

MIRELLA SANTOS MOREIRA

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE *SPAWN* NA PRODUÇÃO DE
Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm. E DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES
DO RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE COGUMELO NA QUALIDADE DE ALFACE
(*Lactuca sativa* L.)**

Botucatu

2019

MIRELLA SANTOS MOREIRA

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE *SPAWN* NA PRODUÇÃO DE
Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm. E DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES
DO RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE COGUMELO NA QUALIDADE DE ALFACE
(*Lactuca sativa* L.)**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Horticultura).

Orientador: Profº Dr. Lin Chau Ming

Co-orientador: Profº Dr. Edson Luiz Furtado

Co-orientador: Profº Dr. Diego Cunha Zied

Botucatu

2019

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

Moreira, Mirella Santos, 1993-
M838i Influência de diferentes condições de <i>Spawn</i> na produção de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. e de diferentes concentrações do resíduo da produção de cogumelo na qualidade de alface (<i>Lactuca sativa</i> L.) / Mirella Santos Moreira. - Botucatu: [s.n.], 2019
91 p.: fots., grafs., tabs.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2019
Orientador: Lin Chau Ming
Coorientadores: Edson Luiz Furtado; Diego Cunha Zied
Inclui bibliografia
1. Cogumelo - Cultivo. 2. Resíduos orgânicos - Reaproveitamento. 3. Alface - Cultivo. I. Ming, Lin Chau. II. Furtado, Edson Luiz. III. Zied, Diego Cunha. IV. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. V. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: "INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE *SPAWN* NA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. E DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE COGUMELO NA QUALIDADE DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.)"

AUTORA: MIRELLA SANTOS MOREIRA

ORIENTADOR: LIN CHAU MING

COORIENTADOR: EDSON LUIZ FURTADO

COORIENTADOR: DIEGO CUNHA ZIED

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LIN CHAU MING
Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Prof.ª Dr.ª KASSANDRA SUSSI MUSTAFÉ OLIVEIRA
Engenharia Rural / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Prof.ª Dr.ª MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE
Engenharia Agrônômica / Faculdade Gran Tietê

Botucatu, 28 de fevereiro de 2019.

Ào meu companheiro,
Pablo Vitor Ribeiro,
dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A minha mãe Maria Liliana, meus irmãos, Mayara e Wagner, minhas tias, Elisabete e Eunice e a todos os familiares pelo apoio.

Ao Prof. Lin Chau Ming pela oportunidade, confiança, amizade, orientação e amparo.

Ao Prof. Edson L. Furtado pelo estímulo a continuar na caminhada acadêmica, por todas as palavras sábias que me guiou durante as incertezas.

Ao Prof. Diego C. Zied por seu acolhimento, ensinamentos e força para continuar nos trilhos da pesquisa científica.

Ao Centro de estudos em cogumelos de Dracena e todos os seus integrantes, pela confiança e apoio durante os experimentos.

Ao Prof. Ismael do departamento de Horticultura da UNESP-FCA.

Ao Departamento de Horticultura da FCA.

Ao projeto NEA- Núcleo de estudos em Agroecologia.

A todos os membros do Timbó- Grupo de estudos em Agroecologia.

Aos funcionários da Fazenda São Manuel da UNESP de Botucatu.

Ao Claudinho e Juan do viveiro de mudas florestais, pela confiança e apoio.

A empresa Funghi e Flora, pela parceria.

A todos do Laboratório de química e bioquímica vegetal LOBV, em especial a Prof. Giuseppina, Gean, Matheus e Giovanna.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Aos amigos que ajudaram nas diversas etapas deste trabalho, Thais Regina, Gabriela Machado, Hilbaty Rodrigues, Nathália Wtanabe, Isabella e a todos que não citei o nome, mas participaram de alguma forma.

Meus singelos agradecimentos

“Trabalho é amor tornado visível”

Khalil Gibran

RESUMO

Os cogumelos são uma alternativa muito viável na transformação de materiais lignocelulolíticos em produtos úteis, resultam na geração de alimento rico em proteínas, fibras, sais minerais, vitaminas, com baixo teor de lipídeos e carboidratos. Para a produção do cogumelo é necessário obter a *Spawn*, que pode ser feito a partir de um fragmento ou pseudotecido retirado do seu píleo. Para a fungicultura a fase laboratorial é tão importante quanto à fase no campo. O cultivo de cogumelos gera uma grande quantidade de composto pós-cultivo (SMC – “spent mushroom compost”). O presente trabalho buscou avaliar a influência da maturidade da *Spawn* na produtividade do cogumelo *Pleurotus ostreatus* utilizando tempos distintos de maturação. Após o cultivo do fungo foi testado o substrato exaurido na produção de mudas de alface, que foram levadas a campo para avaliar produtividade e análise bioquímica. Para a avaliação da *Spawn* foram utilizados sete sacos de 2 Kg de composto inoculado a cada três dias, onde a primeira inoculação ocorreu no 13º dia de maturação da *Spawn* e a última no 25º dia. Foram avaliados número de cachos, número de cogumelos, peso dos cachos, massa média de cachos e cogumelos e produtividade. Os maiores valores de produtividade foram obtidos pela 2ª e 3ª inoculação com 19,0 e 19,7 %, respectivamente, com 16 e 19 dias de maturação da *Spawn*, apresentando uma curva muito semelhante a de crescimento microbiano em geral, em fase Log. A primeira inoculação foi a menos produtiva, e as duas últimas inoculações com decréscimos na produção. Conclui-se que o tempo de maturação da *Spawn* influencia no rendimento do cogumelo *P. ostreatus*, mostrando que a produção da *Spawn* é uma fase primordial para conseguir alcançar altas produtividades. Em seguida, utilizou-se o resíduo da produção de *P. ostreatus* para o cultivo de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) em doses de composto exaurido (50 %, 30 % e 10 %) misturadas ao substrato comercial Carolina soil®. Para comparação, foi utilizada uma testemunha com 100 % de substrato comercial. Foram avaliados parâmetros de produtividade de mudas, como: comprimento da parte aérea, comprimento de raiz, número de folhas, massa fresca e seca da parte aérea e massa seca e fresca da raiz. As características física e química do substrato também foram avaliadas. O substrato exaurido apresentou uma elevação do pH e condutividade elétrica quando usadas doses crescentes desse substrato,

prejudicando massa seca e fresca da parte aérea e comprimento de raiz. Para baixas doses de composto exaurido misturado ao substrato comercial não houve diferença estatística entre os parâmetros avaliados. O composto exaurido de cogumelo se apresentou viável para a produção de mudas de alface na proporção de 10 % misturado ao composto Carolina soil®. Em doses altas de 30 e 50 % de exaurido seus valores foram inferiores estatisticamente da testemunha. As análises físicas do substrato exaurido mostraram resultados positivos quanto ao parâmetro retenção de água. Para a análise química, o substrato possui uma quantidade alta de macro e micronutrientes, se demonstrando um potencial para uso em plantas, mas com necessidade de algumas adequações com relação a pH e condutividade elétrica (C.E.). Foi avaliado a produção e alterações bioquímicas das mudas após serem levadas a campo. O cultivo das alfaces ocorreu na Fazenda experimental de São Manuel, o delineamento utilizado foi de quatro tratamentos diferentes doses de composto exaurido de cogumelo (50%, 30%,10% e 100% de substrato comercial Carolina soil®) com seis repetições e dezesseis plantas por parcela. Foram avaliados os parâmetros físicos agrônômicos (diâmetro da planta, altura da planta, número de folhas, peso fresco de folhas, comprimento de raiz, peso fresco de raiz, peso seco da raiz e folhas) e bioquímicos (compostos fenólicos e atividade antioxidante enzimática e não enzimática). As alfaces produzidas em substrato com maior quantidade de resíduo de cogumelo apresentaram menores valores de parâmetros físicos avaliados (182,28 g) que as plantas cultivadas em substrato comercial (255,03 g). Para a avaliação enzimática tanto para a enzima peroxidase quanto polifenoloxidase houve maior atividade das mesmas nas plantas produzidas com maior quantidade de composto exaurido de cogumelo, esse mesmo padrão se manteve para compostos fenólicos e atividade antioxidante. Concluindo que, o uso de resíduo de cogumelo ativa a indução de produção de enzimas protetoras e metabólitos secundários na planta, com um potencial indutor de resistência.

Palavras-chave: Qualidade de semente. Cogumelo ostra. Composto exaurido. Resistencia. Horticultura.

ABSTRACT

Mushrooms are a very viable alternative in the transformation of lignocellulolytic materials into useful products, resulting in the generation of food rich in proteins, fibers, minerals, vitamins, low in lipids and carbohydrates. For the production of the mushroom it is necessary to obtain the inoculum, which may be made from a fragment or pseudotecido taken from the colonus thereof. For fungicide the laboratory phase is as important as the phase in the field. Mushroom cultivation generates a large amount of spent mushroom compost (SMC). The present work aimed to evaluate the influence of the inoculum maturity on the productivity of the *Pleurotus ostreatus* mushroom using distinct maturation times. After the fungus was cultivated the exhausted substrate was tested in the production of lettuce seedlings, which were taken to field to evaluate productivity and biochemical analysis. For the evaluation of the Spawn, seven bags of 2 kg of inoculated substrate were used every three days, where the first inoculation occurred on the 13th day of mycelial run and the last on the 25th day. Number of bunches, number of mushrooms, weight of bunches, average mass of bunches and mushrooms were evaluated as a parameter for evaluation of productivity. The highest values of productivity were obtained by the 2nd and 3rd inoculation with 19.0 and 19.7%, with 16 and 19 days of seed maturation. It is concluded that the time of maturation of the inoculum influences the yield of the mushroom *Pleurotus ostreatus*, showing that the production of the inoculum is a primordial phase to reach high yields. Then, the residue of the *Pleurotus ostreatus* production was used for the cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings at doses of depleted compound (50%, 30% and 10%) mixed with the commercial substrate Carolina soil®. For comparison, a control with 100% commercial substrate was used. Seed productivity parameters were evaluated, such as: shoot length, root length, leaf number, fresh and dry shoot mass, and dry and fresh root mass. The physical and chemical characteristics of the substrate were also evaluated. The depleted substrate showed an increase in pH and electrical conductivity when increasing doses of this substrate were used, damaging fresh dry shoot mass and root length. For low doses of mushroom residue mixed to the commercial substrate there was no statistical difference between the evaluated parameters. The spent mushroom compound presented viable for the production of

lettuce seedlings in the proportion of 10% mixed with Carolina soil® compound. At high doses of 30 and 50% depleted their values were statistically lower than the control. Physical analyzes of the depleted substrate showed positive results regarding the water retention parameter. For the chemical analysis, the substrate has a high amount of macro and micronutrients, demonstrating a potential for use in plants, but in need of some adjustments with respect to pH and electrical conductivity (C.E.). The production and biochemical changes of the seedlings were evaluated after being taken to the field. The lettuce cultivation was carried out at the San Manuel Experimental Farm, the treatments used were four different treatments of mushroom residue (50%, 30%, 10% and 100% commercial soil substrate Carolina soil) with six replicates and sixteen plants per plot. Agronomic physical parameters (plant diameter, plant height, leaf number, fresh leaf weight, root length, fresh root weight, root dry weight and leaves) and biochemical parameters (phenolic compounds and enzymatic antioxidant activity and not enzymatic). The lettuces produced in substrate with higher amount of mushroom residue had lower values of physical parameters evaluated (182.28 g) than plants grown in commercial substrate (255.03 g). For the enzymatic evaluation for both the peroxidase enzyme and polyphenoloxidase, there was higher activity of the same in the plants produced with higher amount of mushroom residue, this same pattern was maintained for phenolic compounds and antioxidant activity. In conclusion, the use of mushroom residue activates the induction of the production of protective enzymes and secondary metabolites in the plant, with a potential inducer of resistance.

Keywords: Quality of seed. Spent mushroom compost. Oyster mushroom. Resistance. Horticulture.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO 1: PRODUTIVIDADE DE <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. UTILIZANDO SPAWN COM DIFERENTES TEMPOS DE COLONIZAÇÃO	21
RESUMO	21
ABSTRACT	21
1.1 INTRODUÇÃO	22
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	23
1.2.1 Processos para produção de inóculo de cogumelo	24
1.2.1.1 Isolamento e matriz primária	25
1.2.1.2 Matriz secundária	26
1.2.1.3 Matriz terciária	26
1.2.1.4 Produção de <i>Spawn</i>	27
1.2.1.5 Composto para cultivo	28
1.2.1.6 Inoculação	29
1.2.1.7 Incubação	31
1.2.1.8 Frutificação e Colheita	31
1.2.2 Variáveis referentes à produção	31
1.2.2.1 Massa	32
1.2.2.2 Número de cachos	32
1.2.2.3 Número de cogumelos	32
1.2.2.4 Massa fresca média dos cachos	32
1.2.2.5 Massa fresca média de cogumelos	33
1.2.2.6 Produtividade	33
1.2.3 Delineamento Experimental	33
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
1.4 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	40
CAPÍTULO 2: QUALIDADE DE MUDAS DE ALFACE PRODUZIDAS EM SUBSTRATO EXAURIDO DO CULTIVO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm	43
RESUMO	43

ABSTRACT	44
2.1 INTRODUÇÃO	45
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	46
2.2.1 Produção e avaliação das mudas de alface	46
2.2.1.2 Parâmetros físicos de avaliação da qualidade das mudas	48
2.2.2 Caracterização física e química dos substratos	48
2.2.2.1 Estabilidade do torrão	48
2.2.2.3 Análise de porosidade, retenção de água e densidade aparente do substrato	49
2.2.2.4 Caracterização química dos substratos	50
2.2.3 Delineamento estatístico	52
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	52
2.4 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	62
CAPÍTULO 3: INFLUÊNCIA DO RESÍDUO DE COGUMELO NO CRESCIMENTO E NAS PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS DA ALFACE (<i>Lactuca Sativa</i> L.)	66
RESUMO	66
ABSTRACT	67
3.1 INTRODUÇÃO	68
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	69
3.2.1 Produção de alface a campo	69
3.2.2 Análise de enzimas e metabólitos secundários nas folhas de alface	71
3.2.3 Análise estatística	73
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	73
3.3.1 Produção de alface a campo	73
3.3.2 Análise de enzimas e metabólitos secundários em folhas de alface	75
3.4 CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
REFERÊNCIAS	89

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de *Pleurotus* spp. e de outros fungos comestíveis cultivados se inicia pela “semente” ou *Spawn* que seria o inóculo para colonização do substrato, essa fase da produção é feita em laboratório para que não ocorram contaminações e que a cepa desejada seja multiplicada isoladamente, reduzindo riscos de misturas de linhagens e mantendo características desejadas quanto à produtividade, resistência a pragas e doenças, uniformidade, precocidade, etc (PACCOLA-MEIRELLES, 2002; EIRA; MINHONI, 1997).

A produção do inóculo se faz a partir de um fragmento do cogumelo, forma de reprodução assexuada dos fungos, evitando utilizar os esporos que seria a reprodução sexuada do mesmo. O fragmento de cogumelo após se desenvolver será repicado, para que a partir de uma placa de Petri colozinada possa ser inoculado em torno de 160 toneladas de substrato, aumentando a capacidade produtiva (EIRA; MINHONI, 1997).

Hoje no Brasil, a produção de cogumelo é segmentada, principalmente em três partes: fornecedores de insumos, produtores, distribuidores. A maioria dos produtores do Brasil realizam somente a incubação do cogumelo, não conseguem produzir seu insumo inicial na mesma propriedade, como inóculo e matéria prima para o composto ou substrato, geralmente esses insumos vem de fontes externas, caracterizando a fragmentação da cadeia.

Uma pesquisa realizada no Distrito Federal mostrou que entre sete produtores de cogumelos somente dois produziam 100% das suas “sementes”, pois a produção do micélio requer um alto nível tecnológico, os outros cinco importam de laboratórios de outros estados, principalmente de São Paulo (VARGAS, 2011).

Os laboratórios de produção de inóculo são estruturados somente para a fase laboratorial de multiplicação do fungo, uma parte do todo da cadeia, mas que não deixa de ser importante, afinal a importância de se usar uma “semente” de qualidade é um fator crítico na produção e no sucesso do cultivo do cogumelo, sendo a produção extremamente dependente da qualidade do micélio (SÁNCHEZ, 2010; EIRA; MINHONI, 1997).

Para que a produção de cogumelos possua um ciclo fechado de produção sem gerar resíduos o seu pós-cultivo deve obter uma destinação correta. Após a

produção dos cogumelos, o composto mais o micélio do fungo cultivado geram um subproduto (BUSWELL, 1994). Alguns autores discordam chamar este composto de subproduto e preferem mencioná-lo como composto exaurido de cogumelo ou “spent mushroom substrate - SMS” ou “spent mushroom compost”, devido a sua elevada utilidade no meio agrônomo e biológico (GERRITS, 1997).

A cada quilo de cogumelo produzido cinco quilogramas de composto exaurido em média são descartados (WILLIAMS; McMULLAN; McCAHEY, 2001), pensando que as produções trabalham com mais de uma tonelada de substrato ou composto, a cada ciclo a quantidade de resíduo é alta.

As preocupações ambientais com descarte e reaproveitamento de materiais vêm crescendo, cada vez mais o descarte correto e o mais longe da propriedade preocupam os produtores, não manter esse material na propriedade evita o mau cheiro por decomposição, moscas que podem ovopositar nos substratos ainda em cultivo ou a contaminação por outros fungos maléficos à produção. Além disso, o substrato ou composto quando é mal alojado, pode causar contaminação dos cursos d’água caso fiquem em contato com o solo após chuva (AZEVEDO et al., 2009).

Pensando em utilidades para o substrato pós-cultivo o seu uso foi testado na alimentação animal de aves e auxiliou no combate a patógenos que causam doenças e conseqüentemente perdas de produção, sendo recomendado como alternativa ao uso de antibióticos e como promotor de crescimento (AZEVEDO et al., 2009; MACHADO et al. 2007).

Outra possibilidade de uso do substrato é como fertilizante orgânico (CASTELO-GUTIÉRREZ et al., 2016), o substrato pós-cultivo de cogumelo ainda contém partes do fungo envolvendo o mesmo, estudos mostraram que a espécie de *L. edodes* apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias contaminantes de alimentos (ISHIKAWA; KASUYA; VANETTI, 2001), podendo ser utilizado não somente como fertilizante, mas também, como substrato devido seu efeito protetor, para o fortalecimento de mudas de hortaliças.

Os efeitos benéficos do material orgânico sobre o solo, influência nas características físicas e químicas do mesmo, além de aumentar aeração, densidade, estrutura, capacidade de troca catiônica, aumentando o uso da adubação orgânica no cultivo de hortaliças, pelos seus efeitos benéficos ao solo e incremento na produtividade (SANTANA et al., 2012).

Os compostos bioativos que estão presentes no micélio e no corpo de frutificação de basiomicetos, são ricos em polissacarídeos do grupo β -glucanos (MIZUNO et al., 1999), conhecidos por sua atuação como estimulantes da atividade imunológica do hospedeiro, assim possibilitando o combate de fitopatógenos.

