

DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE *PLEUROTUS* SPP. SOB A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES SUBSTRATOS E DEXTROSE

L.P. Donini, E. Bernardi, E. Minotto, J.S. do Nascimento

Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Micologia, CP 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: lorenadonini@yahoo.com.br

RESUMO

O cogumelo comestível *Pleurotus* spp. (shimeji) é cultivado em diferentes substratos ligno-celulósicos, sendo que conforme a formulação do meio de cultivo, maior produtividade poderá ser obtida. Este trabalho teve como objetivo avaliar a velocidade de crescimento e a produção de massa miceliana de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* (BF24 e DF33) e uma de *P. ostreatoroseus* (POR01/03) no cultivo *in vitro* à base de diferentes substratos com ou sem suplementação de dextrose, sob temperatura constante de 28° C. Avaliou-se diariamente o diâmetro da colônia e a massa miceliana por dissolução em água fervente. A linhagem POR01/03 apresentou maior velocidade de crescimento, e a linhagem BF24 maior biomassa. O meio à base de capim-elefante favoreceu a maior velocidade de crescimento e biomassa formada, principalmente quando foi adicionada dextrose no meio de cultivo.

PALAVRAS-CHAVE: Velocidade de crescimento, massa miceliana, cogumelo, shimeji.

ABSTRACT

IN VITRO DEVELOPMENT OF *PLEUROTUS* SPP. UNDER THE EFFECT OF SUBSTRATES AND DEXTROSE. Various lingo-celulosic substrates are used to cultivate the edible fungus *Pleurotus* spp. (shimeji), and better yields are obtained in media with different formulations. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* growth rate and mass mycelium production of two *Pleurotus ostreatus* (BF24 and DF33) strains and from one *P. ostreatoroseus* (POR01/03) strain using different substrates with or without dextrose. During the study daily observations of colony diameter and mycelium mass were analyzed. We observed that the strain POR01/03 had the fastest growth rate and the strain BF24 had the highest mycelium mass among the strains in study. We also observed that all strains had a better growth rate and mycelium mass in the elephantgrass media, principally when dextrose was added.

KEY WORDS: Growth rate, mycelium mass, mushroom, shimeji.

INTRODUÇÃO

Pesquisas no cultivo de cogumelos visam o aprimoramento de técnicas que proporcionem a redução dos custos da produção, que resulte em redução do preço ao consumidor e conseqüente aumento do consumo mundial. O cultivo de cogumelos comestíveis vem tomando maior importância no Brasil, principalmente, devido a descobertas científicas que tem demonstrado o seu potencial uso medicinal, sendo considerado um produto com propriedades farmacológicas atribuídas a polissacarídeos e outros compostos, que desempenham possível atividade antitumoral, imunomodulatória, antiviral, antibacteriana e antiparasitária (MIZUNO *et al.*, 1990; DENADAI *et al.*, 1998; MENOLI *et al.*, 2001; BARBIZAN *et al.*, 2002). Além disso, seu alto valor protéico e baixo valor

calórico o torna uma opção de alimento saudável (PARK *et al.*, 2003).

Para o cultivo de cogumelos podem ser aproveitados resíduos agroindustriais como substratos à base de cana-de-açúcar, palha de trigo, palha de arroz, gramíneas, serragens, polpa e casca de frutas, folhas de bananeira etc. (EICKER, 1995; EIRA, 2003). Entre os principais cogumelos comestíveis cultivados se encontram *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Lentinula edodes* e *Pleurotus* spp. O *Pleurotus* se desenvolve em temperaturas de 15 a 28° C (CHANG, 1980; MARINO, 1997), produzindo uma série de enzimas ligno-celulases, que os permite degradar facilmente a lignina e a celulose da madeira, assim como outros substratos vegetais utilizados para o seu cultivo (BONONI *et al.*, 1991; CAPELARI, 1996).

