



*Produção de Shiitake
em toras de eucalipto*



Sérgio Florentino Pascholati
Carla Mariane Marassatto
José Renato Stangarlin
Simone Cristiane Brand

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Casa do Produtor Rural

Produção de
**Shiitake em toras
de eucalipto**

Sérgio Florentino Pascholati
Carla Mariane Marassatto
José Renato Stangarlin
Simone Cristiane Brand

Casa do Produtor Rural

Av. Pádua Dias, 11 - Cx. Postal 9 · Bairro Agronomia · Piracicaba, SP
CEP 13418-900 · Fone (19) 3429-4178/3429-4200 · cprural@usp.br

Comissão de Cultura e Extensão Universitária

Presidente Prof. Dr. Pedro Valentim Marques em Exercício

Serviço de Cultura e Extensão Universitária

Chefe Administrativo Maria de Fátima Durrer

Coordenação editorial Marcela Matavelli

Revisão técnica Fabiana Marchi de Abreu

Foto capa Sérgio Florentino Pascholati

Fotos da cartilha Marcela Matavelli
Mariana Calencio
Ellen Camila Silva
Marylin Del Nero Grecco

Layout de capa José Adilson Milanêz

Editoração eletrônica Maria Clarete Sarkis Hyppolito

Impressão ESALQ/USP - Serviço de Produções Gráficas

Tiragem 3000 exemplares · 1ª Impressão (2014)

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Casa do Produtor Rural

Av. Pádua Dias, 11 · Cx. Postal 9 · Bairro Agronomia · Piracicaba, SP
CEP 13418-900 · Fone: (19) 3429-4178/3429-4200 · cprural@usp.br

Distribuição Gratuita · Proibida a comercialização

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Produção de shiitake em toras de eucalipto / Sérgio Florentino Pascholati ... [et al.]. - -
Piracicaba: ESALQ, 2014.
52 p. il.

Bibliografia.
ISBN 978-85-86481-34-5

1. Cogumelos comestíveis - Produção 2. Tora de eucalipto I. Pascholati, S. F.
II. Marassatto, C. M. III. Stangarlin, J. R. IV. Brand, S. C. V. Título

CDD 635.8
P964

Sérgio Florentino Pascholati¹
Carla Mariane Marassatto²
José Renato Stangarlin³
Simone Cristiane Brand⁴

¹ Professor Titular - Departamento de Fitopatologia e Nematologia - ESALQ/USP

² Aluna de Graduação em Engenharia Agrônoma - ESALQ/USP

³ Professor Doutor - UNIOESTE

⁴ Aluna de Doutorado - Departamento de Fitopatologia e Nematologia - ESALQ/USP

Produção de Shiitake em toras de eucalipto

Piracicaba
2014

Agradecimentos

- *Pró-Reitoria de Cultura e Extensão Universitária*
- *Programa Aprender com Cultura e Extensão*
- *Diretoria da ESALQ/USP*
- *Comissão de Cultura e Extensão Universitária*
- *Serviço de Cultura e Extensão Universitária*
- *Casa do Produtor Rural*
- *Departamento de Fitopatologia e Nematologia*
- *Ao Prof. Dr. Fernando Campos Mendonça do Departamento de Engenharia de Biosistemas*
- *Ao Prof. Associado Angelo Pedro Jacomino do Departamento de Produção Vegetal*
- *Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia e Nematologia*
- *À FAPESP*
- *Ao CNPq*

Apoio

- *Fundo de Fomento às Iniciativas de Cultura e Extensão da Pró-reitoria de Cultura e Extensão Universitária*
- *Comissão de Cultura e Extensão Universitária - CCEX*
- *Serviço de Cultura e Extensão Universitária - SVCEX*



Índice

Introdução	7
Aspectos básicos da biologia do fungo	9
Tipos de cultivo	11
Obtenção do inóculo	13
Produção de shiitake em toras de eucalipto	15
Seleção das toras	15
Confecção dos furos nas toras de eucalipto	17
Colocação do inóculo 'semente' nas toras de eucalipto	18
Vedação dos furos com parafina	20
Incubação	21
Estímulos térmico/mecânico e condução da frutificação	24
	27
Produção de shiitake a partir de substrato	27
Produção de shiitake em substrato composto por serragem	28
Etapas para a produção de shiitake em substrato formado por serragem	31
Produção de shiitake por substrato utilizando a técnica de Jun-Cao	31
Etapas para realização da técnica Jun-Cao	31
Preparo da gramínea: Produção do feno	33
Trituração da gramínea	33
Preparo do substrato	34
Inoculação no substrato	34
Incubação e produção dos cogumelos	

Colheita dos cogumelos cultivados em toras de eucalipto e em substratos (bloco de serragem e técnica Jun-Cao)	35
Pós-colheita	38
Pragas na produção de shiitake	40
Custo de produção do shiitake em toras de eucalipto	43
Cálculo da renda líquida	43
Produção do inóculo ‘semente’	45
Produção da matriz mãe e a matriz de trabalho	
Protocolo - Preparo e distribuição do meio de cultivo em placas	46
Materiais e equipamentos	46
Procedimento	47
Preparo de substrato com serragem para produção do inóculo	48
Bibliografia consultada	51

Introdução

O cogumelo shiitake foi o primeiro a ser cultivado pelo homem. Shiitake é o nome popular do fungo *Lentinula edodes*, que tem origem na língua japonesa e significa “shii” = árvore e “take” = cogumelo.

Foi descoberto pelo chinês Wu San Kyung, que ao caminhar por uma floresta, observou um tipo de cogumelo que se desenvolvia em troncos de árvores e assim o denominou de “cogumelo perfumado” e passou a cultivá-lo em sua propriedade.

Entre os anos de 1.500 e 1.600, a técnica de produção de cogumelos foi difundida pelos chineses. Atualmente, a China e o Japão são os principais produtores do cogumelo shiitake no mundo.

No Brasil, a produção do shiitake é recente, tendo seu início na década de 90. Atualmente, é o segundo cogumelo mais produzido e consumido no país, ficando somente atrás do champignon (*Agaricus bisporus*). A rápida expansão do cultivo e do consumo está relacionada às facilidades no aprimoramento de novas técnicas, das já existentes e baixo investimento de capital. Para os consumidores, o principal atrativo do cogumelo shiitake é o sabor característico e suas propriedades terapêuticas e curativas.

Estima-se que a produção de shiitake no Brasil seja superior a 200 t/ano, e a técnica mais comum é a do cultivo em toras de *Eucalyptus* spp. Outra forma conhecida é o ‘axênico’, onde o *L. edodes* é colocado em um substrato preparado com

8 Casa do Produtor Rural

materiais específicos, nutritivo para o crescimento do fungo. Nessa técnica, o custo de produção é maior do que em toras.

Mesmo com a facilidade de cultivo é comum alguns produtores não conseguirem atingir a produção potencial do shiitake, devido à falta de conhecimento técnico no manejo e cuidados intensivos. Para ter qualidade e rentabilidade na produção é importante escolher cor-

retamente o inóculo e o local, e ainda controlar a temperatura e a umidade do ambiente, evitando-se as contaminações com outros fungos.

Dessa forma, o objetivo desta cartilha é fornecer informações básicas sobre a produção do cogumelo comestível shiitake, demonstrando as técnicas de cultivo para uma produção bem sucedida comercialmente.

Aspectos básicos da biologia do fungo

O shiitake é um basidiomiceto pertencente ao Reino Fungi. É também conhecido como cogumelo ou ‘chapéu de sapo’, podendo ser encontrado na matéria orgânica em decomposição ou em qualquer outro tipo de substrato. Os fungos, na sua maioria, são multicelulares e constituídos de filamentos, denominados de hifas, que por sua vez, formam uma rede filamentosa mais resistente, denominada de micélio. A reprodução é realizada através de esporos sexuais ou assexuais que podem ser disseminados pelo vento, água de chuva, partículas de solo ou

pelo homem. Os esporos sexuais são chamados de basidiósporos e são observados na forma de um ‘pó branco’ durante a produção de shiitake, liberado pelo cogumelo maduro. Encontrando condições propícias para seu desenvolvimento, os esporos irão germinar e dar origem ao micélio primário (haplóide) que é improdutivo e incapaz de colonizar, sendo, portanto, necessária a fusão de hifas de micélios primários distintos (plasmogamia) para originar o micélio secundário (dicariótico), e dessa

forma, dar origem ao cogumelo (Figura 1).