Diferentes tipos de moléculas podem ser utilizadas como elicitores, os quais desencadeiam um sistema de sinais que determina a resposta da planta à infecção. Os ácidos jasmônico e salicílico são as substâncias mais bem conhecidas como mediadores desses sistemas de sinais (ZINOVIEVA et al., 2011). Produtos como acibenzolar-S-metil e silicatos já são indicados comercialmente para vários tipos de culturas (KIIRIKA et al., 2013), enquanto que vários outros produtos vem sendo testados nos últimos anos, como oligo e polissacarídeos obtidos a partir de fungos, algas e animais (EL MODAFAR et al., 2012; KIIRIKA et al., 2013).

Alguns trabalhos relatam também a utilização de microrganismos da rizosfera ou do filoplano para a indução de resistência (FONTENELLE et al., 2011). Dentre esses microrganismos, o *Bacillus cereus*, que é uma espécie comumente encontrada no substrato de cultivo de cogumelos, apresentou capacidade de induzir resistência em tomateiro contra várias espécies de patógenos, tanto de origem bacteriana como de origem fungica (ROMEIRO et al., 2010).

Para fins de estudo foi utilizada a alface (*Lactuca sativa* L.), pertencente à família Asteraceae (Composta), como uma planta testemunha as ações do uso de composto exaurido. A alface é definida agronomicamente como uma planta anual, originária de clima temperado, sendo uma das hortaliças mais populares e consumidas no Brasil e no mundo, a qual se destaca devido sua elevada quantidade de vitamina A nas folhas verdes. (HENZ; SUINAGA, 2009).

No Brasil, o cultivo da alface ocupa uma área de aproximadamente 35.000 hectares, produzidos tanto pelo sistema intensivo, quanto por produtores familiares, gerando em torno de cinco empregos por hectare (SOUSA et al., 2014). Por ser uma planta de ciclo curto, a cultura da alface é muito exigente em nutrientes, a cada ciclo é recomendado aplicações de adubos orgânicos para atender a demanda da cultura. Entre os vegetais folhosos, a alface da variedade americana é a mais consumida, com aproximadamente 40% do volume total comercializado (NETO et al., 2012).

Sendo assim os resultados encontrados em literatura guiaram na escolha do presente estudo, em avaliar a produtividade de *Pleurotus ostreatus* a partir de diferentes condições de Spawn e verificar a influência do substrato exaurido no

crescimento e qualidade bioquímica das plantas de alface, buscando um destino adequado ao resíduo da produção de cogumelos e estudar sua atuação na planta seja através da disponibilidade de nutrientes ou biológicos, potencializando formas naturais de proteção na planta.

CAPÍTULO 1: PRODUTIVIDADE DE *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm UTILIZANDO SPAWN COM DIFERENTES TEMPOS DE COLONIZAÇÃO

RESUMO

O consumo e a produção de cogumelo vêm sendo difundido pelos países latinos por ser uma alternativa ao uso de resíduos agroindústrias. Para o cultivo de cogumelo existem duas bases iniciais, a produção de composto ou substrato e a produção de inóculo, mundialmente conhecido pelo termo *Spawn*. A produção de *Spawn* é essencial para atingir alta produtividade, sendo necessários mais estudos na área. O presente trabalho buscou avaliar a influência da maturidade da *Spawn* na produtividade do cogumelo *P. ostreatus*, utilizando tempos distintos de maturação, onde cada repetição continha sete sacos de 2 Kg de composto o qual era inoculado a cada três dias, a primeira inoculação ocorreu no 13º dia de corrida do micélio e a ultima no 25º dia. O número de cachos, número de cogumelos, massa dos cachos, massa média de cachos e cogumelos, foram utilizados como parâmetro de produtividade. Os maiores valores de produtividade foram obtidos pela 2ª e 3ª inoculação com 19,0 e 19,7 %, respectivamente, com 16 e 19 dias de corrida do micélio, apresentando uma curva muito semelhante a de crescimento microbiano em geral, em fase Log. A primeira inoculação, apresentou baixa produtividade com 10,05%, representando a fase Lag de adaptação e as duas últimas inoculações com decréscimos na produção, assim como a fase a estacionária. Conclui-se que o tempo de maturação da *Spawn* influencia na produtividade de cogumelos *Pleurotus ostreatus*, mostrando que a produção da *Spawn* é uma fase primordial para conseguir alcançar altas produtividades, onde as sementes entre 15º e 19º dia após inoculação foram as que apresentaram melhores resultados de produtividade neste trabalho.

Palavras-chave: Qualidade de semente. Cogumelo-ostra. Micélio.

ABSTRACT

The consumption and the production of mushroom have been diffused by the Latin countries for being an alternative to the use of agroindustries residues. For

mushroom cultivation there are two initial bases, the production of compound or substrate and the production of inoculum, globally known by the term "Spawn". The present work sought to evaluate the influence of the inoculum maturity on the productivity of the *Pleurotus ostreatus* mushroom. Using different period of maturation, where a consignment of seven bags of 2 kg of substrate was inoculated every three days, where the first inoculation occurred on the 13th day of mycelial run and the last on the 25th day. It was evaluated the number of bunches, number of mushrooms, weight of bunches, average mass of bunches and mushrooms, as parameter for evaluation of productivity. The highest values of productivity 19 and 19,8 %, were obtained by 2nd and 3rd inoculation, with 16 and 19 days of mycelial running, presenting a curve very similar to that of microbial growth in general, where the first inoculation, mycelium new was the least productive 10,5 %, the second and third representing the Log state of the most productive microbial growth curve and the last two inoculations with decreases in production, as well as the stationary phase. It was concluded that the inoculum maturation time influenced the productivity of *Pleurotus ostreatus* mushrooms, showing that the production of the inoculum is a primordial phase to reach high yields.

Keywords: Spawn. Production. Mushroom-oyster. Mycelium.

1.1 INTRODUÇÃO

Para a produção de cogumelos em geral são utilizadas "sementes" ou *Spawn* que seria um substrato colonizado pelo fungo de interesse. Esse *Spawn* serve como um transporte do fungo para colonizar o substrato em campo. Essa fase da produção é feita em laboratório para que não ocorram contaminações e que a cepa desejada seja multiplicada isoladamente, reduzindo riscos de misturas de linhagens (CHANG; MILES, 2004).

A produção da *Spawn* se faz a partir de um fragmento do cogumelo, formando um clone, a partir da reprodução assexuada, desse fragmento o micélio do fungo vai se desenvolver e colonizar a placa de Petri e será feita repicagens sucessivas até atingir uma grande quantidade de inóculo, aumentando a capacidade produtiva. Ao ser repassado ao produtor o mesmo irá inocular seu substrato ou composto (MINHONI et al., 2011).

Como a cadeia de produção de cogumelos no Brasil é fragmentada, a maioria dos produtores adquirem sua *Spawn* de laboratórios idôneos, pois para a produção da mesma é necessário um investimento alto de estrutura e tecnologia adequada (DIAS, 2010). Porém, diversos são os fatores que podem alterar a qualidade da semente como: temperatura, linhagem, umidade, pH do meio e pouco se sabe sobre a relação do tempo de maturação ou comumente chamado de “corrida do micélio”, necessário para se obter o melhor rendimento da *Spawn* (VARGAS, 2011; ROYSE, 2003).

O tempo de corrida do micélio é variável de acordo com a espécie. Os registros em literatura não estipulam um tempo exato, em média 15 dias, tempo suficiente para que os grãos cozidos estejam visualmente colonizados, dependendo do recipiente, do tipo de grão utilizado e da quantidade de grãos nesse recipiente (MINHONI et al., 2011; EIRA; MINHONI, 1997). Mas não há registros que mostrem a diferença em produtividade com relação a esse tempo.

Pela falta de pesquisas na área, a produção da *Spawn* para venda é geralmente realizada por encomenda; mas pela alta procura sempre há um estoque a pronta entrega, que é mantido em uma refrigeração mais baixa de 4° a 5°C para que o metabolismo do fungo diminua (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A escolha na compra de *Spawn* inoculadas há 15 ou à 20 dias não é um fator determinante na venda, apesar de um produtor de semente relatar que alguns produtores no Estado de São Paulo possuem preferências por sementes mais antigas e outros por sementes mais novas. Visualmente é difícil diferenciar o tempo de maturação da semente, a não ser pela presença de exsudatos que naturalmente são produzidos pela atividade metabólica do fungo, quanto mais tempo mantido no substrato mais presença de exsudatos vamos encontrar.

Buscando validar as poucas informações encontradas em literatura o presente trabalho objetivou avaliar a influência do tempo de “maturação” do inóculo em relação à produtividade em campo, enriquecendo a temática da qualidade de semente de produção de cogumelo.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento com o desenvolvimento das matrizes para a produção de *Spawn* e cultivo de *P. ostreatus* foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e

Tecnológicas –UNESP, campus Dracena- SP, junto ao Centro de Estudos em Cogumelos – CECOG. A unidade possui uma infraestrutura de laboratório e câmaras de cultivo adequadas e necessárias para o desenvolvimento da pesquisa.

1.2.1 Processos para produção de inóculo de cogumelo

A metodologia utilizada para a produção do inóculo foi seguida segundo Minhoni et al. (2011), dividida em quatro etapas: 1- matriz primária: é adicionado o fragmento do cogumelo em uma placa de Petri, 2- matriz secundária: é repicada a placa Petri com a matriz primária já colonizada para outra placa, 3- matriz terciária: a placa Petri já colonizada com matriz secundária é dividida em oito e um dos pedaços é transferido para um vidro esterilizado com grão cozidos, e 4- *Spawn* ou semente propriamente dita: em torno de 2% de matriz terciária já colonizada é transferida para um saquinho estéril com grãos cozidos. Todo este processo é realizado a partir do micélio dicariótico do fungo, pré-cultivado, podendo ser utilizado diversos tipos de grãos e meio de cultura (Figura 1).

Foram utilizadas duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* para avaliação, uma fornecida pelo laboratório Funghi e Flora® e outra de um produtor da região de Mogi das Cruzes, sendo a linhagem 1 pertencente ao laboratório, codificada como POS 17/02 e a linhagem 2 referente ao produtor, codificada como POS 17/01.

Figura 1- Esquema da produção de Spawn



A e B- Matriz primária: é retirado um fragmento do píleo do cogumelo e adicionado a uma placa Petri com meio de cultura para seu crescimento; C- Matriz secundária: após o crescimento da matriz primária é feita uma repicagem da placa para outra; D e E- Matriz terciária: Após o crescimento da matriz secundária a mesma é dividida em oito pedaços, cada pedaço será introduzindo em um vidro com grão cozidos e tratados; F- *Spawn*: em torno de 2% de matriz terciária já colonizada é transferida para um saquinho estéril com grãos cozidos.

1.2.1.1 Isolamento e matriz primária

Para o isolamento e obtenção da matriz primária foram coletados basidiomas sadios de duas linhagens de *P. ostreatus* para avaliação do experimento. Em uma câmara de fluxo laminar, previamente esterilizada com lâmpada ultravioleta e álcool

70%, o basidioma foi partido com a mão e com o auxílio de uma pinça foram coletados fragmentos do interior de seu píleo (pseudotecidos) evitando contaminações e posterior transferência de esporos para o meio de cultura, os fragmentos são depositados em uma placa de Petri com meio B.D.A. sólido, um meio de cultura padrão, onde possui na sua formulação batata, dextrose e ágar, favoráveis para o crescimento do fungo.

Seu preparo foi realizado em laboratório adicionando a um frasco de Duran o meio comercial desidratado de B.D.A., o qual foi completado com água destilada, posteriormente é autoclavado a 121°C por 30 min. Logo após, verteram-se cerca de 20 ml de meio em placas de Petri.

A colonização do fungo no meio de cultura ocorreu em temperatura de 25 °C em B.O.D., durante 10 dias no escuro.

1.2.1.2 Matriz secundária

Para o preparo da matriz secundária foram utilizadas placas Petri com meio B.D.A. Após os dez dias de incubação da matriz primária a placa já se encontrava completamente colonizada, a mesma foi levada para a câmara de fluxo previamente esterilizada. Com o auxílio de um vazador de 5 mm de diâmetro, cortou-se toda a extremidade da placa em discos. Em seguida, com o auxílio de uma alça, cada disco foi transferido para uma nova placa Petri com meio B.D.A. sólido. Para cada placa de matriz primária foi possível fazer no mínimo dez placas de matriz secundária. Os procedimentos para o preparo do meio de cultura, inoculação e incubação foram os mesmos utilizados no preparo da matriz primária.

1.2.1.3 Matriz terciária

O substrato utilizado para a produção da matriz terciária foi o grão de sorgo (*Sorghum bicolor*), adquiridos na CATI de Lucélia-SP. Durante o preparo os grãos de sorgo foram imersos em um recipiente com água mantida em fervura por um período de 20 minutos, após esse tempo conferiu-se o ponto de cozimento do grão e a água foi escorrida (Figura 4). Os grãos foram dispostos em uma recipiente para secarem e em seguida homogeneizou-se 1 % de calcita em relação ao peso seco dos grãos.

Adicionou-se 90 g da mistura de grãos cozidos e calcita em frascos de vidro, os quais tinham em sua tampa filtro de papel para evitar contaminações. Estes foram esterilizados em autoclave vertical, por vapor úmido (121 °C por 4h), com resfriamento natural.

A placa Petri da matriz secundária já colonizada foi dividida em oito pedaços do tipo “pizza”. Os frascos foram levados para câmara de fluxo previamente esterilizada e inoculados com um fragmento da matriz secundária em cada frasco, sobre os grãos com o micélio voltado para baixo sobre os grãos. Incubados em B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) a 25 °C no escuro por 12 dias, até completa colonização dos grãos.

1.2.1.4 Produção de *Spawn*

Com o intuito de produzir a *Spawn* ou inóculo propriamente dito para o substrato do produtor, foi seguida a mesma metodologia da matriz terciária, substituindo os potes de vidro por sacos plásticos transparentes de polietileno de alta densidade, contendo um filtro de algodão no canto da abertura do saco plástico para trocas gasosas. Para adição do filtro foram separados pedaços de algodão em média de 10 x 1 cm, os quais foram colocados em uma das laterais abertas do saco já com 400 g de grãos de sorgo cozidos e tratados, dobrado ao meio no sentido do seu comprimento; posteriormente selou-se toda a abertura em seladora a quente. Foram preparados dez sacos de cada linhagem, para que fosse possível inocular o substrato a cada três dias, para avaliação da maturidade do micélio.

A esterilização foi feita em autoclave vertical por 4 horas a 121°C. A inoculação ocorreu 24 horas depois, em câmara de fluxo laminar asséptica no dia 31/10/2017. Fez-se um corte na borda do saquinho esterilizado no sentido oposto ao filtro de algodão, com auxílio de uma tesoura desinfetada em álcool 70 % e flambada na chama da lamparina. Cada saquinho recebeu em média 9 g de grãos da matriz terciária, após isso a borda cortada foi dobrada e selada.

Todos os saquinhos foram inoculados no mesmo dia e homogeneizados com movimentos leves. Os saquinhos de *Spawn* foram mantidos em temperatura de 25°C para a corrida do micélio ou colonização do substrato, temperatura considerada adequada para a espécie.

1.2.1.5 Composto para cultivo

O composto pasteurizado utilizado no experimento foi doado por um produtor da região de Presidente Prudente- SP, que produz seu próprio composto em um pasteurizador de alvenaria com fundo falso de madeira. Sua formulação é à base de bagaço de cana (*Saccharum officinarum*), capim brachiaria (*Brachiaria spp.*), farelo de trigo (*Triticum aestivum*), gesso e calcário, seguindo uma média de proporção de cada material de 60 %, 40 %, 6 %, 1 % e 3% respectivamente (em base seca), na Tabela-1 está a análise química do composto.

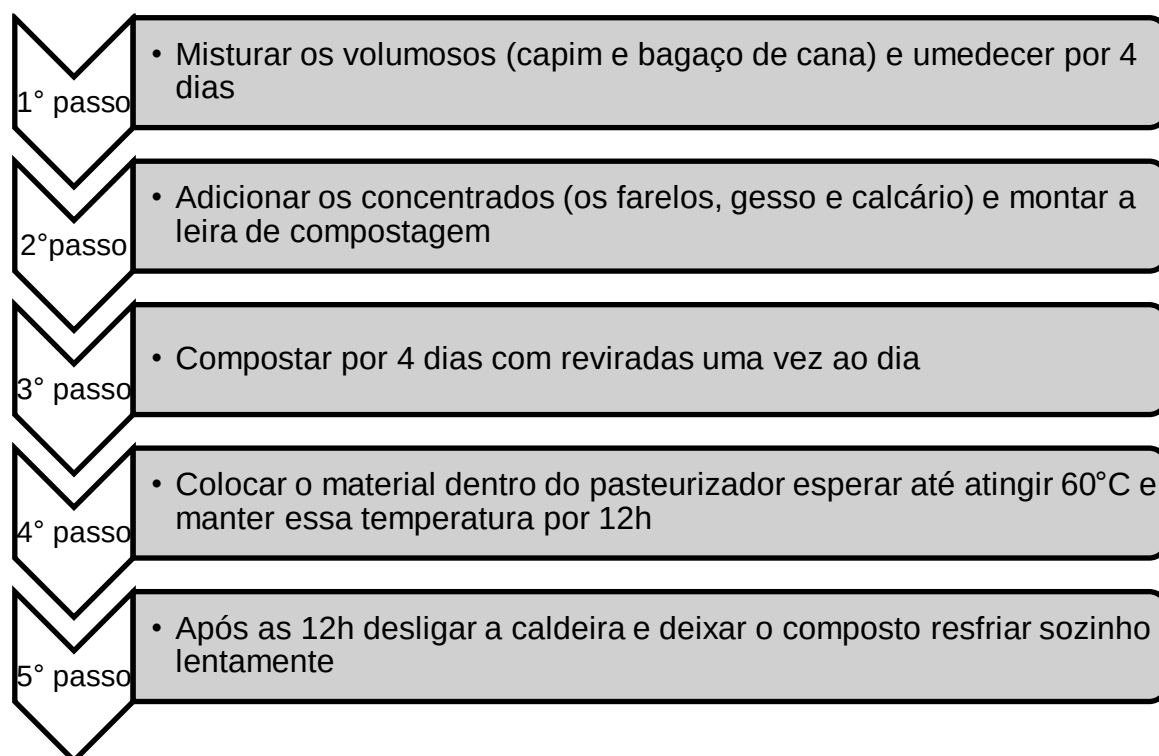
No preparo do composto os volumosos que são o capim brachiaria e o bagaço de cana são previamente umedecidos com uma mangueira, posteriormente são misturados com auxílio de um garfo e adicionados os concentrados que são o farelo de trigo, gesso e calcário, em seguida são montadas as leiras com o auxílio de maquinário. A compostagem dura em torno de 15 dias, seguida de reviradas para homogeneização do material e trocas gasosas uma vez por dia, durante quatro dias. Após esse período, o composto é colocado no pasteurizador que atinge cerca de 60°C no seu interior através de vapor produzido por uma caldeira à base de lenha por 12h, seguido de resfriamento lento. A pasteurização é realizada para diminuir a quantidade de microrganismos maléficos para a produção, a temperatura atingida pelo pasteurizador é ideal para manter somente microrganismos benéficos ao composto, por isso, dever ser realizada uma pasteurização homogênea e adequada. Abaixo um esquema passo-a-passo do processo de compostagem (Figura 2).

