



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS-RIO CLARO



PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS(MICROBIOLOGIA APLICADA)

PARÂMETROS INDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

AMANDA SOUZA CALIXTO DA SILVA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção o título de Mestre em Ciências Biológicas-Microbiologia Aplicada.

Março, 2016

AMANDA SOUZA CALIXTO DA SILVA

PARÂMETROS INDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção o título de Mestre em Ciências Biológicas-Microbiologia Aplicada.

Orientadora: Profa. Dr^a. Dejanira de Franceschi de Angelis.

Coorientador: Prof. Dr^o. Marcos José Correia.

Rio Claro, 2016

589.2 Silva, Amanda Souza Calixto da
S586p Parâmetros industriais para produção de *Pleurotus*
ostreatus / Amanda Souza Calixto da Silva. - Rio Claro, 2016
136 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientadora: Dejanira de Franceschi de Angelis
Coorientador: Marcos José Correia

1. Fungos. 2. Compostagem curta. 3. Resíduos
lignocelulósicos. 4. Análise de biomassa. 5. Análise
bromatológica. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PARÂMETROS INDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

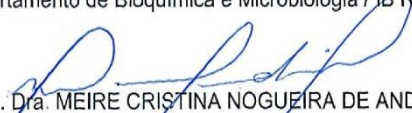
AUTORA: AMANDA SOUZA CALIXTO DA SILVA

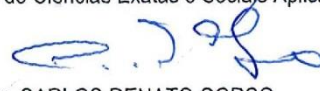
ORIENTADORA: DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS

CO-ORIENTADOR: MARCOS JOSÉ CORREIA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro


Profa. Dra. MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE
Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas / Universidade do Sagrado Coração


Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro

Rio Claro, 30 de março de 2016

Dedico orgulhosamente este trabalho à minha família, por todo carinho, apoio, conselhos e compreensão oferecidos a mim em mais uma importante etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente:

À Deus por ter me concedido vida, saúde e sabedoria durante o período de desenvolvimento deste trabalho. Estou certa que sem a sua graça, misericórdia e companhia a caminhada não teria sido tão proveitosa.

Aos meus amados e carinhosos pais Marluce Nascimento e Elias Calixto, por toda confiança e amor. Por me ensinarem a importância do respeito ao próximo em todo o tempo e do conhecimento como ferramenta de transformação de mentes e de vida. Sinto-me orgulhosa em tê-los como modelo. Amo vocês!

À minha amada irmã Tatyane Calixto por toda amizade, carinho e preocupação. Por compartilhar comigo todas as aventuras e desventuras que permeiam a vida acadêmica. Sou profundamente grata por sua presença em minha vida.

À Minha avó Josefa Lima, por todas as palavras de afirmação e suas incessantes orações.

À todos meus tios e primos, em especial a tia Josenilda Carvalho e aos primos Rita, Junior e Igor Calixto por me receber em sua casa de forma acolhedora durante este tempo. Muito obrigada por todo amor e dedicação que ultrapassam as barreiras da consanguinidade.

À minha grande e querida amiga Carolina Crivelin e sua família. Agradeço por sua direta participação em minha vida e pela forma carinhosa com a qual o seus pais e familiares me receberam. Sinto-me muito feliz pelo espaço dado a mim para compartilhar vida e histórias regionais.

À todos os amigos, colegas e queridos que fizeram minha temporada na cidade de Rio Claro muito mais feliz. Levarei em meu coração cada momento, palavra de incentivo, críticas e sorrisos que vocês me proporcionaram. Muito obrigada por me permitir fazer parte de suas vidas.

À brilhante professora Dr^a. Dejanira de Franceschi de Angelis por sua orientação dedicada, paciência, incentivo e confiança. Por todo conhecimento compartilhado e por me ensinar através de sua prática um pouco mais sobre a importância da extensão e da pesquisa como ferramenta de transformação social.

Ao professor Dr^o. Marcos José Correia pelo treinamento em técnicas de microbiologia e auxílio no meu ingresso no programa pós graduação e orientação para o desenvolvimento do projeto. Sou grata pela confiança em mim depositada.

À Cássia Aparecida por abrir os espaços de sua empresa para o desenvolvimento desta pesquisa.

À empresa Funghi & Flora por ceder gentilmente as linhagens para a execução dos experimentos.

À Dilza por seu auxílio no encaminhamento de amostras para análise, demais questões burocráticas e palavras de incentivo. Muito obrigada!

Aos colegas de laboratório Juliane Miranda e Eduardo Morales por toda disposição em compartilharem seus conhecimentos de maneira gentil e voluntária. Tais conhecimentos foram fundamentais no desenvolvimento deste trabalho.

Aos caros colegas de laboratório Nair, Mariane, Márcio Rozin, Márcio Ramos, Letícia, Zito e Adriano. Por sua prestatividade, atenção e amizade.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro.

Ao instituto de Biociências da UNESP e o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de Microbiologia Aplicada pela oportunidade, apoio e confiança.

“Se temos que esperar, que seja para colher a semente boa que lançamos hoje no solo da vida. Se for para semear, então que seja para produzir milhões de sorrisos, de solidariedade e amizade”.

Cora coralina

RESUMO

Os cogumelos são definidos como macrofungos que tem papel essencial na decomposição da matéria orgânica. Além de sua função ecológica os cogumelos são apontados como alimentos de valor nutricional e medicinal. Estes fatores têm estimulado a produção e o comércio de cogumelos, sobretudo de *Pleurotus ostreatus* por sua facilidade de cultivo e alta produtividade. Sob este contexto, são necessárias pesquisas que avaliem os fatores que interferem diretamente na produtividade. Frente ao exposto, o presente trabalho objetivou avaliar e comparar o efeito dos fatores ambientais e nutricionais sobre a produtividade e resposta à indução dos primórdios de duas linhagens de *P. ostreatus* cultivadas em ambientes protegidos. Os resultados obtidos mostraram que os substratos cultivo apresentaram alta heterogeneidade. A caracterização das diferentes formulações indicaram mudanças sutis sobre a relação C/N do substrato, tendo em vista a C/N sofre diminuição ao final do processo devido à degradação da matéria orgânica. Quanto à produtividade registrou-se diferenças entre linhagens e formulações. A formulação F1, apresentou produtividade de 14,65% e eficiência biológica de 72,58 mediante inoculação da linhagem SB, à diferença do observado na linhagem MB que apresentou produtividade de 17,40% e eficiência biológica de 86,20%. Diferenças foram também registradas na formulação B, na qual obteve-se produtividade de 13,79% e eficiência biológica de 79,91% referente a linhagem SB e produtividade de 13,42% e eficiência biológica de 41,39% referente a linhagem MB. Após a colheita, análises bromatológicas foram realizadas com o substrato exaurido. Os resultados revelaram teores de proteína total de 6,82%, 34,13% de cinzas, 1,41% de lipídeos totais e 84,12% de umidade, para a formulação A e 5,73% de proteína total, 22,93% de cinzas, 2,53% de lipídeos totais e 71,85% de umidade para formulação B. Concluiu-se que a satisfatória produtividade de *P. ostreatus* está diretamente ligada a qualidade de substrato. Para tanto deve-se estabelecer e parâmetros de qualidade no preparo do composto. Quanto ao substrato exaurido sua composição nutricional avaliada indicou a possibilidade de sua utilização em formulações de ração para ruminantes como fonte de proteína de qualidade.

Palavras-chave: *Pleurotus ostreatus*; Compostagem curta; Resíduos lignocelulósicos; Análise de biomassa, Análise bromatológica.

ABSTRACT

The mushrooms are defined as Macrofungi that play an essential role in the decomposition of organic matter. Besides to their ecological function, mushrooms are well-known to have nutritional and medicinal value as foods. These factors have been boosting the outputs and trading of mushrooms, especially, *Pleurotus ostreatus*, due to its facility of cultivation and high productivity. In this context, research is needed in order to evaluate the factors that can directly interfere in their productivity. In face to this issue, this work aimed to evaluate and to compare the effects of environmental and nutritional factors in their productivity. In addition, to assess the responses of the induction of the primordial two strains of *P. ostreatus* cultivated in protected environments. The obtained results showed that the growing substrates displayed high heterogeneity. The characterization of different formulations showed subtle changes regarded to the substrate C/N, knowing that the C/N suffer a decrease at the end of the process due to the degradation of organic matter. There were registered productivity differences among strains and formulations. The formulation A showed 14.65% of productivity and 72.58% of biological efficiency by inoculation of the SB strain. Differently, the strain MB showed 17.40% of productivity and 86.20% of biological efficiency. Differences were noticed in the strain B as well, in which the productivity was 13.79% and biological efficiency was 79.91% regarded to SB strain and productivity of 13.42% and biological efficiency of 41.39% regarded to MB. After the harvest, bromatological analyzes were made with the depleted substrate. The results showed contents of 6.82% of total protein, 34.12% of ashes, 1.41% of total lipids and 84.12% of humidity to the formulation A and 5.37% of total protein, 22.93% of ashes, 2.53% of total lipids and 71.85% of humidity to the formulation B. In conclusion, the satisfactory productivity of *P. ostreatus* is straightforward related to the quality of the substrate. Therefore, quality parameters should be established to the preparation of the compost. The evaluated nutritional composition of the depleted substrate pointed out the possibility to be used as an item in the formulation of ruminant feed as a high quality source protein.

Key-words: *Pleurotus ostreatus*; Short composting; Lignocellulosic waste; Biomass analysis; Bromatological analysis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivo específico	19
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	20
3.1 Substrato de cultivo.....	23
3.1.1 Resíduos agroindustriais potenciais para fungicultura no Brasil	24
3.1.2 Resíduos de bagaço de cana-de- açúcar.....	25
3.1.3 Resíduo do processamento de laranja.....	26
3.1.4 Resíduo do cultivo e processamento do milho	27
3.1.5 Resíduo do processamento da soja	28
3.1.6 Resíduo do cultivo e processamento do arroz	28
3.1.7 Resíduo do processamento do coco	30
3.2 Compostagem.....	31
3.2.1 Fatores fundamentais a compostagem curta (compostagem fase I)	36
3.2.2 Pasteurização (compostagem fase II)	39
3.2.3 Dinâmica microbiana no processo de preparação do composto	41
3.3 Cultivo do fungo	46
3.3.1 Sistemas de cultivo	48
3.3.2 Condições de cultivo	49
4. MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 Material	51
4.1.1 Local de desenvolvimento dos cultivos	52
4.1.2 Meios de cultura para <i>Enterococcus zymogenes</i>	53
4.1.2.1 Soluções de macronutrientes, micronutrientes e vitaminas	53
4.1.2.2 Método de preparo do meio basal para cultivo de <i>Enterococcus zymogenes</i>	55
4.2 Métodos	56
4.2.1 Caracterização do substrato	56
4.2.1.1 pH	56
4.2.1.2 Umidade (em base úmida)	57
4.2.1.3 Cinzas	58
4.2.1.4 Nitrogênio total/ Proteína bruta.....	58

4.2.1.5 Extrato etéreo.....	60
4.2.2 Análise de Carbono	61
4.2.2.1 Yeomans & Bremner	61
4.2.2.2 Método da mufla.....	62
4.2.2.3 Método combustão seca	63
4.2.3 Método microbiológico para análise de qualidade proteica	63
4.2.3.1 Preservação da cultura de <i>E. zymogenes</i>	63
4.2.3.2 Planejamento e execução do experimento	64
4.3 Procedimentos necessários para o preparo de substrato, cultivo e produção de <i>P.ostreatus</i>	65
4.3.1 Procedimentos e matérias primas utilizadas no preparo do substrato de cultivo	66
4.3.2 Compostagem fase I.....	66
4.3.3 Compostagem Fase II (Pasteurização)	68
4.3.4 Inoculação e colonização do substrato	70
4.3.5 Metodologia de colheita	73
4.3.6 Parâmetros de produção avaliados.....	73
4.3.7 Ambiente de condução do experimento	73
4.3.8 Balanço de massas.....	74
4.4 Análise estatística	75
4.4.1 Teste Kruskal-Wallis	75
4.4.2 Teste de Student-Newman-Keuls	77
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
5.1 Qualidade e caracterização do composto pré e pós- colheita.....	79
5.1.1 Análise de carbono	79
5.2 Formulação dos substratos propostos.....	87
5.3 Caracterização de substrato.....	88
5.4 Composto exaurido	90
5.4.1 Qualidade de proteína.....	98
5.5 Produção.....	100
5.5.1 Pasteurização	100
5.5.2 Frutificação e produtividade de <i>P.ostreatus</i>	103
5.5.3 Fatores de produtividade	105

5.5.4 Balanço parcial de massas	111
6. CONCLUSÕES.....	112
7. REFERÊNCIAS	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dimensões e representação das estufas nas quais foram conduzidos os experimentos. A - Dimensões da estufa na qual foi conduzido os experimentos; B- Representação da estufa na qual foi conduzido os experimentos.....	53
Figura 2. Processo de montagem da pilha.....	67
Figura 3. Câmara/túnel de compostagem (região interna).	68
Figura 4. Câmara/ túnel de compostagem (plennum por onde o vapor é injetado).. ...	69
Figura 5. Câmara de pasteurização parcialmente carregada.	69
Figura 6. Pesagem do inóculo.	71
Figura 7. Sacos inoculados.....	72
Figura 8. Substrato compactado por micélio de <i>P. ostreatus</i>	72
Figura 9. Box-Plot referente aos diferentes métodos de determinação de Carbono total na formulação F1.....	86
Figura 10. Box-Plot referente aos diferentes métodos de determinação de Carbono total na formulação F2.	86
Figura 11. Box-plots referentes às diferentes etapas de produção do substrato para o desenvolvimento de <i>Pleurotus ostreatus</i> quanto aos teores de proteína total nas formulações F1 e F2.....	95
Figura 12. Box-plots referentes às diferentes etapas de produção do substrato para o desenvolvimento de <i>Pleurotus ostreatus</i> quanto aos teores de cinzas nas formulações F1 e F2.	96
Figura 13. Box-Plots referentes às diferentes etapas de produção do substrato para o desenvolvimento de <i>Pleurotus ostreatus</i> quanto aos teores de extrato etéreo nas formulações F1 e F2.....	97
Figura 14. Acompanhamento da temperatura de pasteurização da formulação 1 (F1), durante 28 horas.....	101
Figura 15. Acompanhamento da temperatura de pasteurização da formulação 2 (F2).	101
Figura 16. Acompanhamento comparativo da temperatura de pasteurização das formulações F1 e F2.	102
Figura 17. Médias diárias de temperatura e umidade relativa durante o período de frutificação das linhagens de <i>P. ostreatus</i> MB e SB em função da composição de substrato na formulação 1 (F1) do substrato.....	104
Figura 18. Médias diárias de temperatura e umidade relativa durante o período de frutificação das linhagens de <i>P. ostreatus</i> MB e SB na formulação 2, F2 do substrato.	104
Figura 19. Produção diária de duas linhagens de <i>P. ostreatus</i> (SB e MB), em formulação 1 (F1).	107
Figura 20. Produção acumulada de duas linhagens de <i>P. ostreatus</i> em substrato formulação 1, F1.....	107

Figura 21. Produção diária de duas linhagens de <i>P. ostreatus</i> em substrato formulação 2 (F2).....	108
Figura 22. Produção acumulada de duas linhagens de <i>P. ostreatus</i> em substrato formulação 2 (F2).	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Países com maior produção de cogumelos comestíveis.	20
Tabela 2. Produção anual em toneladas de cogumelos no Brasil.	21
Tabela 3. Composição percentual de matéria orgânica (MO), nitrogênio total (N) e a relação carbono/ nitrogênio (C/N) de diferentes vegetais empregados no preparo do composto.	34
Tabela 4. Parâmetros de crescimento de algumas espécies do gênero <i>Pleurotus</i>	50
Tabela 5. Componentes da solução de macronutrientes.	53
Tabela 6. Componentes da solução de micronutrientes.	54
Tabela 7. Componentes da solução vitamínica.	54
Tabela 8. Componentes do meio basal.	55
Tabela 9. Componentes do meio de cultivo.	55
Tabela 10. Materiais e composição do composto (formulação 1, F1) para o preparo do substrato de cultivo de <i>P. ostreatus</i> utilizado nos experimentos.	56
Tabela 11. Materiais e composição do composto (formulação 2, F2) para o preparo do substrato de cultivo de <i>P. ostreatus</i> utilizado nos experimentos.	56
Tabela 12. Cronograma de execução da compostagem fase I.	67
Tabela 13. Teores de carbono quantificado por diferentes métodos durante as fases da compostagem (Formulação F1).	79
Tabela 14. Análise estatística sobre a quantificação de carbono da formulação F1 referentes à etapa de produção de composto (pilha, túnel) e exaurido inoculados com as linhagens de <i>P. ostreatus</i> SB e MB.	80
Tabela 15. Análise estatística sobre a quantificação de carbono aplicando-se o teste Student-Newman-Keuls (Formulação F1).	80
Tabela 16. Análise estatística sobre a quantificação de carbono da formulação F2 referentes à etapa de produção de composto (pilha, túnel) e exaurido inoculados com as linhagens de <i>P. ostreatus</i> SB e MB.	81
Tabela 17. Análise estatística sobre a quantificação de carbono da formulação F2 referentes à etapa de produção de composto (pilha, túnel) e exaurido dos compostos inoculados com as linhagens de <i>P. ostreatus</i> SB e MB.	81
Tabela 18. Análise estatística mediante o teste Student-Newman-Keuls dos teores de carbono dos diferentes materiais da Formulação F2.	82
Tabela 19. Porcentagens de C e N, relação C/N das matérias primas utilizadas no preparo de substratos de cultivo de <i>P. ostreatus</i> (formulação 1, F1). Sendo os valores de carbono referentes a duas técnicas de determinação de C orgânico total.	87
Tabela 20. Porcentagens de C e N, relação C/N das matérias primas utilizadas no preparo de substratos de cultivo de <i>P. ostreatus</i> (formulação 2, F2).	87
Tabela 21. Caracterização do composto, ao longo da compostagem (fase I e fase II) e da biomassa exaurida (formulação F1).	88
Tabela 22. Caracterização do composto ao longo da compostagem (fase I e fase II) e da biomassa exaurida (formulação F2).	88
Tabela 23. Análises estatísticas de comparação das amostras com diferentes formulações.	89

Tabela 24. Análise nutricional dos componentes gerais da biomassa pré e pós colheita nas formulações F1 e F2.	91
Tabela 25. Teores de Valor Nutritivo Relativo das amostras de substratos e estatística H obtidos mediante o teste de Kruskal – Wallis.	98
Tabela 26. Análise estatística sobre a quantificação de carbono aplicando-se o teste Student-Newman-Keuls (Formulação1, F1).	99
Tabela 27. Parâmetros de produtividade relacionado as linhagens de <i>P. ostreatus</i> SB e MB (formulação 1, F1).	106
Tabela 28. Parâmetros de produtividade relacionado as linhagens de <i>P. ostreatus</i> SB e MB (formulação 2, F2).	106
Tabela 29. Avaliação estatística dos parâmetros de produtividade, eficiência biológica, número de cogumelos e massa fresca média de cogumelos relacionados aos fatores A, B e Ax B.	106
Tabela 30. Balanço parcial de massas formulação1(F1).....	111
Tabela 31. Balanço parcial de massas formulação 2 (F2).....	111

1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos são definidos como macrofungos que apresentam corpos de frutificação característicos. Os corpos de frutificação são estruturas reprodutivas visíveis a olho nu e podem ser identificados como epígeos (com formação acima do solo) e hipógeos (abaixo do solo). Estes organismos tem função essencial na natureza, atuando como decompositores da matéria orgânica. Do ponto de vista metabólico, os macrofungos assemelham-se aos vegetais, quanto à reprodução, por outro lado os cogumelos são heterotróficos, requerendo compostos orgânicos como fonte de energia para manutenção de seu metabolismo o que os torna semelhantes aos animais.

Para além de sua função ecológica, os cogumelos são tidos como alimentos especiais desde tempos remotos, tendo sido provavelmente um dos primeiros alimentos colhidos pelos povos pré-históricos. Até hoje, estudos científicos apontam para importância dos cogumelos comestíveis, comprovando que estes fornecem proteína de qualidade que pode ser produzida com maior eficiência biológica que a proteína animal. São ricos em fibra, minerais, vitaminas e apresentam baixo teor de gordura total sendo, portanto, alimentos funcionais de grande interesse gastronômico, nutricional e medicinal.

Os cogumelos desenvolvem-se em uma gama de substratos lignocelulósicos. Estes fungos produzem exoenzimas que permitem a biotransformação do substrato e assimilação de nutrientes. Desta forma, o potencial crescimento e frutificação dos cogumelos devem-se ao vigor micelial e a capacidade de ativar mecanismos fisiológicos. Características tais como a capacidade de biodegradação está relacionada com a linhagem selecionada e aplicada ao substrato de cultivo. O conhecimento acerca do crescimento micelial bem como a capacidade do cogumelo colonizar substratos de cultivo é fundamental para a fungicultura, tendo em vista que o substrato quando somado a linhagem selecionada, pode resultar em maior produtividade.

Sob este contexto, são necessárias pesquisas que avaliem os fatores que afetam diretamente a produtividade o que incluem desde a manutenção das condições ambientais favoráveis, seleção, adaptação da linhagem do inóculo e análise do substrato empregado. Estes parâmetros visam ampliar o conhecimento

sobre os comportamentos produtivos das linhagens de cogumelos testadas. Estudos desta natureza auxiliam no desenvolvimento de tecnologias de cultivo para a fungicultura gerando maiores rendimentos de produção o que estimula a produção e o comércio de cogumelos comestíveis.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar e comparar o efeito dos fatores ambientais e nutricionais sobre a produtividade e resposta à indução dos primórdios de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* cultivadas em duas formulações de substrato condicionadas em ambientes protegidos.

2.2 Objetivo específico

- Avaliar produtividade e eficiência biológica de duas linhagens de *P. ostreatus* no período de outono e inverno;
- Avaliar o efeito de duas formulações de substrato (braquiária e bagaço de cana; braquiária e pó de coco composto) na frutificação de duas linhagens de *P.ostreatus* SB e MB.
- Avaliar número e massa de cogumelos colhidos para cada linhagem nos diferentes substratos;
- Proceder a caracterização dos parâmetros pH, cinzas, carbono, nitrogênio nos diferentes substratos;
- Avaliar diferentes métodos de determinação de carbono (método da mufla, Yeomans & Bremner e Análise elementar) para seleção da técnica adequada para o resíduo agroindustrial aplicado;
- Proceder à avaliação do balanço de massas parcial para os componentes C, N, umidade e cinzas no substrato de cultivo;
- Avaliar a viabilidade de aplicação do composto exaurido na alimentação de ruminantes.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Os cogumelos apresentam-se com diversidade de formas, cores o que os torna atrativos para a vasta utilização na gastronomia por seu sabor e valor nutricional, pois além de serem alimentos pouco calóricos; são fontes de nutrientes como, fósforo, ferro, e vitaminas, incluindo tiamina, riboflavina, ascórbico ácido, ergosterol, niacina e nove aminoácidos essenciais para humanos. Algumas espécies deste grupo de fungos têm grande potencial medicinal como redução do nível de colesterol, propriedades anticâncer e antiviral podendo por isso ser aplicados como suplementos alimentares (CHANG; MILES, 2004; MIYAJI et al., 2001).

A classificação dos países de maior produção mundial de cogumelos destaca a China com mais de 5 milhões de toneladas/ano (Tabela 1).

Tabela 1. Países com maior produção de cogumelos comestíveis.

Países (toneladas)	Quantidade
China	5.150.000
Itália	761.858
Estados Unidos	388.450
Holanda	304.000
Polônia	220.000
Espanha	148.000
França	115.669
Iran	82.500
Canadá	78.930
Reino Unido	69.300
Irlanda	67.063
Japão	60.180

Fonte: FAOSTAT, 2012.

A baixa produção de cogumelos no Brasil torna-se evidente quando compara-se a produção nacional com países de maior produção mundial do fungo. Um dos fatores que limita o crescimento da fungicultura é o alto custo aplicado para estes alimentos, o que caracteriza a necessidade de desenvolvimento de técnicas mais eficazes de produção para minimizar o preço ao nível do consumidor (EIRA, 2000).

A ausência de estimativas precisas sobre fungicultura dificulta que haja exatidão sobre o número de produtores no Brasil. A Associação Nacional de Produtores de Cogumelos (ANPC) estima que existam mais de 300 produtores sendo estes em sua maioria micro e pequenos produtores, responsáveis pela geração de 3.000 empregos diretos (ANPC, 2013).

Toda a produção de cogumelo brasileiro esteve concentrada na região do Tietê em São Paulo, entretanto ao longo dos anos, a cadeia produtiva do cogumelo no Brasil tem se estruturado, disseminando-se por várias regiões do país. Entre os principais produtores de cogumelos comestíveis no Brasil estão os estados de São Paulo e Paraná, porém existem cultivos menores nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, sul da Bahia, Pernambuco, Brasília e no Rio Grande do Sul. Estima-se que o Brasil produza cerca 12.000 toneladas de cogumelos "in natura" ao ano (ANPC, 2013). A tabela abaixo apresenta a produção nacional de cogumelo/ano no país

Tabela 2. Produção anual em toneladas de cogumelos no Brasil.

Espécies	Produção estimada (toneladas/ ano)
<i>Agaricus bisporus</i> (cogumelos de paris)	8.000
<i>Pleurotus ssp.</i> (shimeji)	2.000
<i>Lentinula edodes</i> (shiitake)	1.500
<i>Agaricus blazei</i> murril	500
Outros	50

Fonte: ANPC, 2013.

O gênero *Pleurotus* engloba cerca de 70 espécies descritas. Este gênero pertence à classe Basidiomycetes, subclasse Hollobasidiomycetidae e a ordem Agaricales. Dentre as principais espécies cultivadas, destaca-se o *P. pulmonarius* e *P. cystidiosus*, originalmente encontrados em regiões tropicais e subtropicais, o *P. eryngii* que tem sua distribuição pela Europa, África e grande parte da Ásia, o *P. ostreatus*, que aparece como a espécie mais comercializada do gênero está distribuída em regiões temperadas. Este grupo de cogumelos possui valor nutricional, com diversas propriedades terapêuticas e aplicações biotecnológicas. São chamados de fungos causadores da podridão branca da madeira, por sua eficiência na degradação da lignina (COHEN et al., 2002).

Pleurotus sp., bem como todos os cogumelos, não possuem clorofila e desta forma são completamente dependentes do substrato de cultivo para o seu desenvolvimento. Os cogumelos em si são chamados de carpóforo (corpo de frutificação) e a parte com a qual o cogumelo desenvolve-se sobre substratos é chamada de micélio (estrutura vegetativa) (BARNEY, 2009). Segundo estudos, a sua popularidade devem-se a características próprias, como sabor, textura e aromas únicos aliados à facilidade de cultivo em diferentes regiões geográficas, em diversas condições climáticas e em uma razoável variedade de substratos (AYODELE et al., 2007; BARNEY, 2009; KONG, 2004; MIYAJI et al., 2001; SHAH et al., 2004).

O *Pleurotus ostreatus* é o representante tipo da família Pleurotaceae. São decompositores primários e, assim como grande parte do gênero, possuem basídio com quatro basidiósporos e um sistema de "mating" tetrapolar; apresentando grampo de conexão e sistema hifálico monomítico (KONG, 2004).

O *Pleurotus ostreatus*, vulgarmente conhecido no Brasil como "shimeji" e "hiratake", é um dos cogumelos mais cultivados no mundo. Pequenos produtores optam pelo cultivo dessa espécie por esta ser menos dispendiosa quanto a condições de cultivo e apresentar rápida colonização, boa produtividade, adaptabilidade e crescimento satisfatório em diferentes de substratos (ROYSE, 2003; STAMETS, 1993).

A produtividade de *P. ostreatus* também é um fator que favorece o cultivo. A eficiência biológica desta espécie frequentemente chega a atingir valores superiores a 100%. Em base de peso seco, cogumelos "ostra" têm teor de proteína entre 15-

35% que lhes confere quantidades significativas de aminoácidos. Além disso, esses cogumelos são ricos em vitaminas C, aproximadamente 30-144 mg por 100 g de peso seco, e vitamina B₃, niacina (109 mg a cada 100 g). O valor nutricional destes cogumelos pode variar de acordo com o substrato adotado e as condições de cultivo aplicadas (STAMETS, 1993).

3.1 Substrato de cultivo

O substrato é a fonte nutricional do cogumelo, desta maneira a sua qualidade interfere diretamente no crescimento micelial. A produção de substrato é parte fundamental no processo de cultivo, as etapas de preparo devem ser seguidas cuidadosamente visando garantir a qualidade. A seleção de matéria-prima para a preparação do composto deve ser realizada de acordo com as necessidades nutricionais da espécie de cogumelo que se deseja produzir. Para o preparo do substrato de cultivo de *Pleurotus sp.*, é preferível optar pelo uso de materiais lignocelulósicos, tendo em vista que, as principais fontes nutricionais dos cogumelos pertencentes a este gênero são a lignina, hemicelulose e celulose, ou seja, materiais com altas taxas de relação C/N, entre 80 e 100:1, para o cultivo de “hiratake” e mais estreitas para a produção de “shimeji”. Além da relação C/N adequada para cada espécie, a matéria prima escolhida para fungicultura deve ter boa procedência, não apresentando aparente degradação ou bolor (CHO, 2004; EIRA; MINHONI, 1997).

As espécies que compõem o gênero *Pleurotus sp.* possuem grande capacidade lignocelulolítica o que lhes confere maior rusticidade em termos nutricionais. Desta forma, qualquer tipo de matéria orgânica contendo lignina e celulose pode aplicada para produção de *Pleurotus sp.*, o que inclui quase todos os resíduos agroindustriais e torna difícil a tarefa de apontar uma única formulação de substrato que seja satisfatória para todos os produtores. Fatores como disponibilidade, custo e qualidade devem ser considerados na escolha das matérias primas e composição de substrato (ALAM, et al., 2010; Al-BARAKAH et al., 2013; CHO, 2004; EIRA; MINHONI, 1997).

3.1.1 Resíduos agroindustriais potenciais para fungicultura no Brasil

Resíduos sólidos são definidos como produtos no estado sólido e semi-sólido oriundos das atividades industrial, doméstica, hospitalar, agrícola e de serviços (ABNT, 2004). Ainda que biomassas resultantes de atividades agrícolas não sejam muitas vezes tratadas como potenciais poluentes devido ao seu valor agregado, sobretudo na pecuária extensiva e geração de energia, alguns entraves favorecem o acúmulo inadequado destes resíduos no ambiente (PEREIRA, 2006).

No Brasil, são produzidos por ano cerca de 350 milhões de toneladas de resíduos agroindustriais (PEREIRA, 2006). O volume de resíduos gerados está diretamente relacionado aos produtos agrícolas de maior cultivo no país e ao potencial de geração de resíduos de cada produto. Terá maior potencial de geração de resíduo o produto agroindustrial que possui maior porcentagem de resíduo a ser descartado quando comparado ao produto a ser comercializado. Dentre os resíduos com maior volume de geração destacam-se o bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de laranja, palhada e sabugo de milho, bagaço de soja, casca de arroz e casca de coco. (CONAB, 2011; 2012; EMBRAPA AGROENERGIA, 2012; IBGE, 2010; LAVOURA, 2012; MACIEL, 2006; MATOS, 2005).

Altos custos no transporte e características físico-químicas destes materiais são alguns dos fatores que dificultam a sua correta destinação, o que corrobora para um descarte inapropriado podendo culminar em problemas ambientais, tais como: produção de chorume em locais inadequados e eutrofização caso o descarte ocorra próximo a ambientes aquáticos (LENNARTSSON et al., 2012; PASSOS, 2005; SOARES et al. 2008). Assim, torna-se necessária a análise da produção agrícola visando melhorar o ciclo produtivo, uso e descarte, bem como uma avaliação criteriosa das biomassas geradas. A busca por maiores informações sobre as características, quantidade, disponibilidade da biomassa gerada auxilia na destinação e no aproveitamento de todo seu potencial nas atividades agrícolas, industriais, comerciais, entre outras (DIAS et al. 2003; PASSOS, 2005).

