

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL**

BRUNA CALGAROTO

**SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE COGUMELOS
Lentinula edodes (Shiitake)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2019

BRUNA CALGAROTO

SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE COGUMELOS
Lentinula edodes (Shiitake)

Projeto referente ao Trabalho de Conclusão de Curso como requisito Parcial para a conclusão do Curso de Bacharelado em Engenharia Ambiental da UTFPR, Câmpus Francisco Beltrão.

Orientador: Prof. Dr. Hernan Vielmo

Co-Orientador: Prof^a. Dra. Claudia Eugênia Castro Bravo

FRANCISCO BELTRÃO
2019



TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC2

**Substratos para produção de cogumelos
Lentinula edodes (Shiitake)**

por

Bruna Calgaroto

Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado às 16:30 horas, do dia 28 de novembro de 2019, como requisito para aprovação da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão. A candidata foi arguida pela Banca Avaliadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Avaliadora considerou o trabalho aprovado.

Banca Avaliadora:

Hernan Vielmo

(Presidente da Banca)

Claudia Eugênia Castro Bravo

(Membro da Banca)

Michelle Milanez França

(Membro da Banca)

Denise Andréia Szymczak

(Professora Responsável pelo TCC)

Wagner de Aguiar

(Coordenador do Curso de Engenharia Ambiental)

"O Termo de Aprovação encontra-se assinado na Coordenação do Curso."

RESUMO

CALGAROTO, Bruna. **Substratos para Produção de Cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake)**. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Bacharelado em Engenharia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão 2019.

O cuidado com o cultivo dos cogumelos é um fator fundamental para ter bom rendimento no seu crescimento. Existem mais de 12 mil espécies de cogumelos no mundo, mas nem todos são para fins alimentícios, apenas duas mil são para esse fim. O cogumelo champignon é o mais produzido, e em seguida a espécie *Lentinus edodes* - Shiitake. A produção de Shiitake normalmente se dá por meio de toras de árvores. Essas toras possuem furos onde são inoculados as sementes. Outra maneira de produzir cogumelos é a partir de substratos orgânicos. Esses substratos podem ser variados, mas devem suprir os nutrientes exigidos pelo cogumelo. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o crescimento micelial de *Lentinus edodes* - Shiitake em diferentes substratos orgânicos (serragem de *Pinus*, borra de café, levedura residual de cervejaria e farelo de milho). Para verificar o efeito das variáveis testadas utilizou-se um delineamento experimental fatorial completo $2^{(4-0)}$, com quatro variáveis independentes em dois níveis de variação com quatro repetições no ponto central). De acordo com o planejamento experimental proposto e com base nos resultados experimentais, o ensaio experimental 10 apresentou a melhor condição para crescimento micelial de *Lentinus edodes* - Shiitake, sendo o substrato utilizado para seu crescimento constituído por 80% de serragem de *Pinus* e 40% de farelo de milho, isento de borra de café e levedura residual de cervejaria.

Palavras - chaves: Shiitake; toras; substratos orgânicos; crescimento.

ABSTRACT

CALGAROTO, Bruna. **Mushroom production substrates *Lentinula edodes* (Shiitake)**. Course Completion Paper (undergraduate) - Bachelor of Environmental Engineering. Federal Technological University of Paraná, Francisco Beltrão 2019.

Careful cultivation of mushrooms is a key factor for good growth in your growth. There are over 12,000 species of mushrooms in the world, but not all are for food purposes, only two are for this purpose. The champignon mushroom is the most produced, and followed and species *Lentinus edodes*) - Shiitake. Shiitake production usually takes place through tree logs. These logs have holes where they are inoculated as seeds. Another way to grow mushrooms is from organic substrates. These substrates can be varied, but must supply the nutrients required by the mushroom. Thus, the objective of this work was to verify the mycelial growth of *Lentinus edodes* - Shiitake in different organic substrates (pine sawdust, coffee coffee, brewery residual yeast and corn bran). To verify the effect of the variables tested, use a complete experimental design 2 (4-0), with four independent variables at two levels of variation with four repetitions at the center point). According to the proposed experimental design and based on the experimental results, experimental trial 10 shows the best condition for mycelial growth of *Lentinus edodes* - Shiitake, and the substrate used for its growth consists of 80% pine sawdust and 40% coffee-free corn bran and brewery residual yeast.

Keywords: Mushroom; logs; organic substrates; growth.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. JUSTIFICATIVA	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
4.1. CULTIVO EM TORAS.....	5
4.2.SUBSTRATOS VEGETAL OU SUBSTRATOS AGRÍCOLAS	5
4.3. SHIITAKE EM SACOS PLÁSTICOS.....	7
4.4.SERRAGEM.....	9
4.5. BORRA DE CAFÉ.....	10
4.6. LEVEDURA.....	11
4.7. MILHO.....	12
4.8. ESTERILIZAÇÃO	13
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
5.1. REATIVAÇÃO E MANUTENÇÃO DE <i>LENTINULA EDODES</i>	14
5.1.1. Matriz primária.....	14
5.1.2. Matriz secundária	15
5.2. SUBSTRATOS BASE E SUBSTRATOS COMPLEMENTARES.....	17
5.2.1. Formulação dos compostos.....	17
6. RESULTADOS	18
7. CONCLUSÃO.....	25
8. REFERENCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de cogumelos é uma atividade de necessita de boas técnicas de manejo. O cogumelo, na grande maioria, possui composição de 90% de água e 10% de matéria seca. O teor de proteína varia entre 27% e 48%, os carboidratos são inferiores a 60% e os lipídios 2-8% (CRISAN, 1978; RANZANI, 1998; MORAIS et al., 2000, apud SÁNCHEZ, 2004).

Sánchez (2004) e Silva e Jorge (2011) mostram que no geral, há cerca de 12.000 espécies de cogumelos, mas pelo menos 2.000 são comestíveis, dessas, 35 espécies são cultivadas de maneira comercial e 20 são em escala industrial. Destes, o *Agaricus bisporus* (champignon), é o mais cultivado seguido do *Lentinus edodes* (Shiitake), *Pleurotus spp* (cogumelo ostra), *Auricularia auricula* (cogumelo orelha de pau) e *Volvariella volvacea* (cogumelo palha).

Em crescente fase de aceitação e de grande expansão, destaca-se a espécie *Lentinula edodes* (Shiitake), possui esta nomenclatura devido a associação à árvore shii que se assemelha ao carvalho (*Castanopsis cuspidate Schottky*) e take, nome japonês que designa cogumelo, originário da Ásia (BAIA et al., 2017) que é a segunda espécie mais cultivada a nível mundial (SILVA, 2013) e o Brasil ainda está em fase crescente, quando comparado com países orientais.

A produção de cogumelos tem aumentado devido à implantação de processos biotecnológicos, o que leva maior produtividade a partir de diferentes substratos (Sánchez, 2004) como uma maneira alternativa devido aos custos e em particular, os substratos tratados termicamente, como os meios axênicos (QUEIROZ; MARINO; EIRA, 2004). Dentre, as formas de cultivo, destaca-se a produção em toras de madeira, há também outras formas de cultivo, como o cultivo sintético e em resíduos lignocelulósicos (EIRA; MEIRELLES; PACCOLAMEIRELLES, 2005), que leva a um equilíbrio ecológico a partir da utilização de resíduos agrícolas. Sendo consenso de vários autores que o uso de substrato se tornou um processo mais rápido para o cultivo e produção.

A escolha e o preparo do substrato para o cultivo devem estar atrelados à disponibilidade e custo de resíduos agroindustriais, bem como outros insumos e matérias primas necessárias para formar um substrato efetivo na produção. Enfatiza-se a produção em condições axênicas, que é quando o substrato é submetido à esterilização e com as técnicas de cultivo assépticas até a colonização

total do substrato pelo cogumelo, a gama de substratos são praticamente ilimitadas, bastando fornecer os nutrientes necessários em quantidade adequada (EIRA, 2000).