Na produção de cogumelos, várias etapas devem ser seguidas, sendo que estas vão desde a obtenção do inóculo ("spawn") até a comercialização do produto. Na pesquisa com linhagens isoladas, um aspecto importante a ser estabelecido é a escolha do substrato adequado para a multiplicação deste fungo e, obtenção de crescimento miceliano suficiente para dar seqüência às etapas seguintes da produção. O desenvolvimento miceliano dos fungos pode ser avaliado de diferentes formas, como: crescimento radial, vigor, velocidade de crescimento e massa de micélio. Fatores como característica nutricional do substrato, bem como linhagem do fungo, luminosidade, temperatura e outros afetam o seu cultivo (MARINO, 1997).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de massa miceliana e velocidade de crescimento de duas linhagens de *P. ostreatus* e uma de *P. ostreatoroseus* sob o efeito de diferentes substratos e adição de dextrose.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Micologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, RS. As culturas iniciais foram obtidas a partir das linhagens POR01/03 de *P. ostreatoroseus* procedente da UFSC-SC e BF24 e DF33 de *P. ostreatus*, originada da UNESP-SP (MARINO, 2002). Para o estabelecimento dos tratamentos, os fungos, preservados em micoteca, foram repicados para meios de cultivo à base de batata-dextrose-água (BDA) e incubados a 28° C por 10 dias.

Os substratos utilizados foram bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), palha de soja (*Glycine max*), sabugo de milho (*Zea mays*) e capim-elefante (*Pennisetum* sp.). De cada substrato seco foram utilizados 30 g, sendo fervidos em 1 L de água destilada por 30 min e, em seguida, filtrado com o auxílio de um pedaço de gaze e o volume completado para 1 L. Logo após foram adicionados 15 g de ágar para posterior esterilização em autoclave por 20 min a 121° C. O pH dos meios foi ajustado para 5,5 (EIRA & MINHONI, 1997), sendo depois vertido em placas de Petri previamente esterilizadas. Para os tratamentos com suplementação de dextrose foi adicionada 10 gL⁻¹ juntamente com o ágar.

Discos miceliano de cultura inicial em BDA, de 10 mm de diâmetro, foram repicados para os meios correspondentes aos incubados nas mesmas condições. Transcorrido o crescimento miceliano novos discos foram repicados para cada meio correspondente.

O crescimento miceliano foi medido com o auxílio de uma régua, em 8 direções ortogonias, a cada 24h durante a incubação até o momento que uma colônia atingiu a proximidade das bordas da placa em um dos tratamentos, o que ocorreu no 4 dia de incubação. Após

a última avaliação do crescimento, o meio de cultura foi dissolvido em água fervente, aproximadamente 500 mL, recolhendo-se a massa miceliana úmida (Mmu), a qual foi seca em estufa a 50° C por 24h, para a obtenção da massa miceliana seca (Mms). A diferença entre Mms e Mmu resultou na biomassa miceliana.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com fatorial A x B x C, sendo 3 linhagens, 4 substratos e 2 níveis de dextrose para a variável massa miceliana e A x B x C x D x E sendo 3 linhagens, 4 substratos, 2 níveis de dextrose e 4 dias de incubação e 5 repetições para a variável velocidade de crescimento. A unidade experimental constou de uma placa, sendo 5 repetições/tratamento. Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variação e teste de Duncan para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico Sanest.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise da variação pode-se observar que para a variável massa miceliana houve diferenças significativas para a interação entre os fatores linhagens, substratos e dextrose. A análise das médias através do teste de Duncan (Tabela 1) mostrou que para a linhagem POR01/03 o meio à base de capim elefante adicionado ou não de dextrose foi superior aos meios à base dos demais substratos. Para a linhagem BF24, quando foi adicionada dextrose ao meio à base de capim-elefante, este foi superior aos demais, entretanto, quando dextrose não foi adicionada, capim-elefante não diferiu de palha de soja e de sabugo de milho. A linhagem DF33 apresentou comportamento diferente, onde o meio sem dextrose e a base de cana-de-açúcar foi superior aos demais sem dextrose, já quando dextrose foi adicionada os meios à base de capim-elefante e palha de soja apresentaram maiores médias de massa miceliana, sendo superiores aos demais.

