

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA 'JÚLIO DE MESQUITA
FILHO'
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO DE COMPOSTO
COLONIZADO SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE
*Agaricus subrufescens***

Matheus Rodrigo Iossi

Engenheiro Agrônomo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA ‘JÚLIO DE MESQUITA
FILHO’
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO DE COMPOSTO
COLONIZADO SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE
*Agaricus subrufescens***

Discente: Matheus Rodrigo Iossi

Orientador: Prof Dr. Diego Cunha Zied

**Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como
parte das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Microbiologia
Agropecuária.**

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

I64a

lossi, Matheus Rodrigo

Aplicação de extrato aquoso de composto colonizado sobre a camada de cobertura de *Agaricus subrufescens* / Matheus Rodrigo lossi. -Jaboticabal, 2021

62 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Diego Cunha Zied

1. Microbiologia Agrícola. 2. Cogumelos Cultivo. 3. Micro-organismos. 4. Solução irrigadora. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE *Agaricus subrufescens*

AUTOR: MATHEUS RODRIGO IOSSI

ORIENTADOR: DIEGO CUNHA ZIED

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DIEGO CUNHA ZIED (Participação Virtual)
FCAT / UNESP / Dracena/SP



Dr. GERARDO MATA MONTES DE OCA (Participação Virtual)
Instituto de Ecologia-INECOL / Xalapa/Veracruz-MX



Prof. Dr. NELSON BARROS COLAUTO (Participação Virtual)
Universidade Paranaense / Umuarama/PR

Jaboticabal, 27 de outubro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Matheus Rodrigo Iossi – Nascido em 04 de julho de 1995 na cidade de Jundiaí, São Paulo, filho de Valdir Roberto Iossi e Lilian de Fátima Rosa. No ano de 2014 ingressou no curso de graduação em Engenharia Agrônoma na Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’, UNESP/FCAT Campus de Dracena e em 2019 recebeu o título de bacharel em Engenharia Agrônoma. Durante a graduação, foi professor bolsista no cursinho pré-vestibular da Unesp de Dracena e bolsista de iniciação científica do grupo CECOG (Centro de Estudos em Cogumelos), desenvolvendo pesquisas sobre tecnologias de produção de cogumelos comestíveis e medicinais, sob orientação do Prof. Dr. Diego Cunha Zied. Em 2019, ingressou no curso de mestrado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP/FCAV Câmpus de Jaboticabal, no programa de Microbiologia Agropecuária como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) sob orientação do Prof. Dr. Diego Cunha Zied.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Valdir e Lilian, pelo esforço, amor, carinho e educação que tem dado a seus filhos, sempre nos fazendo entender o quão importante é a dedicação em tudo o que se faz.

Às minhas irmãs, Heloise e Bárbara, pelo amor e companheirismo que temos um pelo outro, onde nunca medem esforços para me auxiliar mesmo à distância

Aos meus queridos avós Benedita, José, Waldemar e Ondina, pelo carinho concedido em cada passo, durante toda minha vida

Aos meus tios e tias, pela constante consideração e capacidade de acreditar e investir em mim

A minha namorada Isabela, que acompanha diariamente meus esforços em busca do título, obrigado pelos momentos de compreensão e companheirismo

Aos meus estimados amigos e colegas de grupo, que participam do meu crescimento pessoal e profissional, sempre se mostrando dispostos a auxiliar no que for preciso, em especial Cinthia Elen Cardoso Caitano, Lucas da Silva Alves, Isabela de Arruda Palú e Wagner Gonçalves Vieira Júnior, que juntos a mim, deram vida a essa pesquisa

Aos colaboradores das faculdades de Dracena e Jaboticabal, que tanto se empenham para mantê-la em perfeitas condições para nossos estudos e estão sempre à disposição para auxiliar no que for preciso

Aos docentes da FCAT, FCAV e do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, por iluminarem o caminho a ser trilhado

Aos meus amigos de longa data e aos que conheci na faculdade, que acompanham minha evolução desde sempre

Ao meu professor e orientador Dr. Diego Cunha Zied, quem me apresentou o mundo dos fungos, pela amizade, consideração, dedicação e conhecimentos passados a mim durante todos os anos em que estive presente no Centro de Estudos em Cogumelos

A professora Dr. Ana Carolina Firmino, pelos conselhos, carinho e amizade durante esses todos esses anos de convivência.