Dentre as atividades que visam agregar valor aos resíduos agroindustriais, encontra-se a fungicultura. A composição nutricional das biomassas oriundas dos cultivos e beneficiamento de produtos agrícolas constitui-se excelentes matérias primas para a produção de uma diversidade de cogumelos comestíveis, sobretudo os do gênero *Pleurotus*. As espécies que representam este gênero possuem a

capacidade de se desenvolver em uma gama de materiais lignocelulósicos. Estudos mostram o aproveitamento de resíduos, sobretudo no cultivo de *Pleurotus ostreatus*, por estar entre as espécies de cogumelos comestíveis mais cultivadas e apreciadas no mundo (CHO, 2004; EIRA; MINHONI, 1997).

De acordo com Shah et al. (2004), a tecnologia de cultivo artificial de cogumelo é relativamente recente, e a inovação e incorporação de culturas não convencionais em sistemas agrícolas existentes podem ajudar na melhoria do status social e econômico de pequenos agricultores.

De acordo com Cho (2004) e Santos (2000) aproximadamente 90 tipos de resíduos agrícolas têm sido aplicados para a produção de *P. ostreatus* no mundo. Dentre os materiais citados estão capins, palhas de cereais, serragem, podas de árvores, galhos, folhas e flores.

3.1.2 Resíduos de bagaço de cana-de-açúcar

O Brasil deverá produzir na safra 2015/2016 cerca de 663,11 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. Estima-se que por tonelada seja gerado aproximadamente 730 litros de caldo de cana e 270 quilos de bagaço, o que resulta em uma produção esperada de 183,43 milhões de toneladas de bagaço nesta safra (CONAB, 2015; SCHNEIDER et al., 2012). Em termos de processamento, o bagaço vem sendo utilizado como fonte de energia nas usinas sucroalcooleiras, o que resulta no uso de cerca de 90% do bagaço de cana-de-açúcar como combustível. Os outros usos do bagaço vão desde aplicação como condicionante de solo à produção de briquetes (CONAB 2011; DIAS et al., 2012). Embora a disponibilidade de bagaço seja 10% (ou menos) do total; quando se compara este valor com a de todo o resíduo gerado obtém-se a cifra de mais de 18.700 milhões de toneladas de resíduos, um valor que supera a geração de outros tipos de resíduo no país (DIAS et al., 2012).

Com a introdução da colheita mecanizada e diminuição progressiva das queimas na pré-colheita, a palhada passa a ser um resíduo resultante do processo produtivo da cana-de-açúcar. A geração de palhada na região centro-sul é de 70 kg por tonelada de biomassa total colhida (CONAB, 2011).

De acordo com Castro (2006), o bagaço de cana apresenta 36% de celulose 28% de hemicelulose, 20% lignina, 5% de cinzas e 4% de proteínas esta

composição nutricional quando somado ao alto teor de umidade torna o bagaço de cana-de-açúcar uma matéria prima viável para a produção de cogumelos comestíveis. Cardoso et al. (2013) mostraram a possibilidade de cultivo de *Pleurotus ostreatus* em bagaço de cana obtendo razoável miceliação, taxa de frutificação e formação dos corpos de frutificação.

3.1.3 Resíduo do processamento de laranja

A pesquisa que estima a safra de laranja, relativa ao período 2015/2016, realizada no parque comercial citrícola de São Paulo e Minas gerais apontou uma produção de 11.382,914 milhões de toneladas. A região conta com 481 municípios e representa a maior produtora mundial da cultura (FUNDECITRUS, 2015).

O Brasil é responsável por mais de 50% da produção mundial de suco de laranja. Sendo o bagaço da laranja o principal coproduto da indústria de processamento de citrus, correspondendo a 50% da massa total da fruta. A biomassa resultante na produção de suco possui características tais como: umidade em torno de 82% e concentrações de sacarose que contribuem para sua rápida deterioração (ALEXANDRINO et al., 2007; LOPES et al., 2010; REZZADORI; BENEDETTI, 2006; SILVA, 2014).

Alexandrino et al (2007) mostraram a possibilidade do desenvolvimento de biomassa fúngica em substrato a base de resíduo de laranja cultivado a 20 e a 35°C. O mesmo autor ainda apontou que o desenvolvimento do fungo pode ser afetado diretamente pela umidade do substrato utilizado. Análises visuais relevaram que quando os fungos foram cultivados em substratos com bagaço de laranja que apresentaram umidade superior a 75% houve crescimento precoce quando comparados a substratos de menor umidade. Foram consideradas umidades iniciais que permitiram a completa colonização do composto até o décimo dia de cultivo. Para a cultura na qual o substrato apresentou umidade entre 75 e 80% o fungo cresceu de forma homogênea.

3.1.4 Resíduo do cultivo e processamento do milho

O milho é um dos cereais de maior produção nacional. Esta cultura destaca-se pela facilidade de plantio em diferentes tipos de solo e clima. Reunindo a primeira e segunda safra na temporada 2014/2015 espera-se que o Brasil produza cerca de 84.729,2 mil toneladas (CONAB, 2015).

O milho pode ser comercializado in natura, desidratado, fragmentado (quirela) na forma de farinhas e de outras maneiras que a requerem industrialização do grão. Este processamento gera rejeitos tais como sabugo, o colmo (caule) e folhas. Estima-se que sejam gerados de 2,2 a 2,9 toneladas de folhas e talos e 0,3 a 0,9 toneladas de sabugos por tonelada de grãos colhidos (CONAB, 2011; 2012; 2015; PINTO et al., 2005; PRETO; MORTOZA 2010; SCHNEIDER et al., 2012).

Apesar da formação da grande quantidade de biomassa ao longo do cultivo e no processamento dos grãos, a aplicação da biomassa para geração de energia e outros fins ainda é incipiente (DIAS et al., 2012; PINTO et al., 2005; SCHNEIDER et al., 2012). O aproveitamento total de coprodutos na cadeia produtiva do milho pode ganhar importância devido a sua utilização para as mais diversas atividades humanas. Dentre as atividades propostas tem-se apontado o uso dos resíduos agroindustriais de milho para produção de cogumelos comestíveis.

Pesquisas apontam a alta produtividade de *Pleurotus* quando cultivados em substratos a partir de palhas de diferentes cereais suplementados (ALBUQUERQUE, 2010; COGORNÍ, 2013; DIAS, 2003). Royer et al., (2008) mostram que o uso de palha, sabugo e efluente oriundos do processamento do milho na produção de *Pleurotus ostreatus*, apresentaram um incremento do crescimento micelial. Sobretudo, se o efluente é adicionado a estes quando estão na forma triturada. Alananbeh et al., 2014 apresenta ainda para um bom desenvolvimento e produtividade de *Pleurotus ostreatus* em diversos resíduos agroindustriais.

3.1.5 Resíduo do processamento da soja

O cultivo de soja no Brasil ocupa uma área aproximada de 30,1 milhões de hectares, gerando para este período cerca de 85,6 milhões de toneladas de grãos (EMBRAPA, 2015). A soja apresenta-se como um produto agrícola de grande interesse diante de sua versatilidade de aplicação na alimentação humana e animal. O farelo resultante do processamento do grão além de ser aproveitado como alimento ou ração, constitui matéria prima promissora a ser explorada em produtos não alimentares devido a grande disponibilidade e baixo custo (MAPA, 2008; MELLO et al., 2004).

Segundo Maciel (2006), o bagaço de soja possui 3% de celulose, 4% de hemicelulose, 3% de lignina, 5% de cinzas e 43% de proteínas. Com esta composição, o bagaço de soja pode ser empregado em diversas atividades biotecnológicas dentre elas a produção de cogumelos. O alto teor de proteínas observado nas palhas e farelos de soja faz com que este seja uma boa opção para adequar a relação C:N do substrato de cultivo (FARINAS et al., 2008). Estudos mostram a viabilidade da adição de farelo de soja como suplemento na produção de substrato para crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* e posterior cultivo deste (MANTOVANI et al., 2012; ZANETTI; RANAL, 1996).

3.1.6 Resíduo do cultivo e processamento do arroz

O Brasil é um importante produtor de arroz, ocupando o nono lugar em produção mundial do cereal (MAPA, 2015). Investimento em tecnologia de cultivo e manejo adequado tem feito com que a produtividade seja aumentada paulatinamente. A safra do arroz no período 2014/2015 deve alcançar 12.448,6 mil toneladas o que mostra grande potencial nacional de cultivo (CONAB, 2015).

Entretanto, a cadeia produtiva de arroz gera uma série de resíduos ou subprodutos em todas as etapas do processo. O plantio do grão gera hastes e folhas, por outro lado o beneficiamento industrial resulta em cascas, farelo e grãos quebrados (quirera) nos percentuais de 34, 9 e 5%, respectivamente (DIAS et al., 2012; LORENZETT et al., 2012; PIRES et al., 2006).

A quirera pode ser utilizada para produção de farinhas e de amido pré-cozido, em contrapartida o farelo é destinado para transformação em óleo, ração; a casca é utilizada em olarias, substrato ou adubo para plantas e cama de galinha. Esta diversidade de aplicações equivale a apenas 30% do total de biomassas geradas, tendo em vista que 70% (ou mais) de resíduos produzidos são aproveitados para geração de energia na própria beneficiadora (AMATO, 2002; LORENZETT et al., 2012; MAYER et al., 2006).

Dentre as alternativas de uso estabelecidas para estes resíduos, destaca-se também a aplicação na produção de cogumelos comestíveis. Esta atividade tem se estabelecido como uma opção para a agregação de valor a resíduos agroindustriais de maneira sustentável. Desta forma, a casca e o farelo têm sido amplamente explorados na formulação de compostos para produção de macrofungos de interesse econômico, nutricional e medicinal. De acordo com Moda (2003), a suplementação dos substratos para o cultivo de cogumelos é prática comumente adotada pela maioria dos fungicultores. Normalmente, são acrescentados materiais ricos em nitrogênio, podendo estes possuir origem orgânica, mediante a utilização de resíduos agroindustriais, ou minerais, com o uso de adubos nitrogenados.

Alguns trabalhos apresentam o farelo de arroz como uma opção para a suplementação de substrato devido a sua alta concentração de nitrogênio. Domini et al. (2006) mostraram o efeito de diferentes farelos de resíduos agroindustriais, entre eles o de arroz, para produção de *Pleurotus ostreatus*. SALES-CAMPOS et al. (2009) utilizou em seu estudo o farelo de arroz como um dos suplementos para formulação de substratos a base de resíduos de madeira. Ainda que o farelo de arroz seja largamente empregado, a casca de arroz é o rejeito produzido em maior abundância e, portanto, deve ter seu potencial nutricional e energético explorado. De acordo com Cen e Xia (1999), a casca de arroz é composta por 36% de celulose 20% de hemicelulose 19% de lignina 20% cinzas 3% de proteínas o que o torna uma boa opção de matéria prima para compor substratos para cultivo de cogumelo como material volumoso. Bernardi et al. (2007) sugerem a aplicação de casca de arroz dentre outros materiais para a produção de inóculo para *Pleurotus ostreatusroseus*.

3.1.7 Resíduo do processamento do coco

A produção de coco em 2007 foi de 11.887,3 toneladas. No país aproximadamente 85% da produção nacional de cocos são comercializados como coco seco, sendo que a metade é utilizada para fins culinários e o restante é industrializado, gerando vários produtos como leite, água, óleo, entre outros. Aproximadamente 15% da produção são direcionados à extração de água de coco verde (SENHORAS, 2004; TAVARES, 2010).

A água de coco corresponde de 20 a 25% do peso total, sendo 85% do peso do fruto correspondente a rejeito resultante do processo de extração de água e polpa de coco. Estima-se que a cada copo de 200 mL de água de coco sejam gerados mais de um quilo de rejeito. O cultivo do coco é responsável pelo descarte anual de 800 toneladas de cascas que permanecerão no ambiente por um período mínimo de oito anos (LAVOURA, 2012; ROSA et al., 2002). Visando mitigar problemas causados por descarte inadequado dos rejeitos do coco, algumas medidas têm sido propostas. O beneficiamento da casca para obtenção de fibra constitui uma realidade no Brasil, as fibras podem ser utilizadas em produtos tais como tapetes, vasos (como uma alternativa ao xaxim), estofado, confecção de calçados, bolsas entre outros. O pó de coco tem sido amplamente explorado na produção de substratos agrícolas para germinação de sementes e produção de mudas (LAVOURA, 2012; MATTOS et al, 2007; SENHORAS, 2004). Devido à alta umidade e porosidade do material descartado na cadeia produtiva do coco, este apresenta potencial para produção de cogumelos.

Marino et al. (2008) propõem o crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* em serragem de casca de coco. Neste estudo, verificou-se razoável crescimento micelial (0,66 cm dia) quando comparados a linhagens de *P. ostreatus* inoculadas em meio BDA, que apresentou velocidade de crescimento de cerca de 0,75 cm dia. Os autores concluíram que uma lavagem prévia da serragem de coco contribui para diminuição do teor de tanino solúvel que pode ser responsável pela inibição do crescimento. O período médio para indução de primórdios foi de 19,2 dias após inoculação, o início da colheita ocorreu, em média, após 4,6 dias da formação dos primórdios, as unidades experimentais possuíam eficiência biológica média de 5,9% dos isolados testados. Furlani e Godoy (2005)

apresentaram a fibra de coco como uma alternativa para compor o substrato para produção de cogumelos comestíveis. Pedra et al. (2009) apresentaram dados sobre a suplementação da serragem da casca de coco com farelos de trigo e/ou de arroz na composição química e na aceitação (análise sensorial) dos basidiomas de *Pleurotus* spp., verificou-se que as amostras de cogumelos possuem teores aceitáveis de cinzas, proteínas, lipídeos tornando a fibra coco um bom substrato para produção de cogumelos.

3.2 Compostagem

O termo “compostagem” diz respeito à decomposição, pois está relacionada com a manipulação do material pelo homem, que mediante a observação da degradação do material na natureza desenvolveu técnicas para acelerar este processo e produzir compostos orgânicos que atendessem suas necessidades de maneira rápida e eficiente. Desta forma, denomina-se composto orgânico o produto compostado, estabilizado e higienizado, que é aplicado em atividades relacionadas à agropecuária (BROWN; SUBLER 2007; ROMÁN et al., 2015; ZUCCONI; BERTOLDI, 1987).

A compostagem é entendida como um processo de fermentação da matéria orgânica. Neste processo, a relação de carbono para os demais elementos é posta em equilíbrio, evitando assim a imobilização temporária de nutrientes. Esta decomposição ocorre mediante o desenvolvimento de microrganismos em condições de aerobiose. Ao longo do processo, fungos e bactérias metabolizam complexos orgânicos liberando substâncias simples tais como: dióxido de carbono, água e minerais (ROYSE; BEELMAN, 2007; RAABE, 2013; RYNK, et al. 1992).

A matéria prima destinada a compostagem deve ser classificada e escolhida mediante o teor de carbono e nitrogênio que possuem; para que o processo ocorra de maneira eficiente deve-se buscar uma proporção de 70% de materiais ricos em carbono e 30% de materiais ricos em nitrogênio (OLIVEIRA et al., 2008; TEIXEIRA, 2002). De maneira geral, os materiais vegetais frescos e verdes tendem a ser mais ricos em nitrogênio do que materiais secos. Verifica-se que a coloração verde

observada resulta da clorofila que possui nitrogênio em sua composição, sendo este teor menor em materiais lignocelulósicos de coloração castanha (SILVA, 2008).

Os materiais ricos em nitrogênio são de fácil decomposição, pois estes fornecem microcronutrientes para o composto ao longo do processo de compostagem. Um bom exemplo de aplicação de material nitrogenado é o uso de esterco, pois além de fornecer o nitrogênio necessário ao processo é o material inoculante de bactérias e fungos (OLIVEIRA et al., 2008; SILVA, 2008). O uso de materiais que possuem alto teor de carbono e baixo teor de nitrogênio resulta em um processo de compostagem lento, tendo como consequência o aquecimento tardio da pilha. Este fato foi registrado em pilhas com muito volume de palha de milho e com baixo teor de materiais nitrogenados em sua formulação (COSTA, 1994).

Entre os materiais ricos em carbono podem-se considerar aqueles lenhosos bem como fenos e papel. Dentre os materiais com o maior teor de nitrogênio estão: folhas verdes, esterco, solo, restos de vegetais hortícolas, entre outros. Os materiais para a compostagem não devem conter vidros, plásticos, tintas, óleos, metais e pedras; devem possuir baixo teor lipídios totais (pois podem libertar ácidos graxos de cadeia curta como o acético, o propiônico e o butírico os quais retardam o desenvolvimento microbiano e prejudicam o composto). A utilização de proteínas animais (carnes) devem ser evitadas nas pilhas de compostagem, pois podem atrair contaminantes, animais e outras formas de vida indesejadas. O papel como substrato é outro item que pode ser considerado com algumas restrições. Deve-se evitar papel encerado, laminados e com cores cuidando-se para não exceder 10% do volume da pilha (OLIVEIRA et al., 2008).

Para a preparação de composto deve-se optar por mistura de materiais visando obter ao final do processo uma relação C/N por volta de 30/1. Desta forma, materiais com alta relação C/N são adicionados à pilha sendo estes biotransformados por ação de microrganismos existentes no monte de compostagem tendo em vista que estes assimilam carbono e nitrogênio para iniciar o processo de fermentação. Assim, é importante que a relação C/N seja uniforme no monte (COSTA, 1994). Para obter um composto com a composição C/N recomendada, entre 80 - 30/1 a depender do cogumelo de interesse, é necessário calcular o volume de cada matéria prima a ser aplicada, pois a obtenção de

composto com relação C/N muito baixas ou muito altas, pode causar problemas ao composto o que prejudica a sua aplicação final (KIEHL, 2002).

Neste contexto, faz-se necessário determinar o C/N de cada material que irá compor o processo de compostagem. A relação C/N para diferentes resíduos agroindustriais aplicados potencialmente como matéria prima no cultivo de cogumelos estão dispostos na tabela 3.

Para estimar os materiais empregados no processo de compostagem, Gomes et al. (2001) sugerem uma equação que visa determinar da quantidade de partes de material rico em carbono e nitrogênio a ser utilizado na mistura. Estes autores consideram que:

$$PMRC = \frac{(30 \times N_n) - C_n}{C_n - (30 \times N_c)}$$

Onde:

PMRC = partes de material rico em carbono;

N_n= teor de N do material rico em nitrogênio;

C_n= teor de carbono(C) do material rico em nitrogênio;

C_c= teor de carbono do material rico em carbono;

N_c= teor de N do material rico em C.

Tabela 3. Composição percentual de matéria orgânica (MO), nitrogênio total (N) e a relação carbono/nitrogênio (C/N) de diferentes vegetais empregados no preparo do composto.

Material	MO%	N%	C/N
Abacaxi (Fibras)	71,41	0,9	44/1
Amoreira (folhas)	86,08	3,77	13/1
Arroz (cascas)	85,00	0,75	63/1
Arroz (palhas)	54,34	0,78	39/1
Bagacilho de cana-de-açúcar	87,19	1,09	44/1
Bagaço de cana-de-açúcar	71,44	1,07	37/1
Bagaço de laranja	22,51	0,71	18/1
Banana (talos e cacho)	85,28	0,77	61/1
Café (palhas)	93,13	1,37	38/1
Café (borra)	86,79	1,91	25/1
Capim colônia	91,03	1,87	27/1
Capim jaraguá	90,51	0,79	64/1
Esterco de gado	62,11	1,92	18/1
Esterco de galinha	54,00	3,04	10/1
Feijoeiro (palhas)	94,68	1,63	32/1
Grama batatais	90,80	1,39	36/1
Milho (palhas)	96,75	0,48	112/1
Milho (sabugo)	45,20	0,52	101/1
Serragem de madeira	93, 45	0,06	865/1
trigo (palha)	87,90	0,73	70/1

Fonte: Tabela formatada pelo autor segundo BLANCO (2009); KIEHL (1981; 1985).

Independentemente do tipo de composto e da formulação disponível, a técnica de compostagem empregada irá variar de acordo com o tipo de aplicação que se deseja dar ao composto. Caso o substrato produzido seja destinado a fungicultura, o processo de compostagem deve estar em conformidade com o a espécie de cogumelo escolhido para o cultivo. (RAABE, 2013; RYNK, et al., 1992; ROYSE ; BEELMAN, 2007).

As condições dentro da pilha de substrato proporcionam o intenso desenvolvimento dos microrganismos promovendo aquecimento da massa de substrato a temperaturas entre 50 – 75°C. A elevação da temperatura é um indicativo do metabolismo ativo da microbiota presente. O calor gerado é de suma importância na sanitização do composto mediante a destruição de organismos patógenos, sementes e ervas daninhas. A decomposição do material tem duração de duas semanas a nove meses, dependendo do método, materiais e finalidade (RAABE, 2013; RYNK, et al. 1992; ROYSE; BEELMAN, 2007).

Dentro do processo de compostagem para produção de cogumelos, duas técnicas são comumente citadas sendo estas, a compostagem longa e compostagem curta. A técnica de compostagem longa consiste na fermentação prévia da matéria- prima mediante o desenvolvimento da microbiota natural ou inoculada ao substrato. Assim, ocorre a metabolização da matéria orgânica presente, caracterizada pela diminuição do volume de material que ocorre com a decomposição lenta. Este processo esgota os nutrientes prontamente disponíveis, hidrolisa substâncias de difícil degradação, proporcionando a biostase necessária ao substrato para o cultivo do fungo de interesse (EIRA; MINHONI, 1997; RAABE, 2013). Esta técnica requer grandes espaços e apresenta risco de contaminação do solo devido a geração de lixiviado, somados a impossibilidade de controle de doenças e ervas daninhas. Após 25-27 dias da compostagem lenta busca-se obter um material estabilizado com relação C:N entre 20 - 30:1. Esta técnica tem sido aplicada para produção de cogumelos do gênero *Agaricus* (EIRA; MINHONI, 1997; RAABE, 2013; RYNK, et al. 1992; STAMETS; CHILTON, 1983).

Para a produção de *Pleurotus* sp., a técnica de compostagem lenta torna-se ineficiente uma vez que os representantes deste gênero possuem a capacidade de colonizar resíduos lignocelulósicos com baixos teores de nitrogênio. Apesar do

termo “compostagem” ser associado à produção de substrato para *Pleurotus* sp., o procedimento não visa a biotransformação da matéria orgânica, sendo portanto a técnica aplicada para o cultivo de *Pleurotus* sp. corretamente definida como compostagem curta. Com este procedimento, o composto pode ser preparado em 8-9 dias. A mão de obra exigida por esta técnica é recompensada pela economia de tempo, sobretudo quando se deseja produzir grandes massas de substrato. Há vários parâmetros essenciais para que o método de compostagem seja efetivo. Os fatores que afetam este processo incluem o valor nutricional do composto, umidade, pH, concentração de oxigênio, temperatura, granulometria e tempo de retenção (RAABE, 2013; STAMETS; CHILTON. 1983).

3.2.1 Fatores fundamentais a compostagem curta (compostagem fase I)

A água é essencial para o metabolismo microbiano. Assim, a umidade da matéria lignocelulósica que forma pilhas para compostagem deve manter-se entre 40-60% para a maioria dos materiais. Umidade abaixo de 40% reduz a atividade da microbiota que tende a cessar seu metabolismo quando a umidade alcança 15%. Por outro lado, quando os níveis de umidade são superiores a 70% as estruturas vegetais, que antes eram ocupadas por ar, tornam-se completamente preenchidas por água o que favorece o estabelecimento de condições de anaerobiose, gerando odores e lenta decomposição (EIRA; MINHONI, 1997; RYNK, et al. 1992).

O substrato de cultivo para cogumelo necessita de alta atividade de água para que o crescimento micelial seja favorecido. Diante disso, existe uma necessidade eminente de se quantificar a água presente no substrato ao longo do processo de produção. A umidade no substrato representa o teor de água contida neste. A água presente pode ser classificada em: água livre (aquela presente na superfície externa) e umidade adsorvida (fazendo referência a água encontrada no material, porém sem haver combinação química). Em sentido amplo, a umidade é o valor correspondente à perda de massa, que ocorre quando um produto é aquecido, de maneira que o calor remova a umidade presente. O resíduo resultante deste aquecimento é denominado peso seco e/ou massa/matéria seca (IAL, 2008; RYNK et al., 1992).

Outro parâmetro fundamental é a faixa de pH. A compostagem pode se desenvolver com pH entre 5,5 a 9,0. No entanto, o processo é mais eficaz quando os valores permanecem entre 6,5 a 8,0. Valores de pH inferiores a 6 podem retardar a decomposição, de modo contrário valores superiores a 8 podem causar a liberação de amônia. Após a montagem da pilha, deve-se buscar acompanhar o pH e descobrir a causa da variação. Algumas vezes a leve acidez do substrato pode estar relacionada com a insuficiente quantidade de oxigênio presente na pilha. Esta condição pode ser facilmente modificada com aeração adequada. Ajustes de pH mediante o uso de cinzas é desaconselhável pois sua adição pode induzir aumento nas perdas de amônia (RYNK et al., 1992).

O processo de compostagem consome grande quantidade de oxigênio. Para que o modelo seja eficiente, devem ser mantidos valores entre 16-18%; teores abaixo de 6% permite o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios. Condições anaeróbias podem ser minimizadas, mantendo-se pilhas com altura entre 1,0-1,5 metros; garantindo-se que as matérias primas estejam uniformemente misturadas, evitando o excesso de umidade. Odores e prejuízo ao processo são evitados mediante da aeração da pilha de compostagem, através do revolvimento frequente. O revolvimento e aeração da pilha podem ser realizados manualmente ou com o auxílio de máquinas (tratores e/ ou insufladores) (EIRA; MINHONI, 1997; RYNK, et al. 1992).

O calor é fator essencial na compostagem curta. Se todos os procedimentos forem seguidos corretamente, a pilha irá alcançar temperaturas acima de 70°C entre 24 e 48 horas. Neste processo, as altas temperaturas favorecem a atividade dos microrganismos termófilos decompositores, que estão viáveis a 71°C. Os microrganismos envolvidos no processo de compostagem estão naturalmente presentes no material não sendo necessário adicioná-los como inóculo (RAABE, 2013).

Após a montagem e início do aquecimento da pilha, nenhum material deve ser acrescido. Aconselha-se que ao longo do processo de compostagem haja acompanhamento contínuo da temperatura visando impedir o superaquecimento do material, pois caso as pilhas atinjam temperaturas muito acima de 70° C, pode haver morte de microrganismos termófilos de interesse sendo necessário, recomeçar o

processo. Além de aeração e controle da temperatura, o revolvimento promove o deslocamento do material da superfície para o centro, local de intensa atividade de microrganismos termófilos (EIRA; MINHONI, 1997; RAABE, 2013). Devido a perdas significativas de calor que ocorrem nas margens da pilha, apenas a parte central atinge temperaturas ótimas. Desta forma, o revolvimento garante que haja uniformidade do processo de compostagem permitindo que toda biomassa presente, alcance temperaturas desejáveis (acima de 45°C). Caso o aquecimento não ocorra, devem-se aplicar condições para o favorecimento do desenvolvimento microbiano e a manutenção de calor na pilha tais como: verificar o teor de umidade e a quantidade de material usado na sua estruturação. (EIRA; MINHONI, 1997; RAABE, 2013, ROYSE; BEELMAN, 2007).

A pilha de compostagem deve ser formada por material de granulometria variada. A disposição, densidade e diferença de tamanhos das partículas dos materiais empregados, devem permitir que a pilha mantenha uma estrutura capaz de, favorecer uma boa mistura evitando a compactação do substrato. Material compactado gera variação no teor de umidade dentro da pilha, pois a compactação impede que a matéria prima absorva água uniformemente, o que gera substrato final com teor de umidade variado que pode resultar em prejuízo ao crescimento micelial do fungo de interesse (EIRA; MINHONI, 1997; RAABE, 2013; RYNK, et al. 1992). Para evitar a compactação, os materiais podem ser triturados a partículas de até 5 cm de tamanho; tecidos suculentos não necessitam ser cortados em pedaços muito pequenos porque estes se decompõem rapidamente. Trituradores são boas opções para diminuir a granulometria de materiais lenhosos. Vários tipos de materiais verdes são permitidos. Materiais vegetais recém-colhidos podem ser secos ao sol e posteriormente utilizados, assim como folhas verdes, flores secas, grama e sacos de papel e papelão podem ser algumas opções desde que estes sejam previamente triturados (BEETZ; KUSTUDIA, 2004; CHO, 2004; RAABE, 2013; RYNK, et al., 1992).

3.2.2 Pasteurização (compostagem fase II)

De acordo com Azevedo (2014), os cogumelos possuem um complexo aparato enzimático responsável pela degradação de lignina, hemicelulose e celulose. Porém, os açúcares presentes no substrato são fundamentais para o seu desenvolvimento. Em condições naturais, os açúcares prontamente disponíveis nestes substratos são rapidamente assimilados pela microbiota mesófila. A rápida colonização por parte dos microrganismos mesófilos dificulta o desenvolvimento dos cogumelos que apresentam crescimento micelial mais lento. Portanto, visando diminuir os riscos de contaminação, o substrato deve ser submetido a alguns pré-tratamentos (AZEVEDO, 2014; CHANG; 2008; DIAS, 2010).

Após a compostagem fase I o composto deve ser submetido a tratamento térmico que permita eliminar, diminuir, controlar ou selecionar as populações de microrganismos ali presentes (DIAS, 2010; SANCHEZ, 2010; SIMPSON, 2009). Neste sentido, vários métodos baseados em tratamentos térmicos têm sido aplicados, entre os quais está a pasteurização. Estas técnicas possuem variações que apresentam vantagens e desvantagens. Dentre os tratamentos aplicados na produção de substratos estão: tratamento por vapor com temperaturas entre 80 e 100 ° C durante várias horas (substrato rápido); sistema NADASI: pasteurização através do tratamento com vapor (72°C) por quatro ou cinco dias e pasteurização por vapor no qual mantém-se o substrato por vários dias (60°C) (SANCHEZ, 2010).

O uso destas técnicas pode, contudo, torna-se fator limitante para os pequenos e médios produtores devido ao limitado investimento em infraestruturas apropriadas (DIAS, 2010). Diante disso, produtores tendem a optar pelas técnicas de pasteurização, pois além destas apresentarem menor custo de produção quando comparadas a esterilização, permitem o preparo de grande volume de substrato (EIRA; MINHONI, 1997; STAMETS, 1993).

As etapas do processo de pasteurização ocorrem em locais denominados túneis ou câmaras de pasteurização. Sendo estas construções de alvenaria e possuindo piso vasado por onde é injetado o vapor que deverá circular no composto. A circulação de vapor dentro da câmara é realizada com auxílio de um ventilador centrífugo. Ao longo do processo, o ar é recirculado dentro do túnel e misturado

com o ar ambiente possibilitando o controle da temperatura na massa de substrato (FLEGG et al., 1985; VEDDER, 1996).

A pasteurização deve ocorrer a temperaturas superiores de 60°C, com duração de 2 a 6 horas, quando então deve ser abaixada para aproximadamente 50°C para o acondicionamento final do composto. Sondas são colocadas em vários pontos do pasteurizador visando acompanhar as variações de temperatura que ocorrem dentro da câmara e na massa de substrato. Ao final da fase de pasteurização, o composto deve ser esfriado a temperatura próxima a 25°C para posterior inoculação (CHANG; MILES, 1989; FLEGG et al., 1985; STAMETS; CHILTON, 1983). Esse procedimento pode durar de 2 a 8 dias. O tempo necessário para conclusão da pasteurização varia de acordo com o tempo de compostagem, de maneira que quanto maior for o tempo de compostagem menor será o tempo de permanência da massa de substrato dentro da câmara (STAMETS, 1993).

O processo de pasteurização resulta na seleção de microrganismos termófilos. A microbiota viável ao longo da pasteurização é composta, por bactérias, fungos e actinomicetos. A presença de actinomicetos ao final do processo constitui um indicador de qualidade do composto (AZEVEDO, 2014; EIRA; MINHONI, 1997; KURTZMAN JR., 2010). Ao longo da pasteurização do material lignocelulósico, microrganismos termófilos consomem preferencialmente a hemicelulose como principal fonte de carbono, em detrimento a frações de lignina e celulose. Microrganismos contaminantes também possuem preferência por hemicelulose, de forma que o desenvolvimento da microbiota termofílica compete diretamente com estes. O consumo de hemicelulose no meio somado à liberação fatores de inibição e a alta temperatura atingida no processo resultam na inibição dos microrganismos causadores de contaminações, estando as demais frações do composto disponíveis o que favorece o desenvolvimento do cogumelo (KURTZMAN JR., 2006).