Nas linhagens de *Pleurotus* pesquisadas foram médias maiores em todos os meios que foi adicionada a dextrose, mostrando sua importância como fator estimulador do crescimento. O meio à base de capim-elefante mostrou-se mais apropriado para esta finalidade dentre os analisados, sendo um substrato abundante, facilmente produzido durante todo o ano e menos sujeito a conter resíduos tóxicos, a exemplo da palha de soja e sabugo de milho, em decorrência do maior uso de agrotóxicos no cultivo destes cereais. Na maioria dos substratos utilizados nos meios de cultura a linhagem que apresentou maior massa miceliana foi a BF24, sendo superior às demais, com exceção de quando se utilizou meio de cultura com substrato à base de palha de soja sem dextrose, onde esta linhagem não diferiu das demais, quando se utilizou o meio à base de palha de soja com dextrose a linhagem DF33 foi superior a BF24 (Tabela 1).

Tabela 1 - Média de massa miceliana (g) das linhagens de *P. ostreatoroseus* (POR01/03) e *P. ostreatus* (BF4 e DF33), quando cultivadas em diferentes meios de cultura com e sem dextrose.

Substrato	Linhagens		
	POR01/03	BF24	DF33
Sem dextrose			
Capim elefante	0,0034 a B	0,0150 a A	0,0050 b B
Palha de soja	0,0062 a A	0,0078 b A	0,0038 b A
Cana-de-açúcar	0,0030 a B	0,0126 ab A	0,0104 a A
Sabugo de milho	0,0032 a B	0,0106 ab A	0,0040 b B
Com dextrose			
Capim elefante	0,0246 a B	0,0306 a A	0,0198 a B
Palha de soja	0,0142 b AB	0,0136 c B	0,0188 a A
Cana-de-açúcar	0,0134 b AB	0,0148 bc A	0,0090 b B
Sabugo de milho	0,0100 b B	0,0190 b A	0,0084 b B

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

Tabela 2 - Média da velocidade de crescimento (cm.dia⁻¹) das linhagens de *P. ostreatoroseus* (POR01/03) e *P. ostreatus* (BF4 e DF33), quando cultivadas em diferentes meios de cultura com e sem dextrose.

Substrato	Linhagens		
	POR01/03	BF24	DF33
Sem dextrose			
Capim elefante	3,2230 a A	2,3815 a B	2,0020 a C
Palha de soja	2,9475 b A	1,9155 b B	1,6355 b C
Cana-de-açúcar	2,6780 c A	1,6500 c B	0,9295 c C
Sabugo de milho	3,0845 ab A	0,9370 d B	0,8585 c B
Com dextrose			
Capim elefante	3,3020 a A	2,4125 a B	1,8250 a C
Palha de soja	3,0925 b A	1,7340 b B	1,6135 b C
Cana-de-açúcar	2,7140 c A	1,7805 b B	1,1375 c C
Sabugo de milho	3,1640 ab A	1,0690 c B	0,9395 d B

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

Em seu metabolismo os fungos secretam exoenzimas durante o desenvolvimento degradando compostos para obtenção de carbono, nitrogênio, enxofre e outros nutrientes necessários para seu crescimento. Conforme observado nos resultados, mesmo nos tratamentos em que a suplementação com dextrose foi suprida, houve desenvolvimento miceliano, porém inferior aos tratamentos com adição de dextrose. Conforme evidenciado por REGINA *et al.* (2001), o bagaço de cana-de-açúcar é um substrato que possui maior teor de celulose que os demais, sendo que a celulose provê glicose para o fungo e quando cessa esta fonte de açúcar, o fungo diminui o crescimento, necessitando de açúcares facilmente metabolizáveis provenientes de polissacarídeos do substrato. De acordo com estes

mesmos autores, o bagaço de cana-de-açúcar utilizado no cultivo de shiitake precisa ser suplementado, pois se torna mais viável para a produção de cogumelos comestíveis.

A suplementação com dextrose no substrato bagaço de cana-de-açúcar mostrou resultados inferiores do que quando utilizado a suplementação no capim-elefante, provavelmente em decorrência do maior teor de carbono no primeiro substrato. Porém, SILVA *et al.* (2004) utilizando resíduos de frutas como substrato adicionado ao meio mineral para otimizar o crescimento miceliano de *Pleurotus sajor-caju*, observaram que as maiores médias de biomassa miceliana foram encontradas quando utilizaram bagaço cana-de-açúcar, casca de maracujá, casca e coroa de abacaxi.