Tabela 1- Análise química do composto utilizado no experimento, provindo do produtor da região de Presidente Prudente- SP ao final da na fase II de compostagem

N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S	Umidade	M.O.
----- * % (ao natural) -----							
0,24	ND	0,44	0,77	0,48	0,28	6	80
Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Rel. C/N	pH
-----* mg/kg (ao natural)-----							
11	---	4	1109	202	26	187/1	7,0

N- nitrogênio; **P2O5**-Fósforo; **K2O**- Potássio; **Mg**-Magnésio; **S**- enxofre; **M.O**-Matéria Orgânica; **Na**- sódio; **B**- Boro, **Cu**- Cobre; **Fe**- Ferro; **Mn**- Manganês; **Zn**- Zinco; **Rel. C/N**- Relação carbono/ nitrogênio.

Figura 2- Processo de produção do composto de cultivo semi-compostado



1.2.1.6 Inoculação

A inoculação dos substratos foi realizada de forma manual, com higienização dos utensílios utilizados com álcool 70 %, o composto foi acondicionado em uma embalagem plástica de polietileno de baixa densidade, incolor, translucido, virgem, dimensão de 40 x 60 cm².

O composto foi pesado em 2 Kg por saco e adicionada uma porção 2 % de *Spawn*, uma dose de 40g por saco, utilizando um copo dosador limpo (Figura 3).

A mistura do composto com a *Spawn* é feita manualmente, os sacos são prensando e fechados com fita transparente larga. Nas laterais dos sacos plásticos foram feitos quatro cortes de 5 cm de comprimento no sentido vertical, permitindo trocas gasosas e o futuro desenvolvimento do corpo de frutificação do fungo. Todos os sacos foram numerados para identificação.

Figura 3- Processo de inoculação do composto A- Preparando sacos com dois quilos de composto pasteurizado para inoculação; B- Inoculação do composto.



As inoculações ocorreram em diferentes datas para avaliação da maturidade da *Spawn* e sua influência na produtividade, o procedimento foi o mesmo em todas as inoculações. A primeira inoculação ocorreu ao 13º dia da corrida do micélio em grão de sorgo, no dia 13/11, a segunda inoculação ocorreu no dia 16/11, e assim por diante, seguindo a diferença de três dias para cada inoculação até a 5ª inoculação, que ocorreu no dia 25/11 conforme Figura 4.

Figura 4- Esquema da distribuição dos tratamentos para avaliar os diferentes tempos de colonização

1º inoculação	Com 13 dias de corrida do micélio
2º inoculação	Com 16 dias de corrida do micélio
3º inoculação	Com 19 dias de corrida do micélio
4º inoculação	Com 22 dias de corrida do micélio
5º inoculação	Com 25 dias de corrida do micélio
*A cada tratamento era inoculados sete sacos de duas linhagens diferentes	

O processo de colonização do substrato é conhecido como “Corrida do micélio”.

1.2.1.7 Incubação

A “corrida do micélio” ou colonização do composto foi realizada em câmara climatizada de alvenaria com controle da temperatura e umidade, o ar condicionado foi regulado a 25°C e umidade de 80 %, com uso de aspersores aéreos. A câmara de cultivo possuía um termo higrômetro em seu interior, através do qual eram feitas as medidas de temperatura e umidade. Os sacos foram dispostos ao acaso nas prateleiras laterais da câmara de cultivo.

1.2.1.8 Frutificação e Colheita

Os primórdios de frutificação apareceram a partir do 17º dia após inoculação do substrato e a colheita foi realizada diariamente, de forma manual, fazendo-se uma leve “torção” na base dos cachos, com os cogumelos no “ponto de colheita”, ou seja, com o píleo parcialmente aberto, com as lamelas separadas, forma comercial de ser colhida para aumentar seu tempo de pós-colheita (Figura 5). Em seguida, os cachos foram dispostos em sacos plásticos identificados, pesados e submetidos à determinação de variáveis de produção.

Figura 5. Crescimento dos basidiomas de *Pleurotus ostreatus* em saco plástico transparente, após 17 dias de inoculação do composto



1.2.2 Variáveis referentes à produção

1.2.2.1 Massa

Os cachos colhidos diariamente de cada repetição experimental foram pesados utilizando uma balança digital de precisão para posterior transformação dos dados e cálculo de produtividade, conforme o item 1.2.2.6.

1.2.2.2 Número de cachos

Realizou-se a contagem dos cachos de basidiomas por cada repetição experimental ao longo do período de produção.

1.2.2.3 Número de cogumelos

Foi feita a contagem do número de cogumelos de cada repetição experimental e calculou-se ao final a média do número de cogumelos por saco de 2 Kg de substrato.

1.2.2.4 Massa fresca média dos cachos

Determinou-se a massa fresca média dos cachos de basidiomas produzidos em cada repetição, estabelecida pela relação da massa fresca total e o número de cachos de basidiomas, conforme a seguinte equação:

$$M_{fmc} = \frac{m_{fc}}{N}$$

Onde:

M_{fmc} = Massa fresca média de cachos

m_{fc} = massa fresca de cachos

N = número de cachos colhidos

Essa variável pode ser encontrada em outros trabalhos com diferentes resultados pela sua ampla forma de ser produzido, como em bolsas plásticas que foi a forma utilizada neste trabalho, que podem variar o tamanho de 300 g a 12 kg, potes de

vidro, que também podem variar o tamanho 600ml a 900ml. A área para frutificação também pode interferir no tamanho do cacho, podendo ser utilizada toda a abertura do pote ou os diâmetros diferentes dos furos feitos no saco plástico e a quantidade de furos (BELLETINI, 2014).

1.2.2.5 Massa fresca média de cogumelos

A massa fresca média de cogumelos foi determinada pela relação massa fresca total pelo número de cogumelos, conforme a equação:

$$M_{fmc} = \frac{m_{fc}}{N}$$

Onde:

M_{fmc} = Massa fresca média de cogumelos (g)

m_{fc} = massa fresca de cachos (g)

N = número de cogumelos por cacho

1.2.2.6 Produtividade

Determinou-se a produtividade ao final do ciclo de cultivo, através da equação:

$$P (\%) = \frac{M_{fb}}{M_{fc}} \times 100$$

onde:

P = Produtividade, %;

M_{fb} = Massa fresca total de cachos de basidiomas, em gramas.

M_{fc} = Massa fresca do composto ao final da Fase II de compostagem, em gramas.

1.2.3 Delineamento Experimental

O delineamento utilizado foi ao acaso, com duas linhagens, cinco diferentes maturações das sementes e sete repetições cada. Os dados foram submetidos à um fatorial. As médias foram comparadas no teste t (5 %). Foi utilizado o programa

SISVAR 4.2 desenvolvimento pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras, MG (UFLA).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A escolha da linhagem é um dos fatores que podem influenciar na produtividade, cepas diferentes podem demonstrar resultados distintos devido à sua própria genética (CHANG e MILES, 2004; KUMAR, 2015).

O número de cachos avaliado é referente a cada bloco de cultivo durante o ciclo produtivo, onde segue o mesmo padrão observado na produtividade, para ambas as linhagens avaliadas a maior quantidade de cachos foi encontrada na 2ª e 3ª inoculação, a primeira inoculação apresentou o menor número de cachos entre os tratamentos, e as duas últimas não se diferenciaram estatisticamente entre a primeira inoculação. A linhagem POS 17/1 apresentou maior número de cachos quando comparada a linhagem POS 17/2 na ultima inoculação (Tabela 2).

Tabela 2- Número de cachos por produção de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* em relação ao tempo de colonização do inóculo. A primeira inoculação do substrato ocorreu no 13º dia da corrida do micélio com diferença de dois dias entre as inoculações.

Inoculação	Dias de maturação	Número de cachos (nº)	
		POS 17/2	POS 17/1
1ª	13º	4,5 b A	9,1 b A
2ª	16º	12,2 a A	13,7 a A
3ª	19º	11,4 a A	13,8 a A
4ª	22º	7,2 ab A	8,5 b A
5ª	25º	6,8 ab B	12,7 ab A

Teste t a 5%. Letras minúsculas comparadas na coluna e maiúsculas na linha.

Apresentaram maior quantidade de cogumelos o 2ª e 3ª tratamento, as duas últimas inoculações apresentaram maior número de cogumelos que a primeira, para as duas linhagens avaliadas. A linhagem POS 17/1 apresentou maior número de cogumelos quando comparada a linhagem POS 17/2 na 5ª inoculação (Tabela 3).

Tabela 3- Número de cogumelos por produção de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* em relação ao tempo de colonização do inóculo. A primeira inoculação do substrato ocorreu no 13º dia da corrida do micélio com diferença de três dias entre as inoculações

Inoculação	Dias de maturação	Número de cogumelos (nº)	
		POS 17/2	POS 17/1
1 ^a	13º	48,14 c A	66,0 c A
2 ^a	16º	135, 14 a A	157,4 a A
3 ^a	19º	164,14 a A	156,71 a A
4 ^a	22º	109,5 ab A	96,57 bc A
5 ^a	25º	59,28 bc B	139,14 ab A

Teste t a 5%. Letras minúsculas comparadas na coluna e maiúsculas na linha.

Iossi *et al.* (2018), testando o método de imersão do substrato em água com calcário para *Pleurotus sapidus*, encontrou maiores números de cogumelos para a maior produtividade, porém, valores inferiores aos encontrados neste trabalho. Considerando que o cogumelo ou corpo de frutificação é o interesse final da produção de fungos comestíveis, a quantidade em números ao final da produção é um fator relevante para o produtor.

Mshandete *et al.*, (2013), testando substrato de sisal com esterco de vaca para *P. ostreatus*, obteve valores menores de números de cogumelos comparados a este trabalho, resultado este que pode estar relacionado ao valor nutricional e composição física do substrato utilizado.

As interações entre fatores ambientais, nutrientes presentes no substrato no crescimento de cogumelos foram relatados com um papel importante na indução da formação dos corpos de frutificação, o que pode resultar em variações no tamanho dos cogumelos (REYES *et al.*, 2009).

Na tabela 4 é apresentado o valor da massa média de cachos, em relação a todo o ciclo de cultivo, avaliando a “maturidade” do inóculo entre duas linhagens.

A massa média de cachos é avaliada dividindo o peso total dos cachos de um bloco pelo número total de cachos colhidos no mesmo, assim o valor inversamente proporcional à produtividade encontrado nesta variável é referente ao maior número de cachos colhidos na produção da 2ª e 3ª inoculação, que em peso total superou os outros tratamentos, apresentando uma produtividade maior, mas quando avaliamos

sua massa média de cachos ela se apresenta menor, pelo maior número de cachos encontrados, porém, com menor peso, já para a linhagem POS 17/1 não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Tabela 4- Massa média de cachos de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* em relação ao tempo de colonização do inóculo. A primeira inoculação do substrato ocorreu no 13º dia da corrida do micélio com diferença de três dias entre as inoculações

Inoculação	Dias de maturação	Massa média de cachos (g)	
		POS 17/2	POS 17/1
1 ^a	13º	39,80 a A	21,53 a B
2 ^a	16º	23,72 b A	32,00 a A
3 ^a	19º	26,78 ab A	31,99 a A
4 ^a	22º	34,30 ab A	29,24 a A
5 ^a	25º	35,74 ab A	27,68 a A

Teste t a 5%. Letras minúsculas comparadas na coluna e maiúsculas na linha.

O cogumelo *P. ostreatus* se difere um pouco dos outros cogumelos, pois, seu crescimento ocorre com a união do estipe (pé do cogumelo), colhendo o cacho inteiro e não cada cogumelo solitário como ocorre no champignon e shitake, a venda não seria prejudicada quanto à produção de cachos menores, já que é feita geralmente por peso. No caso o tamanho pode ocasionar uma escolha estética dos cogumelos pelos consumidores, pois, dependendo da receita culinária a ser realizada há uma preferência por cogumelos maiores ou menores, tanto do shimeji como outros, refletindo na venda do produto.

A massa média de cogumelos foi avaliada referente ao bloco todo de tratamento durante todo o ciclo de cultivo (Tabela 5).

Os resultados também se apresentaram inversamente proporcionais aos resultados de produtividade para POS 17/2, que podem ser discutidos pelo maior número de cogumelos por cacho, na produção da 2^a e 3^a inoculação, que em número de cogumelos por cacho superou os outros tratamentos, conforme a Tabela 3, mas quando avaliados em massa média de cogumelos os mesmo tratamentos mais produtivos apresentam menor peso por cogumelo, resultado já esperado quando a avaliação de números de cogumelos por cacho se demonstra alta. O

último tratamento apresentou diferença estatística entre a linhagem POS 17/2 e POS 17/1, onde a linhagem POS 17/2 obteve maior massa de cogumelos pelo menor número de cogumelos colhidos neste tratamento. Não houve diferença estatística entre os tratamentos da linhagem POS 17/1.

Tabela 5- Massa média de cogumelos de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* em relação ao tempo de colonização do inóculo por bloco. A primeira inoculação do substrato ocorreu no 13º dia da corrida do micélio com diferença de três dias entre as inoculações

Inoculação	Dias de maturação	Massa média de cogumelos (g)	
		POS 17/2	POS 17/1
1 ^a	13º	3,20 ab A	3,00 a A
2 ^a	16º	2,10 bc A	2,70 a A
3 ^a	19º	1,70 c A	2,80 a A
4 ^a	22º	2,19 bc A	2,70 a A
5 ^a	25º	3,97 a A	2,50 a B

Teste t a 5%. Letras minúsculas comparadas na coluna e maiúsculas na linha.

Os melhores resultados de produtividade foram para a segunda e a terceira inoculação, que correspondem com o 16º e 19º dia de maturação da *Spawn* respectivamente, para ambas as linhagens avaliadas, com valores de 13,2 e 14,02 % para a linhagem POS 17/2 e 19,00 e 19,75 % para a linhagem POS 17/1 (Tabela 6).

Os menores valores de produtividade corresponderam à primeira inoculação ao 13º dia de corrida do micélio com 7,45 e 10,05 % respectivamente, além da 4ª inoculação da linhagem POS 17/1 que sofreu com contaminações. A 4ª e 5ª inoculações não apresentaram diferença estatística significativa em relação a 2ª e 3ª, porém, numericamente é observado valores menores. Foram encontrados os menores valores de produtividade para a primeira inoculação, em ambas as linhagens. A 5ª inoculação da linhagem POS 17/1 demonstrou produtividade superior a 4ª por ter ocorrido menos contaminações entre as repetições, ocasionando em menor perda de produtividade.

Tabela 6- Produtividade de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* em relação ao tempo de colonização do inóculo. A primeira inoculação do substrato ocorreu no 13º dia da corrida do micélio com diferença de três dias entre as inoculações

Inoculação	Dias de maturação	Produtividade (%)	
		POS 17/2	POS 17/1
1 ^a	13º	7,45 b A	10,05 b A
2 ^a	16º	13,20 a B	19,00 a A
3 ^a	19º	14,02 a B	19,75 a A
4 ^a	22º	11,8 ab A	11,65 b A
5 ^a	25º	11,3 ab A	15,14 ab A

Teste t a 5%. Letras minúsculas comparadas na coluna e maiúsculas na linha.

Sonnenber et al. (2016) encontrou resultados positivos com relação a produção de cogumelo shiitake e a presença de exsudatos, onde uma boa produção se apresentou em tratamentos com maior presença do mesmo, onde, quanto mais exsudato presente mais tempo de colonização aquele substrato possui .

Royse (1985), testando o tempo de maturação de blocos de produção inoculados com a espécie *Lentinula edodes* encontrou maiores produções em maior tempo de incubação do bloco, indicando que maior tempo de incubação dessa espécie pode ser muito mais rentável ao produtor, devido ao fato da produção chegar a duplicar.

Avaliando a produção de *Pleurotus cornucopiaeae*, Royse (2002) discute que uma quantidade superior de *Spawn* no substrato elevou a produção, explicando que pode estar relacionado a maior biomassa micelial, enzimas produzidas e presentes no substrato, aumentando solubilidade dos componentes, ou da combinação desses fatores.

Além da porcentagem de *Spawn* adicionada ao substrato o tempo de maturação da mesma pode influenciar a produção, como mostra os resultados deste trabalho, onde possivelmente micélios com maior tempo de incubação possam estar relacionados com a melhor colonização do substrato, obtendo alta produtividade.

Esses resultados podem estar ligados às fases do crescimento microbiano, onde Lag representa a adaptação do microrganismo ao meio, com constante atividade metabólica. A fase Log é marcada pela constante divisão celular que favorece o

crescimento do microrganismo. A fase estacionária possui uma divisão celular decrescente a um ponto em que o número de produção de novas células é igual ao de células que morrem em sistema fechado (CARELI, DUARTE; PEREIRA, 2011). As fases do crescimento microbiano em sistema fechado representam muito bem os resultados obtidos, onde a primeira inoculação se assemelha a fase Lag, a segunda e a terceira a fase Log e a quarta e quinta inoculação a fase estacionária, com a diminuição do crescimento.

Através da microbiologia preditiva que estuda o crescimento microbiano, ao longo de um tempo delimitado sob condições de temperatura, pH e meio conhecidas e controladas, é possível utilizar equações matemáticas para prever o tempo de ajuste ao meio (fase lag) e/ou velocidade de crescimento (ANASTÁCIO, 2009), o qual seria ideal para melhor expressar os resultados obtidos neste trabalho.

Di Lena et. al., (1994), buscando determinar a extensão da colonização fúngica, verificou que o fungo basidiomiceto *Lentinula edodes* produz baixos teores de glucosamina em seu micélio quando comparado com micélios mais “velhos” com três dias de diferença, cultivados *in vitro*, essa alteridade pode refletir uma parede celular ainda não totalmente desenvolvida. A glucosmina nada mais é que a representação da quitina, um polímero estrutural da célula fúngica. Mostrando que a maturidade do fungo pode alterar resultados de produção.

A linhagem 2 se destacou na produção comparada a linhagem 1 na 2ª e 3ª inoculação. A produtividade mais alta avaliada entre os tratamentos foi de 19 %, sendo que uma produtividade alta no Brasil para *Pleurotus ostreatus* chega em torno de 20-25 %.

Colauto et al. (1998) trabalharam com uma mistura de bagaço de cana e palha de feijão na produção de *P. sajor-caju*, obteve uma produção de 113 g cogumelo fresco por quilo de substrato fresco (produtividade 11,3 %).

A produtividade está relacionada com o composto de cultivo, a linhagem utilizada e as condições ambientais durante a produção. No trabalho de Vieira (2012), pode-se observar a relação entre a formulação do composto com diferentes linhagens de *Pleurotus ostreatus*, onde houve produtividades altas de 33 %, 22 %, 23 %, produtividades médias de 13 %, 14 % e 15 % e até produtividades baixas de 2 %, 3 % e 5 %, de acordo com a linhagem e substrato utilizado.

