UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA

Ana Julia Carduci Neves

Desinfecção de substrato com solução alcalina e *Bacillus thuringiensis* na produção de *Pleurotus* spp.

Dracena
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA

Ana Julia Carduci Neves

Desinfecção de substrato com solução alcalina e *Bacillus thuringiensis* na produção de *Pleurotus* spp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Câmpus de Dracena como parte das exigências para graduação em Engenharia Agronômica.

Orientador: Prof. Dr. Diego Cunha Zied

Co-orientador: Prof. Dr. Wagner Gonçalves Vieira Júnior

Dracena

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Desinfecção de substrato com solução alcalina e *Bacillus thuringiensis* na produção de *Pleurotus* spp.

Modalidade: Trabalho de **Atividades de pesquisa**

Autor: Ana Julia Carduci Neves

Orientador (a): Prof. Dr. Diego Cunha Zied

Co-orientador(es): Prof. Dr. Wagner Gonçalves Vieira Júnior

Número de Créditos: 12

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 13/06/2025

Prof. Dr. Diego Cunha Zied	Prof. Dr. Evandro Pereira Prado	Asser Botelho Santana

Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – CCG-EA
Rod. Cmte. João Ribeiro de Barros, km 651- Bairro das Antas – CEP: 17900-000 – Dracena/SP - Brasil
Tel. (18) 3821-8200 – www.dracena.unesp.br – ccgea.dracena@unesp.br

DEDICATÓRIA

À estrela mais brilhante do céu, minha amada avó Valneide P. Carduci, e à minha querida avó Valdeci Neves, que sempre me inspiraram com seu amor e sabedoria. À minha mãe, Amanda Maria Carduci, e ao meu pai, Wudson Fred da Silva Neves, pilares da minha caminhada, à minha tia Aline Maria Carduci e seu esposo, Tiago dos Santos Pires, por todo o apoio e carinho. Se hoje cheguei até aqui, foi graças a cada gesto, ensinamento e incentivo de vocês.

.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por estar ao meu lado em todos os momentos, concedendo-me forças para superar cada desafio e enfrentar os sacrifícios desta jornada com fé e determinação.

Às minhas amadas avós, Valneide Pereira Carduci e Valdeci da Silva Neves, que dedicaram suas vidas à minha criação, com amor, cuidado e sabedoria.

À minha mãe, Amanda Maria Carduci, exemplo de força e ternura, que me ensinou que é possível enfrentar o mundo com coragem sem perder a delicadeza. Seu trabalho incansável e sua resiliência me formaram como mulher e como pessoa.

Ao meu pai, Wudson Fred da Silva Neves, cuja coragem ao encarar longas estradas tornou possível a realização do meu sonho. Cada quilômetro percorrido foi um gesto de amor e sacrifício que levarei para sempre no coração.

À minha tia, Aline Maria Carduci, e ao meu tio, Tiago dos Santos Pires, pelo apoio constante e carinho em cada etapa dessa caminhada.

Ao meu companheiro, Vinicius Rodrigues, por caminhar ao meu lado com amor, paciência e apoio incondicional, oferecendo-me força nos momentos de dúvida e acolhimento nas horas difíceis.

Aos amigos do grupo de estudos CECOG, que tornaram essa jornada mais leve e significativa, especialmente ao meu coorientador Wagner Vieira, por sua dedicação e apoio, e ao professor Diego Cunha Zied, por sua orientação e incentivo ao longo deste percurso.

Ás mordoras da república “Vaca-H” : Yasmin, Milene, Laura, Vitória, Maria Fernanda e Julia, obrigada por todo apoio e por nessa caminhada fazerem o papel de minha família.

“**Eu aprendi que coragem não é ausência de medo, mas o triunfo sobre ele. O homem corajoso não é aquele que não sente medo, mas aquele que conquista esse medo.**” (Mandela, Nelson 1994).

RESUMO

A produção de cogumelos no contexto brasileiro ainda permanece em níveis relativamente baixos. Isso se deve, em grande parte, a um nível tecnológico limitado e aos custos elevados de produção, parte dos custos é atribuída às perdas durante o processo de cultivo, por problemas relacionados a contaminações e infestações por pragas. A mosca do cogumelo (*Megaselia halterata)* representa uma das principais pragas que impactam a produção. Nesse contexto, é essencial aliar técnicas de baixo custo e controle biológico afim de aprimorar a produção. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da aplicação de *Bacillus thuringiensis* em substratos para o cultivo de *Pleurotus* spp., utilizando o método de desinfecção alcalina. Para tal fim, utilizou-se diferentes concentrações do produto comercial Dipel® (0, 50, 100, 150, 200 mL a cada 100 litros de solução) que foram aplicados juntamente com a solução de desinfecção. O substrato foi elaborado a partir de palhas de *Urochloa decumbens*, que foram submetidas a secagem e trituração, sendo posteriormente imersas em uma solução contendo 1% de $Ca(OH)_2$ e o produto Dipel® nas concentrações específicas. A inoculação foi realizada empregando as linhagens POF 19/03, POF 16/01 (*Pleurotus ostreatus* var. Florida) e PSA 14/01 (*Pleurotus sapidus*). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em duplicata. Além disso, o comportamento tanto do fungo quanto da bactéria foi investigado em meios de cultura baseados em BDA e BDA acrescido de 1% de $Ca(OH)_2$. A incorporação de cal hidratada prejudicou o desenvolvimento do micélio quando comparado ao meio de cultura convencional, afetando também o crescimento da bactéria. Consequentemente, a eficácia de *B. thuringiens* para o controle das moscas dos cogumelos não pôde ser confirmada devido à ineficácia do método de produção com substrato alcalino.

Palavras-chave: produção de cogumelos, baixo custo de produção, controle biológico.

ABSTRACT

Mushroom production in the Brazilian context remains at relatively low levels. This is largely due to limited technological development and high production costs, resulting in a product with reduced demand due to its high final price. A portion of these costs is attributed to losses during the cultivation process, which may be caused by environmental fluctuations, variations in substrate quality and fungal strains used, as well as issues related to contamination and pest infestations. The mushroom fly (*Megaselia halterata*) is one of the main pests affecting production, as its larvae feed on fungal mycelium, compromising mushroom quality and development. In this context, it is essential to combine low-cost production technologies with biological control strategies for mushroom flies in order to optimize the production of edible mushrooms. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of applying *Bacillus thuringiensis* to substrates used for the cultivation of *Pleurotus* spp. through an alkaline disinfection method. To this end, different concentrations of the commercial product Dipel® (0, 50, 100, 150, 200 mL per 100 liters of solution) were applied along with the disinfection solution. The substrate was prepared using *Urochloa decumbens* straw, which was dried and shredded, then immersed in a solution containing 1% $Ca(OH)_2$ and Dipel® at the specified concentrations. Inoculation was carried out using the strains POF 19/03, POF 16/01 (*Pleurotus ostreatus* var. *florida*), and PSA 14/01 (*Pleurotus sapidus*). The experiment followed a completely randomized design in duplicate. Additionally, the behavior of both the fungus and the bacterium was investigated in culture media based on PDA (Potato Dextrose Agar) and PDA supplemented with 1% $Ca(OH)_2$. The results indicated that the alkaline disinfection method is not effective for producing the two species studied. The incorporation of hydrated lime hindered mycelial development compared to the conventional culture medium and also affected bacterial growth. Consequently, the effectiveness of *B. thuringiensis* for controlling mushroom flies could not be confirmed due to the inefficiency of the alkaline substrate production method.