Tabela 3 - Média da velocidade de crescimento (cm.dia⁻¹) da linhagem de *P. ostreatoroseus* (POR01/03), quando cultivada em diferentes meios de cultura com e sem dextrose.

Substrato	Período de incubação (dias)			
	1	2	3	4
Sem dextrose				
Capim elefante	0,8960 a	2,3620 a	4,0820 a	5,5520 a
Palha de soja	0,7320 ab	2,0580 bc	3,7440 b	5,2560 b
Cana-de-açúcar	0,6320 b	1,8420 c	3,3860 c	4,8520 c
Sabugo de milho	0,9160 a	2,1640 ab	3,8140 ab	5,4440 ab
Com dextrose				
Capim elefante	0,8820 a	2,3860 a	4,1680 a	5,7720 a
Palha de soja	0,8360 ab	2,1980 a	3,7980 b	5,5380 b
Cana-de-açúcar	0,6460 b	1,9340 b	3,4140 c	4,8620 c
Sabugo de milho	0,9160 a	2,3080 a	3,9740 ab	5,4580 b

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

Tabela 4 - Média da velocidade de crescimento (cm.dia⁻¹) da linhagem de *P. ostreatus* (BF24), quando cultivada em diferentes meios de cultura com e sem dextrose.

Substrato	Período de incubação (dias)			
	1	2	3	4
Sem dextrose				
Capim elefante	0,2640 a	1,4440 a	3,0820 a	4,7360 a
Palha de soja	0,2240 a	1,0680 b	2,5120 b	3,8580 b
Cana-de-açúcar	0,2280 a	0,9240 b	2,1000 c	3,3480 b
Sabugo de milho	0,1080 a	0,5620 c	1,0840 d	1,9940 d
Com dextrose				
Capim elefante	0,2980 a	1,4280 a	3,1580 a	4,7660 a
Palha de soja	0,2380 a	0,8920 b	2,1540 b	3,6520 b
Cana-de-açúcar	0,2220 a	0,9940 b	2,2920 b	3,6140 b
Sabugo de milho	0,1580 a	0,6260 c	1,2440 c	2,2480 c

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

Tabela 5 - Média da velocidade de crescimento (cm.dia⁻¹) da linhagem de *P. ostreatus* (DF33), quando cultivada em diferentes meios de cultura com e sem dextrose.

Substrato	Período de incubação (dias)			
	1	2	3	4
Sem dextrose				
Capim elefante	0,2260 a	1,3640 a	2,6060 a	3,8120 a
Palha de soja	0,2540 a	1,0840 b	2,1620 b	3,0420 b
Cana-de-açúcar	0,1720 a	0,5800 c	1,1380 c	1,8280 c
Sabugo de milho	0,1520 a	0,5480 c	1,1240 c	1,6100 d
Com dextrose				
Capim elefante	0,3520 a	1,2460 a	2,3060 a	3,3960 a
Palha de soja	0,3260 a	1,0920 a	2,0990 a	2,9380 b
Cana-de-açúcar	0,1820 a	0,7620 b	1,3980 b	2,2080 c
Sabugo de milho	0,1760 a	0,6580 b	1,2220 b	1,7020 d

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

Para a variável velocidade de crescimento miceliano diário, a análise da variação mostrou diferenças significativas para a interação entre linhagens, substratos, dextrose e dias de avaliação. A análise das médias pelo teste de Duncan mostrou que para todas as linhagens estudadas o meio à base de capim-elefante adicionado ou não de dextrose foi superior aos demais, não diferindo apenas dos meios à base de sabugo de milho na linhagem POR01/03. Para as linhagens de *Pleurotus*, a que apresentou maiores médias na velocidade de crescimento diário foi a POR01/03, estatisticamente superior às demais em todos os meios analisados (Tabela 2), evidenciando que cada linhagem é um isolado diferente possuindo, assim, características genéticas e expressão de genes diferentes umas das outras. De acordo com BILAY *et al.* (2000) ao testarem o crescimento de 30 espécies de cogumelos comestíveis e medicinais em diferentes meios de cultura, concluíram que o crescimento miceliano destas espécies estudadas é diferente e depende do tipo de meio utilizado e do pH.