1.4 CONCLUSÃO

Conclui-se que a inoculação de composto com *Spawn* no intervalo testado de menos de quinze dias de incubação não são tão produtivos e *Spawn* com mais de vinte e dois dias de incubação apresentam baixa produtividade, onde o tempo de maturação do inóculo influencia na irregular produtividade de cogumelos *Pleurotus ostreatus*.

Além disso, observou-se que a linhagem POS 17/1 resultou em: número de cogumelos, número de cachos e produtividade maiores que a linhagem POS 17/2. Assim, linhagens diferentes podem se adaptar melhor em determinadas regiões e formulação de composto, sendo o fator linhagem mais uma variável a se considerar na produção de cogumelos.

REFERÊNCIAS

- ANASTÁCIO, A. Microbiologia Preditiva Alimentar: As sinergias entre a microbiologia, a matemática e as tecnologias da informação. **Segurança e Qualidade Alimentar**, n.7, p.56-59, 2009.
- ANDRADE, M. C. N.; CHAVARI, J. L.; MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Crescimento micelial in vitro de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* submetidas a diferentes condições de temperatura. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32 n.1. 2010.
- BELLETTINI, M. B. **Desenvolvimento de um bioprocesso integrado para valorização de bainha de pupunha (*Bactris gasipaes kunth*): produção de cogumelos (*Pleurotus spp.*) e alface (*Lactuca sativa*) cv. Verônica**. 2014. , 136 f. Dissertação (mestrado) - Engenharia de Alimentos, no Curso de PósGraduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, setor de Tecnologia. 2014
- CARELI, R. T., DUARTE, E. R. e PEREIRA, A. L. A. "Metabolismo microbiano." **Microbiologia Básica para Ciências Agrárias**. 2011. p. 61.
- CHANG S. T. e MILES P. G. Mushrooms : cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2nd ed. 2004.
- COLAUTO, N. B.; EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. Fatores físicos que afetam a produtividade do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Científica**, São Paulo, v. 26, p. 25-43, 1998.
- DI LENA, G.; D'ANNIBALE, A.; SERMANNI, G. G. Influence of the age and growth conditions on the mycelial chitin content of *Lentinus edodes*. **Journal of basic microbiology**, v. 34, n. 1, p. 11-16, 1994.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência & Agrotecnologia** 34: 795-803. 2010.

EIRA, A. F. e MINHONI, M. T. A. **Manual Teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. Ed. Ver. E ampl.- Botucatu: FEPAF; UNESP, 1997. 20-115p.

ELMASTAS, M., ISILDAK, O., TURKEKUL, I., e TEMUR, N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20 (3-4), 337-345. 2007.

HYDE, K. D.; BAHKALI, A. H.; MOSLEM, M. A. Fungi an unusual source for cosmetics. **Fungal diversity**, v. 43, n. 1, p. 1-9, 2010.

MARTÍNEZ-CARRERA, D. Current development of mushroom biotechnology in Latin America. *Micol. Apl. Int.*, 14 pp. 61-74 (2002)

IOSSI, Matheus Rodrigo et al. Pleurotus spp. cultivation on Brachiaria sp. straw treatment with alkaline water: Oyster mushroom and substrate treatment. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2018.

KUMAR, S. **Evaluation of substrates for quality spawn production of mushrooms**. 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura – Patologia de Plantas) – SKUAST – Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology of Jammu, Chatha, Jammu, 2015.

MANZI, P.; AGUZZI, A.; PIZZOFERRATO, L.. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. **Food chemistry**, v. 73, n. 3, p. 321-325, 2001.

MINHONI, M. T. A.; JESUS, J. P. F. e VIEIRA, F. R. Produção de micélio de cogumelos comestíveis. In: SALES-CAMPOS, C. e VAREJÃO, M. J.C. **Bioconversão de resíduos lignocelulolíticos da Amazônia para cultivo de cogumelos comestíveis**. Ed. INPA- Manaus, 166p. 2011.

MOREIRA, F. M. S. e SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Lavras, 2. Ed. UFLA, 2006. p. 316.

MSHANDETE, Anthony M.; RAYMOND, Prosper; KIVAISI, Amelia K. Cultivation of oyster mushroom (Pleurotus HK-37) on solid sisal waste fractions supplemented with cow dung manure. **Journal of Biology and Life Science**, Vol. 4, No. 1. 2013.

REYES, R. G., Lopez, L .L. M. A, Kumakura, K. Kalaw, S.P. & Kikukawa, T. E. F. (2009). Coprinus comatus, a newly domesticated wild nutraceutical mushroom in the Philippines. **J.Agric. Technol.** 5(2), 299-316

ROYSE, D. J.; BAARS, J. e QI TAN. Current overview of mushroom production in the world. In: ZIED, D. C. e PARDO-GIMÉNEZ, A. **Edible and medicinal mushroom-technology and applications**, p. 5-7. 2017.

ROYSE, D. J. 2003. Cultivation of Oyster Mushrooms. Pennsylvania State

University Press, Pennsylvania.

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

ROYSE, D. Influence of spawn rate and commercial delayed release nutrient levels on *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) yield, size, and time to production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 58, n. 4, p. 527-531, 2002.

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Temperatura e meio de cultura mais favoráveis ao crescimento micelial de uma linhagem de *lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.3, p.539-543, jul./set., 2010.

SÁNCHEZ, J., MARTÍNEZ, D., MATA, G., LEAL, H.: El cultivo de setas *Pleurotus* spp en México. **ECOSUR**, Chiapas, México. 2007.

SONNENBERG, A. M., BAARS, J. J., VISSER, M. H. M., LAVRIJSEN, B. E HENDRICKX, P. M. Evaluation of shiitake strains (*Lentinula edodes*) on selective lignin degradation in *Miscanthus x giganteus*. Wageningen UR, **Plant Breeding**. 2016.

URBEN, A. F. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Desenvolvimento 2004.

VARGAS, A. M. **Análise diagnóstica da cadeia produtiva de cogumelos do Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado Universidade de Brasília. Programa de Pesquisa e Pós-graduação em Agronegócio, Brasília, 130 f. 2011.

VIEIRA, Fabrício Rocha. **Potencial de uso de gramíneas como substrato pasteurizado no cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.** 2012., 115 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/90516>>.

CAPÍTULO 2: QUALIDADE DE MUDAS DE ALFACE PRODUZIDAS EM COMPOSTO EXAURIDO DO CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm

RESUMO

Após a produção de cogumelo comestível, toneladas de substrato-pós cultivo são descartados, esse composto conhecido como Spent Mushroom Compost (SMC ou SMS) ou composto de cogumelo exaurido, vem sendo estudado entre outras aplicações como fonte alternativa para produção de substrato de mudas de hortaliças. Foi utilizado o resíduo da produção de *P. ostreatus* para o cultivo de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) em doses de composto exaurido (50%, 30% e 10%) misturadas ao substrato comercial Carolina soil®. Para comparação, foi utilizada uma testemunha com 100% de substrato comercial. A avaliação foi realizada utilizando parâmetros de produtividade de mudas, como: comprimento da parte aérea, comprimento de raiz, número de folhas, massa fresca e seca da parte aérea e massa seca e fresca da raiz. Além de avaliar a física e química do substrato: densidade, umidade, porosidade, retenção de água, macro e micro nutrientes, pH e condutividade elétrica. O substrato exaurido apresentou uma elevação do pH (média de 8,3) e condutividade elétrica para doses crescentes do mesmo, prejudicando massa seca e fresca da parte aérea e comprimento de raiz, para baixas doses de resíduo de cogumelo misturado ao substrato comercial não houve diferença estatística entre os parâmetros avaliados. Para análise física o resíduo demonstrou boa retenção de água, mas alta densidade, diminuindo os macroporos, fator que pode estar relacionado ao menor desenvolvimento de raiz. O composto exaurido de cogumelo se apresentou viável para a produção de mudas de alface na menor proporção de 10% da mistura de resíduos de cogumelo e substrato comercial Carolina soil, doses mais altas de 30 e 50 % obtiveram baixa produtividade quando comparado a testemunha, onde massa seca da parte aérea ficou entre 0,039 g/planta na testemunha e 0,006 g/planta nas maiores doses do resíduo. As análises físicas do substrato exaurido mostraram resultados positivos quanto ao parâmetro retenção de água e macroporosidade. Para a análise química, o substrato possui uma quantidade alta de macro e micronutrientes, se demonstrando um potencial para uso em plantas, mas com necessidade de algumas adequações.

Palavras-chave: Resíduo. Cogumelo. Hortaliças.

ABSTRACT

After the production of edible mushroom, tons of substrate-post culture are discarded, this compound is known as Spent Mushroom Substrate (SMS or SMC) and has been studied as an alternative source for substrate production of vegetable seedlings. The residue of the *Pleurotus ostreatus* production was used for the cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings at doses of depleted compound (50%, 30% and 10%) mixed with the commercial substratum Carolina soil. For comparison, a control with 100% commercial substrate was used. The evaluation was carried out using seedling productivity parameters, such as: shoot length, root length, leaf number, fresh and dry mass of the shoot and dry and fresh root mass. In addition to evaluating the substrate physics and chemistry: density, moisture, porosity, water retention, macro and micro nutrients, pH and electrical conductivity. The depleted substrate showed a pH elevation (medium 8,3 pH) and electrical conductivity for increasing doses of the same, damaging dry and fresh mass of shoot and root length, for low doses of mushroom residue mixed to the commercial substrate there was no statistical difference between the evaluated parameters. For physical analysis the residue showed good water retention, but high density, reducing the macropores, a factor that may be related to lower root development. The depleted mushroom compound present viable for the production of lettuce seedlings in the proportion of 10 mixed with the Carolina soil compound, did not viable doses of 30 and 50% depleted, their values differ statistically. Where dry mass of the area was between 0.039 g / plant in the control and 0.006 g / plant in the highest doses of the residue. The physical analysis of the depleted substrate showed positive results regarding the water retention parameter and macroporosity. For the chemical analysis, the substrate has a high amount of macro and micronutrients, demonstrating a potential for use in plants, but in need of some adjustments.

Keywords: Spent mushroom compost. Mushroom. Horticulture.

2.1 INTRODUÇÃO

A produção de cogumelos no Brasil vem crescendo exponencialmente nos últimos anos. O cultivo de *P. ostreatus* é realizado por pequenas e grandes propriedades, pela sua facilidade em se desenvolver em diversos materiais orgânicos, como palhada e troncos de árvore semi-compostado, geralmente resíduos agrícolas o qual o Brasil possui em grandes quantidades e diversidade; exige pouco frio comparado com outros gêneros, considerado mais fácil de produzir e com possibilidade de cultivo com pouco investimento (DIAS, 2010).

O composto de cultivo de cogumelo após ter sido usado na produção é descartado, mas é considerado por muitos autores como um sub-produto, conhecido como “spent mushroom substrate” ou “spent mushroom compost” (SMS ou SMC) ou substrato de cogumelo exaurido. O resíduo da produção de cogumelos não deve ser descartado na propriedade, pois, o mesmo atrai insetos capazes de transportar doenças ou ele mesmo servir como fonte de inóculo de fungos antagonistas, podendo contaminar outras produções ainda presentes na propriedade, além de causar poluição do ar e da água por lixiviação (MARQUES *et al.*, 2014).

Estudos com produção de hortaliças utilizando substrato exaurido de cogumelo vêm demonstrando aumento de produtividade e alternativa viável como fertilizante orgânico (LOPES *et al.*, 2015).

A produção de mudas é uma das etapas mais importantes do sistema produtivo vegetal (Silva Júnior *et al.*, 1995). Buscando baixo custo e mudas saudáveis, o uso de substratos alternativos vem se desenvolvendo para suprir as demandas de produção, por apresentar características particulares, tanto químicas como físicas para sua utilização, porém, estudos prévios devem ser realizados.

A produção de mudas de alface com o uso do substrato pós-cultivo de cogumelo demonstrou condições de crescimento e desenvolvimento; na produção em campo as plantas produziram bem, com boa formação de cabeça e alta produtividade (MARQUES *et al.*, 2014).

Pensando que a alface (*Lactuca sativa* L.) está entre as hortaliças folhosas mais consumidas no mundo, sendo a mais importante no Brasil (SALA; COSTA, 2012) e possui vasto conhecimento científico em seu cultivo. É comumente utilizada como planta-teste e com a ideia de oferecer um descarte apropriado para o resíduo da produção de cogumelos, o presente trabalho estudou o potencial do resíduo do

cultivo de *P. ostreatus* sem preparos prévios como compostagem ou lavagem, como substrato para a produção de mudas de alface.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Produção e avaliação das mudas de alface

A produção das mudas de alface foi conduzida em casa de vegetação no viveiro de mudas do Departamento de Ciências Florestais da Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu- FCA, que possui cobertura de plástico transparente, laterais em tela (sombrite) e irrigação por aspersão, no período de Agosto a Setembro de 2018.

Foram utilizadas bandejas descartáveis de 200 células, suspensas em bancadas metálicas, irrigadas com 5 mm de água quatro vezes ao dia, através de aspersores suspensos na estufa. Para avaliação do experimento foi utilizado a variedade “Vera” de alface crespa, adaptada a temperaturas mais elevadas, uma semente por célula, a semeadura foi realizada no dia 17/08/2018.

As 5 bandejas foram distribuídas ao acaso e preenchidas com as quatro doses de substrato, separados por duas colunas de células vazias, para que não houvesse possíveis misturas dos tratamentos. Os tratamentos deste trabalho foram pensados posteriormente a um teste, utilizando o substrato exaurido puro e sua mistura a 50% de substrato comercial Carolina soil®, onde os resultados com substrato exaurido puro não foram favoráveis.

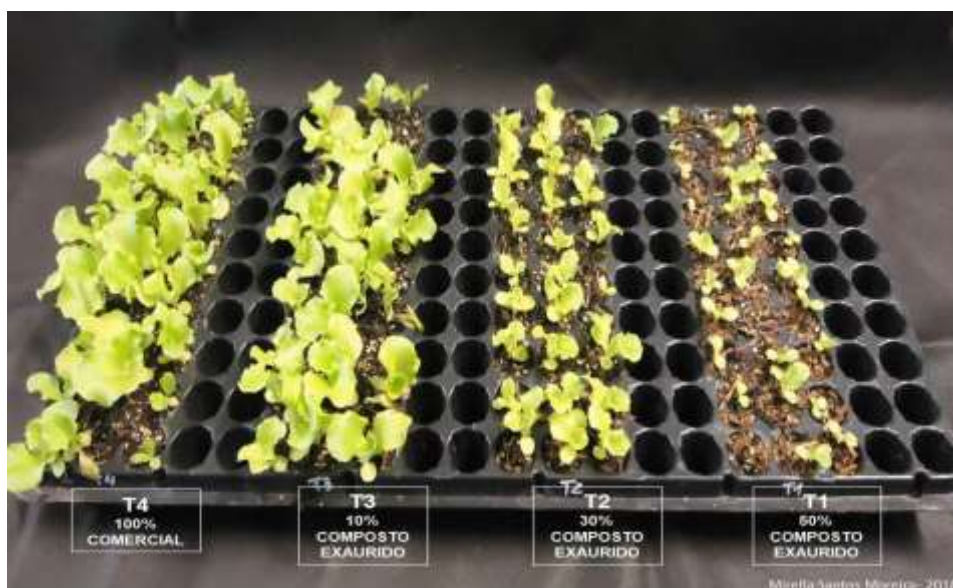
O substrato exaurido utilizado provém do pós-colheita do experimento anterior (Capítulo 1) onde foram utilizados para formulação do composto: bagaço de cana (*Saccharum officinarum*), capim brachiaria (*Brachiaria* spp.), farelo de trigo (*Triticum aestivum*), gesso e calcário. O composto exaurido se encontrava em umidade ideal para substrato, em torno de 50%. O composto exaurido foi triturado em um triturador TRF 300, triturador de pastagens do Departamento de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia de Botucatu; após, foi peneirado utilizando uma peneira de café, que possui uma malha de 5,64mm para obter granulometria menor e padronizada.

As misturas de composto exaurido e substrato comercial foram feitas por volume. O substrato comercial Carolina Soil da classe interna V é composto de turfa, vermiculita, resíduo orgânico agroindustrial classe “A”, calcário e produto fabricado por terceiros. O resíduo orgânico agroindustrial classe “A” segundo a legislação brasileira MAPA é todo material ou fertilizante orgânico que, em sua produção, utiliza matéria-prima de origem vegetal, animal ou de processamentos da agroindústria, onde não sejam utilizados, metais pesados tóxicos, elementos ou compostos orgânicos sintéticos potencialmente tóxicos, sendo um produto de utilização segura na agricultura (Brasil, 2009).

Buscando obter uma resposta positiva, foi realizado um pré-teste utilizando o composto exaurido, a partir dos resultados obtidos foram selecionadas as seguintes misturas com diferentes doses de composto exaurido e substrato comercial para serem testadas: (T1) 50% de substrato exaurido + 50% de substrato comercial Carolina soil®; (T2) 30% Substrato exaurido + 70% de substrato comercial Carolina Soil®; (T3) 10% de substrato exaurido + 90% de substrato comercial de Carolina soil®; (T4) 100% de substrato comercial Carolina soil®. No decorrer do experimento as mudas não receberam adição de fertilizantes.

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados, com quatro tratamentos (doses de substrato) e cinco repetições, sendo a unidade experimental representada por 30 mudas (Figura 1).

Figuras 1- Mudas de alface produzidas em diferentes doses de substrato exaurido de cogumelo após 28 dias de semeadura



2.2.1.2 Parâmetros físicos de avaliação da qualidade das mudas

Após 28 dias da semeadura, foram avaliadas as seguintes características das mudas: número de folhas (NF); comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA) em centímetros com auxílio de régua graduada; massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA). O material foi secado em estufa de ar forçado a 60°C até chegar a massa constante; para avaliar massa seca foi utilizado balança analítica de precisão.

2.2.2 Caracterização física e química dos substratos

2.2.2.1 Estabilidade do torrão

A estabilidade do torrão considerando a sua coesão ao retirar a muda da bandeja foi avaliada conforme escala de notas adaptada de Gruszynski (2002) onde foram consideradas as seguintes notas 1 = mais de 50% do torrão ficou retido no recipiente; 2 = o torrão se destacou do recipiente, mas, não permaneceu coeso e 3= todo o torrão foi destacado do recipiente e mais de 90% dele permaneceu coeso.

2.2.2.2 Análise de umidade do substrato

Para avaliação da umidade do substrato foram submetidas três amostras de cada tratamento em latinhas de alumínio previamente taradas em balança, pesada sua massa úmida e submetidas em estufa de ar forçado por 48h a 105°C; após peso constante foi anotada sua massa seca.