A seleção e ação dos microrganismos promovem a biostase do substrato tornando-o um meio seletivo e favorável ao cultivo de cogumelo. Ao final da fase II da compostagem, deseja-se obter um substrato livre de insetos e outras formas de vida indesejáveis, ausência de esporos viáveis de microrganismos contaminantes, e, uma breve decomposição do composto (CHANG; MILES, 1989; CHANG; MSHIGENI, 2013; EIRA; MINHONI, 1997; KURTZMAN JR., 2010; SANCHEZ, 2010).

3.2.3 Dinâmica microbiana no processo de preparação do composto

A compostagem é um processo biológico e de ecologia complexa por envolver grupos variados de microrganismos em sucessão que desenvolvem-se no substrato modificando-o e sendo igualmente modificados por fatores físicos e bioquímicos. Este processo culmina na transformação do substrato inicial diante da biodegradação de substâncias complexas em substâncias mais simples (AZEVEDO, 2014; RODALE, 1971).

A etapa de compostagem diferencia-se da decomposição de matéria orgânica observado na natureza, por fazer uso de um método microbiológico monitorado com predominância de microrganismos mesófilos na fase inicial, seguido de microrganismos termófilos que visam acelerar a degradação. A dinâmica microbiana apresentada neste processo deve-se a intensa atividade de bactérias, fungos, actinomicetos e outras populações biológicas presentes no material, no qual cada microrganismo presente possui um papel específico, determinante e complementar a outro na decomposição da matéria orgânica (AZEVEDO, 2014; COLEN, 2006; EIRA; BRAGA, 1997; HAYES, 1980; IMBERNON; LEPLAE, 1972).

A modificação verificada no composto quando em comparação a matéria prima inicial é resultado do processo fermentativo que sofre o substrato. Fatores tais como: o tipo e qualidade da matéria prima, condições climáticas e microbiota natural presente podem favorecer ou dificultar a biotransformação. Verifica-se ainda que transformações mais intensas ocorrem em faixas da pilha de compostagem que apresentam adequado suprimento de oxigênio, evitando assim o estabelecimento de microrganismos anaeróbios estritos. Para tanto, faz-se necessária à manutenção de condições aeróbias ou semiaeróbias durante todas as etapas do processo, seja este mediante insufladores de ar ou revolvimento mecânico da pilha de compostagem (AZEVEDO, 2014; EIRA; BRAGA, 1997; HAYES, 1980; IMBERNON; LEPLAE, 1972).

Todos os parâmetros ambientais devem ser considerados no processo da compostagem tendo em vista a sua influência sobre a população de microrganismos. A dinâmica da comunidade microbiana durante as diferentes fases do preparo do composto (compostagem e pasteurização) tem recebido maior

atenção devido à importância destes organismos (MUSTIN, 1987; TAIWO; OSO, 2004).

A busca por conhecimento sobre a variação de características físico-químicas e a sucessão ecológica que ocorre no composto auxilia na escolha do método de compostagem, além da possibilidade de prospecção de microrganismos possuem alto valor biológico e industrial presentes neste ambiente (AZEVEDO, 2014; MUSTIN, 1987; TAIWO; OSO, 2004).

Ao longo do processo é registrada intensa atividade microbiana com substituição da microbiota natural presente no material cambiando de uma comunidade mesofílica e ascensão da comunidade termofílica. Na fase inicial da compostagem ocorre a expansão das colônias de microrganismos mesófilos com a assimilação de carboidratos simples e nitrogenados solúveis, intensificação da ação de decomposição, liberação de calor resultando na elevação rápida da temperatura. Nesta etapa, a temperatura, que chega a atingir 45°C, entre as primeiras 15-76 horas, a depender do material e técnica utilizada. Entretanto, o período mais comumente observado para tal elevação da temperatura é de 24 horas. (KIEHL, 2002; SMITH et al., 1995; SZÉKELY et al., 2009).

Após a etapa “mesófila”, inicia-se a fase termófila. Microrganismos denominados termófilos que são assim chamados por manter seu metabolismo em temperaturas acima de 45°C e predominar a faixa de 50 a 65°C. Nesta etapa ocorre acentuada decomposição do material (com quebra de substâncias complexas como polissacarídeos e lignina), formação de água metabólica, manutenção da geração de calor e vapor de água. A dinâmica de fluxo de ar na leira de compostagem é fortemente influenciada nesta fase. O calor gerado impulsiona aeração por convecção e a acelerada decomposição pode dificultar o suprimento de ar sendo necessária a intensa aeração. Ao longo desta fase observa-se aumento das populações de bactérias gram-positivas termotolerantes, actinomicetos e fungos em detrimento a população majoritariamente bacteriana encontrada anteriormente. Os microrganismos presentes nesta fase permanecem no composto após a fase termofílica e são responsáveis pela relativa degradação do material (CAHYANI et al., 2003; HAYES, 1980; KIEHL, 2002).

Ao final do processo diversos fatores tais como o conteúdo de oxigênio, umidade, pH e relação C/N começam a dificultar o processo de sucessão ecológica. Nesta etapa, há formação de compostos orgânicos, diminuição da atividade biológica e perda da capacidade de autoaquecimento (KIEHL, 2002; HAYES, 1980).

A identificação da microflora presente no composto para produção de cogumelos permite avaliar as funções específicas de cada grupo microbiano. Estudos microbiológicos têm sido feitos visando identificar o maior número de agentes biológicos responsáveis pela degradação da matéria orgânica (AZEVEDO, 2014; TAIWO; OSO, 2004).

A diversidade microbiana no composto influencia na qualidade do substrato final. Microrganismos tais como actinomicetos, fungos e bactérias termófilas são desejáveis por tornar o composto um substrato seletivo, inviável para microrganismos competidores e favoráveis ao crescimento micelial do cogumelo. As espécies resultantes do processo de sucessão têm como função promover degradação da matéria orgânica, liberar fatores antibióticos que inibem o desenvolvimento de microrganismos patógenos, reduzir a concentração de amônia que dificulta o crescimento micelial, imobilizar e estocar nutrientes, de maneira que estejam prontamente disponíveis ao fungo. A presença de alguns principais gêneros e espécies de microrganismos presentes neste material serão aqui citados (AZEVEDO, 2014; GBOLAGADE, 2006; SALAR; ANEJA, 2007; TAIWO; OSO, 2004).

Cahyani et al., (2003) observaram a presença de microrganismos muito comuns em solos e acabam por contaminar resíduos agrícolas na colheita e processamento. Este mesmo autor identificou 33 espécies de bactérias no início da pilha de compostagem sendo a maioria destas gram-positivas. As bactérias gram-negativas obtidas foram pertencentes à família enterobacteriaceae.

No início da compostagem as bactérias isoladas em temperatura mesófila inclui coliformes fecais, *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., *Proteus* sp., *Serratia* sp. e *Bacillus* sp... Foram também isolados *Streptomyces*, Actinomicetos, *Streptoporangium*, *Bacillus* e *Serratia* spp. são gêneros comumente encontradas nas fases mesofílica e termofílica, sendo *Bacillus* o gênero predominante, entre as espécies gram-positivas. Dentre as espécies de *Bacillus*

comumente isoladas estão *B. circulans*, *B. liqueniformis*, *B. sphaericus*, *B. amyloliquefaciens* e *B. anthracis*. Algumas espécies de *Bacillus* já foram isoladas por em composto para o cultivo de *Pleurotus tuber-regium* e de *Letinum squarrosulus* e parecem que ser estimuladoras do crescimento de actinomicetos termófilos celulolíticos (ATKEY; WOOD, 1983; DEES; GHIORESE, 2001; GBOLAGADE, 2006; STROM, 1985).

Velázquez-Cedeño et al. (2008) observaram que bactérias do gênero *Bacillus* e *Paenibacillus* foram predominantes na microbiota do composto a base de palha de trigo para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Bacillus* spp. e *Paenibacillus* ssp. são relatados como espécies que produzem e excretam substâncias com a ação inibidora do desenvolvimento de bactérias gram-negativas e positivas e leveduras. A presença destes grupos no composto tem sido relacionada com a inibição de crescimento de *Trichoderma harzianum* (fungo patógeno de cogumelos) e estimularam a produção de lacases no cogumelo fortalecendo assim o sistema de defesa do fungo de interesse.

A importância da presença de bactérias gram negativas no composto, especialmente *Pseudomonas*, *Xanthomonas* e *Actinobacter*, deve-se ao alto poder oxidativo, por estimularem o crescimento micelial e a formação de primórdios de *P.ostreatus* (CHO, 2003). *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia* são relatadas como bactérias importantes na complementação da fixação do nitrogênio e na solubilização e disponibilização de fósforo no composto (PETERS et al., 2000).

Durante a preparação do substrato, os microrganismos degradam cerca de 40% do material seco, esta fase proporciona um ambiente favorável ao fungo a ser inoculado, uma vez que a atividade microbiana gera leve degradação e nutrientes prontamente assimiláveis. Neste processo de degradação os fungos pioneiros são: *Rhizomucor* ssp. e *Aspergillus fumigatus* que estabelecem-se em pH <7,0 e temperatura ao redor de 40°C. Foram isolados nessa fase também fungos tais como *Zygomycetes* ssp., *Aspergillus* ssp., *Penicillium* ssp., *Cladosporium herbarium*, *Aureobasidium* sp., *Alternaria alternata* (AZEVEDO, 2014; HUDSON, 1986 ; HUUB et al., 1990; STRAASTMA, 1994).

O aquecimento oriundo do início do processo de compostagem e liberação da amônia eleva o pH que pode atingir 9,0. Nestas condições, os microrganismos

pioneiros desaparecem, surgindo então *Talaromyces thermophilus* e *Thermomyces tancigenosus* que suportam altos pH e temperatura, mas não degradam celulose e tem taxa de crescimento moderada, de forma que não competirão com o fungo inoculado posteriormente. Após esta etapa, tem-se a espécie clímax *S. thermophilum* e *Pseudomonas* ssp. que desenvolvem-se rapidamente e degradam celulose, sendo sua densidade correlacionada com a produtividade do cogumelo, isso ocorre pois estes dois grupos estão associados ao processo de nucleação e formação de primórdios (AZEVEDO, 2014; HUUB et al., 1990; STRAATSMA et al 1994).

Algumas espécies promotoras de crescimento não estão presentes na fase inicial do no substrato, geralmente estas espécies surgem durante o processo de pasteurização, como o caso dos fungos termófilos *Scytalidium thermophilum* e *Myricocium thermophilum* que crescem em substrato pasteurizado. Um bom crescimento de *S. thermophilum* ocorre a 45°C. A presença destes fungos está associada com a maior produtividade de cogumelos. Os fungos mais frequentes e persistentes após o *S. thermophilum* foram os do gênero *Thermomyces*. Os fungos deste gênero são termófilos, distribuídos em quatro espécies: *T. ibadanensis*, *T. lanuginosus*, *T. stellatus* (Bunce) e *T. verrucosus*. As espécies *T. lanuginosus* é saprófita e comumente encontrado no solo e em restos culturais, como palha de milho e bagaço de cana e está relacionado com a degradação da celulose e hemmicelulose. Sua ocorrência foi relatada em associação com fungos celulolíticos como *Chaetomium thermophile*, se desenvolvendo a partir de açúcares liberados durante a hidrólise da hemicelulose (ATKEY; WOOD; 1983; EIRA, 2000; MAHESHWARI et al., 2000; STRAATSMA, 1994). Os fungos citados anteriormente são produtores de enzimas, dentre estas a xilanase, glicoamilase termoestável, protease, amilase, fitase, trealase, e β -glicosidade, entre outras (MAHESHWARI et al., 2000; MISHRA; MAHESHWARI, 1996; PEDERSEN; BROADMEADOW, 2000, BASAVESWARA RAO; SASTRI; SUBBA RAO, 1981).

Os Fungos filamentosos apresentaram-se com grupo menos diversificado, sendo representados apenas por *Aspergillus fumigatus* e *A. niger* presentes durante todo o processo. Fungos filamentosos têm sido relatados como importantes agentes transformadores do substrato, o que favorece a colonização dos cogumelos inoculados. (RYCKEBOER et al., 2003; ROSS; HARRIS, 1983).

O substrato apresenta a presença de actinomicetos. Na dinâmica de compostagem os actinomicetos permanecem dormentes até o estágio termofílico desenvolvendo-se apenas enquanto a temperatura permanece favorável, acima de 45°C, porém no resfriamento até 25°C, temperatura na qual ocorre a inoculação fungos de outras fontes, os termófilos entram em latência e a estrutura celular dessa biomassa é digerida e assimilada pelo cogumelo de inoculado (RYCKEBOER et al., 2003; ROSS; HARRIS, 1983). Foi relatada a predominância dos gêneros *Streptomyces*, *Micronospora*, *Nocardia*, *Thermonospora*, *Dactylosporangium* e *Kibdelosporangium* durante a compostagem. Apenas os gêneros *Streptomyces* spp. e *Nocardia* spp. foram isolados do composto após a pasteurização, sendo *Streptomyces* o único gênero isolado em todas as etapas de preparo do substrato o que indica a importância desse gênero neste estágio. Os Actinomicetos foram o segundo grupo microbiano com maior densidade populacional no composto após a pasteurização. Nesta etapa os actinomicetos, modificam o substrato tornando-o adequado à colonização de cogumelos uma vez que solubilizam a celulose diminuindo o teor de fibras, produzem biotina, tiamina e vitamina A, e em conjunto com fungos termofílicos auxiliam na redução do teor de amônia presente no substrato (AZEVEDO, 2014; MAHESHWARI et al., 2000; MIYATAKE; IWABUCHI, 2005).

3.3 Cultivo do fungo

A produção de inóculo é realizada mediante o isolamento de fragmentos de um basidiocarpo do cogumelo de interesse; este procedimento produz o que é denominado matriz primária. Para a produção de matriz primária, são empregados meios compostos por água, ágar, glicose e podem ser adicionados extratos de substrato de cultivo ou outras matérias primas. Os meios mais comumente utilizados no desenvolvimento de cogumelos são os meios de cultura batata dextrose e ágar (BDA) e extrato de malte e ágar (MEA) (EIRA; BRAGA, 1997; GAVA, 2002). Após a total colonização dos meios de cultivo pelo cogumelo, fragmentos da matriz primária são transferidos em outro meio (grãos de cereais previamente esterilizados) dando origem a matriz secundária. (CHANG, 1991; EIRA; MINHONI, 1997; RAJARATHNAN; BANO, 1988; STAMETS; CHILTON, 1983).

A inoculação consiste na transferência de micélio de determinada espécie de fungo para um substrato. O inóculo pode ser produzido de várias formas, sendo mais comuns os inóculos no estado líquido e sólido. Porém, no Brasil, ainda é mínimo o desenvolvimento em metodologia que permita a produção de inóculo líquido com qualidade e segurança; desta forma, prevalece, junto aos produtores, a opção pelo uso de “spawn”. Os meios de cultura normalmente adotados para a produção do inoculante “spawn” são grãos de cereais, tais como trigo, sorgo, milho, aveia entre outros (CHANG, 1991; RAJARATHNAN; BANO, 1988; ZADRAZIL; GRABBE, 1983).

A produção de “spawn” para inoculação de substratos revolucionou o setor de produção de cogumelos. Este método que consiste em transplantar e inocular culturas puras em grãos de diferentes cereais. Para isso, o processo de obtenção de “spawn” deve ser realizado em condições assépticas, tendo em vista que a contaminação, idade e a seleção de cultura geneticamente inadequada implicam diretamente em uma produtividade insatisfatória (CHANG; MILES, 2004; STAMETS, 1993).

Os grãos de cereais, neste caso, funcionam principalmente como veículo que mantém e transportam o micélio vegetativo do cogumelo que é usado para posterior inoculação nos substratos. Isso não significa dizer que o substrato para formação do “spawn” não tenha efeito sobre o sucesso ou fracasso da cultura. Para a produção de sementes, o fornecedor deve considerar, principalmente, características genéticas da linhagem visando garantir um crescimento vigoroso, total colonização dos grãos de cereais, a garantia de que as sementes sejam livres de contaminação, tenham sobrevida razoável no armazenamento, e, desta maneira, assegurar a qualidade dos cogumelos produzidos (CHANG; MILES, 2004; ROYSE, 2003).

Para produção de cogumelos deve-se garantir que o inóculo seja bem distribuído no substrato de cultivo, para tanto acrescenta-se cerca de 1-5% de massa do substrato em inóculo. Esta quantidade é necessária para que haja crescimento micelial uniforme. A quantidade de inoculante constitui um dos fatores que define a velocidade de crescimento do micélio no substrato. Quanto maior e mais uniforme for a quantidade de semente adicionada, mais rápido o será o desenvolvimento micelial. A completa colonização das sementes pelo micélio fúngico pode levar de 20-25 dias (EIRA; MINHONI, 1997).

3.3.1 Sistemas de cultivo

A ausência de conhecimento técnico obriga os agricultores a conduzirem o cultivo de forma empírica. Desta forma, muitos optam por sistemas de cultivo a céu aberto, baseando-se apenas no baixo custo inicial e operacional. No entanto, esta forma de cultivo traz riscos à produção, pois não considera parâmetros primordiais para o seu sucesso, como o controle das variações ambientais, o que torna a cultura susceptível a estresse ambiental e contaminações, implicando na baixa produtividade e alto custo final (BRAGA, 1999).

Visando proteger os substratos inoculados de altas temperaturas, pragas e de outras intempéries, é necessário que o cultivo de cogumelos ocorra em ambientes protegidos podendo estes ser climatizados ou não. Estes espaços são geralmente construções de alvenaria ou madeira e plástico que permitem o isolamento térmico, controle da umidade, ventilação, luminosidade e sanitização favorecendo a produtividade em locais com climas desfavoráveis a produção (BRAGA, 1999).

Estufas revestidas por lonas plásticas são opções práticas e de baixo custo. Em uma estufa, a quantidade de radiação solar que atravessa o material de cobertura pode ultrapassar 85%, isto varia de acordo com o ângulo de incidência e das propriedades do material utilizado para revestir a construção. Deve-se observar que o calor dentro da estufa aumenta à medida que a energia calorífica cresce no interior. Construções com maior vedação podem ficar mais quentes. Fatores relacionados à intensidade luminosa precisam ser frequentemente avaliados para que a temperatura média do ar dentro de uma estufa não permaneça acima de 50°C ou mais. Temperaturas elevadas são prejudiciais à maioria das culturas de basidiomicetos, resultando em inibição de indução, primórdios e frutificação (ALPI; TOGNONO, 1978; BRAGA et al., 1998).

Várias alternativas têm sido sugeridas com a finalidade de controlar a variação de temperatura gerada na estufa. Dentre estas, emprega-se o uso de sombrites, lonas plásticas, sistema convectivos naturais (termossifões), sistema de ventilação forçada e por processos de resfriamento evaporativo da água ou "cooling system" (ALPI; TOGNONO, 1978).

Cogumelos são cultivados mediante diferentes metodologias ou técnicas, dentre elas estão: toras de madeira, prateleiras, caixas, sacos plásticos e garrafas.

O tipo de método de cultivo escolhido deve basear-se nas demandas do mercado, custo, disponibilidade de espaço, preferências dos agricultores e variedade do cogumelo que se quer trabalhar (KONG, 2004). A decisão sobre a metodologia de cultivo e a execução são aspectos que interferem na produtividade.

Fatores ligados ao desenvolvimento fúngico, tal como a termogênese, operam como produtora de calor na estufa. Quando unidades de cultivo (sacos, garrafas, entre outros) são colocadas muito próximas umas das outras, podem facilmente atingir temperaturas próximas a 39°C ou mais, levando a diminuição do crescimento micelial e maior risco de contaminação (ROYSE, 2003; AG COGUMELO, 2011).

3.3.2 Condições de cultivo

Para obter maior produtividade alguns parâmetros são essenciais e devem ser atendidos, dentre eles estão: temperatura, umidade e concentração de CO₂. A tabela 4 apresenta as condições ótimas para a produção de cogumelos do gênero *Pleurotus*.

A recirculação do ar é utilizada para o arrefecimento e distribuição de oxigênio no ambiente. O período de crescimento é de 12 a 21 dias e pode ser concluído sem iluminação artificial. A depender da quantidade de substrato aplicado, o crescimento micelial em sacos normalmente requer tempo menor que a semeadura em garrafas devido ao modo de inoculação permitir que a semente tenha maior área de contato com substrato. No fim da colonização, o fungo deve ficar exposto a 4 horas diárias de luz. Esta iluminação pode ser provida com a utilização de lâmpadas fluorescentes. A intensidade da luz pode ser controlada automaticamente e ter variação entre de 50 a 300 lux (ROYSE, 2003).

Tabela 4. Parâmetros de crescimento de algumas espécies do gênero *Pleurotus*.

Parâmetro	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. florida</i>	<i>P. sajor-caju</i>	<i>P. eryngii</i>	<i>P. cornucopiae</i>	<i>P. cystidiosus</i>
Temperatura de Colonização (°C)	25	]25	25	25	25-30	25-35
Temperatura de Formação de primórdio (°C)	10-15	10-25	10-25	10-15	20-25	20-25
Temperatura de Produção de carpóforo (°C)	10-17	15-25	18-25	13-18	20-30	25-30
Conc. CO ₂ (ppm)	<1000	<800	400-800	<2000	<1000	<1000
Estação adequada	Outono	Primavera-verão	Primavera	Outono	Verão	Verão
Método de cultivo	Toras, prateleiras, caixas, garrafas, sacos	Prateleiras, caixas	Prateleiras, caixas	Garrafas, sacos	Prateleiras, caixas	Garrafas, sacos

Fonte Kong (2004).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Para este trabalho foram utilizados na etapa de caracterização equipamentos destinados à análise bromatológica, como destilador manual, forno mufla, shakers com aquecimento, pHmetro, estufa de secagem, moinho de bolas e agitadores magnéticos. Nesta fase foram necessários também vidrarias e outros instrumentos de laboratórios sendo estes listados nos tópicos a seguir:

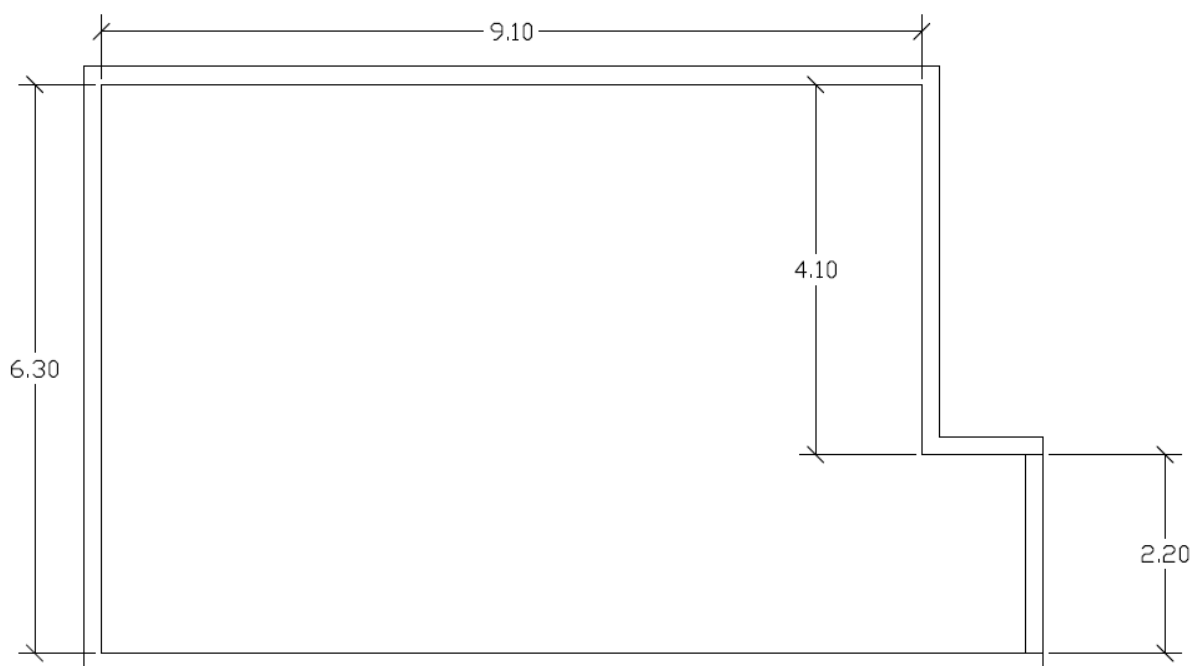
- Cápsula de porcelana;
- Erlenmeyers;
- Espátulas;
- Bureta;
- Becker
- Bastão de vidro;

Na etapa de produção de cogumelos os experimentos foram desenvolvidos em uma empresa de produção de substratos inoculados e cogumelos. As estruturas e materiais necessários foram: câmara de pasteurização, estufas de cultivo, matérias primas (capim brachiária de diferentes safras, bagaço de cana-de-açúcar e pó de coco composto) e “spawn” das linhagens de *Pleurotus ostreatus* SB e *Pleurotus ostreatus* MB fornecidos pela empresa Funghi & Flora.

4.1.1 Local de desenvolvimento dos cultivos

Todas as análises referentes à composição química dos substratos foram realizadas no Laboratório de Toxicidade de Águas do Departamento de Bioquímica e Microbiologia, UNESP “Campus” Rio Claro. Os experimentos relativos à produção foram desenvolvidos em uma empresa de produção de basidiomicetos comestíveis, “shimeji”, e substrato de cultivo inoculado com *P. ostreatus*. A empresa localiza-se no município de Mogi-Guaçu - São Paulo. O experimento relativo à frutificação e produtividade de cogumelos foi realizado em estruturas rústicas construída com madeira possuindo fechamento lateral de sombrite e coberta com lona e manta térmica, que recobrem os arcos metálicos que compoem o teto. A figura 1 apresenta dimensões e representação interna da estufa.

A



B

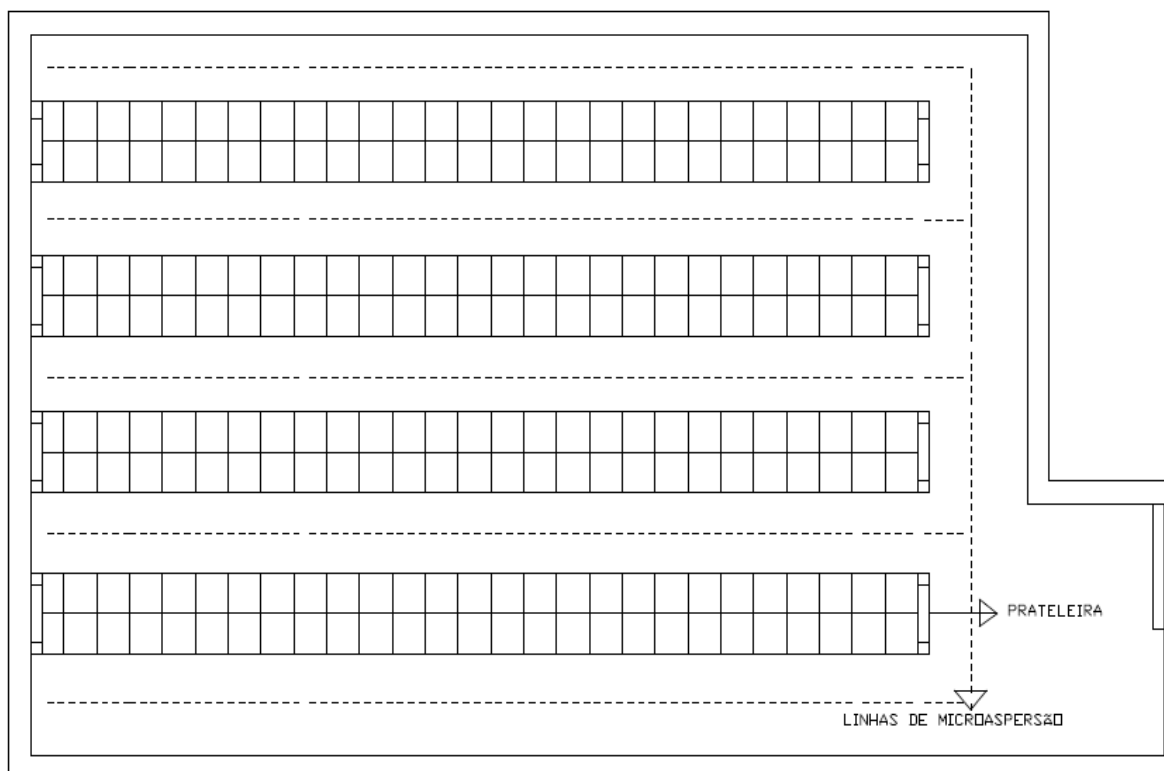


Figura 1. Dimensões e representação das estufas nas quais foram conduzidos os experimentos. A - Dimensões da estufa na qual foi conduzido os experimentos; B- Representação da estufa na qual foi conduzido os experimentos.

4.1.2 Meios de cultura para *Enterococcus zymogenes*

4.1.2.1 Soluções de macronutrientes, micronutrientes e vitaminas

Tabela 5. Componentes da solução de macronutrientes.

Solução Macronutrientes	
Cloreto de potássio	0,7 g/L
Fosfato de potássio monobásico	2,0 g/L
Fosfato dissódico	3,0 g/L
Nitrato de amônia	1,0 g/L

Fonte: VOGEL, 1956.

Tabela 6. Componentes da solução de micronutrientes.

Solução micronutrientes	
Sulfato de magnésio	4,0 g/L
Sulfato de ferro	0,2 g/L
Cloreto de manganês	0,2 g/L
Cloreto de cálcio	0,2 g/L

Fonte: VOGEL, 1956.

Dissolver os ingredientes em água e autoclavar a 121°C/ 20 min

Tabela 7. Componentes da solução vitamínica.

Mistura vitamínica	
Tiamina (B1)	12,5 mg
Riboflavina (B2)	2,0 mg
Ácido Nicotínico (B3)	2,0 mg
Pantetonato de Cálcio (B5)	2,0 mg
Cloridrato de Piridoxina (B6)	2,0 mg
Biotina (B7)	10 µg
Ácido Fólico (B9)	0,2 mg
Vitamina (B12)	0,5 µg
Ácido p-Aminobenzóico (Bx)	2 mg

Fonte: FORD, 1962.

4.1.2.2 Método de preparo do meio basal para cultivo de *Enterococcus zymogenes*.

Tabela 8. Componentes do meio basal.

Meio basal	
Glicose	30 g
Fostato de potássio dibásico	45g
Ácido cítrico	1,25g
Acetato de sódio	6,36g
Adenina	12,5 mg
Guanina	12,5 mg
Uracila	12,5 mg
Xantina	12,5 mg
Ácido ascórbico	1,25 g
Mistura vitamínica #	35 mg
Solução de minerais	25 mL
Tween 80	2,5 mL

Fonte: FORD, 1962.

Ajuste de pH para 7,2 com ácido fosfórico
Levar para volume total 500 ml

* Solução de sais de Vogel (VOGEL, 1956)

Mistura vitamínica segundo Ford (1962)

Tabela 9. Componentes do meio de cultivo.
para *Enterococcus zymogenes*.

Meio de cultivo para <i>E. zymogenes</i>	
Meio basal	20 mL
Tryptona	200 mg
Ajustar para 100 ml	Água
Ajustar pH para 7,2	destilada

4.2 Métodos

4.2.1 Caracterização do substrato

Este tópico descreve os métodos selecionados para caracterização química das formulações F1(capim Braquiária, bagaço de cana-de-açúcar) e F2 (capim braquiária, pó de coco composto), as tabelas 10 e 11 apresentam a proporção de materiais nas formulações.

Tabela 10. Materiais e composição do composto (formulação 1, F1) para o preparo do substrato de cultivo de *P. ostreatus* utilizado nos experimentos.

Formulação	Materiais	Proporção (%)	Umidade (%)	Massa seca (kg)
F1	Capim braquiária	85	17,55	70,08
	Bagaço de cana de açúcar	15	33,32	10,00
Total		100	50,87	80,08

Tabela 11. Materiais e composição do composto (formulação 2, F2) para o preparo do substrato de cultivo de *P. ostreatus* utilizado nos experimentos.

