B x C (A = isolado; B = substrato; C = dias de incubação) para variável velocidade de crescimento; e A x B (A = isolado; B = substrato) para variável massa miceliana. A unidade experimental constou de uma placa de Petri, com 8 repetições por tratamento, totalizando 72 placas.

### **Análise estatística**

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico STATISTIX 9.0 for Windows.

## **Resultados e Discussão**

Os resultados obtidos apontam algumas interações significativas ( $p < 0,05$ ) entre as linhagens e substratos utilizados e tempo de incubação para a variável crescimento micelial radial (Tabela 1). Assim como entre linhagens e substratos para a variável massa micelial seca (Tabela 2).

Nas primeiras 72 horas de incubação *L. sajor-caju* apresentou maior crescimento nos meios à base de palha de arroz e casca de amendoim, com médias não diferindo entre si. *P. ostreatoroseus* apresentou maior desenvolvimento da colônia no substrato formulado à base de casca de mamona. Para o mesmo período de incubação não foram observadas diferenças

no desenvolvimento de *P. pulmonarius* nos três meios testados.

Em 96 horas de incubação foi possível observar um padrão de respostas diferente das observadas nas primeiras 72 horas de incubação. *L. sajor-caju* apresentou um crescimento superior no meio à base de casca de amendoim e *P. pulmonarius* teve crescimento superior na casca de mamona. Porém, *P. ostreatoroseus* não apresentou diferenças significativa em relação aos três meios neste período de incubação.

Nas próximas 24 horas de incubação continuada, *L. sajor-caju* manteve as maiores médias de crescimento radial da colônia no meio à base de casca de amendoim, enquanto que *P. ostreatoroseus* apresentou um maior crescimento em casca de mamona. No mesmo período *P. pulmonarius* não apresentou diferenças no crescimento micelial nos três meios testados.

Em relação ao crescimento total após 120hs de incubação foi observada uma interação maior entre os isolados de *L. sajor-caju* e *P. ostreatoroseus* e os substratos testados (Tabela 1). Para a linhagem *L. sajor-caju* as maiores médias de crescimento micelial ocorreram no cultivo em meio à base de casca de amendoim (6,15cm) sendo aproximadamente duas vezes menor no tratamento com casca de mamona (3,83cm). No entanto, a linhagem de *P. ostreatoroseus* apresentou as maiores médias de crescimento micelial nos meios à base de mamona (3,61cm) e de palha de arroz (2,91cm), com diferenças significantes entre si, apresentando o menor desenvolvimento nas placas com meio à base de amendoim (2,57cm). O isolado nativo de *P. pulmonarius* apresentou comportamento diferente das demais linhagens estudadas, não sendo observadas diferenças significantes no crescimento médio total em relação aos substratos testados.

Neste trabalho, o cultivo de *L. sajor-caju* em meios à base de palha de arroz e amendoim apresentou uma rápida colonização nas primeiras horas de incubação. Segundo Reyes et al. (1998) o rápido crescimento das hifas com o consecutivo crescimento radial da colônia, está associado à complexidade e composição do meio de cultura, bem como as

condições de incubação. Ainda segundo os mesmos autores, a extensão hifal permite a exploração de regiões ainda não colonizadas do meio na busca por nutrientes. Linhagens de *Volvariella volvaceae* (Bull) Singer, outro cogumelo comestível muito cultivado no mundo, cresceram mais rapidamente em meios de cultura contendo sacarose do que em meios de cultura contendo polissacarídeos mais complexos. O mesmo foi observado para a linhagem de *L. sajor-caju* onde o maior crescimento radial ocorreu no substrato contendo a menor quantidade de polissacarídeos complexos (amendoim) quando comparado aos demais substratos. Segundo Raveendran et al. (1995), a casca de amendoim apresenta menor concentração de polissacarídeos complexos quando comparado com a palha de arroz e a concentração de hemicelulose da casca da mamona é reportada na literatura como sendo baixa em relação a outras espécies vegetais (Gomes, 2007), sendo este polissacarídeo considerado o mais complexo para a assimilação dos fungos (Guzmán et al., 1993). Dessa forma, os meios com baixa concentração de hemicelulose favoreceram o crescimento de *P. ostreatoroseus* e *L. sajor-caju*, porém não pode ser estabelecido um padrão já que *Lentinus sajor-caju* teve baixo crescimento no meio à base de casca de mamona cujo conteúdo de hemicelulose também é baixo. Dessa forma, apenas a baixa concentração de hemicelulose do substrato extraído utilizado no meio não foi suficiente para um crescimento micelial em velocidade. Sabe-se que a maioria dos basidiomicetos da podridão branca e marrom, (inclui-se nesta categoria as espécies de *Pleurotus* e *Lentinus*) apresentam baixos níveis de atividade enzimática hidrolítica, dentre as quais baixos níveis de xilanase (Machuca & Ferraz, 2001).

Esta enzima está relacionada com a degradação da celulose e da hemicelulose. A expressão diferencial de enzimas hidrolíticas como a xilanase é dependente do substrato a que estão sujeitos os fungos e tendem a ser maiores em materiais lignocelulíticos (Elisashvili et al., 2008), assim o processo lignolítico pode aumentar a solubilidade de hemicelulose a medida em que neste processo são produzidas mais enzimas hidrolíticas. Apesar da

reconhecida dificuldade no metabolismo de polissacarídeos como hemicelulose pelos fungos, estes podem ser mais facilmente degradados quando hidrolisados. Dessa forma é possível que no presente trabalho, o menor crescimento de *L. sajor-caju* no meio mamona contendo baixa quantidade de hemicelulose esteja relacionado com a baixa quantidade de lignina neste meio, a qual poderia interferir no processo de hidrólise de hemicelulose dificultando seu aproveitamento. A lignina na casca de mamona é em torno de 6,6% (Bomfim et al., 2006), valor baixo quando comparado a porcentagem descrita para a casca de amendoim 16% (Kwad & Singh, 1993) e palha de arroz 16% (Ulbricht et al., 1984).

Outros autores observaram comportamentos distintos entre as espécies mais utilizadas na fungicultura em relação a capacidade de degradação deste polissacarídeo (Guzmán et al., 1993; Dias et al., 2003; Donini et al., 2006; Silveira et al., 2008).

*P. ostreatoroseus* comportou-se de forma diferente, crescendo mais vigorosamente no meio com extrato de casca de mamona ao principio e manteve-se, assim, ao final de 120hs (Tabela. 1). Em *P. pulmonarius* foi possível observar um crescimento mais homogêneo para os três meios, o que poderia estar refletindo o vigor do isolado nativo. Porém apresentou médias de crescimento significativamente menor que a linhagem *L. sajor-caju* ao longo das avaliações, exceto no meio à base de casca de mamona. No entanto *P. pulmonarius* apresentou maior crescimento micelial radial que *P. ostreatoroseus* nos meios à base de casca de amendoim, não havendo diferenças entre o crescimento destas duas espécies em palha de arroz e em casca de mamona.

Os isolados de *L. sajor-caju* apresentaram as maiores médias de crescimento nos três meios quando comparadas as três espécies estudadas (Tabela 1), no substrato casca de mamona as médias não são significativamente diferentes entre *L. sajor-caju* e *P. pulmonarius*. As diferenças de crescimento micelial entre linhagens fúngicas já foram relatadas por muitos pesquisadores (Boyle, 1998; Maki et al., 2001; Graccioli, 2005; Silva et al., 2005; Andrade et

al., 2008) assim como as diferenças significativas na interação entre linhagens, substratos e dias de avaliação (Donini et al., 2005; Andrade et al., 2008). Estudos recentes tem enfatizado a influência do substrato sobre o crescimento micelial de *L. edodes* e *Pleurotus* spp (Dias et al., 2003; Donini et al., 2005; Andrade et al., 2008), o que também ocorreu para as linhagens avaliadas no presente estudo. Neste o maior crescimento micelial ocorreu para *L. sajor-caju* no eio extraído do substrato com menor conteúdo de hemicelulose (casca de amendoim). Entretanto, para as linhagens de *Pleurotus* estudadas, este não foi o melhor substrato utilizado no preparo do meio de cultura para o crescimento do micélio. *Pleurotus ostreatoroseus* teve maior crescimento no meio à base de casca de mamona e *P. pulmonarius* teve crescimento superior a *P. ostreatoroseus* e não apresentou preferência por nenhum dos meios testados, o que pode estar relacionado com a adaptabilidade enzimática desse isolado nativo. Donini et al. (2005), avaliando a velocidade de crescimento micelial de linhagens de *Pleurotus* spp., observaram o maior crescimento micelial em substrato capim-elefante e o menor crescimento micelial em bagaço da cana-de-açúcar. Os autores atribuem os resultados a capacidade de fungos do gênero *Pleurotus* de liberarem exoenzimas ligno-celulases.

As diferenças de crescimento micelial entre as linhagens testadas no presente trabalho estão de acordo com Bilay et al. (2000) que, ao avaliarem o crescimento de 30 isolados de cogumelos comestíveis em diferentes meios de cultura, entre as linhagens de *Pleurotus calypttratus*, *Pleurotus dryinus*, *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus ostreatus*, concluíram que o crescimento micelial das espécies estudadas é diferente e depende do tipo de meio utilizado e do pH. Dias et al. (2003) avaliando a produção de *L. sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas (palha de feijão, palha de milho e casca de café com e sem enriquecimento), observaram que o crescimento micelial, a produção e a eficiência biológica dependem do composto utilizado.

Nos resultados da massa seca as menores médias foram observadas para as três espécies

estudadas nos meios com extratos de palha de arroz. Os melhores resultados foram observados para *L. sajor-caju* (PSC01/06) no meio à base de casca de amendoim. Para as espécies *P. ostreatoroseus* (POR01/06) a massa micelial foi significativamente maior no substrato à base de casca de mamona. Já *P. pulmonarius* (PPM01/08) foi significativamente superior cascas de mamona e de amendoim, não diferindo entre si. Entre os cogumelos só houve diferença significativa para o *L. sajor-caju* que foi significativamente superior aos demais no cultivo em extrato da casca de amendoim. O lento crescimento do micélio aumenta os riscos de contaminação por outros fungos e bactérias (Jonathan et al., 2008). A linhagem *P. ostreatoroseus*, apesar de apresentar um crescimento lento no meio formulado à base de mamona, em relação a *L. sajor-caju* foi capaz de produzir a maior massa seca micelial, sugerindo que a biomassa produzida por esta linhagem não apresenta relação direta com o diâmetro da colônia. Lonergan et al. (1994), comparando estirpes de *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall, também não observaram relação entre estes parâmetros de crescimento fúngico. Estas diferenças resultam do fato de que se medindo o diâmetro da colônia tem-se apenas a área de crescimento superficial do micélio no meio de cultura, enquanto a medida da biomassa envolve o desenvolvimento de micélio aéreo, assim como a ramificação e densidade de hifas (Lonergan et al., 1994).

Donini et al. (2006), ao estudarem o crescimento micelial de diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. em meio à base de capim-elefante suplementado com diferentes concentrações de farelo de soja, trigo, arroz e milho concluíram que apenas os tratamentos com suplementação de farelos de soja e trigo exerceram efeito positivo nas três linhagens de *P. ostreatus* (Jacq) P. Kumm. por eles estudadas, e as médias de crescimento variaram de 3,6 a 6,5 (linhagem BF24), 3,7 a 6,7 (linhagem DF33) e 4,6 a 6,7cm (linhagem HF19) entre as linhagens. No presente trabalho foram encontradas médias de crescimento que de acordo com

a espécie variaram de 3,83 a 6,15cm (*L. sajor-caju*), 2,57 a 3,61cm (*P. ostreatoroseus*), 3,52 a 3,69cm (*P. pulmonarius*), com diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

### Conclusões

1. O meio de cultura formulado com extrato de casca de amendoim propicia a maior velocidade de crescimento micelial de *Lentinus sajor-caju* (linhagem PSC01/06), cerca de 68,3% em relação ao diâmetro total da placa de Petri.
2. *Pleurotus ostreatoroseus* (linhagem POR1/06) comparada as demais linhagens estudadas apresenta maior velocidade de crescimento micelial no meio à base de extrato de casca de mamona, onde coloniza 40,1% da placa de Petri em 120h de incubação.
3. O crescimento radial da linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* é indiferente nos meios formulados à base de extratos de palha de arroz, extratos da casca da semente da mamona e extratos da casca de amendoim ( $p < 0,05\%$ ).
4. A maior massa seca significativa é produzida pelas linhagens de *Pleurotus ostreatoroseus* (POR01/06) e *Pleurotus pulmonarius* (PPM01/08) em meio contendo extrato da casca de mamona.

### Referências

ANDRADE, M.C.N.; SILVA, J.H.; MINHONI, M.T.A.; ZIED, D.C. Mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains in culture media prepared with sawdust extracts from seven eucalyptus species and three eucalyptus clones. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.30, n.3, p.333-33, 2008.

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

BOMFIM, M.A.D.; SEVERINO, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; OLIVERIA, A.; GOMES, G.M.F.; PEREIRA, L.P.S.; OLIVEIRA, S.Z.R. Avaliação da casca de mamona na alimentação de ovinos. In: **IV Congresso Nordestino de Produção Animal**, 936-939, Petrolina-PE, 2006.

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

BOYLE, C.D. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. **Soil Biology Biochemistry**, v.30, n.6, p.817-823, 1998.

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

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

DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento *in vitro* de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.6, p.995-999, 2006.

EIRA, A.F. Fungos comestíveis. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO J.L. **Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p.379-448.

ELISASHVILI, V.; PENNICKX, M.; KACHLISHVILI, E.; TASIKLAURI, N.; METREVELI, E.; KHARZIANI, T.; KVESITADZE, G. Lentinus edodes and Pleurotus species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. **Bioresource Technology**, v.99, p.457-462, 2008.

GOMES, F.H.T. **Composição químico-bromatológica e degradação in situ de nutrientes coprodutos da mamona e do pinhão-manso da cadeia produtiva do biodiesel**. 2007, 50f. Monografia (graduação em Agronomia). Universidade Federal do Ceará.

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

HAYES, W. A. Solid State Fermentation and the cultivation of Edible Fungi. In: Smith, J. E.; Berry, D. R.; Kristiansen, B. (eds.) **Fungal biotechnology**. British Mycological Society, Academic Press., Symposium n.3, p.175-202, 1980

JONATHAN, S.G.; FASIDI, I.O.; AJAYI, A.O.; ADEGEYE, O. Biodegradation of Nigerian wood wastes by *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. **Bioresource Technology**, v.99, p.807-811, 2008.

LONERGAN, G.; JONES, C.; MAINWARING, D. The effect of pH and temperature on radial growth rate and biomass production for selected Australian white-rot fungi in comparison with two strains of *Phanerochaete chrysosporium*. **Material Organisms**, n. 28, p.309-317, 1994.

MACHUCA, A.; FERRAZ, A. 2001. Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during *Eucalyptus grandis* decay in solid medium. **Enzyme Microbial Technology**, v.29, 386–391. 2001.