Keywords: mushroom production, low production cost, biological control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 0 1. Exemplificação de: matriz primária ou secundária, matriz terciária e inóculo. 23

Figura 02. Coleta e secagem da matéria prima do subtrato.. 24

Figura 03. Processo de produção de substrato. 25

Figura 04. Desenvolvimento de linhagens de *Pleurotus* spp. (A: POF 16/01, B: POF 19/03 e C: PSA 14/01) e *Bacillus thuringiensis* (D), sendo, x: meio de cultura BDA + 1% de Ca(OH)2 e y: BDA. A, C e D com 5 dias de inoculação e B com 10 dias 29

Figura 05. Desenvolvimento de *Pleurotus* spp. (A) juntamente com *Bacillus thuringiensis* em diferentes meios de cultura. 30

Figura 06. Regressão linear de crescimento micelial de linhagens de *Pleurotus* spp. em meio BDA com e sem a adição de Cal hidratada Ca(OH). 31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento de linhagens de *Pleurotus* spp. cultivadas em substrato preparado através de desinfecção alcalina e inoculado com *Bacillus thuringiens*. 28

Tabela 2 - Valores de pH e condutividade elétrica (µS/cm) do substrato.....29

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

POF	*Pleurotus ostreatus* var. Florida
PSA	*Pleurotus sapidus*
BDA	Ágar batata dextrose
$CA(OH)_2$	Hidróxido de cálcio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15
2. OBJETIVO 17
3. REVISÃO DE LITERATURA 17
3.1 Cogumelos comestíveis 17
3.2 Preparo do substrato 19
3.2.1 Solução alcalina 20
4. MATERIAL E MÉTODOS 23
4.1 Produção de inóculo 23
4.2 Formulação do substrato, inoculação, cultivo e colheita 24
4.1 Avaliação dos parâmetros agronômicos e delineamento experimental 25
4.1 Interação entre fungo e bactéria 26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 27
6. CONCLUSÃO 33
4. REFERÊNCIAS 34

1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos são apreciados não apenas por sua textura e sabor, mas também devido suas propriedades químicas e nutracêuticas. Dentre tais, fungos do gênero *Pleurotus* spp. possuem altos teores de proteínas (especialmente quando secos), além de propriedades medicinais, prevenindo doenças como a hipertensão, colesterol alto e até mesmo o câncer (Lesa *et al*., 2022).

Com o aumento da produção de cogumelos no Brasil, o panorama tem experimentado alterações significativas, uma vez que o *Agaricus bisporus*, amplamente consumido por décadas (champignon de Paris), está cedendo espaço ao *P. ostreatus* var. Florida, conhecido popularmente como shimeji branco (Sanchez *et al.,* 2018). A mudança no panorama de consumo pode ser atribuída à facilidade, rapidez e custo reduzido de produção das espécies de *Pleurotus*, juntamente com um ciclo de colheita curto e requerimentos elevados de temperatura para frutificação em comparação a produção do *A. bisporus* (Bernardi *et al*., 2009).

As principais fases do cultivo do shimeji branco compreendem a produção de inóculo, a preparação do substrato, a inoculação, o crescimento do micélio e a produção de cogumelos. Entre essas etapas, a preparação do substrato é uma área de considerável interesse para a comunidade científica, uma vez que diversos procedimentos de tratamentos sanitários têm sido propostos com o propósito de mitigar a presença de microrganismos contaminantes e pragas (Hernández *et al*., 2003; Jaramillo; Albertó, 2013; Colavolpe *et al.,* 2014).

O procedimento predominante na contemporaneidade é a compostagem e pasteurização com vapor, embora seja necessário destacar que este tratamento demanda um investimento substancial e implica em elevado consumo energético (Ali *et al*., 2007; Rodriguez Estrada; Pecchia, 2017), o que torna inviável a implementação em pequenas propriedades rurais de cunho familiar.

O tratamento alcalino se apresenta como uma abordagem mais simplificada, oferecendo diversas vantagens, tais como baixo custo de instalação e manutenção, um tempo reduzido de preparação do substrato e uma maior variabilidade na utilização de matérias-primas (Philippoussis *et al*., 2001; Contreras *et al*., 2004). Os principais materiais estudados ao aplicar esse método incluem folhas de bananeira, capim, sabugo de milho e palha de milho (Contreras *et al*., 2004; Bernabé- González *et al*., 2009).

O tratamento alcalino aplicado a substratos compostos por braquiária tem se mostrado promissor no cultivo de variedades de shimeji, resultando em altos níveis de produtividade. Contudo, ainda persiste o desafio relacionado à presença de larvas de moscas, que não são completamente eliminadas durante o processo. Essa situação foi observada em estudos que avaliaram a eficiência desse método no controle de pragas e no desempenho produtivo dos cogumelos (Iossi *et al*., 2018).

É conhecido que o tratamento alcalino demonstra eficácia na diminuição de populações de fungos e bactérias contaminantes, no entanto, é imperativo buscar alternativas para mitigar os desafios relacionados à presença de larvas de insetos. Deve-se levar em consideração que a implementação de tecnologias de cultivo não pode implicar em mudanças abruptas no processo já estabelecido nas propriedades dos pequenos produtores (Maruška *et al*., 2024).

Deste modo, considera-se que a aplicação de agentes biológicos pode ser combinada com agentes químicos, como uma solução alcalina, visando aprimorar a produção de shimeji. Nesse contexto, planejamos introduzir diferentes populações de *B. thuringiens* na solução alcalina para controlar as larvas de moscas *M. halterata,* uma vez que estas larvas se alimentam tanto do micélio quanto dos cogumelos.

Trata-se de uma bactéria Gram-positiva amplamente utilizada como bioinseticida, devido à sua capacidade de produzir proteínas conhecidas como Cry (cristalinas). As toxinas Cry são eficazes contra uma variedade de insetos, sendo especialmente potentes contra espécies das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera assim como alguns hymenópteros e até mesmo nematoides (Kumar *et al*., 2021).

A combinação do tratamento alcalino do substrato com a aplicação de controle biológico, como o uso de *B. thuringiens*, apresenta-se como uma alternativa promissora para pequenos produtores de cogumelos. Essa abordagem demanda menor investimento em comparação aos métodos convencionais de desinfecção, como a pasteurização ou a esterilização, tornando-se uma opção viável para sistemas de cultivo com recursos limitados. Além disso, este estudo representa um passo inicial na avaliação da compatibilidade entre o método alcalino e o uso de agentes biológicos, contribuindo com informações relevantes para o desenvolvimento de tecnologias acessíveis e sustentáveis na produção de cogumelos comestíveis.

2. OBJETIVO

O presente estudo visa a avaliação dos impactos decorrentes da incorporação de *B. thuringiensis* na solução alcalina no contexto da produção de substrato destinado à cultura de *P. ostreatus* var. Florida e *P. sapidus*, utilizando um substrato fabricado por meio do método de desinfecção alcalina, bem como investigar as interações entre os dois microrganismos em um ambiente de cultivo e verificar a sua compatibilidade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cogumelos comestíveis

Os fungos compõem o Reino fungi, apesar de terem sido considerados plantas no passado, eles obtêm seus alimentos por digestão extracelular, sendo caracterizado, portanto, como: heterotróficos, o que os tornam diferentes de outros animais e plantas (Tortora, 2024).

O impacto desses organismos pode ser observado ecologicamente em razão ao seu papel de decompositores de matéria orgânica, relacionando a esses indivíduos interesse na reutilização de resíduos agroindustriais. Além do mais, seu papel na promoção de um ecossistema equilibrado, garante a biodiversidade sob uma relação cooperativa entre flora e fauna (Carvalho, 2024).

O hábito de coleta e consumo de fungos comestíveis é comum em muitos países, refletindo a diversidade cultural em torno desses alimentos (Pereira, 2023). Do ponto de vista nutricional, os cogumelos são contituídos por vitaminas, minerais, aminoácidos essenciais, fibras, além de possuir baixo teor de gordura e sódio (Chayakrit Kittanawong *et al*., 2020).

O consumo de cogumelos per capita no Brasil ainda é baixo, em torno de apenas 288g/ano, contra 1,3 Kg/ano na Itália, 2,0 Kg/ano na França, 4,0 Kg/ano na Alemanha e 8,0 Kg/ano na China. Parte do problema acontece devido o cultivo de cogumelos em escala comercial ser baixo no país e restrita às regiões Sul e Sudeste. Sendo São Paulo o estado que mais produz e consome (Urben *et al*., 2017).