A todos que direta ou indiretamente fazem parte da minha caminhada e fizeram parte da construção desse trabalho

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 PRODUÇÃO MUNDIAL DE COGUMELOS	3
2.2 <i>Agaricus subrufescens</i>	3
2.3 CULTIVO DE <i>Agaricus subrufescens</i>	4
2.4 CAMADA DE COBERTURA.....	5
2.5 EXTRATO AQUOSO.....	5
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO 2 – APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO (ESTERILIZADO E NÃO ESTERILIZADO) SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE <i>Agaricus</i> <i>subrufescens</i>	10
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	13
2.2 COMPOSTO	13
2.3 LINHAGEM E INÓCULO	14
2.4 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO	14
2.5 CAMADA DE COBERTURA.....	15
2.6 RUFFLING E INDUÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO	15
2.7 EXTRATO AQUOSO (EA).....	15
2.7.1 APLICAÇÃO NA CAMADA DE COBERTURA	16

2.8 COLHEITA E PÓS-COLHEITA	17	
2.9 PARÂMETROS AVALIADOS	17	
2.9.1 AVALIAÇÃO AGRONÔMICA.....	17	
2.9.2 AVALIAÇÃO MINERAL.....	18	
2.9.3 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E pH.....	18	
2.9.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18	
3 RESULTADOS.....	19	
4 DISCUSSÃO.....	22	
5 CONCLUSÃO	24	
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25	
CAPÍTULO 3 – APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO (OBTIDO SOB		
DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO) SOBRE A CAMADA DE		
COBERTURA DE <i>Agaricus subrufescens</i>		27
1. INTRODUÇÃO.....	29	
2. MATERIAL E MÉTODOS	30	
2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	30	
2.2 COMPOSTO	30	
2.3 LINHAGEM E INÓCULO.....	31	
2.4 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO	31	
2.5 CAMADA DE COBERTURA.....	32	
2.6 RUFFLING E INDUÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO	32	
2.7 EXTRATO AQUOSO (EA).....	32	
2.7.1 APLICAÇÃO NA CAMADA DE COBERTURA	33	
2.8 COLHEITA E PÓS-COLHEITA	34	
2.9 PARÂMETROS AVALIADOS	34	

2.9.1 AVALIAÇÃO AGRONÔMICA.....	34
2.9.2 AVALIAÇÃO MINERAL.....	35
2.9.3 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E pH.....	35
2.9.4 TEMPERATURA DO SUBSTRATO.....	35
2.9.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	36
3. RESULTADOS	36
4 DISCUSSÃO.....	42
5 CONCLUSÃO	45
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO DE COMPOSTO COLONIZADO SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE *Agaricus subrufescens*

RESUMO - O cogumelo do sol, *Agaricus subrufescens*, foi descoberto no Brasil por volta da década de 60 e devido suas propriedades medicinais e nutricionais, se tornou conhecido no mundo todo. Quando cultivado a nível comercial, o cogumelo do sol necessita de camada de cobertura para que haja frutificação, sendo esse o elemento responsável pela mudança do estágio vegetativo para o reprodutivo (formação de cogumelos). Para manter um microclima úmido, durante a etapa de produção, é necessário a aplicação diária de irrigação sobre a camada de cobertura. Tendo em vista o manejo diário de irrigação, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do extrato aquoso de composto colonizado na camada de cobertura de *A. subrufescens*. Para isso, diferentes extratos aquosos foram confeccionados, em diferentes tempos de extração, concentrações, momentos de aplicação, tratamento térmico e ambientes de cultivo. O comportamento agrônomo do cogumelo foi avaliado quanto à produtividade, eficiência biológica, número de cogumelos, massa média de cogumelos e precocidade, assim como, foram realizadas análises físico-químicas, condutividade elétrica e pH dos extratos. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade. O rendimento do cogumelo do sol foi afetado de diversas formas pela aplicação de extratos aquosos sobre a camada de cobertura. A aplicação de extrato aquoso esterilizado e não esterilizado em diferentes concentrações não influenciou a condutividade elétrica e pH das camadas de cobertura, enquanto a produtividade, número de cogumelos e massa média dos cogumelos foram afetados. Os diferentes momentos de aplicação e os extratos aquosos obtidos sob diferentes tempos de extração influenciaram a condutividade elétrica e pH das camadas de cobertura, assim como, influenciaram o número de cogumelos, a massa média dos cogumelos e a precocidade. Nesse caso, apenas a câmara de cultivo provocou efeito sob as variáveis produtividade, eficiência biológica e número de cogumelos.