MAKI, C.S.; TEIXEIRA, F.F.; PAIVA, E.; PACCOLA- MEIRELLES, L.D. Analyses of genetic variability in *Lentinula edodes* through mycelia responses to different abiotic conditions and RAPD molecular markers. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, n.3, p.170-175, 2001.

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

MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIE, J.M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.18, n.1, p.118-122, 2001.

ÖZÇELİK, E.; PEKSEN, A. Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). **Bioresource Technology**, v.98, n.14, p.2652-2658, 2007.

RAVEENDRAN, K; GANESH, A; KHILAR, C.K. Influence of mineral matter on biomass pyrolysis characteristics. **Fuel**, v.74, n.12, p.1812-22, 1995.

REYES, R.G.; EGUCHI, F.; IJIMA, T.; HIGAKI, M. Physiological considerations for efficient mycelial colonization of Philippine strains of *Volvariella volvacea*. **Journal of Wood Science**, n.44, p.408-413, 1998.

SALES-CAMPOS, C.; EIRA, A.F.; JESUS, M.A.; CAMPAGNOLLI, F.; ANDRADE, M.C.N. Crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em resíduo de *Simarouba amara*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.11, p.1633-1635, 2008.

SALMONES, D.; MATA, G.; WALISZEWSKI, K.N. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. On coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. **Bioresource Biotechnology**, v.96, p.537-544, 2004.

SAVOIE, J.M.; CESBRON, V.; DELPECH, P. Induction of polyphenol-oxidases in the mycelium of *Lentinula edodes*. In: ELLIOT, T. J. (ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkmam, p.787-793, 1995.

SILVA, E.M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A.M. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. **Letter in Applied Microbiology**, v.40, n.4, p.283-288, 2005.

SILVEIRA, M.L.L.; FURLAN, S.A.; NINOW, J. Development of an alternative technology for the oyster mushroom production using liquid inoculum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.858-862, 2008.

ULBRICHT, R.J.; SHARON, J.; THOMAS, J. A review of 5-hydroxymethylfurfura HMF in parental solutions. **Fundamental and Applied Toxicology**, v.4, p.843-853, 1984

Tabela 1. Crescimento micelial radial (cm) por tempo de incubação, de três isolados de cogumelos em diferentes meios de cultura

Isolados	72 hs			96 hs			120 hs		
	Palha de arroz	Casca de amendoim	Casca da semente da mamona	Palha de arroz	Casca de amendoim	Casca da semente da mamona	Palha de arroz	Casca de amendoim	Casca da semente da mamona
<i>L. sajor-caju</i> (PSC01/06)	3,05 aA	3,44 aA	2,40 bA	4,24 bA	5,12 aA	3,10 cB	5,34 bA	6,15 aA	3,83 cA
<i>P. ostreatoroseus</i> (POR01/06)	1,75 bB	1,38 cC	2,00 aB	2,47 aB	2,16 aC	2,5 aC	2,91 bB	2,57 bC	3,61 aB
<i>P. pulmonarius</i> (PPM01/08)	2,28 aB	2,21 aB	2,37 aA	2,90 bB	2,67 bB	3,33 aA	3,52 aB	3,56 aB	3,69 aAB
CV (%)	15,74	7,84	7,74	20,11	23,53	25,50	18,44	26,34	21,42

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha (para cada tempo de incubação) e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2. Médias de massa micelial seca (MMs) obtidas no cultivo de três espécies de cogumelos em três diferentes meios, após 120hs de incubação (dados transformados na escala logarítmica - Log10).

Isolados	MMs (g)		
	Palha de arroz	Casca de amendoim	Casca da semente da mamona
<i>L. sajor-caju</i> PSC01/06	-2,16 cA	-1,54 aA	-1,73 bA
<i>P. ostreatoroseus</i> POR01/06	-2,22 cA	-1,79 bA	-1,59 aA
<i>P. pulmonarius</i> PPM01/08	-2,41 bA	-1,78 abA	-1,59 aA
CV(%)	15,11	13,64	8,78

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Artigo 2- Capacidade de colonização micelial de *Pleurotus ostreatoroseus*,  
*Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos  
(A ser submetido a Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira)**

# Capacidade de colonização micelial de *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos

Margeli Pereira de Albuquerque<sup>(1)</sup>; Roberta Marins Nogueira Peil<sup>(1)</sup>; José Soares do Nascimento<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Fitotecnia, Caixa Postal 354, CEP 96010-900 Pelotas RS Brasil Email: margeli\_albuquerque@hotmail.com, robertapiel@ufpel.edu.

<sup>(2)</sup>Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde – Campus I. Campos universitário 58059-900 - João Pessoa, PB – Brasil. Email: jsnufpel@hotmail.com.

Resumo - *Pleurotus ostreatoroseus* Singer, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. e *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. são espécies de cogumelos de importância gastronômica, cultivados principalmente em palhas de diversas espécies de gramíneas. Outros resíduos da agroindústria podem ser utilizados na fungicultura, sendo que a produtividade de cada espécie pode variar em função do substrato elegido. Neste sentido, experimentos laboratoriais foram realizados para verificar a capacidade de colonização das espécies supracitadas em palha de arroz, casca de mamona e casca de amendoim, em cultivo axênico. Os substratos foram umedecidos, acomodados em tubos de ensaio, esterilizados a 121°C/45min e inoculados com as três espécies de cogumelos. Após foram incubados à 25°C e diariamente mediu-se o crescimento micelial. As três espécies testadas são eficientes na colonização da palha de arroz. *L. sajor-caju* e *P. pulmonarius* desenvolvem-se de forma equivalente em todos os substratos testados, ao contrário de *P. ostreatoroseus* que apresenta médias de crescimento baixa em casca de mamona quando comparadas as demais espécies estudadas.

Termos de indexação: *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, colonização micelial, resíduos agrícolas.

***Micelial colonization capacity of Pleurotus ostreatoroseus, Pleurotus pulmonarius and Lentinus sajor-caju em different substrata.***

Abstract - *Pleurotus ostreatoroseus* Singer, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. and *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. are species of mushrooms with gastronomical importance and growing worldwide, mainly cultivated in straw of grass species. Other agroindustrial residues can be used by an fungicultural approach, such the productivity of each species will be depends of chosen substrata. In this aim, laboratory experiments were carried out to verify the in vitro micelial colonization capacity in rice straw, castor bean seed husks and peanuts shells in axenic cultivate. The substrata were imersed on water for 24 hours and after was inserted in essay tubes and sterilized at 121°C/45min. The tubes were inoculated with mycelial discs of the three mushrooms species and incubate at 25°C and evaluate the linear mycelial growing daily. The tested specie was more efficient to colonizing the rice straw. *L. sajor-caju* and *P. pulmonarius* demonstrate a similar development in all tested substrata, in contrast of *P. ostreatoroseus* wich shows lower growing averages in castor bean seed husks when compared with the other studied species.

Index terms: *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, mycelial linear growing, agricultural wastes.

### **Introdução**

O cultivo de espécies de *Pleurotus* spp. para uso na culinária e fins medicinais tem sido estimulada pela demanda de mercado. Além disso, este cogumelo apresenta maiores facilidades no cultivo, pois coloniza diversos materiais contendo lignocelulose, possui habilidade de crescer em uma maior amplitude de temperatura e demanda curto tempo de cultivo quando comparado com outras espécies cosmestíveis, como *Agaricus* spp. e *Lentinula edodes* (Zadrazil, 1978; Guzmán et al., 1993; Nascimento & Eira, 2007; Oei & van

Nieuwenhijzen, 2005). Dessa forma, o gênero compreende os mais populares cogumelos comestíveis fato que decorre da modesta exigência de cultivo e de suas propriedades organolépticas e medicinais. Apesar de serem raros os relatos de pesquisas brasileiras no assunto, no Brasil, a produção de cogumelos vem aumentando nos últimos anos (Eira, 2000). A fase de crescimento micelial destes fungos sobre um substrato e a escolha de substratos que favoreçam o seu desenvolvimento é de fundamental importância (Maziero et al., 1992; Philippousis et al., 2001). Enquanto o fungo não colonize completamente o substrato, os contaminantes ou competidores podem se constituir em sério problema. As contaminações por fungos e bactérias nessa fase de produção poderão ser minimizadas caso a colonização transcorra de forma mais rápida (Royse, 2002).

A maioria dos cogumelos comestíveis apresentam índices relevantes de desenvolvimento micelial em diversos tipos de matéria-prima (Eira, 2004; Sales-Campos et al., 2008), porém quando o objetivo é elevar a produtividade é imprescindível a seleção do substrato onde o micélio desenvolva-se rapidamente e com vigor (Pedra & Marino, 2006; Bernardi et al., 2007). A interação entre substratos e fontes nutricionais diferentes pode ser mais propícia ao desenvolvimento de uma linhagem do que de outras, e assim também os fatores externos como temperatura e luminosidade podem exercer diferentes respostas sobre distintas espécies ou linhagens (Andrade et al., 2010). Desta forma, é recomendada a seleção do material disponível mais adequado a ser utilizado como substrato para produção, e o uso de linhagens mais adaptadas ao clima da região, onde posteriormente se realizará a produção (Sagir & Yildiz, 2004). Obodai et al. (2003) citam diferentes produtos lignocelulósicos que se prestam ao cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., a saber: palhas e cascas de arroz, folhas de bananeira, capim-elefante e serragem. Moda et al. (2005), também citam uma série de resíduos da agricultura com potencial para produção de espécies de *Pleurotus*, dentre os quais; bagaço de cana-de-açúcar, o sabugo de milho, folhas de bananeira e resíduos de

algodão.

A produção de cogumelos apresenta algumas vantagens em relação a outras culturas, como aproveitamentos de rejeitos agrícolas, produção elevada por superfície cultivada e aproveitamento do substrato como adubo orgânico após o período de colheita, além disso tem importância estratégica para o desenvolvimento econômico de uma propriedade rural. Os três resíduos a serem estudados neste trabalho são abundantes na região de Pelotas-RS, oriundos de propriedades rurais da região. Dentre eles, a casca de amendoim e a casca de mamona não são utilizadas no cultivo comercial de cogumelos. Dessa forma o presente trabalho teve como objetivo testar a capacidade de colonização *in vitro* de *Pleurotus ostreatoroseus* Singer, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. E *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr., através do crescimento linear do micélio em resíduos gerados regionalmente, a saber: palha de arroz, cascas de amendoim e da semente da mamona.

### **Material e Métodos**

O experimento de crescimento micelial, foi realizado para avaliar a taxa de crescimento micelial de duas espécies de *Pleurotus* e uma de *Lentinus* no substratos de palha de arroz, casca do grão de amendoim e casca da semente de mamona (tegumento externo da semente).

O estudo foi desenvolvido no Laboratório Experimental de Micologia – LEMICO – Departamento de Microbiologia e Parasitologia – DEMP- Instituto de Biologia – IB da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Para isto, foram utilizadas as linhagens POR01/06 de *P. ostreatoroseus* oriunda da UFSC e PSC01/06, *Lentinus sajor-caju* oriunda do Módulo de Cogumelos/Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista/Campus de Botucatu, Botucatu, SP (Marino, 2002), e um isolado nativo de *Pleurotus pulmonarius* PPM01/08, coletado no Horto Botânico Irmão Teodoro Luiz da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). As linhagens

preservadas foram repicadas para meio de cultura CDA, à base de capim-elefante+dextrose+agar (Donini et al., 2005), incubadas a 28°C até a completa colonização do meio. Transcorrido o crescimento micelial, a linhagem foi novamente transferida e cultivada nas mesmas condições até obtenção de crescimento para a realização do experimento.

Para avaliar a capacidade de colonização de *P. ostreatoroseus*, *L. sajor-caju* e *P. pulmonarius* foram utilizados como substrato palha de arroz, casca da semente de mamona e casca de amendoim, adquiridos na agroindústria da cidade de Pelotas, RS. Em laboratório o tratamento dos resíduos constou de secagem em estufa a 40°C e triagem dos resíduos com separação de fragmentos não desejáveis, a fim de assegurar a homogeneidade do material. As amostras foram submetidas a análises físico-química para determinação da densidade úmida, umidade atual, densidade seca, porosidade total, capacidade de retenção de água, condutividade elétrica e valor de pH (Fermino, 2002).

Os substratos permaneceram submersos em água de abastecimento público por 24 horas. Tubos de ensaio de 2,5 x 20cm foram preparados colocando-se na base destes uma porção de algodão umedecido em água, acima da camada de algodão foi adicionada uma coluna de 11cm de altura de substrato. Estes foram fechados com algodão, cobertos com papel alumínio, identificados conforme o tratamento e autoclavados à temperatura de 121°C (1 atm) por 45 minutos.

Em câmara de fluxo laminar e com auxílio de pinça, cada tubo de ensaio contendo o substrato foi inoculado com um disco de CDA de 10mm de diâmetro colonizado com o micélio dos fungos. Os tubos de ensaio foram riscados a caneta com 4 linhas longitudinais e que serviram de orientação para marcar o crescimento linear do micélio. Foi medido, em cada tubo de ensaio, a distância de alcance do micélio a partir da origem de colonização (disco de micélio posicionado no ápice do tubo sobre o substrato) em quatro pontos/dia delimitados pelas linhas longitudinais. Os tubos de ensaio foram incubados a 28°C, sendo oito repetições

para cada linhagem utilizada, em arranjo inteiramente casualizado.

As mensurações iniciaram após 72 horas da inoculação e a partir deste momento ocorreram em intervalos de 24h. As medidas foram tomadas com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo, até que um dos tubos de ensaio fosse completamente colonizado, o que ocorreu no décimo dia.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste Tukey para comparação das médias, utilizando o programa estatístico Statistix 9.0.

### **Resultados e Discussão**

A colonização dos substratos testados pelas três linhagens de cogumelos transcorreu em 10 dias. Comparando os três substratos para cada cogumelo foram observadas diferenças significativas entre o potencial de colonização de cada linhagem aos resíduos testados. No substrato palha de arroz ocorreu a maior velocidade de crescimento miceliano e consecutiva colonização do substrato para as três linhagens testadas (Tabela 1). Neste resíduo, os micélios de *P. pulmonarius* e *L. sajor-caju* colonizaram mais rapidamente do que a espécie *P. ostreatoroseus*, porém mantendo o crescimento de forma paralela, a partir dos acréscimos no crescimento diário (Figura 1). Na casca de amendoim o isolado nativo *P. pulmonarius* apresentou a melhor capacidade de colonização, seguido pelo *L. sajor-caju* e com capacidade de colonização significativamente menor para *P. ostreatoroseus* (Figura 2). Na casca de mamona, os isolados de *P. pulmonarius* e *L. sajor-caju* apresentaram perfil de colonização semelhante. Estes dois isolados apresentaram acréscimos no crescimento diário superior a linhagem de *P. ostreatoroseus*, o que resultou ao final da incubação mais de 50% de diferença (Figura 3).