Submetidos os valores de massas na fórmula, a seguir obtivemos a umidade do material em porcentagem.

$$Umidade (\%) = \frac{massa\ úmida - massa\ seca}{massa\ úmida} \times 100$$

2.2.2.3 Análise de porosidade, retenção de água e densidade aparente do substrato

Para as caracterizações físicas dos substratos utilizados no experimento foram realizadas análises de porosidade: porosidade total, macroporosidade, microporosidade e capacidade de retenção água, foi utilizada a metodologia descrita por Guerrini e Trigueiro (2004) e Silva (2012); as avaliações foram realizadas no Laboratório do viveiro de mudas do Departamento de Ciências Florestais, FCA-UNESP.

Foram utilizados 12 tubetes de polipropileno com capacidade volumétrica de 50 cm³, os quais tiveram a abertura da base fechada com um botão de plástico para evitar a perda de material durante a determinação dos atributos físicos. Os recipientes foram identificados, pesados e preenchidos manualmente com substrato, o qual foi compactado, usando-se um equipamento que simula as batidas para o adensamento das partículas, onde a ação do seu próprio peso preenche os espaços vazios do tubete, preenchendo após as batidas com mais substrato, até que o mesmo não possua mais espaço para adicionar substrato. Em seguida o substrato foi submetido à saturação por água.

Os tubetes foram encharcados em uma bacia com água por 1 h; em seguida, os tubetes foram pesados e colocados para drenagem por 30 min. Para a segunda pesagem foi feita a drenagem. Logo após a segunda pesagem, o substrato é

adicionado em cápsulas de alumínio e mantido em estufa a 105°C por 24 h. Após este período, as cápsulas foram pesadas. Para determinar os atributos físicos, foram usadas as seguintes fórmulas:

$$\text{Macroporosidade (\%)} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

$$\text{Microporosidade (\%)} = \frac{B - D - E}{C} \times 100$$

$$\text{Porosidade total (\%)} = \text{Macroporosidade} + \text{Microporosidade}$$

$$\text{Capacidade máxima de retenção de água (ml } 50\text{cm}^{-3}\text{)} = B - D - E$$

$$\text{Densidade aparente} = \frac{(D - E)}{C}$$

Onde:

A = peso do substrato encharcado;

B = peso do substrato drenado;

C = volume do tubete;

D = peso do substrato seco;

E = peso do tubete.

2.2.2.4 Caracterização química dos substratos

Foi realizada uma caracterização química dos substratos (Tabelas 1, 2 e 3). A análise química baseou-se no método de fertilizantes orgânicos, a qual determina os teores de nutrientes disponíveis contidos nos materiais analisados. Essas análises foram efetuadas pelo Laboratório de Análise de Fertilizantes e Corretivos do Departamento de Ciência do Solo da Faculdade de Ciências Agrônômicas de

Botucatu, conforme orientação do Ministério da Agricultura (Brasil, 2017). Foi feito também análise química completa do composto exaurido de cogumelo, para melhor compreender sua composição pós-cultivo; o resíduo na proporção 100% não foi utilizado neste estudo, pois, foi realizado um estudo prévio onde o uso do resíduo puro não favoreceu o crescimento das mudas.

Tabela 1- Caracterização química de macronutrientes em solução disponível para a planta dos substratos utilizados no experimento

Substratos	Análise química do substrato						
	N	P	K	Ca	Mg	S	Na
	----- mg /L -----						
100% SE	48	34	735	750	368	652,4	17,70
50% SE + 50% SC	41	20	412	450	269	475,0	17,70
30% SE + 70% SC	99	17	318	324	232	376,9	19,60
10% SE + 90% SC	109	15	215	155	153	202,4	19,70
100% SC	70	25	145	66	77	109,1	14,80

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil, proporções em volume (v:v).N- Nitrogênio; P- fósforo; K – potássio, Ca- cálcio; Mg- magnésio; S- enxofre; Na- Sódio.

Tabela 2- Caracterização química de micronutrientes dos substratos utilizados no experimento

Substratos	Análise química do substrato				
	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- mg /L -----				
100% SE	1,43	0,05	0,40	2,20	0,08
50% SE + 50% SC	1,07	0,04	0,33	1,22	0,14
30% SE + 70% SC	1,04	0,05	0,14	0,61	0,21
10% SE + 90% SC	0,66	0,05	0,12	0,49	0,25
100% SC	0,26	0,06	0,69	0,52	0,21

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil, proporções em volume (v:v).B- Boro; Cu- Cobre; Fe- Ferro; Mn- Manganês; Zn- Zinco.

Tabela 3- Caracterização química de pH e condutividade elétrica (C.E.) dos substratos utilizados no experimento

Análise química dos substratos		
Substratos	pH	C.E. (mS.cm⁻¹)
100% SE	8,37	5,61
50% SE + 50% SC	8,30	3,74
30% SE + 70% SC	8,42	3,16
10% SE + 90% SC	8,34	2,15
100% SC	6,99	1,38

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil, proporções em volume (v:v).

2.2.3 Delineamento estatístico

O delineamento experimental utilizado para avaliação dos parâmetros físicos de qualidade de muda foi o inteiramente casualizado com cinco repetições e quatro tratamentos, com diferentes doses de composto exaurido de cogumelo: (T1) 50% de substrato exaurido + 50% de substrato comercial Carolina soil®; (T2) 30% Substrato exaurido + 70% de substrato comercial Carolina Soil®; (T3) 10% de substrato exaurido + 90% de substrato comercial de Carolina soil®; (T4) 100% de substrato comercial Carolina soil®. com trinta plantas em cada parcela sendo avaliadas as dez plantas centrais totalizando 200 plantulas. Foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, a transformação dos dados foi feita através da fórmula raiz quadrada de $(x + 0,5)$ através do programa estatístico SISVAR® (Ferreira, 2000).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve melhores resultados para as mudas produzidas com menor dose de composto exaurido (10%) e mudas produzidas em substrato comercial, apresentando diferença entre os outros dois tratamentos em todas as avaliações, se diferenciando muito pouco entre o tratamento com 10% de composto exaurido e com 100% de substrato comercial (Tabela 4). As análises de número de folhas, comprimento da parte área e comprimento de raiz apresentaram valores crescentes conforme diminuía as doses de composto exaurido (Figura 2). O tratamento com

50% de composto exaurido foi o menos eficiente, seguido pelo tratamento com dose de 30% de exaurido. Com relação ao número de folhas, comprimento da parte aérea e comprimento de raiz, para massa fresca e seca não houve diferença estatística significativa entre esses tratamentos.

Tabela 4- Parâmetros físicos das mudas de alface produzidas a partir de diferentes doses de substratos exaurido do cultivo de *Pleurotus ostreatus*, 28 dias após semeadura

Parâmetros físicos das mudas de alface							
Substratos	NF	CPA	CR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
	Unid.	cm	cm	g/planta		g/planta	
50% SE + 50% SC	1,0 c	1,81 c	4,68 b	0,04 b	0,03 c	0,006 b	0,004 b
30% SE + 70% SC	2,0 b	2,53 b	5,35 ab	0,10 b	0,07 b	0,013 b	0,007 b
10% SE + 90% SC	2,94 a	4,44 a	5,90 a	0,35 a	0,16 a	0,038 a	0,014 a
100% SC	2,96 a	4,79 a	6,16 a	0,35 a	0,16 a	0,039 a	0,014 a
CV (%)	0,99	4,60	3,50	9,45	8,62	4,73	1,89

Substratos- SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil, proporções em volume (v:v). Parâmetros avaliados- Número de folhas (NF), Comprimento da parte aérea (CPA), Comprimento da raiz (CR), Massa fresca da parte aérea (MFPA), Massa fresca da raiz (MFR), Massa seca da parte aérea (MSPA) e Massa seca da raiz (MSR). *Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si em nível de significância de 5% teste de Tukey.

Figura 2- Tamanho de mudas de alface produzidas em substrato exaurido de cogumelo após 28 dias de cultivo



A-Tratamento1 com 50% de substrato exaurido; B- Tratamento 3 com 10% de substrato exaurido; C- Tratamento 2 com 30% de substrato exaurido; D- Tratamento 4 com 100% substrato comercial.

O substrato exaurido de cogumelo vem sendo estudado para diversos fins, já que após o seu descarte não deve ser mantido na propriedade produtora de cogumelo (MARQUES et al., 2014). Segundo Lopes et al., (2015) o uso de composto exaurido de *Agaricus subrufescens* em mudas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) não apresentou resultados positivos, sendo discutido pelo autor a possibilidade de alguma deficiência na característica física do substrato. Porém, quando as mudas foram levadas a campo, os melhores resultados de produção, tamanho e quantidade de frutos foram obtidos com as mudas produzidas em 100% de composto exaurido, indicando o uso desse resíduo para produção de mudas. O presente trabalho testou o composto exaurido de *P. ostreatus* e sem nenhum tipo de tratamento prévio e foram encontrados resultados parecidos ao de Lopes et al., (2015).

Medina et al., (2009) testando composto exaurido de *Agaricus bisporus* e *P. ostreatus* obteve resultados negativos para a produção de diferentes mudas de hortaliças, onde o resíduo da produção de *Pleurotus* se demonstrou inferior comparado ao de *Agaricus*.

Avaliando os resultados de Lopes et al. (2015) e Medina et al., (2009) é possível que se melhore a produção das hortaliças com o uso de composto exaurido da produção de cogumelo, se o mesmo for misturado ao solo, ou previamente compostado com outros materiais, para que a troca de nutrientes entre o substrato e planta seja facilitando.

O composto para produção de *Agaricus bisporus* é formulado com esterco de galinha, palhada, bagaço de cana e uma camada de terra, sendo compostado até atingir um valor de C/N de 25/1, muito mais rico quando comparado com composto utilizado para produção de *P. ostreatus*. Essa é possivelmente a principal diferença quanto à resposta das mudas cultivadas em composto exaurido de *Agaricus*, onde a utilização de solo na mistura do resíduo pode favorecer a troca de nutrientes entre o substrato e a planta. A escolha da matéria prima e a mistura desses materiais podem variar, de região para região (Vieira, 2012), podendo alterar possíveis resultados sobre testes de produção das mudas.

Os valores de massa fresca e seca da parte aérea do tratamento com menor quantidade de substrato exaurido e o tratamento com 100% de composto comercial foram positivas, sendo encontrados valores semelhantes e até inferiores em outros trabalhos. De Medeiros et al., (2007) testou diferentes substratos alternativos: areia lavada e húmus; Gold mix 11; areia lavada e composto orgânico, os resultados deste trabalho foram inferiores para massa seca da parte aérea, menos quando comparado ao composto orgânico, considerando que os autores utilizaram biofertilizante como adubo foliar durante a produção das mudas.

Gomes et al., (2008) também obtiveram resultados menores de massa seca da parte aérea quando comparado aos tratamentos mais eficientes deste trabalho, utilizando húmus de minhoca, casca de arroz carbonizada em diferentes proporções e distintas adubações. O substrato utilizado como controle foi o Bioplant que também apresentou massa seca da parte aérea inferior a alguns tratamentos deste estudo.

Para os parâmetros de comprimento de raiz, massa fresca e seca da raiz foi obtida baixa resposta para os tratamentos com maior dose de substrato exaurido, representando que as características físicas e ou químicas do substrato exaurido influenciaram no desenvolvimento radicular das mudas, sendo necessária alguma alteração para adequar o mesmo para o uso na produção de mudas, já que

formação de raízes maiores permite às plântulas explorarem melhor o volume de substrato, possibilitando maior absorção de água e nutrientes (SOUZA et al., 2013).

Cunha et al.,(2014) estudaram diversas misturas de substrato alternativo, os tratamentos que receberam alguma proporção de palha de café apresentaram baixo valor de massa seca de raiz, sendo inferiores até mesmo aos valores do primeiro e segundo tratamento desse trabalho. Por outro lado, Cabral et al., (2011) obtiveram melhor desempenho de plântulas de alface utilizando um composto de esterco bovino com palhada de feijão (1:1) comparando aos resultados proporcionados pelo substrato comercial.

Para o parâmetro de número de folhas, assim como os valores de peso de matéria seca da parte aérea, apresentaram nos tratamentos com menores doses de substrato exaurido os maiores valores (Tabela 4). Somente parte da energia solar absorvida pelas folhas é convertida em biomassa, reduzindo a eficiência do processo todo entre 1% e 3% (GLIESSMAN, 2000). As folhas são responsáveis pela fotossíntese na planta, sendo essencial para o melhor desenvolvimento da planta, um importante parâmetro de avaliação de produtividade.

Trani, et al., (2004) trabalharam com diferentes bandejas e substratos comerciais para produção de mudas de alface, o número de folhas encontrado pelos autores foi inferior ao deste trabalho, mesmo trabalhando com substratos comerciais, porém, ambos resultados estão dentro dos padrões estabelecidos para o transplântio de mudas. O uso de bandejas com maior número de células pode influenciar no desenvolvimento radicular e consequentemente na parte aérea das mudas. Segundo Marques et al., (2003) e Trani et al. (2004) mudas com maior número de folhas foram produzidas em bandejas de 128 células, podendo explicar os resultados obtidos neste trabalho.

A fase inicial de mudas é uma das fases mais importantes da produção de hortaliças, com um custo elevado no uso de composto comercial para produção (MARQUES et al., 2014), para isso estudos com materiais alternativos que sejam de fácil acesso, custo baixo e que favoreça o crescimento de mudas saudáveis e comercializáveis, vêm sendo realizados. Os resultados obtidos neste trabalho, com 10% do uso de composto exaurido de cogumelo junto ao composto comercial, foi positivo, considerando um material residual, ou seja, baixo custo representa uma opção para economizar no sistema de produção de mudas de hortaliças.

Além disso, sugere-se que mais trabalhos semelhantes a este sejam realizados, compostando o resíduo da produção de *Pleurotus* antes de ser colocado à produção de mudas, visando aproveitar melhor seus nutrientes e disponibiliza-los mais facilmente às mudas, buscando favorecer o processo, sempre com o objetivo de obter mudas de qualidade e reduzindo os custos de produção.

Avaliou-se a formação de torrão do substrato com doses de composto exaurido, a partir de notas de 1 a 3 como consta na metodologia no item 2.2.2.1. A melhor formação de torrão facilita no transplântio das mudas pois, está relacionado com tamanho de partícula e porosidade do mesmo (Figura 3).

Figura 3- Estabilidade de torrão em mudas de alface produzidas em substrato exaurido de cogumelo



A-Tratamento1 com 50% de substrato exaurido; B- Tratamento 2 com 30% de substrato exaurido; C- Tratamento 3 com 10% de substrato exaurido; D- Tratamento 4 com 100% substrato comercial. Notas: 1 = mais de 50% do torrão ficou retido no recipiente; 2 = o torrão se destacou do recipiente, mas, não permaneceu coeso e 3= todo o torrão foi destacado do recipiente e mais de 90% dele permaneceu coeso.

Os melhores resultados para formação de torrão foram obtidos com as menores doses de substrato exaurido, onde maior quantidade de mudas foi facilmente retirada das células e as raízes das mesmas tomaram todo o substrato, impedindo

que ao retirá-lo, o torrão se desmanchasse. Quanto maior a quantidade de substrato exaurido utilizado, mais os torrões se desmancharam, possivelmente pela maior porosidade (Tabela 5), dificultando sua agregação pelas raízes.

Tabela 5- Parâmetros de notas de um a três para os diferentes substratos utilizados, de acordo com a quantidade de substrato que fica retido na célula da bandeja

Nota de substrato para mudas	
Substratos	Nota substrato
50% SE + 50% SC	2,74 b
30% SE + 70% SC	2,82 ab
10% SE + 90% SC	3,0 a
100% SC	3,0 a
CV (%)	1,51

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil, proporções em volume (v:v).
Notas: 1 = mais de 50% do torrão ficou retido no recipiente; 2 = o torrão se destacou do recipiente, mas, não permaneceu coeso e 3= todo o torrão foi destacado do recipiente e mais de 90% dele permaneceu coeso. *Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si em nível de significância de 5% teste de Tukey.

Cabra et al., (2011) utilizaram substratos alternativos de esterco bovino com palha de feijão e esterco bovino, serragem e terra de barranco em comparação ao substrato Plantmax, encontraram notas de formação de torrão entre 2,5; 2,4 e 2,3, respectivamente, valores inferiores aos encontrados neste trabalho para a mesma metodologia de avaliação.

Trani et al., (2004) trabalhou com diferentes substratos e bandejas no cultivo de alface e avaliou que bandejas com maior número de células proporcionaram um torrão mais coeso, pelo menor espaço para o crescimento radicular das plantas e maior agregação entre o substrato e a raiz.

A densidade do substrato (Tabela 6) está ligada ao teor de macroporos presente no mesmo, o qual facilita o desenvolvimento do sistema radicular pela maior aeração. A quantidade e qualidade de poros determina a distribuição de sólidos, água e ar no substrato (GUERRINI e TRIGUEIRO, 2004). Os resultados de

densidade do substrato se apresentaram maiores para as misturas com resíduo da produção de cogumelo.

A umidade do substrato exaurido de cogumelo misturado com substrato comercial apresentaram maior umidade (Tabela 6), o que pode estar envolvido com os maiores valores de retenção de água (Tabela 7), junto com os dados de macro e microporosidade que envolvem essa relação água, partículas sólidas e ar.

Tabela 6- Características físicas de umidade e densidade úmida dos substratos utilizados no experimento

Substratos	Densidade aparente g.cm⁻³	Umidade (%)
100% SE	0,182 a	57,94 b
50% SE + 50% SC	0,136 b	61,87 a
30% SE + 70% SC	0,129 c	61,59 ab
10% SE + 90% SC	0,118 d	62,80 a
100% SC	0,114 d	51,53 c
CV (%)	2,84	2,31

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil, proporções em volume (v:v). Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si em nível de significância de 5% teste de Tukey.

As variáveis de porosidade total se apresentaram dentro do padrão ideal segundo Verdonck, et al. (1983), onde a porosidade total deve ter um valor de no mínimo 85%, os maiores valores de porosidade encontram-se na avaliação do composto exaurido puro, que apesar de se apresentar como o composto mais poroso, apresentou maior capacidade de retenção de água, diferindo dos resultados encontrados por Medina et al., (2009) e os apresentados pela Tabela 7 deste trabalho. Os outros valores de porosidade se apresentaram inferior ao considerando ideal para um substrato, porém valores muito próximos ao ideal, onde a utilização do resíduo de cogumelo em qualquer proporção favoreceu na porosidade total do substrato.

Para Gruszynski (2002), alguns aspectos principais de um substrato estão na propriedade física, a forma como é manuseado, preenchido o recipiente, o qual determina a porosidade total e o tamanho dos poros.

Segundo Drzal et al., (1999) e Schmitz et al. (2002) a capacidade do substrato em reter água está correlacionada à distribuição dos poros por tamanho. Os macroporos não retêm água sob força gravitacional, são responsáveis pela aeração das raízes (DRZAL et al., 1999). Ballester-Olmos (1992) explica que os microporos são responsáveis pela retenção de água no substrato. Por isso, os resultados com valores mais altos de retenção de água foram para o substrato exaurido, pois apresentou maior quantidade de microporos.