Segundo Capra *et al*., (2019), no Brasil, os cogumelos mais consumidos, em ordem decrescente, são o Champignon de Paris (*A. bisporus*), shimeji (*P. ostreatus*) e o shiitake (*Lentinula edodes*), sendo o primeiro em conserva e os últimos dois *in natura.*

O interesse dos brasileiros por comida oriental análogo a ascensão do segmento de restaurantes japoneses no período de 2005 a 2010, auxiliou no aumento do consumo de cogumelos frescos no país. Diante deste cenário, produtores de cogumelos optaram por investir no cultivo de shimeji e o shiitake (Cabrera *et al*., 2020).

3.1.1 **Shimeji – Gênero *Pleurotus* spp.**

Popularmente conhecido como: shimeji, ou hiratake, esse cogumelo pertence ao Reino Fungi, Filo: *Basidiomycota*, Ordem *Agaricales*, da Família *Pleurotaceae*, trata-se de uma espécie comestível, onde apresenta-se corpos frutíferos carnosos de coloração branca ou creme, haste curta, cilíndrica e crescimento em conjunto (Urben *et al*., 2017).

Dentre as características nutricionais destes fungos, a que se destaca é ser decompositor primário, se alimentam tanto de lignina quanto de celulose e hemicelulose presente no substrato (Moura; Okura, 2022).

O cultivo desses cogumelos em grande escala acontece de maneira sustentável, utilizando resíduos agrícolas como substrato para o desenvolvimento do fungo, auxiliando na reciclagem desses resíduos (Zárate-Salazar *et al*., 2020).

O gênero *Pleurotus* vem se tornando o mais importante, sendo representado pelas espécies *P. ostreatus var.* Florida (shimeji branco), *P. ostreatus* (shimeji preto), *Pleurotus djamor*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Pleurotus eryngii* (cogumelo ostra rei ou cogumelo-do-cardo) (Zied *et al.,*2023).

Os cogumelos deste gênero possuem alto teor de proteína e baixo teor de gordura, alto teor de fibra alimentar, ácido fólico e potássio, além de serem uma boa fonte de aminoácidos. Esses fungos comestíveis podem ser cultivados em resíduos agroindustriais de fácil acesso, o que contribui para a viabilidade de sua produção em contextos econômicos limitados (Raman *et al*., 2021).

Além dos benefícios nutricionais direcionados á saúde humana, os basidiomicetos deste gênero são populares por seu fácil cultivo, simples adaptação e manutenção e o baixo custo, o que torna as suas espécies particularmente interessantes do ponto de vista comercial (Cardoso *et al*., 2013).

Para um desenvolvimento eficiente, é fundamental que o substrato apresente uma proporção equilibrada entre carbono e nitrogênio (C/N), sendo ideal uma faixa de 10 – 30% de carbono e cerca de 1% de nitrogênio durante a fase de colonização micelial.

Outro aspecto importante é a umidade do substrato, já que o transporte de nutrientes ocorre em meio aquoso. Teores elevados de umidade podem dificultar a respiração celular e inibir o crescimento do micélio. Para espécies do gênero *Pleurotus*, recomenda-se que a umidade do substrato esteja entre 50% e 75%, favorecendo a colonização e o desenvolvimento micelial. (Bellettini *et al*., 2019)

Além disso, o pH do substrato exerce influência direta no desenvolvimento dos fungos, variando conforme a fase de crescimento e a espécie. Sardar *et al*. (2015) observaram que um pH de 6,0 era ideal para o crescimento de *Pleurotus* spp. no entanto, eles também relataram que os cogumelos podiam crescer e se adaptar a um pH que variava entre 5,0 e 8,0.

3.2 **Preparo do substrato**

A elaboração do substrato de cultivo, se trata da etapa mais importante da produção, pois determina a produtividade e seus custos. O preparo do substrato, deve reproduzir um ambiente que estimule a transformação da biomassa vegetal em biomassa fúngica (cogumelos). A depender da espécie a ser cultivada, a demanda nutricional também é alterada, interferindo na escolha de cada material para cultivo (VIEIRA, 2016).

A relação C/N (carbono e nitrogênio) é um fator crucial no cultivo de cogumelos, influenciando tanto a colonização do substrato, como na produtividade final. No cultivo axênico, isto é, quando o substrato é submetido a uma esterilização, a relação C/N ideal do *Pleurotus* spp. está entre 20 á 50/1 (EIRA, 2004).

Segundo Moda *et al*., (2005) os cogumelos deste gênero possuem uma produção simplificada cujo as matérias primas utilizadas são abundantes e baratas como: palha, capim e bagaço de cana-de-açúcar além do rápido ciclo produtivo.

Pragas como as larvas de moscas prejudicam o cultivo de cogumelos do tipo ostra ao se alimentarem dos primórdios. Os mosquitos-dos-fungos *(Bradysia matogrossensis*) também atuam como vetores de doenças, como o mofo verde, e podem contaminar os cogumelos mesmo após mortos, ao aderirem aos corpos de frutificação (Machado, 2019).

Segundo Nunes (2016), os métodos de cultivo de cogumelos atuais, utilizam as seguintes técnicas de sanitização do substrato sendo eles: esterilização e

pasteurização, esses métodos apresentam sucesso na produção comercial de várias espécies de cogumelos.

Quanto ao tratamento do substrato, que é indispensável na diminuição de microrganismos competidores, técnicas como a imersão em soluções alcalinas, compostagem, pasteurização por vapor e imersão em água quente, vem sendo utilizados por pequenos agricultores, apesar de não serem as mais eficientes (Sánchez; Andrade, 2013).

A desinfecção dos resíduos utilizados como substrato é crucial para os parâmetros de produção como: taxa de contaminação, produtividade, tempo e a eficiência da colonização micelial, o rendimento da produção e a qualidade dos corpos de frutificação. A escolha do método a ser utilizado deve ser baseado na eficiência, custo e acessibilidade (Caballero *et al*., 2024).

Segundo Tartari (2023), os métodos de substrato mais utilizados para a produção dos basidiomicetos *Pleurotus* spp. são a esterilização e a pasteurização. Todavia trata-se de métodos cujo investimento inicial são elevados, além de demandar de mão de obra especializada, o que torna sua implementação inviável á pequenos produtores.

3.2.1 **Solução alcalina**

A desinfecção de substrato por meio de imersão em água alcalinizada é simples: o substrato é submerso em água alcalinizada por um período pré-determinado posteriormente drenado até atingir 65%-70% de umidade, em seguida o substrato é ensacado e segue as etapas de inoculação normalmente (Contreras *et al*., 2004).

A técnica de imersão alcalina é um método simples caracterizado pela imersão dos substratos em água com cal ($Ca(OH)_2$) por 12 a 48 horas. Contudo os principais problemas desta técnica envolvem sobrevivência de ovos de mosca, risco de contaminação bacteriana e menor eficiência biológica (Gowda; Manvi, 2020).

Esta técnica consiste em aumentar o pH dos substratos em niveis alcalinos, inibindo o crescimento de microrganismos contaminantes sem afetar o crescimento do fungo *Pleurotus* spp. (Casteliano *et al*., 2022).

Nunes (2016), observou que a imersão de substrato em cal hidratada a 2% reduz em 90% a população de microrganismos contaminantes. Sendo capim elefante, bagaço de cana-de-açúcar e serragem com farelo de arroz substratos mais adequados para a técnica. Além disso métodos de imersão alcalina rápida, são técnica econômicas eficazes e rápidas para a produção de *P. ostreatus* var Flórida.

3.3 ***Bacillus thuringiensis***

B. thuringiens, é um entomopatógeno, considerado uma das bactérias mais importantes na fabricação de inseticidas biológicos. Sua ampla gama de toxicidade a insetos vetores de agentes patogênicos, o confere interesse científico (Viana *et al*., 2021).

Esta bactéria, pertencente à família *Bacillaceae*, é Gram-positiva e forma esporos, encontrados naturalmente em vários tipos de solo e ambiente (Singh *et al*., 2024). As toxinas Cry formadas nessas bactérias são responsáveis pelo controle de várias ordens de insetos como os lepidópteros, dípteros, himenópteros, coleópteros, assim como nematoides, ácaros e protozoários (Santos; Cordeiro, 2022).