Durante o período de incubação pode-se observar que a linhagem POR01/03 apresentou maiores médias de crescimento quando cultivada em meio à base de capim elefante, não diferindo estatisticamente de sabugo de milho quando não foi adicionada a dextrose. Quando a dextrose foi adicionada, este substrato não apresentou diferenças significativas de palha de soja e sabugo de milho nos dois primeiros dias de incubação e de sabugo de milho no terceiro dia. Os meios à base de cana-de-açúcar também mostraram médias inferiores aos demais meios durante a incubação (Tabela 3).

Já para a linhagem BF24, observou-se que durante o período de incubação que os meios de cultura à base do substrato capim-elefante adicionados ou não de dextrose foram superiores aos demais meios a partir do segundo dia de incubação, e quando esta linhagem foi cultivada nos meios à base de sabugo de milho apresentaram médias inferiores aos demais meios para a velocidade de crescimento (Tabela 4).

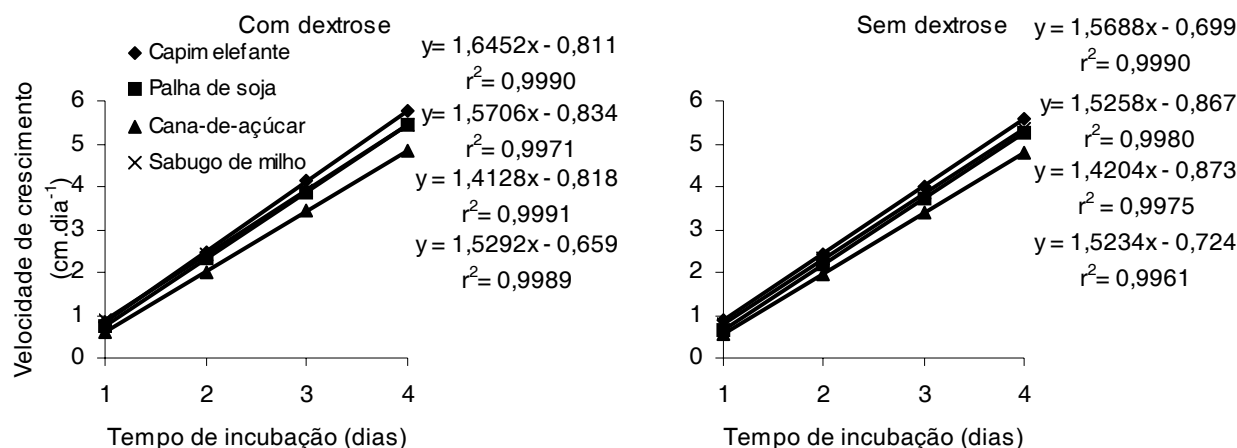


Fig. 1 - Velocidade de crescimento da linhagem POR01/03 em meios com diferentes substratos adicionados ou não de dextrose.