Formulação	Materiais	Proporção (%)	Umidade (%)	Massa seca (kg)
F2	Capim braquiária	85	19,32	68,58
	Pó de coco composto	15	41,36	8,80
Total		100	60,68	77,38

A escolha das formulações basearam-se na disponibilidade de matérias primas e agenda de produção da empresa no qual a fase de cultivo foi executada. As formulações apresentam capim braquiária com diferentes valores de massa seca e umidade tendo em vista que o experimento foi realizado em duas etapas e portanto, em diferentes épocas do ano (outono e inverno) de maneira que as matérias primas submetidas a diferentes condições de produção apresentam características diferentes consequentemente.

4.2.1.1 pH

Para determinação de pH das amostras, pesou-se 10 g de material úmido e acrescentou-se 100 ml de água destilada. O material foi submetido à solubilização mediante agitação em shaker por aproximadamente 30 minutos. A seguir aguardou-se 10 minutos procedeu-se a agitação manual das amostras com bastão de vidro e em seguida mergulhou-se os eletrodos na suspensão homogeneizada e

leitura do pH com pHmetro devidamente calibrado. Todas as amostras deste ensaio foram executadas em duplicata (IAL, 2008).

4.2.1.2 Umidade (em base úmida)

Para determinação de umidade, cápsulas de porcelana foram dispostas em estufa a 105°C por 12 h, e posteriormente pesadas registrando-se a massa individualmente. Após efetuar a tara de todas as cápsulas, pesou-se 10 g de material sendo as cápsulas novamente dispostas em estufa a 105°C, por aproximadamente 24h ou até que apresentem peso constante. A seguir as cápsulas com o material seco foram acondicionadas em dessecador até o resfriamento e pesadas em balança de precisão sendo a massa resgistrada (IAL, 2008). Para obtenção do teor de umidade utilizou-se a seguinte equação:

$$U\% = \frac{MU - MS}{MU} \times 100$$

Em que:

U%= Teor de umidade com base em massa úmida dos basidiocarpos;

MU= Massa úmida de basidiocarpos (g);

MS= Massa seca de basidiocarpos (g).

A partir deste ensaio, foi possível obter-se o teor de matéria seca, tendo em vista que o valor percentual de matéria seca é complementar ao de umidade. Desta forma, o percentual de matéria seca somado ao valor percentual da umidade é sempre igual 100% (IAL, 2008).

$$MS\% = 100\% - U\%$$

Em que:

MS%= Teor de matéria seca

U%= Teor de umidade

4.2.1.3 Cinzas

Para determinação do teor de cinzas, cápsulas de porcelada foram mantidas em estufa com temperatura de 105° C por 24h. A seguir, as cápsulas resfriadas em dessecador e pesadas, a estas acrescentou-se 1g de amostra seca e pulverizada. Em prosseguimento, efetuou-se a incineração da matéria seca volátil em capela com bico de bunsen e tela de amianto até que ocorrer a completa combustão da amostra (até que esta não produza fumaça). Após, as amostras foram dispostas em forno mufla para completa calcinação durante 4 horas a temperatura de 550°C (IAL, 2008). Ao final deste período, resfriaram-se as cápsulas de porcelana em dessecador e, em seguida, procedeu-se à pesagem das mesmas. Determinou-se o teor de cinzas das amostras de acordo com a seguinte fórmula:

$$Ci\% = \frac{Pc}{Pa} \times 100$$

Onde:

Ci%= Teor de cinzas;

Pc= Peso de cinzas (g);

Pa= Peso da amostra (g).

4.2.1.4 Nitrogênio total/ Proteína bruta

Para a determinação de nitrogênio total, efetuou-se a pesagem de 200 mg da amostra seca e triturada que foi transferida para tubos com capacidade de 100 mL, aos quais acrescentou-se 2 mL de ácido sulfúrico P.A., $\cong$ 0,5g de mistura digestora ($K_2SO_4 + CuSO_4 - 1:1$), $\cong$ 0,1g de selenito de sódio. Os tubos foram submetidos ao bloco digestor a uma temperatura aproximada de 250°C por um período mínimo de 40 minutos sendo que, algumas amostras por serem mais recalcitrantes necessitaram de aquecimento adicional. Neste caso, as amostras que apresentaram estas características permaneceram na incubadora digestora até apresentar coloração clara e translúcida. Após o resfriamento, acrescentou-se 10 mL de água destilada em cada tubo. Em sequência, procedeu-se à destilação das amostras em

destilador de Kjeldahl manual, cuja extremidade de saída permaneceu imersa em 20 mL de ácido sulfúrico (0,01N) e 10 gotas do indicador vermelho de fenol 0,1%. Desta maneira é possível identificar o início da incorporação de amônia ao ácido. Cada amostra foi destilada durante dez minutos após o início do gotejamento do destilado ao ácido sulfúrico (0,01 N). A determinação de nitrogênio total foi obtida por acidimetria, titulando-se a solução ácida contida em erlenmeyes com Hidróxido de sódio (0,01N). A titulação consistiu no gotejamento da base na solução ácida até a mudança de cor do indicador. Neste momento, foi anotado o volume de ácido utilizado. Os procedimentos foram realizados de acordo com o método proposto por Galvani; Gaertner (2006) modificado. Os cálculos efetuados para determinação de nitrogênio total e proteína bruta foram:

$$NT = \frac{(Va - Vb) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{P1}$$

Em que:

NT – teor de nitrogênio total na amostra

Va – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros;

Vb – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, em mililitros;

F – fator de correção para o ácido clorídrico 0,01 mol/L;

P1 – massa da amostra (em gramas).

Para determinação de Proteína, bruta utilizou-se o seguinte cálculo:

$$PB\% = NT\% \times Fn$$

Em que:

PB% – Teor de proteína bruta na amostra;

Fn – Fator de conversão de nitrogênio e proteínas (para este tipo de material o Fn= 6,25; considerando-se que 100g de proteína de boa qualidade tenha 16g de nitrogênio)

NT%- Teor de Nitrogênio total.

4.2.1.5 Extrato etéreo

Extraíu-se lipídeos totais pesando-se 1g de amostra seca em estufa a 105°C durante 24 h. As amostras foram acondicionadas em cartucho feito de papel filtro e postas no refluxador soxhlet. Adicionou-se N-Hexano 95% em volume suficiente para que o refluxo ocorresse. Em seguida, adaptou-se o refluxador de soxhlet ao condensador fixando-o e, então amostras foram submetidas ao refluxo por 4 horas. Após este período, aguardou-se até alcançarem temperatura ambiente, removeu-se os cartuchos do soxhlet e recuperou-se todo o N-hexano através de condensadores. Após procedeu-se o acondicionamento dos balões em estufa a 105°C para completa evaporação do N-hexano remanescente. A diferença entre a massa dos balões antes e após a extração das amostras é a massa referente ao extrato etéreo presente em cada amostra (IAL, 2008). A determinação do teor de extrato de etéreo foi obtida a partir da seguinte equação:

$$EE\% = \frac{EE \times 100}{P}$$

Em que:

EE% – Teor de extrato etéreo;

EE-Diferença de massa entre o balão antes e após o processo de extração (g);

P- peso da amostra.

4.2.2 Análise de Carbono

Visando escolher o melhor método para determinação de carbono em substratos compostos por formulações comumente aplicadas no cultivo de cogumelo, três métodos diferentes foram executados e avaliados. Os métodos serão descritos nos tópicos a seguir.

4.2.2.1 Yeomans & Bremner

O método de Yeomans & Bremner é uma variação do método de Walkley-Black e baseia-se na redução do dicromato por compostos de carbono e na subsequente determinação do dicromato remanecente por titulação do excesso de cromo com sulfato ferroso amoniacal (CANTARELLA et al., 2001). Para execução do método Yeomans & Bremner neste estudo, utilizou-se a seguinte sequência analítica: pesou-se 0,5 g de cada amostra seca e pulverizada que foi transferida para erlenmeyers. Em seguida incorporou-se 50 mL de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$ - 1N) e 25 mL de H_2SO_4 (P.A.) à amostra. Posteriormente, os erlenmeyers foram incubados em shaker a temperatura de 75°C “overnight”. Após o resfriamento acrescentou-se 5 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4 - P.A.) e uma gota de indicador difenilamina 1%. Ao final titulou-se a solução com sulfato ferroso amoniacal ($(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ - 0,5 M). Determinaram-se os teores de carbono orgânico (CO) de acordo com a equação matemática descrita abaixo:

- Determinação de massa de carbono

$$C(g) = [\text{normalidade}(Cr_2O_7)/n^\circ \text{ eq}(Cr_2O_7)] \times \text{volume}(Cr_2O_7) \times 10^{-3} \times [1 - (V_a/V_b)] \times 1,5 \times 12$$

Em que:

C(g) = massa de carbono;

V_a = Volume de sulfato ferroso gasto no branco;

Vb = é o volume de sulfato ferroso gasto (Vb).

- Determinação de teor de carbono

$$C(\%) = \frac{0,200 \times 100}{C(g)}$$

Em que:

C(%)= teor de carbono;

C(g)= massa de carbono.

4.2.2.2 Método da mufla

Para determinação C procede-se de acordo com o descrito no tópico para determinação de cinzas (4.2.1.3.). Para obtenção dos teores de carbono executou-se os seguintes cálculos:

$$MO\% = A\% - C\%$$

Em que:

MO%= porcentagem matéria orgânica

A% = porcentagem de amostra

Ci%= porcentagem de cinzas

Para determinar o teor C foi utilizado-se os seguintes fatores de conversão:

f.c.fibra de coco - 2

f.c. solo -1.724

f.c. compostado - 1.8

$$C\% = MO\% \times f.c.(escolhido)$$

Em que:

C%= Teor de carbono;

MO%= Teor de Matéria orgânica;

f.c.= Fator de conversão.

(CARMO; SILVA, 2012).

4.2.2.3 Método combustão seca

A análise de carbono aplicando-se este método consistiu na combustão seca em analisador da marca Elementar. Para tanto, secou-se a amostra a 105°C que a seguir foi pulverizada em moinho de bolas. A técnica de combustão seca consiste em pesar as amostras em cápsulas de estanho que devem ser incineradas em temperaturas por volta de 950°C por aproximadamente 5 min, em tubo de quartzo de combustão, sendo o gás O₂ com 99,998% de pureza usada como carreador. Ao final desta etapa, toda a matéria orgânica deve ser convertido em CO₂ e este, por sua vez, quantificado por cromatografia gasosa. Esta análise foi executada no laboratório de química da USP- São Carlos.

4.2.3 Método microbiológico para análise de qualidade proteica

Este método foi escolhido por ser o eficiente na análise da qualidade protéica em alimentos. A cepa utilizada para avaliar a qualidade proteica nos substratos foi o *Enterococcus zymogenes*, cedido pela prof.^a Aureluce Demonte, do Departamento de Alimentos e nutrição –UNESP- Campus Araraquara.

4.2.3.1 Preservação da cultura de *E. zymogenes*

O meio de congelamento para manutenção da cultura pura de *E. zymogenes* deve conter o meio de cultivo acrescido de 10% de glicerol. Para o congelamento deve-se adicionar 3,0 ml do inóculo ativo a 10,0 mL do meio de congelamento, levando ao freezer diretamente, sem deixar crescer.

4.2.3.2 Planejamento e execução do experimento

Visando identificar a qualidade protéica, foi realizada a determinação de qualidade nutricional de proteínas pelo método microbiológico. O método foi executado em três etapas.

1° etapa: iniciou-se o experimento com a ativação da cultura de *E. zymogenes*. Inicialmente descongelou-se o inóculo deixando-o por 24h em estufa a 37° e em seguida repicou-se a cultura duas vezes em intervalos de 24h para garantir o crescimento adequado da bactéria. Para os repiques, utilizou-se 1% de inóculo no meio.

2° etapa: denominada pré-hidrólise. Esta fase consistiu na pesagem de amostra equivalente a 100 mg de proteínas das amostras secas e pulverizadas em erlenmeyes no qual adicionou-se 40 mL de solução de β -glicerofostato de sódio (20g/litro). O pH foi ajustado para 8,0 com ácido fosfórico. Em seguida acrescentou-se 4,0 mL de solução de pronase (1mg/mL) ao meio. Os erlenmeyes foram postos em incubadora shaker a 48°C, e permaneceram sob agitação por 3 horas. Logo após, as amostras foram resfriadas até temperatura ambiente e novamente ajustou-se o pH para 7,2 com ácido fosfórico. Ao final desta etapa, ajustou-se volume das amostras para 100 mL em balão volumétrico com água destilada e solução foi filtrada com filtro milipore 0.22 μ m.

3° etapa: nesta etapa adicionou-se aos tubos de cultura esterilizados com 2,0 mL de meio basal filtrado, 2,0 mL de amostra, 7,0 mL de água esterilizada, 100 μ L do inóculo. Realizou-se o ensaio em quintuplicata (4 testes+1 branco). Para os referentes ao “branco” aplicou-se 100 μ L de inóculo inativo (autoclavado previamente). Em seguida foram incubadas 37°C. Após 48°C autoclavou-se os tubos e mediu-se os crescimentos por acidimetria, titulando-se cada tubo com NaOH (0,1 N) até pH 7,2. Os resultados foram expressos descontando-se o volume de NaOH gasto com o “branco” da respectiva amostra e da pronase (é consenso que o valor nutritivo relativo da caseína é igual 100). O resultado foi ser expresso em % do volume gasto com a amostra padrão (caseína).

Para determinar o valor nutricional relativo empregou-se os seguintes cálculos:

$$\text{NVR}\% = \frac{\neq \text{NaOH} \times \text{NVRc}\%}{\neq \text{NaOH}(c)}$$

Em que:

NVR%= Porcentagem do valor nutritivo relativo;

$\neq \text{NaOH}$ = Diferença entre a média do gasto de NaOH das amostras e NaOH gasto no Branco;

NVRc%= Porcentagem do valor nutritivo relativo da caseína;

$\neq \text{NaOH}(c)$ = Diferença entre a média do gasto de NaOH da caseína e NaOH gasto no Branco.

4.3 Procedimentos necessários para o preparo de substrato, cultivo e produção de *P.ostreatus*

Os substratos de cultivo, fundamentais no processo de produção, foram preparados segundo metodologia utilizada para o cultivo de *P. ostreatus* e inclui as seguintes etapas (CHANG; MILES, 2004; EIRA; MINORI, 1997; KONG, 2004; ROYSE, 2003):

- Preparo do substrato de cultivo

- fase I da compostagem (compostagem curta);
- fase II da compostagem (pasteurização e condicionamento);

-Inoculação ou "semeadura";

- Colonização do substrato inoculado ou "desenvolvimento corrida do micélio";

- Produção e colheita.

4.3.1 Procedimentos e matérias primas utilizadas no preparo do substrato de cultivo

Foram preparadas duas composições de substratos de cultivo que serão aqui denominados de formulação F1 e F2. Estas formulações foram escolhidas de acordo com a disponibilidade de matérias primas disponíveis e comumente aplicadas pela empresa na qual o experimento foi conduzido. A formulação F1 foi composta de bagaço de cana-de-açúcar proveniente de usina sucroalcoleira e capim Braquiária (*Brachiaria* sp.). Os materiais adotados para compor a formulação F2 foram capim braquiária (*Brachiaria* sp.) e pó de coco composto (13,5% pó de coco, 0.75% casca de pinus 0.75% casca de arroz%).

As amostras das matérias primas foram coletadas e analisadas quanto aos teores de N e C, estas informações são necessárias para avaliar a relação C/N do composto inicial. Devido à heterogeneidade dos resíduos agrícolas foram utilizadas diferentes técnicas (4.2.2.1. Yeomans & Bremner, 4.2.2.2. Método mufla, 4.2.2.3 método combustão seca) para análise do conteúdo de C das amostras. Ainda foram necessárias a determinação e cinzas (4.2.1.3) e matéria secos sendo estes parâmetros importantes para a adequação do teor de umidade da massa do substrato e garantir um processo de compostagem eficiente.

4.3.2 Compostagem fase I

A Compostagem Fase I foi realizada em pista de concreto, local no qual ocorreu a montagem da pilha ou “meda” de compostagem com os materiais volumosos (capim baquiária, bagaço de cana), com suplementação (pó de coco composto), umidecimento, e reviradas (Figura 2). Para que o processo ocorra de forma eficiente deve-se seguir rigorosamente as etapas para sejam garantidas as condições favoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos com a revirada do substrato (Figura 3). A dinâmica de condução da compostagem utilizada no preparo das formulações F1 e F2 está inserido na tabela 12.

Tabela 12. Cronograma de execução da compostagem fase I.

Etapas	Dias	Procedimento
Montagem da pilha	1	Matéria prima em camadas + água
1ª revirada	3	água + suplemento (quando
2ª revirada	5	houver)
Carregamento do pasteurizador	6	água
		água



Figura 2. Processo de montagem da pilha. Fonte: Do autor.

4.3.3 Compostagem Fase II (Pasteurização)

Após a compostagem Fase I, o composto foi transferido para o túnel de pasteurização. Esta etapa foi realizada em estrutura denominada câmara ou túnel de pasteurização (instalação em alvenaria possuindo um "plenum" no piso com aproximadamente 40 cm de altura) com sistema de ventilação para aeração e recirculação de ar na massa de substrato (Figuras 4, 5 e 6). A pasteurização foi realizada a partir da injeção de vapor d'água (produzido por uma caldeira manual) na massa de substrato, por tubulações existentes na região inferior ao substrato (plenum) e durou cerca de seis horas com temperaturas de aproximadamente de 60 a 67° C. Logo após a pasteurização, a massa de substrato foi conduzida ao condicionamento com temperatura entre 45°C e 50°C. O monitoramento das temperaturas foi realizado mediante instalação de sondas inseridas no interior da massa. A partir do monitoramento, foi realizado o controle das temperaturas para condução da pasteurização. Isto foi possível regulando-se o volume de vapor injetado e ventilação. No fim deste processo, a massa foi resfriada mediante ventilação com ar ambiente, até atingir temperatura entre 25-30°C.



Figura 3. Câmara/túnel de compostagem (região interna). Fonte: Do autor.



Figura 4. Câmara/ túnel de compostagem (plennum por onde o vapor é injetado). Fonte: Do autor.



Figura 5. Câmara de pasteurização parcialmente carregada. Fonte: Do autor.

4.3.4 Inoculação e colonização do substrato

Após a compostagem Fase II (pasteurização), o composto foi acondicionado em sacos de polietileno reciclado, com capacidade de 60 litros. Os sacos foram perfurados de forma aleatória. Esta empresa possui em sua coleção linhagens de diferentes origens. A linhagem SB é oriunda do cultivo em Piracaia/SP, sendo comercializada para o período de verão, sendo também cultivadas em diversas realidades climáticas enquanto que *Pleurotus ostreatus* MB, tem origem no cultivo em Jarinu/SP e é indicada como linhagem para o inverno. Para o experimento, foram preparados sacos com furos de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro.

O processo de inoculação antecedeu a etapa de empacotamento dos sacos. A inoculação foi realizada com a adição de “spawn” em camadas de substrato. O “spawn” inoculado no substrato foi cedido pela empresa de produção de inóculo Funghi & Flora, sendo empregadas duas linhagens de *P. ostreatus*. A escolha das linhagens se deu por serem estas largamente comercializadas pela empresa, por apresentarem boa adaptabilidade em diferentes condições climáticas e produtividade compatível com a realidade brasileira. As cepas são classificadas pela empresa como *Pleutous ostreatus* SB e *Pleurotus ostreatus* MB. Ambas pertencentes à coleção da empresa produtora de micélio, Funghi & Flora. Foi utilizado o equivalente a 1% da massa de substrato de “spawn” de forma que a cada saco foi aplicado 80 g de inóculo (Figura 7) tendo em vista que as unidades experimentais possuíam massa de 8kg. Visando diminuir o risco de contaminação, a inoculação foi executada em área coberta, na qual garantiu-se a higiene dos operadores e a limpeza da área com sanitizantes químicos (hipoclorito de sódio; álcool; soluções de formol) sendo a inoculação executada manualmente. A fase de inoculação ocorreu em duas etapas. A primeira etapa ocorreu no período de outono, de 16/03/2015 a 18/05/2015 no qual a formulação F1 foi inoculada com as linhagens de *Pleutorus ostreatus* SB e *Pleutorus ostreatus* MB. Na segunda etapa a formulação F2 foi inoculada com as Linhagens *Pleurotus ostreatus* SB e *Pleurotus ostreatus* MB, no inverno, durante período de 01/05/2015 a 03/07/2015. O teste combinando diferentes linhagens, formulações em diferentes estações visam avaliar o comportamento produtivo das linhagens em diferentes condições de ambiência.

Finalizado o processo de inoculação, os sacos foram vedados com auxílio fitilho e transferidos para estufas, onde ocorreu o período de incubação. A seguir,

ocorreu a miceliação do composto. O final da incubação foi confirmado pela compactação do substrato colonizado. Isto acontece como resultado de um crescimento micelial vigoroso. O composto, após completa miceliação, apresenta-se com a coloração branca e odor característico. Após a colonização, os blocos foram submetidos a condições de maior umidade relativa do ar dentro da estufa. Este procedimento é garantido por microaspersores localizados no teto da estufa, sendo estes acionados a cada duas horas para manter a umidade relativa do ar acima de 70%. Os sacos inoculados formam mantidos em estufa sem climatização sendo submetidas desta forma as condições climáticas naturais. A frutificação costuma ser iniciada em média três dias após o surgimento de primórdios. A presença de primórdios de corpos de frutificação indica a necessidade de manter os aspersores para umidificação em funcionamento.



Figura 6. Pesagem do inóculo. Fonte: Do autor.



Figura 7. Sacos inoculados. Fonte: Do autor.



Figura 8. Substrato compactado por micélio de *P. ostreatus*. Fonte: Do autor.

4.3.5 Metodologia de colheita

Os cogumelos foram colhidos manualmente. O ponto de colheita estabeleceu-se de acordo com as exigências do mercado brasileiro, tendo em vista que o *P. ostreatus* com maior valor comercial são aqueles que apresentam carpóforo com menor tamanho, sendo estes denominados "shimeji". Isto ocorre, pois o consumo de "hiratake", *P. ostreatus* com píleo acima de 5 cm de diâmetro, não é muito difundido no país. Desta forma, quando os cogumelos atingem diâmetro do píleo entre 2-5 cm procede-se a colheita. Depois de colhidos, os cogumelos foram limpos e a base das estirpes foi eliminada retirando-se assim as frações de substrato e micélio que permaneceram aderidas aos corpos de frutificação. A pesagem dos cogumelos foi realizada imediatamente após a colheita, em balança digital.

4.3.6 Parâmetros de produção avaliados

- Avaliação visual do tempo de colonização do substrato com diferentes linhagens;
- Comparação do tempo de colonização diante de formulações de substrato;
- Eficiência biológica EB: $(\text{kg de cogumelos frescos} / \text{kg de massa seca de substrato}) \times 100$, expressa em % (EIRA; MINHONI, 1997). Sendo este valores obtidos por amostragem.
- Produtividade de cogumelos por massa de substrato: $\text{kg de cogumelos frescos} / 8\text{kg de massa de substrato úmido}$;
- Massa média de cogumelos recém-colhidos por unidade de substrato;

4.3.7 Ambiente de condução do experimento

O experimento referente à etapa de produção constou de 4 tratamentos, combinando os fatores composição de substrato (formulação F1 e F2) e linhagem (*P. ostreatus* MB e *P. ostreatus* SB). Foram preparados ao total de

48 sacos representando as unidades experimentais (12 repetições por tratamento). Os tratamentos foram realizados conforme descrito abaixo:

tratamento 1- formulação A, linhagem SB;

tratamento 2- formulação A, linhagem MB;

tratamento 3- formulação B, linhagem SB;

tratamento 4- formulação B, linhagem MB.

A incubação e produção foram conduzidas em estufa construída com arcos metálicos e fechada com tela sombrite nas laterais, possuindo lona plástica e manta térmica recobrimdo o teto. As estufas são preenchidas por prateleiras composta por mourões de eucalipto tratado e fios de aço. A estrutura possui sistema de microaspersão de água para umedecimento automático do ar. A temperatura e umidade ao longo da frutificação foram monitoradas e registradas com o auxílio de um termo-higrômetro digital. As estufas proporcionaram um ambiente interno sombreado durante o dia. Os tratamentos sofreram a influência das condições climáticas, tendo em vista que as estufas não apresentam controle automático de temperatura.

4.3.8 Balanço de massas

O balanço de massas é um processo baseado na conservação de massa, sendo esta uma importante ferramenta na tomada de decisões em um processo industrial. O conhecimento sobre o fluxo de matéria existente permite entender o quanto de material é transformado em produto e o quanto permanece acumulado no fim do processo. A operação de um processo pode ser classificada conforme o comportamento das variáveis ao longo do tempo (AQUIM et al., 2004).

Desta forma, o sistema de operação em regime estacionário é alimentado e os produtos são retirados de uma só vez, no início e ao final do tempo de processo, respectivamente. Podem ser realizados também balanços parciais com os componentes de maior importância no processo (AQUIM et al., 2004).

Dentro da produção de cogumelo, a perspectiva de balanço de massas pode ser de grande utilidade para avaliar a qualidade nutricional do substrato. Mediante as

análises, pode-se verificar como ocorre a transformação de nutrientes, água e minerais em produto (corpos de frutificação) além do acúmulo de compostos e avaliação da biomassa pós-colheita.

Assim, com vistas à necessidade de conhecer algumas características nutricionais do substrato de cultivo, sobretudo os valores de C e N, foram realizadas análises utilizando os métodos Yeomans & Bremner e o método de Kjeldahl para determinação destes elementos, respectivamente. Além destas, foram realizadas a determinação de matéria seca, cinzas e pH das amostras. A determinação de matéria seca e cinzas auxiliam a determinar o volume de água a ser utilizado na massa de substrato, pois para que a composto orgânico não exceda o teor de 70% de umidade deve determinar a umidade inicial de cada material bem como considerar a parte mineral que não é possível de ser hidratada. Estas análises foram realizadas sob a perspectiva de balanço parcial de massas visando avaliar a diferenças nas concentrações dos componentes C, N, cinzas e água nos substratos de cultivo inicial e final.

4.4 Análise estatística

Em todos os experimentos os dados foram submetidos à análise de variância. Os dados não apresentavam normalidade e, portanto foi utilizado um teste não paramétrico por ser este mais adequado ao tipo de dados e tamanhos de amostra obtida. Neste caso empregou-se o teste de Kruskal-Wallis (5%) e as médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (5%). Para execução dos testes utilizou-se o Programa Bioestat 5.0 por se tratar de programa gratuito desenvolvido para facilitar análises por ter interface amigável.

4.4.1 Teste Kruskal-Wallis

A análise que utiliza Kruskal-Wallis surge como uma alternativa para análise de variância paramétrica (ANOVA) para um delineamento completamente casualizado, $k \geq 3$ tratamentos. Este teste pode ser utilizado para testar a hipótese $H_0: t_1=t_2=\dots=t_k$. No lugar das medidas, utiliza-se os postos e não há suposições com relação a Normalidade e Homocedasticidade. A principal exigência com relação a

este tipo de teste é que a variável de estudo seja contínua e as observações independentes (UFPR, 2009).

Esta análise busca identificar o posto de cada uma das observações. Desta forma o menor valor recebe (ranking ou posto) 1, o segundo 2 e assim por diante, até que todas as observações tenham sido consideradas. Em caso de ocorrência de empates, atribui-se o valor médio entre as observações (UFPR, 2009).

Para testar a hipótese nula, utilizamos a estatística de teste:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{(R_j)^2}{n_j} - 3(N+1)$$

Em que:

N= Número total de observações;

k= Número de tratamentos;

n_j = Número de observações no j-ésimo tratamento;

R_j = Soma dos postos do j-ésimo tratamento.

Rejeitamos H_0 se $H \geq \chi^2$ com k-1 graus de liberdade ao nível α de significância.

Se ocorressem empates, a estatística de teste H deve ser corrigida com a seguinte expressão:

$$C = 1 - \frac{\sum (t_i^3 - t_i)}{N^3 - N}$$

Em que t_i é o número de observações empatadas no i-ésimo grupo. Assim, tem-se a estatística corrigida:

$$H_1 = \frac{H}{C}$$

Para testar H_0 , procedeu-se exatamente como se não houvesse empates.

4.4.2 Teste de Student-Newman-Keuls

O Teste de Student – Newman – Keuls (SNK) Newman, apresentou-se como um teste que contornava os inconvenientes do teste t para ensaios com mais de dois tratamentos. Ajusta-se o valor de t dependendo da distância entre as médias então ordenadas. Em uma relação decrescente de t médias, duas delas (A e F) apresentarão diferença significativa se:

$$\frac{|A - F|}{\sqrt{S_e^2/r}} \geq q_i$$

Em que Se^2 é o valor estimado do quadrado médio do resíduo, pela análise de variância, r é o número de repetições, comum a todos os tratamentos e q_i é o valor tabelado proposto (t ajustado) obtido em função da distância entre as médias ($i = p+2$, p sendo o número de médias existentes entre as duas médias comparadas, na relação descendente) e dos graus de liberdade do resíduo, Se^2 ; os valores q_i diminuem com o aumento do gl, aumenta com a distância entre as médias, corrigindo os excessos de erro tipo I (SAMPAIO, 2002). A diferença mínima significativa entre duas médias com distância i entre elas e com igual número de repetições é:

$$d.m.s._{(SNK)} = q_1 \sqrt{S_e^2/r}$$

Quando as médias comparadas A e B apresentarem diferente número de repetições, a diferença mínima significativa seria:

$$d.m.s_{(SNK)} = q_1 \sqrt{\frac{S_e^2}{2} \left(\frac{1}{r_A} + \frac{1}{r_B} \right)}$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando favorecer a clareza dos resultados obtidos o item Resultados e discussão foi desenvolvido em tópicos.

5.1 Qualidade e caracterização do composto pré e pós- colheita

5.1.1 Análise de carbono

Observou-se que o conhecimento sobre o teor de carbono é fundamental para o planejamento e o desenvolvimento dos cultivos de *P.ostreatus*. Grande parte dos métodos que determinam o teor de carbono foi desenvolvida para a quantificação deste elemento em solos, o que torna a determinação do teor de carbono total em resíduos orgânicos um desafio. A literatura aponta para possibilidade de determinação dos teores de C mediante as adaptações dos métodos aplicados para análise em solos (CASTILHOS et al., 2008; MELO et al ., 2008; RODELLA; ALCARDE, 1994). A Tabela 13 e 16 apresentam os valores do teor de carbono nas formulações F1 e F2 de várias fases de produção do substrato, determinados por diferentes métodos. Visando legitimar os resultados obtidos e avaliar o melhor método para determinação de carbono nas formulações F1 e F2 procedeu-se análises estatísticas de acordo com o indicado nas tabelas 14 e 15 (para formulação F1) e 17 e 18 (para formulação F2).

Tabela 13. Teores de carbono quantificado por diferentes métodos durante as fases da compostagem (Formulação F1).

Método utilizado	Pilha		Túnel		Exaurido	
	1º dia	5º dia	2º dia	6º dia	SB*	MB*
Analisador elementar	41,33	42,72	42,87	41,58	29,05	33,69
Walkley & Black	48,99	49,34	48,91	49,28	48,25	48,09
Cinzas f.c. coco	45,91	47,08	46,84	45,29	29,76	36,10
Cinzas f.c. solo	53,26	54,62	54,34	52,54	34,53	41,88
Cinzas f.c. composto	51,02	52,32	52,04	50,32	33,07	40,11

Todos os valores acima são médias da triplicata executada

*valores dos compostos exauridos das linhagens *P. ostreatus* SB e MB, esses compostos foram obtidos ao final da frutificação. O cultivo ocorreu no período de 16/03/2015 a 18/05/2015.

Tabela 14. Análise estatística sobre a quantificação de carbono da formulação F1 referentes à etapa de produção de composto (pilha, túnel) e exaurido inoculados com as linhagens de *P. ostreatus* SB e MB.

Método	Média*	DP	G.L	Estatística H
CNHOS	38,54	5,7763	4	19.2473 ^(**)
YB	49,17	0,3268		
F.c. Coco	42,34	2,9837		
F.c. Solo	49,12	3,4608		
F.c. Compostado	47,04	3,3120		

Todos os valores acima são médias da triplicata executada

*Média das etapas pilha, túnel e exaurido visando avaliar a diferença entre as técnicas.

