

UNESP



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

1210001153



**Cultivo do Cogumelo Comestível Shiitake
(*Lentinula edodes* Berk., Pegler) em Toros
de Abacateiro (*Persea americana*) e de
Mangueira (*Mangifera indica* L.)
Aluna: Débora Pires Paula
Orientador: Luiz Antonio Graciolli**

Te.1153

**Cultivo do Cogumelo Comestível Shiitake
(*Lentinula edodes* Berk., Pegler) em Toros de
Abacateiro (*Persea americana*) e de Mangueira
(*Mangifera indica* L.)”**

DÉBORA PIRES PAULA

Bióloga

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de
Ilha Solteira – Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre Em Agronomia, Área de
Concentração: Sistemas de Produção.

Ilha Solteira – SP

Março de 2000

BCpIS - FEIS - UNESP

Cultivo do Cogumelo Comestível Shiitake (*Lentinula edodes* Berk., Pegler) em Toros de Abacateiro (*Persea americana*) e de Mangueira (*Mangifera indica* L.)”

DÉBORA PIRES PAULA

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Graciolli

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira –
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre Em Agronomia, Área de
Concentração: Sistemas de Produção.

5010301 MANEJO E TRATOS CULTURAIS

1210001153



Ilha Solteira – SP

Março de 2000

Anex. 017/2000 - NED 098-GSA

UNESP - "CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA"	
SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO	
DATA DE CHEGADA	DATA DE TOMBO
13.09.00	29.09.00
REGISTRADO POR	TOMBO
Ailza	Te. 1153
AQUISIÇÃO	CLASSIFICAÇÃO
Uso Autor R\$ 40,00	P324c

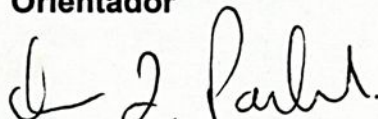
“Cultivo do Cogumelo Comestível Shiitake (Lentinula edodes Berk., Pegler) em Toros de Abacateiro (Persea americana) e de Mangueira (Mangifera indica L.)”

DÉBORA PIRES PAULA

DISSERTAÇÃO APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA – UNESP COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM AGRONOMIA

COMISSÃO EXAMINADORA:


Prof. Dr. Luiz Antonio Graciolli
Orientador


Prof. Dr. Sérgio Florentino Pascholati


Prof. Dr. Ana Maria Rodrigues Cassiolato

**Ilha Solteira – SP
março de 2000**

BCpIS - FEIS - UNESP

DEDICO

A Deus por todas oportunidades de aprendizado e pela minha
vida,

Aos meus amados pais Virgílio † e Mariana,

Aos meus estimados irmãos José Augusto e Marcus Vinícius,

A todos os amigos espirituais, que me sustentaram e conduziram,

Ao meu precioso esposo Tito,

Ao meu amigo Haji †,

E ao meu filho Lucas, alegria de nossas vidas, que está
chegando...



AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho tornou-se possível graças à colaboração, direta e indireta, de muitas pessoas. Manifestamos nossa gratidão a todas elas e de forma particular:

ao professor Dr. Luiz Antônio Graciolli, pela orientação;

aos funcionários da Fazenda Experimental, do Pomar e dos Departamentos de Biologia e de Zoootenia da Faculdade de Agronomia, UNESP - FEIS, pelo auxílio e empréstimo de equipamentos;

aos funcionários da pós-graduação Arlindo Avanzo Urzulin e Maria Fátima Sabino, pela gentileza;

aos professores Drs. Aparecida Conceição Bolliani, Maria Aparecida Anselmo Tarsitano, Luiz de Souza Corrêa e Pedro César dos Santos, pela amizade e sugestões sempre pertinentes;

ao professor Dr. Walter Valério, pela auxílio na análise estatística;

ao meu querido esposo Tito Dias Júnior, pelo auxílio experimental e pelo ombro amigo;

e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.



SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FOTOS	viii
RESUMO	ix
SUMMARY	xi
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1. TAXONOMIA, BIOLOGIA E CICLO DE VIDA	4
2.2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT NATURAL	6
2.3. PAÍSES PRODUTORES	7
2.4. VALOR NUTRICIONAL E MEDICINAL	8
2.5. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	8
2.6. O CULTIVO	11
2.6.1. <i>Matriz primária</i>	11
2.6.2. <i>Inóculo ou matriz secundária</i>	12
2.6.3. <i>Substratos de Cultivo Definitivo</i>	13
2.6.4. <i>Cultivo em Toros</i>	14
2.6.5. <i>Contaminantes no Cultivo</i>	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1. LOCALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	21
3.2. LINHAGEM E MEIOS DE CULTURA.....	21
3.2.1. <i>Meio de cultura BDA</i>	22
3.2.2. <i>Meio de cultura SDA</i>	23
3.3. INÓCULO OU MATRIZ SECUNDÁRIA.....	23

3.4. ESPÉCIES ARBÓREAS UTILIZADAS	24
3.5. INOCULAÇÃO DOS TOROS	25
3.4.1. <i>Abertura dos Orifícios</i>	25
3.4.2. <i>Inoculação e Vedação</i>	25
3.6. INCUBAÇÃO	26
3.7. CICLO DE FRUTIFICAÇÃO	26
3.7.1. <i>Indução</i>	26
3.7.2. <i>Frutificação</i>	27
3.7.3. <i>Colheita e Cuidados Pós-Colheita</i>	28
3.8. VARIÁVEIS AVALIADAS	28
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÕES	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXOS.....	48



LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
Figura 1	Número médio de basidiocarpos por toro em cada choque de indução, para os cultivares de abacateiro.....	33
Figura 2	Número médio de basidiocarpos por toro em cada choque de indução, para os cultivares de mangueira....	34
Figura 3	Número médio de basidiocarpos por toro em cada choque de indução, para o eucalipto.....	34
Figura 4	Percentagem de basidiocarpos pequenos ($\phi \leq 5$), médios ($5 < \phi \leq 7$), grandes ($7 < \phi \leq 10$) e extra-grandes ($\phi > 10$) em cada tratamento.....	35
Figura 5	Diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para os cultivares de abacateiro.....	36
Figura 6	Diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para os cultivares de mangueira.....	37
Figura 7	Diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para o eucalipto.....	37
Figura 8	Valores médios das massas de toros frescos (<i>MTF</i>) e secos (<i>MTS</i>) e da densidade das madeiras.....	40
Figura 9	Resultados da análise bromatológica das diferentes espécies arbóreas.....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
Tabela 1	Valores médios do número de basidiocarpos por toro (NB/T); do diâmetro do píleo (DP); das massas de basidiocarpos frescos (MBF) e secos (MBS); da produtividade (P), eficiência biológica (EB), nos quatro choques de indução.....	31



LISTA DE FOTOS

FOTO		Página
FOTO 1	Linhagem japonesa de shiitake Y602 adquirida em cavilhas.....	22
FOTO 2	Detalhe do desenvolvimento dos basidiocarpos cinco dias após o choque de indução.....	27
FOTO 3	Detalhe de um toro de abacateiro submetido ao terceiro choque de indução mecânica.....	34
FOTO 4	Detalhe de um basidiocarpo extra-grande, com diâmetro do píleo maior que o diâmetro do toro.....	36



PAULA, D. P. Cultivo do cogumelo comestível shiitake (*Lentinula edodes*) em toros de abacateiro (*Persea americana*) e de mangueira (*Mangifera indica*). Ilha Solteira, 2000. 49p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Câmpus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

RESUMO

Este trabalho avaliou o cultivo de shiitake (*Lentinula edodes*, linhagem japonesa Y602) em toros de abacateiro (*Persea americana*) e de mangueira (*Mangifera indica*), tendo como testemunha toros de eucalipto (*Eucalyptus saligna*). O trabalho conteve sete tratamentos, sendo três cultivares de abacate (Fortuna, Pollock e Quintal), três de mangueira (Coquinho, Extrema e Haden), mais o eucalipto. O experimento foi delineamento inteiramente casualizado, com análise modelo Hierárquico +1, e seguiu metodologia tradicional do cultivo extensivo. A unidade experimental constituiu-se de um toro, com característica padrão de 100 cm de comprimento e de 8 a 12 cm de diâmetro. Cada tratamento conteve 60 repetições. As variáveis avaliadas por tratamento nos quatro choques de indução foram: número de basidiocarpos por toro; diâmetro do píleo dos basidiocarpos; massa de basidiocarpos frescos e secos; produtividade (massa de basidiocarpos secos pela massa de toro seco) e eficiência biológica (massa de basidiocarpos frescos pela massa de toro seco). A espécie arbórea abacateiro apresentou os melhores resultados médios: 15 basidiocarpos por toro; 8,33 cm de diâmetro do píleo; 439,81 g e 44,45 g de massa de basidiocarpos frescos e secos respectivamente; 0,72 % de produtividade e 7,10 % de eficiência biológica. O eucalipto apresentou os menores resultados médios: 8 basidiocarpos por toro; 5,63 cm de diâmetro do píleo; 167,83 g e 17,30 g de massa de basidiocarpos frescos e secos, respectivamente; 0,20 % de produtividade e 1,99 % de eficiência biológica. Houve pouca diferença significativa das variáveis nos



cultivares de abacateiro e nos de mangueira. Tanto toros de abacateiro, quanto de mangueira, podem ser satisfatoriamente destinados para o cultivo de shiitake.

Palavras-Chave: shiitake, *Lentinula edodes*, toros, cogumelo, mangueira, abacateiro, eucalipto.



PAULA, D. P. Edible mushroom cultivation shiitake (*Lentinula edodes*) in avocado tree (*Persea americana*) and the mango tree (*Mangifera indica*) logs. Ilha Solteira, 2000. 49p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Câmpus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

SUMMARY

This work propose was to evaluate the cultivation of shiitake (*Lentinula edodes*, japanese isolate Y602) on avocado tree (*Persea americana*) and the mango tree (*Mangifera indica*) logs, having as control eucalyptus logs (*Eucalyptus saligna*). The work has consisted of seven treatments divided in three cultivates of avocado tree (Fortuna, Pollock and Quintal), three cultivates of mango tree (Coquinho, Extrema and Haden) and one of eucalyptus. The experiment has been entirely casualized, with model analyses Hierárquico +1, and was based upon traditional methodology for the extensive cultivation. The experimental unity was consisted of a log, with pattern characteristic length of 100 cm and diameter of 8 to 12 cm. Each treatment was composed of 60 repetition. The variables evaluated per treatment in the four induction were: number of basidiocarps per log; basidiocarps diameter; mass of fresh and dried basidiocarps; productivity (dried basidiocarps mass per dried log mass); and biological efficiency (fresh basidiocarps mass per dried log mass). The avocado tree logs has showed the best average results: 15 basidiocarps per log; 8,33 cm of basidiocarps diameter; 439,81 and 44,45 g of fresh and dried mass of basidiocarps respectively; 0,72 % of productivity and 7,10 % of biological efficiency. The eucalyptus has showed the lowest average results: 8 basidiocarps per log; 5,63 cm of basidiocarps diameter; 167,83 g and 17,30 g of fresh and dried mass of basidiocarps, respectively; 0,20 % of productivity and 1,99 % of biological efficiency. Little



significant differences for the variables in the cultivates of avocado tree and in the cultivates of mango tree were observed. As logs of avocado tree, as well as logs of mango tree, can be satisfactorily destined to the cultivation of shiitake.

Key-words: shiitake, *Lentinula edodes*, logs, mushroom, mango tree, avocado tree, eucalyptus.



1. INTRODUÇÃO

O shiitake, cientificamente denominado *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, é um basidiomiceto aeróbico lignolítico (Zadrazil et al., 1982; Hasebe et al., 1991), fazendo parte do grupo dos fungos causadores da podridão branca (Gugliota & Capelari, 1998).

Além de seu apreciável sabor, valor nutricional e medicinal (San Antonio, 1981), tornando-o o segundo cogumelo mais consumido no mundo (Przybylowicz & Donoghue, 1990), é de grande importância econômica, devido à sua ampla aplicabilidade biotecnológica graças às suas enzimas e polissacarídeos (Matheus & Okino, 1998), e por constituir-se numa boa fonte alternativa de renda (Paula et al., 1999).

Seu cultivo originou-se na China, por volta de 960 d.C., sendo posteriormente introduzido no Japão, em meados de 1500 d.C. (Przybylowicz & Donoghue, 1990). Posteriormente, o cultivo comercial se expandiu para os demais países da Ásia Oriental (Levanon et al., 1993), onde juntamente com a China e o Japão, se tornaram líderes da produção mundial da atualidade; para a Europa e América do Norte (Sabota, 1996), e ainda mais recentemente e em menor escala, para as Américas Central e Sul (Montini, 1997).

Nos principais países produtores o cultivo tem sido feito em toros das espécies arbóreas de *Castanopsis* spp. e *Castanea* spp. (Bononi et al.,

1995), *Quercus alba*, *Hevea brasiliensis*, *Dalbergia sisso*, *Acacia arobia* e *Populus alba* (Eira et al., 1996).