Na taxa de crescimento diário houve diferenças significativas. Como se observa na Tabela 1, a taxa de colonização de *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus pulmonarius* em palha de

arroz foi significativamente maior que a taxa obtida no cultivo em casca de mamona e amendoim, não diferindo significativamente entre as três linhagens de cogumelos. Diferenças significativas foram evidenciadas na utilização da casca de mamona, em que o cultivo de *P. pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* foram superiores as obtidas com *P. ostreatoroseus*. Característica também similar observada na casca de amendoim. Para *P. pulmonarius* o mais indicado foi o cultivo na palha de arroz e o menos indicado foi o cultivo na casca de amendoim.

Para *P. ostreatoroseus* a colonização da palha de arroz não diferiu do substrato amendoim, e demonstrou a menor colonização em casca de mamona ( $p < 0,05$ ).

Fato importante neste experimento foi o crescimento do isolado nativo de *P. pulmonarius*, que apresentou comportamento semelhante as linhagens comerciais, já adaptadas a outros substratos, conforme evidenciado por outros pesquisadores (Mata et al., 2001; Marino, 2002; Donini, et al., 2005, 2006; Bernardi et al., 2007; Minotto et al., 2008). Entretanto na linhagem POR01/06 de *P. ostreatoroseus* o crescimento micelial foi equivalente dois dos substratos testados ( $p < 0,05$ ), sugerindo que esta linhagem seja menos seletiva. A colonização mais eficaz para as linhagens averiguadas ocorreu na palha de arroz colonizada por *L. sajor-caju* (Figura 1). O substrato que menos propiciou o crescimento micelial foi a casca da semente da mamona e a casca do amendoim colonizada por *P. ostreatoroseus* [ $p < 0,05$ ] (Figura 2, 3). A taxa diária média de crescimento linear de *P. ostratoroseus* em palha de arroz foi de  $0,92 \text{ cm.dia}^{-1}$ . A taxa diária média de *P. ostreatoroseus* em casca de mamona e casca de amendoim foi respectivamente 0,32 e 0,55 cm/dia. A partir das análises da relação C/N dos substratos empregados neste ensaio (Tabela 2), foi possível verificar que a melhor colonização em substrato palha de arroz pode estar relacionada com a relação elevada de C/N (81:1) presente na palha de arroz quando comparado aos demais valores de C/N dos substratos estudados: casca de amendoim (42:1); casca de mamona (31:1).

Conforme Manachère (1980 *apud* Yildiz 1998), em cultivo de *Pleurotus ostreatus* devem ser consideradas também a relação C/N, porém para *Pleurotus ostreatus* var *salignus* cultivado em 4 diferentes substratos (amendoim, soja, sorgo e palha de trigo) com a maior produtividade alcançada em palha de amendoim e de soja, não foi possível estabelecer uma correlação entre alta C/N e a produtividade (Yildiz et al., 1998).

Segundo Eira (2004), em condições axênicas o cultivo de cogumelos como *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes*, *Pholiota nameko* podem ser realizado em substrato com relação C/N entre 15 e 25:1, sendo o principal objetivo do uso de substratos com relação C/N baixa no cultivo axênico, obter elevada produtividade, visando assim cobrir os custos dos processos de esterilização e assepsia. Como regra sempre que a relação C/N for estreita (15 a 20:1) contendo açúcares, aminoácidos, vitaminas e outros compostos de baixo peso molecular, prontamente disponíveis, nenhum fungo seria competitivo a menos que se estabelecesse o cultivo axênico (Eira, 2004).

É reportado na literatura que substratos com relação C:N baixa limitam o crescimento dos basidiomas (Singh & Verma, 1996) Kamra & Zadrazil (1988), admitiram ocorrer inibição da degradação da lignina em decorrência da alta concentração de N em substratos utilizados em cultivo de cogumelos comestíveis. Dias et al. (2003) testando diferentes resíduos agrícolas no sul de Minas Gerais para o cultivo de *Lentinus sajor-caju* verificaram que o melhor resíduo testado foi a palha de feijão pura. Estes autores recomendam o uso deste substrato associado a outros com uma relação C/N alta, devido o elevado conteúdo de N na palha de feijão. Dessa forma, não há um consenso entre os autores sobre as recomendações para cultivo de *Pleurotus* e espécies afins. O que também foi observado no cultivo de espécies de *Lentinula*, neste a baixa relação C/N limitou o crescimento micelial em condições de cultivo axênicas (Rossi et al., 2001). Segundo Gregori et al. (2007), os melhores resultados para o desenvolvimento de espécies de *Pleurotus* são conseguidos com substratos constituídos

à base de palha, o que já havia sido reportado também por Zhang et al. (2002) para outras espécies. Oei (1991) e Obodai et al. (2003) apontam a casca de arroz e serragem como melhor substrato para o crescimento micelial do fungo e a palha de arroz o melhor substrato para produção de cogumelo, indicando que o crescimento micelial e a produção possuem requerimentos diferentes (Oei, 1991).

Experimentos com linhagens nativas de *P. ostreatus*, *P. eryngii* e *P. pulmonarius* demonstraram significativo aumento nas taxas de colonização em palhas de trigo e resíduos do algodão quando comparadas a cascas de amendoim. Também foi observada uma correlação entre a relação C/N e produtividade de *P. eryngii* (Philippoussis et al., 2001).

Lignina, celulose e o conteúdo mineral de substratos tem mostrado influência no crescimento e frutificação de *Pleurotus* spp. (Tisdale, 2004). Philippoussis et al. (2001) demonstraram que a proporção lignina:celulose do substrato foi positivamente correlacionada com o crescimento micelial e produtividade de *P. ostreatus* e *P. pulmonarius*.

Buswell et al. (1996) realizaram estudos descritivos acerca dos perfis enzimáticos de três espécies de cogumelos comestíveis, *L. edodes*, *P. pulmonarius* e *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer. *L. edodes* que desenvolve-se naturalmente em substratos ricos em lignina, como troncos de árvores e serragem. Espécies de *Pleurotus* são conhecidas por produzir tanto Mn peroxidase e laccase, duas enzimas específicas da cadeia de degradação de lignina. *V. volvacea* demonstra preferência por substratos ricos em celulose, como é o caso das palhas vegetais, produzindo diversas enzimas celulíticas, mas nenhuma capaz de decompor a lignina. Quando a produção de enzimas foi quantificada para *P. pulmonarius* foram observados elevados níveis de ambos grupos de enzimas tanto celulíticas e lignolíticas (Buswell et al. 1996). *Pleurotus platypus* Sacc. e *Pleurotus citrinopileatus* Singer aparentemente preferem substratos de maior conteúdo lignocelulítico como é o caso do bagaço de cana-de-açúcar e fibra de coco (Ragunathan et al., 1996). Entretanto, neste trabalho, *Pleurotus pulmonarius*

colonizou de forma diferente os 3 substratos demonstrando maior habilidade em colonizar o substrato rico em celulose, como é o caso da palha de arroz. Oliveira et al., (2007), que estudaram a colonização de *P. pulmonarius* em casca de arroz e sabugo de milho, concluíram que a casca de arroz foi o substrato mais eficiente.

O desenvolvimento da habilidade lignocelulítica requer condições nutricionais e culturais, incluindo substrato metabolizável, altos teores de oxigênio, um limite de nitrogênio e outras condições de cultivo (Regina, 2005). Existem evidências de que até mesmo as melhores condições nutricionais oferecidas por determinados substratos podem afetar negativamente determinada linhagem (Moda et al., 2005). Resultados encontrados por Donini et al. (2006) demonstram que a elevada relação C/N do capim-elefante afetou o crescimento de *P. ostreatoroseus*, fazendo com que a colonização micelial ocorresse com maior velocidade, mas com vigor reduzido. Os resultados obtidos no presente estudo corroboram a discussão dos autores supracitados, no que diz respeito ao observado para as três espécies de cogumelo usadas foram evidenciadas diferenças significativas nas respostas encontradas para os três tratamentos.

No crescimento micelial radial com meios de cultura formulados à base dos mesmos substratos (dados não apresentados) foram encontrados resultados que diferem destes observados na colonização *in vitro* como, por exemplo, o crescimento de *Pleurotus pulmonarius* que nos três substratos não diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) no diâmetro da colônia. Isso sugere que as diferenças encontradas no crescimento micelial nos substratos podem estar relacionadas não somente a características nutricionais do meio mas também a características físicas. O conhecimento das características químicas e físicas é determinante na escolha do substrato mais adequado (Bellé & Kämpf, 1993) e, considerando-se que não há um substrato universalmente válido para todas as espécies de cogumelo, é interessante a avaliação do desempenho de fungos sabendo-se a condição física do substrato.

A padronização em relação aos aspectos físicos que possam influenciar o desenvolvimento das linhagens fúngicas pode ser uma opção adequada em estudos científicos que visem a escolha de substratos. A maioria das informações sobre propriedades físicas de substratos referem-se às plantas, sendo inexistentes para cultivo de cogumelos, no qual o substrato serve de fonte nutricional. A metodologia de análises físicas (Tabela 2) utilizada neste trabalho foi adaptada a que se aplica para substratos de cultivo de plantas. Dessa forma, alguns atributos não puderam ser avaliados como a porosidade total ( $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ) e a capacidade de retenção de água 10cm ( $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ). Isso devido a natureza de alguns substratos como, por exemplo, a porosidade e a capacidade de retenção de água da palha de arroz. Os esforços para otimizar a produtividade de *Pleurotus* spp., em substratos baseados em diferentes espécies de gramíneas demonstrou ser um caminho promissor para converter resíduos de baixo valor econômico, mas abundantes na região Sul do Brasil, em alimento de elevado valor nutricional. Os resultados demonstram que, nos moldes em que este experimento foi conduzido, as respostas mais favoráveis de crescimento ocorreram no substrato palha de arroz. Isso pode estar indicando a preferência das linhagens fúngicas estudadas, por uma moderada quantidade de sais dissolvidos, ou seja, uma baixa pressão osmótica que pode influenciar a absorção dos nutrientes pelas hifas do micélio (Higashi et al., 2002; Galvagno e Forchiassin, 2004). Além disso os resultados sugerem que a elevada relação C/N (81:1), baixos valores de umidade e densidade são atributos que favorecem colonização do substrato.

### Conclusões

1. O substrato de cultivo palha de arroz entre os três substratos testados é o mais indicado para o crescimento micelial de *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus pulmonarius*, pois neste ocorre a rápida colonização pelos fungos ( $p < 0,05$ ).
2. O substrato de cultivo casca da semente de mamona proporciona menor colonização pelo

micélio de *P. ostreatoroseus* ( $p < 0,05$ ) com uma taxa de crescimento médio diário de  $0,32 \text{ cm dia}^{-1}$ .

3. O isolado nativo de *Pleurotus pulmonarius* apresenta média de crescimento significativamente equivalente as demais linhagens e demonstra o potencial para fungicultura.

### Agradecimentos

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (Capes) pela concessão de bolsa de doutorado à primeira autora.

### Referências

ANDRADE, M.C.N.; CHAVARI, J.L.; MINHONI, M.T.A.; ZIED, D.C. Crescimento micelial in vitro de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* submetidas a diferentes condições de temperatura. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.1, p.69-72, 2010.

BELLÉ, S.; KÄMPF, A.N. Produção de mudas de maracujá-amarelo em substratos à base de turfa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.3, p.385-390, 1993.

BERNARDI, E.; DONINI, L.P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Utilização de diferentes substratos para a produção de inóculo de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **Revista Ciência Agronômica**, v.38, n.1, p.84-89, 2007.

BUSWELL, J.A.; CAI, Y.J.; CHANG, S.T.; PEBERDY, J.F.; FU, S.Y.; YU, H.S. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** v.12, p.537–542, 1996.

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

DOMONDON, D.L.; HE, W.; KIMPE, N.D.; HÖFTE, M.; POPPE, J. b-Adenosine, a bioactive compound in grass chaff stimulating mushroom production, **Phytochemistry**, v.65 p.181–187. 2004

DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. Desenvolvimento in vitro de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.6, p.995-999, 2006.

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

EIRA, A.F. Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente). **Anais III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. III RIFIB, Mogi das Cruzes – sp. P. 71-81. 2000.

EIRA, A.F. Fungos comestíveis. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO J.L. **Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004, p.379-448.

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

FERMINO, M.H. O uso da análise física na avaliação da qualidade de componentes e substratos. In: FURLANI, A.M.C.; BATAGLIA, O.C.; ABREU, M.F.; ABREU, C.A.; FURLANI, P.R., QUAGGIO, J.A.; MINAMI, K. (Coords.). **Caracterização, manejo e qualidade de substratos para a produção de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2002. p.29-37.

GALVAGNO M.A.; FORCHIASSIN, F. Fisiologia dos fungos: nutrição e metabolismo. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO. J.L. (Orgs.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS. 2004, p.125-169.

GREGORI, A; SVAGELJ, M.; POHLEVEN, J. Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. **Food Technology and Biotechnology**, v.45, n.3, p.238–249, 2007.

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

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

HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A.; GONÇALVES, A.N. **Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus***. Circular Técnica – IPEF. N.194, 2002.

KAMRA, D. N.; F. ZADRAZIL. Microbiological improvement of lignocellulosics in animal feed production. In: ZADRAZIL, F.; RENINGER, P. **Treatment of Lignocellulosics with White Rot Fungi**. Elsevier Applied Science Publishers Ltd., London, UK. 1988, p.56-63.

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

MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIE, J. M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 18, n. 1, p. 118-122, 2001.

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

MINOTTO, E.; BERNARDI, E.; DONINI, L.P.; NASCIMENTO, J.S. Crescimento miceliano in vitro de *Pleurotus ostreatus* e colonização do substrato capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) suplementado com diferentes farelos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, p.379-383, 2008.

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

NASCIMENTO, J.S.; EIRA, A.F. Isolation and mycelial growth of *Diehliomyces microsporus*: effect of culture medium and incubation temperature. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 587-595, 2007.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K. A. Comparative study on the growth and yield of *P. ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by products. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 30, n.3, p.146-149, 2003.

OEI, P. **Manual on mushroom cultivation: techniques, species and opportunities for commercial application in developing countries**. CTA, Wageningen, The Netherlands, 1991.

OEI, P.; van NIEUWENHIJZEN, B. **La culture des champignons à petite échelle. Tome 1.: Pleurotes, Shiitakes et Auriculaires**. Agromisa/CTA, Wageningen, Pays-Bas, 2005, 86p.

OLIVEIRA, M.A.; DONEGA, M.A.; PERALTA, R.M; SOUZA, C.G.M. Produção de inóculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet – CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 84-87, 2007.

PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. Em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp., **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.17, p.191–200, 2001.

RAGUNATHAN, R.; GURUSAMY, R.; PALANISWAMY, M.; SWAMINATHAN, K. Cultivation of *Pleurotus* spp. on varios agro-residues. **Food Chemistry**, Oxford, v.55, n.2, p.139-144, 1996.