Os resultados obtidos por Guerrini e Trigueiro (2004) mostra que a capacidade de retenção de água do substrato a partir de bio sólidos e casca de arroz carbonizada foi maior conforme as doses de bio sólido no substrato aumentava; porém, em substratos com altas doses de bio sólidos, observou-se alta densidade, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho, o que representa a redução da proporção de macroporos, fato este que dificulta a aeração dos substratos, prejudicando o desenvolvimento do sistema radicular.

Tabela 7. Caracterização física de porosidade (macroporos, microporos e porosidade total) e retenção de água dos substratos utilizados no experimento

Parâmetros físicos dos substratos				
Substratos	Porosidade (%)			Retenção
	Macroporos	Microporos	Total	ml 50cm ³
100% SE	32,68 b	52,54 a	85,22 a	27,37 a
50% SE + 50% SC	34,81 a	48,45 b	83,27 b	25,18 b
30% SE + 70% SC	32,36 b	49,21 b	81,57 c	25,57 b
10% SE + 90% SC	33,82 ab	46,54 c	80,37 c	24,17 c
100% SC	32,05 b	44,29 d	76,34 d	23,11 d
CV (%)	4,76	1,90	1,42	1,84

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil®, proporções em volume (v:v). Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si em nível de significância de 5% teste de Tukey.

Medina et al. (2009) observaram o aumento do pH, da condutividade elétrica e da concentração dos macronutrientes nos substratos de resíduo de cogumelo. Lopes et al., (2015) encontrou valores de condutividade elétrica (C.E.) e pH mais altos, ao utilizar o composto exaurido de *A. superfescins*, o que corrobora com os

resultados obtidos neste trabalho (Tabela 3), onde doses mais altas de composto exaurido resultaram na elevação de pH e da CE.

Cavins et al., (2000) consideram uma condutividade elétrica ideal para substratos, valores entre $0,76 \text{ dS m}^{-1}$ e $1,25 \text{ dS m}^{-1}$, para a maioria dos cultivos, o que pode explicar os resultados obtidos neste trabalho (Tabela 3) com valores entre $2,15$ a $5,61 \text{ Ms cm}^{-1}$ quando misturado composto exaurido ao substrato, atingindo valores superiores aos considerados ideais, explicando possíveis efeitos na altura das mudas e comprimento de raiz.

Maas (1984), mencionam a alface ser “moderadamente sensível” à salinidade, sofrendo um decréscimo de 13% na produção a cada aumento unitário de condutividade elétrica (C.E.) do extrato de saturação acima de $1,3 \text{ dSm}^{-1}$.

Andriolo et al., (2005) observaram redução no crescimento e na produção de massa fresca de plantas de alface cv. Vera quando os níveis de salinidade foram superiores a $2,0$ e $2,6 \text{ dSm}^{-1}$, respectivamente.

Para Viana et al., (2001) a muda responde de duas formas diferentes ao efeito da salinidade, a parte aérea decresce com o aumento da C.E., mas, o sistema radicular só é prejudicado quando a C.E. excede a $2,54 \text{ dS m}^{-1}$.

Gomes et al., (2008) também encontraram condutividade elétrica alta dos substratos alternativos utilizados, o qual segundo o autor, refletiu diretamente na produção de massa fresca e seca da parte aérea.

Apesar da análise de condutividade elétrica ter sido realizada no dia da semeadura e possivelmente com as irrigações os valores diminuíram, houve diferença nos resultados avaliados de desenvolvimento de muda.

São considerados valores ideais de substrato de $5,5$ a $6,5$, faixa que ocorre a maior disponibilidade da maioria dos nutrientes, porém, isso pode variar muito de acordo com a espécie (FARNHAM et al., 1985)

Kämpf (2000) considera um valor ideal de pH situado entre $5,2$ e $5,5$ para substratos de base orgânica e entre $6,0$ e $7,0$ para aqueles de base mineral. Ludwig et al., (2014) obteve resultados de redução de ferro, que refletiu em menor intensidade de cor verde das folhas utilizando substratos com pH acima de $7,0$ e plantas conduzidas em substrato com pH abaixo de $5,0$ apresentaram níveis tóxicos de manganês e menor fitomassa seca.

Assim, os resultados deste trabalho demonstraram que o substrato utilizado a partir do resíduo da produção de *Pleurotus*, apresenta alta condutividade elétrica e

alto valor de pH, devido provavelmente a alta concentração de minerais, essa característica química do substrato acarretou em baixa produtividade de mudas de alface. Assim conclui-se que o resíduo deve ser compostado ou misturado a outros substratos inertes ou não para ser utilizado em plantas, por apresentar valores altos de pH e C.E.

2.4. CONCLUSÃO

Entre as doses testadas de composto exaurido (50, 30 e 10 %) apenas a dose de 10% apresentou-se viável para a produção de mudas de alface.

As análises físicas do substrato exaurido utilizado em diferentes proporções junto a um substrato comercial mostraram resultados positivos quanto ao parâmetro retenção de água.

Com relação à análise química o substrato se demonstra um potencial para uso em plantas, porém deve ser testado após uma prévia compostagem, para melhor adequar seu pH e condutividade elétrica.

REFERÊNCIAS

ANDRIOLO, J. L.; ESPINDOLA GRIGOLETTO, M. C.; STEFANELLO OSMARI, M. Crescimento e desenvolvimento de plantas de alface provenientes de mudas com diferentes idades fisiológicas. **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, 2003.

BALLESTER-OLMOS J. F. Substratos para el cultivo de plantas ornamentales. Valencia: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, **Hojas Divulgadoras**, 11, 44 p. 1992.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos. – Brasília : MAPA, p. 111.2017.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 25, de 23 de julho de 2009. <acesso em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>.12 Nov. 2009>

CABRAL, M. B. G. et al. Avaliação de substratos alternativos para produção de mudas de alface utilizados no sul do Estado do Espírito Santo. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 43-48, 2011.

CAVINS, T. J.; WHIPKER, B. E.; FONTENO, W. C.; HARDEN, B.; McCALL, I.; GIBSON J. L. Monitoring and managing pH and EC using the PourThru extraction method. Horticulture Information Leaflet, North Carolina, v.590 p.1-17, 2000.

COURTNEY R. G.; MULLEN G. J. Soil quality and barley growth as influenced by the land 6 application of two compost types. **Bioresource Technology**. 99 : 2913–2918. 2008.

DA CUNHA C. et al. Substratos alternativos para produção de mudas de alface e couve em sistema orgânico. **Scientia Plena**, v. 10, n. 11, 2014.

DA SILVA, R. B. G.; SIMÕES, D.; DA SILVA, M.R. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, p. 297-302, 2012.

DE MEDEIROS, CLEUMA, D. et al. Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, 2007.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência & Agrotecnologia** 34: 795-803. 2010.

DRZAL, M. S.; KEITH CASSEL, D.; FONTENO, W. C. Pore fraction analysis: A new tool for substrate testing. In: **International Symposium on Growing Media and Hydroponics 481**. p. 43-54. 1999.

FARNHAM, D. S.; HASEK, R. F.; PAUL, J. L. **Water quality its effects on ornamental plants**. 1985.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In.: **Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria**, 45, 2000. Anais, São Carlos, SP: SIB, p. 255-258, 2000.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Ed. Universidade, 2000. 653p.

GOMES, L. A. A. et al. Produção de mudas de alface em substrato alternativo com adubação. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 359-363, 2008.

GRUSZYNSKI, C. **Resíduo agro-industrial "casca de tungue" como componente de substrato para plantas**. 100f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

GUERRINI, I. A.; TRIGUEIRO, R. M. Atributos físicos e químicos de substratos compostos por biossólidos e casca de arroz carbonizada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, p. 1069-1076, 2004.

KÄMPF AN. Seleção de materiais para uso como substrato. In: KÄMPF NA; FERMINO MH. (Eds.) **Substratos para plantas: a base da produção vegetal em recipientes**. Porto Alegre: Gênese, p.139-145. 2000.

LAU K. L.; TSANG Y. Y.; CHIU S. W. Use of spent mushroom compost to bioremediate PAH-12 contaminated samples. **Chemosphere** 52 : 1539–1546. 2003.

LOPES, R. X. et al. Application of spent *Agaricus subrufescens* compost in integrated production of seedlings and plants of tomato. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 4, n. 3, p. 211-218, 2015.

LUDWIG, F. et al. Macronutrientes em cultivares de gérbera sob dois níveis de fertirrigação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 1, p. 68-73, jan./mar. 2008.

MAAS, E.V. Crop tolerance. **California Agriculture**, Berkeley, v.38, n.10, p.20-21, 1984.

MARQUES E. L. S. et al. Spent mushroom compost as substrate for the production of lettuce seedlings. **Journal of Agricultural Science** 6(7) : 24 138. 2014.

MARQUES P. A. A; BALDOTTO P. V.; SANTOS A. C. P; OLIVEIRA L. Qualidade de mudas de alface formadas em bandejas de isopor com diferentes números de células. **Horticultura Brasileira** 21: 649-651.2003.

MEDINA E; PAREDES C; PÉREZ-MURCIA M. D.; BUSTAMANTE M. A.; MORAL R. Spent mushroom substrates as component of growing media for germination and growth of horticultural plants. **Bioresource technology** 100(18) : 4227-4232. 2009.

MULLEN G.; MCMAHON C. The effects of land spreading and soil incorporation of spent mushroom compost on County Monaghan grassland soils. **Irish journal of agricultural and food research** 40 : 189–197. 2001.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. da. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012 .

SANTOS A. R. et al. Utilização do composto exaurido de *Pleurotus sajor caju* em rações de frangos de corte e seus efeitos no desempenho dessas aves. **Acta Scientiarum. Animal Sciences** 31(2). 2009

SCHMITZ J. A. K.; SOUZA P. V. D.; KÄMPF A. N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **CiênciaRural** 32: 937-944. 2002.

SILVA JÚNIOR, A. A.; MACEDO S. G.; STUKER H. **Utilização de esterco de peru na produção de mudas de tomateiro**. Florianópolis: EPAGRI, (Boletim Técnico 73), 28 p. 1995.

SOUZA E. G. F, et al. Produção de mudas de alface babá de verão com substratos à base de esterco ovino. **Revista Caatinga**. 2013; 26(4):63-68.

TRANI, P. E. et al. Produção de mudas de alface em bandejas e substratos comerciais. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 290-294, 2004.

VERDONCK, O.; PENNINCK, R. de; DE BOODT, M. The physical properties of different horticultural substrates. In: **International Symposium on Substrates in Horticulture other than Soils In Situ 150**. p. 155-160. 1983.

VIANA, S. B. A.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R. Germinação e formação de mudas de alface em diferentes níveis de salinidade de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, n. 2, p. 259-264, 2001.

VIEIRA, F. R.. **Potencial de uso de gramíneas como substrato pasteurizado no cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.** 115 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/90516>>.

CAPÍTULO 3: INFLUÊNCIA DO RESÍDUO DE COGUMELO NO CRESCIMENTO E NAS PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS DA ALFACE (*Lactuca Sativa* L.) PRODUZIDA A CAMPO

RESUMO

No Brasil a folhosa mais consumida é a alface, pela sua importância nacional a busca por melhores produções e, com menos gastos, são sempre bem-vinda, como o uso de resíduos agrícolas, que vem sendo empregado nos campos. O resíduo da produção de cogumelos já vem sendo estudado e mostrando que tanto no basidiocarpo quanto no micélio de diferentes cogumelos existem substâncias com potencial para o controle de patógenos por ativação de mecanismos naturais de defesa na planta. A partir disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção e alterações bioquímicas nas alfaces provindas de mudas produzidas com substrato a base de diferentes doses de resíduo de cogumelo. O cultivo das alfaces ocorreu na Fazenda experimental de São Manuel, o delineamento utilizado foi de quatro tratamentos (substrato com 50% de resíduo de cogumelo; 30% de resíduo de cogumelo; 10% de resíduo de cogumelo e 100% de substrato comercial Carolina soil®) com seis repetições e dezesseis plantas por parcela. As mudas foram transplantadas com 28 dias após semeadura. Foi avaliado os parâmetros físicos agronômicos (diâmetro da planta, altura da planta, número de folhas, peso fresco de folhas, comprimento de raiz, peso fresco de raiz, peso seco da raiz e folhas) e bioquímicos (compostos fenólicos e atividade antioxidante enzimática e não enzimática). As alfaces produzidas em substrato com maior quantidade de resíduo de cogumelo apresentaram menores valores de peso fresco de folhas (182,28 g) que as plantas cultivadas em substrato comercial (255,03 g). Para a avaliação enzimática tanto para a enzima peroxidase quanto polifenoloxidase houve maior atividade das mesmas nas plantas produzidas com maior quantidade de resíduo de cogumelo, esse mesmo padrão se manteve para compostos fenólicos e atividade antioxidante. Concluindo que, para a produção de alface utilizando o resíduo de cogumelo como substrato, adequações devem ser feitas para não prejudicar a produção em campo. O uso de resíduo de cogumelo ativa a indução de produção de enzimas protetoras e metabólitos secundários na planta, com um potencial indutor de resistência.

Palavras-chave: Horticultura. Metabólitos secundários. Resistência. Resíduo de cogumelo.

ABSTRACT

In Brazil the most consumed hardwood is lettuce, because of its national importance the search for better productions and, with less expenses, are always welcome, such as the use of agricultural waste, that is being used in the fields. The residue of the mushroom production has already been studied and shows that both in the basidiocarp and in the mycelium of different mushrooms there are substances with potential for the control of pathogens by activation of natural defense mechanisms in the plant. From this, the present work had as objective to evaluate the chemical production and changes in the lettuce from seedlings produced with substrate based on different doses of mushroom residue. The lettuce cultivation was carried out at the São Manuel experimental farm, with four treatments (substrate with 50% of mushroom residue, 30% of mushroom residue, 10% of mushroom residue and 100% of commercial substrate Carolina soil®) with six replicates and sixteen plants per plot. The seedlings were transplanted 28 days after sowing. Agronomic physical parameters (plant diameter, plant height, leaf number, fresh leaf weight, root length, fresh root weight, root dry weight and leaves) and biochemical parameters (phenolic compounds and enzymatic antioxidant activity and not enzymatic). The lettuces produced in substrate with higher amount of mushroom residue had lower values of physical parameters evaluated (182.28 g) than plants grown in commercial substrate (255.03 g). For the enzymatic evaluation for both the peroxidase enzyme and polyphenoloxidase, there was higher activity of the same in the plants produced with higher amount of mushroom residue, this same pattern was maintained for phenolic compounds and antioxidant activity. Concluding that, for the production of lettuce using the mushroom residue as a substrate, adjustments should be made to avoid harming the field production. The use of mushroom residue activates the induction of the production of protective enzymes and secondary metabolites in the plant, with a potential inducer of resistance.

Keywords: Secondary metabolites. Resistance. Pleurotus. Spent mushroom compost. Horticulture.

3.1 INTRODUÇÃO

No Brasil a folhosa mais consumida é a alface, esta entre tanto, ocupa o terceiro lugar entre as hortaliças em volume de produção, a melancia e o tomate estão em primeiro e segundo lugar respectivamente. O mercado da alface movimenta em média R\$ 8 bilhões ao ano apenas no varejo, com uma produção de 1,5 milhões de toneladas/ano (ABCSEM, 2012). Pela sua importância nacional a busca por melhores produções com menos gasto são sempre bem-vinda pelos produtores, e um dos papéis da pesquisa é validar novos métodos e verificar se são rentáveis.

O uso de resíduos agrícolas vem sendo empregado nos campos, buscando produzir com menor custo, o resíduo da produção de cogumelos é um potencial no quesito introdução de matéria orgânica ao solo, favorecendo a química, física e biorremediação de solos, vem sendo usado na produção de diversas hortaliças: folhosas, frutos, flores, usado na alimentação de animais e no controle de doenças, pelo seu poder indutor de resistência em plantas e animais (RINKER, 2002).

Muitos autores já vêm estudando e mostrando que tanto no basidiocarpo quanto no micélio de diferentes cogumelos existem substâncias com potencial para o controle de patógenos por ativação de mecanismos naturais de defesa (SILVA et al., 2007; DI PIERO, 2003). Essas substâncias podem ser caracterizadas como elicitores de ativação de defesa na planta, podendo ser inúmeras substâncias desde lipídeos, proteínas, ácidos graxos entre outros, a planta ao perceber esses sinais ativa seus mecanismos de defesa através da biossíntese de fitoalexinas, acúmulo de proteína (SMITH, 1996).

A peroxidase e a polifenoloxidase são enzimas presentes nas plantas com importantes funções como: ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da elongação de células e outras (GASPAR et al., 1982; KAO, 2003); além de estar presente em outros mecanismos de defesa, na senescência (AGRIOS, 1997).

Além das enzimas, outra forma de defesa natural da planta é a partir da produção de compostos fenólicos, que podem estar envolvidos nos mecanismos bioquímicos e estruturais de resistência em plantas (NICHOLSON & HAMMERSCHMIDT, 1992; NICHOLSON, 1995).

A partir disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção e alterações bioquímicas nas alfaces providas de mudas produzidas com substrato a base de diferentes doses de composto exaurido de cogumelo.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas diferentes análises nas alfaces cultivadas a campo, providas de mudas produzidas em viveiro utilizando diferentes doses de substrato exaurido de cogumelo, referente ao estudo do capítulo anterior. As alfaces foram avaliadas quanto a sua produtividade, análise de metabólitos secundários e reações de atividades enzimáticas.

3.2.1 Produção de alface a campo

O experimento foi conduzido a campo na Fazenda Experimental São Manuel pertencente a Faculdade de Ciências Agronômicas (UNESP), campus de Botucatu/SP, localizada no município de São Manuel-SP, durante os meses de setembro e outubro de 2018. As coordenadas geográficas da área são: 22° 46' de latitude sul, 48° 34' de longitude oeste e altitude de 740m.

O solo da fazenda é caracterizado como um Latossolo Vermelho Distrófico Típico, que apresentou os seguintes resultados em análise química: pH(CaCl₂) = 5,7; Presina = 2 mg dm⁻³; matéria orgânica = 12 g dm⁻³; V% = 70; e os valores de H⁺Al; K; Ca; Mg; SB e CTC, expressos em mmolc dm⁻³, respectivamente de: 19; 2; 35; 7; 44 e 63.

O preparo do solo foi feito com aração, encanteirador mecânico e posterior transplante das mudas. Não foi realizada, em nenhum tratamento, a calagem do solo e todos os canteiros receberam 30 dias antes do transplante, 1 Kg de torta de mamona, conforme recomendado para agricultura orgânica, um adubo rico em nitrogênio. A irrigação foi realizada por aspersores, duas vezes ao dia se não houvesse chuva.

As mudas das hortaliças foram produzidas em casa de vegetação coberta com plástico e laterais fechadas com tela de sombrite. A semeadura foi feita em bandejas

de plástico de 200 células conforme tratamentos. Foi utilizado alface crespa cultivar Vera, transplantadas em setembro de 2018, no espaçamento de 0,25 entre plantas em parcelas de um metro. Foram consideradas para as avaliações as quatro plantas centrais.

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, com quatro tratamentos (doses de composto exaurido utilizado na produção das mudas, referente ao capítulo anterior) e seis repetições, com dezesseis plantas por parcela.