No Brasil o cultivo tem cerca de 10 anos (Eira & Montini, 1997), tendo sido mais utilizado toros de eucalipto, por sua maior disponibilidade nacional, menor custo, rápido crescimento, conter pouco cerne e densidade relativamente baixa (Eira et al., 1996). Outras espécies arbóreas vem sendo utilizadas empiricamente pelos produtores de shiitake, como o abacateiro, a mangueira, o pau de leite e a nogueira (Teixeira & Machado, 1997). Dentre estas espécies arbóreas, a mangueira e o abacateiro possuem grande potencial como alternativas para o cultivo do cogumelo, devido o plantio dessas árvores estar em expansão pelo elevado valor comercial (principalmente da manga) e nutricional de suas frutas, por possuírem ampla distribuição nacional, e por também terem pouco cerne e densidade de suas madeiras baixa. As madeiras dessas duas espécies arbóreas são usualmente inaproveitadas e poderiam ser destinadas para o cultivo do cogumelo.

Dessa maneira, o presente trabalho visou o estudo do aproveitamento do cultivo de shiitake em toros de diferentes cultivares de mangueira e de abacateiro, tendo como testemunha toros de eucalipto (*E. saligna*). Para tal, realizou-se quatro choques de indução por tratamento e em cada avaliou-se as variáveis:

- a) número de basidiocarpos por toro;
- b) diâmetro do píleo dos basidiocarpos;
- c) massa de basidiocarpos frescos;
- d) massa de basidiocarpos secos;
- e) percentagem de produtividade;
- f) percentagem de eficiência biológica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Taxonomia, Biologia e Ciclo de Vida

O *Lentinula edodes* pertence a divisão Eumycota, subdivisão Basidiomycotina, classe Hymenomycetes, subclasse Holobasidiomycetidae, ordem Agaricales, família Tricholomataceae (Talbot, 1978; citado por Sant'anna, 1998).

No latim *lentis* significa lentilha, devido a morfologia do seu píleo, e *edodes* comestível (Leatham, 1982). Por sua vez, o termo *shii* refere-se a um tipo de árvore e *take* a cogumelo em japonês (Harris, 1993).

O shiitake tem sido referido desde 1877 por uma variedade de nomes científicos. Porém Berkeley, em 1941, foi quem primeiro descreveu a espécie como sendo pertencente ao gênero *Lentinus*. Pegler posteriormente inseriu esta espécie no gênero *Lentinula* (Pegler, 1975). Popularmente o *Lentinula edodes* é conhecido por diversos nomes, como floresta negra, cogumelo chinês ou hoangmo, cogumelo japonês da floresta (Morales & Martinez-Carrera, 1990), cogumelo negro, pasania e pyogo na Coréia e hsiang ku (cogumelo fragrante) na China (Dialeachi, 1996).

A fase vegetativa dos basidiomicetos é denominada de micélio, que por sua vez é formado por muitos filamentos septados chamados hifas. O cogumelo é a estrutura onde ocorre a reprodução sexuada, sendo também

conhecido como basidiocarpo, corpo de frutificação ou basidioma. O tamanho e coloração do basidiocarpo podem variar de acordo com a linhagem. Macroscopicamente o basidiocarpo é formado pelo píleo ou chapéu, onde se encontram as lamelas, e pelo estipe (Gugliota & Capelari, 1998).

O píleo do shiitake possui a forma de uma tampa redonda, sendo convexo, de superfície velutina, de margem ondulada com véu remanescente de consistência carnosa. Sua coloração varia de caramelo a marron escuro, apresentando padrões de manchas brancas especialmente em volta das bordas. Seu diâmetro pode atingir mais de 15cm (Gugliota & Capelari, 1998).

A superfície das lamelas é composta por uma camada denominada himenial, onde estão localizados os basídios, que produzem e liberam os esporos, denominados de basidiosporos. No shiitake, as lamelas são características, tendo em quase todas as espécies coloração branca como as do estipe. Inicialmente são protegidas por uma membrana, chamada véu, que se estende do estipe ao píleo (Gugliota & Capelari, 1998).

Os basidiomicetos reproduzem-se através dos esporos ou por multiplicação de fragmentos da hifa ou do basidiocarpo, mantidos sobre um substrato favorável e em condições adequadas, principalmente em relação à umidade e à temperatura. Nesta fase o fungo constitui-se de um micélio vigoroso e, pela reunião de hifas, formam-se estruturas rizomórficas (Eira & Montini, 1997).

O ciclo de vida sexuado do shiitake inicia-se quando um basidiocarpo maduro libera os basidiosporos para o ar e ocorre a dispersão dos mesmos pelo vento. Os basidiosporos possuem parede celular fina e perecem quando expostos a radiação solar. Os que encontram um substrato disponível sob condições específicas favoráveis, germinam e dão origem às hifas haplóides uninucleadas que, em conjunto, são denominadas de micélio primário. Na natureza o estágio de micélio primário é breve (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Quando duas hifas originárias de basidiosporos diferentes, contendo materiais genéticos compatíveis, se encontram, ocorre a fusão de



citoplasma (plasmogamia), resultando em células dicarióticas, formando o micélio secundário. O shiitake passa a maior parte do seu ciclo de vida na forma de micélio secundário. Neste estágio vegetativo, o micélio coloniza e digere a madeira, absorvendo e armazenando nutrientes preparando-se assim para a frutificação. O fungo apenas passa ao estágio de frutificação somente se houver quantidade suficiente de nutrientes armazenados nesta fase (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Com o surgimento de estímulos ambientais favoráveis, inicia-se a diferenciação do micélio secundário em terciário (o basidiocarpo). Há o surgimento do primórdio que aumenta de tamanho, criando pressão suficiente para transpor a superfície do substrato de cultivo. A medida que o basidiocarpo cresce torna-se largo e com o talo curvado, até que desenvolvam as lamelas sob o píleo. Posteriores expansões do píleo rompem o véu, expondo as lamelas. O hímeno fértil na superfície das lamelas é coberto com os basídios. Os núcleos dentro dos basídios se fundem tornando-se monocarióticos diplóides. O núcleo sofre divisão meiótica formando quatro núcleos haplóides que resultam em quatro basidiosporos em cada basídio. Os basidiosporos maduros caem das lamelas e são dispersados pelo vento, para colonizar novos substratos (Przybylowicz & Donoghue, 1990; Eira & Montini, 1997).

2.2. Distribuição Geográfica e Habitat Natural

O shiitake ocorre naturalmente em florestas da zona temperada e subtropical da Ásia, como Japão, China, Bornéu, Coréia, Tailândia, Burma, Nepal, Nova Guiné, região do Himalaia e Filipinas. Acredita-se que tenha se originado nas florestas subtropicais de Bornéu, e que, posteriormente, seus esporos tenham sido dispersados pelo vento e alcançado outras regiões (Lee, 1980; citado por Dialetachi, 1996).

O habitat natural do shiitake é constituído por toros de árvores decíduas das regiões mencionadas, pertencentes principalmente à Betulaceae e

Fagaceae, onde as mais comuns são a castanheira (*Castanea* spp.), faia (*Fagus* spp.), o carvalho (*Quercus* spp.) e o olmo (*Castanopsis* spp.). Em seu habitat, a produção dos basidiocarpos ocorre principalmente na primavera e no outono (Bononi et al., 1995).

2.3. Países Produtores

O shiitake é principalmente cultivado nos países da Ásia Oriental, como China, Japão, Taiwan, Tailândia, Coreia, Singapura, Malásia, Paquistão e outros (Levanon et al., 1993), sendo responsáveis por 90% da produção mundial, estimada em 526.000 t (Chang et al., 1995). Nos Estados Unidos, México, Canadá, Bélgica, Nova Zelândia, Austrália, e Holanda, o shiitake também é produzido, embora em menor escala (Sabota, 1996). Na América Central e América do Sul, o cultivo comercial vem se desenvolvendo nos últimos 25 anos, especialmente desde 1990 (Lahmann & Rinker, 1991; citados por Montini, 1997).

No Brasil o cultivo ainda é incipiente, ganhando força desde o início da década de 90, quando então passou a ser incentivado pela Fundação Mokiti Okada do Brasil (Eira et al., 1996). Estima-se que a produção anual no Brasil seja de 200 t (Ferreira, 1998). O interesse pelo cultivo está em ascensão, devido a influência de colônias orientais no país e ao aumento da demanda do consumo de shiitake, não obstante seu preço elevado (Fidalgo & Guimarães, 1985). O Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor nacional, mas atualmente a produção vem ganhando expressão no Rio Grande do Sul (principalmente em Porto Alegre), Paraná, sul de Minas (Bononi et al., 1995) e, mais recentemente, em Goiás e Mato Grosso do Sul.



2.4. Valor Nutricional e Medicinal

O shiitake é fonte de diversos minerais, tais como zinco, cálcio, fósforo, ferro, sódio, cobre, magnésio e potássio, sendo rico em vitaminas e em seus precursores: tiamina (vitamina B₁), riboflavina (vitamina B₂), niacina, biotina, ácido ascórbico (vitamina C), ergosterol (precursor da vitamina D) e ácido pantotênico (vitamina A), vitaminas E, B₆ e B₁₂ (Royse et al., 1985). A concentração dos nutrientes e dos compostos biologicamente ativos depende da linhagem de shiitake, do substrato onde é cultivado, das condições de frutificação e dos métodos de preparação do shiitake (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

O basidiocarpo fresco contém cerca de 85 a 95 % de umidade. No basidiocarpo seco, para cada 100 g, têm-se cerca de 17,5 % de proteínas (contém todos os aminoácidos essenciais), 8 % de gordura, 67,5 % de carboidratos, 8 % de fibras e 7 % de cinzas (Shukla, 1994).

O shiitake vem sendo usado medicinalmente no tratamento de diversas doenças, graças a presença de diversos compostos biológicos que lhe confere potencial como anticancerígeno (lentinan, KS-2, LAP1, polifenol oxidases), antiviral (KS-2, eritadenina, lentinan, JLS, Ac2P), imunopotenciador (EP3, EPS4), hipocolesterolêmico (eritadenina), agente hepatoprotetor, antibactericida (lentinan, cortinellin, lentinamicin), antifúngico (lentinan), protetor das plantas contra infecção do vírus do mosaico do tabaco TMV (FBP) (Leatham, 1982). Efeitos sinérgicos podem existir entre estes compostos e entre outros compostos inativos no basidiocarpo (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

2.5. Importância Econômica

A importância econômica do shiitake advém de suas propriedades medicinais e nutricionais; da sua ampla aplicabilidade biotecnológica; e por ser uma fonte alternativa de renda.



A maioria dos processos biotecnológicos baseia-se nos seus produtos metabólicos, como enzimas e polissacarídeos. A importância do aparato enzimático dos basidiomicetos está diretamente relacionada com a bioconversão de resíduos lignocelulósicos, tanto para a produção de alimento humano (cultivo de cogumelos comestíveis) e animal (ração), quanto para a produção de polissacarídeos (utilizados principalmente nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética). Além disso, este mesmo aparato enzimático está relacionado com os processos de biodegradação de compostos xenobióticos, como por exemplo na biorremediação de solos contaminados e no tratamento de efluentes da indústria papelreira e têxtil (Matheus & Okino, 1998).

O shiitake é um dos mais importantes basidiomicetos saprofitos com atividade lignocelulósica, juntamente com *Phanerochaete chrysosporium* (Leatham, 1982), *Volvariella volvacea*, *Pleurotus sajor-caju* (Buswell et al., 1996; citados por Ishikawa, 1998). A bioconversão fúngica de vários tipos de resíduos lignocelulósicos (agrícolas, agro-industriais e serragem de madeira) torna o processo mais viável, com maior aproveitamento energético potencial, ao mesmo tempo que diminui-se a quantidade que seria acumulada no meio ambiente (Giovannozzi-Sermanni et al., 1991; Matheus & Okino, 1998).

Após a bioconversão de resíduos lignocelulósicos pelo cultivo de shiitake, os substratos de cultivo ainda podem servir para várias finalidades, devido a riqueza de nutrientes, tais como:

- Substrato para o cultivo de outros cogumelos comestíveis, como o *Agaricus bisporus* (misturando-se a outros materiais orgânicos, servindo como material para terra de cobertura) (Matheus & Okino, 1998); e o *Pleurotus* spp., onde constatou-se redução no custo de produção e aumento da eficiência biológica para 79%, quando do aproveitamento do substrato residual do cultivo de shiitake (Royse, 1992).
- Uso como ração animal, por conter alto teor protéico e graças a fermentação sólida aumentar a digestibilidade dos substratos lignocelulósicos destinados a alimentação de ruminantes (Zadrazil et al., 1982; Matheus & Okino, 1998).

- Uso como fertilizante e biorremediador do solo, este último por decompor poluentes sintéticos e recalcitrantes (compostos organoclorados e outros pesticidas) (Matheus & Okino, 1998).

Há alguns anos estuda-se a utilização de fungos basidiomicetos ligninolíticos no tratamento de efluentes da indústria papelreira. A madeira é a principal matéria-prima utilizada na produção de papel e celulose. Na produção da polpa celulósica, a madeira é submetida à polpação com a finalidade de separar as fibras de interesse (no caso celulose) da matriz de lignina. Dependendo da destinação final da polpa, esta pode sofrer um processo de branqueamento para a remoção da lignina residual que dá cor escura à polpa. É justamente o processo de branqueamento a maior fonte de contaminação de águas da indústria de celulose. O shiitake está entre as espécies de basidiomicetos que apresentam um grande potencial para reduzir a cor e remover compostos organoclorados dos efluentes do processo de branqueamento da polpa de celulose (Matheus & Okino, 1998).