As proteínas inseticidas Cry, Cyt e Vip são ativadas em pH 9 -11 por proteases do hospedeiro (quebra ligações peptídicas entre aminoácidos, resultando na degradação de proteínas), deste modo ligam-se aos receptores do intestino médio das larvas, formando poros na membrana celular, causando choque osmótico, ruptura iônica, degradação celular, paralisia e morte do inseto por inanição (Liu *et al*., 2021).

A exploração da utilização do *B. thuringiens* como biopesticida maximiza o potencial deste e de outros biopesticidas, favorecendo o cenário de produções sustentáveis (Kumar *et al*., 2021). Até o momento, a maioria dos estudos tem avaliado o uso de formulações de *B. thuringiens* na proteção de cultivos de *A. bisporus* contra insetos da ordem Diptera. Keil (1991) relatou que a aplicação do *B. thuringiens* var Israelenses ABG-6193 foi eficaz na redução das populações de *Lycoriella ingenua* e *M. halterata* (Diptera: Phoridae), resultando em impacto positivo sobre a produção de cogumelos *A. bisporus*.

Erler *et al*., (2009) também observaram que a aplicação do *B. thuringiens* var. Israelensis ABG-6193 foi eficiente na redução dos danos causados pelas larvas de *M. halterata* no cultivo de *A. bisporus*, sendo que a emergência de adultos não apresentou diferença significativa em relação ao substrato tratado com clorpirifós.

Por outro lado, Jess; Schweizer (2009) relataram que o uso do *B. thuringiens* var*. israelensis* não foi eficaz na redução das populações de *Lycoriella solani* (Diptera: Sciaridae) emergentes do composto utilizado para o cultivo de *A. bisporus*, tampouco proporcionou benefícios à produtividade.

Em *Pleurotus* spp. os estudos estão no início, Wang *et al*., (2020) apontou que cepas de *B. thuringiens* não inibiram o crescimento de hifas de *P. ostreatus* e *Pleurotus geesteranus* Singer. Assim como Anderson *et al*., (2021) aponta que a bacteria *B. thuringiens* var. Iraselenses não afeta o crescimento micelial de *Pleurotus columbinus* e *P. Ostreatus,* quando aplicada a estes gêneros um número significativamente menor de adultos emergiu da palha tratada com *B. thuringiens* var. Iraselenses em comparação com *S. feltiae*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado no Centro de Estudo em Cogumelos, da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT/UNESP). Os experimentos foram realizados em duplicata, testando a aplicação de diferentes dosagens de *B. thuringiensis* conciliado ao tratamento de desinfeção alcalina para a produção de *P. ostreatus* var. Florida e *P. sapidus*. Também foram realizados testes de interação entre o fungo e a bactéria em placas de Petri.

4.1 Produção de inóculo

O inóculo foi preparado de acordo com a metodologia proposta por Moreaux (2017). Foram utilizadas 3 espécies, sendo duas linhagens de *P. ostreatus* var. Florida (POF 16/01 e 19/03), e uma linhagem de *P. sapidus* (PSA 14/01). O processo de preparação incluiu a geração de matrizes primárias, secundárias, terciárias e do inóculo. As matrizes primárias e secundárias foram confeccionadas empregando o meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar). A fim de produzir a matriz terciária e o inóculo, grãos de sorgo foram selecionados e submetidos a um pré-tratamento de cozimento por um período de 40 minutos, sendo posteriormente acrescidos com 2% de calcita, em seguida, foram esterilizados por autoclavagem a uma temperatura de 121 °C 1 ATM por um período de 2 horas (Figura 01).

Figura 01. Exemplificação de: matriz primária ou secundária, matriz terciária e



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2 Formulação do substrato, inoculação, cultivo e colheita

O substrato foi constituído a base de palha de *U. decumbens* coletada na unidade da UNESP/FCAT, localizada em Dracena-SP, previamente cortada e seca ao céu aberto durante 7 dias (Figura 02). Ao final, foram trituradas em partículas de aproximadamente 5cm.

Figura 02. Coleta e secagem da matéria prima do subtrato.



Fonte: Elaborado pela autora.

Após secagem e trituração, a palha foi submersa em solução de 1% de $Ca(OH)_2$, sendo 3,5kg (peso seco) de palha para cada 100 litros de solução. Para adição da bactéria *B. thuringiensis* utilizou-se o produto comercial Dipel® o qual foi diluído na solução em diferentes dosagens, sendo: 0, 50, 100, 150 e 200 mL por 100 litros de solução. Em todas as soluções a palha foi submersa durante 20 minutos e posteriormente drenada durante 60 minutos a céu aberto (Figura 03). Ao final, 2kg do substrato foi acomodado em sacos plásticos contendo 20 furos de aproximadamente 2cm de diâmetro com distância de 10cm, inoculados a 2% e em seguida incubados em uma temperatura de 26 ± 3°C e umidade de 85 ± 5% seguindo a metodologia proposta por Iossi *et al*., (2018).

Após a inoculação, foi realizada a análise do pH e condutividade elétrica (CE) da solução dos substratos tratados. Para isso, amostras da água utilizada na imersão de cada tratamento foram coletadas e analisadas individualmente, utilizando medidores digitais previamente calibrados. O objetivo foi verificar as variações físico-químicas provocadas pelas diferentes concentrações do produto Dipel® e pela presença do hidróxido de cálcio $Ca(OH)_2$ na solução de tratamento.

O cultivo foi realizado por aproximadamente 60 dias, onde se pretendia obter 3 fluxos de produção. Durante este período, a sala de cultivo permaneceu com

temperatura e umidade idênticas ao período de incubação (Figura 03). A colheita foi realizada respeitando-se o ponto ideal, ou seja, antes da total abertura do píleo. Ao final, os cogumelos foram pesados e contados para determinação dos parâmetros agronômicos.

Figura 03. Processo de produção do substrato



Fonte: Elaborado pela autora.

4.1 Avaliação dos parâmetros agronômicos e delineamento experimental

Os cogumelos colhidos e pesados foram avaliados quanto a: número de cogumelos (u), número de pencas (u), massa média de cogumelos (g), produtividade (massa fresca de cogumelos *100/2000, expresso em porcentagem). Os dados foram submetidos à análise estatística com nível de significância de 5%, utilizando-se o teste de médias de Tukey e a regressão linear, por meio do software Sisvar. Os experimentos de produção foram conduzidos em esquema de fatorial duplo, em um delineamento inteiramente casualizado, sendo o primeiro fator três diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. (POF 16/01, POF 19/03 e PSA 14/01) e o segundo fator constituído de doses da bactéria *B. thuringiensis* utilizando-se o produto Dipel® nas proporções de o qual foi diluído na solução em diferentes dosagens, sendo: 0, 50, 100, 150 e 200 mL a cada 100L de solução. Todos os tratamentos contaram com 10 repetições, sendo o experimento realizado duas vezes (duplicata).

4.1 Interação entre fungo e bactéria

O estudo de interação entre o fungo e a bactéria, foram conduzidos em esquema de fatorial duplo, em um delineamento inteiramente casualizado, sendo o primeiro fator três diferentes linhagens de *Pleurotus* spp. (POF 16/01, POF 19/03 e PSA 14/01) e o segundo fator constituído de doses da bactéria *B. thuringiensis* utilizando-se o produto Dipel® nas proporções: 0, 50, 100, 150 e 200 mL para cada 100L de solução. Para isso, foram preparados dois meios de cultura que simulam as condições do substrato utilizado no cultivo do fungo: BDA convencional e BDA suplementado com 1% de $Ca(OH)_2$. As linhagens fúngicas, assim como a bactéria *B. thuringiens*, foram cultivadas em ambos os meios, permitindo a avaliação de seu desenvolvimento em ambiente alcalino.

A interação entre o fungo e a bactéria foi analisada seguindo o "método da cultura pareada" (Costa; Rocha; Freitas, 2019). Foram utilizados o produto comercial DIPEL® e as três linhagens de *Pleurotus* spp. (POF 16/01, 19/03 e PSA 14/01) conservadas na micoteca do laboratório do CECOG da Unesp de Dracena – SP. As linhagens foram cultivadas em placas de Petri com meio BDA incubadas em temperaturas de 26°C. Para a análise de interação foram retirados cilindros de ágar de 5 mm de diâmetro contendo as linhagens citadas. Para a inoculação da bactéria, foi coletado o produto comercial Dipel® com o auxílio de uma pipeta regulável com capacidade de 100 µL, e despejado sobre a superfície do meio de cultura nas placas, o inóculo foi espalhado sobre a superfície do meio com o auxílio de e uma alça de Drigalsky por meio do estriamento bacteriano.