Uma vez inoculado na madeira ou em qualquer outro substrato o fungo irá se desenvolver, ocupar o ambiente e formar o primórdio do corpode

frutificação (estrutura arredondada, branca e pequena), originando posteriormente, o cogumelo propriamente dito, que é subdividido em píleo (chapéu) e estipe (pedúnculo, haste).

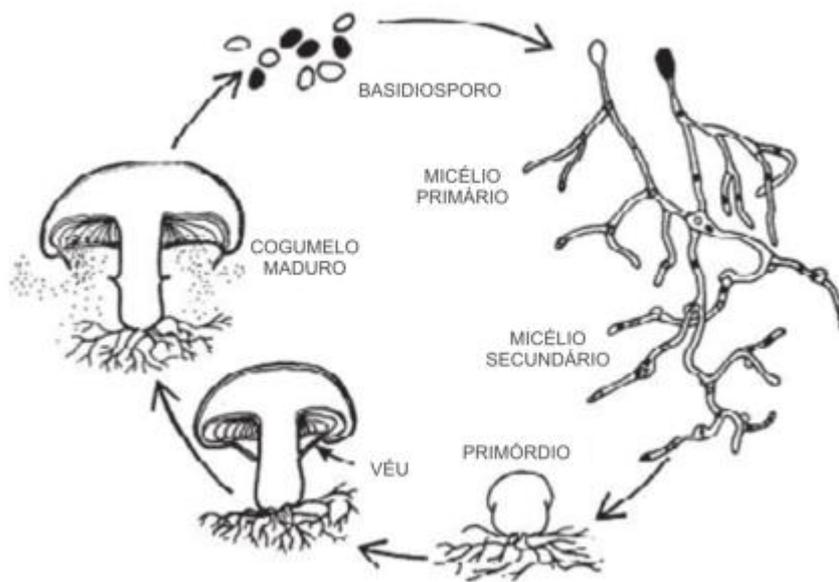


Figura 1. Ciclo de vida do cogumelo *Lentinula edodes* (shiitake)
Fonte: Pascholati et al., 1998

Tipos de cultivo

O fungo cresce e produz cogumelos através da degradação da madeira ou de algum substrato orgânico que contenha celulose. A forma de produção mais comum do shiitake é realizada através da inoculação do fungo em toras de espécies arbóreas de fácil acesso ao produtor, como por exemplo, o eucalipto.

O shiitake também pode ser cultivado em substratos, cuja composição pode conter serragem ou feno, adicionado a uma mistura de cal e farelo de trigo ou farelo de arroz. Este conjunto de insumos tem a finalidade de garantir um crescimento micelial de qualidade. Após realizar a mistura destes componentes, os mesmos deverão ser armazenados em sacos de

polipropileno e autoclavados para a esterilização e obtenção de um ambiente livre de microrganismos indesejáveis.

Comparando as duas técnicas de produção de shiitake (produção em toras de eucalipto ou em substrato), existem vantagens e desvantagens entre ambas, portanto, fica a critério do produtor escolher a técnica que melhor se adequa aos recursos existentes em sua propriedade e ao investimento que pretende fazer. A produção de shiitake em toras de eucalipto é um método tradicional, contendo etapas mais simples e de menor custo para o produtor que pretende iniciar a produção. Já a produção em substrato exige maior investimento onde, por exemplo, o preço do substrato (“blocos”) é quatro vezes maior do que

12 Casa do Produtor Rural

o preço da tora de eucalipto. Contudo, a produção por substrato também é maior, se comparado ao método de produção em toras de eucalipto.

Na cartilha será abordada didaticamente a produção de shiitake em

mourões de eucalipto, detalhando-se as fases: seleção de toras, inoculação, indução e frutificação (Figura 2). Algumas noções sobre a técnica de produção em substrato também serão abordadas.

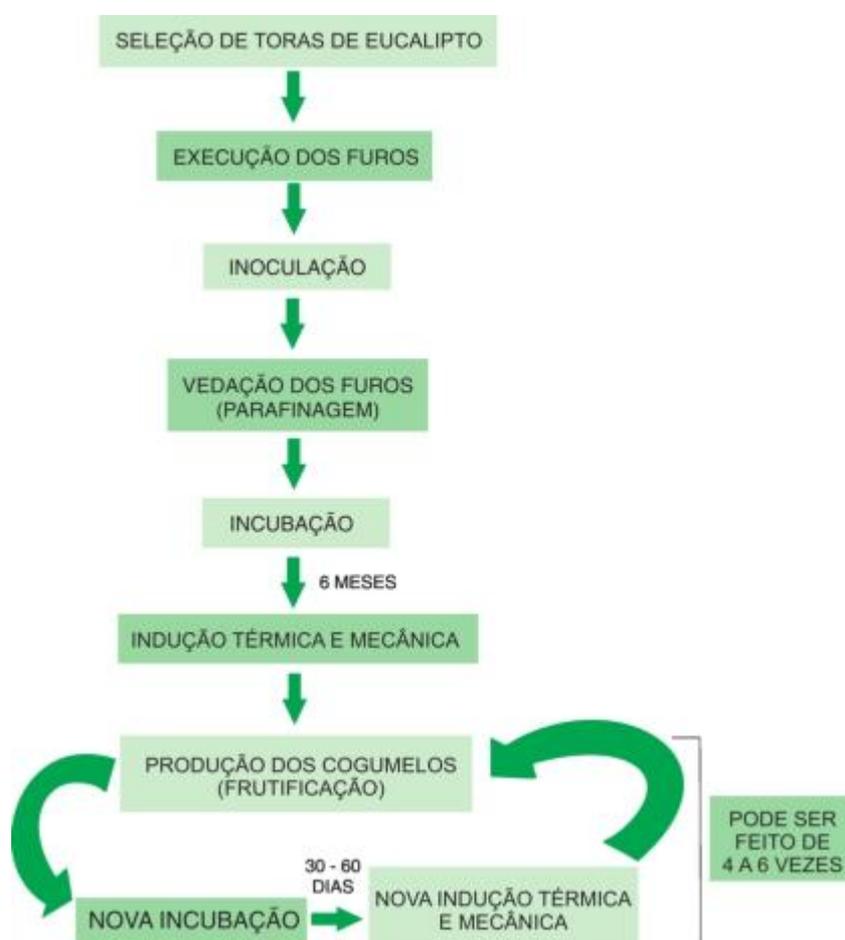


Figura 2. Etapas para produção de shiitake em toras de eucalipto

Obtenção do inóculo

O inóculo, também, equivocadamente denominado de ‘semente’, é representado por partes do fungo (hifas/micélio) que é cultivado em meio esterilizado para introdução nas toras de eucalipto ou no substrato. A produção da ‘semente’ requer estrutura apropriada, de alto custo (investimento em equipamentos); profissional com conhecimento na área de microbiologia e monitoramento constante do material, visando a obtenção do inóculo ‘semente’ de qualidade e sem contaminação com outros microrganismos.

Aos pequenos produtores torna-se economicamente mais viável a aquisição do inóculo ‘semente’ de empresas especializadas, devido ao alto investimento em infraestrutura laboratorial e mão de obra

especializada para a produção do inoculante. O inóculo ‘semente’ pode ser fornecido em saco de polipropileno (mistura de pó de serra e outros insumos que formarão um meio propício para o desenvolvimento do fungo, normalmente com capacidade de 1 litro), como mostra a Figura 3, proporcionando a inoculação de 10 mourões. O material também pode ser encontrado na forma de cavilhas ou ‘plugs’ (madeira de eucalipto cortada no tamanho de 2 cm de comprimento e diâmetro em torno de 0,7 cm) para sua introdução nos furos realizados nas toras (Figura 4).

Para os produtores que pretendem investir na produção do inóculo ‘semente’, os procedimentos para sua obtenção estão explicados detalhadamente mais adiante.