O shiitake também tem potencial no tratamento de grandes volumes de efluentes contendo grande variedade de produtos químicos, dentre eles os corantes poliméricos, gerados nos processos de tingimento e acabamento da indústria têxtil (Matheus & Okino, 1998).

Paula et al. (1999) realizaram a análise econômica da produção do shiitake em 2000 toros de eucalipto, na região noroeste paulista, destinada a produtores de médio porte econômico e tecnológico. Com o preço médio de dez reais o quilograma do shiitake fresco, o custo total para a produção do quilograma foi de R\$ 5,19, com índice de lucratividade de 48,05 %, o que confere o pagamento do investimento já no primeiro ciclo de produção (quatro choques de indução). Além da boa rentabilidade econômica, o cultivo exige pequena área e possui curto ciclo de duração, garantindo em pouco tempo constantes safras.



2.6. O cultivo

O sucesso no cultivo está intimamente relacionado à escolha da linhagem. As linhagens podem diferir quanto a velocidade de crescimento, resistência a fungos predadores e competidores, temperatura e umidade ótimas de frutificação e incubação (manejo), tamanho e forma dos basidiocarpos e produtividade frente aos diversos microclimas (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Segundo Bononi et al. (1995), a maioria das linhagens, tanto no exterior como no mercado brasileiro, tem origem incerta.

A diferenciação científica dessas linhagens utilizadas pelos produtores nacionais vem sendo realizada em diferentes instituições de pesquisas. As linhagens caracterizadas foram: CCB-48 e CCB-102, no Instituto Botânico de São Paulo; JAB-K1, do laboratório de Microbiologia Aplicada do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Jaboticabal - UNESP; BMAILE-95/01 e LE 97/27, na Mitoteca do Módulo de Cogumelos da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP.

Com o conhecimento das exigências químicas e físicas de cada linhagem, poderão ser adotados procedimentos para otimizar o cultivo, obtendo-se melhores produtividades.

2.6.1. Matriz primária

Na natureza as linhagens são originárias de basidiosporos que podem gerar linhagens menos ou mais produtivas ou com basidiocarpos diferentes dos originais, devido à recombinação genética. Para o preparo do inóculo, faz-se em laboratório a multiplicação do micélio, por basicamente dois métodos: através de fragmentos de basidiocarpo (via vegetativa) ou por basidiosporos (isolamento monospórico e/ou multiespórico). Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas



para este propósito, como a fusão de protoplasmas e cruzamentos (Eira & Montini, 1997).

Ao material preliminar ao inóculo, dá-se a denominação de matriz primária, que constitui-se da fase micelial ou vegetativa do fungo, obtida, por exemplo, através de pequenos fragmentos de um basidiocarpo sadio e produtivo, que são transferidos para um meio de cultura apropriado, sob condições assépticas e controladas. Após cerca de 15 dias no escuro e à temperatura de 25°C, a matriz primária terá se desenvolvido e estará pronta para produzir o inóculo ou matriz secundária. A conservação da matriz primária em meio de cultura é feita em sala climatizada a 20-26°C, evitando-se grandes oscilações de temperatura, ou em geladeira a 4-7°C, podendo durar até seis meses (Eira & Montini, 1997; Montini, 1997).

O meio de cultura mais utilizado, embora não seja o mais recomendado, é o batata-dextrose-ágar (BDA). Outros meios podem ser utilizados como: trigo-dextrose-ágar, arroz-dextrose-ágar, malte-dextrose-ágar, extrato de levedura, etc. Contudo, todos estes meios de cultura são bastante ricos e de composição muito diferente do substrato de produção do basidiocarpo, podendo levar à seleção de mutantes nutricionais que se constituirá em inóculo muito vigoroso, porém podendo não estar adaptado ao substrato final de cultivo. Para contornar este problema, a matriz primária antes de ser utilizada para produzir o inóculo, deve ser transferida para outro meio de cultura, nutricionalmente não tão rico e de composição parecida com o substrato de cultivo definitivo. O meio de cultura utilizado nesta fase é o serragem-dextrose-ágar (SDA) (Eira et al., 1996).

2.6.2. Inóculo ou matriz secundária

As primeiras técnicas de cultivo de shiitake consistiam na inoculação por meio da transferência espontânea de esporos para os toros. Os toros naturalmente colonizados eram justapostos aos toros não colonizados, e aguardava-se que ocorresse a colonização espontânea. Novas técnicas de cultivo

foram desenvolvidas e aperfeiçoadas com o passar do tempo (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Em 1920, K. Kitayama desenvolveu a produção do *spawn* (também conhecido como matriz-secundária, inóculo, "semente", "semente-inóculo"), que consiste na fase micelial do fungo, obtida a partir da matriz primária, utilizado atualmente na inoculação do substrato de cultivo definitivo, seja ele toro ou composto (Przybylowicz & Donoghue, 1990). O nome *spawn* é inglês, na língua espanhola é denominado *blanco* (Eira et al., 1996).

Neste trabalho, foi padronizado o termo inóculo para caracterizar a matriz secundária, que consiste num meio de crescimento colonizado pelo micélio da matriz primária da linhagem selecionada (Stamets, 1993).

O inóculo pode ser preparado tanto em meio sólido como em meio líquido. O inóculo em meio sólido é o mais utilizado, podendo conter em sua composição os mais variados materiais, o principal é serragem enriquecida com farelos de cereais. O inóculo em meio líquido é constituído pelo micélio crescendo em uma solução nutritiva, sofrendo ou não agitação. Apesar de o inóculo líquido apresentar muitas vantagens, como a facilidade de manuseio, dispersão mais rápida pelo substrato, produção rápida de grandes quantidades de micélio, não é muito utilizado por ser facilmente contaminável (Dialetachi, 1996).

Nas formulações do substrato para preparação do inóculo também deve-se evitar misturas com alto conteúdo de nutrientes para evitar a contaminação dos toros e uma possível seleção de mutantes nutricionais (Eira et al., 1996).

2.6.3. Substratos de Cultivo Definitivo

Tradicionalmente o cultivo do shiitake em vários países tem sido feito pelo método extensivo, quando ocorre a utilização de substratos colonizados naturalmente pelo fungo, como em toros de várias espécies vegetais. Desde 1970,

o shiitake também vem sendo cultivado pelo método intensivo, em que resíduos vegetais passam por um tratamento térmico (Dialetachi, 1996), como na forma de composto (serragem em sacos plásticos de polivinileno) suplementado com farelos de cereais, ou ainda em substratos alternativos, tais quais polpa de café (Mata & Gaitán-Hernández, 1994), resíduos de maçã (Worral & Yang, 1992), e de algodão (Song et al., 1987).

Esse novo sistema de produção de shiitake foi denominado de "toros sintéticos". O sistema de toros sintéticos comparado ao cultivo em toros, possui como vantagem maior produtividade e menor tempo para completar o ciclo de cultivo. Contudo, possui como desvantagem o maior investimento inicial no cultivo e o maior grau de dificuldade na produção, exigindo mão-de-obra mais especializada (Royse et al., 1989). Acredita-se que por essas razões, no Brasil, ainda são raros os produtores que utilizam este sistema.

2.6.4. Cultivo em Toros

A escolha da espécie arbórea está em função de suas características físicas e químicas, e também, de fatores econômicos e ambientais (San Antonio, 1981). Deve ser feita considerando-se a característica da casca; a proporção de alburno e cerne; e a densidade da madeira. A casca deve ser grossa, funcionando como uma camada protetora da perda de umidade, de contaminação por fungos e bactérias, e de estresses mecânicos. O alburno deve ser maior em proporção que o cerne (se possível, com nenhum), pois é a região metabolicamente ativa que é colonizada pelo fungo. O cerne possui baixa umidade e baixo conteúdo de nutrientes disponíveis e contém compostos que inibem o crescimento do micélio. Quanto menor a densidade da madeira maior é o crescimento do micélio, daí o cultivo ser geralmente realizado em toros de carvalho (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

O corte dos toros deve ser feito durante a fase de dormência do vegetal, quando a seiva não mais flui pelo alburno, fase em que o mesmo contém altos níveis de açúcar e a casca está fortemente aderida.

A rigor, com exceção de espécies resinosas como o *Pinus* spp., qualquer espécie arbórea pode ser destinada ao cultivo de shiitake (Ferreira, 1998). As espécies arbóreas mais utilizadas nos principais países produtores são *Catanopsis* spp. e *Castanea* spp. (Bononi et al., 1995), *Quercus alba*, *Hevea brasiliensis*, *Dalbergia sisso*, *Acacia arobica*, e *Populus alba*. O cultivo nacional tem sido feito principalmente em toros de eucalipto, devido a sua maior disponibilidade, por ser bastante utilizada em reflorestamentos, menor custo, rápido crescimento, ter densidade da madeira considerada baixa (cerca de $0,5\text{g.cm}^{-3}$) e conter pouco cerne (Eira et al., 1996). As espécies mais utilizadas são *E. grandis*, *E. saligna* e *E. urophylla*. Outras espécies de árvores também podem ser utilizadas, tais como o abacateiro, a mangueira, a noqueira e o pau de leite (Teixeira & Machado, 1997).

A mangueira e o abacateiro tem grande potencial como alternativas para o cultivo nacional. O crescente plantio de mangueira e abacateiro, no Brasil e em outros países tropicais, devem-se ao elevado valor comercial da manga e ao elevado valor nutricional do abacate. Além disto, assim como o eucalipto, suas madeiras contém pouco cerne.

A manga é seguramente uma das frutas mais importantes dos trópicos, depois da fruta cítrica, da banana e do abacaxi, e provavelmente a mais saborosa e aromática, ganhando cada vez maior aceitação no Brasil e até mesmo em regiões de clima temperado como as da Europa (Maranca, 1976). O Brasil foi classificado em 1990 como o quinto maior produtor de manga. Seu cultivo passou a ser visto nos últimos anos como uma alternativa frutícola com boas perspectivas para o Brasil (Cunha et al., 1994), sendo difundida em todo território nacional, excluindo-se apenas as regiões frias do extremo Sul ou de grande altitude (Maranca, 1976).

A mangueira cresce com muito vigor, o que torna a prática dos diversos tipos de poda um trato cultural indispensável (Kavati, 1989).



Recomenda-se uma poda a cada dois ou três anos, cortando-se o topo e os lados da mangueira, a fim de diminuir gastos com as pulverizações e colheita, para aumentar a produtividade e, dependendo do espaçamento de plantio entre uma mangueira e outra, para as copas não se entrelaçarem (Cunha et al., 1994). Os toros resultantes das podas não são usualmente aproveitados, sendo apenas queimados pelos produtores de manga. Estes toros, por sua vez, poderiam ser destinados ao cultivo de shiitake.

O abacate é considerado uma das frutas mais nutritivas que existe por conter alta concentração de vitamina A, complementada pelas vitaminas B1, B2, C, proteínas e ferro (Maranca, 1976).

Existe pouca disponibilidade de dados sobre a produção de abacate no Brasil. Sabe-se que São Paulo é o estado que se destaca em relação a todos os demais, tanto na produção como na tecnologia utilizada. O Brasil possui condições de clima e solo apropriados para a cultura do abacateiro, permitindo, neste aspecto grande expansão (Koller, 1984). O cultivo é de fato difundido no país em toda parte, menos em regiões de baixa altitude, excessivamente quentes e úmidas (Maranca, 1976).

A madeira do abacateiro é mole, quebradiça e de pouco valor, seja para lenha, carvão ou para móveis e construção (Koller, 1984). Estes toros poderiam também serem aproveitados para o cultivo de shiitake.

As recomendações sobre o período que se deve aguardar entre o corte das árvores e a inoculação dos toros são conflitantes. Segundo Ito (1978; citado por Sant'anna, 1998), o shiitake desenvolve-se rapidamente somente depois que certos tecidos da árvore morrem, e este fenômeno ocorre um ou dois meses após o corte da árvore, quando então deve ser realizada a inoculação. Já segundo Akiyama et al. (1976; citados por Sant'anna, 1998), a inoculação dos toros deve ser feita imediatamente após o corte das árvores, aguardando-se no máximo quinze dias após o corte. De qualquer forma, os toros não inoculados logo após o corte devem ser estocados na sombra sendo molhados diariamente, para manterem o teor de umidade e evitar rachaduras na casca, que deve estar limpa e intacta (Sant'anna, 1998).

Os toros devem preferencialmente apresentar um diâmetro médio de 10 cm e ausência de contaminantes e insetos na casca. Padroniza-se o comprimento dos toros, geralmente como sendo de 100 cm, para facilitar o manuseio. Toros com diâmetro menor que 10 cm tendem a produzir basidiocarpos menores e duram em média 1,5 anos (Chang & Miles, 1984). Toros mais grossos (de 15 a 20 cm de diâmetro) se conservam por vários anos, porém dificultam o manuseio e demoram mais tempo para iniciar a produção, ficando mais sujeitos a incidência de pragas e doenças (Tatezawa, 1995).