REGINA, M.; BROETTO, F. Atividade de enzimas oxidativas do *Lentinula edodes* em meio de cultura líquido de subprodutos energéticos. **Energia na Agricultura**, v. 20, n. 1, p. 47-61, 2005.

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

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

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

SALES-CAMPOS, C.; EIRA, A.F.; JESUS, M.A.; CAMPAGNOLLI, F.; ANDRADE, M.C.N. Crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em resíduo de Simarouba amara. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 11, p. 1633-1635, 2008.

SINGH, T.G.; VERMA, R.N. Studies on carbon and nitrogen of *Lentinula lateritia* (Berk.) Pegler strains from northeastern India. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS, 1996, University Park. **Proceedings**. University Park : Pennsylvania State University, 1996. p.345-354.

TISDALE, T. E. **Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus* sp.) on wood substrates in hawaii**. 2004. 105p. Dissertação (Mestrado) - University of Hawai, Havaí.

YILDIZ, A.; KARAKAPLAN, M; AYDIN, F. Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum. var. *salignus* (Pers. ex Fr.) Konr. et Maubl.: Cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores, **Food Chemistry**. v.61, p.127–130, 1998.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In. Chang, S.T.; Hayes, W.A. **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms**. Academic Press, New York, 1978. p.521-558.

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

Tabela 1. Média de crescimento (cm.dia<sup>-1</sup>) das linhagens de *P. ostreatoroseus* (POR 01/06), *L. sajor-caju* (PSC01/06) e de *P. pulmonarius* (PPM 01/08) em diferentes substratos, após 10 dias de incubação a 26°C, UFPEL, Pelotas, 2009.

Linhagens	Colonização (cm.dia <sup>-1</sup> )		
	Palha de arroz	Casca de Amendoim	Casca da semente da Mamona
<i>L. sajor-caju</i>	0,92 aA	0,68 cA	0,78 bA
<i>P. ostreatoroseus</i>	0,80 aA	0,55 abA	0,32 bB
<i>P. pulmonarius</i>	0,90 aA	0,57 cA	0,78 bA
CV(%)	13,88	24,17	34,25

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 2. Análise Físico-Química\* dos substratos testados para crescimento micelial das linhagens de fungos.

Características analisadas	Casca de Amendoim	Casca da semente da Mamona	Palha de Arroz
Densidade Úmida (g L <sup>-1</sup> )	94	177	23
Umidade Atual (g 100g <sup>-1</sup> )	23	47	9
Densidade Seca (g L <sup>-1</sup> )	21	83	2
Porosidade Total (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0,59	0,79	0,00
Capacidade de Retenção de Água 10cm (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0,26	0,42	0,00
Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	0,31	2,36	0,18
Valor de pH (H <sub>2</sub> O)	5,90	6,35	6,57
Relação C/N	42:1	31:1	81:1

\*Análises realizadas de acordo com a Instrução Normativa N° 17, de 21 de maio de 2007.

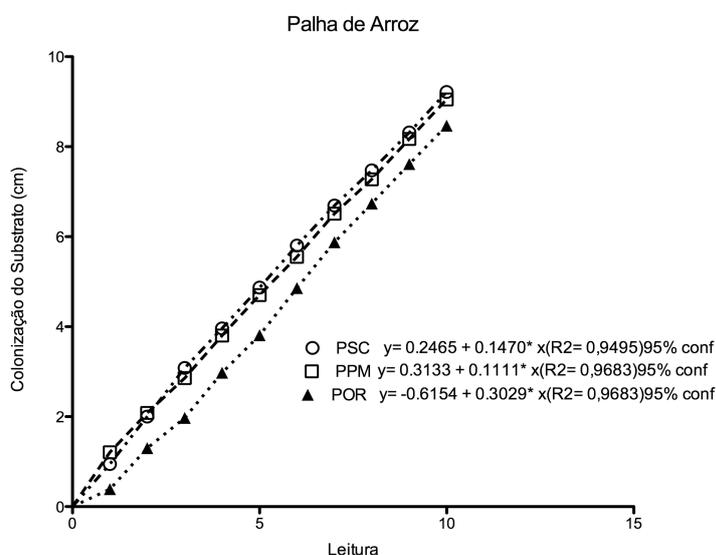


Fig. 1. Crescimento radial micelial (cm) *in vitro* das linhagens cultivadas em substrato à base de palha de arroz por tempo de incubação (horas). PSC= *Lentinus sajor-caju*, PPM= *Pleurotus pulmonarius*, POR= *Pleurotus ostreatoroseus*

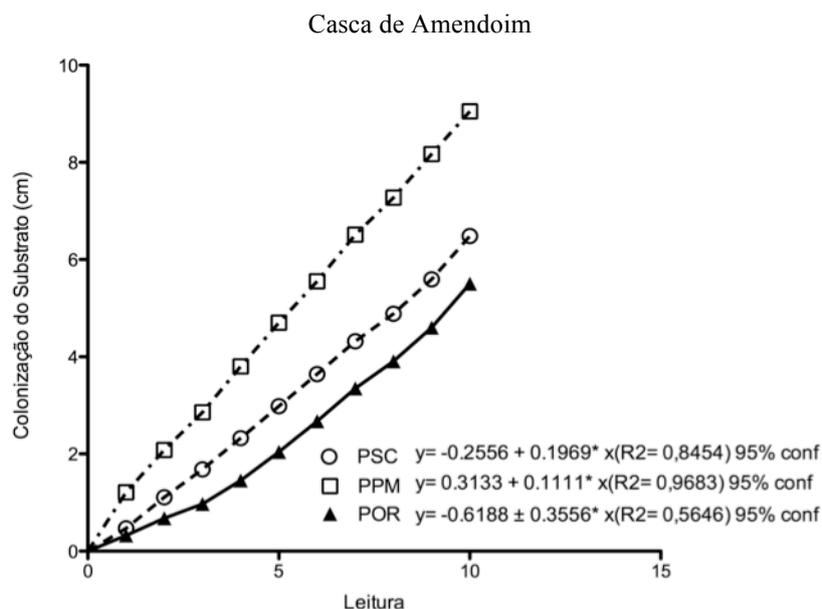


Fig. 2. Crescimento radial micelial (cm) *in vitro* das colônias das três linhagens cultivadas em substrato à base de casca de amendoim pelo tempo de incubação (horas). PSC= *Lentinus sajor-caju*, PPM= *Pleurotus pulmonarius*, POR= *Pleurotus ostreatoroseus*

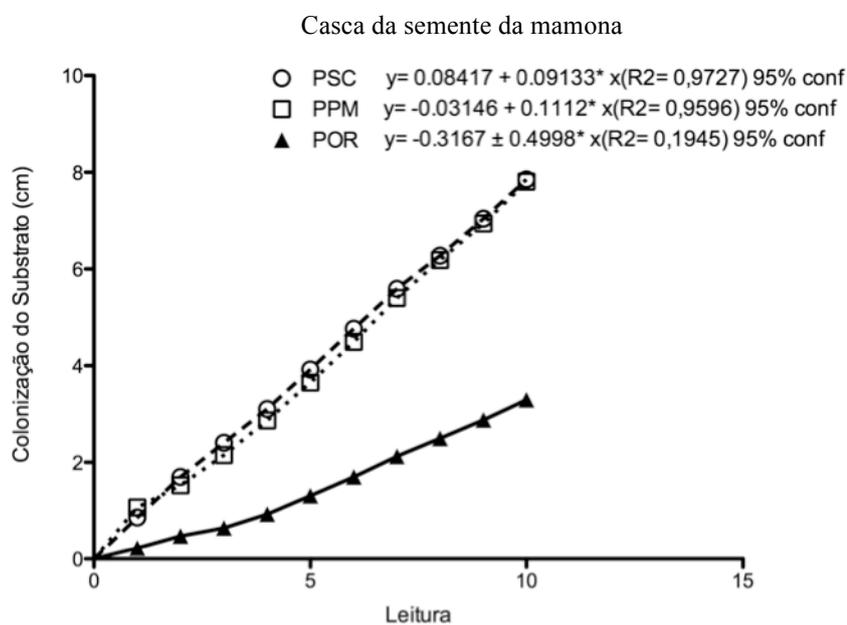


Fig. 3. Crescimento radial micelial (cm) *in vitro* das colônias das três linhagens cultivadas em substrato a base de casca da semente da mamona por tempo de incubação (horas). PSC= *Lentinus sajor-caju*, PPM= *Pleurotus pulmonarius*, POR= *Pleurotus ostreatoroseus*

**Artigo 3-Cultivo dos cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e  
*Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos  
(A se submetido a Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira)**

# **Cultivo dos cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos**

**Margeli Pereira de Albuquerque<sup>(1)</sup>; Roberta Marins Nogueira Peil<sup>(1)</sup>; José Soares do Nascimento<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Fitotecnia, Caixa Postal 354, CEP 96010-900 Pelotas RS Brasil Email: margeli\_albuquerque@hotmail.com, robertapiel@ufpel.edu.

<sup>(2)</sup>Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde – Campus I. Campos universitário58059-900 - João Pessoa, PB – Brasil. Email: jsnufpel@hotmail.com

Resumo - O objetivo deste trabalho foi selecionar substratos de cultivo para três espécies de cogumelos, avaliando-se a massa fresca e seca, a produtividade, a eficiência biológica e a composição centesimal de três espécies de cogumelos de importância gastronômica cultivadas em resíduos agrícolas pasteurizados. Foram testadas linhagens de *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* cultivadas em palha de arroz, casca da semente da mamona e casca de amendoim. Os substratos foram umedecidos, pasteurizados, inoculados e incubados a temperatura de 20-25°C. Os basidiomas foram coletados manualmente, pesados frescos e posteriormente desidratados em estufa de aeração e novamente pesados. Nas linhagens testadas a maior produtividade foi observada em palha de arroz. *Lentinus sajor-caju* e *Pleurotus pulmonarius* apresentam uma maior eficiência biológica quando cultivadas em palha de arroz e em casca de amendoim, enquanto *Pleurotus ostreatoroseus* é mais eficiente em casca de mamona. Os basidiomas de *Pleurotus pulmonarius* e de *Pleurotus ostreatoroseus* apresentam a maior quantidade de proteínas quando cultivados em palha de arroz, enquanto que para a linhagem de *Lentinus sajor-caju* esta relação é verdadeira para casca de mamona. Os resultados demonstram a viabilidade do uso dos resíduos agrícolas na fungicultura, tanto para linhagens comerciais quanto para linhagens nativas.

Termo de indexação: *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, resíduos agrícolas, produtividade, eficiência biológica, conteúdo nutricional.

**Cultive of *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* and *Lentinus sajor-caju* in different substrata**

Abstract - The aim of this study was to evaluate the fresh and dry mass, productivity, biological efficiency and centesimal composition of three species of gastronomical importance mushrooms growing in pasteurized agricultural wastes. Was tested the strains POR01/06 (*Pleurotus ostreatoroseus*), PPM01/08 (*Pleurotus pulmonarius*) e PSC01/06 (*Lentinus sajor-caju*) cultivate in rice straw, castor bean seed husks and peanut shells. The substrata was moisten, pasteurized, inoculated and incubates at 20-25°C. The basidiomata was collected manually, weighed fresh and were dehydrated to obtain the dry mass. In the tested strain the higher productivity was observed in the rice straw cultivate. *Lentinus sajor-caju* and *Pleurotus pulmonarius* demonstrate a higher biological efficiency when growing in rice straw and peanut shells substrata, while *Pleurotus ostreatoroseus* are more efficient in castor bean seed husks. The *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus ostreatoroseus* basidiomata showing a higher protein content when cultivated in rice straw, while for *Lentinus sajor-caju* this is true for castor bean seed husks. These results suggests the viability of the use of agricultural wastes for cultivate of wild and commercial mushrooms strains.

Index terms: *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lentinus sajor-caju*, agricultural wastes, productivity, biological efficiency, centesimal nutritional content.

### **Introdução**

As espécies de *Pleurotus*, popularmente conhecidas por cogumelos ostra, são decompositoras primárias de madeira e outros resíduos vegetais biodegradáveis (Zadrazil & Kurtzman, 1982). O Gênero *Pleurotus* possui muitas espécies que estão se tornando cada vez

mais importante como um recurso alimentar (Moore & Chiu, 2001). Chang & Miles (2004) reconhecem 50 espécies de *Pleurotus* economicamente importantes.

Estes fungos apresentam propriedades nutricionais com elevados teores de proteínas (19 a 35% da massa seca), aminoácidos essenciais, ácidos graxos insaturados, vitaminas e minerais, bem como um vasto potencial de uso medicinal. Diversos trabalhos sugerem a existência de compostos com efeitos terapêuticos produzidos por cogumelos (Cheung & Lee, 2000; Lavi et al., 2006). Em função desses compostos, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos, e alguns polissacarídeos importantes estão sendo isolados e identificados a partir de espécies de *Pleurotus* spp. (Cheung & Lee, 2000). Segundo Pramanik et al. (2005), o extrato aquoso de *Lentinus sajor-caju* (Fr) Fr. (= *Pleurotus sajor-caju*), contém vitaminas B1, B2 e C e pode reduzir o nível de colesterol no sangue. De acordo com Gregori et al. (2007), estes polissacarídeos induzem apoptose, causando o fim do ciclo celular, o que torna estas substâncias importantes armas anticâncer. Uma nova molécula de  $\alpha$ -glucano, isolada a partir do micélio de *Pleurotus ostreatoroseus* Singer, induz a apoptose de células carcinógenas cultivadas *in vitro* (Lavi et al., 2006).

As qualidades alimentares e nutracêuticas de *P. ostreatoroseus*, *P. pulmonarius* (Fr.) Quéll e *L. sajor-caju* aliada a possibilidade de cultivá-los com resíduos da agricultura com baixo custo de produção, despertam o interesse em sua produção. Os cogumelos *P. ostreatoroseus* e *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Singer são conhecidos comercialmente por *Shimeji* ou *Hiratake*, variando o nome conforme o tamanho do basidioma na colheita, sendo o primeiro coletado em estágio jovem e o segundo em estágio maduro. No Município de Capão do Leão, a produção de *Hiratake* comercialmente abastece com frequência os supermercados, em Pelotas-RS. Estes cogumelos foram introduzidos à pequenos grupos de agricultura familiar interessados por fungicultura, em 2004-2005, por meio de extensão universitária da Universidade Federal de Pelotas, Departamento de

Microbiologia e Parasitologia. Regionalmente o pioneirismo do uso da tecnologia de cultivo de *Pleurotus* foi baseada na técnica chinesa *Jun-cao* (Urban & Uriartt, 2001) neste o maior atrativo deve-se a possibilidade de cultivar estes cogumelos em substrato formulado a partir de resíduos agroindustriais. Segundo Pelizer et al. (2007), estes resíduos podem conter substâncias de valor e se for utilizada uma tecnologia adequada, tais resíduos podem ser convertidos em importantes produtos. Além disso considerando o princípio “ZERI” (“Zero Emissions Research Initiative”), que propõe encontrar novas atividades que permitam a conversão das fontes de resíduos em fontes de empregos, alimentos, entre outros, a valorização dos resíduos agrícolas se enquadra na proposta. A utilização sustentável de resíduos lignocelulósicos visando à produção de cogumelos pode contribuir para melhorar a qualidade de vida da população, reduzir a emissão de resíduos e agregar valor aos produtos da atividade de cultivo (Chang, 2003).