Palavras-chave: Cogumelos cultivo, microbiologia agrícola, micro-organismos, solução irrigadora

APPLICATION OF COMPOST TEA OF COLONIZED COMPOST ON THE CASING LAYER OF *Agaricus subrufescens*

ABSTRACT - The sun mushroom, *Agaricus subrufescens*, was discovered in Brazil around the 1960s and due to its medicinal and nutritional properties, it became known worldwide. When cultivated commercially, the sun mushroom needs a casing layer for fruiting, which is the element responsible for changing the vegetative to the reproductive stage (mushroom formation). To maintain a moist microclimate, during the production stage, it is necessary to apply daily irrigation over the casing layer. In view of the daily management of irrigation, the objective of the present work was to evaluate the effect of applying the compost tea of colonized compost to the casing layer of *A. subrufescens*. For this, different compost teas were made, at different extraction times, doses, application times, heat treatment and cultivation environments. The mushroom's agronomic behavior was evaluated for yield, biological efficiency, number, weight and precocity, as well as physical-chemical analyzes, electrical conductivity and pH of the extracts. The results were subjected to analysis of variance and the means compared by the Tukey test, under the level of 5.0% probability. The yield of the sun mushroom was affected in several ways by the application of compost teas on the casing layer. The application of autoclaved and non-autoclaved compost tea did not influence the productivity of *A. subrufescens* or the electrical conductivity and pH of the casing layer, while the weight and number of mushrooms were affected. The application of compost teas obtained under different fermentation times influenced the electrical conductivity and pH of the casing layer, as well as the number of mushrooms, the weight and the precocity, while only the culture chamber had an effect on the yield, biological efficiency and number of mushrooms variables.

Keywords: Agricultural microbiology, cultivation mushrooms, irrigating solution, microorganisms

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O *Agaricus subrufescens* é um cogumelo de origem brasileira pertencente à ordem *Agaricales*, sendo um alimento funcional que possui uma série de propriedades medicinais e nutracêuticas, fatos responsáveis pela sua popularização em todo o mundo nas últimas décadas (Largeteau et al., 2011). Por ser um fungo nativo do Brasil, torna-se de fácil acesso e cultivo a pequenos produtores em condições rústicas, gerando um incremento na renda familiar (Wisitrassameewong et al., 2012; Tomizawa et al., 2007).

Para a produção do gênero *Agaricus* é necessário a utilização da camada de cobertura sobre o composto. A camada de cobertura é o elemento que tem como função fornecer suporte físico para formação de basidiomas (Colauto et al., 2010), assim como, oferecer condições físico-químicas e biológicas que promovam a frutificação (Murmu et al., 2020). O material utilizado deve obedecer a alguns requisitos, dentre eles: pH próximo ao neutro, alta capacidade de retenção e liberação de água, porosidade que permita a troca de gases entre o substrato e o meio e resistência para estabilização após frequente irrigação (Ghasemi et al., 2020; Colauto et al., 2010).

A irrigação da camada de cobertura é uma etapa realizada diariamente na produção do gênero *Agaricus*, visando manter um microclima úmido que seja favorável ao desenvolvimento de basidiomas e favoreça um melhor desempenho agrônômico através do fornecimento de água (Navarro et al., 2020; Colauto et al., 2010). Sendo assim, pode-se dizer que a irrigação está intimamente ligada à produtividade do gênero. Nesse contexto, apesar de já ter sido muito estudada em *A. bisporus* (Navarro et al., 2020; Noble et al., 2017) são escassos os estudos específicos sobre a irrigação da camada de cobertura em *A. subrufescens*, técnica essa que pode ser explorada visando a melhora no rendimento produtivo.

Na produção de cogumelos, o extrato aquoso de composto costuma ser aplicado na camada de cobertura de *A. bisporus* como uma alternativa ao controle

químico (Shi et al., 2020; Navarro et al., 2011), onde visa-se proteger o cultivo contra algumas doenças, como a bolha seca, causada por *Lecanicillium fungicola* (Gea et al., 2014) ou ainda a bolha úmida, causada por *Mycogone pernicioso*, que são micopatógenos encontrados naturalmente em *Agaricales* (Gea et al., 2012; Navarro et al., 2011; Gea et al., 2010). A aplicação de extrato aquoso com o intuito de melhorar o desempenho agrônômico de *A. bisporus* foi pesquisado por Gea et al. (2012) e Valizadehkaji et al. (2019).