A produção de cogumelo tem como base o reaproveitamento de resíduos agroindustriais, visto que esses fungos secretam enzimas capazes de degradar compostos orgânicos gerando a obtenção de carbono, nitrogênio e outros elementos necessários para o seu crescimento (DONINI; BERNARDI; NASCIMENTO, 2006). A produção de cogumelos provenientes de substratos chega a mais de 90 %, ou seja, a produção de Shiitake em substratos é muito maior que a de outras variedades em substratos. (HILL, 2010).

De modo geral, o substrato serve como alimento para o micélio até o momento de formação do corpo de frutificação, o basídio (parte comestível) (PERGHER, 2016). O substrato utilizado deve fornecer condições de frutificação e seu método de cultivo afetará diretamente a quantidade de nutrientes (SILVA, 2013), onde esse substrato deve ser à base de celulose e nutrientes minerais ou madeira para se desenvolver, além de temperatura, umidade e luminosidades adequadas para seu pleno desenvolvimento (BAIA *et al.*, 2017).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o crescimento *in vitro* de *Lentinula edoddes* (Shiitake) em diferentes tipos de substratos esterilizados e não esterilizados.

2.2 Objetivos específicos

Produzir matriz primária de *Lentinula edoddes* (Shiitake);

Verificar o efeito da esterilização na produção de matriz secundária em substratos orgânicos.

Avaliar *in vitro* o crescimento vertical do micélio da cultura de *Lentinula edoddes* (Shiitake) em substratos esterilizados e não esterilizados;

Verificar o efeito individual e as interações da porcentagem de diferentes resíduos orgânicos na produção da matriz secundária de *Lentinula edoddes* (Shiitake);

3. JUSTIFICATIVA

A produção de cogumelo Shiitake em sacos é um método que resulta no mais rápido crescimento do fungo quando comparado com o método de produção em toras. Um método só é eficiente em relação ao cultivo quando pode aumentar o crescimento de fungos, a frutificação, a biodegradação de resíduos agrícolas e a eficiência da reciclagem de biomassa (NYOCHEMBENG; BEYL; PACUMBABA, 2008).

O método de substratos em sacos auxilia na disposição final de resíduos orgânicos, sendo aplicado nesse trabalho: a serragem, farelo de milho, borra de café e leveduras de cervejas.

Encontrar um substrato que forneça os nutrientes necessários para o crescimento do fungo e sejam tão eficientes no crescimento quanto os já existentes, sendo eles a base de serragem e milho.

Disponibilizar aos produtores de cogumelos outras alternativas de substratos para serem utilizados na sua produção.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 CULTIVO DE SHIITAKE EM TORAS

No Brasil, o cultivo do Shiitake, de maneira geral, se dá em toras de eucalipto, devido sua disponibilidade, menor custo e rápido crescimento; porém há outras espécies que podem ser utilizadas (PAULA, 2000), como o carvalho e nogueira, pois tem propriedades resistentes a intempéries e podem produzir o Shiitake com sucesso ou facilidade (HILL; SZYMANSKI; 2010). Ressalta-se que as árvores devem estar vivas e saudáveis, sem presença de contaminação no momento em que é feita sua poda (HILL, 2013).

Há fatores e características que determinam a produção em toras, dentre eles destacam-se: a linhagem do fungo, o tipo de madeira, o diâmetro das toras, o método, as condições climáticas, destacando a importância de conhecer as exigências de cada linhagem para um cultivo adequado e satisfatório (ANDRADE, 2007). Estar atendo as adequações de linhagem das sementes de *Shiitake* e suas diferentes regiões climáticas bem como a espécie de eucalipto dará maiores probabilidade de aumentar a sua produção (TEIXEIRA, 2000). Independente do modo de produção, ela pode ocorrer em ambientes variados, mas vale salientar que as condições climáticas devem ser favoráveis para que a mesma ocorra anualmente (SILVA *et al.*, 2010).

Após serem inoculadas e seladas, as toras precisam ser incubadas a fim de permitir que os micélios penetrem através do tronco, que acontecerá de 6 a 18 meses (HILL, 2010).

O crescimento do cogumelo Shiitake é o mais comum, porém a demora no seu crescimento é o que faz muitos produtores do fungo procurarem uma maneira mais rápida de extração do cogumelo comestível.

4.2 SUBSTRATO VEGETAL OU SUBPRODUTO AGRÍCOLA

Saber utilizar o substrato de cada região faz com que o processo se torne cada vez mais viável a fim de diminuir os custos; aumentando a valorização desses resíduos gerando um novo cultivo a partir desses. Aguiar *et al.* (2013) em sua produção utilizou resíduos orgânicos alternativos, o que também pode auxiliar na tentativa de solucionar ou minimizar problemas de poluição causados pela sua disposição exacerbada no meio ambiente.

Enfatiza-se que com esse processo aumenta-se a possibilidade da utilização de resíduos agroindustriais aumentando a produção dos cogumelos, ocasionando a reciclagem desses produtos, gerando benefícios ao meio ambiente, a partir desses resíduos, que são inúmeros, é possível aperfeiçoar o processo de produção e diminuição dos custos (GOMES-DA-COSTA; COIMBRA; SILVA,2008).

Mata e Savoie (2018) descrevem que o cultivo em saco plástico é vantajoso por possibilitar o uso de vários substratos, visto que dependendo da região ele é encontrado facilmente e com custo baixo, mas é necessário estar atento aos seus conteúdos, que devem ser rica celulose e lignina que devem ser imersos e fermentados para o cultivo.

O *Shiitake* tem por sua característica a utilização de lignina, celulose e hemicelulose que serve como fonte de carbono e nutrientes, a partir de vários resíduos agrícolas (ROSSI *et al.*, 2003).

Visto que o *Shiitake* é um fungo aeróbico e decompositor de madeira (PAULA, 2000) e faz parte do seu processo de produção a escolha correta da madeira a ser utilizada.

Pire, Wright e Alberto (2001) analisaram em seus estudos realizado na Argentina, onde utilizou oito tipos de madeiras locais de fácil acesso: "coihue" (*Nothofagus dombeyi*), "lenga" (*N. pumilio*), "ñire" (*N. antarctica*), "roble pellín" (*N. obliqua*), eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*), pinheiro (*Pinus ellioti*), "pinheiro-do-paraná" (*Araucaria angustifolia*) e salgueiro (*Salix babylonica*). Utilizou suas linhagens de *Shiitake*, a partir de blocos de 1 kg com a formulação de substrato: 80% de serragem, 10% de farelo de trigo, 10% de milho, 2% de calcário ajustado a 74% de umidade. Foram incubados a 25 ° C por um mês e, em seguida, submetidos a um choque frio a 5 ° C por 7-10 dias, a fim de promover a frutificação. Após, permaneceram em uma sala a 18 ± 3 C, cerca de 9 h / dia de iluminação, e regados diariamente. As maiores frutificações foram da maioria dos tipos de madeira estudados, com exceção de "pinheiro-do-paraná" e pinus.

4.3 SHIITAKE EM SACOS PLÁSTICOS

Oei (2006) descreve abaixo a produção em sacos plásticos, de forma esterilizada. Afirma que cultivo em saco plástico tem um rendimento maior e um tempo de produção menor quando comparado às toras de madeira; mas também mostra que o fator da esterilização está como um inconveniente do ponto de vista financeiro e de energia para tal produção.

O ciclo de cultivo de toras naturais demora em torno de seis anos e, em substratos demora de quatro a seis meses (RAMÍREZ-CARRILLO; LEAL-LARA, 2002).

As principais vantagens do cultivo em saco plástico é a utilização de diversos resíduos e o período da produção é diminuído, cerca de seis meses, já em toras de madeira esse cultivo gira em torno de quatro a seis anos (OEI, 2006).