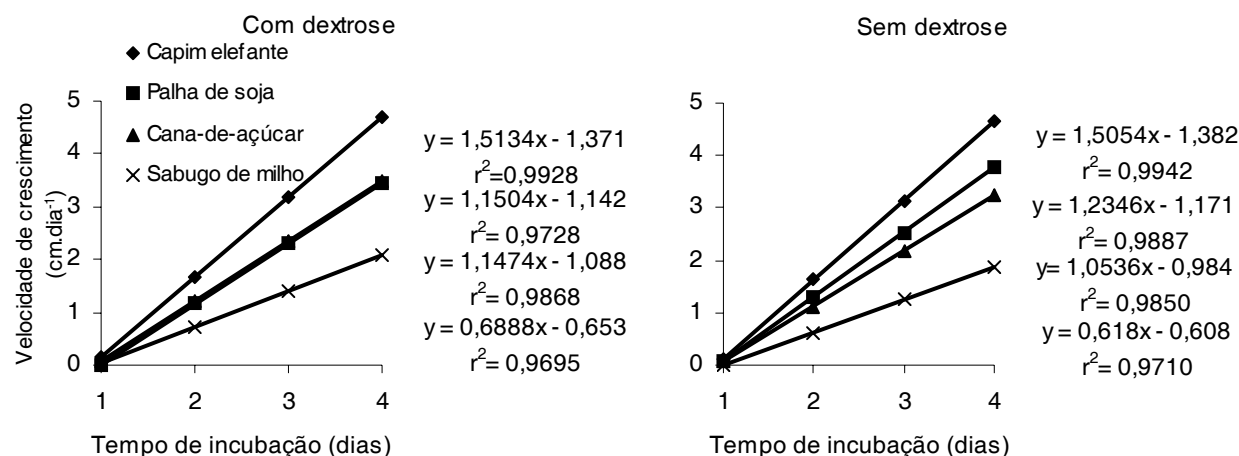


Fig. 2 - Velocidade de crescimento da linhagem BF24 em meios com diferentes substratos adicionados ou não de dextrose.

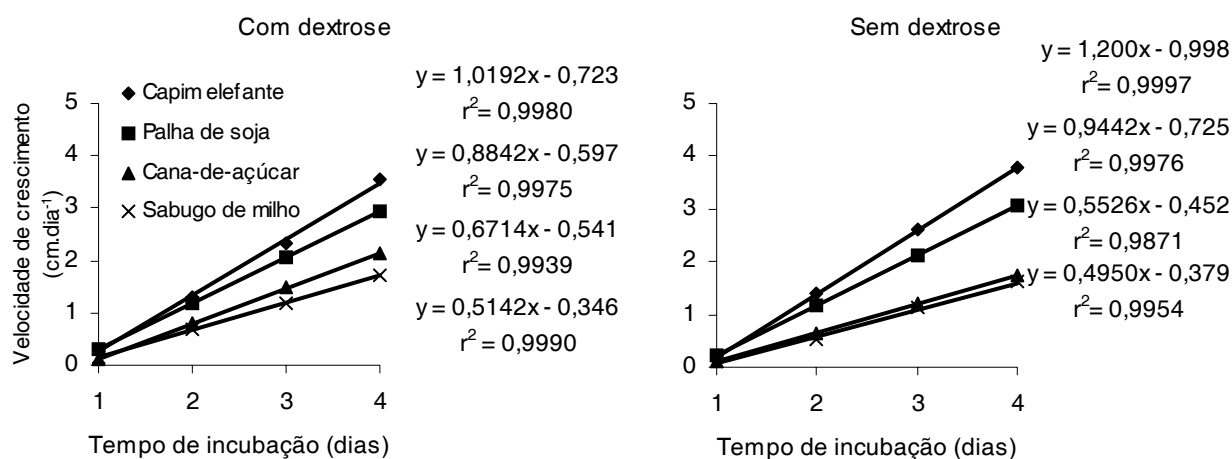


Fig. 3 - Velocidade de crescimento da linhagem DF33 em meios com diferentes substratos adicionados ou não de dextrose.

Para a linhagem DF33 observou-se que durante o período de incubação o meio à base de capim elefante sem adição de dextrose mostrou-se superior aos demais, já quando dextrose foi adicionada os meios à base de capim elefante e à base de palha de soja foram superiores aos demais não diferindo entre si (Tabela 5).

Os dados referentes a velocidade de crescimento diário do micélio foram ajustados a um modelo linear. Para todas as linhagens, o meio à base do substrato capim-elefante propiciou maior velocidade de crescimento, adicionados ou não de dextrose, quando comparados aos demais meios de cultura utilizados (Figs. 1, 2 e 3). Na Figura 1 verifica-se que o meio à base do substrato cana-de-açúcar foi o que apresentou a menor velocidade de crescimento para a linhagem POR01/03. Já para as outras linhagens estudadas, a menor velocidade de crescimento foi obtida em meio à base do substrato sabugo de milho.