Figura 3. Inóculo 'semente' composto por serragem, farelo de arroz e água



Figura 4. Inóculo 'semente' em forma de cavilhas ou 'plugs'

Produção de shiitake em toras de eucalipto

Seleção das toras

Os mourões de eucalipto são muito utilizados na produção de shiitake, devido à facilidade de obtenção pelo produtor, menor custo e bons resultados em nível comercial de produção. Existem diversas espécies de eucalipto com propriedades físicas e químicas diferentes, portanto, são indicadas para o cultivo do cogumelo shiitake: *Eucalyptus saligna* (vermelho), *E. grandis* (branco), *E. dunii*, *E. globulus* (comum) e *E. camaldulensis*. A espécie *E. citriodora* (lima ou de cheiro) não é recomendada para o cultivo do shiitake devido a presença de resinas e substâncias voláteis, que podem comprometer o desenvolvimento do fungo.

No cultivo do shiitake, os mourões devem ter 1 m de comprimento e diâmetro variando entre 10 a 12 cm, além de alta densidade, cerne ou medula pequena e casca grossa e íntegra. É importante destacar que as toras devem ser originárias de solos férteis, visando maior concentração de nutrientes para o melhor desenvolvimento do cogumelo. A idade da planta é outro fator a ser observado, pois esse fator influenciará no diâmetro do mourão e na densidade da madeira. Nesse sentido, é importante visitar a propriedade em que será realizado o corte do eucalipto para a produção dos mourões,

com a finalidade de obter informações sobre adubação e histórico da área, idade das plantas e espécie de eucalipto.

O intervalo de tempo entre o corte e o uso dos mourões para inoculação deverá ser de até sete dias. Nesse período o armazenamento dos mourões deve ser feito em um local sombreado, evitando incidência direta de raios solares e empilhados na horizontal (Figura 5).

Esse procedimento evita a perda de água excessiva e auxilia na obtenção de uma umidade ideal de 35% a 55% nos mourões, teor adequado para facilitar a recuperação do fungo após o estresse causado na etapa de inoculação.



Figura 5. Empilhamento dos mourões em local sombreado

As toras de eucalipto na etapa de inoculação, primeiramente devem ser selecionadas, descartando-se os mourões tortos. Posteriormente faz-se a limpeza, retirando-se brotos, folhas e galhos (Figura 6). Com este procedimento, evita-se a formação de meios (abrigos) que propiciem o desenvolvimento de fungos contaminantes e o alojamento de insetos.



Figura 6. Limpeza das toras de eucalipto

Confecção dos furos nas toras de eucalipto

A confecção dos furos nas toras de eucalipto permitirá a introdução do inóculo 'semente' para o crescimento do fungo no interior do mourão.

Inicialmente são realizados furos nas toras com uma furadeira elétrica, preferencialmente com alta rotação, para obtenção de furos melhor acabados e sem rebarbas (rotação mínima 2500 rpm; rotação ideal 3500 rpm; Figura 7A).

Os furos devem ter profundidade de 2 cm por 1,2 cm de diâmetro (broca com ½ polegada). A profundidade é obtida através da adaptação de um limitador de furo acoplado a furadeira elétrica (Figura 7B). Os furos devem ser dispostos em linhas (padrão em zigue-zague) (Figura 8). O número total de linhas pode ser calculado através do valor do diâmetro do mourão dividido por 2,5 e o número total de furos deve ser, aproximadamente, quatro vezes o valor do diâmetro do mourão, mantendo-se uma distância de 10 cm entre eles. Por exemplo, para a inoculação em um mourão de 1 m de comprimento e 12 cm de diâmetro, serão necessários aproximadamente 48 furos distribuídos em cinco linhas. A quantidade de furos em cada linha irá variar de sete a dez, sendo que quanto maior a quantidade de furos maior será o uso do inóculo 'semente'.

Após a confecção dos furos é realizada a inoculação das toras, através da transferência do inóculo 'semente', com o auxí-

lio de um instrumento denominado de inoculador.



Figura 7. Furadeira de alta rotação com limitador de furo acoplado a máquina e broca de ½ polegada (A); Adaptador para realização dos furos (B)



Figura 8. Realização dos furos na tora de eucalipto

O espaço físico para a condução das diferentes etapas (confeção dos furos, inoculação e vedação) deve ser o mesmo, já que estes procedimentos devem ser realizados conjuntamente. O local deve ser coberto e limpo, evitando dessa forma a incidência de sol, vento e possíveis contaminações a céu aberto. As toras devem ser colocadas em caletes adaptados para cada etapa, como mostrado na Figura 9, ou pode-se utilizar uma mesa adaptada em suas extremidades com madeiras, impedindo a movimentação das toras. Esse procedimento facilitará o manuseio das toras durante a confecção dos furos, inoculação e vedação.



Figura 9. Cavalete adaptado para a confecção dos furos, inoculação do fungo e vedação para a produção de shiitake em toras de eucalipto

Colocação do inóculo ‘semente’ nas toras de eucalipto

Imediatamente após a realização dos furos nas toras é realizada a inoculação, que consiste no preenchimento dos furos com o inóculo ‘semente’.

Para a inoculação é necessária a assepsia dos equipamentos, com álcool na concentração de 70%, com a finalidade de evitar contaminações.

Existem vários métodos de inoculação, inclusive com o uso dos dedos, porém não é recomendado devido à demora do procedimento e o aparecimento de fungos contaminantes. Para que a inoculação seja feita de modo racional e tecnificada, visando uma produção de qualidade e retorno econômico, é aconselhável a utilização de aparelhos inoculadores, que podem ser de dois tipos: inoculador tipo ‘caneta’ e inoculador de copo. O inoculador tipo caneta tem a capacidade de inocular um furo por vez após a realização da recarga com o inóculo ‘semente’ (Figura 10). Nesse caso a inoculação por tora leva em torno de 6 a 10 minutos, dependendo do operador, e o valor de custo do equipamento varia entre R\$ 50,00 e R\$ 60,00 reais.

Já o inoculador com reservatório ou ‘inoculador de copo’ (Figura 11), promove a inoculação das toras em tempo menor, porém, pode apresentar problemas de entupimento devido à granulometria do material. O custo do inoculador (modelo nacional) é de aproximadamente R\$ 350,00.



Figura 10. Inoculador tipo caneta para inoculação do fungo em toras de eucalipto

Efetuada a escolha do inoculador, o próximo passo é preparar o substrato para inseri-lo nas toras de eucalipto. Em uma bacia (lavada com detergente e álcool 70% e seca com panos limpos), é despejado o inóculo ‘semente’ (Figura 3), e com as mãos (usando-se luvas) deve-se homogeneizar o mesmo, obtendo um material solto (Figura 12), o que facilitará seu uso principalmente nos inoculadores com reservatório. A inoculação deve ser realizada com o preenchimento completo do volume dos furos.



Figura 12. Inóculo ‘semente’ na bandeja após a sua homogeneização



Figura 11. Inoculador de copo para inoculação de toras de eucalipto

No caso da inoculação por cavilhas, a sua introdução por completo nas toras deve ser realizada com o auxílio de uma marreta ou martelo (Figura 13). O tempo gasto para a inoculação de cada tora fica em torno de 1 minuto, sendo um procedimento rápido dependendo do operador.



Figura 13. Inoculação com cavilhas contendo o fungo

Vedação dos furos com parafina

Após a inoculação é importante verificar o preenchimento de todos os furos das toras antes de iniciar a etapa de vedação. A vedação ou parafinação é o procedimento realizado após a inoculação e consiste na colocação de uma 'película' de parafina derretida sobre os furos inoculados, cuja função é proteger o inóculo 'semente' do meio externo, contra microrganismos e pragas, e também do ressecamento.

Os materiais necessários para a parafinação são fogão ou fogareiro, botijão de gás, fósforo, panela, parafina, esponja de aço, arame fino e vareta de madeira ou bambu (de 30 a 40 cm de comprimento).

O procedimento consiste em derreter a parafina em uma panela de 30 cm de diâmetro e com boa profundidade (Figura 14). A parafina deve ser colocada em blocos pequenos na panela para facilitar o seu derretimento por completo ou pode-se adquiri-la no formato de pastilhas, facilitando o derretimento do material. A temperatura ideal da parafina para a vedação é de 115°C, e pode ser confirmada através da liberação de fumaça branca na panela. É importante fechar a panela com uma tampa, para evitar problemas de combustão e inalação da fumaça tóxica pelo operador.