** Significativo ao nível de 1%.

CNHOS- analisador elementar

YB- Yeomans & Bremner

Fc- Fator de correção

Tabela 15. Análise estatística sobre a quantificação de carbono aplicando-se o teste Student-Newman-Keuls (Formulação F1).

Análise de carbono F1	Resultado
CNHOS	5.1667 b
Yeomans & Bremner	21.6667 a
Cinzas f.c. coco	9.8333 ab
Cinzas f.c. solo	23.8333 a
Cinzas f.c. compostado	17 ab

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Student-Newman-Keuls.

CNHOS- analisador elementar

YB- Yeomans & Bremner

Fc- Fator de correção

Tabela 16. Análise estatística sobre a quantificação de carbono da formulação F2 referentes à etapa de produção de composto (pilha, túnel) e exaurido inoculados com as linhagens de *P. ostreatus* SB e MB.

Método utilizado	Pilha		Túnel		Exaurido	
	1º dia	5º dia	2º dia	6º dia	SB*	MB*
Analizador elementar	41,32	39,46	40,88	41,10	41,89	45,97
Walkley & Black	49,54	49,15	49,01	49,13	41,68	44,53
Cinzas f.c. coco	44,52	44,02	44,77	43,66	38,17	38,89
Cinzas f.c. solo	51,64	51,07	51,94	50,66	44,29	45,11
Cinzas f.c. composto	49,46	48,91	49,74	48,52	42,42	43,21

Todos os valores acima são médias da triplicata executada

*valores dos compostos exauridos das linhagens *P. ostreatus* SB e MB, esses compostos foram obtidos ao final da frutificação. O cultivo ocorreu no período de 01/05/2015 a 03/07/2015.

Tabela 17. Análise estatística sobre a quantificação de carbono da formulação F2 referentes à etapa de produção de composto (pilha, túnel) e exaurido dos compostos inoculados com as linhagens de *P. ostreatus* SB e MB.

Método	Média	DP	G.L	Estatística H
CNHOS	41,77	2,2106		
YB	49,17	0,3268		
F.c. Coco	42,34	2,9837	4	17.6817 ^(**)
F.c. Solo	49,12	3,4608		
F.c. Compostado	47,04	3,3120		

*Média das etapas pilha, túnel e exaurido visando avaliar a diferença entre as técnicas.

** Significativo ao nível de 1%.

CNHOS- analisador elementar

YB- Yeomans & Bremner

Fc- Fator de correção

Comparação entre os valores médios observados, pelo teste de Student-Newman-Keuls, para os parâmetros avaliados, em função das diferenças apresentadas:

Tabela 18. Análise estatística mediante o teste Student-Newman-Keuls dos teores de carbono dos diferentes materiais da Formulação F2.

Análise de carbono F2	Resultado
CNHOS	6,8333 b
Yeomans & Bremner	21,6667 ac
Cinzas f.c. coco	8,5 ab
Cinzas f.c. solo	23,5 c
Cinzas f.c. compostado	17 abc

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Student-Newman-Keuls.

As Tabelas 13 e 16 rejeitam que os teores de carbono apresentaram variações mais expressivas, sobretudo, quando é realizada a comparação entre as fases inicial e final da compostagem. A Tabela 13 (Formulação1, F1) apresenta maior diferença entre o teor inicial e final de carbono, sendo os valores de carbono finais mostraram-se menores quando comparados com os valores referentes à formulação F2 (Tabela 16). A tabela 14 e 17 aponta para diferenças muito significativas do ponto de vista estatística sendo a correlação entre os tratamentos mostrados na tabela 15 e 18, de acordo com o teste de Student-Newman-Keuls. Verifica-se que os teores de Carbono nas fases de Pilha e Túnel permanecem similares, sendo esses valores modificados após a inoculação devido ao desenvolvimento do fungo no substrato, pois este é responsável pela biodegradação da matéria presente no substrato. Segundo Sanchez-Monedero et al. (2010), a partir da determinação do C em resíduos orgânicos é possível prever o grau e a velocidade de decomposição.

Os substratos referentes à formulação F1 e F2 apresentam ainda modificações visuais ao longo do período de cultivo. Essas modificações dizem respeito ao aroma, compactação dos substratos e aparecimento de promórdios. Tais modificações possuem relação com a diminuição do teor de carbono, pois após a pasteurização, antes de ser inoculado, inicia-se o processo de humificação. Zech et

al., (1997) sugerem que a humificação é o processo microbiológico, controlado por variáveis específicas tais como temperatura, umidade, pH e disponibilidade de nutrientes. As principais transformações que ocorrem durante a humificação, são a perda de polissacarídeos e compostos fenólicos, modificação das estruturas de lignina, e enriquecimento em estruturas aromáticas recalcitrantes.

Os teores de carbono indicados nas tabelas 13 e 16 possuem valores que variam de 39-50% durante as fases de pilha e túnel, sendo estes valores menores ao final do processo de cultivo, variando de 29 -45% entre os compostos exauridos. Todas as formulações são compostas por materiais lignocelulósicos sendo a maior parte do volume composta de *Brachiaria* sp., utilizado em formulação com bagaço ou pó de coco composto. Prado (2008) estima que o teor de carbono presente na matéria seca das plantas é de 42%. Avice et al. (1996) registraram em seu estudo utilizando plantas de alfafa, valores de até 58% de carbono. Vilela (2009), analisando teores de carbono para capim elefante e bagaço de cana de açúcar, registraram de 41,2 e 46,7% respectivamente. Monteiro et al. (2002) quantificaram valores de 43,29% de carbono para *Brachiaria brizantha* e 44,49% para *Brachiaria decubens*. Os valores observados na literatura são próximos aos valores encontrados nas análises executadas e registradas nas tabelas 13 e 16, de forma geral. A comparação entre valores obtidos na literatura e nas análises estatísticas indicam que os resultados obtidos atuam como indicador do melhor método a ser utilizado em cada resíduo. Verificaram-se ainda que as amostras da mesma natureza e composição, quando submetidas a métodos diferentes, possuem variação no teor de carbono entre si. Isto ocorre pelo fato dos métodos possuírem processos diferentes e limitações específicas para cada um deles e, portanto, estão sujeitos a diferentes erros. A composição da amostra e as variações na massa de material aplicadas nos diferentes métodos estão entre os fatores que interferiram diretamente nos resultados obtidos neste estudo. Para Soon e Abboud (1991), as variações entre os métodos refletem a heterogeneidade das amostras e dos métodos analíticos. Para escolher o melhor método analítico de quantificação de carbono, efetuou-se testes estatísticos que estão apresentados nas tabelas 15 a 18.

Ao avaliar a Formulação F1 (Tabela 13, 14 e 15), pode-se inferir que existem diferenças significativas entre análise realizada pelo método do analisador elementar e o de YB. O mesmo foi observado na Formulação F2 (Tabelas 16, 17 e 18). No

método da mufla (Tabela 15), a amostra que apresenta boa correlação para YB na formulação F1, enquanto que para o método de análise elementar, o fator de correção para fibra de coco indica ter maior correlação.

Na formulação F2 (Tabela 18), o método da mufla, com fator de correção para fibra de coco e material compostado, apresenta correlação com os métodos YB e análise elementar, exceto o fator de correção para solo, pois este possui maior correlação com o método YB.

Geralmente, o método de análise elementar é designado como o método padrão para estabelecer a melhor técnica de análise a ser utilizada como rotina analítica. De forma geral métodos automatizados demandam menor quantidade de amostra, empregam reagentes analíticos certificados e de elevada pureza e, por isso, são comumente utilizados como referência. Entretanto, neste caso, o método de análise elementar apresenta valores de C de carbono abaixo do encontrado nos métodos YB e da mufla. As limitações entre os métodos manuais passam pela dificuldade em oxidar todos os carbonatos presentes nas amostras o que dificulta a quantificação real do teor de carbono. Para Rheinheimer et al. (2008), algumas frações do carbono ao longo da marcha analítica para oxidação úmida podem não ser oxidadas, mesmo com o auxílio de aquecimento, proposto no procedimento de Mebius (similar ao YB). Estes mesmos autores, após realizarem comparações entre diferentes métodos de determinação de CO (carbono orgânico), concluíram que o método de Mebius apresentou maior precisão em relação ao WB (método que não utiliza aquecimento) na determinação de COT (carbono orgânico total). Entretanto, os autores postularam haver a subestimação de teores de COT em relação ao método de referência (análise elementar). Para Nelson e Sommers (1996), as frações de carbono mais estáveis não são totalmente oxidadas pelo dicromato, de modo que os métodos que utilizam a oxidação por dicromatometria podem não expressar os reais valores do carbono, subestimando-os, quando comparados ao método de análise elementar. Eusterhues et al. (2003; 2005) indicam que a recalcitrância de frações orgânicas dos resíduos e fatores como a proteção da matéria orgânica por minerais são fatores que dificultam a oxidação pelo método que utiliza dicromato de potássio, como é o caso do YB. Os valores encontrados na análise elementar são também inferiores aos encontrados pelo método da mufla. Para Miyazawa et al., (2000) e Segnini et al., 2008 demonstraram que o método da mufla superestima os resultados quando comparados ao YB e a análise elementar

(também denominada como análise CNHSO). Isto ocorre porque, durante a calcinação (método termogravimétrico), a perda de massa dos componentes da matéria orgânica é associada às diferentes faixas de temperatura. Porém, no presente estudo, os métodos de YB obtiveram boa correlação. O mesmo ocorreu com Miyazawa et al. (2000) e Escosteguy et al. (2007), que obtiveram em seus estudos correlação positiva entre o método gravimétrico e o Walkley & Black, porém os autores verificaram que a oxidação do CO é maximizada pela adição de calor e, se a reação ocorre sob refluxo, aumenta-se a sua eficiência tornando desnecessária a utilização de fatores de correção, comumente utilizados no método Walkley & Black. De igual maneira, Nascimento et al. (2010), ao compararem os métodos para determinação de carbono, demonstraram que os solos com alto teor de matéria orgânica apresenta melhores resultados mediante aquecimento. Desta forma, se aumentou a oxidação de carbono, semelhante ao método de perda por ignição (mufla) tendo WB como referência.

De forma geral, todos os valores obtidos no método de combustão seca estiveram abaixo dos teores obtidos por outros métodos realizados. Neste caso, a alta heterogeneidade dos materiais e umidade são fatores que podem ter influenciado os resultados obtidos. Portanto, os teores de carbono detectados neste estudo pela análise elementar mostraram-se insatisfatórios. Santos (2006) afirma em sua pesquisa sobre solo e lodo de esgoto que, pela análise elementar, os resultados são incompatíveis com o tipo de material analisado, pois comportamentos como diminuição linear do teor de carbono das amostras de solo ao longo do perfil e aumento nos teores de carbono nos solos submetidos à adição de lodo de esgoto, não foram rejeitados claramente nos resultados adquiridos por esse método. Para Segnini et al. (2008), os resultados insatisfatórios para o método de combustão seca devem-se ao fato do método utilizar pequenas quantidades de amostra se comparado aos outros métodos, influenciando na sua representatividade frente a amostras heterogêneas. Contudo, esse método é de grande relevância e fornece resultados satisfatórios quando amostras a serem analisadas apresentam maior homogeneidade.

Desta forma, acredita-se que o método de análise elementar neste caso subestimou os resultados referentes ao teor de carbono presente nas amostras. Diante disso, verificou-se que o método de combustão seca apresentou valores insuficientes quando comparados com a literatura e a outros métodos vigentes.

Diante do panorama apresentado para caracterização química considerou-se o método de YB e o método por ignição em mufla.

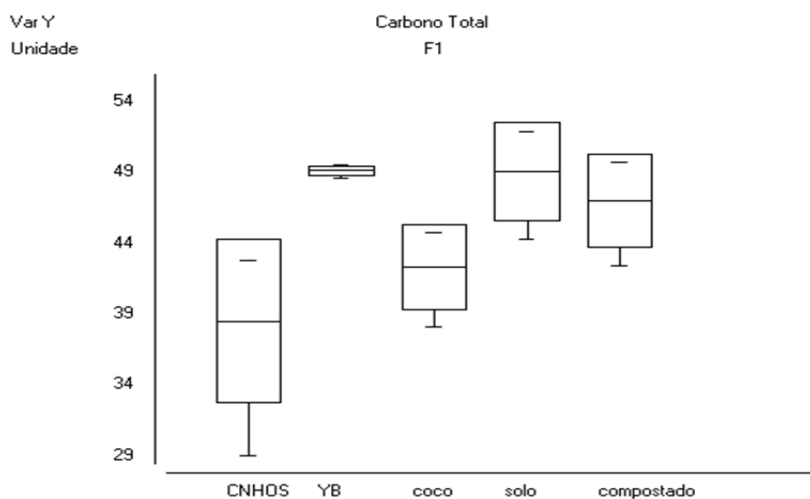


Figura 9. Box-Plot referente aos diferentes métodos de determinação de Carbono total na formulação F1.

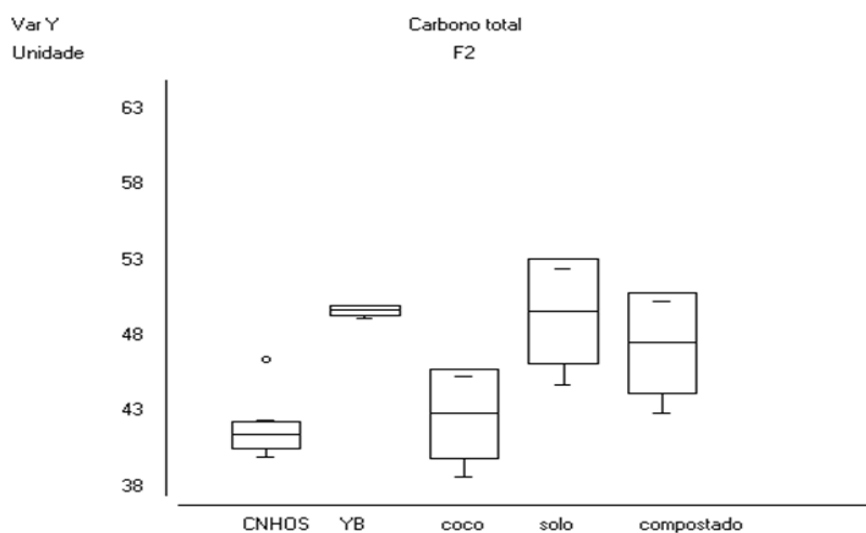


Figura 10. Box-Plot referente aos diferentes métodos de determinação de Carbono total na formulação F2.

Os Box-Plots acima ilustram as diferenças do ponto de vista estatístico entre a determinação as técnicas aplicadas. É possível observar a clara diferença entre o método de análise elementar e os demais métodos, sendo o método de análise elementar tendo maior correlação com método para fibra de coco.

5.2 Formulação dos substratos propostos

Diante da necessidade de estabelecer formulações diferentes para desta forma testar a influência da composição destas para a produção de cogumelos, foram apresentadas a composição e a relação C/N nas matérias primas. Assim, os materiais, formulação e a relação C/N das formulações F1 e F2 são apresentadas nas tabelas 19 e 20, respectivamente.

Tabela 19. Porcentagens de C e N, relação C/N das matérias primas utilizadas no preparo de substratos de cultivo de *P. ostreatus* (formulação 1, F1). Sendo os valores de carbono referentes a duas técnicas de determinação de C orgânico total.

Materiais	%N	%C**	C/N	%C***	C/N
Capim braquiária	0,56	49,40	87/1	52,75	83/1
Bagaço de cana de açúcar	0,25	49,47	195/1	53,70	192/1

Os métodos utilizados foram: * *kjeldahl*, ** Yeomans & Bremner (modificado), ***mufla

Tabela 20. Porcentagens de C e N, relação C/N das matérias primas utilizadas no preparo de substratos de cultivo de *P. ostreatus* (formulação 2, F2).

Materiais	%N	%C**	C/N	%C***	C/N
Capim braquiária	0,37	48,74	133/1	52,28	126/1
Pó de coco composto	0,23	49,46	219/1	48,21	185/1

Os métodos utilizados foram: * *kjeldahl*, ** Yeomans & Bremner (modificado), ***mufla

O reaproveitamento dos resíduos lignocelulósicos para aplicação na fungicultura é uma maneira de tornar a produção de cogumelo viável e de baixo custo. Por este motivo, as matérias primas escolhidas foram em sua grande maioria resíduos agroindustriais. Muitos autores em seus trabalhos mostram a viabilidade do uso de resíduos oriundos da agricultura que são produzidos de maneira representativa em locais próximos a produção de cogumelos. Para Bernardi et al. (2007), o cultivo de *Pleurotus* sp. tem sido realizado em substratos ou compostos à base de resíduos celulósicos ou lignocelulósicos. Estes autores afirmam ainda que o complexo enzimático destes fungos permite que estes se nutram e produzam corpos de frutificação a partir de resíduos nutricionalmente pobres.

Segundo Rajarathnam; Bano (1988), a eficiência na bioconversão energética do substrato orgânico utilizado no cultivo de cogumelos é superior a várias fontes convencionais de proteína vegetal ou animal. Autores apontam ainda para o uso de vários resíduos lignocelulósicos tais como palha de bananeira (INFORME

CONJUNTURAL, 1999), resíduo de laranja (ALEXANDRINO, 2007), infusão de erva mate e farelo de arroz (KOHARI, 2000), casca e borra de café (FAN et al., 2000; OLIVEIRA, 2007), casca e serragem de coco (MARINO et al., 2008), bagaço de cana-de-açúcar (MENEZES et al., 2009). Outros (KUMARI; ACHAL, 2014; NIGAM e SINGH, 1996; PATRABANSH; MADAN, 1997; TONINI, 2007) afirmam que o cultivo de cogumelos comestíveis a partir de resíduos agroindustriais tem se revelado uma alternativa para melhor aproveitamento desses resíduos, uma vez que ao final do cultivo obtém-se, por um lado, um produto de valor nutricional e gastronômico que são os cogumelos e, por outro, um resíduo com grande potencial de aplicação na ração animal, uma vez que já foi parcialmente digerido pelo complexo enzimático lignocelulolítico do fungo.

5.3 Caracterização de substrato

Tabela 21. Caracterização do composto, ao longo da compostagem (fase I e fase II) e da biomassa exaurida (formulação F1).

Localização da amostra	Umidade (%)	pH	Cinzas	%NT*	%COT**	C:N	%CT***	C:N
Pilha 1º dia	74,60	8,00	8,10	0,88	48,99	56/1	54,26	62/1
Pilha 5º dia	68,83	7,90	5,80	0,87	49,34	57/1	54,62	63/1
Túnel 2º dia	78,17	7,94	6,30	0,80	48,91	61/1	54,34	68/1
Túnel 6º dia	79,47	7,93	9,40	0,91	49,28	54/1	52,54	58/1
Exaurido SB	84,37	6,80	40,46	1,00	48,25	48/1	34,53	34/1
Exaurido MB	83,86	6,90	27,79	1,19	48,09	41/1	41,88	35/1

NT – Nitrogênio total

COT- Carbono orgânico total

CT- carbono total

Os métodos utilizados foram: * *kjeldahl*, ** Yeomans & Bremner (modificado), ***mufla

Tabela 22. Caracterização do composto ao longo da compostagem (fase I e fase II) e da biomassa exaurida (formulação F2).

Localização da amostra	Umidade (%)	pH	Cinzas	%NT*	%COT**	C:N	%CT***	C:N
Pilha 1º dia	64,75	7,62	10,96	0,63	49,54	79/1	51,65	82/1
Pilha 5º dia	64,77	7,64	11,95	0,62	49,15	79,1	51,07	83/1
Túnel 2º dia	77,06	7,34	10,45	0,62	49,01	79,1	51,94	83/1
Túnel 6º dia	77,15	7,74	12,66	0,77	49,07	64,1	50,66	65/1
Exaurido SB	80,00	6,70	23,64	0,89	49,13	54,1	44,29	50/1
Exaurido MB	82,21	7,00	22,21	0,93	49,68	53/1	45,11	48/1

NT – Nitrogênio total

COT- Carbono orgânico total

CT- carbono total

Os métodos utilizados foram: * *kjeldahl*, ** Yeomans & Bremner (modificado), ***mufla

Tabela 23. Análises estatísticas de comparação das amostras com diferentes formulações.

Fator de variação	G. L.	Umidade	Cinzas	Nitrogênio	Carbono
F1xF2 (pilha)	1	8,3077 (**)	8,3077 (**)	8,3077 (**)	0,2308 (ns)
F1xF2 (túnel)	1	7,4103 (**)	7,4103 (**)	5,7692 (*)	0,2308 (ns)
F1xF2 (exaurido)	1	8,3077 (**)	8,3077 (**)	8,3077 (**)	3,6923 (ns)

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

F1- Formulação 1

F2- Formulação 2

As tabelas 21 e 22 mostram a caracterização dos substratos decorrente do seu preparo nas etapas inicial e final, e evidenciam que os mesmos apresentam grande heterogeneidade. Esta heterogeneidade deve-se ao uso de diferentes matérias primas para cada formulação e as características de cada componente, tendo em vista que cada material apresenta densidade e composição diversa, por se tratar de gramíneas, folhas fibras de frutos dentre outros.

A composição destes materiais torna propícia a produção de cogumelos ao longo do processo, ainda que sejam observadas mudanças sutis sobre a relação C/N do substrato. Estas mudanças são resultado de um processo de compostagem curta, no qual não há necessidade de biotransformação profunda da matéria orgânica, tendo em vista que o composto foi preparado especificamente para o cultivo de *P. ostreatus*. Para Eira (2000), substratos in natura com relação C/N maiores que 100/1 podem ser utilizados para produção de *P. ostreatus*; padrões de substrato com relações mais estreitas, entre 15 e 25, podem ser usados quando o sistema de produção garante condições de cultivo axênicas.

Considera-se como fundamental a umidade e cinzas. Estes fatores são importantes para estimar o teor e a massa de água que deve ser aplicada no substrato. Verificou-se que em ambas as formulações propostas os materiais sofrem alguma hidratação após a passagem no túnel de pasteurização. Isto ocorre devido a taxa de condensação de vapor de água dentro da câmara; esta condensação escorre pelas laterais do túnel e é absorvida pela massa de substrato aumentando, assim, o teor de umidade. A taxa de cinzas também é um fator que influencia diretamente na taxa de umidade de substrato.

As Tabelas 21 e 22 revelam que o composto possui diferenças químicas significativas entre as fases inicial e final. Os valores de pH apresentam valores iniciais entre 6,8 a 8,0. Chang, (2008) afirma que o pH ótimo para substrato inicial de cultivo deve ser entre 6,8-8,0. O composto exaurido apresenta leve acidificação do meio ao longo do cultivo.

De acordo com as Tabelas 21 e 22, as relações C/N tornam-se mais estreitas devido à degradação da matéria orgânica, transformação e produção de proteína no meio ocasionado pelo crescimento do micélio do fungo. As taxas de cinzas apresentam aumento quando comparadas ao substrato inicial, sendo que o resultado do acúmulo de cinzas no sistema ocorre devido à intensa utilização dos componentes orgânicos e volatilização do carbono em forma de CO₂, produzido no material, e pelo fato dos componentes inorgânicos serem assimilados em menor quantidade, estes acabam excedendo e aumentando em massa no final do cultivo. Do ponto de vista estatístico, as amostras apresentam diferenças significativas entre as amostras para os diferentes parâmetros entre as formulações F1 e F2 exceto para o parâmetro carbono, pois estes não apresentam diferenças significativas. Isto mostra quão variável pode ser o composto.

5.4 Composto exaurido

O composto para produção de basidiomicetos sofre alterações ao longo do desenvolvimento do cultivo havendo, desta forma, modificações entre o substrato inicial e final. Sobre o composto exaurido, foram realizadas análises bromatológicas nas diferentes fases de produção e em duas formulações distintas visando à verificação da viabilidade de utilização do substrato como ração animal. A análise do composto exaurido neste caso visa reaproveitar o material resultante da fungicultura e destina-lo a um aproveitamento que permita um descarte adequado com agregação de valor a um subproduto oriundo do cultivo do cogumelo.

Alguns autores apontam para o reaproveitamento do composto exaurido de cogumelos comestíveis para vários fins. Dentre eles destaca-se: uso do substrato pós-cultivo para ração animal (ORTEGA-CERRILLA et al., 1986; GAMBLE et al., 1994, MACHADO, 2007), fertilizante (WANG et al., 1984; CHANG, 1980; KOHARI, 2000) ou condicionador do solo (WANG, et al., 1984; MIZUNO, 1998).

Sanchez (2010) afirma que, após o crescimento e a colheita dos cogumelos, o resíduo exaurido pode ser utilizado para como adubo ou alimentação animal. O mesmo foi observado por Martinez-Carrera et al., (1998), que declararam que os resíduos lignocelulósicos podem ser reaproveitados após a produção de cogumelos como alimento. O resíduo do composto para produção de cogumelos pode ser direcionado para diversos fins agropecuários gerando renda. Para Mizuno (1998), o composto obtido da produção de cogumelos possui alta degradabilidade e grande quantidade biomassa fúngica resultante do processo de frutificação. Além disso, durante o crescimento dos fungos, são produzidas substâncias, destacando-se polímeros de β -glucanos, conhecidas por sua atuação como estimulantes da atividade imunológica do hospedeiro.

Para Machado (2007), a adição de metabólitos de fungos basidiomicetos em rações tem sido indicada em substituição aos antibióticos na promoção do crescimento animal, em função das substâncias produzidas por estes cogumelos serem capazes de influenciar na microbiota intestinal e o sistema imunológico.

A técnica de compostagem, associada à técnica de fermentação em estado sólido promovida por *P. ostreatus*, permite ainda que o valor nutricional da matéria prima torne-se de melhor qualidade com possibilidade de aplicação na pecuária. Desta forma, a biomassa resultante do processo de produção de duas linhagens de *P. ostreatus* (SB e MB) foi analisada quanto ao seu valor nutricional, em comparação a biomassa pré- colheita. Os resultados obtidos dispostos na Tabela 24.

Tabela 24. Análise nutricional dos componentes gerais da biomassa pré e pós colheita nas formulações F1 e F2.

Parâmetros (%)	Pré-colheita F1	Pós-colheita F1	Pré-colheita F2	Pós-colheita F2
Proteína total	5,40	6,82	4,12	5,73
Cinzas	7,43	34,13	11,51	22,93
Extrato etéreo	0,96	1,41	0,91	2,53
Umidade	75,25	84,12	70,93	71,85

As análises apontam que as diferenças entre as etapas foram significativas , como pode ser observado nas figuras 12, 13, e 14 ,o que faz com que os compostos

exauridos tenham maiores teores de nutrientes, umidade e cinzas o que torna o composto equilibrado para a possível utilização na alimentação de ruminantes.

Observa-se na tabela 24, que os parâmetros possuem diferenças entre os substratos pré e pós-colheita para as duas formulações. A partir da análise dos resultados obtidos, foi possível verificar que o teor de proteína do substrato exaurido sofre aumento. Este incremento protéico foi observado devido ao desenvolvimento micelial no substrato o que favorece a degradação dos materiais lignocelulósicos, produção de proteínas e biomassa fúngica. Este comportamento pôde ser observado nas duas formulações avaliadas.

Segundo Rajarathanam et al. (1992), a eficiência na bioconversão energética do substrato orgânico destinado ao cultivo de cogumelos é superior a várias fontes convencionais de proteína vegetal ou animal. Zadrazil e Kurtzman (1984) observaram haver acréscimo no teor de nitrogênio nos substratos exauridos, no qual aplicou-se como suplementação erva-mate ou erva-mate mais farelo de arroz. Estes autores registraram ainda que as amostras ao final do processo de produção tornam-se mais concentradas nos teores de nitrogênio total, devido principalmente à degradação do substrato e consequente acúmulo na biomassa fúngica.

Observou-se que teores de nitrogênio nas duas formulações dos compostos utilizados mantiveram-se próximas a 1%. Kohari et al. 2000, em seu trabalho com composto de cogumelo comestível, afirmam que os teores de nitrogênio total do substrato exaurido variaram de 0,23 a 0,89%. Para Kiehl (1985), valores abaixo de 1%, são definidos como muito baixos para substrato exauridos, tendo em vista o elevado grau de degradação deste composto. Ribeiro et al. (1999) afirmam que compostos orgânicos devem apresentar em média de 1,4% de nitrogênio, porém estes podem variar de acordo com a sua origem.

A conversão de nitrogênio em proteína bruta de acordo com o fator de correção citado no tópico para determinação de nitrogênio (4.2.1.4.) total foi de 6,25, verifica-se que os valores de nitrogênio previstos para compostos exauridos obtidos neste trabalho estão de acordo com as afirmações da literatura considerando que a maior massa nestas amostras refere-se ainda ao material lignocelulósico.

Ao analisar os demais parâmetros avaliados, verificou-se igual comportamento registrado para os teores de proteína em relação ao teor de cinzas. A tabela 24 mostra que o composto final sofre aumento no teor de cinzas quando comparado ao composto inicial, como registrado nas duas formulações propostas. A

Tabela 24 mostra que o substrato final chega a ter duas ou três vezes mais cinzas quando comparado ao substrato inicial. Isto confirma a importância do fungo colonizador do substrato como promotor da degradação do material vegetal. À medida que o composto vai sendo exaurido em seus nutrientes orgânicos pela respiração microbiana, os minerais tendem a aumentar a concentração, e vão acumulando-se no substrato.

Quanto aos teores de extrato etéreo, a Tabela 24 registra um incremento ao fim do processo quando os substratos finais tornam-se mais ricos em lipídeos quando comparados com os substratos iniciais para as duas formulações propostas. O composto exaurido apresentou pequeno aumento no teor de lipídeos totais, que pode estar diretamente ligado à natureza do material avaliado. As matérias primas aplicadas para produção de cogumelos possuem menores teores lipídicos da mesma forma que a biomassa fúngica apresenta baixos índices lipídicos. Desta maneira, por maior que seja a biomassa fúngica presente no substrato, este parâmetro não indica altos valores lipídicos. Para Marin et al. (2003), os ruminantes têm baixa tolerância aos altos níveis de óleo na dieta, devido à ação inibitória que estes exercem sobre as bactérias fibrolíticas, provocando diminuição da digestibilidade da fibra. Desta maneira, o baixo teor do composto exaurido indica a possibilidade de que este seja aplicado na alimentação de ruminantes.

Quanto à umidade, esta sofreu aumento quando se comparou os substratos iniciais e finais. A formulação A e B ao final do processo apresentou maior quantidade de água devido ao processo de hidrólise principalmente da matéria orgânica. A umidade apresentada pelo composto exaurido pode ser submetida à secagem caso seja necessário armazenamento ou utilização em formulações de rações.

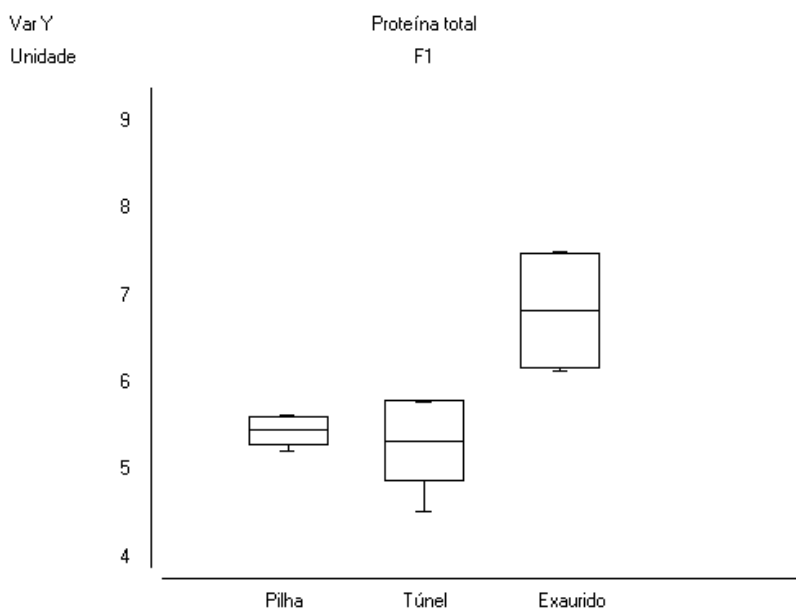
Os resultados referidos nos teores de cinzas e umidades estão de acordo com Peixoto (1997), pois este afirma que a decomposição da matéria orgânica compreende dois processos básicos: a mineralização e a humificação. Na mineralização, os nutrientes são transformados da etapa orgânica para a inorgânica, tornando-se assim prontamente disponíveis. Na humificação, as frações orgânicas como proteínas, celulose, hemicelulose e lignina, sofrem transformações perdendo as características dos seus grupos funcionais originais em outros grupos ativos. Para Kiehl (2002), o resultado da transformação de lignocelulósicos gera dois importantes componentes: os sais minerais, e o húmus, podendo ser estes aplicados

na agropecuária. Para Maziero (1990), existe uma gama de materiais que podem ser utilizados como matéria prima para agropecuária, sendo sua composição química dependente do tipo e origem do material, variando de acordo com a região e a época.