Os cilindros de meios de cultura contendo as espécies de fungos, foram colocados em polos opostos ao esfregaço com a bactéria, a 1 cm da borda interna da placa de Petri onde foram realizados os ensaios. Durante a incubação, foi analisado se houve antagonismo ou inibição, do crescimento do fungo ou da bactéria.

Com o objetivo de avaliar como os microrganismos interagem com o meio alcalino, foram preparados dois tipos de meio de cultura em placas de Petri: o meio BDA convencional e o meio BDA suplementado com 1% de cal $Ca(OH)_2$. A suplementação com cal foi realizada durante o preparo do meio, adicionando-se 1% de $Ca(OH)_2$ em relação à quantidade total de meio preparado (peso/volume). As placas foram preparadas seguindo os protocolos tradicionais de vertimento, e, posteriormente, realizou-se a inoculação dos microrganismos em ambos os meios. Deste modo, os testes foram realizados em "quadricatas", utilizando como controle as

placas com meio tradicional contendo somente o fungo, somente a bactéria e analisando também a interação entre fungo e bactéria.

As análises foram realizadas em câmara de fluxo laminar e todo material usado foi submetido a desinfecção em autoclave a 121°C a 1 ATM.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante um período de 60 dias, ambos os experimentos (realizados em duplicata) foram meticulosamente monitorados. No entanto, não se obteve sucesso em seu desenvolvimento, uma vez que todos os tratamentos não conseguiram efetuar a colonização completa do substrato. Isso permitiu a proliferação de contaminantes e resultou em rendimentos que não atingiram níveis estatisticamente significativos. Como consequência, a utilização e a análise estatística dos dados coletados tornaram-se inviáveis. É importante notar que as médias adquiridas indicam que a linhagem POF 19/03 apresentou as médias mais altas de colonização quando exposta a doses de 50 e 150 ml de Dipel® por 100 litros de solução. Contudo, é relevante mencionar que a colonização completa dos sacos de substrato não foi observada (Tabela 01).

No que se diz respeito os rendimentos agronômicos, a maior produtividade foi observada no tratamento com a linhagem PSA 14/01 com 9,78%, seguida da linhagem POF 19/03 com 5,15%, consequentemente, para número de pencas e cogumelos e massa média de cogumelos, estes tratamentos obtiveram as melhores médias. A ausência de resultados em grande parte das repetições, assim como a grande variância dos dados, impossibilitou o tratamento estatísticos e a utilização de teste de médias (Tabela 01).

Tabela 01. Rendimento de linhagens de *Pleurotus* spp. cultivadas em substrato preparado através de desinfecção alcalina e inoculado com *Bacillus thuringiens*.

Dose de Dipel (mL)	Linhagem	Colonização final (%)	Colheita			
			N° pencas	N° Cogumelos	Massa (g)	Produtividade (%)
0		15	0.16	1.16	1	0.05
50		10	0	0	0	0
	POF					
100	16/01	5	0	0	0	0
150		15	0	0	0	0
200		12	0	0	0	0
0		12	0.16	0.5	4.5	0.22
50		60	0.16	0.16	13.66	0.68
	POF					
100	19/03	17	0	0	0	0
150		80	1.33	4.33	103	5.15
200		30	0.33	3.16	24	1.2
0		20	0.5	24.16	195.6	9.78
50		17	0	0	0	0
	PSA					
100	14/01	10	0	0	0	0
150		22	0	0	0	0
200		24	0.33	0.33	24	1.2

Figura 2 Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados obtidos para os parâmetros de pH e condutividade elétrica (CE) (Tabela 02) indicam que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos avaliados, conforme demonstrado pelo teste de agrupamento de médias ($p > 0,05$). Os valores de pH mantiveram-se elevados em todos os tratamentos, situando-se entre 11,87 e 11,99, o que confirma a eficiência da solução alcalina na elevação da alcalinidade do substrato. De forma semelhante, os valores de condutividade elétrica oscilaram entre 8180 e 9150 µS/cm, mantendo-se em níveis altos, o que pode refletir a presença de íons solúveis resultantes da alcalinização.

A ausência de variação estatisticamente significativa em ambos os parâmetros sugere que as diferentes doses testadas não exerceram influência marcante na alteração das características químicas do substrato avaliadas neste experimento.

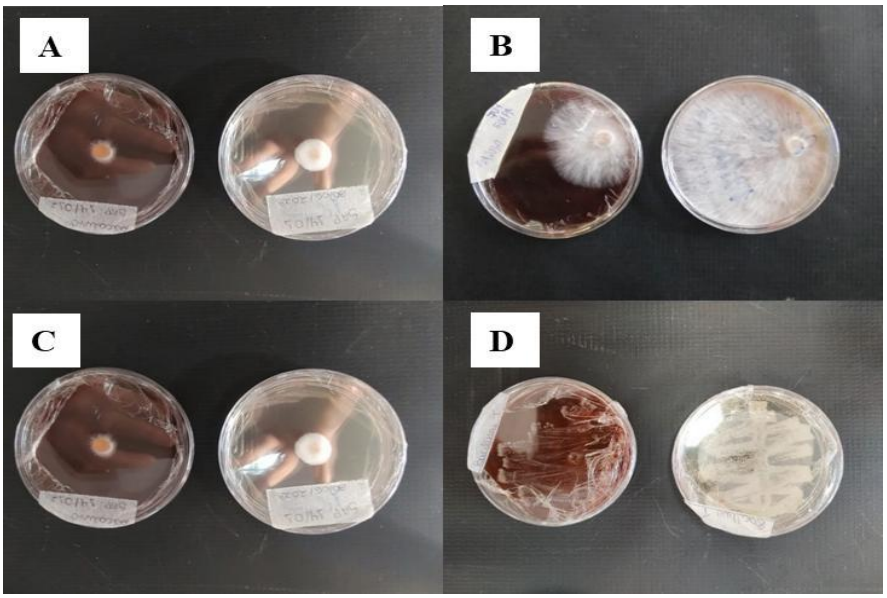
Tabela 02 - Valores de pH e condutividade elétrica (µS/cm) do substrato.

Dose de Dipel (mL)	pH	Condutividade Elétrica (µS /cm)
50	11,89 A	9.150 A
100	11,99 A	8.900 A
150	11,87 A	8.180 A
200	11,95 A	9.150 A

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Fonte: Elaborado pela autora.

O desenvolvimento de fungos e bactérias foi claramente afetado quando a concentração de $Ca(OH)_2$ foi utilizada a 1%. É evidente que o crescimento é mais rápido e robusto quando apenas o meio BDA é empregado (Figura 04).