No Brasil estudos enfocando a busca de substratos que otimizem a produtividade trouxeram contribuições esclarecendo o comportamento de *Pleurotus* spp. nos seguintes resíduos: folha de bananeira (Sturion, 1995), palhas de arroz, capim-elefante, capim andropogon, capim-marandu, milho, trigo, feijão e outros resíduos como polpa de café, casca de coco, sabugo de milho (Dias et al., 2003), bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de uva (Paz et al., 2006), entre outros.

A identificação de espécies silvestres em particular de linhagens que proporcionem algumas características vantajosas em relação às atualmente cultivadas como cor, sabor, textura ou exigências de cultivo, tem sido enfatizadas por reconhecidos centros de pesquisa (Albertó & Gasoli, 2003). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a resposta de três isolados de cogumelos em três diferentes substratos e sugerir o substrato mais indicado para cada uma das espécies. Para isto, avaliou-se a produtividade, eficiência biológica, massa fresca e composição centesimal dos cogumelos: *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06), *Pleurotus*

*ostreatoroseus* e uma linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* além da relação carbono/nitrogênio inicial e final do substrato.

### Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório Experimental de Micologia - LEMICO - Departamento de Microbiologia e Parasitologia – DEMP- Instituto de Biologia – IB da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Foram utilizadas as linhagens *P. ostreatoroseus* Singer (POR01/06), *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. (PSC01/06,) e um isolado nativo de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Qué. oriundas da UFSC, do Módulo de Cogumelos/Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista/Campus de Botucatu, Botucatu, SP (Marino, 2006) e do Horto Botânico Irmão Teodoro Luiz da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), respectivamente.

Muitas espécies de *Pleurotus* foram transferidas para os gêneros *Hohenbuehelia* Schulzer e *Lentinus* Fr. (Singer, 1951; Kühner & Romagnesi, 1953), dessa forma foi adotado o nome *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. em virtude da atualização da nomenclatura, sendo este o nome aceito e publicado na obra de referência de posicionamento taxonômico e nomenclatural para macromicetos (Kirk et al., 2001) e não mais *Pleurotus sajor-caju* ainda que este seja freqüente na literatura.

O delineamento experimental constou de oito repetições por tratamento, conduzidos inteiramente ao acaso, em um fatorial A x B sendo: (A= linhagem de *Pleurotus ostreatoroseus*; *Lentinus sajor-caju*; *Pleurotus pulmonarius* e B= substrato). A unidade experimental constou de um saco de polietileno utilizado para o cultivo. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste Tukey para comparação das médias utilizando o programa Statistix 9.0.

As linhagens foram multiplicadas em meio de cultura à base de capim-elefante+dextrose+Agar (Donini et al., 2005) e incubadas a 28°C por sete dias, para obtenção de crescimento miceliano adequado.

O inóculo, também denominado “semente” ou *Spawn*, foi obtido a partir de repiques da matriz primária, utilizando-se grãos de arroz previamente cozidos por 15 minutos. Em seguida os grãos de arroz foram escorridos e acondicionados em frascos de vidro de 8,6 x 14cm, os quais foram fechados com papel alumínio e filme plástico e autoclavados a 121°C (1 atm) por 15 minutos, os mesmos aguardaram 24 horas resfriando e foram novamente autoclavados nas mesmas condições. Após este processo, os frascos foram inoculados em câmara de fluxo laminar com discos de 10mm de diâmetro com a cultura dos fungos *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* previamente preparada em meio CDA. Os frascos foram incubados a 28°C até a colonização dos grãos pelos fungos, obtendo-se assim a matriz secundária. A fim de obter-se o volume necessário de *spawn* o procedimento foi repetido substituindo-se os frascos por sacos de polietileno com capacidade para 2L, os quais foram inoculados com os grãos de arroz previamente colonizados, para isso os sacos foram fechados com algodão, barbante e papel alumínio e autoclavados nas mesmas condições do preparo da matriz secundária, obtendo-se dessa forma a matriz terciária, com inóculo em volume suficiente para o experimento.

Como substratos de cultivo foram usados cascas de amendoim, a palha de arroz e o tegumento externo (testa) da semente da mamona (denominado neste trabalho como casca da semente da mamona). Estes substratos foram secos à temperatura ambiente e a palha de arroz fragmentada a 7cm. Estes resíduos foram separadamente imersos em água por 24 horas, após, escoados para eliminar o excesso de água e acondicionados em sacos de polietileno com volume de 2L. Os sacos de polietileno tiveram suas aberturas fechadas com algodão e

barbante e foram identificados conforme o tratamento. Após este procedimento, os substratos foram submetidos ao tratamento térmico: pasteurização a 80-90°C, durante 40 minutos.

Transcorrido o tratamento térmico, os sacos de polietileno foram resfriados a temperatura ambiente até atingirem 25°C. A partir disto os sacos com os substratos pasteurizados foram inoculados com 3% (em relação a massa úmida de substrato) do inóculo dos fungos e uniformizados. Essa uniformização consistiu em dispor o substrato em bandejas plásticas e misturá-los manualmente ao inóculo.

O substrato agora inoculado foi novamente colocado nos sacos de polietileno e dispostos em prateleiras no módulo de cultivo do Laboratório Experimental de Micologia a temperatura de 20-25°C até a colonização dos substratos e frutificação dos basidiomas.

Após a formação dos primórdios e com os cogumelos maduros foram coletados manualmente e separados por repetição. Logo em seguida, foram limpos para retirada de resíduos dos substratos aderidos à base do estipe e pesados.

Apesar de ser encontrada na literatura a necessidade de se colocar os resultados de produtividade em termos de matéria seca (Rajarithnam & Bano, 1987), a predominância na literatura é em termos de matéria úmida de cogumelos por matéria seca do substrato, conhecida como eficiência biológica (Bisaria et al., 1987; Rajarithnam & Bano, 1988, Rajarithnam & Bano, 1989).

Neste trabalho as variáveis avaliadas foram massa fresca, produtividade em base úmida (Kopytowski Filho, 2002) e eficiência biológica (Eira, 2004), calculados, respectivamente, da seguinte forma: Produtividade (%)= Massa úmida de cogumelo/Massa úmida de substrato x 100 e Eficiência Biológica (%)= Massa úmida de cogumelo/Massa seca de substrato x 100.

Foi avaliada a relação C/N em cada substrato, antes e após o cultivo de acordo com os métodos Walkey-Black e Semi-micro-Kjeldahl (Tedesco et al., 1995), pelo laboratório de

rotina do Departamento de Solos FAEM–UFPEL. Também foram disponibilizados os seguintes dados físicos dos substratos: Densidade Úmida ( $\text{g L}^{-1}$ ), Umidade Atual ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ ), Densidade Seca ( $\text{g L}^{-1}$ ), Porosidade Total ( $\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$ ), Capacidade de Retenção de Água 10cm ( $\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$ ), Condutividade Elétrica ( $\text{dS m}^{-1}$ ), Valor de pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ) com as análises realizadas de acordo com a Instrução Normativa N° 17, de 21 de maio de 2007 (Tabela 1).

### **Resultados e Discussão**

A linhagem *P. pulmonarius* PPM01/08 e *L. sajour-caju* PSC01/06 formaram os primórdios, respectivamente, em 15 e 16 dias após a inoculação nos três substratos, enquanto a linhagem POR01/06 de *P. ostreatoroseus* formou primórdios com 15 dias na palha de arroz, 16 dias na casca de amendoim e 28 dias na casca de mamona. Considerar apenas uma variável na seleção de um substrato ou de uma linhagem torna-se inseguro, pois os resultados podem ser conflitantes, em face dos fatores de interferência experimental. Por isso, neste trabalho foram avaliadas a massa seca, massa fresca, produtividade e eficiência biológica.

A massa seca obtida nos três cogumelos teve variação significativa, e na massa seca total obtida em um dos substratos. (Tabela 1). Os três cogumelos produziram uma maior massa seca no primeiro fluxo não significativa, entre si, nos substratos palha de arroz e casca de amendoim. Já para a casca de mamona não houve diferença significativa entre os fluxos para a linhagem PSC01/06. Entretanto, para os outros dois cogumelos a massa seca foi significativamente maior nas duas últimas colheitas. Na massa seca total sobressaiu-se os cogumelos produzidos na casca de mamona, seguido pelos produzidos na palha de arroz, sem diferenças significativas entre os cogumelos. Na casca de amendoim, com médias totais menores as obtidas nos demais substratos, não diferiram entre si as linhagens PSC01/06 e POR01/06.

Em relação à massa fresca total, os dados mostram praticamente a mesma relação apresentada para massa seca, uma vez que implica apenas na supressão do teor de umidade nos cogumelos (Tabela 2).

A produtividade dos cogumelos obtida nos três diferentes substratos demonstrou diferenças significativas entre os fluxos de colheita e entre os cogumelos em cada substrato, exceto PPM01/08 no substrato arroz e no total em todas as linhagens no substrato casca de mamona (Tabela 3). No cultivo na palha de arroz houve diferença significativa na produtividade total, onde as linhagens PSC01/06 e PPM01/08 não diferiram entre si, porém PSC01/06 foi significativamente superior à linhagem POR01/06. Já em relação aos substratos, a produtividade obtida no cultivo na palha de arroz e na casca de mamona foram significativamente maiores que na casca de amendoim para os três linhagens (Figura 1).

Na Tabela 3, observa-se que no primeiro fluxo no substrato palha de arroz não houve diferenças entre as linhagens PSC01/06 e POR01/06, mas ambas foram superiores a produtividade da linhagem PPM01/08. No segundo fluxo, quem menos produziu foi a linhagem POR01/0 e no terceiro fluxo não houve diferenças entre as linhagens. Para PSC01/06 e POR01/06, a queda da produtividade entre o primeiro e o segundo fluxo foi bastante acentuada, sendo em média, em torno de 50% menor. Uma característica incomum aos cogumelos foi apresentada pela linhagem PPM01/08 nesse substrato, em que não houve diferença significativa entre os fluxos. Normalmente o primeiro fluxo é o mais significativo, acima de 50% da produtividade total (Bernardi et al., 2009). No substrato casca de mamona houve uma produtividade significativamente maior nos fluxos segundo e terceiro para as três linhagens estudadas. Neste substrato, há necessidade de maior tempo de cultivo, enquanto nos demais substratos, em torno de 50% do rendimento foi obtido no primeiro fluxo. No substrato casca de amendoim, no qual houve uma menor produtividade total em relação aos demais

substratos, no primeiro fluxo houve a maior produtividade. Entre os cogumelos, não houveram diferenças de produtividade .

A média total obtida na variável eficiência biológica (EB) diferiu significativamente entre as linhagens PSC01/06 e PPM01/08 quando cultivado no substrato casca de amendoim e PSC01/06 e POR01/06 no substrato palha de arroz (Figura 2).

Entre os três cogumelos produzidos a EB foi maior para a linhagem PSC01/06 cultivado na palha de arroz. Já na casca de mamona não ocorreu diferença significativa para as três linhagens.

Em cada substrato, os fluxos foram significativamente variáveis (Tabela 4). No substrato palha de arroz as linhagens PSC01/06 e POR01/06 apresentaram maior EB no primeiro fluxo, enquanto PPM01/06 não demonstrou diferença entre os três fluxos. Nesse substrato houve predomínio na diminuição da EB nos fluxos sucessivos ao primeiro. No substrato casca de mamona houve uma inversão, onde o primeiro fluxo apresentou uma menor EB e os dois fluxos sucessivos não diferiram entre si. Desta forma, o substrato casca de mamona retarda o surgimento dos primórdios, prolongando o ciclo produtivo, mas sem interferir na EB total. No substrato casca de amendoim a EB foi menor do que nos demais cogumelos, sendo mais significativa no primeiro fluxo não diferindo entre as três linhagens. No segundo fluxo sobressaíram-se as linhagens PSC01/06 e POR01/06 e no terceiro fluxo PSC01/06 e PPM01/08. Neste estudo a eficiência biológica de *P. ostreatoroseus* variou de 18,26 a 54%, apesar de não ser a linhagem com maior EB este valor está acima do encontrado por outros autores em experimento realizado com a mesma espécie cultivada em casca de coco suplementada com farelo de trigo e/ou arroz, onde foi encontrada uma eficiência biológica que variou de a 4,75 a 15 % (Pedra & Marino, 2006).

De um modo geral os valores totais obtidos para massa fresca, eficiência biológica e produtividade foram significativamente superiores para o substrato palha de arroz. Também

foram verificados valores menores para as variáveis estudadas a partir do segundo fluxo de produção, em pelo menos dois dos três substratos testados, fato já demonstrado por Zhang et al. (2002), em cultivo de *L. sajor-caju* sobre palhas de arroz e trigo. Este resultado possibilita a opção por estratégias seguras para o cultivo de cogumelos *Hiratake* e *Shimeji* de acordo com a resposta do substrato, evitando perdas na produção, uma vez que um fluxo estendido de produção pode aumentar os custos do cultivo por aumento da incidência de pragas e contaminações e perda de espaço com substrato exaurido (Colauto & Eira 1995).

As linhagens de *Pleurotus* spp. apresentam uma ampla versatilidade metabólica, sendo mais hábeis em extrair nutrientes em materiais com relação C/N média a alta. Neste experimento foram utilizados materiais com elevada relação C/N de 31/1, 42/1 e 81/1 (Tabela 5). Houve maior redução na relação C/N nos materiais com maior teor de carbono, a exemplo do que ocorreu no substrato casca de arroz. Nos demais a proporção em reduzir a relação C/N foi similar em torno de 50%. Essa relação é importante, por determinar a capacidade de colonização do micélio, pressupondo que a relação C/N baixa resulta em menor colonização mais rápida porém com menor produtividade (EIRA, 2004).

No entanto, no substrato casca de mamona o qual apresentou relação C/N inicial menor, observou-se que a produtividade foi significativamente maior do que na casca de amendoim que apresentava relação C/N maior. A relação C/N inicial da casca de mamona é considerada baixa quando comparadas com a relação C/N indicada por Eira e Minhoni (1997) para cultivo de *Pleurotus* spp.

Já a palha de arroz, substrato tradicionalmente utilizado no cultivo de diversos cogumelos, com relação C/N mais alta foi o que apresentou maior rendimento com destaque para PSC01/06 e POR01/06.

Na composição centesimal dos cogumelos colhidos observou-se que os teores de gordura são maiores na linhagem PSC01/06 sendo o valor mais alto (2%) produzido no cultivo em

casca de amendoim (Tabela 6). Os teores de gordura variaram de 0,81 a 2,0%, estes valores são baixos quando comparados a outros resultados para *L. sajor-caju* cultivado em diferentes substratos como em Bonatti et al. (2004) que encontraram valores de 1,77 a 5,26% de gordura.