O maior desenvolvimento do micélio no meio de cultivo à base de capim-elefante pode ser associado ao fato dos fungos basidiomicetos do gênero *Pleurotus* degradarem, facilmente, através da liberação de exoenzimas ligno-celulases e a ausência de compostos inibitórios ao crescimento, conforme verificado por SCHMIDT *et al.* (2003), ao inocular este fungo em feno de *Brachiaria decumbens* observaram diminuição no teor de hemicelulose do substrato.

Como observado na presente pesquisa, a utilização de capim-elefante pode ser uma alternativa, em função dos resultados serem superiores quando comparados à cana-de-açúcar. De acordo com DIAS *et al.* (2003), os cogumelos do gênero *Pleurotus* são cultivados tradicionalmente em bagaço de cana-de-açúcar, sendo que mesmo em regiões produtoras este resíduo tem-se tornado escasso, sendo de extrema importância a realização de pesquisas que busquem novos substratos como alternativa para o cultivo destes cogumelos.

Ao utilizar substratos à base de serragem de eucalipto e cana-de-açúcar no cultivo de *L. edodes*, REGINA (2001) observou que embora a serragem tenha se mostrado o melhor substrato para o cultivo deste cogumelo, o bagaço de cana-de-açúcar proporcionou inicialmente velocidades maiores. Segundo esta pesquisadora isso se deve a quantidade de nutrientes solúveis extraídos do bagaço de cana-de-açúcar, que possibilitou velocidade inicial superior. Isto não foi evidenciado neste experimento de cultivo com *Pleurotus*. Entretanto, corroboram com os dados publicados por MONTINI (2001), no cultivo de *L. edodes* em diferentes meios de cultivo, no qual observou que em uma das linhagens estudadas (LE98/51) a adição de bagaço de cana-de-açúcar ao meio de cultivo aumentou a velocidade de crescimento instantânea, assim como observado por REGINA (2001). Porém, em outra linhagem (LE98/53) desta mesma espécie estudada por MONTINI (2001) foi observado que a adição de bagaço de cana-de-açúcar ao meio de cultivo reduziu a velocidade instantânea de crescimento. Estes dois autores concluíram que a cinética de crescimento miceliano em superfície independe de linhagens e substratos.

Neste experimento com linhagens de *Pleurotus* spp. foram encontradas médias de crescimento miceliano de 58mm na linhagem POR01/03 em meio à base de capim-elefante e dextrose. KHAN *et al.* (1991) ao avaliarem o efeito de diferentes fontes de nitrogênio e carbono no crescimento radial de *L. edodes*, observaram que as melhores fontes de carbono foram sacarose, galactose e glicose, onde obtiveram o máximo crescimento radial de 17,6 mm. No cultivo de diferentes linhagens de *Lyophyllum decastes* em meio à base de batata-dextrose-ágar, KINUTA (1991) utilizou seis linhagens que foram incubadas a 24° C e outras cinco linhagens que foram incubadas a 27° C, após seis dias de cultivo avaliou o diâmetro da colônia formada e

observou que o crescimento miceliano da linhagem NLD003 foi o maior de todas as estudadas, onde se obteve diâmetro de colônia de 34 mm a 24°C e 41 mm a 27°C.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa pode-se concluir que o capim-elefante se sobressai como o substrato mais promissor para o preparo de meio de cultivo das linhagens estudadas dentre os substratos testados. A suplementação do meio de cultura com dextrose aumenta a velocidade de crescimento e a massa miceliana das linhagens de *Pleurotus*. Dentre as linhagens testadas, destaca-se POR01/03 conferindo maior velocidade de crescimento miceliano.