Estudos sobre a aplicação de solução nutritiva à base de composto colonizado na camada de cobertura de *A. subrufescens* são escassos. No entanto, o presente trabalho busca explorar a metodologia no que diz respeito a confecção e momento de aplicação, além de analisar quimicamente a composição do extrato obtido e seu comportamento em dois ambientes de cultivo.

Neste contexto, os objetivos desta pesquisa foram (I) avaliar o efeito da aplicação de extrato de composto colonizado esterilizado e não esterilizado sobre a camada de cobertura de *A. subrufescens*; (II) avaliar a aplicação em diferentes momentos; (III) avaliar extratos obtidos em diferentes tempos de extração; (IV) avaliar o comportamento da linhagem ABL 04/49 quando cultivada em dois ambientes de cultivo distintos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO MUNDIAL DE COGUMELOS

O grande benefício em torno da produção de cogumelos está relacionado à ciclagem de nutrientes que o processo proporciona. A principal matéria prima utilizada no cultivo são resíduos agroindustriais (lignocelulósicos), que devido ao aparato enzimático dos fungos, podem ser transformados em proteína de alta qualidade (Thakur, 2019). Aliado a isso, a fungicultura é responsável pela movimentação de bilhões de dólares ao redor do mundo anualmente.

No ano de 2013, a produção mundial de cogumelos movimentou cerca de 63 bilhões de dólares, onde 92% desse valor são representados pelo comércio de cogumelos cultiváveis (Grimm et al., 2020). A China é considerada o maior produtor mundial, visto que ainda em 2013, o país foi responsável por 87% da produção mundial (Grimm et al., 2020).

O continente americano, por sua vez, se encontra atualmente na terceira posição da cadeia produtiva de cogumelos, atrás apenas da Europa e Ásia (Sánchez et al., 2018). No Brasil, os estados Paraná e São Paulo são responsáveis pela quase totalidade de cogumelos produzidos no país (Sánchez et al., 2018).

2.2 *Agaricus subrufescens*

O *A. subrufescens* é um cogumelo nativo do Brasil, especificamente do estado de São Paulo (Zied et al., 2017) e devido possuir uma série de atributos nutracêuticos e valor culinário agregado, tem se popularizado ao redor do mundo, em países como China, Coréia do Sul, Espanha, EUA, França e Taiwan, seja como alvo de pesquisas ou consumo (Zied e Pardo-Giménez, 2018).

O cogumelo do sol já foi identificado como *Agaricus blazei* Murrill e *Agaricus brasiliensis*. Entretanto, atualmente, após várias revisões taxonômicas, a nomenclatura aceita para o mesmo é *Agaricus subrufescens*, como pode ser melhor

entendido na revisão publicada por Wisitrassameewong et al. (2012). Da mesma forma, é possível observar em Vieira Júnior (2021), que as linhagens cultivadas atualmente no Brasil são pertencentes à espécie *Agaricus subrufescens*.

As propriedades medicinais do cogumelo do sol são notoriamente uma de suas características mais consideráveis, sendo um fator de destaque quando levado em consideração que o mesmo é um dos poucos basidiomicetos nativos do Brasil que apresenta tais características e é cultivado a nível comercial, nacional e internacionalmente. Dentre suas propriedades medicinais, pode-se citar suas atividades anticâncer e imunomoduladoras (Wisitrassameewong et al., 2012).

O cogumelo foi levado para o Japão entre as décadas de 1980 e 1990, onde sofreu melhoramento genético e posteriormente foi distribuído para diversos países, onde foi iniciado o cultivo a nível comercial (Zied et al., 2017).

2.3 CULTIVO DE *Agaricus subrufescens*

Segundo Colauto e Linde (2012), uma série de artigos reportaram ajustes das técnicas de produção de champignon para o cultivo de *A. subrufescens*, sob condições brasileiras (baixo nível tecnológico). Entretanto, esse fato começou a ser revisto quando se descobriu que o *A. subrufescens* apresenta em média apenas 3% de similaridade com o *A. bisporus* (Tomizawa et al., 2007). Sendo assim, os autores ainda afirmam que ao estudar fases específicas da produção de *A. subrufescens*, como a camada de cobertura, observa-se melhores rendimentos (Colauto et al., 2010; Colauto e Linde, 2012).