Utiliza-se nessa preparação em saco plástico, duas formas de substratos:

- 1 Serragem, 3 a 4% de farelo de arroz, 1% de farinha de milho ou farelo de trigo e 1% de CaCO_3 ;
- 2 Serragem, 10 a 25% de resíduos de milho e 1 a 2% de CaCO_3 (OEI, 2006).

Essa serragem pode ser procedente das seguintes espécies de árvores: Bétula, Carvalho, árvore de *Shii*, Castanha e Cárpino; onde é utilizada sem fermentação prévia, mas nada impede que possam ser utilizadas outras árvores, mas é necessário atentar para os níveis de resina, que ocasionará maior tempo de fermentação. Após a escolha do material faz-se uma pilha de serragem mexendo-a em uma semana, depois uma vez por mês, durante seis meses (OEI, 2006).

Após esse tempo, quando a serragem estiver totalmente úmida acrescentam-se os demais itens desse substrato. Essa umidade deve estar em torno de 55-65%, estar atento a este nível que permanecendo desses parâmetros alcançará grandes rendimentos na produção, visto que grande umidade obstruiu a passagem de ar, que mesmo com um longo processo de colonização, não haverá produção. Estar atento à quantidade de água que se acumula no fundo do saco (OEI, 2006).

A umidade deve ser fator a ser analisado, já que serve para aumentar a umidade do ar de forma a evitar a desidratação do micélio. Essa umidade provém da irrigação, onde se irriga a terra com o objetivo de promover a absorção do micélio e

que interferirá diretamente no desenvolvimento da frutificação; essa quantidade de água adicionada ao substrato deve ser igual ao que é retirada pelos corpos de frutificação durante o processo de produção; essa água deve ser em torno de 90% já que o peso do cogumelo em água é dessa mesma proporção (PERGHER, 2016).

Para o enchimento deve-se acondicionar 1 kg por saco (de 12 x 30 cm) e colocar o aro junto com o tampão de algodão. A temperatura para os enchimentos dos sacos nesse processo gira entre 96-98° C, mas também há possibilidade de 121 °C. Esterilizar os sacos enchidos durante 1,5 hora a 121° C ou semisterilizar por 10 horas a 100 °C. É necessário manter espaço entre os caixotes e os sacos facilitando a circulação do vapor. Após a esterilização deve esfriar por um dia e a inoculação deve ser feita após esse tempo. Utiliza-se 10 g de semente para um saco de 1,2 kg. Para a inoculação da estirpe deve atentar para o nível de contaminação, que não pode ultrapassar 5%, onde estes devem ficar na horizontal uns ao lado dos outros (OEI, 2006). Estar atento às medidas profiláticas para evitar a contaminação e como consequência a perda parcial ou até mesmo, total da produção.

Para o micélio colonizar e amadurecer poderá levar em torno de 04 meses. É necessário fornecer luz nem que seja durante a fase final da colonização micelial, essa luz evitará problemas na fase de crescimento. Visto que a temperatura interna no saco poderá ser até 10 °C a mais quando comparado a temperatura ambiente; sendo a ideal externa de 25 °C (OEI, 2006).

A luz, nesse processo serve para formar o corpo de frutificação, que esta deve ser diretamente, seja nas toras de madeira ou nos sacos de substrato, ela pode ser fonte artificial ou natural (PERGHER, 2016).

Há 05 fases no processo de desenvolvimento micelial: 1) Colonização micelial; 2) Formação de revestimento micelial; 3) Formação de inchaço micelial; 4) Fase de pigmentação e 5) Fase de endurecimento do revestimento (OEI, 2006).

A flutuação de temperatura, umidade alta, remoção de CO₂ e choques físicos são fatores que estimulam ou retardam a frutificação. Cuidar também o tempo em que o saco será removido (OEI, 2006).

O crescimento do micélio começa logo após a inoculação em substrato previamente suplementado, essa fase a taxa metabólica está em alta e as enzimas são ativadas para quebrar os complexos subcomponentes do substrato (por exemplo, celulose) em moléculas mais simples que podem ser absorvidas pelos micélios como nutrientes para crescimento e propagação (CHEN, 2001).

Após a inoculação, cerca de duas a quatro semanas um espesso revestimento micelial se formará na superfície externa do bloco de substrato, com a forma de uma pelagem é branca (CHEN, 2001).

Nessa fase, após a pelagem branca, que começa a inchar e formar bolhas ou pipocas em torno do bloco de substrato, levando em consideração a temperatura, que em 25 °C alcançará maior formação (10 dias) e em 15 °C será reduzido. Após esse processo, antes da pigmentação, o saco plástico deve ser removido a fim de permitir o escurecimento, fator que é crucial. A indução da frutificação é feita em imersão em água, ela deve ser feita quando a semente atingir maturidade fisiológica e escurecimento e formação de casca (CHEN, 2001).

4.4 SERRAGEM

Para diversos setores industriais com utilização de madeira existem aproximadamente 74,8 milhões de hectares de árvores de espécies como eucalipto, pinus, acácias plantadas, essas árvores são extraídas e direcionadas para os seguintes segmentos industriais: papel e celulose, siderúrgicas, painéis de madeira, produtores independentes, outros. (IBÁ,2018)

As madeiras destinadas para as madeireiras e indústrias não são aproveitadas 100%, gerando grande quantidade de resíduos sólidos nos processos de costaneiras, maravalhas, serragem e recorte. (VIEIRA et al ,2006). No ano de 2016, foram gerados 14,1 milhões de toneladas de resíduos sólido orgânico proveniente de árvores produzidas pelo IBA. (IBÁ, 2017)

A utilização de eucalipto para o crescimento do cogumelo, sendo por toras ou substratos é bastante é bastante comum, autores como Paula, 2000; Teixeira, 2000; Neves e Graciolli, 2008, e Silva et al, 2010 utilizaram o eucalipto como umas das fontes de nutriente para o crescimento de cogumelos, sendo pelo valor econômico e por ser de mais fácil acesso.

No Brasil das arvores existentes 75,2% são de eucalipto e 20,6% são de pinus, aponta os dados de Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura (Pevs). A concentração está nas regiões Sul e Sudeste, que respondem, respectivamente, por 36,1% e 25,4% do valor da produção total, impulsionadas pelo setor de florestas plantadas.

Experimentos realizados por ASSI, L. et al. 2007, utilizando pó de eucalipto junto de batata-dextrose-ágar (BDA) não foram diferentes estatisticamente do crescimento micelial quando comparados ao experimento que utilizava pó de pinus e BDA, ambos em meio sólidos. Já em meio líquido - batata-dextrose (BD) - o experimento com pó de pinus inibiu o crescimento do micélio em até 10%.

Tabela 1: Caracterização física e química da madeira de *Pinus elliottii*.

Constituinte	Coníferas	Folhosas
Celulose	42 ± 2	45 ± 2
Hemicelulose	27 ± 2	30 ± 5
Lignina	28 ± 2	20 ± 4
Extrativos	5 ± 3	3 ± 2

Fonte: BALLONI, C. J. V. 2009

4.5 BORRA DE CAFÉ

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC) o Brasil teve o consumo de aproximadamente 21 milhões de sacas de café no ano de 2017, ou seja, 4,8 kg/ano por pessoa de café torrado/moído, tornando o Brasil o segundo país que mais consome café no mundo.

A cada duas toneladas de café produzidas são geradas aproximadamente 650 kg de borra de café (MURTHY et al. 2012). Resíduos sólidos quando descartados incorretamente podem agravar os impactos ambientais. Esses resíduos podem ser reaproveitados e agregarem valores para novos produtos. Sendo um deles a borra de café. (PANDEY, 2000; AJILA 2001).