Após a escolha da espécie arbórea e o preparo dos toros, é realizada a inoculação ou seja, transfere-se o inóculo da embalagem onde foi produzido para orifícios feitos nos toros. Os orifícios são feitos utilizando-se furadeira elétrica e broca de aço específicas, estabelecendo-se entre os orifícios as medidas de espaçamento. A inoculação é feita em seguida, evitando-se assim contaminação. A inoculação pode ser feita manualmente ou com instrumentos especializados (inoculadores). Os orifícios após inoculação são selados usando-se parafina fundida a cerca de 115°C, podendo estar acrescidas de breu.

Os toros inoculados e vedados são empilhados e passam para a fase de incubação, quando o micélio irá colonizar e decompor a madeira. A fase de incubação dura de 6 a 24 meses, podendo ocorrer em ambientes naturais (sob árvores) ou em ambientes controlados (como em viveiro protegido por tela com capacidade de retenção de 80% da luminosidade solar ou em galpões). A temperatura do ar ideal nesta fase compreende a faixa de 22 a 25°C, e a umidade relativa do ar entre 60 a 85% (Teixeira & Machado, 1997). Para manutenção da umidade dos toros, os mesmos devem ser irrigados diariamente, numa quantidade ideal (umidade de 55 a 60%, Eira et al., 1997) de acordo com a temperatura e umidade do local de cultivo, evitando-se o ressecamento da casca e enfraquecimento do micélio e a contaminação por outros fungos.

Durante a fase de incubação, de 15 a 30 dias após a inoculação, pode-se observar nos toros manchas brancas sob a camada de parafina; manchas amareladas e casca com “textura de borracha”, por volta do segundo e terceiro mês; e diminuição progressiva da massa dos toros (Yanase, 1997; citado por



Sant'anna, 1998). Estes fenômenos ocorrem pelo shiitake secretar peróxido de hidrogênio e peroxidases para o meio externo à hifa, onde irá ocorrer a degradação das moléculas complexas do substrato, como lignina, celulose e hemicelulose, quebrando-se em moléculas menores para então serem absorvidas pelo fungo (Matheus & Okino, 1998).

O micélio cresce mais rapidamente no sentido das fibras da madeira e, sob condições adequadas, a velocidade de crescimento é de 1mm/dia (Pascholati et al., 1996). Quando a colonização está avançada, aparece uma figura branca simétrica na extremidade do toro, indicando o sucesso na colonização (Prybylowicz & Donoghue, 1990). Esta figura é denominada de "Kimmon" (Tatezawa, 1995).

Após o período de incubação, a frutificação é estimulada por um estresse ambiental que induz o shiitake a interromper o crescimento vegetativo e iniciar a fase de reprodução por basidiosporos. Esse estresse pode ser feito artificialmente através dos choques de indução hídrica, térmica e/ou mecânica. Neste procedimento os toros são submetidos a imersão em água fria durante um período determinado. A temperatura da água e a duração do choque de indução são aspectos conflitantes na literatura. Segundo Eira et al. (1996) não há diferença significativa entre imersão dos toros em água gelada ou à temperatura ambiente. Shiomi (1998) verificou que um período de seis horas de imersão resulta em maior produtividade dos toros e que o choque de indução mecânico não influi significativamente na frutificação. Bononi et al. (1995) estabelecem duração entre 8 a 24 h, dependendo da estação do ano em que o choque for dado, e que há a necessidade do resfriamento da água de imersão em cerca de 10°C abaixo da temperatura ambiente, para que efetivamente se tenha boa produtividade.

Após a indução para frutificação, os toros devem ser armazenados verticalmente em locais protegidos contra o sol, chuva, vento e animais. Nesta fase a instalação deve possibilitar umidade relativa do ar entre 85 a 95 % e temperatura do ar entre 20 a 25°C, para que haja a formação de primórdios e o crescimento dos basidiocarpos. A formação dos primórdios se dá do terceiro ao quinto dia após o choque de indução. A colheita dos basidiocarpos é feita entre

o sétimo ao décimo dia após o choque de indução (em épocas mais frias a colheita pode demorar um pouco mais); quando estão com cerca de 80 % de abertura do píleo (Teixeira, 1996).

Terminado o período de frutificação dos toros, os mesmos retornam ao local de incubação, permanecendo por um período variável de acordo com o clima da região do cultivo, para que o micélio recupere nutrientes para nova frutificação. No final desta fase os toros são novamente submetidos a um novo choque de indução, permanecendo neste ciclo por um período variável, mas que para o clima nacional pode ser compreendido entre um a dois anos de cultivo total (Eira et al., 1996; Sant'anna, 1998).

A produção de shiitake é afetada por fatores como o diâmetro do toro, a espécie de árvore, o manejo no cultivo (Przybylowicz & Donoghue, 1990), a linhagem do fungo (San Antonio, 1981), e o número de orifícios inoculados (Montini, 1997). A produtividade nacional ao final da vida útil do toro de *Eucalyptus* spp. é de 15 a 20 % de sua massa fresca. Para um toro com características de 15 cm de diâmetro e 100 cm de comprimento poderá haver de três a cinco choques de indução (Eira et al., 1996).

O ciclo de vida do shiitake também sofre influência direta da temperatura e umidade relativa do ar, intensidade luminosa (quantidade ideal 550 lux, no comprimento de onda entre 370 nm a 420 nm), pH do substrato (faixa ideal entre 3,5 a 5,0), concentração de gases oxigênio e carbônico e qualidade da água de irrigação e de imersão nos choques de indução (Teixeira & Machado, 1997).

2.6.5. Contaminantes no Cultivo

Durante o cultivo do shiitake os principais organismos invasores que podem ocasionar danos tanto nos toros quanto nos cogumelos, são os fungos, insetos (moscas, ácaros e cupins), moluscos (lesmas e caramujos), e em menor



significância, bactérias (*Pseudomonas fluorescens*) (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Entre as 150 espécies de fungos que podem ocasionar danos ao cultivo do shiitake, estão os que ocasionam doenças, por secretarem compostos antifúngicos que matam as hifas do shiitake, sendo predominante os ascomicetos (como *Trichoderma* spp.; *Hypoxylon coccineum* e *Diatrype estigma*); os que competem por espaço e nutrientes na madeira, sendo predominante os basidiomicetos (como *Schizophyllum commune*; *Merillus tremellosus* e *Poria* spp.); e os que parasitam a madeira, porém não afetam diretamente o micélio do shiitake, geralmente são trazidos nos toros no campo e permanecem por pouco tempo (como *Bulgaria inquinans* - ascomiceto, e *Mycena* spp.- basidiomiceto) (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Para o combate e prevenção de todos estes organismos não faz-se uso de produtos químicos, mas apenas acurado controle do manejo (Eira et al., 1997).



3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização dos experimentos

O trabalho foi conduzido na área experimental do Departamento de Biologia da Faculdade de Engenharia, UNESP, Campus de Ilha Solteira, de coordenadas geográficas 20°22'S e 51°22'W Gr, altitude de 335 m, temperatura média anual de 23,6°C, e precipitação pluviométrica média anual é de 1330 mm. Segundo classificação de Köppen a região é definida como tropical quente e úmida (Centurion, 1982).

3.2. Linhagem e meios de cultura

A linhagem utilizada de *L. edodes*, denominada Y602, foi adquirida do Japão em cavilhas, pela comunidade Yuba de Mirandópolis (SP), em 1996 (FOTO 1). Em câmara de fluxo laminar no laboratório de Biotecnologia da FEIS – UNESP, essas cavilhas medindo 8 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento, foram transferidas para o centro de placas de Petri contendo meio BDA esterilizado. As placas foram transferidas para estufa a 25°C no escuro. Após colonização de 3/4 da área das placas, retirou-se com auxílio de um vazador de 3 mm, discos da periferia da colônia que foram transferidos para tubos de ensaio contendo meio BDA inclinado. Após o décimo quinto dia de incubação, as colônias foram cobertas com óleo mineral nujol, e estocadas em geladeira a 5°C

(Badham, 1989). Esse micélio em meio BDA foi considerado a matriz primária do experimento.

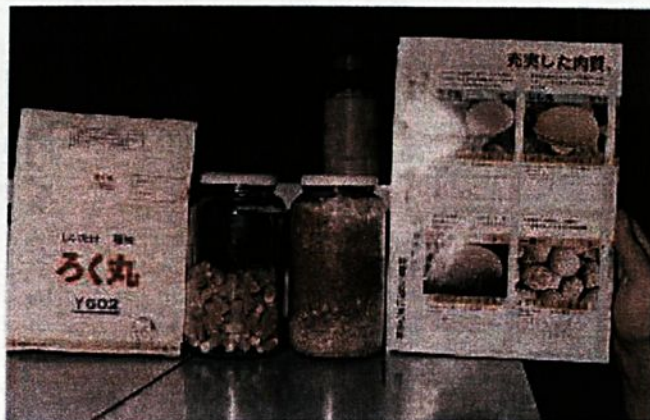


FOTO 1: Linhagem japonesa de shiitake Y602 adquirida em cavilhas.

3.2.1. Meio de cultura BDA

O meio de cultura BDA foi preparado da seguinte forma:

- 140 g de batata inglesa;
- 10 g de dextrose;
- 20 g de ágar;
- 1 litro de água destilada.

Ferveu-se por 1 hora as batatas descascadas e picadas, e em seguida filtrou-se em algodão hidrófilo. Ao filtrado, adicionou-se a dextrose e o ágar. Completou-se o volume para 1 litro de água destilada. Esterilizou-se o meio em autoclave por 20 min a 121°C – 1 atm. O pH foi ajustado para 6,0. Como acidificante foi utilizado ácido clorídrico 1 M, e alcalinizante hidróxido de sódio 1M.

O desenvolvimento micelial em placas de Petri para produção da matriz secundária, foi realizado em meio de cultura SDA.

3.2.2. Meio de cultura SDA

Após o desenvolvimento da matriz primária em meio BDA, extraiu-se com auxílio de um vazador de 3 mm, discos da periferia da colônia da matriz primária, que foram transferidos centralmente em 30 placas de Petri contendo cerca de 20 mL de meio SDA. Em seguida, as placas foram mantidas a 25°C, até que o crescimento radial ocupasse 90 % de cada placa. Utilizou-se o meio SDA a fim de se evitar a seleção de mutantes nutricionais (Eira & Montini, 1997).

O meio SDA foi preparado da seguinte maneira:

- 300 g de serragem úmida;
- 30 g de farelo de trigo;
- 30 g de quirera de milho;
- 2 g de carbonato de cálcio;
- 10 g de dextrose;
- 15 g de ágar;
- 1 litro de água destilada.

Ferveu-se por 15 min a serragem, o farelo de trigo, a quirera de milho, e o carbonato de cálcio. Em seguida, filtrou-se em algodão hidrófilo e adicionou-se a dextrose e o ágar por litro de extrato. Completou-se o volume para 1 litro de água destilada. Esterilizou-se o meio em autoclave por 30 min a 121°C – 1 atm. O pH foi corrigido para 6,0. Como acidificante foi utilizado ácido clorídrico 1 M, e alcalinizante hidróxido de sódio 1 M.

3.3. Inóculo ou Matriz secundária

O substrato base para a produção do inóculo constituiu-se de serragem de *E. saligna*, passada em peneira com malha de 3 mm, com teor de umidade de 60 % (Stamets & Chilton, 1983) e suplementada com farelo de arroz



na proporção de 4:1 (Teixeira, 1996). O teor de umidade da serragem foi obtido deixando-a de molho em água por 24 h, e em seguida, comprimindo-a com as mãos até que não escorresse água entre os dedos.

A mistura foi distribuída em 60 frascos de plásticos de 950 mL, medindo 165 mm de altura e 45 mm de diâmetro, vedados com papel alumínio e papel pardo, presos a boca do frasco com elástico de borracha. A quantidade de substrato depositada em cada frasco foi de 600 g, seguindo-se autoclavagem a 120°C, durante 90 min. Após o resfriamento à temperatura ambiente, os frascos foram inoculados, em câmara de fluxo laminar, com pequenas partes (10 x 10 mm) do meio SDA colonizado pelo micélio da matriz primária, sendo a parte colonizada voltada para baixo. Após 30-35 dias de incubação a 25°C no escuro, todo substrato estava colonizado e pronto para ser inoculado nos toros.

3.4. Espécies arbóreas utilizadas

As madeiras utilizadas foram de árvores de abacateiro (*Persea americana*) e de mangueira (*Mangifera indica*), e como controle, de eucalipto (*E. saligna*). Utilizou-se toros de três cultivares de abacateiro: Fortuna, Quintal (híbridos das raças antilhana e guatemalense) e Pollock (raça antilhana); e três cultivares de mangueira: Coquinho, Extrema e Haden.

Os abacateiros e as mangueiras pertencem a coleção do Departamento de Horticultura da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira-UNESP, cultivadas na Fazenda Experimental da UNESP, localizada no município de Selvíria - MS, em latossolo vermelho-escuro de textura argilosa, originalmente coberto com vegetação de cerrado. O eucalipto foi obtido da fazenda Esmeralda, localizada no município de Pereira Barreto - SP.

As mangueiras quando cortadas estavam com cinco anos de idade e com altura média de 4 m e os abacateiros com cerca de 10 anos de idade, e altura média equivalente a das mangueiras. O eucalipto, com cinco anos de idade, com altura média de 8 m.