Alguns autores (NIGAM; SINGH, 1996; PATRABANSH; MADAN, 1997) afirmam que o cultivo de cogumelos comestíveis a partir de resíduos agroindustriais tem se revelado uma alternativa para melhor aproveitamento desses resíduos, uma vez que, ao final do cultivo, obtém-se por um lado um produto de valor nutricional e gastronômico, os cogumelos, e, por outro, um resíduo com potencial de aplicação em formulações para ração animal.

As análises estatísticas estão apresentadas nos Box-plots (Figuras 12, 13 e 14). Os Box-Plots ilustram as diferenças entre os parâmetros: proteína bruta total, cinzas e extrato etéreo obtido após as análises dos substratos das formulações F1 e F2 na pilha, túnel e substrato exaurido.

(A)



(B)

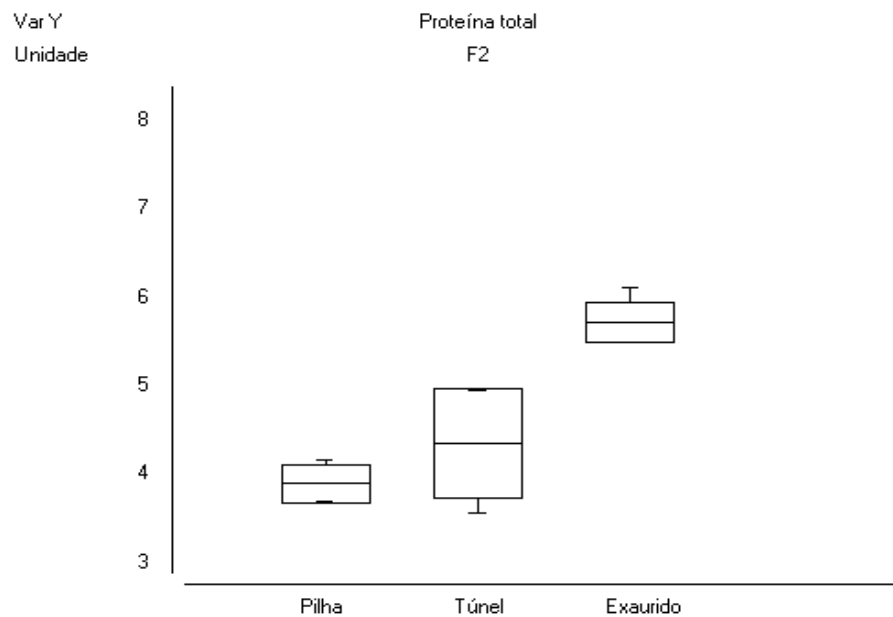
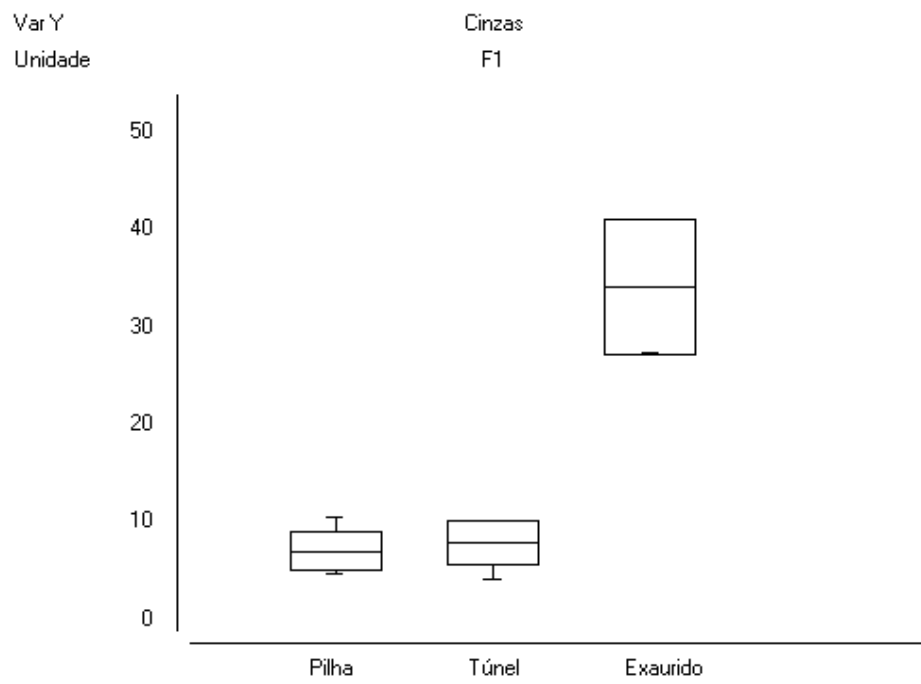


Figura 11. Box-plots referentes às diferentes etapas de produção do substrato para o desenvolvimento de *Pleurotus ostreatus* quanto aos teores de proteína total nas formulações F1 e F2.

Os Box-plots acima (Figura 12 A e B), apresentam as diferenças significativas entre os substratos nas fases iniciais (pilha e túnel) e o composto exaurido. É possível observar a maior correlação entre os substratos na fase inicial e final. As imagens mostram o incremento protéico que ocorre no material exaurido quando em comparação ao substrato inicial. Foi possível observar esse comportamento nas formulações F1 e F2.

(A)



(B)

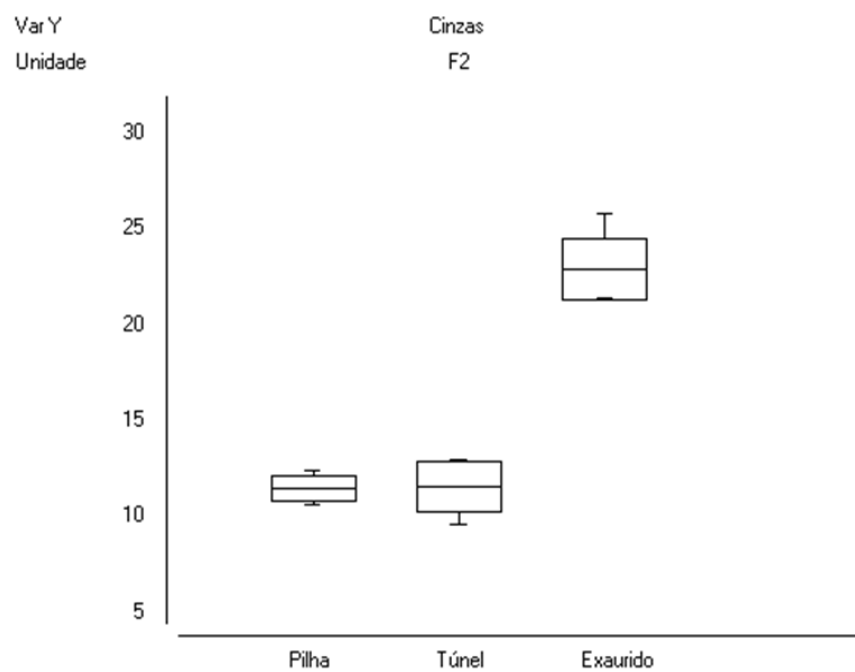
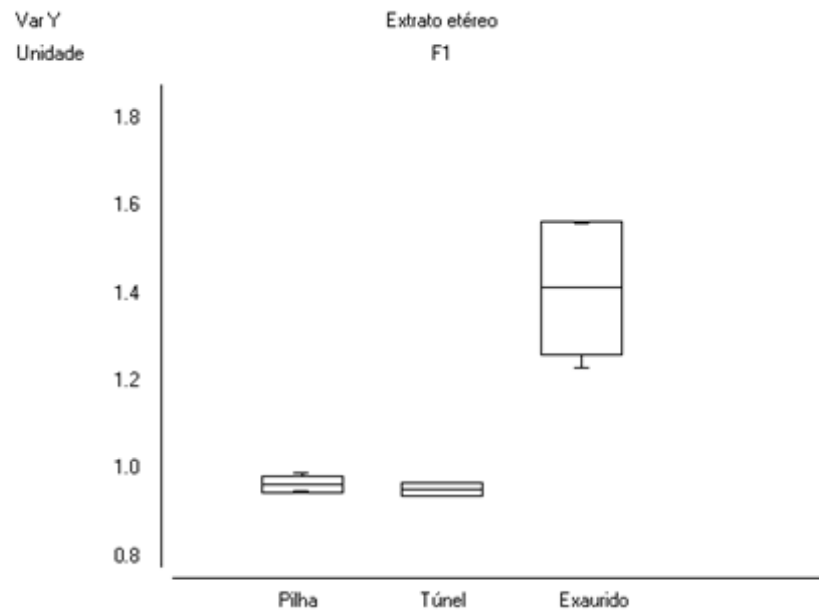


Figura 12. Box-plots referentes às diferentes etapas de produção do substrato para o desenvolvimento de *Pleurotus ostreatus* quanto aos teores de cinzas nas formulações F1 e F2.

Os Box-plots referentes à Figura 13. A e B. Mostram as diferenças o incremento significativo do teor de cinzas ao final do processo quando comparado com o substrato nas diferentes etapas de preparação do composto (pilha e túnel). Diferenças muito significativas quanto ao teor de cinzas diante da comparação entre o substrato inicial e final podem ser observadas nas formulações F1 e F2.

(A)



(B)

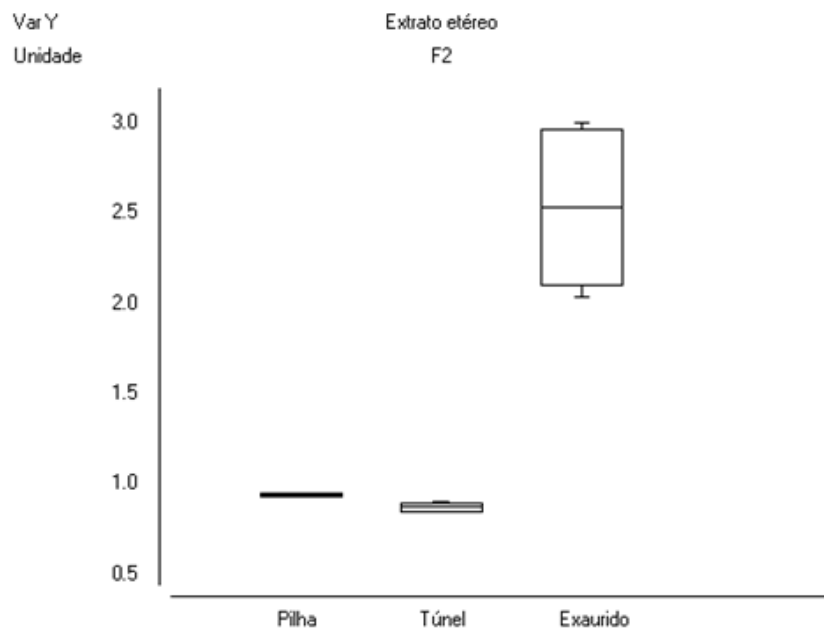


Figura 13. Box-Plots referentes às diferentes etapas de produção do substrato para o desenvolvimento de *Pleurotus ostreatus* quanto aos teores de extrato etéreo nas formulações F1 e F2.

5.4.1 Qualidade de proteína

Visando a utilização da biomassa pós-colheita na alimentação de ruminantes, foi realizada a análise da qualidade de proteína do composto inicial e final, com o objetivo de avaliar o seu VNR (Valor Nutricional Relativo).

A qualidade de proteína existente no substrato foi determinada pelo método microbiológico, utilizando *Enterococcus zymogenes*. Para Marin et al. (2003), a determinação da digestibilidade é uma forma de se avaliar a qualidade de um alimento. De acordo com Boscolo et al. (2002), a determinação do VNR permite produzir formulações que atendam as necessidades de animais e humanos. Segundo Cardoso et al. (2000), a avaliação do VNR é importante na busca por ajustar a quantidade e qualidade da dieta baseando-se nas exigências dos animais. Marin et al. (2003) afirmam ainda que avaliar o valor nutritivo dos alimentos é um desafio constante, sendo necessário conhecer as características e composição química dos mesmos para garantir a formulação de dietas balanceadas que atendam as necessidades dos animais usuários. Desta forma, estes animais podem, mediante a alimentação adequada, atingir todo seu potencial genético pelo aproveitamento da dieta consumida. Nos diferentes materiais analisados, os valores de VNR obtidos nos compostos inicial e final estão apresentados na Tabela 25.

Tabela 25. Teores de Valor Nutritivo Relativo das amostras de substratos e estatística H obtidos mediante o teste de Kruskal – Wallis.

Localização da amostra	VNR (%)*	DP	G.L.	Estatística H
Pilha 1º dia (F1)	11,54	0,0957	5	22,4586 (**)
Pilha 1º dia (F2)	7,69	0,0815		
Exaurido SB (F1)	65,38	0,0616		
Exaurido MB (F1)	52,60	0,0826		
Exaurido SB (F2)	61,54	0,5165		
Exaurido MB (F2)	53,85	0,0781		

**significativo ao nível de 1%, * caseína 100%

Tabela 26. Análise estatística sobre a quantificação de carbono aplicando-se o teste Student-Newman-Keuls (Formulação1, F1).

Localização da amostra	Resultado
Pilha 1° dia (F1)	8.0000 ab
Pilha 1°dia (F2)	3.0000 a
Exaurido SB (F1)	28.0000 c
Exaurido MB (F1)	13.0000 abc
Exaurido SB (F2)	23.0000 bc
Exaurido MB (F2)	18.0000 abc

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Student-Newman-Keuls.

Os valores expressos na tabela 25 registraram que as amostras referentes ao substrato no início do tratamento (Pilha 1° dia F1 e Pilha 1° dia F2) possuem baixos valores de VNR em comparação ao substrato das amostras correspondentes ao substrato pós-frutificação (amostras Exaurido SB/MB F1 e Exaurido SB/MB F2). A tabela 25 mostra que os valores de VNR do composto final aproximam-se do VNR da caseína quando em comparação ao composto inicial, o que indica a alta qualidade da proteína obtida ao final deste composto. Miranda (2014) afirma em seu estudo que altos teores de VNR são importantes para determinar a qualidade da proteína existente na amostra, tendo em vista que o VNR é determinado a partir da comparação com o valor da caseína, sendo esta utilizada como referência, por possuir VNR igual a 100%. Sendo desta maneira a maior aproximação do VNR entre a amostra e a caseína resultado de maior qualidade proteica do substrato.

Avaliou-se ainda os compostos exauridos colonizados por diferentes linhagens de fungo, no qual foi observados comportamentos diversos. Os compostos colonizados pela linhagem *Pleurotus ostreatus* SB apresentou maior NVR quando esta linhagem foi inoculada nas formulações F1 e F2, com valores de 65,38 e 61,54%, respectivamente; enquanto que a linhagem MB apresentou valores mais baixos, de 52,60 e 53,85%, respectivamente. Neste caso, a formulação não influenciou diretamente na qualidade proteica obtida. A partir destes dados, pôde-se inferir que a escolha da linhagem, no caso estudado, interfere na digestibilidade do material final sendo este expresso a partir do valor nutritivo relativo. Os resultados

obtidos estão de acordo com o descrito por Miranda (2014), onde amostras não fermentadas apresentam baixo VNR, em relação a amostras fermentadas por fungos filamentosos. Em seu estudo Miranda (2014) obteve VNR de 8,43% para folha de farinha de mandioca e 7,23% para farinha de bagaço de mandioca não fermentado, sendo o Valor Nutricional Relativo apresentado ao final da fermentação de 31,33% e 19,28% respectivamente. Morales (2012) registrou em seus estudos com bagaço e folha de mandioca que o método microbiológico apresentou variações significativas quando comparou o VNR de amostras (formulação de bagaço de cana e bagaço de mandioca) pré e pós-fermentação. O mesmo autor registrou que obteve ainda resultados de maior interesse quando utilizou a formulação composta por farinha de bagaço de mandioca + 32% de folha de farinha de mandioca. Esta formulação a inoculação e desenvolvimento de fungos filamentosos apresentou VNR de 23,46% quando comparado ao da caseína. Contudo, após o tratamento térmico e a fermentação do material, ficou evidente a melhora da disponibilidade do substrato ao microrganismo, obtendo-se aumento cinco vezes em relação a amostras não fermentadas.

5.5 Produção

5.5.1 Pasteurização

Para se garantir a qualidade do composto para a produção de cogumelos, foi realizado, imediatamente após compostagem, o processo de pasteurização. Para Denham (1977), os termos pasteurizar, pico de calor, cozinhar ou fase “dois” referem-se ao ato de se manter por um determinado tempo a temperatura do substrato a 60°C através da injeção de vapor fluente e, em seguida, de ar fresco ao final da compostagem. Para este mesmo autor esta etapa objetiva destruir microrganismos e pragas que irão competir com o fungo inoculado. Para que haja sucesso na produção o processo de pasteurização necessita o monitoramento. As figuras 15 e 16 mostram as temperaturas de pasteurização das formulações F1 e F2. As figuras mostram as temperaturas registradas por duas sondas instaladas no material durante a compostagem.

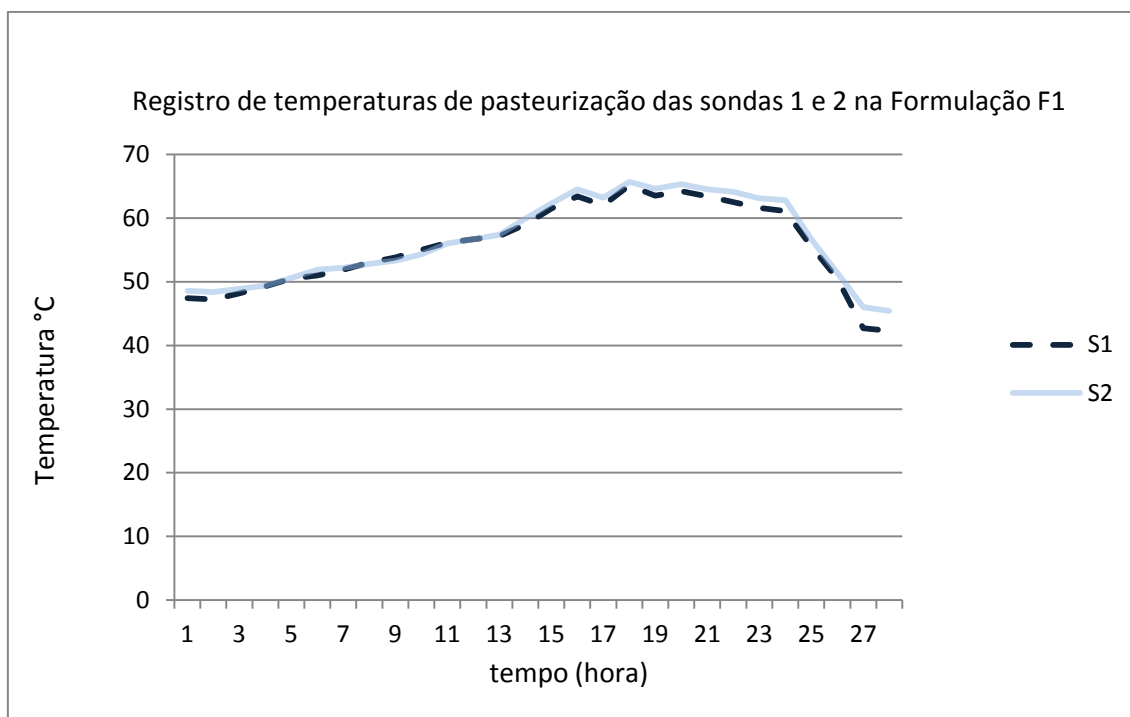


Figura 14. Acompanhamento da temperatura de pasteurização da formulação 1 (F1), durante 28 horas.

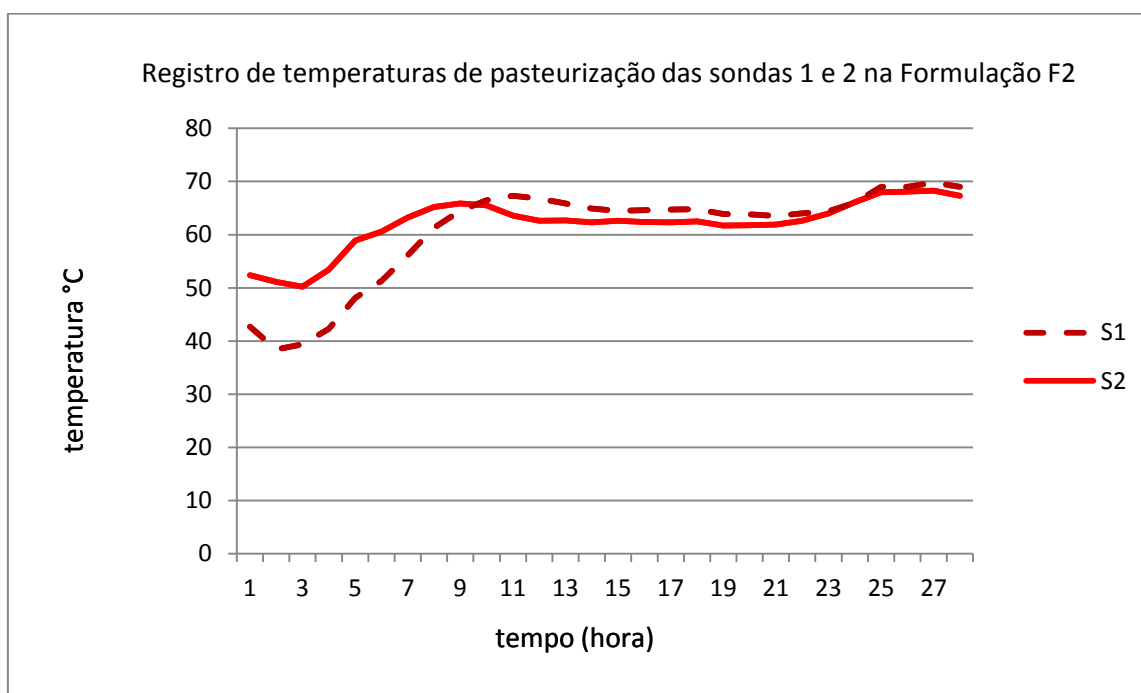


Figura 15. Acompanhamento da temperatura de pasteurização da formulação 2 (F2).

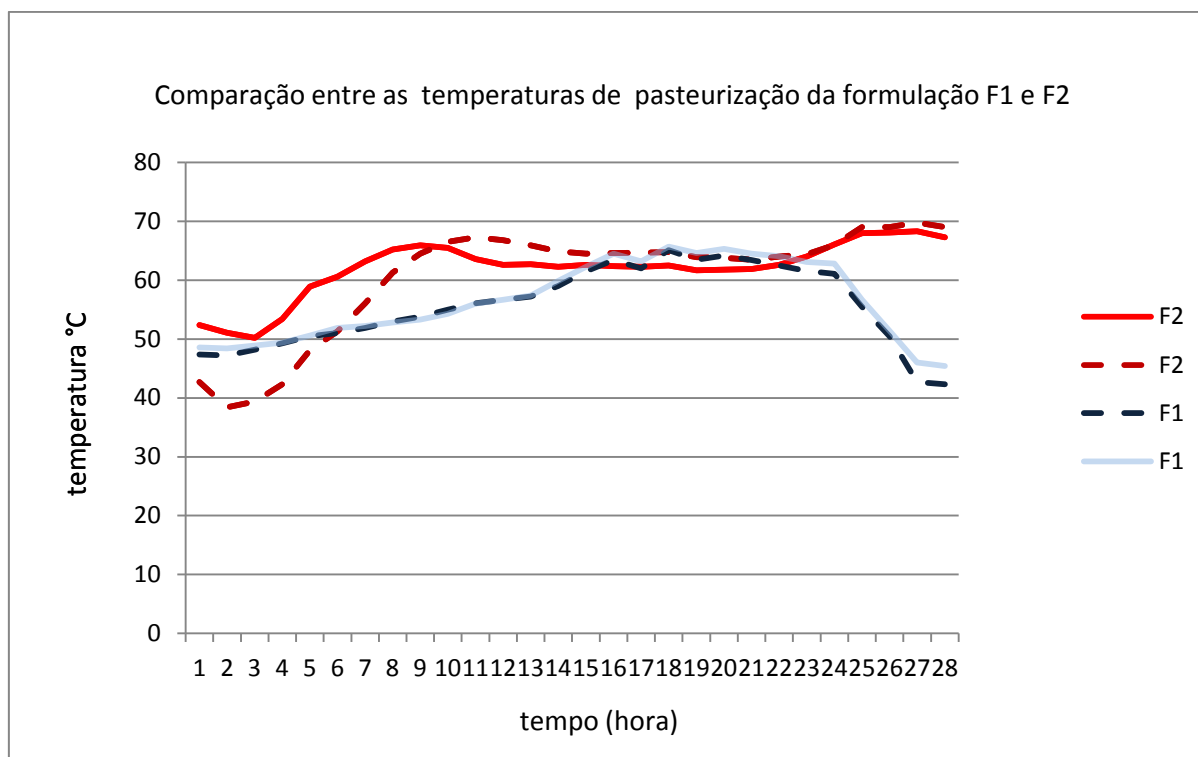


Figura 16. Acompanhamento comparativo da temperatura de pasteurização das formulações F1 e F2.

A pasteurização deve ter regularidade no aumento da temperatura de maneira que os microrganismos presentes e importantes ao processo possam ir adaptando-se, produzindo biomassa e colonizando o substrato. A temperatura de pasteurização interfere na qualidade do substrato final. Verificou-se com o auxílio de uma sonda de temperatura os substratos das diferentes formulações. A comparação entre estas mostrou que a formulação F1, que obteve aumento de temperatura gradual, apresentou maior produtividade quando comparado com a formulação F2 (Figura 17).

Para Kurtzman, Jr., (2010) quando inicia-se a pasteurização o composto ainda tem algum calor remanescente, assim o composto oferece algum calor acumulado em seu interior que auxilia na elevação da temperatura no início da pasteurização. Apesar disso é necessário ainda alguns dias para que todo o substrato alcance temperaturas acima de 60°C. Para este mesmo autor outra dificuldade no processo de compostagem é a formação de bolsões de ar uma vez que estes não são atingidos pelo vapor e desta forma não há garantia que todo material alcance a temperatura de pasteurização.

O calor remanescente é observado nas figuras 15,16 e 17, pois foi observado que o substrato inicia com temperaturas acima de 40°C. As figuras 15, 16 e 17 apresentam ainda temperaturas muito similares quando comparados à mesma formulação de substrato. Isto mostra que os locais no qual foi posicionada a sonda de verificação da temperatura não registrou local de bolsões de ar.

Kurtzman Jr. (2010) afirma que existem discordâncias sobre as condições de pasteurização aplicando-se mais calor do que é necessário. O mesmo autor afirma que para a produção de composto para cogumelo *Pleurotus*, a mistura de ar ao vapor deve ser considerada para manter a temperatura pouco acima de 60°C. Em temperaturas de mistura vapor muito acima, é provável que os microrganismos termófilos benéficos sejam mortos favorecendo a colonização de contaminantes.

5.5.2 Frutificação e produtividade de *P.ostreatus*

As temperaturas médias diárias bem como a umidade relativa média nas estufas durante a frutificação são apresentadas nas figuras 18 e 19. Na figura 18, as temperaturas foram registradas foram referentes ao início e término da colheita (16/03/2015 a 18/05/15), correspondendo à época de outono, período no qual procedeu-se a etapa 1 da produção. A figura 19 apresenta temperaturas que foram registrada no período que correspondeu ao inverno (01/05/2015 a 03/07/2015) no qual procedeu-se a etapa 2 da produção.

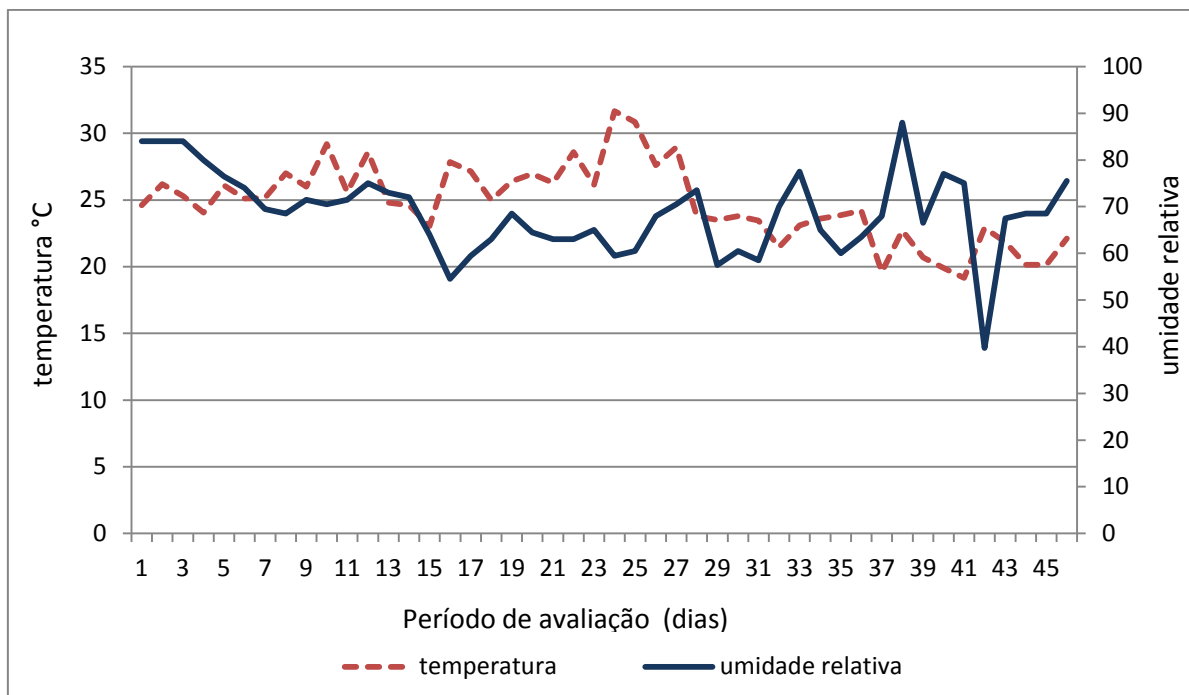


Figura 17. Médias diárias de temperatura e umidade relativa durante o período de frutificação das linhagens de *P. ostreatus* MB e SB em função da composição de substrato na formulação 1 (F1) do substrato.