A borra de café pode ser reaproveitada de diversas formas, sendo na compostagem, fertilização do solo, bio-adsorventes no tratamento de efluentes e produção de biodiesel (RODRIGUES et al. 2016). Outros usos alternativos para borra de café são ração animal, adubos e utilizados como combustíveis em queima em caldeira. (VEGRO e CARVALHO, 2006).

A borra de café sem tratamento foi um excelente composto no crescimento de cogumelos Shiitake, tendo a primeira frutificação em 56 dias, tendo eficiência biológica de 88,7 % após 100 dias de cultivo, sendo realizado três colheitas (FAN et al., 2005).

Tabela 2 - Propriedades da borra de café.

Componentes	Quantidade
Matéria Orgânica	90,46
C./N.	22./1.
Nitrogênio	2,3
Fósforo	0,15
Potássio	0,35
Cálcio	0,08
Magnésio	0,13
Alumínio	0,03
Ferro	0,01

Fonte: Mussato ET AL 2011

4.6 LEVEDURA

As leveduras possuem ampla utilização em diferentes setores da indústria, uma dessas aplicações é na produção de cerveja. São elas que dão aromas, sabores e texturas nas cervejas, sendo a agente biológico final na transformação do mosto em produto final. (BORTOLI et al., 2013).

As leveduras são micro-organismos eucariontes majoritariamente unicelulares que pertencem ao Reino Fungi (OLIVEIRA, 2011). Nas indústrias cervejeiras as leveduras que são mais aplicadas são: *Saccharomyces cerevisiae* (alta fermentação) e *Saccharomyces uvarum* (baixa fermentação) (EMBRAPA, 2010). A grande parte das leveduras possui a característica de metabolizar suficientemente os componentes do mosto, água e malte fervidos (OLIVEIRA, 2011). O mosto é filtrado, onde então é aplicado o lúpulo e fermento, produzindo cerveja de qualidade. (CARVALHO, 2006 apud OLIVEIRA, 2011).

Quando o processo fermentativo da cerveja chega ao fim, é necessário que o líquido fique em repouso baixas temperaturas, ocorrendo a precipitação da biomassa celular. A biomassa precipitada não pode ser utilizada em novos processos fermentativos. O resíduo gerado pelas leveduras é o segundo maior da indústria cervejeira, ficando atrás do resíduo de malte. Para cada 100 l de cerveja são gerados de 1,5 a 3 kg de resíduos sólidos de levedura (SERVULO 2014).

A levedura após ser descartada possui elevado valor nutritivo, pela presença de aminoácidos essenciais e vitaminas do complexo B. Tendo 52% de proteínas

totais e 12% de nitrogênio solúvel, carboidratos, lipídios e enzimas. (PINTO, 2013 apud SERVULO, 2014).

Tabela 3: Propriedades da Levedura

Componente	Quantidade em 100g
Água	69g
Proteína	8.4g
Carboidratos	18.1g
Fibra	8.1g
Cálcio	19mg
Ferro	3,25mg
Magnésio	40mg
Fosforo	336mg
Sódio	30mg
Zinco	9,97mg

Fonte: EPM - UNIFESP. 2019.

4.7 MILHO

Os sistemas agroindustriais da produção de milho geram diferentes tipos de resíduos orgânicos, que possuem grande quantidade de nutrientes, quando manipulados corretamente, que ainda podem ser reaproveitados por outros setores; quando os resíduos de milho são administrados de forma errada podem causar grandes impactos ambientais. No sistema de produção de milho são gerados resíduos como cascas, farelos e águas oriundas de tanques de maceração. Esses resíduos podem ser destinados para rações animais, bebidas, álcool combustível. Outro destino que pode ser dado para esse resíduo é na produção de cogumelos (LOSS, 2009).

Os resíduos de milhos podem ser classificados como sabugo, folha, caule e palhas. A biomassa residual oriunda do milho fica no campo, para a ciclagem de nutrientes, mas também serem utilizados na produção de energia e outras atividades. (DANTAS et al. 2013).

Experimentos realizados por SANTOS, T. M. et al 2001, utilizando diferentes tipos e proporções de compostos orgânicos (bagaço de cana-de-açúcar, serragem e sabugo de milho), foi possível observar que o sabugo de milho moído junto com a

serragem foi o que houve maior crescimento do micélio do Shiitake, independente da concentração testadas.

Tabela 4: Propriedades do farelo de milho

Componente	Quantidade em 100g
Água	4.71g
Proteína	8.36g
Fibra	79g
Cálcio	42mg
Ferro	2.79mg
Magnésio	64mg
Fosforo	72 mg
Potássio	44mg
Sódio	7mg
Zinco	1.56mg

Fonte: EPM - UNIFESP. 2019.

4.8 ESTERILIZAÇÃO

Ao longo da história da humanidade, a utilização de do fogo para purificar as coisas foi e é bastante comum, o calor gerado pelo fogo atua na quebra das membranas e desnaturação de proteína e ácidos nucleicos. Apesar disso, muitos microrganismos e bactérias continuam presentes nos materiais, pois para a sua total eliminação é necessário pressões e temperaturas específicas (MANZINI, 2018).

A Autoclave é um aparelho utilizado para esterilizar materiais, utiliza vapores de águas quentes gerando temperaturas acima de 130 °C e altas pressões, extinguindo microrganismos e bactérias que são nocivos à saúde ou ao material. O tratamento para eliminar microrganismos (M.O.) dos substratos para produção de mudas é um procedimento importante, pois é nessa etapa que são eliminados M.O. que podem causar mortes das mudas ou se tornarem competidores, utilizando nutrientes do substrato que seria destinado a muda. (SILVA, 2001).

Em pesquisa feita na internet é possível analisar os preços de equipamentos de autoclave. Os preços variam de acordo com a marca, capacidade (L) e se são ou não analógicas. Autoclaves com capacidade acima de 30 litros têm preços entre R\$ 4.000 reais a R\$ 24,000 reais.

Para o cultivo em substrato o meio deve ser esterilizado, o que tem um alto custo, mas também pode ser pasteurizado que reduz esses custos. O controle da temperatura é fator determinante a fim de evitar o desenvolvimento de outros fungos, não excedendo os 28° e mantendo-se entre 25° C (DELPECH; OLIVIER, 1991). Levanon *et al.* (1993) também destaca as vantagens da pasteurização devido os custos reduzidos perante o trabalho realizado e a energia destinada a esse processo.

O processo de pasteurização serve para reduzir a quantidade de carboidratos prontamente degradáveis, formando um complexo mais estável, lignina-húmus (EIRA, 2000).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Reativação e manutenção de *Lentinula edodes* (Shiitake)

5.1.1. Matriz primária

A cultura *Lentinula edodes* (Shiitake) - linhagem FF30, foi cedida pelo professor Celso Bett da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco (Imagem 1). Essas linhagens são diferenciadas de acordo com a melhor época de frutificação associada ao microclima do cultivo e tipo morfológico do cogumelo desejado. Assim, diferentes resultados podem ser observados. Linhagem para produção em toras de madeira.



Imagem 1: *Lentinula edodes* (Shiitake) - linhagem FF30. (Autor, 2019)

Em um Becker pesou-se 6,5 g de ágar de dextrose Sabouraud 4% e diluído em 100 mL de água destilada e levado para autoclave por 15 minutos a 121 °C. Após o processo de esterilização, o meio de cultura foi vertido em Placas Petri estéreis utilizando o Bico de Bunsen para evitar a contaminação do meio de cultura.

No centro de cada Placa Petri com o meio de cultura em estado sólido, transferiu-se um fragmento de micélio do bloco e incubados por 8 dias a 28°C (Imagem 2).



Imagem 2: Micélio em ágar de dextrose Sabouraud 4%. (Autor, 2019)

5.1.2. Matriz secundária (semente)

A matriz secundária ou semente serve como veículo de inóculo do micélio dos cogumelos comestíveis e permitem fácil manuseio durante a inoculação no composto.