Os teores de cinza foram maiores na linhagem POR01/06 e, por sua vez, o maior valor (8,8%) foi obtido no cultivo em casca de mamona. Os teores de proteína foram mais influenciados pelo tipo de substrato, como observado na Tabela 6, variaram de 10,9 a 28,1%. Na linhagem PSC01/06 o maior teor de proteína (23,1%) foi obtido no substrato casca de mamona. Na linhagem POR01/06 o maior teor (17,0%) foi obtido na casca de amendoim. E na linhagem PPM01/06 o maior teor (28,1%) foi obtido na palha de arroz. Conforme descrito, o teor de proteína depende da interação cogumelo/substrato. Os maiores teores de fibras foram obtidos a partir do cultivo em materiais com maior relação C/N, que foi a palha de arroz, exceto na linhagem PPM01/08 cultivada em casca de amendoim. O teor de fibras de *L. sajor-caju* cultivado na palha de arroz variou de 7,46 a 22,7%, estes valores estão próximos aos encontrados na literatura para *Lentinus sajor-caju*. Bernardi et al. (2009) cultivando esta espécie encontraram teores de fibras de 10,32 a 15,43% utilizando capim-elefante como substrato de cultivo. Patrabansh & Madan (1997) apontam teores de 11,8 e 13,5% e Madan et al., (1987), encontraram valores 12,7 a 18,01%.

Dentre as análises físicas dos substratos avaliou-se a densidade, a casca de amendoim revelou uma densidade de 94 g L<sup>1</sup>, sabe-se que a maior densidade do substrato aumenta a produtividade (Eira & Minhoni, 1997). Entretanto foi observado neste trabalho que o cultivo em sacos de polietileno não atingiram maior produtividade quanto maior a densidade do substrato pois o substrato com maior densidade teve menor produtividade, assim como o substrato de menor densidade obteve maior valor de produtividade.

O substrato palha de arroz apresentou a menor densidade e condutividade elétrica ( $18 \text{ dS m}^{-1}$ ) entre os três substratos testados (Tabela 7) e de forma geral, neste substrato ocorreram os maiores incrementos em produtividade. Comparado aos substratos casca de amendoim a casca da semente da mamona, apresentou maior porosidade e capacidade de retenção de água, bem como maior produtividade e eficiência biológica. São raros os trabalhos sobre a influência da condutividade elétrica do substrato no cultivo de fungos, porém sabe-se que após o cultivo a condutividade elétrica tende a aumentar devido a elevação do teor de sais ou cinzas (Sharma & Madan, 1999). Percebe-se que este parâmetro não influenciou positivamente a produtividade, principalmente em casca de mamona, sugerindo a ocorrência de uma quantidade ideal de sais para desenvolvimento dos basidiomas.

### Conclusões

1. A linhagem de *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06) é a mais indicada ao cultivo por apresentar maior massa fresca, produtividade e eficiência biológica ( $p < 0,05$ ) nos três substratos.
2. Os substratos mais indicados ao cultivo das linhagens estudadas são a palha de arroz e a casca da semente de mamona por promoverem maior produtividade e eficiência biológica.
3. A qualidade nutricional dos cogumelos varia conforme o substrato utilizado. *P. ostreatoroseus* e *P. pulmonarius* apresentam baixo teor de gordura e acumulam mais minerais em seus basidiomas quando cultivados em casca da semente de mamona.
4. A produtividade da linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* foi significativamente equivalente ( $p < 0,05$ ) as demais linhagens nos substratos palha de arroz e casca da semente de mamona indicando seu potencial na fungicultura.

### Referências

- ALBERTÓ, E.; GASONI, L. Producción de Hongos Comestibles en la Argentina. **Idia XXI**, n.5, p.70-76, 2003.
- BERNARDI, E.; DONINI, L.P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Cultivo e características nutricionais de *Pleurotus* em substrato pasteurizado. **Bragantia**, v.68, n.4, p.901-907, 2009.
- BISARIA, R.; MADAN, M.; BISARIA, V. S. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. **Biological Wastes**, v.19 p.239-55, 1987.
- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.M.; FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v.88, p.425-428, 2004.
- CHANG, S. E.; MILES, P.G. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. CRC Press Boca Raton, 2004, 451p.
- CHANG, S. T. Mushroom cultivation using the “Zeri” principle: potencial for application in Brasil. **Anais do Primeiro Simpósio Internacional sobre cogumelos na alimentação, saúde, tecnologia e Meio Ambiente no Brasil**. Documentos 88, Brasília, DF: Embrapa, 2003. p.32-41.
- CHEUNG, P.C.; LEE, M.Y. Fractionation and characterization of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) as potential nutraceuticals from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) singer. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.48, p.3148–3151, 2000.
- COLAUTO, N. B.; EIRA, A. F. Efeito de recipientes de contenção do substrato na distribuição da produção de *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Energia na Agricultura**, v.10, p.19-28, 1995.

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

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

EIRA, A.F. Fungos comestíveis. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO J.L. **Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p.379-448.

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

GREGORI, A; SVAGELJ, M.; POHLEVEN, J. Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. **Food Technology and Biotechnology**, v.45, n.3, p.238-249, 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo. 1985. 533p.

KIRK, P.M.; CANNON, P.F.; DAVID, J.C.; STALPERS, J.A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi, 9th**. CAB International, Wallingford, 2001, 655p.

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

KÜHNER, R.; ROMAGNESI, H. **Flore Analytique des Champignons Supérieurs**. Masson et cie, Paris. 1953, 556p.

LAVI, I.; FRIESEM, D.; GERESH, S.; HADAR, Y.; SCHWARTZ, B. An aqueous polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects on HT-29 colon cancer cells. **Cancer Letters**, v.244, p.61-70, 2006.

MADAN, M.; VASUDEVAN P.; SHARM S. Cultivation of *Pleurotus sajor- caju* on different wastes. **Biological Wastes**, v.22, p.241-250, 1987.

MAHER, M.J. Spent mushroom compost (SMC) as a nutrient source in peat based potting substrate. **Mushroom Science**, v.13, 1991. p.645-650.

MARINO, R. H.; EIRA, A. F.; QUEIROZ, E. C. Melhoramento genético de *Pleurotus ostretus*. *Hoehnea* (São Paulo), v.33, p.349-357, 2006.

MOORE D.E; CHIU, S.W. Fungal product as food. In: Pointng S.B., Hyde K.D. (eds). **Bio-exploitation of filamentous fungi**. Hong Kong: Fungal Diversity Press. 2001, p.223-251.

PAZ, M. F.; VIEIRA, E.; BREYER, C.A.; GIOVANNI, R. N.; BERTOLDI, F.C. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de Uva Isabel. **Evidência**, v.6, p.187-194, 2006.

PATRABANSH, S; MADAN M. Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes. **Acta Biotechnologica**, v.17, n.2, p.107-122, 1997.

PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. Em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I.O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução de impacto ambiental. **Journal of Technology Management and Innovation**, v.2, p.118-127, 2007.

PRAMANIK, M.; MONDAL, S.; CHAKRABORTY, I.; ROUT, D.; ISLAM, S.S. Structural investigation of a polysaccharide (Fr. II) isolated from the aqueous extract of an edible mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. **Carbohydrate Research**, Oxford, v.340, n.4, p.629-636, 2005.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* Mushrooms. Parte 1.A: Morfology, Life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, p.157-223, 1987.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus Mushrooms. Parte 1B: Pathology, in vitro and vivo growth requirements, and world status. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, p.243-311, 1988.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus Mushrooms. Parte III: Biotransformations of Natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.28, p.31-113, 1989.

RINKER, D.L. Handling and using "spent" mushroom substrates around the world. **Proceedings of the 4th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products**. 2002, p.43-60.

SHARMA, S.; MADAN, M. Microbial protein from leguminous and non-leguminous substrates. **Acta Biotechnologica**, v.13, p.131-139, 1999.

SINGER, R. The Agaricales (Mushrooms) in Modern Taxonomy. **Lilloa**, v.22, p.5-832, 1951.

STURION, G. L.; OETTERER, M. Utilização da folha de bananeira como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.15, n.2, p.194-200, 1995.

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

URBEN, A.F.; URIARTT, A.H. Principios do cultivo de cogumelos pela técnica "Jun-Cao". In: URBEN, A.F. **Produção de cogumelos por meio da tecnologia chinesa modificada**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2001. p.151.

YILDIZ, A.; KARAKAPLAN, M.; AYDIN, F. Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum. var. *salignus* (Pers. ex Fr.) Konr. et Maubl.: Cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores, **Food Chemistry**, v.61, p.127-130, 1998.

ZADRAZIL, F.; KUTZMANN, R.H. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics In Chang, S.T.; Quimio, T.H. (eds.). **Tropical mushrooms**, v.493, p.277-298, 1982.

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

.

Tabela 1. Massa seca (g.) de três cogumelos, coletados em três fluxos, produzidos nos substratos palha de arroz, casca de mamona e casca de amendoim, Pelotas-RS.

Linhagem	Palha de Arroz (fluxo)					Casca da semente da Mamona (fluxo)					Casca de Amendoim (fluxo)				
	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total
PSC01/06	12,06aAB	6,46bA	4,82bA	30,71	23,34A	6,78aA	13,07aA	14aA	45,41	33,85A	7,21aA	3,27bA	2,67bA	44,18	13,15A
POR01/06	14,41aA	6,23bA	4,67bA	46,96	25,31A	2,45bA	14,17aA	9,8aA	47,29	26,42A	9,93aA	2,57bA	2,5bA	46,17	15A
PPM01/08	11,12aB	6,3bA	5,42bA	28,98	22,84A	5,17bA	14,57aA	15,47aA	19,71	35,21A	5,86aA	1,76bA	0,38bB	31,86	8B
CV(%)	7,27	41,37	36,62		28,78	10,03	14,03	26,17		31,82	32,41	33,82	33,51		35,88

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2. Massa fresca (g.) de três cogumelos, coletados em três fluxos, produzidos nos substratos palha de arroz, casca de mamona e casca de amendoim, Pelotas-RS.

Linhagem	Palha de Arroz (fluxo)					Casca da semente da Mamona (fluxo)					Casca de Amendoim (fluxo)				
	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total
PSC01/06	141,63aA	89,37bA	53cA	10,60	284A	48,25bA	128,5aA	76,47abA	37,03	253,22A	63,25aA	37,25bA	27,25bA	31,42	127,75A
POR01/06	114aAB	33bB	43,98bA	43,86	190,98B	9,5bA	103,63aA	49,85abA	37,62	162,98A	67aA	23,75bAB	9,75bB	43,94	100,5AB
PPM01/08	92aB	84,37aA	55,62aA	26,03	231,99AB	32,25bA	120aA	78,5abA	36,77	230,75A	48,12aA	6,25bB	18,71bAB	30,67	73,08B
CV(%)	5,14	42,04	31,15		25,73	10,41	30,47	37,85		40,89	22,08	36,93	34,30		24,44

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 3. Produtividade (%) de três cogumelos, coletados em três fluxos, produzidos nos substratos palha de arroz, casca de mamona e casca de amendoim, Pelotas-RS.

Linhagem	Palha de Arroz (fluxo)					Casca da semente da Mamona (fluxo)					Casca de Amendoim (fluxo)				
	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total
PSC01/06	14,16aA	8,93bA	5,3cA	22,29	28,39A	4,8bA	12,85aA	7,64abA	39,23	25,29A	6,32aA	3,72bA	2,72bA	38,98	12,76A
POR01/06	11,4aAB	3,3bB	4,39bA	34,99	19,09B	0,95bA	10,36aA	4,98abA	33,14	16,29A	6,7aA	2,37bAB	0,97bB	42,69	10,04AB
PPM01/08	9,2aB	8,43aA	5,56aA	37,03	23,19AB	3,22bA	12aA	7,8abA	38,87	23,02A	4,81aA	0,62bB	1,87bAB	33,35	7,3B
CV(%)	10,05	44,19	33,78		25,73	11,59	32,99	30,16		40,89	26,79	39,31	31,72		24,44

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 4. Eficiência Biológica (%) de três cogumelos, coletados em três fluxos, produzidos nos substratos palha de arroz, casca de mamona e casca de amendoim, Pelotas-RS.

Linhagem	Palha de Arroz (fluxo)					Casca da semente da Mamona (fluxo)					Casca de Amendoim (fluxo)				
	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total	1	2	3	CV(%)	Total
PSC01/06	40,46aA	25,53bA	15,14cA	14,83	81,13A	6,43bA	17,13aA	10,19abA	38,60	33,75A	11,5aA	6,77bA	4,95bA	34,89	23,22A
POR01/06	32,57aAB	9,42bB	12,56bA	46,57	54,55B	1,26bA	13,81aA	6,64abA	35,81	21,71A	12,18aA	4,31bAB	1,77bB	42,25	18,26AB
PPM01/08	26,28aB	24,1aA	15,89aA	29,50	66,27AB	4,3bA	16aA	10,46abA	38,01	30,76A	8,75aA	1,13bB	3,4bAB	30,14	13,28B
CV(%)	7,15	42,37	40,53		27,85	11,43	32,36	36,64		33,19	24,27	30,75	36,88		46,12

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Tabela 5. Relação C/N inicial e final dos substratos (palha de arroz, casca de amendoim e casca de mamona) utilizado no cultivo de *Lentinus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus pulmonarius*.

	Palha de arroz		Casca de amendoim		Casca da semente da mamona	
	C/N inicial	C/N final	C/N inicial	C/N final	C/N inicial	C/N final
PSC01/06	81:1	39:1	42:1	27:1	31:1	14:1
POR01/06	81:1	31:1	42:1	24:1	31:1	13:1
PPM01/08	81:1	37:1	42:1	29:1	31:1	15:1

Tabela 6. Composição centesimal de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985)

Espécie	Substrato	Gordura (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Fibras (%)
<i>L. sajor-caju</i>	casca de amendoim	2,00±0,60	5,34±0,11	20,78±3,30	13,43±1,24
<i>L. sajor-caju</i>	palha de arroz	1,89±1,20	5,40±1,20	15,42±0,59	22,73±1,83
<i>L. sajor-caju</i>	casca de mamona	1,39±0,52	6,18±0,16	23,13±0,21	7,46±3,50
<i>P. ostreatoroseus</i>	casca de amendoim	1,09±0,12	7,86±3,23	16,98±0,85	14,93±0,11
<i>P. ostreatoroseus</i>	palha de arroz	1,05±0,05	8,06±0,64	15,80±1,44	20,33±2,83
<i>P. ostreatoroseus</i>	casca de mamona	0,81±0,08	8,78±2,87	10,91±1,14	11,00±0,72
<i>P. pulmonarius</i>	casca de amendoim	1,01±0,28	5,89±0,20	18,39±0,87	13,46±2,66
<i>P. pulmonarius</i>	palha de arroz	1,42±0,11	6,14±0,19	28,10±0,48	9,53±0,80
<i>P. pulmonarius</i>	casca de mamona	1,48±0,08	6,59±0,45	16,15±0,32	8,06±1,15

Tabela 7. Análises físico-químicas realizadas de acordo com a Instrução Normativa Nº 17, de 21 de maio de 2007.