As espécies arbóreas foram cortadas com um intervalo de 20 dias entre elas, para que não houvesse sobreposição de choques de indução, em vista do espaço disponível no módulo de alvenaria. A data de corte correspondente de cada espécie foi: 01/09/98 para o abacateiro; 21/09/98 para a mangueira; e 11/10/98 para o eucalipto.

O corte dos toros foi feito com auxílio de uma moto-serra, evitando-se ao máximo a ocorrência de danos na casca. Padronizou-se as medidas dos toros em 100 cm de comprimento e diâmetro variando entre 8 a 12 cm. A identificação foi feita com plaquetas de alumínio estampadas com o número da repetição e a letra de identificação do tratamento. Cada tratamento foi formado com 60 repetições.

3.5. Inoculação dos toros

3.4.1. Abertura dos Orifícios

Até o sétimo dia após o corte, foram abertos orifícios com 20 mm de profundidade, alinhados em sentido longitudinal ao toro, num padrão de “zig-zag”, com auxílio de uma furadeira elétrica com broca de aço para madeira de 12 mm de diâmetro. Cada toro conteve em média 40 orifícios, dispostos em filas paralelas, distanciadas cerca de 5 cm entre as linhas e cerca de 15 cm entre os orifícios de uma mesma linha.

3.4.2. Inoculação e Vedação

Imediatamente após a furação, os orifícios foram preenchidos com o inóculo, utilizando-se um inoculador manual, de modo que cada orifício recebesse a mesma quantidade. Em seguida, com o auxílio de um bastão com esponja de aço na extremidade, foram vedados com parafina, fundida a 115°C, contendo 10 % de breu.



3.6. Incubação

Os toros inoculados foram empilhados de modo que cada camada foi composta de seis toros, espaçados 5 cm entre si, dispostos perpendicularmente à camada subjacente, sendo cada pilha composta de 60 toros. A primeira camada da pilha foi colocada sobre tijolos, distanciada 30 cm da superfície do solo, com a finalidade de evitar contaminação e facilitar a limpeza. A incubação ocorreu em um viveiro recoberto com tela tipo sombrite, com capacidade de reter 80 % da luminosidade solar. O viveiro de tela tipo sombrite é muito utilizado pelos produtores de shiitake na região noroeste paulista (Paula et al., 1999), região onde se realizou os experimentos desta dissertação.

A irrigação era diária, por no mínimo duas vezes, com auxílio de mangueira de jardim. Procurou-se manter a umidade relativa do ar entre 60 a 80 % através de microaspersores instalados em todo o viveiro (vazão de cinco litros por hora). Os dados climáticos (temperatura, umidade relativa e pluviosidade), referentes ao período do experimento, foram obtidos do Laboratório de Hidráulica e Irrigação do Departamento de Ciência do Solo e Engenharia Rural, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP (anexos I e II).

Os toros permaneceram nessas condições por seis meses. Para que haja crescimento uniforme neste período, fez-se o remonte das pilhas a cada dois meses, invertendo-se as camadas de toros na pilha. As camadas superiores foram transferidas para as camadas inferiores, e vice-versa. Além disso, a posição dos toros sofreu um giro de 180°.

3.7. Ciclo de Frutificação

3.7.1. Indução

Após o período de incubação, a frutificação foi estimulada artificialmente segundo o método descrito por Bononi et al. (1995). Os toros



foram submetidos aos choques de indução hídrica e térmica pela imersão num tanque contendo água fria por um período de 12 h. A temperatura da água foi de 5 a 10°C menor que a temperatura ambiente, obtida pela adição de gelo na água do tanque de imersão e monitorada com um termômetro. Ainda para estimular a frutificação, após os choques de indução hídrica e térmica, os toros sofreram um choque de indução mecânica através da queda livre em posição vertical, de uma altura aproximada de 30 cm, em superfície de concreto.

3.7.2. Frutificação

Após os choques de indução hídrica, térmica e mecânica, os toros foram dispostos num barracão de alvenaria coberto com telhas de barro e piso de cascalho, de temperatura ambiente em torno de 25 a 30°C e umidade relativa do ar em torno de 80 %. O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar dentro do barracão foi feito por meio de termômetros de bulbo seco e bulbo úmido. Os toros permaneceram em posição vertical inclinada, com espaçamento de 10 cm entre eles. A umidade relativa do ar foi mantida elevada graças a regas nas paredes, no chão e no telhado do barracão por três vezes ao dia. Os toros foram irrigados até o aparecimento dos primórdios (FOTO 2), que ocorreu cerca de 5 dias após os choques de indução.

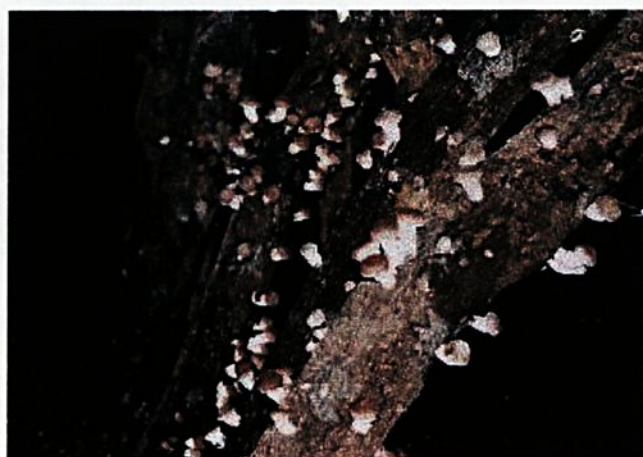


FOTO 2: Detalhe do desenvolvimento dos basidiocarpos cinco dias após choque de indução.

3.7.3. Colheita e Cuidados Pós-Colheita

Os basidiocarpos foram colhidos quando a maior parte deles apresentavam o píleo com abertura em torno de 80 % de abertura, o que ocorreu por volta do décimo dia após os choques de indução. No décimo dia foram colhidos todos os basidiocarpos, mesmos os que não alcançaram abertura do píleo de 80 %.

Após a colheita os toros retornaram ao viveiro e novamente foram empilhados, sem sofrerem nova inoculação. O manejo da irrigação continuou o mesmo antes da primeira colheita. Os choques de indução foram realizados novamente a cada dois meses. No total foram realizados quatro choques de indução para cada tratamento.

3.8. Variáveis avaliadas

Foram avaliadas as seguintes variáveis por tratamento:

1. *Número médio de basidiocarpos por toro;*
2. *Diâmetro médio do píleo* (medição realizada com paquímetro, no sentido do maior diâmetro);
3. *Produtividade;*

A percentagem de produtividade (P) foi obtida pela fórmula:

$$P = (MBS/MTS).100$$

onde: *MBS* representa a massa (em gramas) de basidiocarpos secos; e *MTS* é a massa (em gramas) do toro seco.

Os basidiocarpos secos foram obtidos com auxílio de uma estufa com circulação de ar forçada a 40°C, até massa constante. Já os toros secos foram obtidos logo após o corte dos toros, fazendo-se toletes de 3 cm de comprimento de um exemplar de cada tratamento e colocando-os para secar em estufa com



circulação de ar forçada a 103°C, até massa constante. Do valor da massa do toro seco de cada exemplar foi obtido um fator de conversão, que multiplicado à massa inicial fresca de cada exemplar, obteve-se os valores de massa de toro seco de cada repetição dos tratamentos.

4. *Massa média de basidiocarpos frescos;*

5. *Massa média de basidiocarpos secos (obtida conforme item 3);*

6. *Eficiência biológica;*

A percentagem de eficiência biológica (EB) foi obtida pela fórmula:

$$EB = (MBF/MTS).100$$

onde: *MBF* representa a massa (em gramas) de basidiocarpos frescos; e *MTS* é a massa (em gramas) de toro seco.

7. *Massa média de toros frescos (medição de cada repetição realizada antes da inoculação);*

8. *Massa média de toros secos (obtida conforme item 3);*

9. *Densidade das madeiras (g.cm⁻³);*

O cálculo da densidade das madeiras logo após o corte dos toros, no Laboratório de Genética de Populações e Evolução do Departamento de Fitotecnia, Economia e Sociologia Rural, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira- UNESP, segundo metodologia proposta por Brasil (1983), baseado na fórmula:

$$d = MS/(MU - MI)$$

onde: *MS* representa a massa do toro seco em gramas; *MU* é a massa do toro úmido e *MI* é a massa do toro imerso.

10. *Análise bromatológica das madeiras.*



A análise bromatológica das madeiras foi realizada logo após o corte dos toros, no Laboratório do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, segundo metodologia proposta por Silva (1981).

A percentagem de matéria seca dos toros foi representada pela sigla MS. Os teores de fibras em detergente neutro e ácido, lignina e celulose foram analisados em 100 % de matéria seca. As fibras em detergente neutro e em detergente ácido foram representadas pelas siglas FDN e FDA, respectivamente.

3.9. Análise Estatística

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, utilizando o modelo de análise Hierárquico + 1, realizado no sistema *SAS* (*Statistical Analysis System*) versão 6.0, obtido das combinações da linhagem Y602 com seis cultivares (três de abacateiro e três de mangueira) e o controle eucalipto. Foram realizadas 60 repetições por tratamento, sendo que a unidade experimental foi constituída de um toro.



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos dados obtidos para o número de basidiocarpos por toro, o diâmetro do pileo, as massas de basidiocarpos frescos e secos, as percentagens de produtividade e eficiência biológica, dos diferentes tratamentos, nos quatro choques de indução encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Valores totais médios do número de basidiocarpos/toro (*NB/T*); do diâmetro do pileo (*DP*); das massas de basidiocarpos frescos (*MBF*) e secos (*MBS*); da produtividade (*P*) e eficiência biológica (*EB*), nos quatro choques de indução.

<i>Espécie arbórea</i>	<i>Cultivar</i>	<i>NB/T</i>	<i>DP</i> (cm)	<i>MBF</i> (g)	<i>MBS</i> (g)	<i>P</i> (%)	<i>EB</i> (%)
Abacateiro	Pollock	16 a	8,14 ac	493,84 a	47,95 a	0,67 b	6,86 a
	Fortuna	15 a	8,36 a	419,47 b	44,06 ab	0,78 a	7,46 a
	Quintal	14 a	8,49 a	406,11 b	41,34 b	0,70 ab	6,88 a
Mangueira	Haden	14 a	6,79 b	245,82 c	25,12 c	0,27 ce	2,64 bd
	Coquinho	14 a	7,41 bc	278,03 c	28,02 c	0,37 d	3,65 c
	Extrema	17 a	7,17 b	267,35 c	27,08 c	0,32 cd	3,19 bc
Eucalipto	-	8 b	5,63 d	167,83 d	17,30 d	0,20 e	1,99 d

NB/T: F=4,33, CV= 43,82%, DMS= 3,54; *DP*: F= 9,96, CV= 33,60%, DMS= 0,80; *MBF*: F= 20,81, CV= 60,42%, DMS= 62,96; *MBS*: F= 19,65, CV= 60,55%, DMS= 6,39; *P*: F= 45,41, CV= 57,04%, DMS= 0,09; *EB*: F= 45,26, CV= 56,94%, DMS= 0,85. Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si. (Tukey 5%)

O número de basidiocarpos produzidos nos quatro choques de indução foi significativamente maior nos toros de abacateiro e mangueira (média dos cultivares: 15 basidiocarpos por toro), não sendo observado diferenças entre os cultivares. A menor produção foi observada nos toros de eucalipto (8 basidiocarpos por toro).

O número médio de basidiocarpos por toro, em cada choque de indução, nos cultivares de abacateiro, mangueira e eucalipto, estão nas FIGURAS 1, 2 e 3, respectivamente. De um modo geral, os toros de mangueira e eucalipto tiveram a mesma tendência nos quatro choques de indução, ou seja, produção próxima de zero no primeiro choque de indução, um aumento gradativo de um choque para outro. Esses resultados diferem dos observados por Sant'anna (1998), que obteve decréscimo na produção a medida que os choques de indução eram realizados.

Sabe-se que o período de incubação tem influencia direta na produção e que produções satisfatórias só são obtidas em toros bem colonizados pelo shiitake durante este período (Przybylowicz & Donoghue, 1990). Dessa maneira, as baixas produções de basidiocarpos nos primeiros choques de indução de todas as espécies arbóreas deste trabalho, parecem indicar que os toros não estavam satisfatoriamente colonizados pelo micélio da linhagem Y602, após seis meses de incubação, para as condições climáticas do cultivo.

Após o primeiro choque de indução foram observados vários tipos de contaminações por fungos, principalmente em toros de abacateiro e de mangueira. O choque de indução sem satisfatória colonização dos toros pelo micélio da linhagem Y602 pode ter favorecido o surgimento das contaminações uma vez que, as áreas não colonizadas são facilmente dominadas por contaminantes (Przybylowicz & Donoghue, 1990).

Todos os cultivares de abacateiro tiveram o mesmo comportamento das demais espécies arbóreas no primeiro choque de indução, porém o maior número de basidiocarpos foi observado no segundo choque, decrescendo até o final do cultivo (FIGURA 1). Esse decréscimo pode ser

explicado pela observação visual do rápido apodrecimento dos toros, pelas contaminações e pela conseqüente diminuição do teor de nutrientes (Eira et al. 1996). O apodrecimento desses toros foi muito rápido comparado as demais espécies arbóreas. O terceiro choque mecânico nos cultivares de abacateiro foi realizado com muito cuidado, não sendo possível realizar o quarto em decorrência da avançada decomposição (FOTO 3).