REFERÊNCIAS

- BARBIZAN, L.F.; MIAMOTO, M.; SCOLASTICI, C.; SALVADORI, D.M.F.; RIBEIRO, L.R.; EIRA, A.F.; CAMARGO, J.L.V. Influence of aqueous extract of *Agaricus blazei* on rat liver toxicity induced by different doses of diethylnitrosamine. *Journal of Ethnopharmacology*, v.83, p.25-32, 2002.
- BILAY, V.T.; SOLONKO, E.F.; BUCHALO, A.S. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 2000. v.2, p.779-782.
- BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatus* of edible fungi. In: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 1991. v.2, p.531-532.
- CAPELARI, M. *Atividade biodegradadora e cultivo de três espécies comestíveis de basidiomicetos: Pleurotus sp. e Agrocybe perfecta (Rick) Sing.* 1996. 154p. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- CHANG, S.T. Mushrooms from wastes. *Food Policy*, v.5, p.64-65, 1980.
- DENADAI, R.; LIMA, P.L.A.; SALVADORI, D.M.F.; EIRA, A.F.; BAZO, A.P.; RIBEIRO, L.R. The protective effect of mushroom (*Agaricus blazei*) teas on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. *Genetics and Molecular Biology*, v.21, n.3, p.179, 1998.
- DIAS, E.S.; KOSHIKUMO, E.M.S.; SCHWAN, R.F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciência e Agrotecnologia*, v.27, n.6, p.1363-1369, 2003.
- EICKER, A. The South African experience in growing *Pleurotus* spp. In: ELLIOTT, T.J. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 1995. v.2, p.869-875.
- EIRA, A.F. & MINHONI, M.T.A. *Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis*. 2.ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 115p.
- EIRA, A.F. *Cultivo do "cogumelo-do-sol" (Agaricus blazei (Murrill) ss. Heinemann)*. Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 2003. 203p.
- KHAN, S.M.; MIRZA, J.H.; KHAN, M.A. Studies on Shiitake mushroom (*Lentinula edodes* (Berck.) Pegler). In: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 1991. v.2, p.503-507.
- KINUTA, M. Cultivation of *Lyphylum decastes* (Fr.: Fr) Sing. In: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 1991. v.2, p.611-613.
- MARINO, R.H. *Produtividade de Pleurotus sajor-caju (Fr.) Sing. em função dos métodos de isolamento e produção de inoculantes*. 1997. 134p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química do Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.
- MARINO, R.H. *Melhoramento genético de Pleurotus ostreatus visando o cultivo axênico de linhagens resistentes ao calor*. 2002. 109p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Química do Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.
- MENOLI, R.C.R.N.; MANTOVANI, M.S.; RIBEIRO, L.R.; SPEIT, G.; JORDÃO, B.Q. Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* (Murrill) extracts on V79 cells. *Mutation Research*, v.496, p.5-13, 2001.
- MIZUNO, T.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T.; ITO, H.; SHIMURA, K.; SUMIYA, T.; ASAKURA, A. Antitumor activit and some properties of water-soluble polysacarides from "Himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murrill. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.54, p.2889-2896, 1990.
- MONTINI, R.M.C. *Efeito de linhagens e substratos no crescimento miceliano e na produtividade do cultivo axênico de shiitake Lentinula edodes (Berk.) Pegler*. 2001. 97p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C.L. Determinação da concentração de b-glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murril por método enzimático. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.3, p.312-316, 2003.
- REGINA, M. *Cinética do crescimento miceliano de Lentinula edodes (Berk.) Pegler em bagaço de cana-de-açúcar e serragem de eucalipto*. 2001. 87p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- REGINA, M.; EIRA, A.F.; NASCIMENTO, J.S.; MONTINI, R.M.C. Cinética do crescimento miceliano de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler em meio de cultura suplementado com diferentes porcentagens de farelos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21., 2001, Foz do Iguaçu. *Resumos*. Foz do Iguaçu: 2001. p.351.
- SCHMIDT, P.; WECHSLER, F. S.; VARGAS JUNIOR, F. M.; ROSSI, P. Valor nutritivo do feno de braquiária amonizado com uréia ou inoculado com *Pleurotus ostreatus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.6, p.2040-2049, 2003.

SILVA, V.V.; CAMPANHA, F.G., PERALTA, R.M. Otimização do crescimento micelial do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* utilizando resíduos de frutas como substrato. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE CASCAVEL E 1. SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E

TECNOLOGIA DE ALIMENTOS DO MERCOSUL, 1., 2004, Cascavel. *Resumos*. Cascavel: 2004. p.124.

Recebido em 10/8/05

Aceito em 11/9/05