Parâmetros	Casca de Amendoim	Casca da semente da Mamona	Palha de Arroz
Densidade Úmida (g L <sup>-1</sup> )	94	177	23
Umidade Atual (g 100g <sup>-1</sup> )	77	53	91
Densidade Seca (g L <sup>-1</sup> )	21	83	2
Porosidade Total (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0,59	0,79	-
Capacidade de Retenção de Água 10cm (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0,26	0,42	-
Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	0,31	2,36	0,18
Valor de pH (H <sub>2</sub> O)	5,90	6,35	6,57

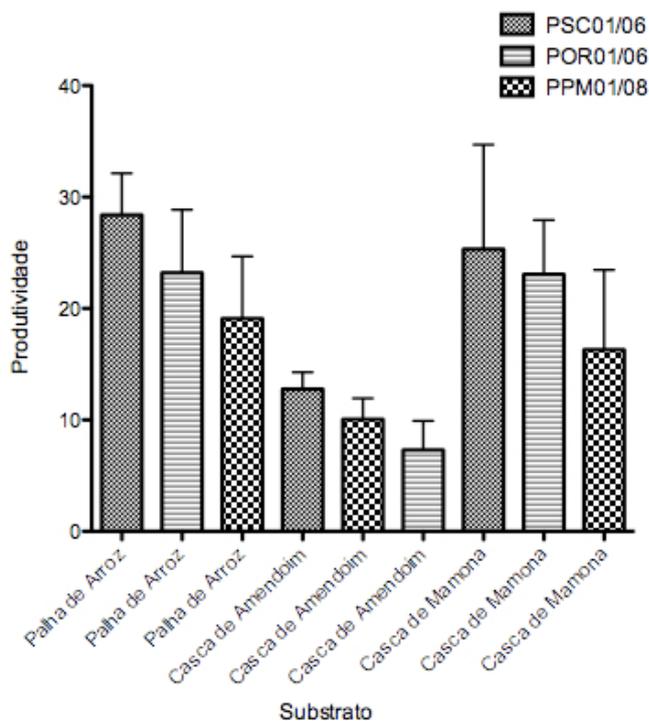


Figura 1. Produtividade média nos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06), *Pleurotus ostreaoroseus* (POR01/06) e *Pleurotus pulmonarius* (PPM01/08).

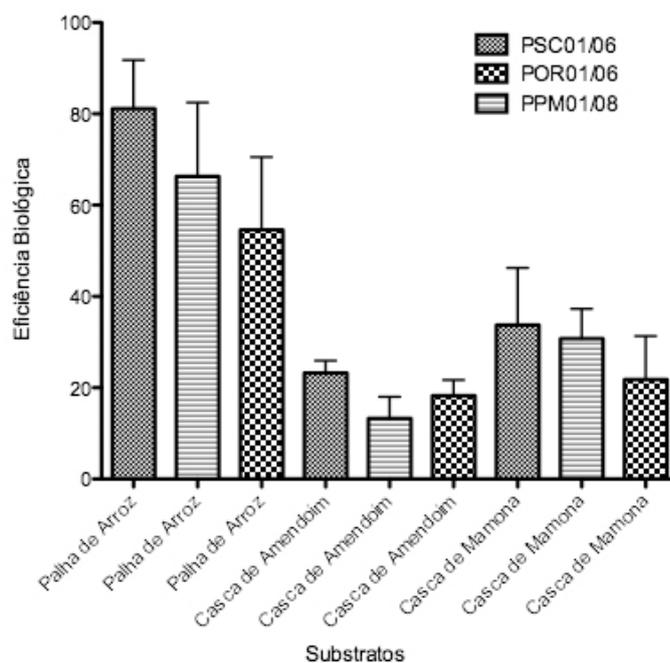


Figura 2. Eficiência biológica média nos diferentes substratos utilizados no cultivo de *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06), *Pleurotus ostreaoroseus* (POR01/06) e *Pleurotus pulmonarius* (PPM01/08).

## CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos e nos moldes em que os experimentos foram realizados, pode-se concluir que:

1. O meio de cultura formulado com extrato de casca de amendoim propicia a maior velocidade de crescimento micelial de *Lentinus sajor-caju* (linhagem PSC01/06), cerca de 68,3% em relação ao diâmetro total da placa de Petri.
2. *Pleurotus ostreatoroseus* (linhagem POR1/06) comparada as demais linhagens estudadas apresenta maior velocidade de crescimento micelial no meio a base de extrato de casca de mamona onde coloniza 40,1% da placa de Petri em 120h de incubação.
3. O crescimento radial da linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* é indiferente nos meios formulados à base de extratos de palha de arroz, extratos da casca da semente da mamona e extratos da casca de amendoim ( $p < 0,05$ ).
4. A maior massa seca significativa é produzida pelas linhagens de *Pleurotus ostreatoroseus* (POR01/06) e *Pleurotus pulmonarius* (PPM01/08) em meio contendo extrato da casca de mamona.
5. O substrato de cultivo palha de arroz entre os três substratos testados é o mais indicado para o crescimento micelial de *Lentinus sajo-caju* e *Pleurotus pulmonarius*, pois neste ocorre a rápida colonização pelo fungo ( $p < 0,05$ ).

6. O substrato de cultivo casca da semente de mamona proporciona menor colonização pelo micélio de *P. ostreatoroseus* ( $p < 0,05$ ) com uma taxa de crescimento médio diário de  $0,32 \text{ cm dia}^{-1}$ .
7. O isolado nativo de *Pleurotus pulmonarius* apresenta média de crescimento significativamente equivalente as demais linhagens e demonstra o potencial para fungicultura.
8. Quando comparados os substratos testados, a linhagem de *Lentinus sajor-caju* (PSC01/06) é a mais indicada ao cultivo por apresentar maior massa fresca, produtividade e eficiência biológica ( $p < 0,05$ ).
9. Os substratos mais indicados ao cultivo das linhagens estudadas são a palha de arroz e a casca da semente de mamona por promoverem maior produtividade e eficiência biológica.
10. A qualidade nutricional dos cogumelos variam conforme o substrato utilizado. *P. ostreatoroseus* e *P. pulmonarius* apresentam baixo teor de gordura e acumulam mais minerais em seus basidiomas quando cultivados em casca da semente de mamona.
11. A produtividade da linhagem nativa de *Pleurotus pulmonarius* foi significativamente equivalente ( $p < 0,05$ ) as demais linhagens nos substratos palha de arroz e casca da semente de mamona indicando seu potencial na fungicultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTÓ, E.; GASONI, L. Producción de Hongos Comestibles en la Argentina. **Idia XXI**, Buenos Aires, n.5, p.70-76, 2003.

ANDRADE, M. C. N.; CHAVARI, J. L.; MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Crescimento micelial in vitro de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* submetidas a diferentes condições de temperatura. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.1, p.69-72, 2010.

ANDRADE, M. C. N.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M. T. A.; COUTINHO, L. N.; FIGUEIREDO, M. B. Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.2, p.243-247, 2007.

ANDRADE, M. C. N.; SILVA, J. H.; MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains in culture media prepared with sawdust extracts from seven eucalyptus species and three eucalyptus clones. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.30, n.3, p.333-337, 2008.

BELLÉ, S.; KÄMPF, A. N. Produção de mudas de maracujá-amarelo em substratos à base de turfa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.3, p.385-390, 1993.

BELTRAN-GARCIA, M. J.; ESTARRON-ESPINOSA, M.; OGURA, T. Volatile Compounds Secreted by the Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and Their Antibacterial Activities. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.45, n.10, p. 4049–4052, 1997.

BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Cultivo e Características Nutricionais de *Pleurotus* em Substrato Pasteurizado. **Bragantia**, v.68, n.4, p.901-907, 2009

BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Utilização de diferentes substratos para a produção de inóculo de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing **Revista Ciência Agronômica**, v.38, n.1, p.84-89, 2007.

- BILAY, V. T.; SOLOMKO, E. F.; BUCHALO, A. S. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In: VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. (ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 2000. p.779-782.
- BISARIA, R., MADAN, M. BISARIA, V. S. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. **Biological Wastes**, v.19, p.239-55, 1987.
- BOMFIM, M. A. D.; SEVERINO, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; OLIVERIA, A.; GOMES, G. M. F.; PEREIRA, L. P. S.; OLIVEIRA, S. Z. R. Avaliação da casca de mamona na alimentação de ovinos. In: **IV Congresso Nordestino de Produção Animal**, 936-939, Petrolina-PE, 2006.
- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v.88, p.425-428, 2004.
- BONONI, V. L. R. & TRUFEM, S. F. B. **Cogumelos comestíveis**. 2ed. São Paulo: Ícone, 1985. 83p.
- BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. R. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995. 206p.
- BOYLE, C. D. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. **Soil Biology Biochemistry**, v.30, n.6, p.817-823, 1998.
- BREENE W. M. Nutritional and medicinal value of speciality mushrooms. **Journal of Food Protection**, v. 53, p. 883-94, 1990.
- BUSWELL, J. A.; CAI, Y. J.; CHANG, S. T.; PEBERDY, J. F.; FU, S. Y; YU, H. S. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.12, p.537-542, 1996.
- CARGININ, A. P. (Org.). **Atlas Socioeconômico do Rio Grande do Sul**. Porto alegre: Secretaria de Coordenação e Planejamento, 2ª edição. 2002.

CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.10, p.181-4, 1967.

CHANG, S. E MILES, P. G. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. CRC Press, 2004. p. 451.

CHANG, S. T. Mushroom cultivation using the “Zeri” principle: potencial for application in Brasil. **Micologia Aplicada Internacional**, v.19, n.2, p.33-34, 2007.

CHEUNG, P. C.; LEE, M. Y. Fractionation and characterization of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) as potential nutraceuticals from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) singer. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.48, p.3148-3151, 2000.

COLAUTO, N. B.; EIRA, A. F. Efeito de recipientes de contenção do substrato na distribuição da produção de *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Energia na Agricultura**, v.10, p.19-28, 1995.

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

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

DONINI, L.P. BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento *in vitro* de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.6, p.995-999, 2006.

EIRA, A. F. Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente). **Anais III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. III RIFIB, Mogi das Cruzes – SP. p.71-81. 2000.

EIRA, A. F. Fungos comestíveis. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO J. L. (orgs.). **Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educ, 2004. p.379-448

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

ELISASHVILI, V.; PENNICKX, M.; KACHLISHVILI, E.; TASIKLAURI, N.; METREVELI, E.; KHARZIANI, T.; KVESITADZE, G. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. **Bioresource Technology**, v.99, p. 457-462, 2008.

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

FERMINO, M.H. O uso da análise física na avaliação da qualidade de componentes e substratos. In: FURLANI, A.M.C.; BATAGLIA, O.C.; ABREU, M.F.; ABREU, C.A.; FURLANI, P.R., QUAGGIO, J.A.; MINAMI, K. (Coords.). **Caracterização, manejo e qualidade de substratos para a produção de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2002. p.29-37.

GALVAGNO M. A.; FORCHIASSIN, F. Fisiologia dos fungos: nutrição e metabolismo. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (orgs.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS. 2004., p.125-169.

GREGORI, A; SVAGELJ, M.; POHLEVEN, J. Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. **Food Technology and Biotechnology**, v.45, n.3, p.238–249, 2007.

GUNDE-CIMERMAN, N. Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (agaricales s.l., Basidiomycetes). **International Journal of medicinal Mushrooms**, v.1, p.69-80. 1999.

GOMES, F.H.T. **Composição químico-bromatológica e degradação in situ de nutrientes coprodutos da mamona e do pinhão-manso da cadeia produtiva do biodiesel**. 2007, 50p. Monografia (graduação em Agronomia). Universidade Federal do Ceará.

GUZMÁN, G.; MATA, G.; SALMONES, D.; SOTO-VELAZCO, C.; GUZMÁN-DÁVALOS, L. **El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales**. Instituto Politécnico Nacional. México D.F., 1993. 245p.

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

HAYES, W. A. Solid State Fermentation and the cultivation of Edible Fungi. In: Smith, J. E.; Berry, D. R.; Kristiansen, B. (eds.) **Fungal biotechnology**. British Mycological Society, Academic Press., Symposium n.3, p.175-202, 1980.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. **Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus***. Circular Técnica – IPEF. n.194, 2002.

HOBBS, C. **Medicinal Mushrooms: an exploration of tradition, healing and culture**. Botanica Press, Santa Cruz, Califórnia, 1995, 252p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo. 1985. 533p.

JONATHAN, S. G.; FASIDI, I. O.; AJAYI, A. O.; ADEGEYE, O. Biodegradation of Nigerian wood wastes by *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. **Bioresource Technology**, v.99, p.807-811, 2008.

KAMRA, D. N.; F. ZADRAZIL. Microbiological improvement of lignocellulosics in animal feed production. In: ZADRAZIL, F.; RENINGER, P. **Treatment of Lignocellulosics with White Rot Fungi**. Elsevier Applied Science Publishers Ltd., London, UK. 1988, p.56-63

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi**, 9<sup>th</sup>. CAB International, Wallingford, 2001, 655p.

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

KÜHNER, R.; ROMAGNESI, H. **Flore Analytique des Champignons Supérieurs**. Masson et cie, Paris, 1953. 556 p

LAVI, I.; FRIESEM, D.; GERESH, S.; HADAR, Y.; SCHWARTZ, B. An aqueous polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects on HT-29 colon cancer cells. **Cancer Letters**, v. 244, p. 61-70, 2006.

LECHNER, B. E.; WRIGHT, J. E.; ALBERTÓ, E. The genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia** v.96, n.4, p. 844-857, 2004.

LONERGAN, G.; JONES, C.; MAINWARING, D. The effect of pH and temperature on radial growth rate and biomass production for selected Australian white-rot fungi in comparison with two strains of *Phanerochaete chrysosporium*. **Material Organisms**, n. 28, p.309-317, 1994.

MACHUCA, A.; FERRAZ, A. Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during *Eucalyptus grandis* decay in solid medium. **Enzyme Microbial Technology**, v.29, 386–391, 2001.

MAKI, C. S.; TEIXEIRA, F. F.; PAIVA, E.; PACCOLA- MEIRELLES, L. D. Analyses of genetic variability in *Lentinula edodes* through mycelia responses to different abiotic conditions and RAPD molecular markers. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, n.3, p.170-175, 2001.

MARINO, R. H.; EIRA, A. F.; QUEIROZ, E. C. Melhoramento genético de *Pleurotus ostreatus*. *Hoehnea* (São Paulo), v. 33, p. 349-357, 2006.

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

MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIE, J. M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 18, n. 1, p. 118-122, 2001.