Figura 14. Panela contendo a parafina derretida pronta para vedação dos furos inoculados

A aplicação da parafina deve ser realizada com o auxílio de uma vareta de madeira ou bambu contendo uma esponja de aço na ponta ('boneca'). Para produção deste material, também chamado de 'trouxinha', faz-se o amarrão com arame de uma esponja de aço na ponta da vareta de madeira ou de bambu (Figura 15). Molha-se a 'boneca' na parafina derretida, onde a mesma é batida rapidamente em cada um dos furos (uma única batida em cada furo, formando uma película com diâmetro duas vezes maior do que a área de inoculação) e repassando com o aparecimento de falhas na vedação (Figura 16).

Geralmente, uma mergulhada na parafina é suficiente para fechar uma linha de dez furos. É importante salientar que se deve realizar a vedação também dos ferimentos existentes nas toras, pois podem proporcionar o aparecimento de contaminantes.



Figura 15. 'Trouxinha' usada para a parafinação e vedação dos furos



Figura 16. Vedação com parafina dos furos inoculados

A solidificação ideal da parafina acontece quando a 'película' aplicada ficar transparente na tora, conferindo maior adesão. Caso fique com a coloração branca, a parafina se tornará quebradiça e sem adesão, podendo facilitar a entrada de contaminantes, fazendo-se necessário o descarte do mourão contaminado.

A quantidade de parafina para vedação de 150 a 200 toras de eucalipto inoculadas é de aproximadamente 5 kg. Deve-se evitar o excesso do material, pois a tora ficará impossibilitada de absorver a água, realizar a respiração e a troca gasosa do fungo shiitake no seu interior. A execução bem sucedida da parafinação é fundamental para a proteção do inóculo 'semente' contra possíveis contaminantes e ressecamento.

Incubação

A incubação é o período de descanso dos mourões, que após serem inoculados e vedados com parafina, de-

vem ser colocados em local coberto e sombreado, de forma a evitar a incidência direta de raios solares, mantendo-se a temperatura em torno de 20°C a 27°C e umidade em torno de 60%. As toras devem ser empilhadas no formato de uma ‘fogueira’ (Figura 17A) e mantidas assim por um período mínimo de seis meses, podendo variar até 12 meses, dependendo das condições climáticas locais. As pilhas devem ficar 25 cm afastadas do solo e apoiadas em calços (tijolos), como mostra a Figura 17B.



Figura 17. Pilhas montadas corretamente (A);
Uso de tijolos para sustentação da pilha (B)

Durante o período de incubação, as pilhas devem ser molhadas e revolvidas. O empilhamento em forma de ‘fogueira’ tem a finalidade de facilitar a ventilação e a infiltração da água entre as toras, de forma homogênea. Dessa forma, o empilhamento pode ser realizado em espaços pequenos, sendo utilizada uma área aproximada de 1,7 m² para cada pilha.

Na montagem dessa estrutura são selecionadas duas toras, preferencialmente as mais grossas, que serão sustentadas por tijolos e acima do solo, para evitar contaminações. Sobre elas devem ser colocados de quarto a cinco mourões, com espaçamento de 15 cm entre eles. Deve-se sempre colocar nas extremidades das pilhas as toras de maior espessura.

Quantidades acima de cinco mourões por fileira prejudicam o espaçamento e a ventilação, formando um meio propício para o aparecimento de contaminantes, ocasionando perda de produtividade e descarte (Figura 18A).

A altura da pilha deve facilitar acesso ao operador (altura máxima de 2 m) para a realização do revolvimento mensal.

A inversão dos mourões (revolvimento) é importante para a colonização uniforme do shiitake no interior da madeira. A cada mês, deve-se fazer a inversão, realizando-se um giro de 180° em cada mourão antes de se montar

uma nova pilha, colocando as toras que estavam em cima para baixo na nova pilha e vice-versa. O espaço pode ser simples, feito de telado tipo sombrite, cobertura de bambu ou barracões (Figura 19).



Figura 18. Empilhamento incorreto, tornando ambiente propício para contaminantes (A); Empilhamento efetuado corretamente (B)



Figura 19. Estufa com telhado e cobertura plástica, para incubação das toras

Nesta fase é necessário o molhamento ou ‘irrigação’, das toras, sendo esta realizada três vezes ao dia, distribuídos nos períodos da manhã, meio do dia e final da tarde. O excesso de água, além de acelerar o apodrecimento da tora (escurecimento) também facilita o surgimento de fungos contaminantes. Já a falta de água causa o ressecamento das toras. O importante é que o molhamento seja realizado em pequenos volumes de água e em períodos curtos, com auxílio de uma mangueira ou instalação de um sistema simples de irrigação com temporizador. É importante salientar que o cultivo do cogumelo nunca

deve ser abandonado, sendo necessário um acompanhamento diário.

Após três semanas, é possível verificar o desenvolvimento do fungo na região inoculada. Ao redor dos furos haverá alteração da cor e o amolecimento da madeira, bem como o aparecimento de manchas brancas nas extremidades dos mourões (Figura 20).



Figura 20. Alterações na casca e manchas brancas nas extremidades dos mourões

Estímulos térmico/mecânico e condução da frutificação

Após o período de seis meses de incubação, os mourões serão submetidos a um estímulo térmico e mecânico para a indução dos primórdios dos cogumelos. Os estímulos têm a função de realizar um ‘choque’ no

material e impulsionar a saída e a formação dos cogumelos.

Em caso de dúvida do momento ideal para a indução da frutificação, sugere-se que seja feita uma amostragem com 10% das toras - que se pretende dar o choque térmico - e se proceder a um teste de frutificação. Se a produção obtida alcançar em média 200 gramas por tora ou mais, continua-se com os estímulos térmico e mecânico no restante das toras.

Para estimular a produção do fungo é realizado um choque térmico na madeira. As toras são organizadas em um recipiente, como tanque de alvenaria, caixa d’água ou tambores (Figura 21) e, dessa forma, é feita a imersão por um período de 12 horas em água fria (10°C abaixo da temperatura ambiente).



Figura 21. Exemplo de caixas d’água utilizadas para a realização do choque térmico

O resfriamento da água pode ser feito com a adição de gelo (aproximadamente quatro barras de gelo para 1.000 litros de água ou através de um siste-

ma de refrigeração com serpentina. O choque térmico deve durar aproximadamente de 12 a 16 horas, dependendo da absorção de água pelas toras. É aconselhável realizar esse procedimento ao entardecer, quando as temperaturas são mais amenas.

Para evitar a flutuação das toras dentro do tanque, recomenda-se a colocação de ripas de madeiras nas laterais do tanque, prendendo-se com cordas, pesos ou correntes. O objetivo da imersão é dificultar a respiração do fungo, aumentar a umidade e efetuar o resfriamento das toras, induzindo a formação dos cogumelos.

Após o período de imersão, é realizado o estímulo mecânico, que consiste em levantar as toras verticalmente a uma altura de aproximadamente 45 a 60 cm do solo e soltar, deixando a madeira bater livremente no chão, porém guiada pelas mãos, sem deixar tombar. Este procedimento deve ser feito uma única vez sobre um piso firme ou em uma pedra. A medida que as toras envelhecem, deve haver mais cuidado com o material ao se realizar este processo, principalmente a partir do 5.º choque térmico, para que não ocorra seu descarte antes do tempo.

Após esses estímulos térmico e mecânico as toras são armazenadas em ambiente protegido, com temperatura em torno de 25°C (ideal em torno de 21°C), com boa ventilação, pois o fungo libera gás carbônico que, em grandes concentrações no ambiente, inibe a formação

do cogumelo. Para que o cogumelo não fique com aspecto pálido, o ambiente precisa ser medianamente iluminado, pois a luz influencia diretamente na coloração e firmeza do píleo (chapéu do cogumelo).