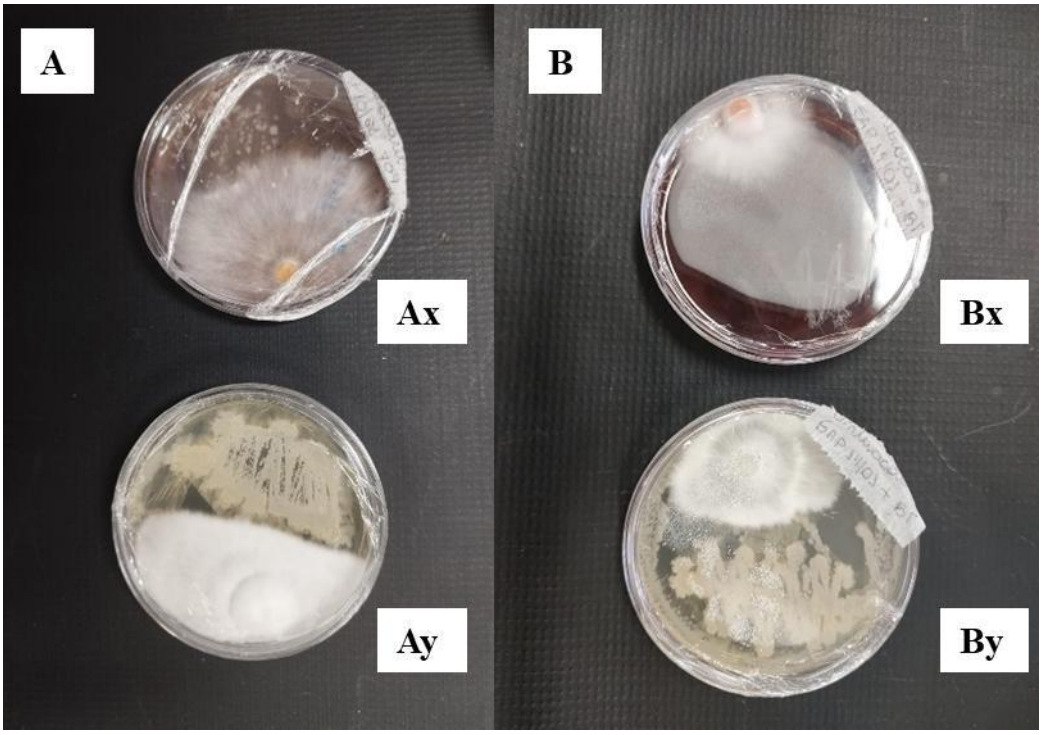
Figura 04. Desenvolvimento de linhagens de *Pleurotus* spp. (A: POF 16/01, B: POF 19/03 e C: PSA 14/01) e *Bacillus thuringiensis* (D), sendo, x: meio de cultura BDA + 1% de Ca(OH)2 e y: BDA. A, C e D com 5 dias de inoculação e B com 10 dias



Fonte: Elaborado pela autora.

Não foram observados indícios de antagonismo entre o fungo e a bactéria, como inibição de crescimento micelial ou formação de zonas de inibição nas placas de Petri conforme ilustrado (Figura 05). No entanto, é perceptível que a bactéria enfrenta consideráveis desafios de desenvolvimento em meios de cultura com a adição de $Ca(OH)_2$. Essa complexidade pode estar relacionada à neutralização do pH ocasionada pelo hidróxido de cálcio, o que interfere nas condições ideais para o crescimento bacteriano (Vu *et al*., 2009; West *et al*., 1985).

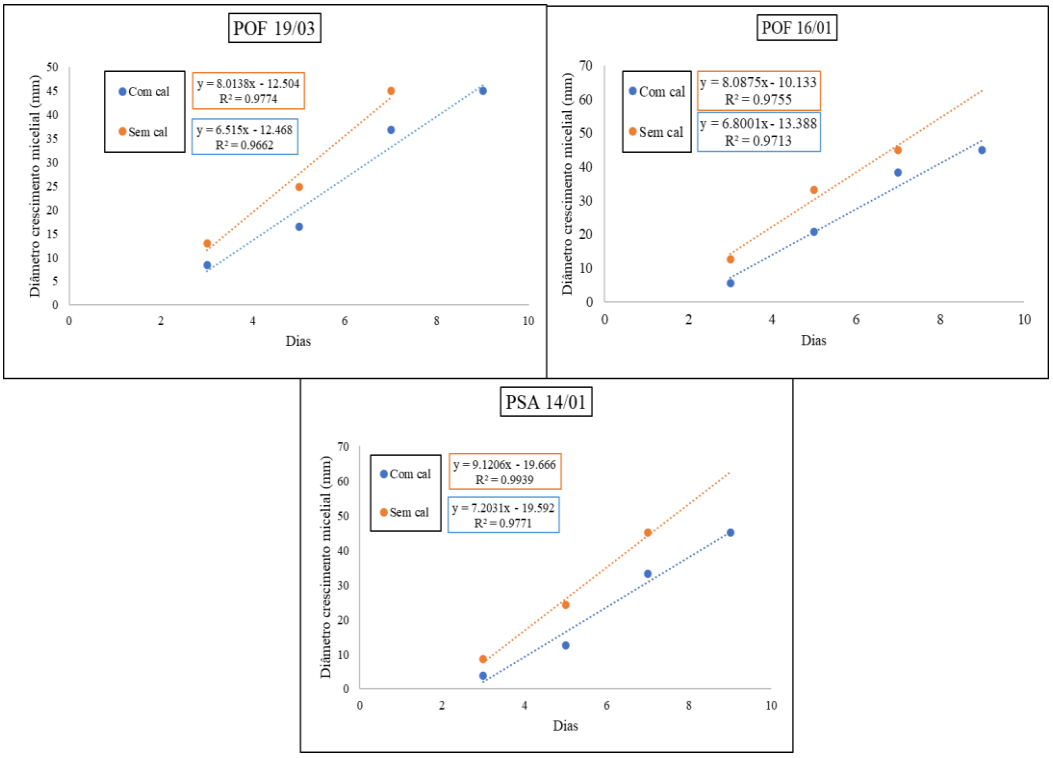
Figura 05. Desenvolvimento de *Pleurotus* spp. (A) juntamente com *Bacillus thuringiensis* em diferentes meio de cultura.



Fonte: Elaborado pela autora.

Para as linhagens de *Pleurotus*, também se observou um atraso e uma redução na robustez da colonização quando a solução alcalina foi empregada. No caso do meio de cultura acrescido de Ca(OH)2, foi necessário um número maior de dias para a colonização da placa em comparação com o meio de cultura contendo apenas BDA (Figura 06).

Figura 06. Regressão linear de crescimento micelial de linhagens de *Pleurotus* spp. em meio BDA com e sem a adição de Cal hidratada Ca(OH).



Fonte: Elaborado pela autora.

A aplicação da técnica de desinfecção alcalina é considerada um desafio em termos de eficácia. Conforme destacado por Aguiar *et al*., (2021), a produção utilizando essa técnica enfrenta dificuldades, onde os autores concluíram que níveis de pH excessivamente alcalinos devido à alta concentração de cal prejudicam a colonização do substrato e impactam negativamente na formação dos corpos de frutificação dos cogumelos.

Conforme destacado por (Zhao *et al*., 2021), o potencial hidrogeniônico tem influência direta nas proteínas dos cogumelos *Pleurotus* spp. Em condições alcalinas a solubilidade de proteínas derivadas de *P.ostreatus* atingem um pico de solubilidade, sofrendo mudanças estruturais devido a interações eletrostáticas alteradas.

A faixa de pH considerada ideal para o desenvolvimento dos cogumelos é variável, porém, deve situar-se entre 4,0 e 7,0 durante a fase de colonização micelial e entre 3,5 e 5,0 durante a formação dos basidiocarpos (Belletini *et al*., em 2019). A falta de uma faixa de pH adequada pode afetar o crescimento do fungo e a absorção de nutrientes (Khan *et al*., 2013).

Conforme destacado anteriormente por Aguiar (2021) em relação aos tratamentos alternativos aplicados aos substratos, os métodos que envolveram a imersão em cal, imersão em água quente e o uso de peróxido de hidrogênio não demonstraram eficácia na melhoria da produção de cogumelos. Esses métodos resultaram na ausência de produção de cogumelos ou na obtenção de rendimentos muito baixos. De forma contraria, Contreras *et al*., (2004) afirmaram que a técnica de imersão em cal é eficiente, principalmente para o controle de *Trichoderma* spp. devido a alcalinidade do substrato.

Mesmo na ausência de variáveis que atestem a eficácia da aplicação do produto Dipel® no controle de moscas de cogumelos, é evidente que, ao cultivar o microrganismo em placas contendo meio de cultura, a inclusão de cal hidratada e, consequentemente, o aumento do pH têm um impacto negativo no crescimento da bactéria, podendo comprometer sua sobrevivência no substrato. Isso torna desaconselhável a sua utilização em conjunto com o método de desinfecção alcalina.