A matriz secundária foi obtida pela transferência de pequenas porções de micélio da matriz primária para tubos de ensaio medindo 200 mm x 22 mm contendo os compostos (substrato base + substratos complementares – item 5.2) de acordo com o delineamento experimental (item 5.2.1). Os ensaios experimentais foram realizados com os compostos esterilizados (Imagem 3) e não esterilizados.



Imagem 3: Meio de cultura sólido. (Autor, 2019)

A transferência do micélio da matriz primária para os tubos de ensaio com o composto esterilizado e não esterilizado, foi feita utilizando ponteiras autoclavadas e pinça flambada. Discos de aproximadamente 10 mm de diâmetro da matriz primária da cultura de *Lentinula edoddes* (Shiitake) foram transferidos e mantidos nos tubos de ensaio com os compostos e incubados por 30 dias em temperatura de 28°C. A cada 7 dias foi adicionado 3 mL de água esterilizada (Imagem 4) para manter a umidade dos compostos.



Imagem 4: Transferencia do micélio para o substrato sólido. (Autor, 2019)

Após 30 dias de fermentação em estado semi-sólido, quando ocorreu a terceira fase do crescimento do micélio - Formação de inchaço micelial - foi realizado a medição centímetros do crescimento micelial vertical da cultura de *Lentinula edoddes* (Shiitake).

5.2. Substratos base e substratos complementares

Foram utilizados para elaboração dos compostos quatro diferentes resíduos sólidos: **1) substrato base:** serragem de *Pinus* (X_1), e **2) substratos complementares:** borra de café (X_2), Levedura residual da indústria cervejeira (X_3), e Farelo de milho (X_4).

5.2.1 Formulação dos Compostos

Os compostos foram formulados de acordo com o delineamento experimental fatorial completo $2^{(4-0)}$, com quatro variáveis independentes em dois níveis de variação com quatro repetições no ponto central (Tabela 5). As variáveis independentes foram: substrato base: X_1 = Serragem (%); e os substratos complementares para formulação dos substratos: (X_2 =Borra de Café (%), X_3 = Levedura Residual de cervejaria (%) e X_4 = Farelo de Milho (%).

Tabela 5. Delineamento fatorial completo $2^{(4-0)}$ com 4 repetições no ponto central, utilizando como variáveis independentes substrato base (X_1) e substratos complementares (X_2 , X_3 e X_4).

Ensaio	Variáveis independentes (codificadas)				Variáveis independentes (descodificadas)			
	X1	X2	X3	X4	X1	X2	X3	X4
01	-1	-1	-1	-1	20	0	0	0
02	1	-1	-1	-1	80	0	0	0
03	-1	1	-1	-1	20	40	0	0
04	1	1	-1	-1	80	40	0	0
05	-1	-1	1	-1	20	0	40	0
06	1	-1	1	-1	80	0	40	0
07	-1	1	1	-1	20	40	40	0
08	1	1	1	-1	80	40	40	0
09	-1	-1	-1	1	20	0	0	40
10	1	-1	-1	1	80	0	0	40
11	-1	1	-1	1	20	40	0	40
12	1	1	-1	1	80	40	0	40
13	-1	-1	1	1	20	0	40	40
14	1	-1	1	1	80	0	40	40
15	-1	1	1	1	20	40	40	40
16	1	1	1	1	80	40	40	40
17	0	0	0	0	50	25	25	25
18	0	0	0	0	50	25	25	25
19	0	0	0	0	50	25	25	25
20	0	0	0	0	50	25	25	25

(-1) quantidade mínima
(0) metade da quantidade máxima
(1) quantidade máxima

6 RESULTADOS

Produção de matriz primária de *Lentinula edoddes* (Shiitake)

Os resultados da produção da matriz primária de *Lentinula edoddes* (Shiitake) utilizando o meio de cultura ágar sabouraud dextrose 4% em placas de Petri após oito dias de incubação a 28°C podem ser vistos na imagem 5.



Imagem 5: Crescimento do micélio em placa. (Autor, 2019)

Foi possível observar que houve um crescimento vigoroso da cultura de *Lentinula edoddes* (Shiitake) evidenciando que a alta concentração de dextrose, pH ácido da fórmula deste ágar permitem o crescimento deste microrganismo, sem que haja contaminação de outros tipos de bolores.

Processo de esterilização na produção de matriz secundária em substratos orgânicos.

De acordo com os resultados dos 20 ensaios experimentais autoclavados e não autoclavados pôde-se observar que os tubos de ensaio que foram submetidos ao processo de autoclavagem não foram contaminados por outras espécies de bolores (Imagem 6). Já nos 20 ensaios experimentais não esterilizados, observou-se a contaminação com diferentes tipos de bolores antes mesmo de realizar a transferência da matriz primária (Imagem 7 e 8). Mesmo com a contaminação nos tubos de ensaio, realizou-se o inóculo da matriz primária. Entretanto, após os 30 dias de fermentação observou-se que não houve crescimento da matriz secundária de *Lentinula edoddes* (Shiitake) nesses tubos de ensaio. Pode-se inferir que a contaminação pode ser oriunda de bolores que estavam presentes nos resíduos

orgânicos utilizados como substrato na composição do composto. MADIGAN et al, 2016, e LEMES, 2018, concordam que os micro-organismos dependem de condições favoráveis para sua multiplicação. As características inerentes aos próprios substratos têm grande influência no tipo e diversidade microbiana capaz de se desenvolver e provavelmente devido a competição por nutrientes e espaço, os bolores contaminantes neste caso sobrepujaram o crescimento de *Lentinula edodes* (Shiitake).



Imagem 6: Crescimento micelial após 30 dias – Autoclavados. (Autor, 2019)



Imagem 7: Crescimento micelial após 30 dias – Não utoclavados. (Autor, 2019)



Imagem 8: Experimentos não autoclavados. (Autor, 2019)

Crescimento vertical do micélio cultura de *Lentinula edoddes* (Shiitake)

Os valores em centímetros do crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake) podem ser verificados na tabela 6.

Tabela 6: Crescimento vertical do micélio em experimentos esterelizados

Experimento	Crescimento Vertical (cm)
1	1
2	0,5
3	2
4	2,3
5	0,1
6	6,2
7	0
8	0
9	0,8
10	14,1
11	0
12	1,2
13	1,8
14	0,6
15	0
16	3,3
17	1,6
18	0
19	1,1
20	3,9

Fonte: Autor, 2019

Dos ensaios experimentais testados o que mostrou maior eficiência no crescimento do micélio foi do ensaio nº 10, com 14,1 cm de crescimento vertical. Sendo o composto constituído de 80% serragem de *Pinus*; 0% borra de café; 0% levedura e 40% de farelo de milho (Imagem 9).

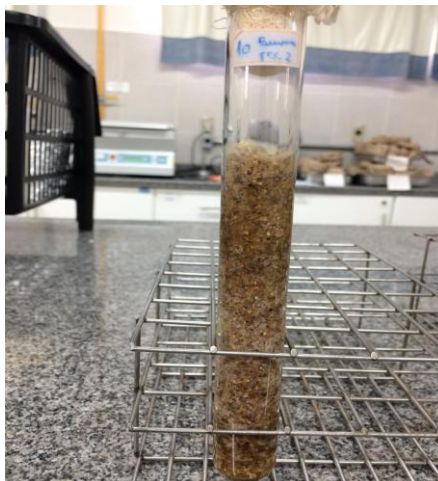


Imagem 9: Experimento n.º 10.

O ensaio experimental nº 6 teve o segundo maior crescimento vertical, com 6,2 cm, sendo constituído de 80% serragem; 0% borra de café; 40% levedura e 0% de farelo de milho (Imagem 10).