As toras são colocadas na posição vertical, com 15 cm de espaçamento entre elas (Figura 22). O local - onde serão colocadas as toras na fase de frutificação - deve ser fechado para impedir a entrada de animais que se alimentem dos cogumelos, além disso, o chão deve ser protegido com pedra britada ou coberto preferencialmente por algum tipo de piso ou concreto, para evitar a contaminação e o contato direto das toras com o solo. Nas primeiras 24 horas, os mourões deverão ser borrifados com água, para se manter a umidade relativa do ar próxima à 90%.

Após esse período, a umidade pode ser controlada molhando-se o chão e as paredes, mantendo assim a umidade relativa do ar em torno de 70%. Os primórdios aparecerão entre dois e três dias, após o processo de indução (Figura 23).

A partir do quarto dia a água deve ser reduzida gradualmente até seu encerramento por completo no sétimo dia (próximo da colheita). Deve-se evitar molhar o cogumelo em qualquer etapa após o aparecimento de seus primórdios. O molhamento do cogumelo pode acarretar em perda de qualidade do produto final, além de causar manchas no píleo, diminuindo seu valor comercial.



Marylin DelNeroGrecco(Funghi&Flora)

Figura 22. Colocação das toras para a etapa de frutificação



Marylin DelNeroGrecco(Funghi&Flora)

Figura 23. Mourão de eucalipto com os primórdios e cogumelos do shiitake.

Produção de shiitake a partir de substrato

O cogumelo shiitake pode se desenvolver em uma ampla variedade de materiais compostos por celulose. Dentre algumas alternativas para o cultivo do shiitake em toras de eucalipto, tem-se a produção em substrato (mistura contendo material volumoso e insumos), que pode ser composto por serragem, resíduos agrícolas e forragens, dentre outros.

O método de cultivo em substrato pode ser feito com serragem (madeira de eucalipto) ou composto por gramínea (técnica de Jun-Cao).

Produção de shiitake em substrato composto por serragem

Antigamente o homem buscava o cogumelo na floresta. Observando a natureza, tentou reproduzi-lo de forma natural até a dominação da arte de produção. Os estudos científicos tiveram início na China, com o aprimoramento das técnicas de produção. Avanços ocorreram na década de 50 com a inoculação de esporos e micélio, mas foi na década de 70 que resultados expressivos surgiram

com a produção em substrato de serragem misturada com farelo de arroz (suplemento que proporciona alta velocidade de crescimento micelial) e água, e utilizando saco plástico como recipiente (Figura 24). Assim, se obteve um meio nutritivo e adequado para o desenvolvimento do cogumelo. Este novo método contribuiu para a preservação dos recursos florestais e facilitou o aumento da produtividade para fins comerciais.



Figura 24. Sacos de polipropileno contendo o substrato para a produção de shiitake

A técnica de cultivo de shiitake em substrato de serragem é uma alternativa ao uso da tora de eucalipto, possibilitando o controle e a previsibilidade da produção. Apesar de possuir um custo mais elevado podendo custar o triplo do valor do cultivo em toras de eucalipto - a técnica tem sido adotada pelos produtores, pois oferece um rendimento de 800 g/1 kg de substrato, enquanto que em toras de eucalipto obtém-se em torno de 400 g/tora.

Etapas para a produção de shiitake em substrato formado por serragem

Tanto no cultivo em tora como no substrato, o fungo se desenvolve da mesma maneira e nas mesmas fases: inoculação, incubação, indução seguida da frutificação e repouso (Figura 25).



Figura 25. Cronograma de produção em substrato de serragem

No cultivo de shiitake com substrato, o material pode ser adquirido em empresa especializada na forma de blocos (1 kg) já inoculados. A próxima etapa é a incubação, onde o material fica em re-

pouso para que haja colonização do fungo nos blocos (crescimento micelial). A duração dessa etapa geralmente é de quatro meses, porém dependerá das condições climáticas de cada região, já que a melhor temperatura para o desenvolvimento do fungo varia entre 20°C e 27°C.

Na fase de incubação, o armazenamento dos blocos deve ser feito em ‘estantes’, com ripas de madeira de forma simplificada (Figura 26), em local coberto, com umidade relativa de aproximadamente 60%.

Durante o período de incubação, será observado o desenvolvimento micelial do fungo. Após quatro meses, os blocos ficarão com aparência esbranquiçada, prontos para a próxima etapa que será a indução.

A indução consiste no estímulo térmico, sendo que os blocos deverão ser colocados durante 24 horas em um tanque com gelo, chegando a uma temperatura de 3°C. Esta etapa tem a função de induzir a frutificação dos cogumelos.

Após a etapa da indução, será realizado o processo de frutificação para a produção dos cogumelos. Nesse sentido é retirado o saco plástico de cada bloco contendo o substrato colonizado e realiza-se a armazenagem em estantes no interior de um galpão ou estufa, própria para a frutificação (Figura 27).



Figura 26. Estante de madeira vazada (A); Estantes com substratos, na etapa de incubação (B)



Figura 27. Armazenamento do substrato em forma de blocos, após a indução para a produção dos cogumelos. Repare que o saco plástico foi retirado

O espaço deve ser coberto, com temperatura variando entre 23°C e 25°C e umidade relativa em torno de 60%, sendo necessário realizar a ‘irrigação’ na forma de aspersão para manter o ambiente úmido, evitando o contato direto da água com os cogumelos.

Após o armazenamento dos blocos, a frutificação ocorrerá em no máximo 10 dias (Figura 28). O substrato pode ser reutilizado até quatro vezes, realizando sempre o repouso e repetindo-se o choque térmico. Após este período, torna-se inviável reutilizá-lo, devido à exaustão dos nutrientes, porém pode ser utilizado

como adubo no cultivo de espécies vegetais.



Figura 28. Etapas de frutificação: Primeiros primórdios (A); Formação do cogumelo (B); Cogumelo pronto para colheita (C)

Produção de shiitake por substrato utilizando a técnica de Jun-Cao

A palavra Jun-Cao significa Jun = fungo e Cao = gramínea. Essa técnica surgiu na década de 80 na China, onde a produção de cogumelo é feita utilizando a gramínea como principal substrato. Apresenta diversos benefícios ecológicos, sociais e econômicos, devido aos materiais utilizados serem provenientes da natureza e de fácil obtenção, sem a necessidade de se realizar o corte de madeiras. Além disso, a produção do shiitake é aproximadamente a mesma que em toras, obtendo assim, uma rentabilidade econômica.

O Jun-Cao é uma técnica vantajosa, pois o Brasil possui uma extensa área com alta produção de gramíneas, principalmente na época das águas (verão). Atualmente, no país, a técnica vem sendo estudada na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Recursos Genéticos e Biotecnologia e pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Outras vantagens são a utilização de diversos tipos de gramíneas; baixo custo de produção; curto período de cultivo; praticidade e facilidade de produção em pequena ou grande escala. Porém, a produção do cogumelo pela técnica Jun-Cao exige um custo maior em investimento; área para produção de feno (exigências nutricionais, pasto de boa qualidade);

triturador de gramínea, motossgradeira ou roçadeira, equipamento (autoclave) e investimento em laboratório. Além disso, é necessário conhecimento do método de fenação.

Etapas para realização da técnica Jun-Cao

Como essa técnica consiste em produzir o cogumelo shiitake a partir de substrato contendo a gramínea (principal constituinte) e outros suplementos, exigidos para o bom desenvolvimento micelial do fungo, o cultivo passa pelas seguintes etapas: corte e fenação da gramínea, trituração da forrageira, adição de insumo, umedecimento, ensacamento, tratamento térmico, semeadura, indução e produção de cogumelos (Figura 29).

Preparo da gramínea: Produção do feno

O feno nada mais é do que a gramínea picada, seca e estocada (Figura 30). Possui as mesmas características nutricionais de uma forragem no campo, porém quando seca pode-se realizar seu armazenamento, ficando disponível em qualquer época do ano.

As etapas de produção do feno consistem em ceifa, viragem e enleiramento. A ceifa é o processo de corte e pode ser feita manualmente, por roçadeira ou motossgradeira, ou ainda pela ceifadeira.