A colheita da alface foi realizada aos 40 dias de transplântio (Figura 1). As plantas foram cortadas logo abaixo das folhas basais, bem rentes ao solo. Para a determinação da massa fresca total da alface, as raízes foram retiradas com auxílio de uma cavadeira e pá pequena. As plantas foram medidas em altura e diâmetro, retirada todas as folhas até 3 cm, lavadas, deixadas para escorrer e pesadas em balança de precisão. Para as raízes foram realizadas medições de comprimento de raiz e peso fresco após lavagem e secagem a temperatura ambiente. Após a primeira avaliação de massa fresca da parte aérea e raiz as amostras foram levadas para estufas de secagem com ar forçado a temperatura de 60°C, até atingirem peso constante, onde foram disposta aleatoriamente e mudadas de lugar diariamente para se obter padronização dos resultados.

Figura 1- Alfaces em campo com 38 dias de plantio



3.2.2 Análise de enzimas e metabólitos secundários nas folhas de alface

Foram colhidas três alfaces de cada tratamento, separadas as folhas medianas, livres de injúrias, lavadas com água destilada e deixadas secarem em temperatura ambiente, as folhas foram maceradas com o auxílio de um cadinho com nitrogênio líquido, após maceradas foram armazenadas em *eppendorf* cada tratamento separado e posteriormente mantidos em freezer até o dia da análise.

Todas as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Química e Bioquímica vegetal- LOBV no Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-UNESP *campus* de Botucatu- SP.

Para atividade específica da Peroxidase (EC 1.11.1.7) e Polifenoloxidase (EC 1.10.3.1) foi separado 500mg de amostra fresca, homogeneizadas em 5 ml de tampão fosfato de potássio pH 6,7 a 0,2M, e centrifugada a 10.000 rpm por 5-10 minutos em centrífuga refrigerada a 5 °C. O sobrenadante foi utilizado para

determinar a enzima peroxidase (POD) de acordo com Lima (1994) e a enzima polifenoloxidase (PPO) adaptado de Kar e Mishra (1976). Para a medição da atividade específica das enzimas, foi realizado a medição do teor de proteína solúvel (BRADFORD, 1976). A atividade específica da peroxidase POD foi expressa em μmol de H_2O_2 decomposto. minuto^{-1} mg de proteína. A Atividade específica da PPO foi expressa em μmol catecol transformado. min^{-1} massa frsca de proteína.

O conteúdo de compostos fenólicos nos extratos foi determinado por espectrofotometria utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu* (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em tubos de ensaio adicionou-se 0,5 mL de água deionizada, seguido de 0,5 ml de sobrenadante da amostra e mais 2,5 ml de carbonato de sódio a 20% (no branco utilizou-se acetona no lugar da amostra). Posteriormente, adicionaram-se 0,5 mL do reativo *Folin-Ciocalteu* puro, agitando com vigor para homogeneização da mistura. A mistura foi mantida em repouso ao abrigo da luz por 1 hora. Após esse tempo, mediu-se a absorbância no comprimento de onda 725 nm em espectrofotômetro.

A quantificação dos fenólicos foi feita pelo método adaptado de Singleton, Orthofer e Lamuela-raventó (1999), pela interpolação das absorbâncias utilizando uma curva padrão de ácido gálico construída previamente e os valores expressos em mg de equivalente ácido gálico por 100 g de peso fresco (mg GAE/100 g).

Para o conteúdo de flavonoides utilizou-se do método de Awad, De Janger e Van Westing (2000). Usou-se 4 mL da amostra com 1mL de cloreto de alumínio, para o branco utilizou 4mL de metanol acidificado (extrator) e 1mL de cloreto de alumínio. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 425 nm em espectrofotômetro. Para o cálculo foi realizado em cima de uma curva padrão de quercetina.

A capacidade sequestradora do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes foi determinada segundo o método adaptado por Rossetto, Vianello, Rocha e Lima (2009). Adicionou-se em um tubo de ensaio 500 μL do sobrenadante, 3 mL de etanol P.A. e 300 μL de uma solução contendo radicais DPPH (para o branco substitui o sobrenadante pelo extrator). Após agitação, a mistura foi colocada no escuro durante uma hora. Após esse período, determinou-se as absorbâncias a 517nm em espectrofotômetro. O efeito bloqueador do radical DPPH foi avaliado através da seguinte equação:

$$\% \text{ DPPH reduzido} = \frac{\text{Abs Branco} - \text{Abs Amostra}}{\text{Abs branco}} \times 100$$

Para o cálculo foi realizado em cima de uma curva padrão de Trolox, expresso em $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ peso fresco.

3.2.3 Análise estatística

Os valores das características avaliadas foram submetidos a análise de variância, utilizando-se o programa SISVAR (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3.1 Produção de alface a campo

O presente trabalho utilizou mudas de alface produzidas em substratos com diferentes proporções de resíduo do cultivo de cogumelo para produção a campo e resultados positivos foram encontrados.

As plantas adultas colhidas aos 40 dias após transplântio apresentaram todas tamanho e peso comercializável, não apresentaram diferença estatística significativa quanto ao diâmetro da planta e peso seco das folhas entre as proporções de substratos (Tabela 1). Obteve resultados decrescentes quanto a altura da planta, comprimento de raiz, peso fresco da raiz, peso seco da raiz e número de folhas, onde a menor proporção do resíduo misturado ao substrato comercial foi a mais favorável.

Para as raízes o comprimento não apresentou diferença estatística significativa entre os diferentes tratamentos (Tabela 1), entretanto, para o peso fresco e seco de raiz o uso do resíduo de cogumelo foi inversamente proporcional, quanto menor a dose maior o peso de raiz.

Assim, como os resultados do capítulo anterior, as doses elevadas de resíduo de cogumelo desfavoreceu a produção de mudas em bandeja. Essas mesmas mudas foram levadas a campo ao mesmo tempo, sendo uma maior que a outra, produziram bem, porém, apresentaram alguns resultados de parâmetros físicos agrônômicos de produtividade inferiores com relação às mudas produzidas em substrato comercial,

provavelmente decorrente ao fato de ser transplantadas mudas no campo com grande diferença de desenvolvimento.

Tabela 1- Características físicas de produção a campo de plantas de alface, cultivadas anteriormente em bandeja com diferentes proporções de resíduo de cogumelo

Substrato	Parâmetros físicos							
	NF	DI	ALT	CR	PFF	PFR	PSF	PSR
	Unid.		cm		g		g	
50% SC+50% SE	19,2 c	26,1 a	20,6 b	12,4 a	182,2 b	9,0 b	9,1 a	1,0 b
70% SC+30% SE	22,2 bc	25,9 a	22,3 ab	12,6 a	215,2 ab	14,4 a	9,4 a	1,5 ab
90% SC+10% SE	26,7 ab	26,8 a	23,6 a	12,1 a	262,2 a	17,8 a	11,7 a	1,9 a
100% SC	27,2 a	25,2 a	24,0 a	12,4 a	255,0 a	16,7 a	11,4 a	1,8 a
CV %	11,7	7,55	6,49	11,87	15,87	20,25	15,02	24,6

SE- substrato exaurido de cogumelo e SC- substrato comercial Carolina soil®, proporções em volume (v:v). Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si a nível de significância de 5% teste de Tukey. NF- número de folhas, DI- diâmetro da planta, ALT- Altura da planta, CR- comprimento de raiz, PFF- peso fresco de folha, PFR- peso fresco de raiz, PSF- peso seco de folha, PSR- peso seco de raiz.

Lopes et al., 2005 utilizando lodo de esgoto como adubo para alface encontrou valores de peso fresco de folhas entre 3,4 e 3,5 g e para peso seco de folhas 0,27 e 0,28, valores inferiores aos encontrados neste trabalho.

Contudo o maior valor de massa fresca das folhas foi de 262,21 g, inferior à massa fresca de alface observada em outros trabalhos desenvolvidos na região de Seropédica-RJ (OLIVEIRA et al., 2006) e São Roque-SP (BRANCO et al., 2010), com valores para massa fresca de 348 g planta⁻¹ e 696,26 g planta⁻¹, respectivamente, que são comercializadas como unidade.

Lopes et al., 2015, utilizando resíduo de composto do cogumelo *A. subrufescens* obteve resultados desfavoráveis para a produção de mudas, porém, obteve resultado inverso em campo, com maior produção de tomate quanto maior foi a dose utilizada do resíduo nas mudas, o autor considerou que quanto maior a quantidade de matéria orgânica disponível no início do crescimento da planta mais favorável foi para a produção dos frutos de tomate, mesmo sem uso de qualquer adubação sintética. Resultado diferente foi encontrado neste trabalho, onde as doses de composto não beneficiaram o crescimento das plantas de alface, tanto em estágio

de muda quanto no momento da colheita. A produção em campo não atingiu rendimento baixo comercialmente falando, é observada uma diferença estatística entre os tratamentos, mas todos obtiveram resultado comercial.

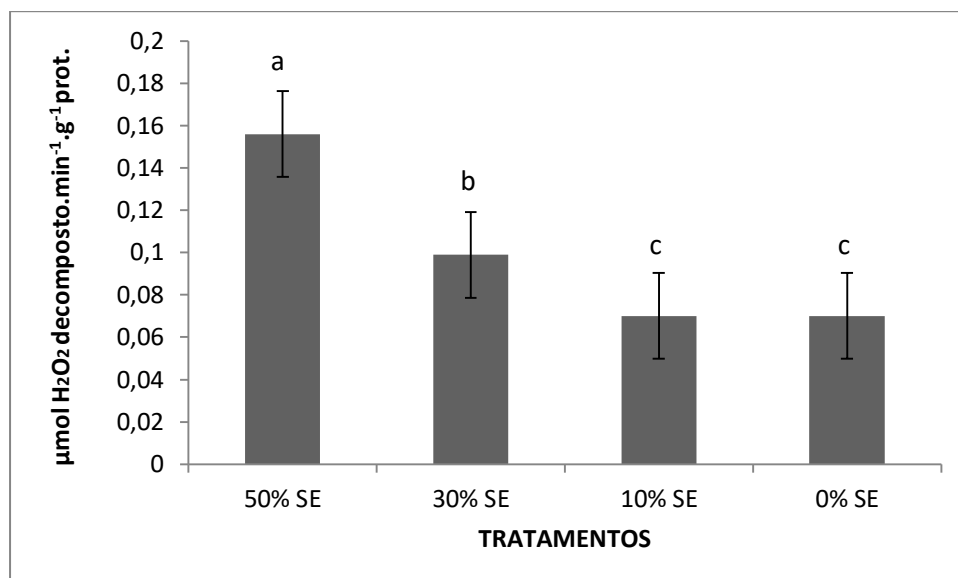
Os tratamentos com resultados menores foram para a maior dose de composto exaurido utilizado na produção das mudas, o qual apresentou em avaliação anterior mudas menores, fato que deve estar relacionado a resposta a campo, onde mudas menores se desenvolveram ao mesmo tempo ao lado de mudas maiores e por isso apresentaram baixa resposta a campo. Não é uma regra mudas menores se manterem menor a campo, mas essa variação pode estar relacionada a diversos fatores, espécie, clima, solo entre outros.

3.3.2 Análise de enzimas e metabólitos secundários em folhas de alface

Para análise da atividade da peroxidase houve diferença estatística entre os tratamentos, as mudas produzidas com maior dose de resíduo foram as que apresentaram maiores resultados, com maior produção de peroxidase em suas folhas quando adultas (Gráfico- 1).

A peroxidase é uma enzima que está relacionada com processo de lignificação de células vegetais e polimerização dos compostos fenólicos junto à lignina, podendo esta influenciar na indução de resistência em plantas, com bloqueios físicos ou através de liberação de compostos tóxicos aos patógenos encontrados no ambiente (GASPAR et al., 1982).

Gráfico 1- Atividade específica ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ decomposto. $\text{min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ prot.) da enzima peroxidase em folhas de alface (*Lactuca sativa*) tratadas em estágio de muda com diferentes doses de resíduo de cogumelo como substrato



Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média. * SE- substrato exaurido de cogumelo.

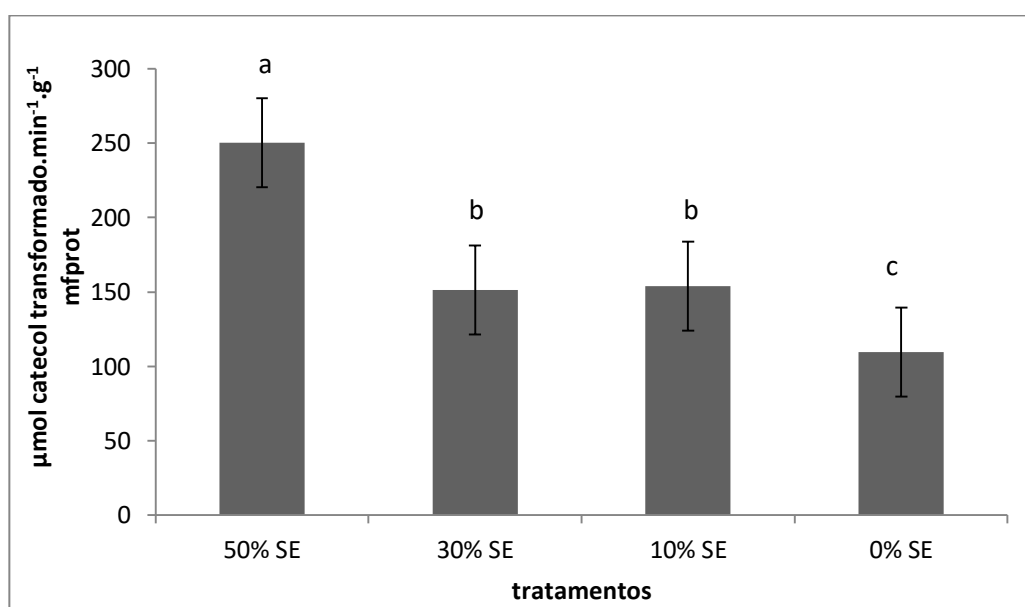
Tem sido constatada em outros trabalhos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; AKULA; RAVISHANKAR, 2011) que a ocorrência de algum estresse a planta seja ele por meio de adubação, aplicação de compostos naturais ou não, controle de fatores ambientais como estresse hídrico entre outros, a atividade da enzima peroxidase é induzida.

Para o controle de alguns patógenos autores vêm testando extratos de diferentes cogumelos comestíveis para verificar a indução de resistência na planta; Di Piero e Pascholati (2004) verificaram elevação na síntese de peroxidase e quitinase, sugerindo que o extrato pode ter atuado sobre o hospedeiro e contribuindo para sua defesa contra patógenos. No presente trabalho, foi verificado uma indução da enzima peroxidase ao utilizar o resíduo de cogumelo, sugerindo alguma indução de defesa na planta.

As respostas da enzima polifenoloxidase foram semelhantes ao da peroxidase, os valores mais altos foram encontrados para as plantas cultivadas em maior concentração de resíduo de cogumelo (Gráfico- 2). Tal alteração no substrato

possivelmente proporcionou um estresse na planta, aumentando a atividade enzimática, que está relacionada a proteção vegetal contra danos nos tecidos, mas também, ao processo oxidativo de compostos orgânicos, causador de uma coloração amarronzada indesejada pelo produtor e consumidor (ZHANG et al., 2005).

Gráfico 2- Atividade específica ($\mu\text{mol catecol transformado} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ mfprot}$) da enzima polifenoloxidase em folhas de alface (*Lactuca sativa*) tratadas em estágio de muda com diferentes doses de resíduo de cogumelo como substrato



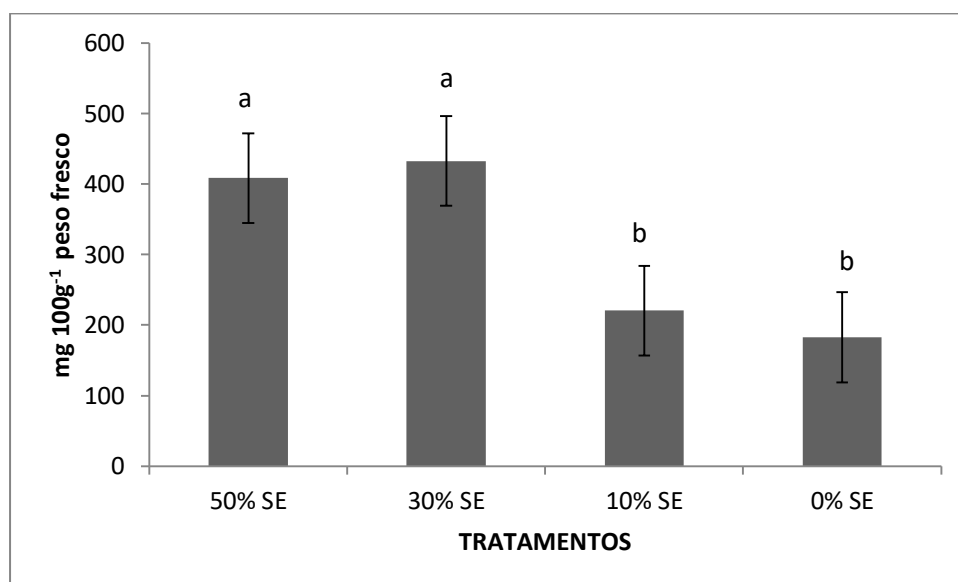
Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média. * SE- substrato exaurido de cogumelo.

Galati, 2015 testou o uso de silício em alface minimamente processada e verificou o efeito da adubação no pós-colheita, onde encontrou maior atividade da enzima polifenoloxidase e peroxidase, possivelmente causado pelo estresse do manuseio necessário para o preparo sanitário e para embalar a alface minimamente processada; outro resultado observado pela autora são as maiores atividades enzimáticas em tratamentos com maiores doses de silício, onde explica que as alterações feitas no campo alteraram o produto final. Como observado neste trabalho, o uso de substrato com resíduo de cogumelo na produção das mudas de

alface possivelmente causaram alguma indução na planta alterando sua atividade enzimática.

Avaliando a quantidade de fenóis totais nas alfaces foi observado que houve também um aumento da produção desses metabólitos secundários pelas plantas que receberam maior quantidade de resíduo de cogumelo como substrato na sua fase de muda (Gráfico- 3).

Gráfico- 3 Compostos fenólicos totais presentes nas folhas de alface (*Lactuca sativa*) tratadas em estágio de muda com diferentes doses de resíduo de cogumelo como substrato



Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média. * SE- substrato exaurido de cogumelo.

Melo et al. (2006) analisaram a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos de 14 hortaliças adquiridas em São Paulo, para as amostras de alface crespa e lisa os teores de compostos fenólicos foram de 22,6 e 13,85 mg/100 g, respectivamente, valores muito inferiores aos encontrados neste trabalho.

Sousa (2017) encontrou para alface crespa, americana e roxa diferentes quantidades de compostos fenólicos em suas folhas, comparando os sistemas de cultivo convencional e orgânico, onde a maior quantidade foi encontrada para plantas cultivadas em sistema orgânico com 1219,75, 229,46 e 1282,69 (mg/100g amostra) respectivamente, para o sistema convencional obteve valores de 275,25,

333,68 e 808,83 (mg/100g amostra), respectivamente. Os valores encontrados no presente trabalho são superiores aos apresentados por Sousa, 2017 para alface crespa em cultivo convencional, mas inferiores para a alface crespa produzida em sistema orgânico.