Embora a literatura demonstre que o *B. thuringiens* dependa de um meio alcalino para que suas toxinas cristalinas sejam solubilizadas e ativadas (Pinto, 1998), essa ativação ocorre de forma eficaz apenas dentro do intestino dos insetos, onde, além do pH elevado, há condições biológicas muito específicas. Um substrato agrícola tratado com cal torna um meio quimicamente semelhante, mas biologicamente diferente do intestino do inseto (Peng, Qi *et al*., 2025).

Segundo Peng *et al*., (2025), o *B. thuringiens* ativa genes associados à sobrevivência e virulência ao ser exposto ao pH alcalino do intestino de insetos, como ldh2 e lpm1, que promovem o metabolismo lactato–piruvato, liberando H^+ para manter o equilíbrio do pH intracelular. Considerando esse mecanismo de adaptação, pode-se hipotetizar que a exposição prévia do *B. thuringiens* a um meio alcalino, antes da ingestão pelo inseto, poderia comprometer sua resposta adaptativa natural, reduzindo sua eficácia entomopatogênica. No entanto, essa possibilidade ainda requer investigação experimental.

As proteínas tóxicas do *B. thuringiens* são sensíveis a condições ambientais extremas. Em um substrato com pH 10–11 essas proteínas podem se desnaturar ou degradar, perdendo sua atividade antes mesmo de serem ingeridas pelos insetos, essa perda de eficácia foi evidenciada pela ocorrência de infestação por insetos, mesmo com a aplicação de diferentes doses de Dipel® no substrato.

6 CONCLUSÃO

A desinfecção alcalina realizada com cal hidratada $Ca(OH)_2$ não foi eficiente na produção de *P. ostreatus* var. Florida e *P. sapidus* devido à baixa taxa de colonização e à ausência de colheita durante o cultivo. Embora não tenha sido possível confirmar a eficácia de *B. thuringiensis* no controle de moscas dos cogumelos, os resultados sugerem que a elevada alcalinidade do substrato pode ter comprometido a viabilidade ou a ação da bactéria.

4 REFERÊNCIAS

ADEBAYO, G.; OMOLARA B.; TOYIN A. Evaluation of yield of oyster mushroom (Pleurotus pulmonarius) grown on cotton waste and cassava peel**. African J Biotechno**l, v.8, n.2, p.215–218, 2009.

ANDERSON, V.; SWARD, G.; RANGER, C.; REDING, M.; CANAS, L. Microbial control agents for fungus gnats (Diptera: Sciaridae: *Lycoriella*) affecting the production of oyster mushrooms, *Pleurotus* spp. **Insects**. v.12, n.9, art 786, 2021.

AGUIAR, L.; SALES-CAMPOS, C.; GOUVÊA, P.; VIANEZ, B.; DIAS, E.; CHEVREUIL, L.R. Substrate desinfection methods on the production and nutricional composition of a wild oyster. Mushroom from the Amazon. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 45, art. e010321, p. 1–9, 2021.

ALI, M.; MEHMOOD, M.; NAWAZ, R.; HANIF, M.; WASIM, R. Influence of substrate pasteurization methods on the yield of oyster mushroom (*Pleurotus* species). ***Pakistan Journal of Agricultural Sciences***, v. 44, p. 300–303, 2007.

APATI, G. Secagem e resfriamento a vácuo de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* DSM 1833. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

BELLETTINI, M.; FIORDA, F.; MAIEVES, H.; TEIXEIRA, G.; ÁVILA, S; HORNUNG, P.; MACCARI, J.; RIBANI, R. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 633–646, 2019.

BERNABÉ-GONZÁLEZ, T.; CAYETANO-CATARINO, M.; ADÁN-DÍAZ, A.; TORRES-PASTRANA, M. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero,México. **Scientia Fungorum**, v.18, p.77-80, 2004.

BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. Cultivo e características nutricionais de *Pleurotus* em substrato pasteurizado. **Bragantia**, v.*68*, p.901-907,2009.

CABALLERO, E.; ZÁRATE-SALAZAR, J.; DA SILVA, S.; MARTINS, O.; SANTOS, M.; HERRERA, Á. Evaluation of agronomic waste disinfection methods for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq. P. Kumm) cultivation. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, p. 1-10, 2024.

CABRERA, L.; CONSTANTINO, L.; DOS SANTOS ANTUNES, P.; GONÇALVES, L.; ERPEN-DALLA CORTE, L. Caracterização da produção de cogumelos comestíveis: estudo de caso na região de Londrina, Paraná. **Research, Society and Development,** v. 9, n. 7, p. e612974416, 2020.

CAPRA, R.; TONIN, F. (2019). Ascensão do cultivo de cogumelos comestíveis no Brasil. In: **VIII JORNACITEC-Jornada Científica e Tecnológica de Botucatu**, v. 8, 2019, Botucatu, São Paulo: Fatec, 2019.

CARDOSO, J.; DEMENJOUR, P.; DA PAZ, M. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bocaiúva pela técnica Jun-Cao. **Evidência**, v. 13, n. 1, p. 31-40, 2013.

CARVALHO, A. Explorando fatores que moldam o consumo de cogumelos comestíveis no Brasil. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2024.

CASTELIANO, G.; SANTOS, T.; BEZERRA, C.; DA COSTA, A.; OVOAS, C.; FIGUEIRÊDO, A.; UETANABARO, A. Alkalinization and moist heat treatments of substrates for cultivation of edible mushrooms in pupunha and cocoa residues**. African Journal of Agricultural Research,** v. 18, n. 5, p. 368-375, 2022.

COLAVOLPE, M.; MEJÍA, S.; ALBERTÓ, E. Efficiency of treatments for controlling *Trichoderma spp* during spawning in cultivation of lignicolous mushrooms. **Braz J Microbiol**, v. 45, n. 4, p. 1263-1270, 2014.

CONTRERAS, E.; SOKOLOV, M.; MEJÍA, G.; SÁNCHEZ, J. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 79, n. 2, p. 234-240, 2004.

DE MOURA RODRIGUES, G.; OKURA, M. Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento,** v. 11, n. 8, p. e24711830830, 2022.

ERLER, F.; POLAT, E.; DEMIR, H.; CETIN, H.; ERDEMIR, T. Avaliação de produtos microbianos para o controle da mosca-dos-cogumelos, *Megaselia halterata* (Wood). **Journal of Entomological Science**, v. 44, n. 2, p. 89-97, 2009.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. Fungos: uma Introdução à Biologia, Bioquímica e Biotecnologia. Caxias do Sul: Universidade de Caxias do Sul. 638 p, 2004.

GOMES, M. Agronegócio: consumo e produção de cogumelos crescem no Brasil. 2018. Disponível em: **www. correiobraziliense. com. br› economia**, v. 1, p. 29, Acesso em: 01 maio 2025.

GOWDA, N.; MANVI, D. Agriculture crop residues disinfection methods and their effects on mushroom growth. **Proceedings of Indian National Science Academy**, v. 86, n. 3, p. 1177-1190, 2020.

HASAN SARDAR, H.; ALI, M.; AYYUB, C.; RASHID AHMAD, R. Effects of different culture media, temperature and pH levels on the growth of wild and exotic *Pleurotus* species. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v. 27, n. 2, p.139-145, 2015.

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

IOSSI, M.; COBOS, J.; ALEGRIA, F.; ZIED, D. *Pleurotus* spp. cultivation on *Brachiaria* sp. straw treatment with alkaline water. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1263–1270, 2018.

JARAMILLO, S.; ALBERTÓ, E. Heat treatment of wheat straw by immersion in hot water decreases mushroom yield in *Pleurotus ostreatus*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 30, n. 2, p.125-129, 2023.

JESS, S.; SCHWEIZER, H. Biological control of *Lycoriella ingenua* (Diptera: *Sciaridae*) in commercial mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation: a comparison between *Hypoaspis miles* and *Steinernema feltiae*. **Pesticide Management Science,** v. 65, n. 11, p. 1195-1200, 2009.

KEIL, C. Avaliação em campo e laboratório de uma formulação de *Bacillus thuringiensis var. israelensis para o controle de moscas-praga de* cogumelos. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, n. 4, p. 1180-1188, 1991.