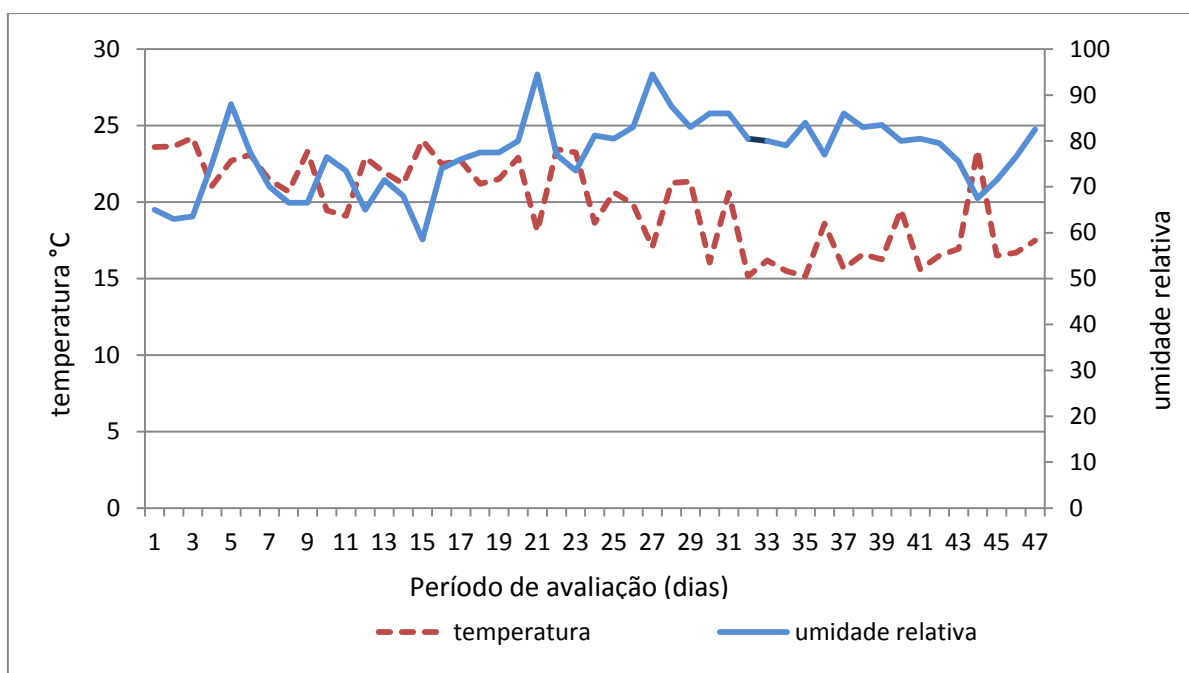


Figura 18. Médias diárias de temperatura e umidade relativa durante o período de frutificação das linhagens de *P. ostreatus* MB e SB na formulação 2, F2 do substrato.

Os fatores temperatura e umidade interferem diretamente na produtividade do fungo. Desta forma, como o cultivo aconteceu em ambiente protegido e na ausência de climatização, estes fatores auxiliaram na elaboração da estratégia

utilizada para o manejo da produção. A determinação do teor de umidade permitiu indicar o uso de estratégias simples para aumento da umidade relativa do ar, como o uso de micro aspersores; enquanto que o monitoramento das temperaturas permitiu avaliar a influência das oscilações climáticas sobre o cultivo. A temperatura constitui um fator importante ao analisar qual a melhor época do ano para a produção de *P.ostreatus*. A figura 18 mostra que as temperaturas nas estufas no período de outono oscilam entre 20-30°C e umidade entre 60-80%, comparando-se com a figura 19, que apresenta temperatura entre 15-25°C e umidade cerca de 70%. De acordo com Cho (2004), o micélio de cogumelos apresenta bom crescimento entre 20 e 30°C, sendo a formação de primórdios favorecida por temperaturas menores entre 10-20°C. Para Kong (2004), a temperatura ideal para colonização deve manter-se em torno de 25°C. A formação de primórdios e frutificação é favorecida por temperaturas entre 10-17°C. CHANG (2008) afirma ainda que a temperatura ótima para a incubação de *Pleurotus sp.* é de 23-28°C sendo a frutificação favorecida em temperaturas 18-24°C.

5.5.3 Fatores de produtividade

Os efeitos do tipo de formulação, da linhagem do fungo ou da interação entre estes dois fatores sobre a massa de cogumelos, produtividade, eficiência biológica, número de cogumelos e massa média por cogumelo foram acompanhados durante os fluxos de colheita. Na tabela 27 encontram-se os valores da estatística H obtidos na análise de variância de dados referentes à massa de cogumelos, produtividade, eficiência biológica, número de cogumelos e massa média de cogumelos. Ao longo deste período, verificou-se o efeito significativo do tipo de formulação, a partir da comparação entre as formulações F1 e F2, (fator A) e da linhagem dos fungos, através da comparação entre as linhagens de *Pleurotus ostreatus* SB e MB, (fator B), e da interação entre os dois fatores, (fator A x B).

Tabela 27. Parâmetros de produtividade relacionado às linhagens de *P. ostreatus* SB e MB (formulação 1, F1).

Linhagem	Produtividade (%)	Eficiência biológica (%)	Número de cogumelos colhidos	Massa média de cogumelos colhidos (g)
SB	14,65	72,58	406	34,64
MB	17,40	86,20	465	35,92

Tabela 28. Parâmetros de produtividade relacionado às linhagens de *P. ostreatus* SB e MB (formulação 2, F2).

Linhagem	Produtividade (%)	Eficiência biológica (%)	Número de cogumelos colhidos	Massa média de cogumelos colhidos (g)
SB	13,79	79,91	481	36,68
MB	13,42	41,39	464	37,02

Tabela 29. Avaliação estatística dos parâmetros de produtividade, eficiência biológica, número de cogumelos e massa fresca média de cogumelos relacionados aos fatores A, B e AxB.

Valor de H					
Fator de variação	G.L.	Produtividade(%)	Eficiência biológica(%)	Número de cogumelos	Massa média de cogumelos
Fator A	1	0,3700 (ns)	0,2876 (ns)	0,1799	1,6344 (*)
Fator B	1	1,2619 (*)	1,4303 (*)	0,862 (*)	0,2874 (ns)
Fator A x B	3	1,6503 (ns)	2,2400 (ns)	1,053 (ns)	1,9874 (ns)

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

Fator A- comparação entre os substratos (formulações F1 e F2)

Fator B- comparação entre as linhagens (*P. ostreatus* F1 e F2)

Fator AxB- comparação entre os fatores A e B.

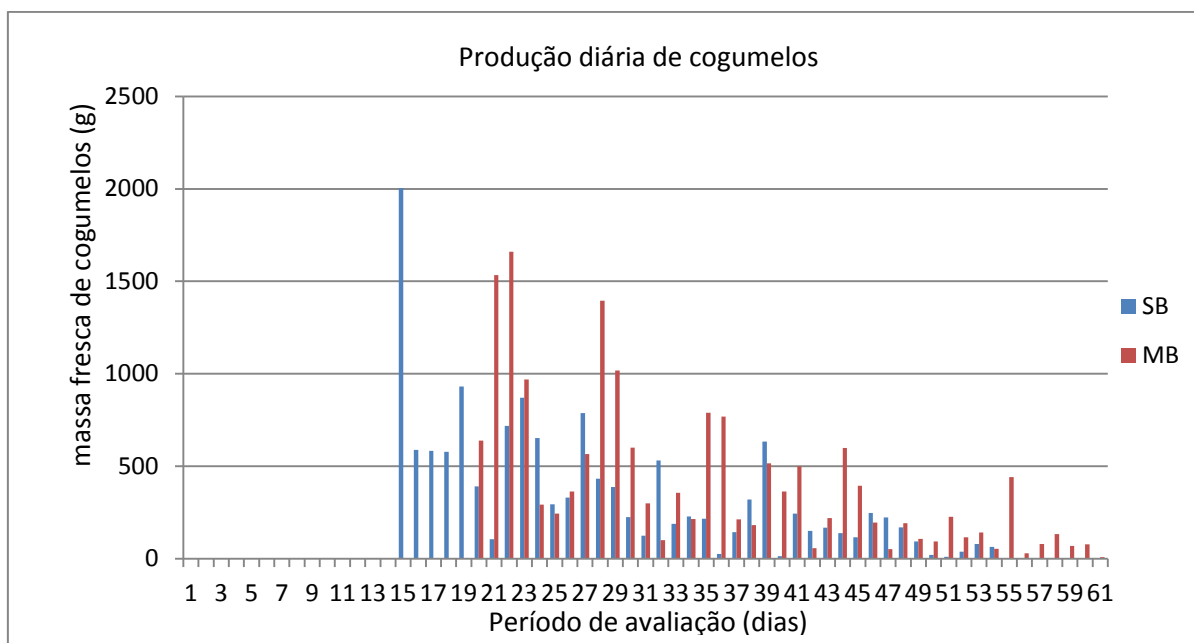


Figura 19. Produção diária de duas linhagens de *P. ostreatus* (SB e MB), em formulação 1 (F1).

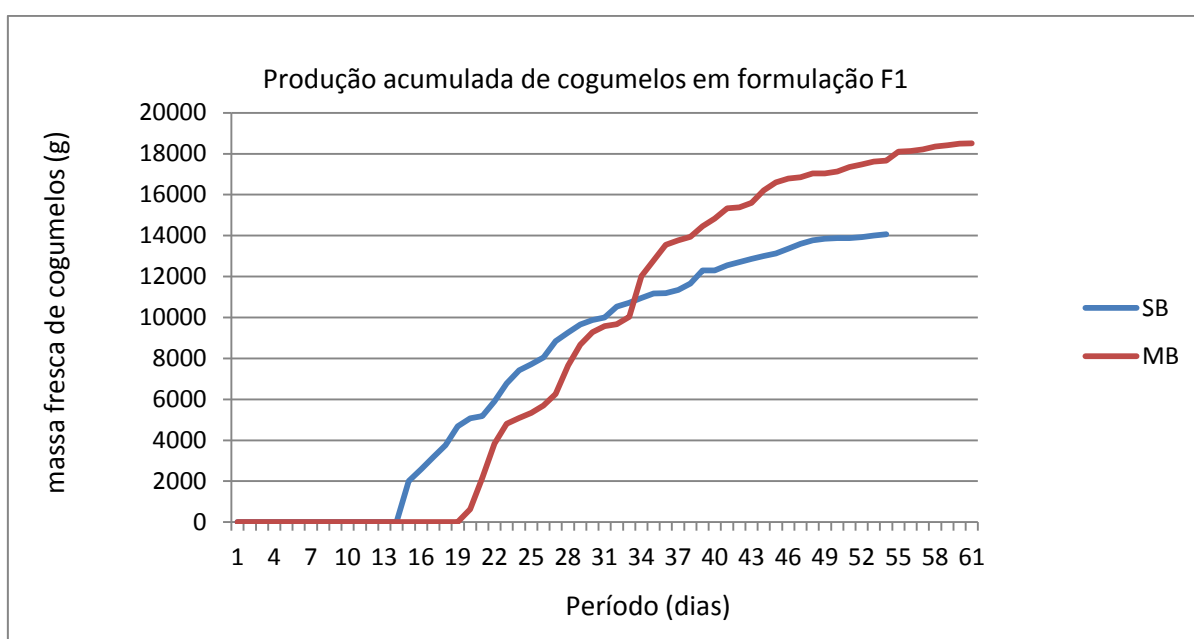


Figura 20. Produção acumulada de duas linhagens de *P. ostreatus* em substrato formulação 1, F1.

Nas condições de ambiência propostas, a linhagem MB apresentou-se como mais produtiva, possuindo maior capacidade de bioconversão do substrato. No entanto, a linhagem MB apresenta-se mais lenta no crescimento micelial inicial quando comparado com a linhagem SB, que se mostrou mais eficiente na miceliação e com rápida frutificação. As linhagens obtiveram formação de primórdios em diferentes momentos. A linhagem SB apresentou formação de primórdios 11 dias após a incubação, para a linhagem MB a formação de primórdios ocorreu 16 após o

início da incubação. O início da frutificação para as linhagens SB e MB com formulação F1 ocorreu com 14 e 19 dias, respectivamente (Figura 20 e 21). Estes resultados estão de acordo com o que foi observado por Gracioli et al., (2008) em seu estudo com cultivo de *Pleurotus florida* no qual o período médio para a indução natural de primórdios em diferentes substratos a base de resíduos agroindustriais, foi de 19 dias após a inoculação sendo o tempo mínimo de 17 dias. Salmones et al., (2005) aponta observou a formação de primórdios em média de 18 dias para *Pleurotus pulmonarius* e *Pleurotus ostreatus* cultivados em substratos a base de palha de trigo. Outros autores (PEDRA; MARINO, 2006; PHILIPPOUSSIS; ZERVAKIS; DIAMANTOPOULOS, 2001; ZERVAKIS, 1992) ainda obtiveram em seus estudos com linhagens de *P.ostreatus*, *P. ostreatoreseus*, *P. pulmonarius* e *P. eryngii* períodos maiores para formação de primórdios que variou de 26 a 72. Quando foram testados em substratos de fibra de coco, palha de trigo, resíduos de algodão e casca de amendoim. Indicando que a qualidade do substrato e a linhagem escolhida podem interferir diretamente na agenda de cultivo e produtividade do cogumelo.

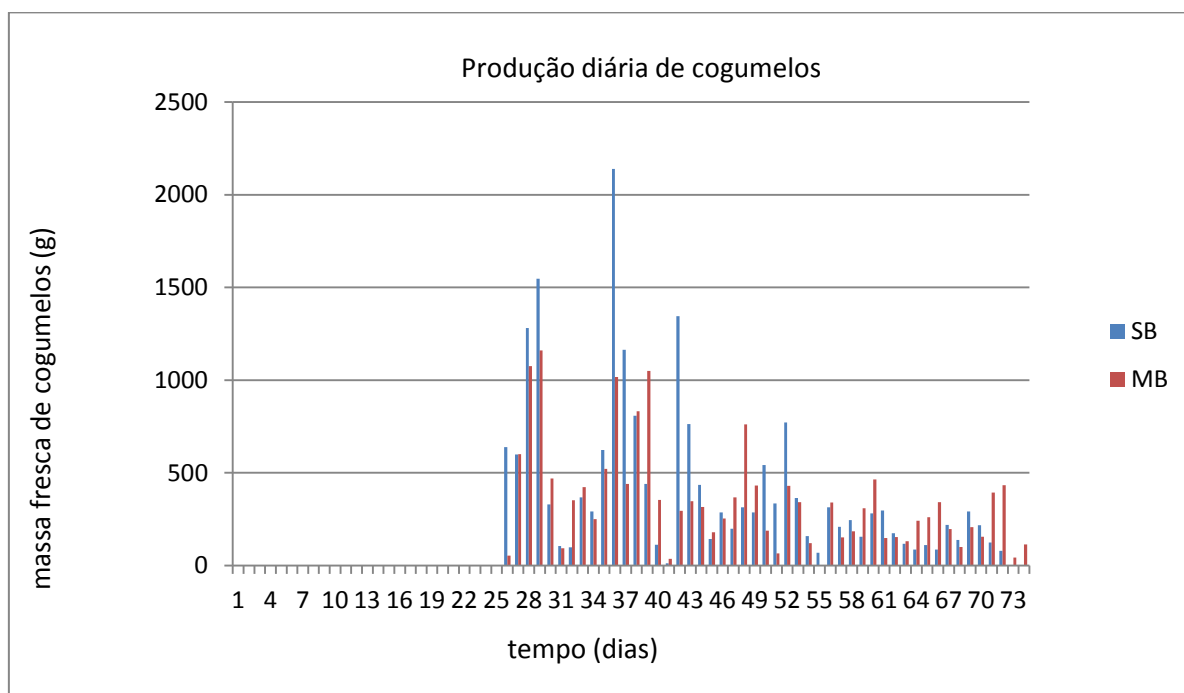


Figura 21. Produção diária de duas linhagens de *P. ostreatus* em substrato formulação 2 (F2).

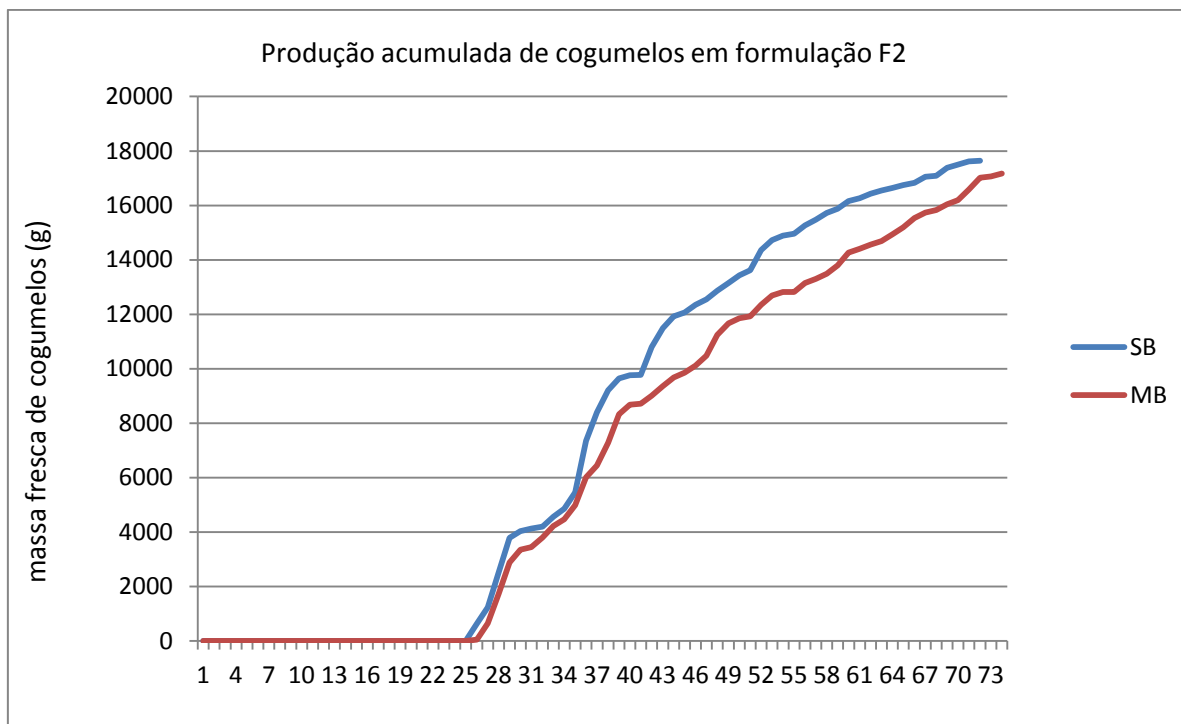


Figura 22. Produção acumulada de duas linhagens de *P. ostreatus* em substrato formulação 2 (F2).

Em função do período do ano, alterações climáticas e composição de substrato (F2) as quais as duas linhagens foram submetidas, observou-se um comportamento oposto ao substrato e condições climáticas anteriormente citadas. Houve, neste caso, produtividades próximas tanto para linhagem MB quanto para SB. Contudo, SB apresentou uma maior eficiência biológica indicando uma maior bioconversão de massa seca em carpóforos. Foi observado que os primeiros fluxos de produção apresentam maior produtividade, esta produtividade vai decaindo ao longo dos fluxos. De acordo com Albuquerque (2010) de forma geral o primeiro fluxo é o mais expressivo em relação à massa de cogumelos colhidos, sendo o primeiro pico produtivo a etapa que representa cerca de mais de 50% da produtividade total. Para Albuquerque (2010) o substrato pode interferir no comportamento produtivo de algumas linhagens. Este mesmo autor avaliou em seu trabalho que o substrato de casca de mamona apresentou produtividade maior nos segundo e terceiro fluxos quando aplicadas as linhagens de *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus*. Levando a ideia que alguns substratos exigem um tempo de cultivo maior. Estudos sobre o comportamento produtivo de *Pleurotus ostreatus* associando linhagens e substratos lignocelulósicos são importantes, pois possibilitam o desenvolvimento de estratégias seguras para o cultivo de “hiratake” e “shimeji”

evitando-se perdas na produção, através do planejamento do cultivo baseado no tempo correto de colonização e produtividade média de cada linhagem, a partir destes estudos também se estima o tempo útil (produtividade que justifique a ocupação do espaço) de cada unidade de substrato uma vez que um fluxo estendido de produção pode aumentar os custos do cultivo por aumento a incidência de pragas e contaminações e perda de espaço com substrato exaurido (COLAUTO; EIRA, 1995).

O número de cogumelos foi também superior ao obtido com a linhagem SB, porém grande diferença de massa entre os cogumelos. As duas linhagens apresentaram igual velocidade de crescimento micelial, o que permitiu que a formação de primórdios em ambas as linhagens ocorresse 22 dias após a incubação. A linhagem SB apresentou picos de produção diária superiores à linhagem MB.

De acordo com os dados das tabelas 30 e 31, as diferentes formulações dos substratos orgânicos preparados são diferentes. A Formulação F1 possui relação C/N mais estreita à semelhança da formulação F2. A diferença na relação C/N pode ter favorecido o rápido desenvolvimento do cogumelo, porém atenção maior deve ser dada ao processo nas etapas de preparo do substrato. Para Eira (2000), relações estreitas (mais baixas) de C/N podem promover a obtenção de maior produtividade, porém faz-se necessário o investimento na assepsia e higiene do processo, pois de outra forma, podem surgir problemas com contaminantes que assimilam o composto rapidamente competindo assim com o fungo inoculado.

Eira (2004) afirma que as linhagens de *Pleurotus* spp. apresentam uma ampla versatilidade metabólica, sendo mais hábeis em extrair nutrientes em materiais com relação C/N que vão de 31/1 a 81/1. 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).

5.5.4 Balanço parcial de massas

Tabela 30. Balanço parcial de massas formulação1(F1).

Parâmetro	Corrente de entrada – composto F1	Corrente de saída SB	Corrente de saída MB
Matéria kg seca (kg)*	22,5	7,71	5,6
Água (kg)	71,6	41,65	40,8
Cinzas (kg)	1,9	2,1	2,1
Relação C/N**	56/1	54/1	53/1
Relação C/N***	62/1	50/1	48/1
Massa total (kg)	96	49,36	48,50

*Os valores de matéria seca tiveram a massa de cinzas descontadas; métodos *kjeldahl*, **Yeomans; Bremner (modificado), ***mufla respectivamente.

Tabela 31. Balanço parcial de massas formulação 2 (F2).

Parâmetro	Corrente de entrada – composto F1	Corrente de saída SB	Corrente de saída MB
Matéria kg seca (kg)*	30,18	8,25	7,21
Água (kg)	62,1	43,2	42,74
Cinzas (kg)	3,70	2,55	2,00
Relação C/N**	79/1	54/1	53/1
Relação C/N***	82/1	50/1	48/1
Massa total (kg)	96	54	52

*Os valores de matéria seca tiveram a massa de cinzas descontadas; métodos *kjeldahl*, **Yeomans; Bremner (modificado), ***mufla respectivamente.

Nas tabelas 30 e 31, estão registrados os balanços parciais de massas nos quais verifica-se como ocorre o fluxo de materiais, neste caso, atenção foi dada a componentes principais para o processo de produção sendo estes: matéria seca, água, cinzas e relação C/N. Este balanço auxilia o processo de produção de forma que se pode entender exatamente o quanto de material foi utilizado, quando deste foi destinado a produção ou descarte. O balanço permite estimar também a quantidade de água que foi aplicado, podendo saber os custos e o volume que deverá ser utilizado por jornada e inoculação. Ainda o estudo sobre o balanço parcial de massa permitiu a estimativa sobre qual o volume massa de composto exaurido foi gerado e sua relação C/N o que favorece o estudo sobre a aplicação deste resíduo de forma sustentável e rentável, como alimento para ruminantes.

6. CONCLUSÕES

1. Este estudo revelou que a análise de carbono pelo método kjeldahl e mufla é capaz de avaliar corretamente o teor deste elemento no substrato;
2. As linhagens *Pleurotus ostreatus* SB e *Pleurotus ostreatus* MB apresentaram comportamento produtivo diferente. Em temperaturas mais altas, a linhagem MB apresentou-se mais tardia, porém em temperaturas mais baixas as linhagens SB e MB obtiveram o mesmo tempo para início dos primórdios e início da frutificação.
3. Em climas mais quentes, a linhagem MB possui grande eficiência biológica e maior produtividade; porém, em temperaturas mais frias, a linhagem SB apresenta melhores resultados com relação a estes parâmetros.
4. Os resultados de pasteurização inferem que o processo apresenta uma irregularidade na subida da temperatura sendo necessários mais testes para estabelecer parâmetros de para elevação e manutenção de temperaturas ótimas;
5. A linhagem mostrou ter influência na produtividade e qualidade de proteína do composto exaurido sendo necessário realizar mais testes com linhagens e formulações diferentes;
6. O composto exaurido possui maior teor e qualidade proteica quando em comparação ao substrato inicial, o que indica sua viabilidade de introdução em formulações para ração animal;

7. REFERÊNCIAS

ABNT 10004, **Norma Brasileira, resíduos sólidos** - Classificação, ABNT, 2004

AG COGUMELOS, **Curso prático de cogumelos**, 2011. Disponível em: <<http://agcogumelos.webnode.com.br/curso-pratico-de-cogumelos/>>. Acesso em: 29 set., 2015.

ALAM, N.; AMIN, R.; KHAIR, A.; LEE, T.S. Influence of different supplements on the commercial cultivation of milky white mushroom. **Mycobiology**, v. 38. p.184-188. jul. 2010.

ALANANBEH, K.M.; BOUQELLAH, N.A.; KAFF, N.S.A. Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leavez mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**. Saudi Arabia. v.21, n.6, p.616-625, dez. 2014.

AL-BARAKAH, F.N.; RADWAN, S.M.A.; ABDEL-AZIZ, R.A. Using biotechnology in recycling agricultural waste for sustainable agriculture an enviromental protection. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**.v.2, p.446-459. 2013.

ALBUQUERQUE, M. P. **Cultivo de *Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr. [= *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer] e *Pleurotus* spp. em diferentes substratos**. 2010. 126 f. Tese (Doutorado em Agricultura familiar) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

ALEXANDRINO, A.M.; FARIA, H.G.; SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.27. n.2. p 364-368, abr-jun, 2007.

ALPI, F.; TOGNONI, F. **Cultura em estufas**. Lisboa: Editorial Presença, 1978. 196 p.

AMATO, G. W. **Casca: agregando valor ao arroz**. Instituto Grandense de Arroz (IRGA). Porto Alegre, RS, 2002. Disponível

em:<<http://www.irga.rs.gov.br/arquivos/20050815133443.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2015.

ANPC, Associação dos Produtores de Cogumelos. **O setor de cogumelos**. Outubro, 2013. Disponível em <<http://www.anpc.org.br/>>. Acesso em: 12 out., 2015.

AQUIM, P.M. et al. Balanço de massa nos processos de ribeira e curtimento, 2004. Disponível<www.ppgeq.ufrgs.br/projetos/curtumes>. Acesso em: 15 set., 2015.

ATKEY, P. T.; WOOD, D. A. An electron microscope study of wheat straw composted as a substrate for the cultivation of the edible mushroom (*Agaricus bisporus*). **Journal of Applied Bacteriology** . v. 55, p. 293-304, oct., 1983.

AYODELE, S.M., AKPAJA, E.O.; ANYIADOR, F. Evaluation of the Yield of *Lentinus squarrosulus* (mont) singer on selected economic species. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. Pakistan, v.10. n.23. p. 4243-4286, dez., 2007.

AVICE, J.C.; OURRY, A.; LEMAIRE, G.; BOUCAUD, J. Nitrogen and carbon flows estimated by ¹⁵N and ¹³C pulse-chase labelling during regrowth of alfafa. **Plant Physiology**, v.122, n.1, p.281-290,1996.

AZEVEDO, R.S. **Caracterização físico-química e microbiológica no processo da compostagem na produção do cogumelo *Agaricus brasiliense* e a utilização do composto de *Pleurotus ostreatus* sp. na suplementação de ração de frango de corte**, 2014. 116f. Tese (Doutorado em ciências de alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

BARNEY, D.L., 2009. **Growing mushrooms commercially: risks and opportunities**. Disponível em <<http://www.cals.uidaho.edu/edcomm/pdf/cis/cis1077.pdf>>. Acesso em: 19 mai. 2014.

BASAVESWARA RAO, V.; SASTRI, N. V.; SUBBA RAO, P. V.1981 Purification and characterization of a thermostable glucoamylase from the thermophilic fungus

Thermomyces lanuginosus; **Biochemical journal**. Londres, v.193, n. 2, p. 379–387, fev. 1981.

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

BEETZ, A., KUSTUDIA, M. **Mushroom cultivation and marketing: Horticulture production guide National Sustainable Agriculture Information Service - ATTRA**. 2004. Disponível em: < www.attra.ncat.org>. Acesso em: 12 out., 2016.

BLANCO, M. C. **Compostagem**. Embrapa Hortaliças, 2009 4p., Disponível em:< <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=780642&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22BLANCO,%20M.%20C.%20S.%20G.%22&qFacets=autoria:%22BLANCO,%20M.%20C.%20S.%20G.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=> >. Acesso em: 02 ago. 2015.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*,L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.31, n.2, p.539-545, mar., 2002.

BRAGA, G.C. **Produtividade de *Agaricus blazei* Murril em função do ambiente de cultivo e massa de substrato e camada de cobertura**. 1999. 73f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

BRAGA, G.C.; EIRA, A.F.; CELSO, P.G.; COLAUTO, N.B. **Manual do cultivo de *Agaricus Blazei* Murril**. " Cogumelo-do-sol". Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas e florestais, 1998. 44p.

BROWN, S; SUBLER, S. Composting and Greenhouse Gas Emissions: A Producer's Perspective. **BioCycle**. v,48, n.3, p.37–41. 2007.

CANTARELLA, H.; WIETHÖLTER, S.; BERNARDI, A.C.C.; VITTI, G.C.; CANTARUTTI, R. B.; MUNIZ, A. S. Programas de avaliação de qualidade das análises de solo e de planta no Brasil. **Viçosa: Boletim Informativo da SBCS**. v. 26, v.1, p. 20-24, 2001

CAHYANI, V. R.; MATSUYA K.; ASAKAWA S.; KIMURA, M. Sucession and phylogenetic composition of bacterial communities responsible for the composting process of rice straw estimated by PCR-DGGE analysis. **Soil Science & Plant Nutrition**. v.49, n.4, p. 619-630, 2003.

CASTILHOS, R. M. V.; DICK, D. P.; CASTILHOS, D. D.; MORSELLI, T. B. A. G.; COSTA, P. F. P.; CASAGRANDE, W. B. C.; ROSA, C. M. Distribuição e caracterização de substâncias húmicas em vermicompostos de origem animal e vegetal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p. 2669-2675, 2008.

CARDOSO, J.C.P.; DEMENJOUR, P.L.M.M.; PAZ, M.F. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bociuiva e de cana-de-açúcar pela técnica jun-caio. **Revista Evidência**. Joaçaba, v.13, n.1, p.31-40, jan./jun., 2013.

CARDOSO, R. C.; VALADARES FILHO, S. C. e COELHO DA SILVA, J. F. Consumo e digestibilidade aparentes totais e parciais de rações contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin X Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 29, n.6, p.1832-43, 2000.

CARMO, D. L.; SILVA, C.A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 36, p. 1211-1220, 2012.

CASTRO, M. A. **Produção e propriedades de celulases de fungos filamentosos, obtidas a partir de celulignina de bagaço de cana-de-açúcar**. 2006. 212f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

CEN, P., XIA, L. Production of cellulase by solid-state fermentation. Berlin. **Advances in Biochemical Engineering**, v.65, p.70-92, 1999.

CHANG, S.T. Mushroom as human food, Bioscience Journal. v. 30, n.6, p.339-401, 1980.

CHANG, S.T. Cultivated mushrooms. In: ARORA, D.K., MUKERJI, K.G., MARTH, E.H.(Org.) Handbook of applied mycology. v.3. New York: Marcel Dekker, 1991. p.221-240.

CHANG, S.T.; MILES, P.G. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Raton: CRC Press, 1989. 345. 819p.

CHANG, S.T.; MILES, P. G. **Mushroom: Cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact**. 2. ed. Shu-Ting Chang: CRC Press, 2004. 451p.

CHANG, S. T.; MSHIGENI, K. E., **Mushroom farming: life-changing humble creatures**. Dar es Salaam, Tanzania : Mkuki na Nyota Publishers Ltd, 2013. 84 p. 2013.

CHANG, S.T. **Overview of Mushroom Cultivation and Utilization as Functional Food**, 2008. Disponível em:<<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.322.1145&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 30 set. 2015.

CHO, S. B. What is mushroom. In: Oyster Mushroom Cultivation, **Mushroom Growers' Handbook 1**,. Korea: MushWorld, Korea, 2004. p. 3-5.

COGORNÍ, P.F.B.O. **Produção de Pleurotus sajor-caju em folhas de pupunheira (*Bactris gasipaes*) e avaliação de sua utilização no enriquecimento de farinha de trigo**. 2013. 95f. Dissertação (mestrado em engenharia de processos) - Universidade de Joinville, Joinville, 2013.

COHEN, R.L.; Persky, L.;Hadar, Y. Biotechnological applications and potencial of wood- degrading mushrooms of the genus Pleurotus. **Applied Microbiology Biotechnology**., v.58, n.5 p.582-594, 2002.