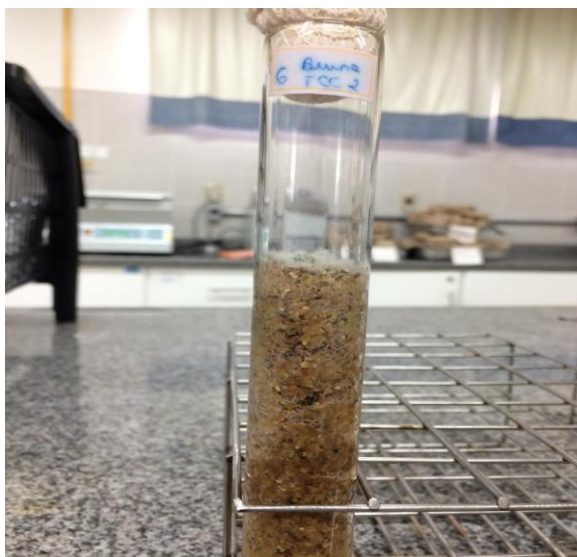


Imagem 10: Experimento nº 6. (Autor, 2019)

Os ensaios experimentais que não houve o crescimento micelial vertical foram os de número: 7,8, 11, 15 e 18.

De acordo com os resultados observados na Tabela 6, a diferença entre os experimentos 07, 11, 15 e 18 e 10 está representada pela modificação da concentração da serragem de *Pinus* e o ensaio experimental 8 pela modificação da

concentração de farelo de milho para os níveis mínimos, conforme a Tabela 7. Desta forma, a diferença observada na resposta entre os ensaios 10 e ensaios 7,8, 11, 15 e 18 indica que o crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake) aumenta quando a concentração de serragem de *Pinus* e de farelo de milho é modificada do nível mínimo para o nível máximo.

Tabela 7: Comparação entre os crescimento mínimos e máximo.

Experimento	Crescimento (cm)	% Serragem	% Farelo de milho
7	0	20	0
8	0	80	0
10	14,5	80	40
11	0	20	40
15	0	20	40
18	0	50	25

Fonte: Autor, 2019

Efeito e interações da porcentagem de diferentes resíduos orgânicos na produção da matriz secundária de *Lentinula edoddes* (Shiitake)

Após análise estatística verificou-se que os substratos estudados e seus níveis de variação, não afetaram significativamente o crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake) ($p \geq 0,05$). Na Tabela 8 observam-se as estimativas dos efeitos de cada variável, suas interações e a significância ($p \leq 0,05$). O coeficiente de determinação (R^2) foi de 80,20%, o que indica uma excelente relação dos dados experimentais com a curva estabelecida pelo modelo matemático, ou seja, somente 19,80% da variação do crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake) não pode ser explicado pelos fatores estudados, existindo outros fatores que podem ser importantes para conseguir um maior crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake). O meio de cultura pode ser sintético (quimicamente definido) e complexo (composição química não definida), meios seletivos (que favorece o crescimento de determinados microrganismo) e os diferenciais (características exclusivas de determinadas colônias) (LEMES, 2018).

A serragem de *Pinus* foi a que apresentou maior efeito no crescimento vertical do micélio quando comparado individualmente. A borra de café exerce influência negativa no crescimento do fungo; em experimento de FAN et al. 2005 a borra de café teve eficiência biológica de 88,7%, em 100 dias de cultivo. A diferença entre os resultados sobre a borra de café pode estar associada ao tipo do café, como foi tratado antes da mistura e quais os compostos misturados. A levedura residual também tem efeito negativo no crescimento do Shiitake, podendo estar associado ao fato da grande parte das leveduras possuírem a característica de metabolizar os compostos (OLIVEIRA, 2011). O farelo de milho apresentou efeito positivo no desenvolvimento do micélio, SANTOS, T. M. et al 2001 em seu experimento o sabugo de milho moído teve o maior índice no crescimento micelial; o milho tem grande quantidade de fibras e proteínas, nutrientes importantes para o crescimento.

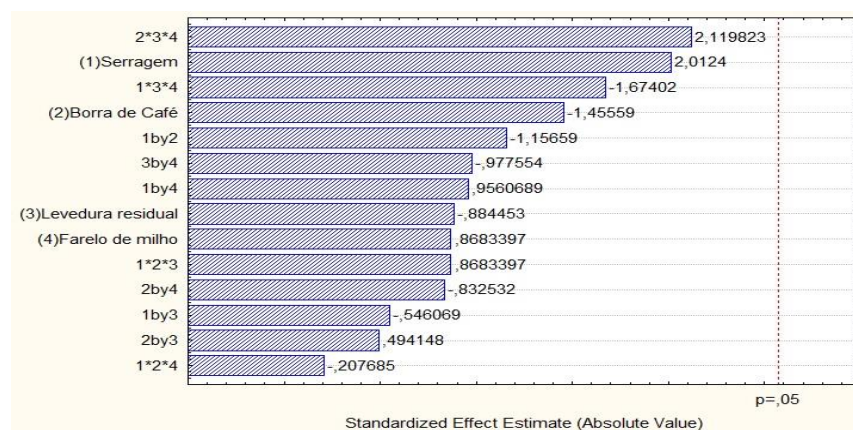
Tabela 8: Estimativas dos efeitos de cada variável, suas interações e significância ($p \leq 0,05$)

Variáveis e Interações	Efeitos	P
1 - Serragem de <i>Pinus</i>	2,81000	0,146170
2 - Borra de Café	-2,03250	0,262754
3 - Levedura Residual	-1,23500	0,473057
4 - Farelo de milho	1,21250	0,480619
1*2	-1,61500	0,359239
1*3	-0,76250	0,650739
1*4	1,33500	0,440566
2*3	0,69000	0,681274
2*4	-1,16250	0,497757
3*4	-1,36500	0,431175
1*2*3	1,21250	0,480619
1*2*4	-0,29000	0,861638
1*3*4	-2,33750	0,208574
2*3*4	2,96000	0,130764

Fonte: Autor, 2019

Analisando o gráfico de Pareto (Figura 1) no crescimento micelial vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake), observa-se que as interações entre as variáveis borra de café, levedura residual e farelo de trigo (2^*3^*4) apresentaram efeito positivo mais relevante. Entretanto a interação 1^*2^*4 * (serragem* borra de café* farelo de milho) é negativa, porém não significativa ($p \geq 0,05$). Aliás, nenhum dos efeitos foi significativo, nem quando foram positivos ao crescimento e nem quando foram negativos.

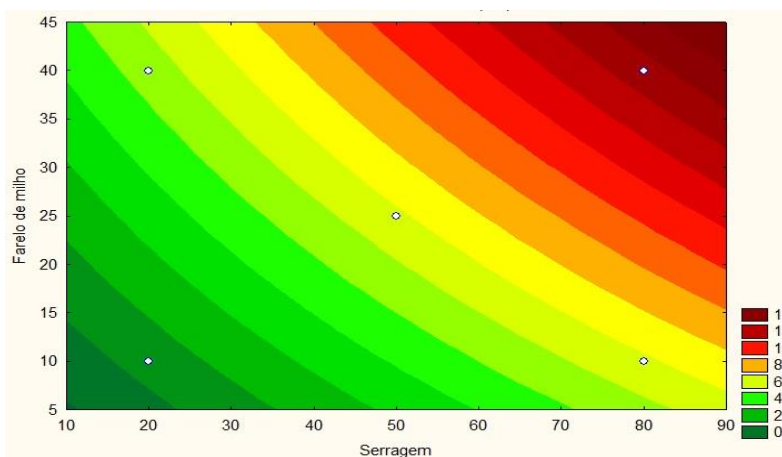
Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos em $p \leq 0,05$ no crescimento micelial vertical (Shiitake).