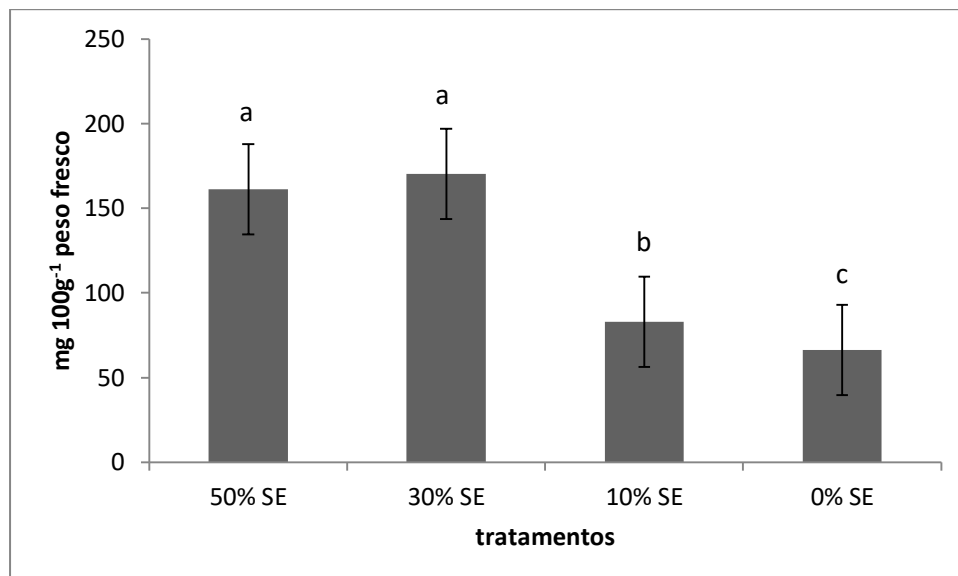
O não uso de produtos fitossanitários no cultivo orgânico é relatado em literatura como um dos fatores que induzem as plantas a ativarem seus mecanismos naturais de defesa contra-ataques de insetos e microorganismos, ou retardam a sua infestação, esses mecanismos estão relacionados a produção de metabólitos secundários nas plantas (COPETTI, 2010)

Os fatores ambientais também são um dos responsáveis nas modificações de compostos fenólicos em plantas, segundo Llorach et al. (2008) e Tiveron (2010), dentre eles estão a sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, adição de nutrientes, poluição atmosférica, danos mecânicos, ataques de patógenos, bem como as próprias condições agronômicas e ambientes.

Os flavonoides são uma classe dos compostos fenólicos presente na maioria dos vegetais, neste trabalho observou que a quantidade de flavonoides encontrada nas folhas de alface seguiu o padrão dos resultados de fenóis totais, onde as mudas cultivadas em maiores doses de resíduo de cogumelo produziram maior quantidade desse metabólito secundário (Gráfico-4).

Nos resultados de Sousa (2017), as alfaces crespas cultivadas em sistema orgânico apresentaram valores mais elevados (718,21 mg/100g) que os encontrados neste trabalho (161,31 mg/100g), mas quando comparado com os valores das alfaces crespas produzidas em sistema convencional (3,97 mg/100g), os resultados do presente trabalho foram superiores.

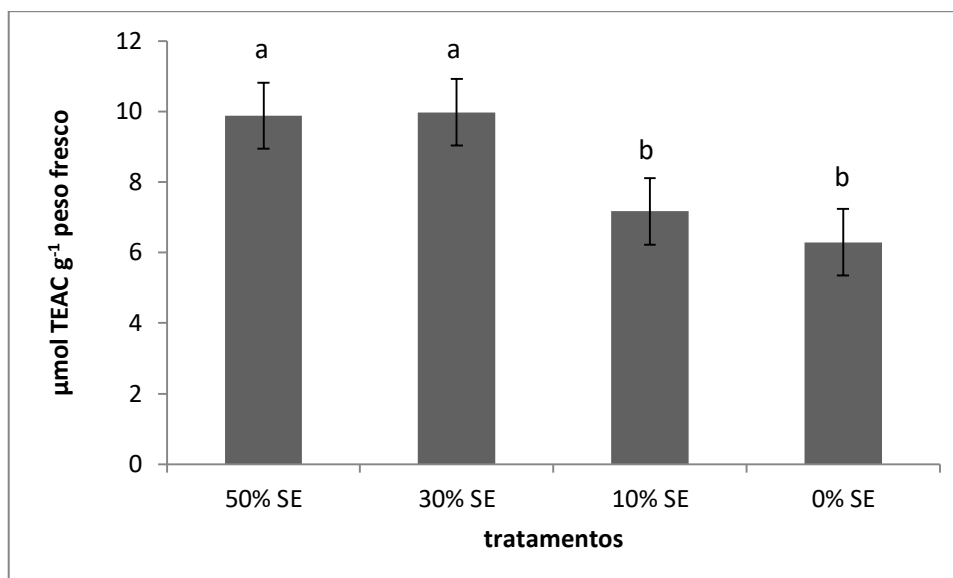
Gráfico 4- Flavonoides totais presentes nas folhas de alface (*Lactuca sativa*) tratadas em estágio de muda com diferentes doses de resíduo de cogumelo como substrato



Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média. * SE- substrato exaurido de cogumelo.

Para análise de antioxidante da alface, foi utilizado o método de DPPH, que avalia a capacidade de sequestrar o radical livre. Os resultados foram mais positivos para as plantas produzidas em maior quantidade de resíduo de cogumelo, com uma capacidade média de 72% de sequestro de radicais livres, as plantas produzidas em substrato comercial foram as que menos apresentaram capacidade antioxidante, com uma média 47% de sequestro do radical. Os resultados de atividade antioxidante podem estar relacionados a produção de alguns compostos fenólicos, mantendo o mesmo padrão de resultado entre os diferentes testes.

Gráfico 5- Atividade antioxidante pelo método DPPH ($\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ peso fresco) presente nas folhas de alface (*Lactuca sativa*) tratadas em estágio de muda com diferentes doses de resíduo de cogumelo como substrato



Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

* SE- substrato exaurido de cogumelo.

**TEAC: capacidade antioxidante equivale ao Trolox

Os valores obtidos de atividade antioxidante por Sousa, 2017, foram de 1055,86 ($\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$) para alface crespa em cultivo convencional e para o cultivo orgânico a alface apresentou mais de 2000,0 ($\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$), valores superiores ao encontrado neste trabalho, onde as maiores atividade antioxidante foram encontradas no uso 30% de resíduo de cogumelo, uma média de 998,89 ($\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$).

Resultados semelhantes foram encontrados quando se utilizou borra de café em diferentes doses para adubar alface, as doses mais elevadas de borra de café foram as que proporcionaram maior atividade antioxidante na planta (FERREIRA, 2011). A atividade antioxidante está relacionada aos compostos fenólicos produzidos pelas plantas, por isso, como a borra de café o resíduo de cogumelo utilizado nas plantas pode ter causado algum estresse, originando uma maior produção de compostos com atividade antioxidante.

3.4 CONCLUSÃO

Concluindo que o uso de resíduo de cogumelo ativa a indução de produção de enzimas protetoras e metabólitos secundários na planta, com um potencial indutor de resistência.

Recomenda-se que para a produção de alface utilizando o resíduo de cogumelo como substrato, adequações devem ser feitas para não prejudicar a produção em campo.

REFERÊNCIAS

ABCSEM. Projeto para o levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil, 2012. Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM). Acessado em: dezembro de 2018 [http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/O_mercado_de_folhosas_Numeros_e_Tendencias - Steven.pdf](http://www.abcsem.com.br/upload/arquivos/O_mercado_de_folhosas_Numeros_e_Tendencias_-_Steven.pdf)

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.

AKULA, Ramakrishna; RAVISHANKAR, Gokare Aswathanarayana. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.

AWAD, Mohamed A.; DE JAGER, Anton; VAN WESTING, Lucie M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. **Scientia Horticulturae**, v. 83, n. 3, p. 249-263, 2000.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analitical Biochemistry**, v. 72, p.248-254, 1976.

BRANCO, R. B. F. et al. Cultivo orgânico sequencial de hortaliças com dois sistemas de irrigação e duas coberturas de solo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 75-80, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362010000100014>.

BRAND-WILLIAMS, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 28, 25-30.

COPETTI, C. **Atividade antioxidante *in vitro* e compostos fenólicos em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch): influência da cultivar, sistema de**

cultivo e período de colheita. 2010. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

DI PIERO, R. M. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake) e *Agaricus blazei* (Cogumelo-do-sol) no controle de doenças em plantas de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos.** 2003. 157f. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

Di PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Indução de resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* e de *Agaricus blazei*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.2, p.243-250, 2004.

FERREIRA, A. D. **Influência da borra de café no crescimento e nas propriedades químicas e biológicas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.).** Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar Bragança- Portugal, 2011.

FERREIRA, D.F. Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas. Lavras: UFV, 2000. 66p.

GALATI, V. C. et al. Aplicação de silício, em hidroponia, na conservação pós-colheita de alface americana ‘Lucy Brown’ minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 1932-1938, 2015.

GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. Peroxidases: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Genève: Université de Genève, 1982. 324p.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v.39, p.83-89, 2003.

KAR, Manoranjan; MISHRA, Dinabandhu. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

LIMA, G.P.P.; BRASIL, O.G.; OLIVEIRA, A.M. 1999. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**. 56. 29-48.

LLORACH, R.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GIL, M. I.; FERRERES, F. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1028–1038, 2008.

LOPES, José Carlos et al. Produção de alface com doses de lodo de esgoto. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 143-147, 2005.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

NICHOLSON, R. L. Events in resistance expression in maize and sorghum: Molecular and biochemical perspectives. **Summa Phytopathologica**. v.21, p.95-99, 1995.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**. v.30, p.369-389, 1992.

OLIVEIRA, N. G. et al. Plantio direto de alface adubada com “cama” de aviário sobre coberturas vivas de grama e amendoim forrageiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 112-117, 2006. [http:// dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000100023](http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000100023).

RINKER, Danny Lee. Handling and using “spent” mushroom substrate around the world. **Mushroom Biology and Mushroom Products**, UAEM, Cuernavaca, 2002.

ROSSETTO, M.R.M., VIANELLO, F., ROCHA, S.A. and LIMA, G.P.P. (2009) Antioxidant Substances and Pesticide in Parts of Beet Organic and Conventional Manure. **African Journal of Plant Science**, 3, 245-253.

SANTOS, MÁRCIA DÉBORA DOS; BLATT, CECÍLIA TERUMI TERADAIRA. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Brazilian Journal of Botany**, v. 21, n. 2, p. 135-140, 1998.

SILVA, R. F., PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 189-196, 2007.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOUSA, Paulo Victor de Lima. **Conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e minerais em hortaliças convencionais e orgânicas**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição. Teresina-PI, 2017.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidas no Brasil**. 2010. 102 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010.

ZHANG, Z.; PANG, X.; XUEWU, D.; JI, Z.; JIANG, Y. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. **Food Chemistry**, Kidlington, v.90, p.47–52, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a produção de cogumelo o uso de “Spawn” de qualidade e mais estudos sobre as variáveis que permeiam a produção da mesma, resulta em mais benefícios ao produtor, como maior produtividade e mais economia na inoculação. Além disso, o conhecimento sobre linhagens adequadas também podem influenciar muito uma produção. As informações geradas pela pesquisa devem suprir a necessidade no campo, ainda que de forma falha, é através da pesquisa que alguns problemas são solucionados, o estudo e uso adequado da tecnologia é o que potencializa as produções, devemos buscar de forma racional e inteligente a energia natural disponível a nossa volta e fazer chegar a quem precisa os resultados produzidos.

Para o uso do composto exaurido de cogumelos, ainda mais testes devem ser feitos para melhor adequá-lo como substrato para hortaliças, mas através de dados apresentados pode-se afirmar que há um grande potencial nesse sub-produto, que deve ser disfrutado de diferentes formas, afim de agregar mais matéria orgânica ao solo, substituir insumos externos e conseguir diminuir o uso de agrotóxicos.

A fim de potencializar as plantas, em sua estrutura celular, o estresse causado pelas hifas presentes no composto podem ajuda-la a combater insetos e outros microrganismos causadores de doença, ainda mais estudos devem ser realizados para tais afirmações, mas muito já diz os resultados deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. John Wiley & Sons, New York, USA. 1996. 869p.
- ATTHASANPUNNA, P. e CHANG, S. T. **The magic of mushroom**. Paris: Unesco Courier, v.6, p.16-18, 1994.
- AZEVEDO, R.S., ÁVILA, C. L. S., SOUZA DIAS, E., BERTECHINI, A. G., & FREITAS SCHWAN, R. Utilização do composto exaurido de *Pleurotus sajor-caju* em rações de frangos de corte e seus efeitos no desempenho dessas aves. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 31, n. 2, 2009.
- BUSWELL, J.A. Potential of spent substrate for bioremediation purposes. **Compost Science and Utilization**, 2 v., 31-36 p. 1994.
- CASTELO-GUTIÉRREZ, A. A., GARCÍA-MENDÍVIL, H. A., CASTRO-ESPINOZA, L., LARES-VILLA, F., ARELLANO-GIL, M., FIGUEROA-LÓPEZ, P., & GUTIÉRREZ-CORONADO, M. A. Residual mushroom compost as soil conditioner and bio-fertilizer in tomato production. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, v. 22, n. 2, 83-93. 2016.
- CHANG S. T. e MILES P. G. A new look at cultivated mushrooms. **Bioscience**, Washington, v. 3, p. 358-362, 1984.
- CHANG S. T. e MILES P. G. *Mushrooms : cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2nd ed. 2004.
- EIRA, A. F. e MINHONI, M. T. A. **Manual Teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. Ed. Ver. E ampl.- Botucatu: FEPAF; UNESP, 1997. 20-115p.
- EL MODAFAR, C.; ELGADDA, M.; EL BOUTACHFAITI, R.; ABOURAICHA, E.; ZEHHAR, N.; PETIT, E.L.; ALAOUI-TALIBI, A.; COURTOIS, B.; COURTOIS, J. Induction of natural defense accompanied by salicylic-dependant systemic acquired resistance in tomato seedlings in response to bioelicitors isolated from green algae. **Scientia Horticulturae**, v.138, p. 55-63, 2012.
- FERREIRA, J. E. F. **Produção de cogumelos**. São Paulo: Agropecuária, 1998. 136p.
- FONTENELLE, A.D.B.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HAKAKA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 30, p. 1492-1500, 2011.
- GERRITS, J.P.G. Compost for mushroom production and its subsequent use for soil improvement. In: *Compost: Production, Quality and Use*. New York: **Elsevier Applied Science**, 1997, p. 431-439.

GUGLIOTTA, A.M; CAPELARI, M. Taxonomia de Basidiomicetos. In: Bononi, V. L. R.; Grandi, R.A.P. (Eds.). **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. Instituto de Botânica, São Paulo, SP. 1998, p. 68-105.

HENZ, G. P., E SUINAGA, F. A. **Tipos de alface cultivados no Brasil**. Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E) 2009.

ISHIKAWA, N. K., KASUYA, M. C. M., & VANETTI, M. C. D. Antibacterial activity of *Lentinula edodes* grown in liquid medium. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 32, n. 3, p. 206-210, 2001.

KIIRIKA, L.M.; STAHL, F.; WYDRA, K. Phenotypic and molecular characterization of resistance induction by single and combined application of chitosan and silicon in tomato against *Ralstonia*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 81, p. 1-12, 2013.

MACHADO, A. M. B., DIAS, E. S., SANTOS, E. C., & FREITAS, R. T. F. D. O composto exaurido do cogumelo *Agaricus blazei* na dieta de frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia** vol.36, n.4, suppl., pp.1113-1118. 2007.

MIZUNO, M., MINATO, K. I., ITO, H., KAWADE, M., TERA, H., & TSUCHIDA, H. Anti-tumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* mill. *IUBMB Life*, v. 47, n. 4, p. 707-714, 1999.

MODA, E. M. **Aumento da vida útil de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* in natura com aplicação de radiação gama**. 105 f. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

NETO, N.J.G. et al. Bacterial counts and the occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) from different cropping systems in Brazil. **Food Control**, v.28, p.47-51, 2012.

PACCOLA-MEIRELLES, L.D. Genética e melhoramento de cogumelos comestíveis. In: MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C.; NASS, L.L.; VELOIS, A.C.C. (Orgs.). Recursos genéticos & melhoramento: microrganismos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v.1, p.357-392. 2002.

PULIDO, O.M.M. **Estúdios em Agaricales Colombianos - los hongos de Colombia IX**. Bogotá, Univ. Nac. de Colombia, 143p. 1983.

PUTZKE, J. Lista dos fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil. **Caderno de Pesquisa**. Sér. Bot./Universidade de Santa Cruz do Sul, v. 6, n. 2, p. 186, 1994.

ROMEIRO, R.S.; LANNA FILHO, R.; MACAGNAN, D.; GARCIA, F.A.O.; HARLLEN S.A.; SILVA, H.S.A. Evidence that the biocontrol agent *Bacillus cereus* synthesizes protein that can elicit increased resistance of tomato leaves to *Corynespora cassiicola*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 11-15, 2010.

ROYSE, D. J.; BAARS, J. e QI TAN. Current overview of mushroom production in the world. In: ZIED, D. C. e PARDO-GIMÉNEZ, A. **Edible and medicinal mushroom-technology and applications**, 2016. p. 5-7.

ROYSE, Daniel J.; SÁNCHEZ, José E. Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países iberoamericanos. La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. **El Colegio de la Frontera Sur**. Tapachula, p. 17-25, 2017.

SÁNCHEZ, C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1321-1337, 2010.

SANTANA, C. T. C. de; SANTI, A.; DALLACORT, R.; SANTOS, M. L.; MENEZES, C. B. DE. Desempenho de cultivares de alface americana em resposta a diferentes doses de torta de filtro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 22-29, 2012.

SOUSA, T. P. de; SOUZA NETO, E. P.; SILVEIRA, L. R. de S.; SANTOS FILHO, E. F. DOS; MARACAJÁ, P. B. Produção de alface (*Lactuca sativa* L.), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 4, p. 168–172, 2014.

VARGAS, A. M. **Análise diagnóstica da cadeia produtiva de cogumelos do Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado Universidade de Brasília. Programa de Pesquisa e Pós-graduação em Agronegócio, Brasília, 2011. 130 f.

WILLIAMS, B. C.; McMULLAN, J. T.; McCAHEY, S. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. **Bioresource Technology**, v.79, p.227 -230. 2001.

ZINOVIEVA, S.V.; VASYUKOVA, N.I.; UDALOVA, Z.H.V.; GERASIMOVA, N.G.; OZERETSKOVSKAYA, O.L. Involvement of salicylic acid in induction of nematode resistance in plants. **Biology Bulletin**, v. 38, p. 453-458, 2011.