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.

COLEN, G. **Isolamento e seleção de fungos filamentosos produtores de lipases**. 2006. 206 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

CONAB (Brasil). **A geração de termelétrica com a queima do bagaço de cana-de-açúcar no Brasil**. Brasília, DF, 2011. Disponível:<
http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_05_05_15_45_40_geracao_termo_baixa_res..pdf>. Acesso 29 set. 2015.

CONAB (Brasil). Séries históricas: arroz. 2012. Disponível em:
<<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=>>. Acesso em: 01 out. 2015.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: monitoramento agrícola Safra 2014/2015- Agosto/2015. Disponível
em<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_11_08_55_08_boleim_graos_agosto_2015.pdf>. Acesso em: 02 Out.,2015.

COSTA, M. B. B. **Nova síntese e novo caminho para a agricultura “adubação orgânica”**. São Paulo: Ícone, 1994. 102 p.

DEES, P.M.; GHIORSE, W.C. Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. **FEMS Microbiology Ecology**. v.35, n.2, p.207-216, 2001.

DENHAM, T.G. The 3-phase-1 system. In: Hayes WA, (Org.) **Composting**. London: Mushroom Growers Assn., 1977. p.67-77.

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

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potencial for growth. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v.34, n.4, p. 795-803, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v34n4/v34n4a01.pdf>>. Acesso em: 25 set.2015.

DIAS, J. M. C.; SOUSA, D. T.; BRAGA, M.; ONOYAMA, M. M.; MIRANDA, C. H. B.; BARBOSA, P. F. D.; ROCHA, J. D. **Produção de briquetes e péletes a partir de resíduos agrícolas agroindustriais e florestais**. EMBRAPA – AGROENERGIA. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012.

DOMINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Efeito da suplementação com farelos no crescimento in vitro de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante (*Pennisetum spp.*) **Arquivo do Instituto Biológico**. São Paulo, v.73,n.3, p. 303-309, jul.-set., 2006.

EIRA, A.F., BRAGA, G.C. **Manual do cultivo de "Champinhon" (*Agaricus spp.*)**. Botucatu: Fundação de estudos Agrícolas e Florestais, 1997. 45p.

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.; BRAGA, G.C.; MONTINI, R.M.C.; ICHIDA, M.S.; MARINO, R.H.; SILVA, J. DA. **Manual de cultivo do "Hiratake" e "Shimeji" (*Pleurotus spp.*)**, Botucatu: FEPAF/UNESP, 1997. 63p.

EIRA, A. F. **Cultivo de Cogumelos: Compostagem, Condução e Ambiente**. 2000. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/rifib/IIIIRifib/71-81.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2014.

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

EMBRAPA. **Cultivo de soja**. 2015. Disponível em:<
<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1>>. Acesso em: 22 set. 2015

EMBRAPA AGROENERGIA. **Novas biomassas e processos de transformação de etanol celulósico: relatório interno**. Brasília, DF, 2012. Projeto Babethanol 2010/2012 , Embrapa Agroenergia /PROCISUR.

ESCOSTEGUY, P. A. V.; GALLIASSI, K.; CERETTA, C.A. Determinação de matéria orgânica do solo pela perda de massa por ignição em amostras do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 31, n.2, p. 247-255, 2007.

EUSTERHUES, K.; RUMPEL, C.; KLEBER, M.; KOGEL-KNABNER, I. Stabilization of soil organic matter by interactions with minerals as revealed by mineral dissolution and oxidative degradation. **Organic Geochemistry**. Oxford, v.34, p.1591-1600, 2003.

EUSTERHUES, K.; RUMPEL, C.; KOGEL-KNABNER, I. Stabilization of soil organic matter isolated by oxidative degradation. **Organic Geochemistry**. Oxford, v.36, n.11, p. 1567-1575, nov. 2005.

FAN, L.; PANDEY, A.; MOHAN, R.; SOCCOL, C.R. Comparison of coffee industry residues for production of *Pleurotus ostreatus* in solid fermentation, **Acta Biotechnology**., Germany, v.20, n.1, p.41-52, 2000.

FAOSTAT, Food and agriculture organization of the united nations, 2012. **Production**. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/384/default.aspx>>. Acesso em: 02 out., 2015.

FARINAS, C. S.; LEMO, V.; NETO, V. B.; COURI, S. **Avaliação de diferentes resíduos agroindustriais como substratos para a produção de celulasas por**

fermentação semi-sólida. São Carlos: Embrapa instrumentação Agropecuária, 2008, 17p.

FLEGG, P.B.; SPENCER, D.M.; WOOD, D.A. **The biology and tecnology of the cultivated mushroom,** Chichester: John Wiley & Songs, 1985, 347p.

FORD, L. E. A microbiological method for assessing the nutritional value of proteins. **Journal of Nutrition** . Bethesda, v.16, p. 409-425, fev., 1962.

FUNDECITRUS. **Safra da laranja.** Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/reestimativa-safra-de-laranja-se-mantem-dentro-do-estimado/330> (18-09-2015)>. Acesso em: 22 set. 2015.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.64, n.2, p.149-154, set., 2005.

GAMBLE, G.; SETHURAMAN, A.; AKIN, D.E.; ERIKSSON, K.E.L. Biodegradation of lignocellulose in bermuda grass by white rot fungi analyzed by solid-state C13 nuclear magnetic resonance. Washington. **Applied and Enviromental Microbiology.** v. 60, n. 9, p. 3138-3144, 1994.

GALVANI F. GAERTNER E.; **Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta.** EMBRAPA, 2006. Circular Técnica 63 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Agropecuário. IBGE, 2006. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT63.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2006

GAVA, M. A., **Desempenho de diferentes meios de cultura utilizados na avaliação de fungos presentes em ambientes de produção de alimentos.** 2002. 65f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Escola Superior de Aagricultura "Luiz de Queiroz ",Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

GBOLAGADE, S.J. Bacteria associated with compost used for cultivation of Nigerian edible mushrooms *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) singer and *Lentinus squarrosulus* Berk. **African Journal of Biotechnology**., v. 5, n.4, p. 338-342, 2006.

GOMES, T. C. A.; SILVA; J. A. M.; SILVA, M. S. L. **Instruções técnicas da EMBRAPA semi-árido: Preparo de composto orgânico na pequena propriedade rural.** Petrolina-PE, 2001.

Disponível:<http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/public_eletronica/downloads/INT53.pdf>. Acesso em: 23 dez. 2015.

GRACIOLLI, L. A. SILVA, M. E. ; BORGES, T. C. ; GRACIOLLI, C. B. Productivity and biological efficiency of *Pleurotus floridacultivated* on water hyacinth. In: Symposium Brazil-Japan in Economy, Science and Tecnhological Innovation, 2008, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2008. p.1-6.

HAYES, W. A. Fungal Biotechnology. In: British Mycological Society, Symposium nº3, 1980, U.K. **Anais...** U.K., 1980, p.175-202.

HENRIQUES, L. T.; COELHO, J. F. S.; DETMANN, E.; VÁSQUEZ, H. M.; PEREIRA, O. G. Frações dos compostos nitrogenados de quatro gramíneas tropicais em diferentes idades de corte e doses de adubação nitrogenada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** Belo Horizonte, v.59, n.3, p. 740-748, 2007.

HUDSON, H.J. Fungi as inhabitants of extreme environments In: _____. **Fungal Biology**, Great Britain : Edward Arnold Publishers, 1986. 298 p. 159-173.

HUUB, J.M.; STUMM,C.K.; STRAASTMA, G.; DERIKX, P.J.L.; GRIENSVEN, J.L.D. Hyphal and mycelial interations between *Agaricus bisporus* and *Scytaliduum thermophilum* on ágar media. **Microbial Ecology** v.19, n.3, p.303-309 , 1990.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v. 1. 4ª ed. São Paulo, 2008.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Anuário estatístico do Brasil.** Rio de Janeiro, 2010. Disponível em:<www.ibge.gov . Acesso em: 15 out. 2015.

IMBERNON, M.; LEPLAE, M. Microbiologie des substrates destins e la culture del champignon de couche. **Mushroom Science** ., Eugene, v.8, p.363, 1972.

INFORME CONJUNTURAL instituto. **CEPA/SC**, ano XVII, 728:23.4-29.4. (1999).

KIEHL, E. J. Preparo do composto na fazenda. **Casa da Agricultura**, Campinas, v.3, n.3, p.6-9, 1981.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1985. 492p.

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem**: maturação e qualidade do composto. 3. ed. Piracicaba: Edmar José Kiehl, 2002. 171p.

KOHARI, E. K. **Produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em resíduos lignocelulósicos e avaliação das características do substrato exaurido visando sua utilização como fertilizante orgânico**. 2000, 118f. Dissertação (curso de pós graduação em Agronomia)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

KONG, W. S. Descriptions of commercially important *Pleurotus* species. In: **Mushroom grower's handbook**: Oyster mushroom cultivation. Seoul: Mushroom-Heineart Inc, 2004, vol.1, p. 54-61. Disponível em: <<http://www.alohamedicinals.com/book1/chapter-4.pdf>>. Acesso em: 19 mai. 2014.

KUMARI, D.; ACHAL, V. Effect of different substrates on the production and non-enzymatic antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus*. **Life Science Journal**. India, v.5, n.3, p.73-76, jun., 2008. Disponível em: <http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life0503/12_life0503_73_76_Effect.pdf>. Acesso em: 16 mai. 2014.

KURTZMAN, JR. R. H., 2006. **Oyster mushroom cultivation**. Disponível em:<<http://www.oystermushrooms.net/front.htm>>. Acesso em: 25 set. 2015

KURTZMAN JR. Pasteurization of mushroom substrate and other solids. **African Journal of Environmental Science and Technology**. v.4, n.3, p. 936-941, dez., 2010.

LAVOURA, 2012. Coco: qual destino dar à casca? Disponível:<http://sna.agr.br/uploads/ALavoura_690_26.pdf>. Acesso em 02 out. 2015.

LENNARTSSON, P.R.; YLITERVO, P.; LARSSON, C.; EDEBO, L.; MOHAMMAD, J.T. Growth tolerance of zygomycetes mucor indicus in orange peel hydrolysate without detoxification. **Process Biochemistry Journal.**, v.47, n.5, p.836-842, 2012.

LOPES, F. F.; NEVES, M. F.; KALAKI, R. B.; TROMBIN, V.G. **O retrato da citricultura brasileira**. 1. ed. Ribeirão Preto: Citrus BR, 2010. 137p.

LORENZETT, D.B.; NEUHAUS, M.; SCHWAB, N.T. Gestão de resíduos na indústria de beneficiamento de arroz. *Revista Gestão Industrial*, v.8 p.219-232, 2012. Disponível em: <<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/reget/article/view/4314>>. Acesso em: 04 jun. 2015.

MACHADO, A. M. B.; DIAS, E.S.; SANTOS, E.C.; FREITAS, R.T.F. Composto exaurido do cogumelo *Agaricus blazei* na dieta de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.4, p. 1113-1118, 2007.

MACIEL, G.M. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de xilanases por fermentação no estado sólido utilizando bagaço de cana e farelo de soja**. 2006.146p. Dissertação (Mestrado em processos microbiológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MAHESHWARI, R., BHARADWAJ, G.; BHAT, M. K. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews.**, Washington, v. 64, n.3, p. 461–488, set., 2000.

MANTOVANI, T.R.D.A.; MEIRELLES, L.D.P.; VALLE, J.S.V.; LINDE, G.A.; COLAUTO, N.B. Formulação de substratos na produção de biomassa micelial e de lacase de *Pleurotus ostreatus*. **Semina: Ciências agrárias**. Londrina, v.33, n.5, p 1681-1693, set./out., 2012

MAPA - Ministério da agricultura , pecuária e abastecimento. Dados estatísticos. 2008. **Mundo: principais países produtores, culturas selecionadas**. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 20 set. 2015.

MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Culturas: arroz**. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>>. Acesso em: 20 set. 2015.

MARIN, C. M.; SILVA, C. L. S. P.; BRAZ, M. A.; MANGOLD, M. A. Fatores que podem influenciar digestibilidade dos alimentos em ruminantes. **Revista de Ciências Agrárias e Saúde. FEA**, Andradina, v.3, n.1, jan-jun, p. 64-68, 2003.

MARINO, R.H.; ABREU, L.D.; MESQUITA, J.B.; RIBEIRO, G.T. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (jacq.:FR.) kummer em serragem da casca de coco. **Arquivo do Instituto Biológico**. São Paulo, v.75, n.1, p.29-36, jan/mar., 2008.

MARTINEZ-CARRERA, D.; AGUILLAR, A.; MARTINEZ, W.; MORALES, P.; SOBAL, M. BONILLA, A.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. A sustainable model for rural production of edible mushrooms in México. **Micologia Neotropical Aplicada**, v. 11, p. 77-96, ago. 1998.

MATOS, A. T. Tratamento de resíduos agroindustriais. Curso sobre tratamento de Resíduos Agroindustriais, **Fundação Estadual do Meio Ambiente**. Viçosa: 2005.

MATTOS, M.L.T.; MARTINS, J.F.S.; NUNES, C.D.M.; SCIVITTARO, W.B.; MOURA, F. Monitoramento de agroquímicos em áreas de produção integrada de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO INTEGRADA. **Anais...** Bento Gonçalves: 2007.

MAYER, F. D.; HOFFMANN, R.; REPPENTHAL, J. E. Gestão energética, economica e ambiental do resíduo da casca de arroz em pequenas e médias agroindústrias de arroz. In: XIII SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO DA UNESP . **Anais...** Bauru: SP. 2006.

MAZIERO, R., **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus spp.*** 1990. 136f. Dissertação (Mestrado em Ciências biológicas/ botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

MELLO, O.L.; SEDIYAMA, C.S.; MOREIRA, M.A.; REIS, M.S.; MASSONI, G.A.; PIOVESAN, N.D. Grain yeld and seed quality of soybean selected for high protein contein. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.39, n.5, p. 445-450, mai., 2004.

MENEZES, C.R; SILVA, I.S e DURRAN, L.R. Bagaço de cana: fonte para produção de enzimas lignocelulolíticas. **Estudos Tecnológicos** . vol. 5, nº 1, p.68-78, 2009.

MIRANDA, J.C. **Bioconversão energética da folha e bagaço de mandioca pelo fungo *Rhizopus oligosporus* para obtenção de alimento funcional**. 2014. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/ Microbiologia aplicada) – Departamento de bioquímica e microbiologia, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2014.

MISHRA, R. S.; MAHESHWARI, R. Amylases of the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*; their purification, properties, action on starch and response to heat. **Journal of Biosciences**, India, v. 21, n. 5, p. 653-672, set. 1996.

MIYAJI, C.K.; KAORI, C.; CÓLUS, I.; DE SYLLOS, M. Shiitake, um cogumelo mutagênico ou antimutagênico. **Semina**; v.22, p.11-17. jan./dez. 2001.

MIYATAKE, F.; IWABUCHI, K.; Effect of high compost temperature on enzymatic activity and species diversity of culturable bacteria in cattle manure compost. **Bioresource Tecnology**. v.96, n.16, p. 1821-1825, fev., 2005.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; OLIVEIRA, E. L.; IONASHIRO, M.; SILVA, A. K. Gravimetric Determination of Soil Organic Matter. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 43, n.5, p. 475-478, dez., 2000.

MIZUNO, M.; MORIMOTO, M.; MINATO, K. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. **Bioscience Biotechnology Biochemistry Journal**. v.62, n.2, p.434-437, mar.,1998.

MODA, E.M. **Produção de *Pleurotus sajor-caju* em Bagaço de cana-de açúcar lavado e o uso de aditivos visando sua conservação "in natura"**. 2003. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MONTEIRO, H. C. F.; CANTARUTTI, R. B.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; REGAZZI, A. J.; FONSECA, D. M. Dinâmica e Mineralização de Nitrogênio em função da

qualidade de resíduos de gramíneas e leguminosas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 31, n.3, p.1092-1102, jun. 2002.

MORALES, E. M. Viabilidade de obtenção de alimento funcional a base de farinha de mandioca (*Manihot esculenta*) mediante fermentação por *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*. 2012. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Microbiologia Aplicada)- Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

MUSTIN, M. **Le compost: Gestion de la matière organique**. Paris: Edition François Dubusc, 1987, 954 p.

NASCIMENTO, P. C.; LANI, J.L.; MEDONÇA, E.S.; ZOFFOLI, H.L.O.; PEIXOTO, H.T.M. Teores e características da matéria orgânica de solos hidromórficos do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n.2, p.339-348, 2010.

NELSON, D. W.; SOMMERS, L. E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: SPARKS, D. L. et al. (Org.) **Methods of soil analysis: Chemical methods Part 3**. Madison: S. Sci.Society America, 1996. p.961-1010.

NIGAM, P. AND D. SINGH. 1996. Processing for agricultural wastes in solid state fermentation for cellulolytic enzymes production. **Journal of Scientific & Industrial research.**, New Delhi, v. 55, p.457-463, 1996.

OLIVEIRA, E. C. A.; SARTORI, R. H.; GARCEZ, T.B. **Compostagem**. Piracicaba: Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, 2008.Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Compostagem_000fhc8nfqz02wyiv80efhb2adn37yaw.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2015.

OLIVEIRA, M.A.; DONEGA, M.A.; PERALTA, R.M.; SOUZA, C.G.M. Produção de inóculo de cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet - CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.27. n.1. agost. 2007

ORTEGA-CERRILLA, M.E.; CAN-COSTA, B.; HERRERA-PATÍÑO, F.; PÉREZGIL-ROMO, F. Efecto de la inoculación del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en la

composicion química y digestibilidad de la paja de cebada. **Archives Latin American of Nutrition**, Caracas, v. 36, n. 2, p. 345-350, jun., 1986.

PASSOS, P. R. A. **Destinação Sustentável de Cascas de Coco Verde (*Cocos nucifera*): Obtenção de telhas e chapas de partículas**. 2005. 186p. Tese (Doutorado em ciências em planejamento energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

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.7, n.2, p.107-122, 1997.

PEDERSEN, P. B.; BROADMEADOW, A., 2000. Toxicological studies on *Thermomyces lanuginosus* xylanase expressed by *Fusarium venenatum*, intended for use in food. **Food Additives & Contaminants**. UK., v.17, n. 9, p. 739-747, set., 2000.

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. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 73, n.2, p.219-225, 2006

PEDRA, W.N.; CARNELOSSI, M.A.G.; SILVA, G.F.; YAGUIU, P.; LIRA, M.L.; GONÇALVES, G.B.; MARINO, R.H. Análise química e sensorial de *Pleurotus ostreatus* cultivado em casca de coco e suplementada com farelo de trigo e/ou arroz. **Arquivo do Instituto Biológico**., São Paulo, v.76, n.1, p.91-98, jan./mar., 2009.

PEIXOTO, R. T. G. Matéria orgânica e a dinâmica das cargas elétricas dos solos: processos e consequências. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCS/Embrapa-CNPS, 1997. 32p. CDROM.

PEREIRA, R. E. **Avaliação do Potencial Nacional de Geração de Resíduos Agrícolas para a Produção de Etanol**. 2006.180p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

PETERS S.; KOSCHINSKY, S.; SCHWIEGER, F.; TEBBE, C. C. Sucession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation-polimorfism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. **Applied Environmental Microbiology**. Washington, v.66, n.3, p. 930-936, mar., 2000.

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

PINTO, G. A. S.; BRITO, E.S.; ANDRADE, A.M.R.; FRAGA, S.L.P.; TEIXEIRA, R.B. **Fermentação em estado sólido: uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais tropicais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005, 5p.

PIRES, T. C., et al. Produção de Papel Compósito com Casca de Arroz para Aproveitamento da Biomassa Residual. In: 17º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS (CBECIMat), 15 A 19 de Nov. 2006, Foz do Iguaçu, PR. **Anais eletrônicos...** Foz do Iguaçu: CBECIMat, 2006. Disponível em:<<http://www.metallum.com.br/17cbecimal/resumos-212-012.pdf>> Acesso em: 15 de out. 2015.

PRADO, R. M. **Manual de nutrição de plantas forrageiras**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2008. v. 1. 500 p. Disponível:< <http://jaguar.jet.com.br/funep/categoria.asp?idcategoria=40157&nivel=0129&categoria=Nutrição%20de%20Plantas>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

PRETO, E. V.; MORTOZA, G. L. **Geração de Energia Elétrica Utilizando Biomassa**. 2010. 82p. Monografia (curso de Engenharia Elétrica) - Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia, Brasília, 2010.

RAABE, R. D. **The rapid composting method**. 2013. Disponível em:<http://vric.ucdavis.edu/pdf/compost_rapidcompost.pdf>. Acesso em: 19 set. 2015.

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

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. Pleurotus mushrooms. Part IB. Pathology, in vitro and in vivo growth requirements, and world status. **Citrical Reviews Food. Science and Nutrition**. 1988, v.26, n.3, p.243-311, set., 1988.

RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKA, M. N.; BANO, Z. Biopotentialities of the basidiomacromycetes. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 37, p. 233-361, 1992.

REZZADORI, K.; BENEDETTI, S. Proposições para valorização de resíduos do processamento do suco de laranja. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION. **Anais...** São Paulo, p.1-11, 2006.

RHEINHEIMER, D.S.; CAMPOS, B.C.; GIACOMINI, S.J.; CONCEIÇÃO, P.C.; BORTOLUZZI, E. C. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.1, jan-fev., 2008.

RIBEIRO, J.E.L.S., HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M., SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C.**Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central**. Manaus: INPA-DFID, Manaus, 1999. 800 p.

RODALE, J. I. **The complete book of composting**. Washington: agriculture Information Bulletin, 1971. 1007 p.

RODELLA, A. A.; ALCARDE, J. C. Avaliação de materiais orgânicos empregados como fertilizantes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, n.3, p. 556-562, set./nov., 1994.

ROMÁN, P.; MARTÍNEZ, M. M.; PANTOJA, A. **Farmer`s compost handbook. Experiences in Latin America**. Santiago: Food and Agriculture of the united nations. Regional office for latin America and the caribbean Santiago. 112 p. 2015.

ROSS, R. C.; HARRIS, P. J. An investigation into the selective nature of mushroom compost. **Scientia Horticulturae**. v. 19, n.1, p. 55-64, mar., 1983.

ROSA, M.F.; BEZERRA, F.C.; CORREIA, D.; SANTOS, F.J.S.; ABREU, F.A.P.; FURTADO, A.A.L.; BRIGIDO, A.K.L.; NOROES, E.R.V. **Utilização da casca de coco como substrato agrícola**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. 24 p. (Documentos, 52).

ROYSE, D. J. **Cultivation of oyster mushroom**. College of Agricultural Sciences/The Pennsylvania State University Park University: Agricultural Research and Cooperative, 2003. Disponível em: < <http://pubs.cas.psu.edu/FreePubs/pdfs/UL207.pdf> >. Acesso em: 15 mai. 2014.

ROYSE, D. J., BEELMAN, R.B. **Six steps to mushroom farming**. Pennsylvania: College of Agricultural Sciences, 2007, 17p.

ROYER, A. R.; LOSS, E.; RODRIGUES, M. B.; Produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* utilizando resíduos da cadeia agroindustrial do milho no paraná. **Syner. scyentifica UTFPR**, Pato Branco, v. 3; n.4, p.1-3, 2008.

RYCKEBOER, J.; MERGAERT, J.; VAES, K.; KLEMMER, S.; CLERCQ, D.; COOSEMANS, J.; INSAM, H.; SWINGS, J.A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. **Annals of Microbiology**. v.53, p. 349-410., 2003.

RYNK, R.; KAMP, M.V.; WILLSON, G.B.; SINGLEY, M.E.; RICHARD, T.L.; KOLEGA, J.J., GOUIN, F.R.; LALIBERTY JR, LUCIEN; KAY, D.; MURPHY, D.W.; HOITINK,

H.A.; BRINTON, W.F. **On-Farm composting handbook**. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, New York, 1992. 113p.

SALAR, R. K.; ANEJA, K. R. Termophilic Fungi: Taxonomy and Biogeography. **Journal of Agricultural Technology**. Thailand, v.3, n. 1, p. 77-107, 2007.

SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAUJO, L. M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.4), p. 868-872, out.-dez. 2009.

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.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2ª.ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.

SANCHEZ, C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms, **Applied Microbiology Biotechnology**, n.85, p.1321-1337, fev. 2010.

SANCHEZ-MONEDERO, M. A. SERRAMIÁ, N.; CIVANTOS, C.G.O. ; FERNANDEZ-HERNÁNDEZ, A.; ROIG, A. Greenhouse gas emissions during composting of two-phase olive mill wastes with different agroindustrial by-products. **Chemosphere**. v.81, n. 1, p. 18-25, set. 2010.

SANTOS. L. M. **Dinâmica da matéria orgânica e destino de metais pesados em dois solos submetidos à adição de lodo de esgoto**. Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos. 2006. 142f. Dissertação (Mestre em ciências) - Instituto de Química de São Paulo, São Carlos, 2006.

SANTOS, V.M.C.S. **Contribuição ao estudo da produção de *Pleurotus* spp. em resíduos lignocelulósicos**. 2000. 152f. Dissertação (Mestrado em biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina. 2000.

SCHENEIDER, V.E.; PERESIN, D.; TRETIN, A.C.; BORTOLIN, T.A.; SAMBUICHI, R.H.R. **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e**

Agroindústrias Associadas, Relatório de pesquisa. Brasília, DF: IPEA, 2012. Disponível em:

<http://hbjunior19.files.wordpress.com/2012/11/120917_relatorio_residuos_organicos.pdf>. Acesso em: 20 set.2015.

SEGNINI, A.. SANTOS, L.M.; WILSON, T.L.S.; NETO, L.M.; BORATO, C.E.; MELO, W.J.; BOLONHEZI, D. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latosolos). **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.1, p.94-97, 2008.

SENHORAS, E. M. Oportunidades da Cadeia Agroindustrial do Coco Verde: do coco verde nada se perde, tudo se desfruta. **Revista Urutágua**, Maringá, n.5, 2004.

SHAH, Z. A.; ASHRAF, M.; ISHTIAQ, M. Comparative Study on cultivation and yield Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (wheat straw, leaves, saw dust). **Pakistan Journal of Nutrition**, Pakistan, v. 3, n. 3, p.158-160, 2004.

SILVA, C.E.F. **Avaliação do potencial de uso do bagaço de laranja visando produção de etanol 2G.** In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. Florianópolis, 2014.

SILVA, E.C.F. **Produção de composto orgânico.** 2008. 31f. Monografia (curso superior de tecnologia em cafeicultura) - Escola Agrotécnica Federal de Muzambinho, Muzambinho, 2008.

SIMPSON, R. **Engineering Aspects of Thermal Food Processing**, United States: Taylor and Francis Group, USA, 2009. 513p.

SMITH, J. F.; WOOD, D. A.; THURSTON, C. F. Growth measurement of *Agaricus mycelium* in composed substrates as an indicator of compost selectivity and mushroom productivity. In: Elliot, T. J. (Org.) **Science and Cultivation of Edible Fungi**. Rotterdam: Balkmam, 1995. p. 787-793.

SOARES, R. N.; SILVA, A.C.; PINHEIRO, J.C. Tijolos de terra crua estabilizados com fibras de coco verde: alternativa para habitação de interesse social. In: XLVI

CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL. **Anais....** Rio Branco: SOBER. 2008.

SOON, Y. K.; ABBOUD, S. A comparison of some methods for soil organic carbon determination. *Cmmun. Soil Sci. Plant. Anal.*v. 22, n.9-10, p.943-954, 1991.

STAMETS, P., CHILTON, J. S. **The mushroom cultivator**. Washington: Agrikon Press, 1983. 342p.

STAMETS, P. **Growing gourmet e medicinal mushrooms**. ten speed press. Hong Kong: Berkeley, 1993, 554p.

STROM, P. F. Effect of temperature on bacterial species diversity in thermophilic solid-waste composting. **Applied and Environmental Microbiology.**, v. 50, n.4, p. 899-905, out., 1985.

STRAASTMA, G.; SAMSON, R.A.; OLIJNSMA, T.W.; HUUB, J.M.O.P.D.C.; GERRITS, J.P.G.; GRIENSVEN, L.J.L.D. Ecology of Thermophilic Fungi in mushroom compost, with Enphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth Stimulation of *Agaricus bisporus* Mycelium. **Applied and Environmental Microbiology.**, v.60, n.2, p. 454-458, fev., 1994.

SZÉKELY, A.; SIPOS, R.; BERTA, B.; VAJNA, B.; HAJDÚ, C.; MÁRIALIGETI, K. DGGE and T-RFLP Analysis of bacterial sucession during mushroom compost production and sequence-aided T-RFLP profile of mature compost. **Microbial Ecology.**, v. 57, n.3, p. 522-533, abr., 2009.

TAIWO, L. B.; OSO, B. A. Influence of composting techniques on microbial succession, temperature and pH in a compoting minicipal solid waste. **African Journal of Biotechnology.**, v.3, n.4, p. 239-243, abr., 2004.

TAVARES, M.F.F. **Pós-coco: agregação de valor na cadeia produtiva do coco verde.** **ESPM-central de cases.** 2010. Disponível em: <<http://www.espm.br/Publicacoes/CentralDeCases/Documents/POS-COCO.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2015.

TEIXEIRA, R. F. F. Compostagem. In: HAMMES, V.S. (Org.) **Educação ambiental para o desenvolvimento sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002, v.5, p.120-123.

TONINI, R.C.G.; SANTOS, F.; ISHIKAWA, N.K.; TAVARES, L.B.B. Utilização de Bainha mediana de palmito (*Euterpe edulis*) mart. *Arecaceae* como substrato de frutificação para o cultivo axênico de *Lentinula edodes* (beck.) Pegler. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.2, p.204-206, jul. 2007.

UFPR- **Universidade Federal do Paraná. Departamento de estatística**. Apostila estatística II.Paraná, 136p. Disponível em:<<http://www.est.ufpr.br/ce003/material/apostilace003.pdf>>. Acesso em: 22.jan.2016.

VEDDER, P.J.C. **Cultivo moderno del champignon**. Madrid: Mundi-Prensa, 1996. 369 p.

VELÁZQUEZ-CEDEÑO, M.; FARNET, A.M.; SAVOIE J.M. Role of *Bacillus* spp. in antagonism between *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma harzianum* in heat-treated wheat-straw substrates. **Bioresource Technology Journal**. v.99(15) 6966-732008 oct;

VILELA, H. **Série Gramíneas Tropicais - Gênero Panicum (*Panicum maximum* - Mombaca Capim)**. 2009. Disponível em: <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_gramineas_tropicais_panicum_mombaca.htm>. Acesso em: 27 jun. 2013

VOGEL, H. J. A conveniente growth medium for *Neurospora crassa*. **Genetics Bulletin**, n.13, p. 42-43. 1956.

WANG, S. H. L.; LOHR, V. I.; COFFEY, D. L. Spent mushroom compost as a soil amendment for vegetables. **Journal of the American Society for Horticultural Science**., v. 109, n. 5, p. 698-702, 1984.

ZADRAZIL, F; KURTZMAN, R. H. **The biology of Pleurotus cultivation in the tropics**. In: Chang, S.T. & Quimio, T. H., eds. 1984. Tropical Mushrooms. New York, Academic Press, 493p.

ZADRAZIL, F.; GRABBE, K. Edible mushrooms. In: Rehm, H-J.; Reed G. (Org.) **Biomass, vol.3. Biotechnology**, Weinheim: Chemie, 1983. p. 145-187.

ZANETTI, A. L.; RANAL, M. A. Efeito de diferentes resíduos agroindustriais na miceliação de *Pleurotus* sp. "Florida", em Uberlândia, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.3, p.215-200, mar.1996.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T.M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factor controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v.79, n.1-4, p.117-161, set. 1997.

ZERVAKIS, G., BALIS, C. Comparative study on the cultural characteres of *Pleurotus* species under the influence of different substrates and fruiting temperatures. **Micologia Neotropical Aplicada**, México, v.5, n.1, p.39-47, 1992.

ZUCCONI, F.; BERTOLDI, M. **Composts specifications for the production and characterization of composts from municipal solid waste**. In Compost: production, quality and use, M de Bertoldi, M.P. Ferranti, P.L'Hermite, F.Zucconi eds. **Elsevier Applied Science**, London, 30-50 p, 1987.