Figura 29. Etapas na produção de shiitake usadas na técnica de Jun-Cao



Figura 30. Feno para a produção do substrato pela técnica de Jun Cao

Depois de cortada, a forrageira ficará exposta a céu aberto para desidratação. Alguns cuidados devem ser tomados para diminuir a perda do material, como evitar a realização do corte próximo à época chuvosa, o que influencia na secagem e na qualidade nutricional do material. Recomenda-se que o corte seja feito no período da manhã, após a evaporação do orvalho, facilitando a perda de água por evaporação até se obter uma quantidade aproximada de 20% de água em sua composição.

A segunda etapa consiste na viragem, que é o revolvimento da forrageira com um garfo ao longo do dia para a desidratação de todo material exposto em campo. Para conferir a desidratação é recomendado levar o material à estufa e fazer a comparação dos pesos do material úmido e seco. Por exemplo, em uma amostragem de 20 g de feno realiza-se a subamostra homogeneizando-se com as mãos e separando-se então duas subamostras de 10 g. Seleciona-se uma delas para ser levada a estufa a 40°C, onde será feita a secagem completa. Após algumas horas é pesada novamente, e, se a amostra tiver 8 g, significa que as 2 g perdidas correspondem à água, ou seja, 20% da composição.

A última etapa é o enleiramento, que se refere à aglomeração do material e mudança de lugar para secagem por completo. Diversas espécies de gramíneas podem ser usadas para a produção do substrato, como *Brachiaria brizantha* (*Brachiaria*), *Brachiaria decumbens* (*Brachiaria*), *Cynodon* spp. (*Cost cross* e *Tifton*) e *Pennisetum purpureum* (*Capim elefante*).

· Trituração da gramínea

A trituração da gramínea proporciona o maior aproveitamento dos nutrientes disponíveis pela forrageira e ainda facilita o manuseio. A técnica é simples, porém, necessita de um triturador forrageiro, que deixará a gramínea pronta para a produção do substrato.

· Preparo do substrato

O substrato é uma mistura homogênea, com boa característica nutricional para o desenvolvimento do fungo. Para elaborar a mistura, será necessário um recipiente grande, álcool 70% para a assepsia, barbante, gramínea triturada, farelo de arroz, gesso agrícola e água. A mistura é feita na seguinte proporção: 78% de capim (também conhecido como volumoso), 20% de farelo de

arroz ou de trigo e 2% de gesso agrícola. Para a obtenção de um material homogêneo, é preciso revolver os materiais, e aos poucos, adicionar água para umedecê-lo. É necessário adicionar 8 litros de água para cada 5 quilos de matéria seca.

O substrato homogêneo é acondicionado em sacos plásticos de polipropileno e amarrados com barbante. Os sacos devem ser esterilizados em uma autoclave a 120°C, 1 atmosfera, por 20 minutos, eliminando-se qualquer microrganismo presente no material.

Aguarda-se o resfriamento do substrato no interior dos sacos para a transferência do fungo e sua colonização. Antes de serem inoculados, a armazenagem dos sacos plásticos com o substrato, deve ser feita e local limpo e em temperatura ambiente por dois dias.

· Inoculação no substrato

A inoculação é o processo de transferência do inóculo 'semente' para o substrato. É realizada em câmara de fluxo laminar ou diretamente na sala de inoculação, em temperatura de 15°C e umidade relativa do ar de 60%. São feitos furos de 1,5 a 2 cm de diâmetro nos sacos, sendo que em cada um deles é depositado o

inóculo. Após a inoculação sela-se a região com uma fita adesiva ou com uma mistura preparada a partir de parafina (20%), resina (70%) e óleo mineral (10%).

· Incubação e produção dos cogumelos

Após o processo de inoculação, os sacos são levados para a sala de incubação e devem ser mantidos sem movimentação por 40 dias. O local deve ser limpo, bem ventilado, escuro, temperatura em torno de 25°C e umidade relativa do ar em torno de 70%.

Após o intervalo de 40 dias, o substrato é transportado para um galpão ou casa de vegetação. A primeira colheita será realizada nos próximos 10 dias com as condições de temperatura em torno de 20°C e 27°C e umidade relativa em torno de 60%. A umidade pode ser obtida por um sistema de irrigação simplificado com microaspersores, evitando-se o contato direto da água com o fungo. Com o tempo, haverá o crescimento do micélio que sairá na abertura do saco de polipropileno onde se realizou a inoculação. Nessa fase ocorre uma mudança na coloração do substrato, visto que, o micélio dá origem aos cogumelos.

Colheita dos cogumelos cultivados em toras de eucalipto e em substratos (bloco de serragem e técnica Jun-Cao)

O ponto ideal de colheita do shiitake é aquele onde os cogumelos atingem o maior tamanho e peso. Dependendo das condições climáticas de cada região onde é produzido o cogumelo, a colheita pode ser realizada entre sete e nove dias após a indução, quando em toras de eucalipto. Na produção em substrato, a colheita varia de sete a dez dias após a indução e transferência do substrato para a sala de frutificação. A colheita deve ser feita

duas vezes em três dias seguidos quando os cogumelos estiverem fisicamente formados.

Por se tratar de um produto frágil e perecível, é importante que a colheita seja feita com cuidado e se possível com o uso de EPI (Equipamento de Proteção Individual), para evitar alergias aos esporos e a contaminação dos cogumelos.

Deve-se evitar atrasos na colheita, pois pode haver rompimento do

véu, abertura em excesso do píleo e várias reações químicas, escurecendo os cogumelos e desvalorizando-os comercialmente.

Na colheita do shiitake, independente da técnica utilizada, basta realizar uma leve torção na base do cogumelo (estípe) evitando-se deixar resíduos do fungo nas toras (Figura 31) que podem servir de meio para surgimento de contaminantes fúngicos e bacterianos. Durante a colheita, deve-se realizar uma breve limpeza do cogumelo, evitando que a parte de baixo do ‘chapéu’ (lamelas) fique suja, podendo depreciar a qualidade do produto.



Figura 31. Torção do píleo para colheita do cogumelo

Nos cestos usados para colheita, deve-se evitar a sobreposição dos cogumelos para não danificá-los. Em caso de cogumelos úmidos e encharcados realiza-se o descarte para não serem misturados com os demais, evitando-se problemas com a perda de qualidade. Porém, para evitar problemas com a umidade, há possibilidade de se instalar ventiladores, melhorando assim, o local onde a etapa de frutificação ocorrerá.

Após a colheita dos cogumelos, as toras podem ser empilhadas e incubadas sem a necessidade de realizar novamente a inoculação. Devem ser molhadas por um a dois meses (dependendo das condições climáticas), após serem empilhadas para a etapa de frutificação.

Após o período de descanso, as toras devem ser submetidas novamente ao choque térmico e mecânico. A reutilização das toras para a produção de novos cogumelos é realizada de quatro a seis vezes, dependendo do estado das mesmas.

De acordo com a quantidade de induções realizadas, aos poucos a taxa de produtividade das toras vai diminuindo, tornando o procedimento antieconômico. As toras descartadas podem ser usadas para compostagem, transformando-as em adubo.

Para a produção de shiitake pelo uso de substrato, deve-se realizar a

limpeza do material (Figura 32) retirando restos do cogumelo após a colheita, evitando-se que os blocos se tornem um meio de propagação de contaminantes. O substrato pode ser reutilizado novamente para mais quatro produções, mantendo-o no local de frutificação e realizando a irrigação para a etapa de obtenção dos cogumelos.



Figura 32. Substrato em bloco contendo resquícios da colheita para limpeza

A produção de cogumelo por tora pode variar de 200 a 400 g, em cada colheita, sendo que a mesma dependerá do manejo, ou seja, do inóculo utilizado, da forma como foram realizadas as etapas de inoculação, da vedação dos furos, das condições de temperatura e

umidade nas etapas de incubação, enfim, do processo como um todo.

É importante destacar que quando o cogumelo é colhido prematuro, há perda de peso e tamanho, porém quando colhido muito maduro, pode não ser aceito no mercado. Para identificar o ponto ideal da colheita, deve-se observar a abertura do píleo, que não deve passar de 90% (Figura 33).