KHAN, M.; ALI, M.; KHAN, N.; KHAN, M.; REHMAN, A.; JAVED, N. Effect of different levels of lime and pH on mycelial growth and production efficiency of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.). **Pakistan Journal of Botany***,* v. 45, n. 1, p. 297-302, 2013.

KRITTANAWONG, C.; ISATH, A.; HAHN, J.; WANG, Z.; FOGG, S.; BANDYOPADH-YAY, D.; TANG, W. Mushroom consumption and cardiovascular health: a systematic re-view. **The american jornal of medicine**. v. 134, n. 5, p. 637-642, 2020.

KUMAR, P.; KAMLE, M.; BORAH, R.; MAHATO, D.; SHARMA, B. *Bacillus thuringiensis* as microbial biopesticide: uses and application for sustainable agriculture. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 95, 2021.

LIU, X.; CAO, A.; YAN, D.; OUYANG, C.; WANG, Q.; LI, Y**.** Overview of mechanisms and uses of biopesticides. **International Journal of Pest Management**, v. 67, n. 1, p. 65–72, 2021.

MACHADO, A. Cultivo integrado do cogumelo *Pleurotus ostreatus* e tomate *(Solanum lycopersicum)*. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.

MANZI, P.; GAMBELLI, L.; MARCONI, S.; VIVANTI, V.; PIZZOFERRATO, L. Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. **Food Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 477–482, 1999.

MARUŠKA, A.; MICKIENĖ, R.; KAŠKONIENĖ, V.; GRIGIŠKIS, S.; STANKEVIČIUS, M.; DREVINSKAS, T.; KORNYŠOVA, O.; DONATI, E.; TISO, N.; MIKAŠAUSKAITĖ-TISO, J.; ZACCHINI, M.; LEVIŠAUSKAS, D.; RAGAŽINSKIENĖ, O.; BIMBIRAITĖ-SURVILIENĖ, K.; KANOPKA, A.; DŪDA, G. Procurando por agentes químicos que suprimem a microbiota do substrato no cultivo em larga escala de fungos da podridão branca. **Microorganisms**, v. 12, n. 6, p. 1242, 2024.

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

MOREAUX, K. Spawn production. In: ZIED, D. C.; PARDO-GIMÉNEZ, A. (ed.). *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications*. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2017. p. 89–128.

NAVARRO, M.; ESCUDERO-COLOMAR, L.; CARRASCO, J.; GEA, F. Mushroom Phorid Flies—A review. **Agronomy**, v. 11, n. 10, p. 1958, 2021.

NUNES, M. Tratamento de substrato com cal hidratada para cultivo de *Pleurotus* spp.: visão microbiológica, química e econômica. 2016. 94 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PEREIRA, M. Levantamento de macrofungos comestíveis de ocorrência na Floresta Nacional da Restinga de Cabedelo (FLONA). 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Instituto Federal da Paraíba, João Pessoa, 2023.

PICCININ, E. (2000). Cultivo do cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*) em toras de eucalipto: teoria e prática. Piracicaba: ESALQ, Divisão de Biblioteca e Documentação, 2000.

PINTO, L. Produção e purificação de endotoxinas de *Bacillus thuringiensis* supsp. *Dendrolimus*. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (10. : 1998 : Porto Alegre). ***Livro de resumos*.** Porto Alegre: UFRGS, 1998.

PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversão de resíduos agrícolas lignocelulósicos através do cultivo dos cogumelos comestíveis *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* e *Pleurotus* spp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, p. 191–200, 2001.

RAMAN, J.; JANG, K.; OH, Y.; OH, M.; IM, J.; LAKSHMANAN, H.; SABARATNAM, V. Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: an overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 1–14, 2021.

RINKER, D. Insect, mite, and nematode pests of commercial mushroom production. In: ZIED, D.; PARDO-GIMÉNEZ, A. (ed.). **Edible and medicinal mushrooms:** *technology and applications*. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2017. p. 221–237.

RODRIGUEZ-ESTRADA, A. E.; PECCHIA, J. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In: ZIED, D. C.; PARDO-GIMÉNEZ, A. ***Edible and medicinal mushrooms:*** *technology and applications*. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2017. p. 309–338.

SAI-UT, S.; WATCHASIT, S.; PONGSETKUL, J.; KINGWASCHARAPONG, P.; SURIYARAK, S.; GROSSMANN, L.; PUNYAPORNWITHAYA, V.; NAKANISHI, Y.; RAWDKUEN, S. Enhancing protein extraction from *Pleurotus ostreatus* using synergistic pH-shifting and ultrasonic technology: optimization via RSM and ^{1}H NMR-based metabolomic profiling. **LWT**, v. 211, p. 116895, 2024.

SANCHEZ, J.; ZIED, D.; ALBERTO, E**.** Edible mushroom production in the Americas. **9th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products**, v. 1, n. 2, p. 2–11, 2018.

SÁNCHEZ, J.; ANDRADE GALLEGOS, R. Mushroom cultivation as a strategy for rural development in Southern Mexico. In: **VII Simpósio Internacional sobre Cogumelos no Brasil e VI Simpósio Nacional sobre Cogumelos Comestíveis**, 2013, Brasília. Anais... Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2013. p. 52–57. ISBN 978-85-211-1018-5.

SANTOS, L.; CORDEIRO, Q. Avaliação da estabilidade e conservação de um bioinseticida à base de *Bacillus thuringiensis* produzido em escala industrial. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha.

TARTARI, B.; SALVADOR, J.; SANTOS, S.; DIAS, T. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (shimeji) pela técnica Jun-Cao na Etec Benedito Storani. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Técnico em Agropecuária) – Escola Técnica Estadual Benedito Storani, Jundiaí, 2023.

TORTORA, G.; CASE, C.; BAIR III, W.; WEBER, D.; FUNKE, B. Microbiologia. Porto Alegre: Artmed Editora, 2024.

TRIERVEILER-PEREIRA, L.; SULZBACHER, M.; BALTAZAR, J. Diversidade de fungos brasileiros e alimentação: o que podemos consumir. In: ***III Fórum Ambiental de Angatuba***, Angatuba-SP, 2018.

URBEN, A F. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada: biotecnologia e aplicações na agricultura e na saúde. Brasília, DF: **Embrapa**., 2017.

VIANA, J.; DOS SANTOS LOBO, K.; NETA, M.; DUARTE, I.; DELFORNO, T.; DA SILVA, J. Técnicas de identificação e meios de cultivo para crescimento de *Bacillus thuringiensis* utilizados no controle de mosquitos vetores: mini revisão. **Research, Society and Development,** v. 10, n. 7, p. e51510716916, 2021.

VIEIRA, F**.** Substrato de cultivo para os cogumelos *Pleurotus ostreatus* e *Agaricus bisporus*: composição físico-química e metagenômica microbiana. 2016. 125 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2016.

VU, K.; TYAGI, R.; VALÉRO, J.; SURAMPALLI, R. Impact of different pH control agents on biopesticidal activity of *Bacillus thuringiensis* during the fermentation of starch industry wastewater. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 32, p. 511–519, 2009.

WEST, A.; BURGES, H.; DIXON, T.; WYBORN, C. Survival of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* spore inocula in soil: effects of pH, moisture, nutrient availability and indigenous microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 17, n. 5, p. 657–665, 1985.

YIN, Z.; SUN-WATERHOUSE, D.; WANG, J.; MA, C.; WATERHOUSE, G.; KANG, W. Polysaccharides from edible fungi *Pleurotus* spp.: advances and perspectives**. *Journal of Future Food**s***, Pequim, v. 1, n. 2, p. 128–140, 2021.

ZÁRATE-SALAZAR, J.; SANTOS, M.; CABALLERO, E.; MARTINS, O.; HERRERA, Á Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. ***SN Applied Sciences***, v. 2, ed. 11, p. 1–10, 2020.

ZIED, D.; VIEIRA JÚNIOR, W.; ALVES, L. ; CAITANO, C.; TEIXEIRA, P. Produção de *Pleurotus* spp. em substrato esterilizado. 2023. Disponível em: https://www.dracena.unesp.br/Home/laboratoriosdepesquisa/centrodeestudosemcogumelos/producao-de-pleurotus-spp_-axenico.