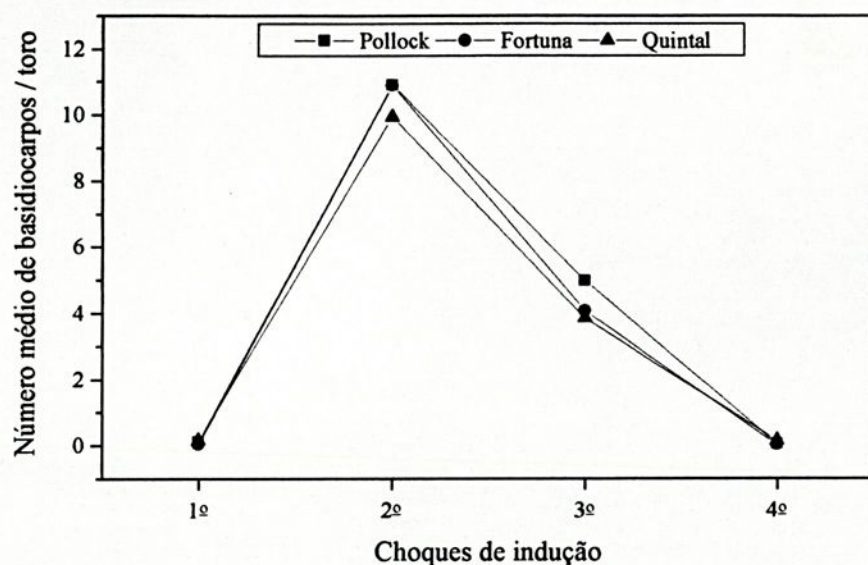


FIGURA 1: Número médio de basidiocarpos por toro em cada choque de indução, para os cultivares de abacateiro.

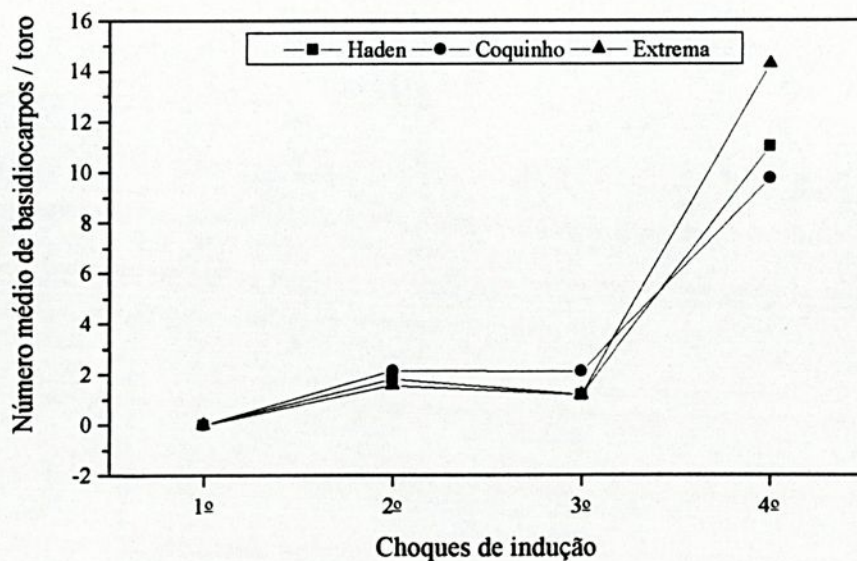


FIGURA 2: Número médio de basidiocarpos por toro em cada choque de indução, para os cultivares de mangueira.

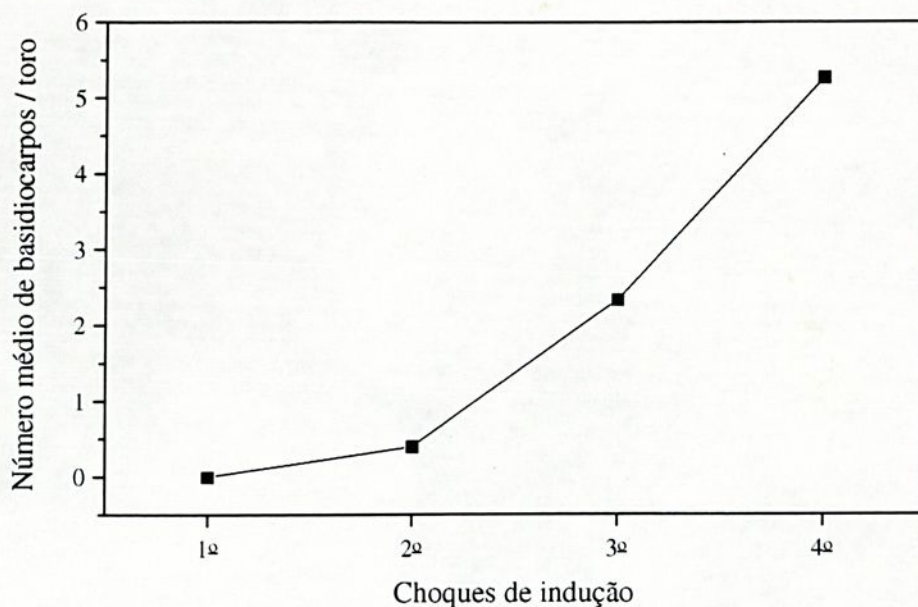


FIGURA 3: Número médio de basidiocarpos por toro em cada choque de indução, para o eucalipto.



FOTO 3: Detalhe de um toro de abacateiro submetido ao terceiro choque de indução mecânica.

Com relação ao diâmetro do píleo, os maiores basidiocarpos foram observados nos cultivares de abacateiro Quintal (8,49 cm), Fortuna (8,36 cm) e Pollock (8,14 cm); os intermediários nos de mangueira Coquinho (7,41 cm), Extrema (7,17 cm) e Haden (6,79 cm); e os menores no eucalipto (5,63 cm).

A percentagem de basidiocarpos pequenos, médios, grandes e extra-grandes, em cada tratamento, consta na FIGURA 4. Todos os cultivares de abacateiro tiveram mais de 50 % do total de basidiocarpos com diâmetro acima de 7 cm, ou seja, grandes e extra-grandes: Fortuna e Pollock com aproximadamente 60 %, e Quintal com 57,5 %. O cultivar de mangueira com maior percentagem de basidiocarpos grandes e extra-grandes foi o Coquinho (62,5 %), seguido do Extrema (43 %) e Haden (35 %). O eucalipto teve 40 % de basidiocarpos com diâmetro acima de 7 cm. Foi comum a produção de basidiocarpos com diâmetro superior ao do toro de cultivo (FOTO 4).

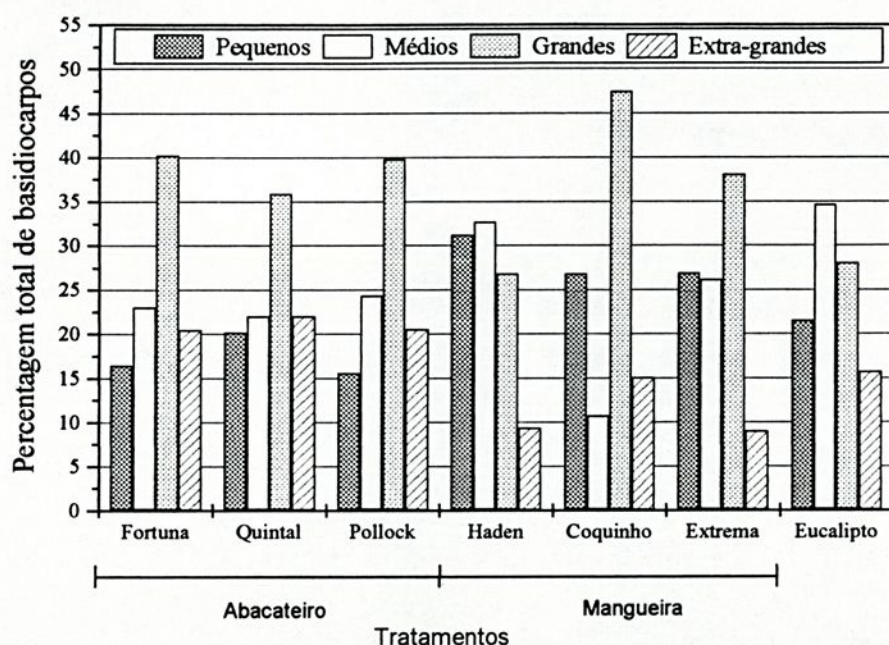


FIGURA 4: Percentagem total de basidiocarpos pequenos ($\phi \leq 5$), médios ($5 < \phi \leq 7$), grandes ($7 < \phi \leq 10$) e extra-grandes ($\phi > 10$) em cada tratamento.



FOTO 4: Detalhe de um basidiocarpo extra-grande com diâmetro do píleo maior que o diâmetro do toro de abacateiro.

O diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para os cultivares de abacateiro encontra-se na FIGURA 5. As curvas não tiveram o mesmo comportamento. Os cultivares de abacateiro Fortuna e Quintal tiveram maiores basidiocarpos no último choque de indução. O cultivar Pollock apresentou tamanho dos basidiocarpos decrescente ao longo dos quatro choques de indução.

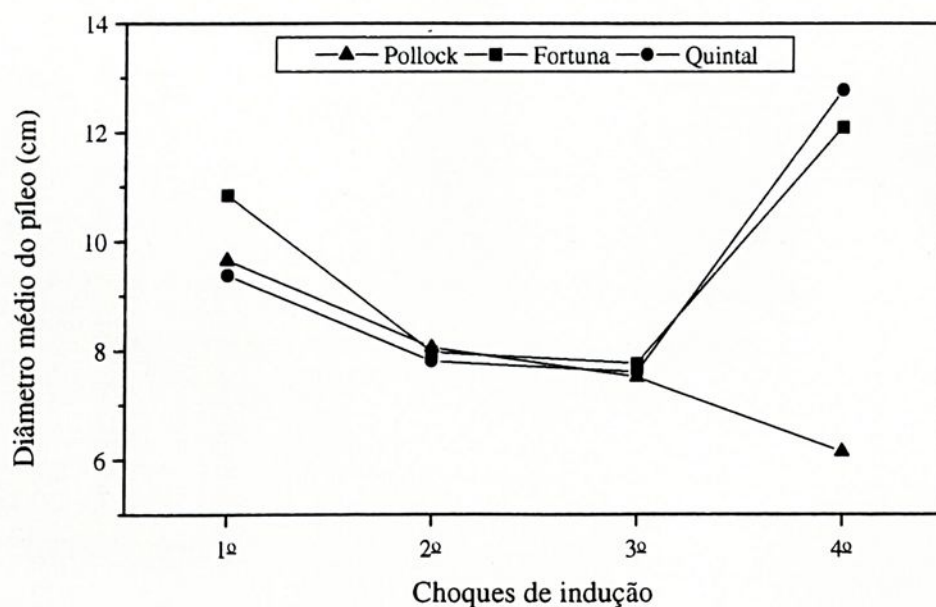


FIGURA 5: Diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para os cultivares de abacateiro.

O diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para os cultivares de mangueira encontram-se na FIGURA 6. As curvas tiveram o mesmo comportamento, sendo o tamanho dos basidiocarpos maior no segundo e terceiro choques de indução, e nulo no primeiro. A curva do diâmetro médio do píleo para o eucalipto teve o mesmo comportamento do observado nos cultivares de mangueira (FIGURA 7).

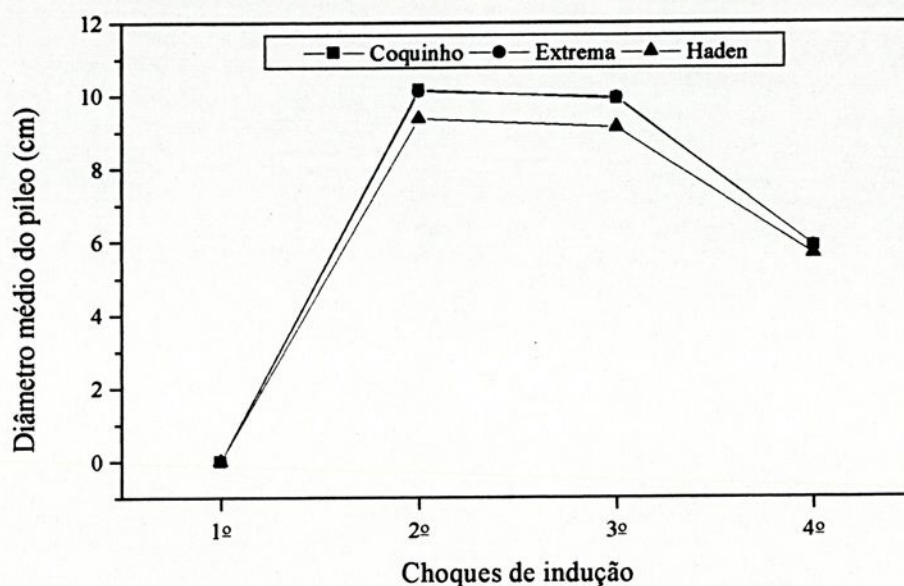


FIGURA 6: Diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para os cultivares de mangueira.