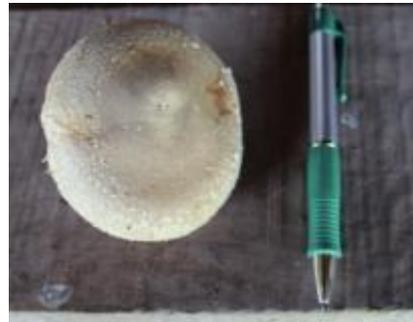


Figura 33. Shiitake pronto para colheita com o chapéu aberto em torno de 90%

Pós-colheita

O cogumelo shiitake, após a colheita, deve ser imediatamente embalado para o consumo, devido a sua alta perecibilidade. A venda in natura (fresco) deve ser realizada em aproximadamente cinco dias, pois o cogumelo tem seu rápido escurecimento causando sua depreciação. As formas de comercialização do shiitake são in natura, desidratado (seco) ou em salmoura.

A venda in natura é o modo mais atraente para a comercialização dos cogumelos, pois expressa melhor suas propriedades organolépticas como sabor, aroma e textura característica, porém, a durabilidade nas prateleiras é menor (Figura 34).



Figura 34. Shiitake in natura (fresco) pronto para ser embalado

Outro método utilizado para a comercialização do produto é a desidratação do cogumelo. Após serem colhidos, os cogumelos ainda frescos apresentam 80% de água em sua composição e aos poucos sofrem reações, alterando suas características visuais

e qualitativas. Portanto, a desidratação tem como função preservar sua qualidade e aumentar o período de armazenagem.

Há vários métodos para a realização da secagem do shiitake. A forma mais simples é a exposição dos cogumelos frescos ao sol durante o dia, recolhendo-os durante a noite. Os cogumelos devem ficar dispostos em uma tela ou peneira de plástico e com a parte branca das lamelas voltadas para cima. São considerados secos quando não houver mais movimentação ao empurrar a estipe (pedúnculo) contra o píleo (chapéu). Outra forma de desidratar os cogumelos é com uma desidratadora, popularmente conhecida como secadora (Figura 35).



Figura 35. Secadora para desidratação dos cogumelos

Antes da secagem pode-se realizar o corte com auxílio de uma faca, previamente desinfestada com álcool a 70%, no sentido longitudinal, aumentando assim, a superfície de contato e agilizando o processo de desidratação. Após a secagem, a embalagem pode ser feita em sacos de polipropileno contendo sachês de sílica gel para impedir a rehidratação do shiitake e possíveis contaminações (Figura 36).

O armazenamento da embalagem deve ser feito em local limpo, protegido da umidade e, em temperatura ambiente.



Figura 36. Shiitake desidratado inteiro (A); Shiitake desidratado cortado em tiras (B)

Pragas na produção de shiitake

O aparecimento de pragas pode acontecer após o procedimento de inoculação, devido ao ambiente propício para o crescimento e reprodução. Algumas espécies de baratas, lesmas e moscas também se alimentam de cogumelos e disseminam microrganismos indesejáveis.

Por exemplo, o *Trichoderma* spp. é um fungo contaminante que afeta as toras devido ao excesso de umidade (Figura 37). Para que não ocorra o aparecimento e a proliferação desse fungo contaminante, deve-se evitar o excesso de toras nas fileiras, pois isto impede a ventilação e facilita o acúmulo de água. As toras contamina-

das na região da inoculação devem ser descartadas, pois não há como tratar o fungo impregnado no mourão. As toras pouco contaminadas são tratadas com água sanitária (hipoclorito de sódio 2% a 2,5%), aplicada com auxílio de um pincel, conforme a Figura 38.

Realiza-se também a limpeza das toras no caso de aparecimento de cogumelos contaminantes durante a etapa de incubação (Figura 39). A limpeza deve ser realizada com uma faca, fazendo a retirada do material e prosseguindo com uma limpeza com água sanitária (hipoclorito de sódio).



Figura 37. Toras que devem ser descartadas devido à contaminação com *Trichoderma* sp. (crescimento verde pulverulento)



Figura 38. Limpeza das toras com água sanitária (Hipoclorito de sódio)



Figura 39. Aparecimento de cogumelo contaminante na etapa de incubação

Custo de produção do Shiitake em toras de eucalipto

A fase inicial para a implantação do shiitake requer investimentos como, por exemplo, aquisição do inóculo 'semente' que varia entre R\$ 7,00 e R\$ 8,00, sendo que um frasco é suficiente para inocular 10 mourões. O inoculador custa em torno de R\$ 350,00. A barra de gelo, usada no choque térmico, custa em torno de R\$ 7,00/unidade, sendo o suficiente para indução de 25 toras de eucalipto.

Na Tabela 1 são apresentados os principais materiais necessários para a implantação inicial do cultivo, visando a inoculação de 1.000 mourões de eucalipto. Através do

cálculo de subtração entre a renda bruta e despesas, obtém-se os valores da renda líquida (lucro).

· Cálculo da Renda líquida

Considerando o preço do shiitake em R\$ 17,00/kg e a produção de 270 g/tora de eucalipto, para 1.000 mourões, teremos então a produtividade de 270 kg.

A renda bruta será de R\$ 4.590,00, e o Investimento inicial será de R\$ 3.090,00, sendo a renda líquida de R\$ 1.500,00 na primeira produção.

Para as três próximas produções, subtraindo da renda bruta os custos

44 Casa do Produtor Rural

com gelo (na fase de indução) a renda líquida será de R\$ 4.310,00.

Somando a renda líquida da produção inicial (R\$ 1.500,00) e mais as duas posteriores (R\$ 8.620,00), o total da renda líquida será de R\$ 10.120,00.

Com estes valores, tem-se uma estimativa de lucros e despesas de uma produção de pequena escala. É importante ressaltar que outros valores como salários de funcionários, água e energia, não foram incluídos na lista de custos.

Tabela 1. Tabela de materiais para a produção de shiitake em 1.000 toras.

Inoculador profissional	1	350,00
Inóculo 'semente'	100 L	800,00
Parafina (1 Kg é suficiente para 30 mourões)	30 Kg	360,00
Barras de gelo	40	280,00
Mourões de eucalipto (R\$ 60,00/m ³ ; 1m ³ = 60 mourões)	1000	1000,00
Broca importada para furadeira	1	30,00
Furadeira	1	250,00
Anteparo para a broca	1	20,00

Produção do inóculo ‘semente’

Para a produção do inóculo ‘semente’ será necessário um local para a instalação do laboratório e, ainda, a aquisição de equipamentos específicos. Dentre estes, os mais importantes e de maior custo são câmara de fluxo laminar, câmara de crescimento com temperatura controlada (para armazenamento das placas de Petri para a multiplicação do inóculo) e autoclave.

Produção da matriz mãe e a matriz de trabalho

Primeiramente, é necessária a obtenção do micélio que deverá ser isolado sob condições assépticas adequadas,

para evitar possíveis contaminações. O micélio, obtido a partir do cogumelo colhido, será conhecido como matriz ‘mãe’ e, a partir dele, serão obtidas as matrizes de trabalho.

Assim, realiza-se o isolamento in vitro cultivando pedaços do basidiocarpo do fungo em meio de cultivo. Este consiste de uma mistura de caldo de batata (fonte de carboidratos, vitaminas, nitrogênio e minerais), dextrose (fonte de carboidratos) e ágar (agente solidificante). Há produto, formulado em pó, disponível comercialmente contendo os nutrientes necessários ao crescimento do fungo.

De maneira geral, com auxílio de uma agulha de platina (Figura 40) realiza-se a transferência do fungo para o meio de cultivo em câmara de fluxo laminar em meio asséptico. Durante 15 dias haverá o desenvolvimento do fungo no interior das placas de Petri contendo o meio de cultivo, sendo estas mantidas em câmara de crescimento com temperatura máxima de 25°C. Durante este período é importante observar o aparecimento de contaminantes e se necessário realizar o descarte de placas contaminadas.



Figura 40. Agulha de platina para a transferência do fungo

O fungo pode ser transferido para tubos de ensaio fechados com algodão, para evitar contato com o meio

externo, podendo ser armazenado assim, em geladeira, por períodos prolongados. Esse isolado será a matriz 'mãe' e, a partir dele, faz-se a transferência para as placas de Petri, com a finalidade de multiplicação do fungo e obtenção das matrizes de trabalho. A multiplicação é importante para certificar-se da ausência de contaminante na matriz. Se houver o aparecimento de fungos com coloração diferente do L. edodes (esbranquiçado), trata-se de um contaminante e o descarte da placa será necessário.