Fonte: Autor, 2019

A interação entre a serragem de Pinus e o farelo de milho é positiva (1 by 4 = 1,33500). Esse efeito pode ser observado no gráfico de curvas de nível (Figura 2) dos efeitos das variáveis independentes. Quanto maior a quantidade de serragem e maior a quantidade de farelo de milho, maior será o crescimento vertical do micélio de *Lentinula edoddes* (Shiitake), sem a necessidade de um terceiro substrato.

Figura 2 - Gráfico curvas de nível efeitos das variáveis independentes no crescimento vertical



Fonte: Autor, 2019

7. CONCLUSÃO

A falta de tratamento térmico (autoclave) exerce influência negativa no crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake), evidenciando a necessidade de autoclavagem. Os meios de cultura precisam ser esterilizados antes do uso, esse processo de dá pelo aquecimento através de uma autoclave, assim após a esterilização ele se apresenta pronto para a inoculação (MADIGAN et al, 2016).

Dos experimentos com os compostos esterilizados 75% obtiveram crescimento vertical de *Lentinula edoddes* (Shiitake) permitindo assim o desenvolvimento desse fungo, evidenciando que os requerimentos nutricionais para o seu desenvolvimento foram supridos pelo composto. Para o crescimento dos microrganismos é necessário que o meio seja favorável para tal, seja ele no seu habitat natural ou não (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Sendo assim o meio de cultura se caracteriza por solução de nutriente que promove o crescimento de microrganismos fornecendo nutrientes para seu desenvolvimento eficaz, esse meio favorece a sobrevivência e crescimento em condições de laboratório (MADIGAN et al, 2016)

A produção de *Lentinula edoddes* (Shiitake) em substratos é uma excelente maneira reaproveitar resíduos orgânicos, pois além de servirem como nutrientes para o crescimento do fungo agregam valor a resíduos orgânicos que poderiam ser descartados de forma inadequada ao meio ambiente, e ainda, após a colheita dos cogumelos o composto pode ser utilizado como adubo e fertilizante.

8. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Indicadores da Indústria de Café**.2018.<http://abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe-2018/>. Acesso em 5jun 2019.

AGUIAR, L. V. B. **Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* em meios de cultivo à base de diferentes substratos orgânicos**. *Interciência*. v. 36, n. 3, p. 205-210, mar, 2011. Disponível em: <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2018/.../205-c-1º-ANDRADE-6.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2019.

AGUIAR, L. B. V. **Uso de resíduos de madeiras e frutos da Amazônia para o cultivo in vitro do cogumelo comestível *Shiitake***. *Interciência*, v. 38, n. 8, ago, p. 585-589, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/112137>. Acesso em: 6 jun. 2019.

ANDRADE, M. C. N. **Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do *Shiitake* em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto**. 2007. 195f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/101706?locale-attribute=en>. Acesso em: 6 jun. 2019.

BLISKA.F.M.M. I. **CUSTOS DE PRODUÇÃO DE CAFÉ NAS PRINCIPAIS REGIÕES PRODUTORAS DO BRASIL**. *Informações Econômicas*, SP, v.39, n.9, set. 2009.Disponível <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/880366/1/Custosdeproducao.pdf>. Acesso em 5 jun 2019.

BORTOLI.D.A.S. **LEVEDURAS E PRODUÇÃO DE CERVEJAS**. *bioenergia em revista: diálogos*, ano 3, n. 1, p. 45-58, jan./jun. 2013. Acesso em 06 jun 2019.

BAIA, F. P. Análise de métodos de produção de *Shiitake* no Distrito Federal. **Agro em Questão: Revista de Iniciação Científica da Faculdade CNA**. Brasília, v. 1, n. 1, p.127-149, maio 2017. Disponível em: <http://faculadecna.edu.br/media/download/RevistaCNA-61708.1.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2019.

BERNABE-GONZALEZ, T. Cultivo experimental del hongo *Shiitake*, *Lentinula edodes*, sobre dos subproductos agrícolas en Guerrero, Mexico. **Revista Mexicana de Micología**. v. 23, p.63-68, 2006. Disponível em: <https://eurekamag.com/research/013/236/013236335.php>. Acesso em: 28 maio 2019.

CHEN, A. W. Cultivation of *Lentinula edodes* on Synthetic Logs. Almost all of the *Shiitake* imported to Japan came from China. **The Mushroom Growers' Newsletter**, June, 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/242117061_Cultivation_of_Lentinula_Edodes_on_Synthetic_Logs. Acesso em: 7 jun. 2010.

COSTA, S. M.C.; COIMBRA, L. B.; Silva, E. S. Crescimento micelial de dois isolados de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, em resíduos ligninocelulósicos. **Acta Sci. Biol. Sci.** Maringá, v. 30, n. 2, p. 192-196, 2008. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/3622/0>. Acesso em: 7 jun. 2019.

DELPECH, P.; OLIVIER, J. M. Cultivation of *Shiitake* on straw based pasteurized substrates. **Mush. Sci.** v. 13, part 2, a. 12, p. 523-528, 1991.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento in vitro de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesq. Agropec. Brás.** Brasília, v.41, n.6, p.995-999, jun. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v41n6/30866.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2019.

SANTOS, T. M. Desenvolvimento micelial e cultivo axênico do cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*) em diferentes substratos. **62ª Reunião Anual da SBPC**.

EIRA, A. F. Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente). **Anais da III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. Mogi das Cruzes, SP, Brasil. p. 83-95, 2000. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/rifib/IIIRifib/71-81.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2019.

EIRA, F. C.; MEIRELLES, W. F.; PACCOLAMEIRELLES, L. D. *Shiitake* production on corncob substrates. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 141-148, 2005. Disponível em: <http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/135>. Acesso em: 7 jun. 2019.

FAN, L.; SOCCOL, C. R. Produção de cogumelo comestível do tipo *pleurotus*, *lentinus* e *flammulina* em casca e borra de café. **II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**.

FREDERICO, C. E. Produção de Shiitake (*Lentinula edodes* (BERK) PEGLER) em Substratos à Base de Sabugo de Milho. **XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Florianópolis, set. 2002. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/34878/1/Producao-Shiitake.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2019.

HILL, D. Introduction to Shiitake: The “Forest” Mushroom. **Kentucky: Cooperative Extension Service**, 6 p., 2010. Disponível em: <https://forestry.ca.uky.edu/sites/forestry.ca.uky.edu/files/for78.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2019.

HILL, D., SZYMANSKI, M. Inoculation. **Kentucky: Cooperative Extension Service**, 7 p. 2010. Disponível em: <http://www2.ca.uky.edu/agcomm/pubs/for/for81/for81.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2019.

HILL, D. Log Selection and Preparation. **Kentucky: Cooperative Extension Service**, 4 p., 2013. Disponível em:

<http://www2.ca.uky.edu/agcomm/pubs/FOR/FOR79/FOR79.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2019.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Dados estatísticos 2018. Acesso em <https://iba.org/dados-estatisticos> em 04 jun 2019.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Relatório anual 2017. Acesso em https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf 04 jun 2019.

LEVANON, D. Bulk treatment of substrate for the cultivation of Shiitake mushroom. *Bioresource Technol.* v. 45, p. 63-64, 1993. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0960852493901452>. Acesso em: 7 jun. 2019.

LEMES, G. B. **Introdução à microbiologia**. 2018.

LOSS, E.M. Aproveitamento de resíduos da cadeia produtiva de milho para cultivo de cogumelos produtivos. Acesso em : 08 de jun de 2019.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. Trad. Alice Freitas Versiani et al. 14 ed. Porto Alegre, Artemed. 2016.

MARINO, R. H.; ABREU, L. D. Cultivo do cogumelo Shiitake em resíduo de coco suplementado com farelo de trigo e/ou arroz. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v.4, n.1, p.11-16, 2009. Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/1190/119018227002/>. Acesso em: 6 jun. 2019.

MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIE, J. M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. **Rev Iberoam Micol** , v. 18, p. 118-122, 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15487920>. Acesso em: 7 jun. 2019.

MATA, G.; SAVOIE, J. M. Shiitake cultivation on straw: an alternative for subtropical regions. In: SÁNCHEZ, J. E.; MATA, G.; ROYSE, D. J. editors. **Updates on Tropical Mushrooms. Basic and Applied Research** - San Cristóbal de Las Casas,

Chiapas, México: El Colegio de la Frontera Sur. cap.10. p.115-134, 2018. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/328737403_Shiitake_cultivation_on_straw_an_alternative_for_subtropical_regions. Acesso em: 6 jun. 2019.

MATHIAS T. R. S. et al. CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS CERVEJEIROS. Congresso Brasileiro de Engenharia Química 2014. Acesso em

<http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east->

[1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/0668-24515-175166.pdf](http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/0668-24515-175166.pdf) 06 jun 2019.

MOONMOON, M. Effects of different levels of wheat bran, rice bran and maize powder supplementation with saw dust on the production of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes* (Berk.) Singer). **Saudi J. Biol. Sci.** n. 18, p.323-328, 2011.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X10001312> Acesso em: 05 jun. 2019.

MORAIS, M. H. Note. Production of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on lignocellulosic residues. **Food Sci Technol Int.** v. 6, n. 2, p. 123-128, 2000. Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/108201320000600206>. Acesso em: 7 jun. 2019.

MURTHY P.S. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition. *Resources, Conservation and Recycling*, v.66, p 45-58, 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344912000894?via%3Dihub>
Acesso em: 5 jun.2019.

NEVES, C. F. Q.; GRACIOLLI, L. A. Caracterização da produção em toros do cogumelo comestível *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler na região oeste do Estado de São Paulo. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 30, n. 4, p. 487-494, 2008. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1807-86212008000400007&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 7 jun. 2019.

NYOCHEMBENG, L. M.; BEYL, C. A.; PACUMBABA, R. P. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. **Bioresour Technol.** v. 99, n.13, p. 5645–5649, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407009194>. Acesso em: 6 jun. 2019.

OIE, P. **A cultura de cogumelos em pequena escala.** Contribuição de : Bram Van Nieuwenhuijsen. p. 59-66, 2006. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=jDbwlue6BB8C&pg=PA59&dq=cogumelo+Shiitake&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwjWpMyO4K_iAhWAErkGHYVjAOI4ChDoAQgoMAA#v=onepage&q=cogumelo%20Shiitake&f=false. Acesso em: 27 maio 2019.

OLIVEIRA N.A.M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação de cerveja.** Acesso em <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS-99VHHA/195.pdf?sequence=1> 06 jun 2019.

PALHETA A. R. ; VIEIRA J.N; NEVES K.C.S; TEIXEIRA M.F.S.; **Crescimento micelial vertical de duas espécies de Pleurotus em resíduos agroindustriais da Amazônia utilizando planejamento fatorial.** Caderno de Pesquisa, Série Biologia, Volume 23, número 3 . Acesso em 17 jun 2019.

PAULA, D. P. **Cultivo do cogumelo comestível Shiitake (Lentinula edodes, Berk, Pegler) em toros de mangueira (Mangifera Indica L) e de abacateiro Persea SP.).** Tese (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Ilha Solteira, 2000. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/pt/bolsas/102641/cultivo-do-cogumelo-comestivel-Shiitake-lentinula-edodes-berk-pegler-em-toros-de-mangueira-mang/> Acesso em: 23 maio 2019.

QUEIROZ, E. C.; MARINO, R. H. EIRA, A. F. Mineral supplementation and productivity of the *Shiitake* mushroom on eucalyptus logs. **Sci. Agric.** v.61, n.3, p.260-265, May/June 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162004000300003. Acesso em: 6 jun. 2019.

RAMÍREZ-CARRILLO, R.; LEAL-LARA, H. Culture conditions for increasing yields of *Lentinula edodes*. **Proceed. IV International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products**, Cuernavaca, Mexico. p. 289-294, 2002. Disponível em: <http://www.gobe.si/dokumenti/Culture%20Conditions%20for%20Increasing%20Yields%20of%20Lentinula%20edodes.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2019.

RODRIGUES I.S. REAPROVEITANDO RESÍDUOS: MANEIRAS DE DESTINAÇÃO E REUTILIZAÇÃO DA BORRA DE CAFÉ 2016. Acesso em <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/1349.pdf>

ROMERO-ARENAS, O. Producción del hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**. v.6, n.6, ago-set, p. 1229-1238, 2015. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-09342015000600007&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 6 jun. 2019.

ROSSI, I.H. Supplementation of sugarcane bagasse with rice bran and sugarcane molasses for Shiitake (*Lentinula edodes*) spawn production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p.61-65, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822003000100013. Acesso em: 6 jun. 2019.

ROSSI, I. H.; MONTEIRO, A. C.; MACHADO, J. O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 36, n. 6, p. 887-891, jun. 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2001000600006&script=sci_abstract&tlng=en. Acesso em: 6 jun. 2019.

SANCHEZ, C. Mini review: modern aspects of mushroom culture technology. **Appl Microbiol Biot**, v. 64, n. 1, p. 756-62, 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14966664>. Acesso em 15 maio 2019.

STEARNS, J. C.; KAISER, J. C.; SURETTE, M. G. **Microbiologia para leigos**. Alta Books, 2018.

STRAPASSON F.. XXIV Congresso Brasileiro de Custos – Florianópolis, SC, Brasil, 15 a 17 de novembro de 2017 . Acesso em 04 jun 2019.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 ed. Artemed, 2017.

TEIXEIRA, E. M. **Caracterização izoenzimática e molecular de *Lentinula edodes* e avaliação da produção em função da espécie de eucalipto e clima**. 2000. 123f. Tese (Doutorado em Biotecnologia/Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/pt/bolsas/103524/caracterizacao-e-selecao-de-linhagens-de-Shiitake-lentinula-edodes-berk-pegler-em-funcao-da-espec/>. Acesso em: 6 jun. 2019.

PERGHER, E. S. **Caracterização do processo produtivo de cogumelos comestíveis e medicinais**. 2016. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/158945>. Acesso em: 6 jun. 2019.

PHILIPPOUSSIS, A. DIAMANTOPOULOU, P. A.; ZERVAKIS, G. I. Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the Shiitake mushroom *Lentinula edodes*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 19, p. 551–557, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1025100731410>. Acesso em: 6 jun. 2019.

PIRE, D. G.; WRIGHT, J. E.; ALBERTO, E. Cultivation of Shiitake using sawdust from widely available local woods in Argentina. *Micologia Aplicada International*,

Berkeley, v. 13, n. 2, p. 87-91, Apr. 2001. Disponível em: http://www.micaplint.com/pdf/V13_2_01.pdf. Acesso em: 6 jun. 2019.

URBEN, A.F.; OLIVEIRA, H.C.B.; VIEIRA, W.; CORREIA, M.J.; URIARTT, A.H. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. EMBRAPA. Recursos genéticos e biotecnologia, 2001.

SILVA, M.P.P. **Anteprojeto de produção de cogumelos *Shiitake* (*Lentinula edodes*) em modo de produção biológico**. Viana do Castelo, Portugal: 2013. Dissertação [Mestrado], Mestrado em Agricultura Biológica, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo. Disponível em <http://repositorio.ipvc.pt/bitstream/123456789/1265/1/Maria_Silva_1307.pdf>. Acessado em: 3 jun. 2019.

SILVA, R. et al. **Manual para la producción de hongos comestibles (*Shiitake*)**. Santiago: Proyecto Conama-fpa, 2010. Disponível em: https://issuu.com/ricardogonza/docs/manual_produccion_de_hongos_comestibles. Acesso em: 4 jun. 2019.