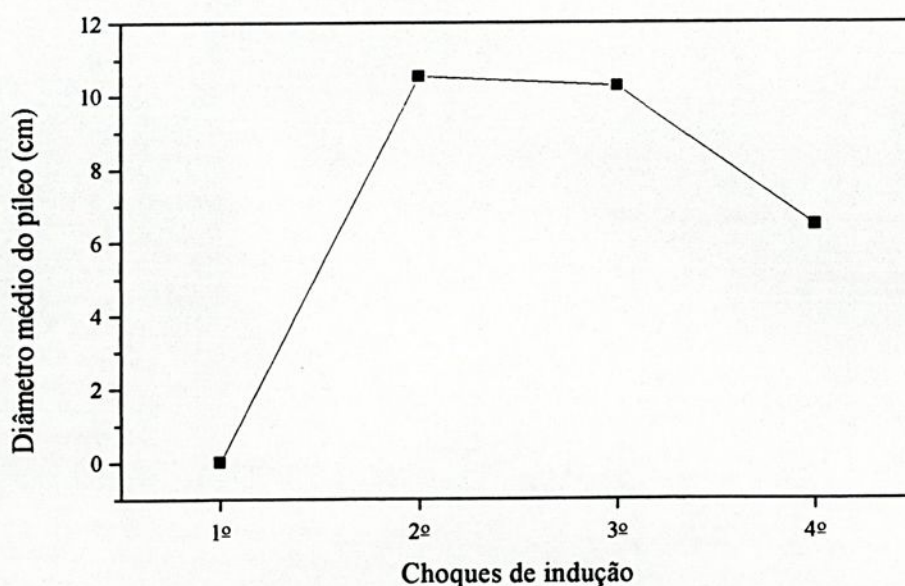


FIGURA 7: Diâmetro médio do píleo em cada choque de indução, para o eucalipto.

Observando as FIGURAS 5, 6 e 7, nota-se que os choques de indução intermediários foram os que apresentaram o tamanho dos basidiocarpos uniforme em todos os tratamentos, havendo maior variação de tamanho no choque de indução inicial (quando houve produção) e final.

A maior massa de basidiocarpos frescos foi do cultivar de abacateiro Pollock (493,84 g), seguido dos cultivares Fortuna (419,47 g) e Quintal (406,11 g) (Tabela 1). Não houve diferença entre os cultivares de mangueira (média destes cultivares 263,73 g), sendo que todos produziram mais que o eucalipto (167,83 g).

A massa de basidiocarpos secos praticamente seguiu a mesma tendência da massa fresca, ou seja, os maiores valores foram observados nos cultivares de abacateiro, os intermediários nos de mangueira e o menor no de eucalipto (Tabela 1).

A maior produtividade (Tabela 1) foi observada no cultivar de abacateiro Fortuna (0,78 %), que apenas não diferiu em relação ao cultivar de abacateiro Quintal (0,70 %). A produtividade dos cultivares de abacateiro Quintal e Pollock (0,67 %) não diferiram entre si, mas foram superiores em relação aos cultivares de mangueira e o eucalipto. A produtividade dos cultivares de mangueira Haden (0,27 %) e Extrema (0,32 %) não diferiram entre si, como também entre Coquinho (0,37 %) e Extrema. A menor produtividade foi do eucalipto (0,20 %), que diferiu dos demais tratamentos, a exceção do cultivar Haden.

No Brasil não existe dados concretos sobre a produtividade do shiitake em toros. Alguns autores estimam que a produção total de massa de basidiocarpos frescos corresponde de 15 a 20 % da massa úmida inicial do toro, para diferentes espécies arbóreas (Chang & Miles, 1989; Bononi et al., 1995; Eira et al., 1996).

As maiores percentagens de eficiência biológica (Tabela 1) foram observadas nos toros dos cultivares de abacateiro (média dos cultivares 7,07 %). Não houve diferença entre os cultivares de mangueira Haden (2,64 %) e Extrema (3,19 %), e Coquinho (3,65 %) e Extrema. A menor percentagem de

eficiência biológica foi do eucalipto, que diferiu dos demais tratamentos, novamente a exceção do cultivar de mangueira Haden.

Obteve-se no presente trabalho as seguintes percentagens de massa de basidiocarpos frescos em relação a massa úmida inicial dos toros: Fortuna 8,1 %, Pollock 7,8 %, Quintal 7,8 %, Coquinho 4,0 %, Extrema 3,5 %, Haden 2,9 % e eucalipto 2,2 %. Valores inferiores à estimativa de Chang & Miles (1989), Bononi et al. (1995) e Eira et al. (1996).

Tatezawa (1995) obteve a excelente produção total de 4,35 kg de basidiocarpos frescos por toro de 10 kg (massa úmida) de eucalipto, durante todo o ciclo de cultivo. Esta produção corresponde a 43,5 % da massa úmida inicial dos toros, resultado superior à estimativa dos autores mencionados acima.

Teixeira (1996), utilizando linhagem de shiitake Jab-K1 em substrato base acrescido de farelo de arroz (mesmo substrato base deste experimento), obteve a produção média de 264,27 g de basidiocarpos frescos por toro de *E. grandis*, correspondendo a 26,10 g de basidiocarpos secos por toro, número total médio de 15 basidiocarpos por toro e diâmetro médio do píleo de 6,9 cm, num único choque de indução.

Montini (1997), trabalhando com a linhagem BMA LE 95/01, obteve a produção média de 298,28 g de basidiocarpos frescos por toro de *E. saligna*, e eficiência biológica média de 4,52 %, contudo os toros tinham de 2,07 a 2,30 cm de comprimento e apenas foi dado um único choque de indução.

Tarui (1997), utilizando linhagem Jab-K, relatou produção total média de 804,98 g de basidiocarpos frescos por toro de *E. saligna* e o número total médio de 92,64 basidiocarpos por toro, em quatro choques de indução.

Sant'anna (1998), com o cultivo da linhagem CCB-48 em três choques de indução, obteve produção média de 729,7 g de basidiocarpos frescos por toro de 10,30 kg (massa úmida) de *E. urophylla*, o que corresponde a produção de 7,08 % de basidiocarpos frescos da massa úmida inicial dos toros e eficiência biológica de 16,85 %.

Os resultados médios de produção inferiores deste trabalho comparados aos da literatura científica, podem ser atribuídos a manifestação



parcial do potencial genético da linhagem Y602, que desadaptada às condições climáticas da região do cultivo, demonstrou requerer maior período de incubação para a colonização dos toros. Além disto, a indução à frutificação sem colonização satisfatória dos toros facilitou a contaminação por outros fungos.

A densidade e análise bromatológica das madeiras de todos os tratamentos, antes da inoculação, encontram-se nas FIGURAS 8 e 9, respectivamente. Nota-se que houve pouca diferença nas propriedades químicas e físicas entre os tratamentos.

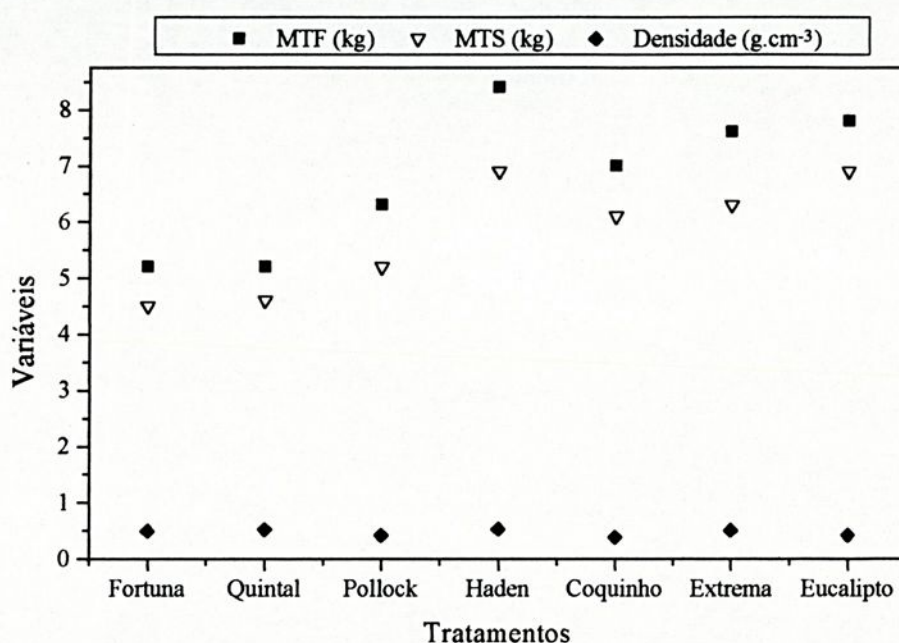


FIGURA 8: Valores médios das massas de toros frescos (*MTF*) e secos (*MTS*) e da densidade das madeiras.

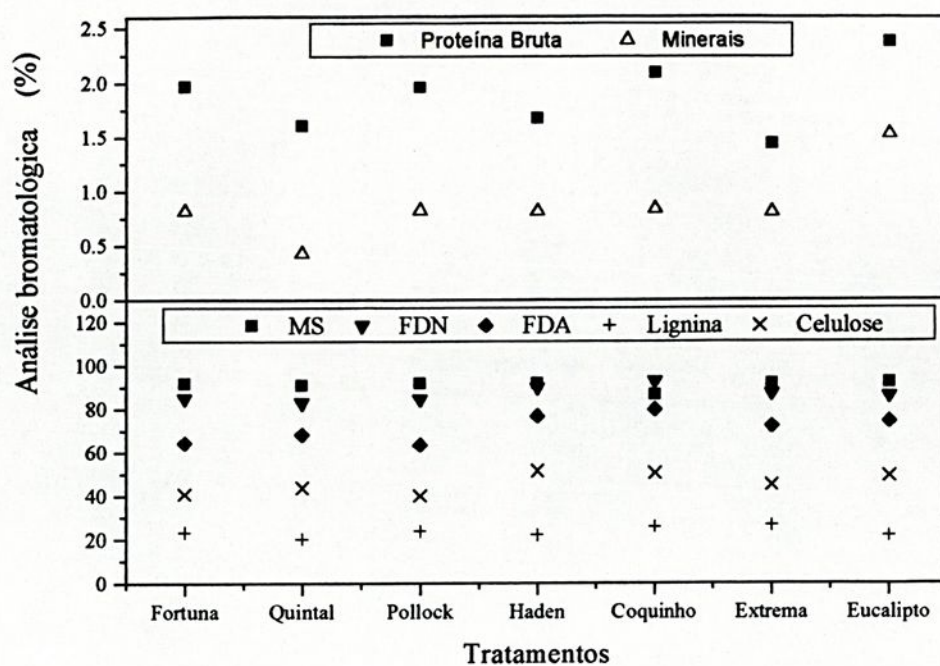


FIGURA 9: Resultados da análise bromatológica das diferentes espécies arbóreas (MS: matéria seca; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido).

5. CONCLUSÕES

- ✓ A linhagem japonesa de shiitake Y602 desenvolveu e produziu basidiocarpos de excelente qualidade em toros de abacateiro, mangueira e eucalipto.
- ✓ A linhagem Y602 parece não ter manifestado todo seu potencial genético de produtividade, por requerer maior período de incubação nos toros para uma boa colonização, considerando as condições climáticas onde foi realizado o cultivo.
- ✓ A espécie arbórea abacateiro apresentou os melhores resultados para todas as variáveis avaliadas: número de basidiocarpos por toro, diâmetro do píleo, massa de basidiocarpos frescos e secos, percentagens de produtividade e de eficiência biológica.
- ✓ Os cultivares de abacateiro diferiram pouco entre si para todas as variáveis avaliadas, ocorrendo o mesmo entre os cultivares de mangueira.
- ✓ O eucalipto (*E. saligna*) apresentou os menores resultados para todas as variáveis avaliadas.
- ✓ Toros das espécies arbóreas abacateiro e mangueira podem ser destinados satisfatoriamente ao cultivo de shiitake, embora os resultados de produtividade e eficiência biológica tenham sido inferiores aos documentados na literatura científica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BADHAM, E. R. Growth and competition between *Lentinus edodes* and *Trichoderma harzianum* on sawdust substrates. *Mycologia*, v.83, n. 4, p. 455-463, 1989.
- BRASIL, M. A. M. *Variação da densidade básica da madeira entre e dentro de procedências de Eucalyptus urophylla S. T. Blake*. Botucatu - SP. 1983. 89p. Livre-docência - Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP.
- BONONI, V. L et al. *Cultivo de basidiocarpos comestíveis*. São Paulo: Coleção Brasil Agrícola, Cone Editora, 1995, 206p.
- CENTURION, J. F. Balanço hídrico da região de Ilha Solteira. *Científica*, Jaboticabal - SP, v. 10, n. 1, p. 57-61, 1982.
- CHANG, S. T., KWAN, H. S., KANG, Y. N. Collection, characterization and utilization of germ plasm of *Lentinula edodes*. *Canadian Journal of Botany*, v. 73, p. s955-s961, 1995.
- CHANG, S. T., MILES, P. G. A new look at cultivated mushrooms. *Bioscience*, v. 3, n. 6, p. 358-362, 1984.
- CUNHA, G. A. P. et al. *Manga para exportação: aspectos técnicos da produção*. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Brasília - DF: SDR, FRUTEX, EMBRAPA - SPI, 1994, 35p.
- DIALETACHI, L. L. G. *Cultivo de Lentinula edodes (Berk.) Pegler em substratos alternativos*. São Paulo - SP, 1996. 89p. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- EIRA, A. F. et al. *Manual teórico-prático do cultivo de basidiocarpos comestíveis*. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, UNESP, 1996, p. 68 - 80.