MINOTTO, E.; BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; NASCIMENTO, J. S. Crescimento miceliano in vitro de *Pleurotus ostreatus* e colonização do substrato capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) suplementado com diferentes farelos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, p.379-383, 2008.

MIZUNO, T.; ZHUANG, C. Maitake, *Grifola frondosa*: pharmacological effects. **Food Reviews International**, v.11, p. 135–149, 1995.

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

MONTOYA, A.; HERNÁNDEZ-TOTOMOCH, O.; ESTRADA-TORRES, A.; KONG, A. Traditional knowledge about mushrooms in a nahuacommunity in the state of Tlaxcala, México. **Mycologia**, v. 95, n. 5, p. 793-806, 2003.

MOORE, D. E; CHIU, S. W. Fungal product as food. In: POINTNG S.B.; Hyde K.D. (eds.). **Bio-exploitation of filamentous fungi**. Hong Kong: Fungal Diversity Press. 2001, p.223-251.

NASCIMENTO, J. S.; EIRA, A. F. Isolation and mycelial growth of *Dielisomyces microsporus*: effect of culture medium and incubation temperature. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 587-595, 2007.

NASCIMENTO, J. S. **Etiologia, controle e demanda de energia na prevenção da falsa trufa em cultivos de *Agaricus blazei***. 2003. 111p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

NASCIMENTO, J. S.; MORAES, V. S. ; SILVA, S. D. A. E. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em substratos formulados com casca de mamona, bagaço de cana-de-açúcar e palha de arroz. In: III Congresso Brasileiro de Mamona, 2008. **Anais do III Congresso Brasileiro de Mamona**, 2008.

NEVES, M. A.; KASUYA, M. C. M.; ARAÚJO, E. F.; LOGUERCIO LEITE, C.; CAMELINI, C. M.; RIBAS, L. C. C.; MENDONÇA, M. M. Physiological and Genetic Variability of Commercial Isolates of Culinary-Medicinal Mushroom *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. (*Agaricomycetidae*) Cultivated in Brazil. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 7, p. 553-564, 2004.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K. A. Comparative study on the growth and yield of *P. ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by products. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 30, n.3, p.146-149, 2003.

OEI, P. **Manual on mushroom cultivation: techniques, species and opportunities for commercial application in developing countries**. CTA, Wageningen, The Netherlands, 1991.

OEI, P.; van NIEUWENHIJZEN, B. **La culture des champignons à petite échelle. Tome 1.: Pleurotes, Shiitakes et Auriculaires**. Agromisa/CTA, Wageningen, Pays-Bas, 2005, 86p.

OLIVEIRA, M. A.; DONEGA, M. A.; PERALTA, R. M.; SOUZA, C. G. M. Produção de inóculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet - CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 84-87, 2007.

ÖZÇELİK, E.; PEKSEN, A. Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). **Bioresource Technology**, v.98, n.14, p.2652-2658, 2007.

PAZ, M. F.; VIEIRA, E.; BREYER, C.A.; GIOVANNI, R. N.; BERTOLDI, F.C. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de Uva Isabel. **Evidência** (Videira), v.6, p.187-194, 2006.

PATRABANSH, S; MADAN M. Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes. **Acta Biotechnologica**, v.17, n.2, p.107-122, 1997.

PEDRA, W. N.; MARINO, R. H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. Em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução de impacto ambiental. **Journal of Technology Management and Innovation**, v.2, p.118-127, 2007.

PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp., **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 17, p.191–200, 2001.

PRAMANIK, M.; MONDAL, S.; CHAKRABORTY, I.; ROUT, D.; ISLAM, S. S. Structural investigation of a polysaccharide (Fr. II) isolated from the aqueous extract of an edible mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. **Carbohydrate Research**, Oxford, v.340, n.4, p.629-636, 2005.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. Vol. 1. Editora da Universidade de Santa Cruz do Sul, 1998. 606p.

RAGUNATHAN, R.; GURUSAMY, R.; PALANISWAMY, M.; SWAMINATHAN, K. Cultivation of *Pleurotus* spp. on varios agro-residues. **Food Chemistry**, Oxford, v.55, n.2, p.139-144, 1996.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus Mushrooms. Parte 1.A: Morfology, Life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, p.157-223, 1987.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus Mushrooms. Parte 1B: Pathology, in vitro and vivo growth requeriments, and world status. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, p. 243-311, 1988.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus Mushrooms. Parte III: Biotrasformatios of Natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.28, p. 31-113, 1989.

RAVEENDRAN, K; GANESH, A; KHILAR, C. K. Influence of mineral matter on biomass pyrolysis characteristics. **Fuel**, v.74, n.12, p.1812-22, 1995.

REGINA, M.; BROETTO, F. Atividade de enzimas oxidativas do Lentinula edodes em meio de cultura líquido de subprodutos energéticos. **Energia na Agricultura**, v.20, n.1, p. 47-61, 2005.

RESHETNIKOV, S. V.; WASSER, S. P.; TAN, K. K. Higher Basidiomycota as a source if antitumor and immunostimulating polysaccharides (Review). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 3, p. 361-394, 2001.

REYES, R. G.; EGUCHI, F.; IIJIMA, T.; HIGAKI, M. Physiological considerations for efficient mycelial colonization of Philippine strains of *Volvariella volvacea*. **Journal of Wood Science**, v. 44, p. 408-413, 1998.

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

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

SALES-CAMPOS, C.; EIRA, A. F.; JESUS, M. A.; CAMPAGNOLLI, F.; ANDRADE, M. C. N. Crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em resíduo de *Simarouba amara*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.11, p.1633-1635, 2008.

SALMONES, D.; MATA, G.; WALISZEWSKI, K. N. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. On coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. **Bioresource Biotechnology**, v.96, p.537-544, 2004.

SAVOIE, J. M.; CESBRON, V.; DELPECH, P. Induction of polyphenol-oxidases in the mycelium of *Lentinula edodes*. In: ELLIOTT, T. J. (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkman, 1995. p.787-793.

SEVERINO, L. S.; MORAES, C. R. A.; GONDIM, T. M. S.; CARDOSO, G. D.; SANTOS, J. W. **Fatores de conversão do peso de cachos e frutos para peso de sementes de mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, Boletim de Pesquisa n. 56, 2005. 14 p.

SHARMA, S.; MADAN, M. Microbial protein from leguminous and non-leguminous substrates. **Acta Biotechnologica**, v.13, p.131-139, 1999.

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

SILVA, E. M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A. M. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. **Letter in Applied Microbiology**, v.40, n.4, p.283-288, 2005.

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

SILVEIRA, M. L. L.; FURLAN, S. A.; NINOW, J. Development of an alternative technology for the oyster mushroom production using liquid inoculum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.858-862, 2008.

SINGER, R. The Agaricales (Mushrooms) in Modern Taxonomy. **Lilloa**, v.22, p.5-832, 1951.

SINGH, T. G.; VERMA, R. N. Studies on carbon and nitrogen of *Lentinula lateritia* (Berk.) Pegler strains from northeastern India. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS, 1996, University Park. **Proceedings** University Park: Pennsylvania State University, 1996. p. 345-354.

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

STURION, G. L.; OETTERER, M. Utilização da folha de bananeira como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.15, n.2, p.194-200, 1995.

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

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

TISDALE, T. E. **Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus* sp.) on wood substrates in hawaii**. Dissertação (Mestrado em Tropical Plant and Soil Science) – University of Hawaii, december, 2004, 105pp.

ULBRICHT, R. J.; SHARON, J.; THOMAS, J. A review of 5-hydroxymethylfurfura HMF in parental solutions. **Fundamental and Applied Toxicology**, v.4, p.843-853, 1984

URBEN, A. F.; URIARTT, A. H. Principios do cultivo de cogumelos pela técnica “Jun-Cao”. In: URBEN, A.F. **Produção de cogumelos por meio da tecnologia chinesa modificada**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2001. p151.

VETTER, J.; BERTA, E. Mercury content of some edible mushrooms. **Z. Lebensm Unters Forsch A**. v.205, p.316-320, 1997.

WASSER, S.; DIDUKH, M. YA; DE AMAZONAS, M. A. L.; NEVO, E.; STAMETS, P.; EIRA, A. F. Is widely cultivated culinary-medicinal Royal Sun *Agaricus* (the Himematsutake mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murril? **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v.4, p.267-290, 2002.

WASSER, S.; NEVO, E., S., D.; RESHETNIKOV, S. V.; TIMOR-TISMENETSKY, M. Dietary supplements from medicinal mushrooms: diversity of types and variety of regulations. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 2, p.1-19, 2000.

WISBECK, E.; ROBERT, A. P.; FURLAN, S. A. Avaliação da produção de agentes antimicrobianos por fungos do gênero *Pleurotus*. **Revista Saúde e Ambiente**. v.3, p.7-10, 2002.

YILDIZ, A.; KARAKAPLAN, M; AYDIN, F. Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum. var. *salignus* (Pers. ex Fr.) Konr. et Maubl.: Cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores, **Food Chemistry**, v.61, p.127–130, 1998.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Pleurotus*. In: CHANG S. T.; HAYES, W. A. (eds). **The biology and cultivation of edible mushroom**. Academic press, New York. 1978, p.512-558.

ZADRAZIL, F; KUTZMANN, R. H. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics In: CHANG, S. T.; Quimio, T.H. (Eds.). **Tropical mushrooms**. Hong King: The Chinese Press, v.493,277-298. 1982.

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

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

**NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA  
BRASILEIRA**



[PÁGINA INICIAL](#)   [SOBRE](#)   [PÁGINA DO USUÁRIO](#)   [PESQUISA](#)  
[ATUAL](#)   [ARQUIVOS](#)   [NOTÍCIAS](#)

[Página inicial](#) > [Sobre a Revista](#) > **Submissões**

## Submissões

- » [Submissões Online](#)
- » [Diretrizes para Autores](#)
- » [Política de Privacidade](#)

## Submissões Online

Já possui um Login/Senha para a revista Pesquisa Agropecuária Brasileira?  
[ACESSO](#)

Não tem Login/Senha?  
[CADASTRO DE USUÁRIOS](#)

O cadastro no sistema e posterior acesso ou login são obrigatórios para submissão como também para verificar o estágio das submissões.

## Diretrizes para Autores

### Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

### Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

### Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo,

[SISTEMA  
ELETRÔNICO DE  
EDITORÇÃO DE  
REVISTAS](#)

[Ajuda do sistema](#)

### USUÁRIO

Logado como...

**margeli**

- [Perfil](#)
- [Sair do Sistema](#)

### IDIOMA

[Português \(Brasil\)](#)

### CONTEÚDO DA REVISTA

Pesquisa

[Todos](#)

### Procurar

- [Por Edição](#)
- [Por Autor](#)
- [Por Título](#)

### TAMANHO DE FONTE

### INFORMAÇÕES

- [Para Leitores](#)
- [Para Autores](#)
- [Para Bibliotecários](#)

fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

### **Informações necessárias na submissão on-line de trabalhos**

No passo 1 da submissão (Início), em "comentários ao editor", informar a relevância e o aspecto inédito do trabalho.

No passo 2 da submissão (Inclusão de metadados), em "resumo da biografia" de cada autor, informar a formação e o grau acadêmico. Clicar em "incluir autor" para inserir todos os coautores do trabalho, na ordem de autoria.

Ainda no passo 2, copiar e colar o título, resumo e termos para indexação (key words) do trabalho nos respectivos campos do sistema. Depois, ir à parte superior da tela, no campo "Idioma do formulário", e selecionar "English". Descer a tela (clicar na barra de rolagem) e copiar e colar o "title", "abstract" e os "index terms" nos campos correspondentes. (Para dar continuidade ao processo de submissão, é necessário que tanto o título, o resumo e os termos para indexação quanto o title, o abstract e os index terms do manuscrito tenham sido fornecidos.)

No passo 3 da submissão (Transferência do manuscrito), carregar o trabalho completo em arquivo Microsoft Word 1997 a 2003.

No passo 4 da submissão (Transferência de documentos suplementares), carregar, no sistema on-line da revista PAB, um arquivo Word com todas as cartas (mensagens) de concordância dos coautores coladas conforme as explicações abaixo:

- Colar um e-mail no arquivo word de cada coautor de concordância com o seguinte conteúdo:

"Eu, ..., concordo com o conteúdo do trabalho intitulado "...." e com a submissão para a publicação na revista PAB.

### **Como fazer:**

Peça ao coautor que lhe envie um e-mail de concordância, encaminhe-o para o seu próprio e-mail (assim gerará os dados da mensagem original: assunto, data, de e para), marque todo o email e copie e depois cole no arquivo word. Assim, teremos todas as cartas de concordâncias dos co-autores num mesmo arquivo.

### **Organização do Artigo Científico**

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

### **Título**

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como "efeito" ou "influência".

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

### **Nomes dos autores**

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "e", "y" ou "and", no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

#### **Endereço dos autores**

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

#### **Resumo**

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

#### **Termos para indexação**

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no [AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus](#) ou no [Índice de Assuntos da base SciELO](#).

#### **Introdução**

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

#### **Material e Métodos**

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.

- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

### **Resultados e Discussão**

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

### **Conclusões**

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

### **Agradecimentos**

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com "Ao, Aos, À ou Às" (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

### **Referências**

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa

Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

- Teses

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: . Acesso em: 18 abr. 2006.

### Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Redação das citações dentro de parênteses
- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.
- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.
- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.
- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada.
- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses
- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

### Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

### Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); \* e \*\* (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

## **Figuras**

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar

fora do quadrante.

- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

#### **Notas Científicas**

- Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

- A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.

- As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

- Resumo com 100 palavras, no máximo.
- Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.
- Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

#### **Outras informações**

- Não há cobrança de taxa de publicação.
- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.
- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231 e 3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: [pab@sct.embrapa.br](mailto:pab@sct.embrapa.br) ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB

Caixa Postal 040315 CEP 70770 901 Brasília, DF

---

## **Itens de Verificação para Submissão**

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é inédita e não está sendo avaliada para publicação por outro periódico científico nem teve seus dados (tabelas ou figuras) publicados integral ou parcialmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica (boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc).
2. O arquivo de submissão do trabalho está digitado no formato Microsoft

Word 1997 a 2003, espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com páginas e linhas numeradas, e não ultrapassa 20MB.

3. O trabalho tem no máximo 20 páginas e está apresentado na seguinte seqüência: título, nome completo dos autores, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, Título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, Tabelas e Figuras.
4. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em diretrizes aos autores, na seção Sobre a Revista.
5. As mensagens de concordância dos co-autores com o conteúdo do trabalho e com a submissão à revista estão compiladas em um arquivo do Microsoft Word 1997 a 2003 pelo autor-correspondente e serão carregadas no sistema no quarto passo da submissão, como documento suplementar.

---

## Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

---

[Embrapa Informação Tecnológica](#)

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (final) Caixa Postal 040315 -  
Brasília, DF - Brasil - 70770-901  
Fone: +55 (61) 3448-4231 / 3448-4162 - Fax: (61) 3272-4168