Para o preparo do meio de cultivo para L. edodes, os materiais e o protocolo adotado encontram-se descritos a seguir.

Protocolo - Preparo e distribuição do meio de cultivo em placas

· Materiais e equipamentos

Meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA, disponível comercialmente); água destilada; provetas; Erlenmeyer com tampas de algodão ou frascos de vidro com tampas resistentes ao calor; balança; recipiente para pesar; espátula; barras magnéticas ou bastão de vidro; agitador magnético; autoclave; placas de polietileno; câmara de crescimento com controle de temperatura e fotoperíodo; câmara de fluxo laminar.

· Procedimento

1. Seguindo as instruções da embalagem para o preparo do meio de cultivo BDA, deve-se pesar a quantidade de pó necessário para o preparo de 1 L de meio de cultivo;
2. Medir o volume de água destilada em uma proveta e transferi-la com o pó para um Erlenmeyer;
3. Dissolver o pó agitando manualmente com um bastão de vidro ou colocar uma barra magnética dentro do Erlenmeyer e levar ao agitador magnético até obter uma suspensão homogênea;
4. Fechar o Erlenmeyer com tampão de algodão e papel de alumínio;
5. Colocar o Erlenmeyer contendo o meio de cultivo para esterilizar na autoclave (121°C, 1 atm durante 20 minutos) (Figura 41);
6. Esperar que a temperatura e a pressão dentro da autoclave diminuam para retirar o Erlenmeyer;
7. Deixar esfriar o meio de cultivo até atingir uma temperatura que permita o seu manuseio (45°C a 55°C). Em temperaturas inferiores a estas o meio torna-se sólido impossibilitando a colocação nas placas de Petri;
8. Desembrulhar as placas de Petri esterilizadas e identificar com o nome do meio de cultivo e a data da sua elaboração;
9. Verter o meio de cultivo nas placas de Petri (9 cm de diâmetro) (Figura 42) em condições de assepsia, fazendo uma camada de aproximadamente 5 mm (com 20 a 25 mL por placa);



Figura 41. Autoclave para esterilização do material



Figura 42. Placas de Petri para produção do inóculo 'semente'

10. Deixar solidificar o meio de cultivo e utilizar imediatamente, ou então, inverter a placa contendo o meio de cultivo sólido e armazenar a 4°C (geladeira) até a sua utilização. É recomendável passar filme plástico (de

Uso doméstico) em volta das placas para evitar a secagem e contaminação do meio.

Durante o trabalho na câmara de fluxo laminar (Figura 43) deve-se ter o cuidado de flambar todos os materiais que entram em contato com meio de cultivo para evitar contaminações. Deve-se também passar álcool 70% nas mãos e trabalhar em volta da lamparina.



Figura 43. Câmara de fluxo para realizar a inoculação do fungo no substrato

Para a realização da transferência do fungo das placas de Petri para o saco com substrato utiliza-se furador de rolhas (Figura 44) com o diâmetro

aproximado de 1 cm. Uma placa produz inóculo para seis sacos de substrato. Por exemplo, para 60 sacos, devem ser produzidas 10 placas de Petri contendo o inóculo 'semente' de interesse.



Figura 44. Furador de rolhas

Preparo de substrato com serragem para produção do inóculo

A produção do substrato consiste na mistura de material volumoso com outros complementares, que proporcionarão valor nutritivo adequado para o desenvolvimento do fungo. Neste procedimento, a quantidade de fungo em placas de Petri deve ser suficiente para a realização da produção por substrato, sendo que para cada saco de substrato inoculam-se 10 mourões.

A quantidade de fungo produzido em placa de Petri será proporcional à quantidade de toras que se deseja inocular. Por exemplo, para 600 mourões

serão necessários 60 sacos de inóculo 'semente', ou seja, uma placa seria suficiente para 10 sacos de inóculo 'semente'.

Realiza-se a mistura de serragem de eucalipto (espessura uniforme e fina), farelo de arroz e água, em uma proporção de (3:1:1; v/v/v). A homogeneização deste material pode ser feita de forma simplificada. Necessitam-se de uma mesa para realizar a assepsia, recipiente de plástico grande, sacos de polipropileno que podem ser submetidos ao processo de autoclavagem e barbante. Coloca-se a mistura no recipiente, homogeneizando com as mãos até a obtenção de uma mistura uniforme.

Com as mãos coloca-se 500g da mistura em cada saco, que em seguida deve ser fechado para evitar o contato com o meio externo e amarrado com barbante para facilitar a abertura após a autoclavagem. Após estes procedimentos, os sacos devem ser autoclavados por 20 minutos a 120°C e 1 atmosfera. Realiza-se o descanso por dois dias em um local arejado e em temperatura ambiente.

Após o descanso é feita a transferência dos fungos da placa de Petri (matriz de trabalho) para os sacos. A adição deste fungo será realizada em uma câmara de fluxo laminar, sob con-

dições assépticas, colocando-se três discos (aproximadamente 1 cm de diâmetro) de meio de cultivo BDA + micélio do fungo em cada saco. Com o furador de rolhas de latão é feito o furo na placa de Petri, depois se faz um corte no saco que contém o meio de cultivo e, em seguida, é feita a transferência dos discos de fungo com auxílio de agulha de platina (Figura 40).

Este procedimento somente deve ser feito após a assepsia do local e das mãos com álcool 70% em uma câmara de fluxo. Todos os materiais que entrarão em contato com o fungo (agulha de platina e furador), devem ser flambados (chama de lamparina) para eliminar microrganismos indesejáveis.

O armazenamento, para o crescimento dos fungos por 40 dias, pode ser feito em local arejado, temperatura ambiente, porém sem contato com a luz. A cada semana deve ser observado o desenvolvimento do fungo e descartando os substratos com possíveis contaminações (Figura 45). O substrato estará pronto para ser usado quando estiver totalmente recoberto com o fungo (substrato coberto por coloração esbranquiçada, indicando um bom crescimento micelial do fungo; Figura 46).



Figura 45. Substrato que deve ser descartado devido a presença de contaminantes



Figura 46. Substrato contendo o fungo inoculado

Bibliografia consultada

ABELHO, M. **Manual de Monitorização Microbiológica Ambiental: Curso de Especialização Tecnológica em Qualidade Ambiental**. ESAC- Escola Superior Agrária Politécnica de Coimbra. Coimbra, Portugal 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- Embrapa. **Produção de cogumelos comestíveis e medicinais técnica chinesa modificada**. Embrapa, 2011. Folder p.2-1. 2005. ,

FREDERICO, C.E. et al. **Produção de shiitake (*Lentinula edodes* (BERK) PEGLER) em substratos à base de sabugo de milho**. In. Congresso Nacional de Milho e Sorgo, XXIV, 2002, Florianópolis - SC. Disponível

em:< <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/34878/1/Producao-shiitake.pdf>> Acesso em 15 de jan. de 2014.

PASCHOLATI, S.F. et al. **Cogumelos cultivado e comercialização: Shiitake e Cogumelos do Sol**. Coleção Agroindústria,17. Cuiabá, SEBRAE, 1998, Serviço de apoio a Micro e Pequenas Empresas de Mato Grosso. ISBN 85-7361-023-9.

PAULA, D.P.; TARSITANO, M.A.A.; GRACIOLLI, L.A. Viabilidade econômica do cultivo de shiitake em diferentes escalas de produção. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.2, p.431-436, abr./jun. 2001.

PICCININ, E. **Cultivo do cogumelo shiitake** (Lentinula edodes) **em toras de eucalipto**: Teoria e prática. Série Produtor Rural; EDIÇÃO ESPECIAL; Editoração Eletrônica: Serviço de Produções Gráficas - Escola Superior de Agricultura

“Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

SILVA, M. M. **Cultivo de cogumelos comestíveis pela técnica de Jun-Cao**. Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte, 2011, p.16-30.



*Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Casa do Produtor Rural*