- EIRA, A. F.; MONTINI, R. M. C. *Manual de cultivo do shiitake: Lentinula edodes (Berk.) Pegler*. Botucatu - SP: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997, 38p.
- FERREIRA, J. E. *Produção de basidiocarpos*. Guaíra - RS, 1998, 135p.
- FIDALGO, O., GUIMARÃES, S. A situação do cogumelo comestível no Brasil e no exterior. In: I Encontro Nacional de Basidiocarpos Comestíveis, São Paulo - SP. *Anais...* São Paulo - SP, 1985. p. 7-23.
- GIOVANNOZZI-SERMANNI, G. et al. Plant cell wall degradation by mean of *Lentinus edodes* and chemical characterization of produced soluble lignocellulose. *Agrochimica*, v. 35, n. 2, p. 175-189, 1991.
- GUGLIOTA, A. M., CAPELARI, M. Taxonomia de basidiomicetos. In: BONONI, V. L. R. (org.). *Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas*. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria do Estado do Meio Ambiente, cap. 3. 1998. p. 69-106.
- HARRIS, B. *Growing shiitake commercially*. Tennessee: 2nd Foundation Publications. v. 2, 1993, 71p.
- HASEBE, K., MURAKAMI, S., TSUNEDA, A. Cytology and genetics of a dikaryotic strain of *Lentinus edodes* carrying two haplolethal factors. *Canadian Journal of Botany*, v. 70, p. 601-606, 1991.
- KAVATI, R. Práticas culturais em mangueiras de São Paulo. In: II Simpósio sobre mangicultura, Jaboticabal - SP. *Anais...* Jaboticabal - SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FUNEP, UNESP, 1989. p. 99-108.
- KOLLER, O. C. *Abacaticultura*. Porto Alegre - RS: Editora da Universidade UFRGS, 1984. 138p.
- ISHIKAWA, N. K. *Atividade antibacteriana em Lentinula edodes*. Viçosa - MG, 1998. 33p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrárias de Viçosa, UFV.
- LEATHAM, G. F. Cultivation of shiitake, the japanese forest mushroom, on logs: a potential industry for the United States. *Forest Products Journal*, v. 32, n. 8, p. 29-35, 1982.
- LEVANON, D. et al. Strain selection for cultivation of shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) on straw. *Bioresource Technology*, v. 45, p. 9-12, 1993.
- MARANCA, G. *Fruticultura comercial: manga e abacate*. São Paulo - SP: Nobel, 1976. 100p.

- MATA, G., GAITÁN-HERNÁNDEZ, R. Avances en el cultivo del shiitake en pulpa de café. *Revista Iberoamericana de Micología*, v. 11, p. 90-91, 1994.
- MATHEUS, D. R., OKINO, L. K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V. L. R. (org.). *Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas*. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria do Estado do Meio Ambiente, cap. 4. 1998. p. 107-106.
- MONTINI, R. M. C. *Produtividade de shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), no primeiro choque de indução, em função de características das toras do *Eucalyptus saligna*, Sm, variáveis do ambiente e período de incubação*. Botucatu - SP, 1997. 62p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP.
- MORALES, P., MARTINEZ-CARRERA, D. Cultivation of *Lentinula edodes* in Mexico. *Micology Neotropical Applied*, v. 3, p. 13-17, 1990.
- PAULA, D. P., TARSITANO, M. A. A., GRACIOLLI, L. A. Análise econômica da produção do cogumelo comestível shiitake, na região noroeste paulista. *Informações Econômicas*, v. 29, n. 4, p. 31-38, 1999.
- PASCHOLATI, S. F., STARNGARLIN, J. R., PICCININ, E. *Sugestões para o cultivo do cogumelo comestível "shiitake" em mourões de eucalipto*. Piracicaba - SP: ESALQ, Departamento de Fitopatologia, 1996. 19p.
- PEGLER, D. N. The classification of the genus *Lentinus* Fr. (Basidiomycota). *Kavada*, v. 3, p. 11-20, 1975.
- PRZYBYLOWICZ, P., DONOGHUE, J. *Shiitake growers handbook: the art and science of mushroom cultivation*. Kendall/Hunt Publishing Company, 1990. 217p.
- ROYSE, D. J. Recycling of spent shiitake substrate for production of the oyster mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 38, p. 179-182, 1992.
- ROYSE, D. J., SCHISLER, L. C., DIEHLE, A. Shiitake mushrooms: consumption, production and cultivation. *Interdisciplinary Science Reviews*, v. 10, n. 4, p. 329-335, 1985.
- ROYSE, D. J., BAHLER, B. D., BAHLER, C. C. Enhanced yield of shiitake by saccharide amendment of the synthetic substrate. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 2, p. 479-482, 1989.
- SABOTA, C. Strain of shiitake mushroom [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] and wood species affect the yield of shiitake mushrooms. *HortTechnology*, v. 6, n. 4, p. 388-393, 1996.

- SAN ANTONIO, J. P. Cultivation of the shiitake mushroom. *HortScience*, v. 16, n. 2, p. 151-156, 1981.
- SANT'ANNA, A. *Cultivo do cogumelo shiitake Lentinula edodes (Berk.) Pegler em serragem e em toras de eucalipto*. Rio Claro - SP, 1998. 115p. Dissertação de mestrado - Instituto de Biociências, UNESP.
- SAS INSTITUTE SAS/STAT. *Guide for personal computer, Version 6.0*, Edition, Cary, 1988. 378p.
- SHIOMI, H. F. *Efeito do tratamento de estresse por imersão em água, por baixa temperatura e choque mecânico na iniciação de basidiocarpos de Lentinula edodes em cepos de Eucalyptus saligna*. Jaboticabal - SP, 1998. 42p Trabalho final para conclusão de graduação - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP.
- SILVA, D. J. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa - MG: Universidade Federal de Viçosa, 1981. 166p.
- SHUKLA, A. N. Cultivation of japanese mushroom shiitake in India. *Indian Forest*. august. p. 714-719. 1994.
- SONG, C. H., CHO, K. Y., NAIR, N. G. A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia*, v.79, n. 6, p. 866-876, 1987.
- STAMETS, P. *Growing gourmet and medicinal mushroom*. Berkeley: Tem Speedo, 1993. 552p.
- STAMETS, P.; CHILTON, J. S. *The mushroom cultivator*. Washington. Agarikon Press, 1983. 415p.
- TARUI, H. P. *Colonização de serragens e produção de basidiocarpos em diferentes espécies de eucalipto, pelo cogumelo comestível Lentinula edodes (Berk.) Pegler (SHIITAKE)*. Jaboticabal - SP, 1997. 44p Trabalho final para conclusão de graduação - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP.
- TATEZAWA, N. *Cultivo de shiitake no Brasil*. São Paulo - SP: APAN-MOA, 1995. 32p. (mimeogr.)
- TEIXEIRA, E. M. *Efeito da suplementação de serragem de Eucalyptus grandis (Hill ex Maiden), na velocidade e intensidade de colonização do substrato para produção de matriz de Lentinula edodes (Berk.) Pegler e sua eficiência na produção*. Jaboticabal - SP, 1996. 37p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP.



TEIXEIRA, E. M., MACHADO, J. O. *O cultivo do cogumelo shiitake em toros*. Jaboticabal - SP: FUNESP, 1997. 44p.

WORRALL, J. J., YANG, C. S. Shiitake and oyster mushroom production on apple pomace and sawdust. *HortScience*, v. 27, n. 10, p. 1131-1133, 1992.

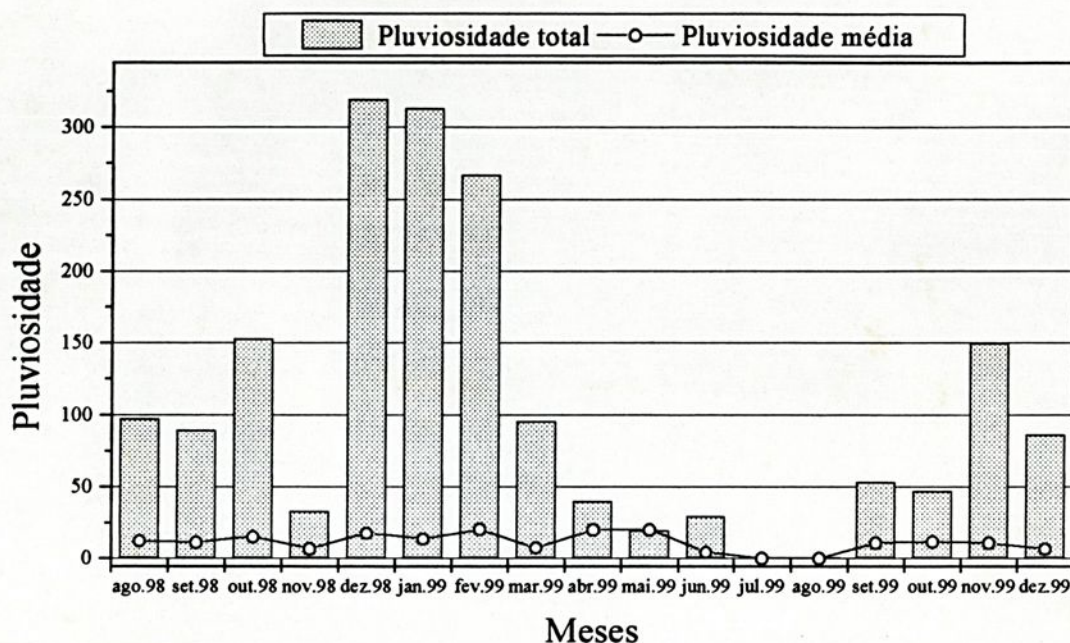
ZADRAZIL, F., GRINBERGS, J., GONZALEZ, A. "Palo Podrido" - Decomposed wood used as feed. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 15, p. 167-171, 1982.



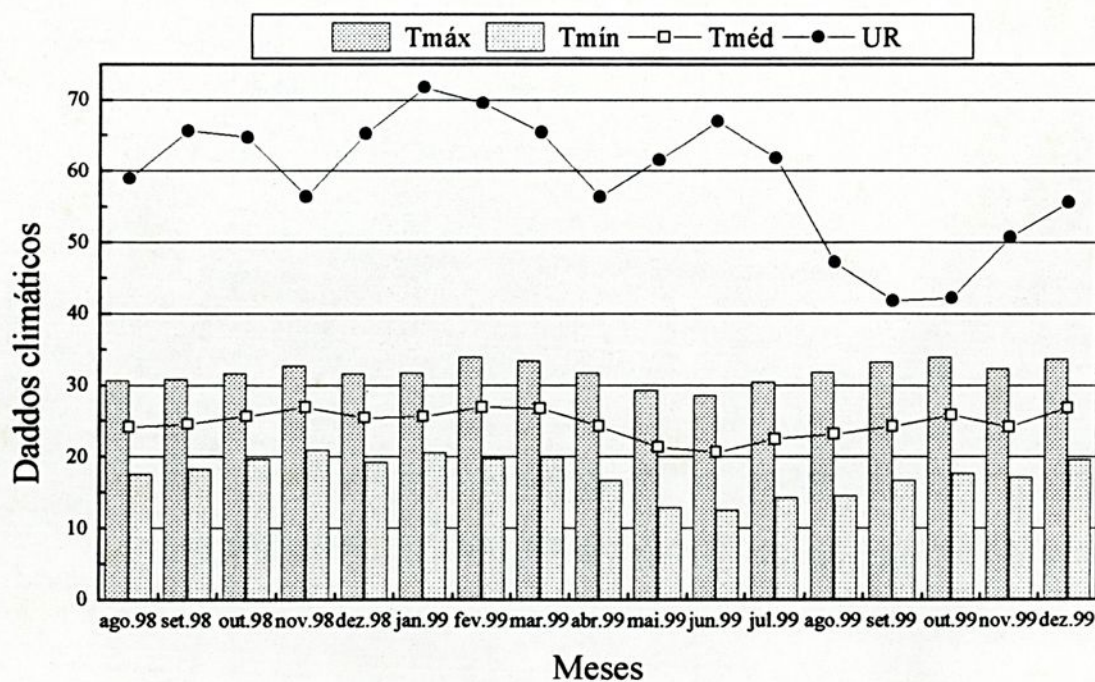
ANEXOS



Anexo I: Pluviosidade total e média durante a realização do experimento, em Ilha Solteira - SP.



Anexo II: Variação das temperaturas máxima, mínima e média e da umidade relativa durante a realização do experimento, em Ilha Solteira - SP.



CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO
AV. BRASIL, 56 - CAIXA POSTAL 31
15385-000 - ILHA SOLTEIRA - SP