Os parâmetros ideais para o cultivo de cogumelo do sol são temperatura em torno de 28°C durante o ciclo de cultivo e abaixo de 25°C para a frutificação (Wisitrassameewong et al., 2012). A umidade relativa do ambiente deve ser mantida em torno de 95% (Siddiqui et al., 2020). Existem diversos artigos que citam diferentes formas de induzir frutificação do cogumelo do sol, uma delas é diminuir a temperatura em 2°C por dia, até atingir os 20°C, e logo em seguida elevar a temperatura em 2°C por dia, até atingir novamente 28°C (Pardo-Giménez et al., 2020).

2.4 CAMADA DE COBERTURA

A camada de cobertura é considerada como um dos fatores de maior importância para o cultivo do gênero *Agaricus*, visto que em cultivo comercial é sobre a camada de cobertura que ocorre a frutificação (Zied et al., 2020). Tradicionalmente, é composta por turfa de musgo *Sphagnum* ou solo mineral. Entretanto, existem várias pesquisas que buscam encontrar materiais alternativos que resultem em alta produtividade, geralmente mesclando-se outros componentes à turfa de musgo ou ao solo mineral, sendo eles: composto exaurido de cogumelos (no cultivo de *A. bisporus*), areia, vermiculita, fibra de coco, carvão vegetal e até mesmo substrato para a produção de mudas de plantas (Zied et al., 2020; Pardo-Giménez et al., 2017; Martos et al., 2017; Pardo-Giménez et al., 2014; Cavalcante et al., 2008).

O solo mineral geralmente é coletado próximo a propriedade em questão (Colauto et al., 2010), e apesar de sua fácil aquisição, seu uso possui como desvantagem a baixa capacidade de retenção de água e susceptibilidade à compactação, o que pode resultar em baixa produtividade (Wisitrassameewong et al., 2012).

A turfa, por sua vez, apresenta alto rendimento em produtividade quando utilizada como cobertura na produção do gênero *Agaricus* (Wisitrassameewong et al., 2012; Colauto e Linde, 2012). Por esse e outros motivos, este é o material mais usado como cobertura ao redor do mundo e apenas apresenta como desvantagem, o fato de ser um recurso considerado finito e não renovável (Pardo-Giménez et al., 2017; Wisitrassameewong et al., 2012; Colauto et al., 2010).

2.5 EXTRATO AQUOSO

A utilização de extratos aquosos de composto tem sido relatada a décadas (Weltzien, 1991) como possível controle biológico para doenças em plantas, contudo, seu uso é ainda recente na fungicultura, havendo necessidade de estudos

mais aprofundados com relação à sua confecção, formulação, momento e forma de aplicação.

Segundo Gea et al. (2021), os extratos aquosos à base de composto podem ser utilizados como uma das alternativas para o controle químico de doenças fúngicas que afetam o *A. bisporus*, visto que essa modalidade de controle já apresenta evidências de organismos resistentes a seus princípios ativos.

Para confecção do extrato, geralmente utiliza-se como ingrediente o composto exaurido da produção de cogumelos, sendo ele previamente pasteurizado e fermentado (Gea et al., 2012). Segundo Marín et al. (2013), o extrato de composto exaurido de cogumelos possui uma alta carga de nutrientes, tais como Ca, K e Mg e em menor quantidade Fe, Mn, Cu e Zn, quando comparado a outros compostos, podendo-se concluir que os extratos aquosos de composto têm grande potencial para sua integração em sistemas de fertirrigação.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cavalcante JLR, Gomes VFF, Kopytowski Filho J, Minhoni MTDA, Andrade MCND (2008) Cultivation of *Agaricus blazei* in the environmental protection area of the Baturité region under three types of casing soils. **Acta Sci Agron** 30:513-517.

Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA (2010) Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. **Bioresour Technol** 101:712-716.

Colauto NB, Linde GA (2012) Avances sobre el cultivo del “cogumelo do sol” en Brasil. In: Sánchez JE, Mata G (Eds.) **El cultivo de los hongos comestibles en Iberoamérica**, San Cristóbal de las Casas: El Colegio de la Frontera Sur, p. 103-128.

Gea FJ, Tello JC, Navarro MJ (2010) Efficacy and effects on yield of different fungicides for control of wet bubble disease of mushroom caused by the mycoparasite *Mycogone pernicioso*. **Crop Prot** 29:1021-1025.

Ghasemi K, Emadi M, Bagheri A, Mohammadi M (2020) Casing material and thickness effects on the yield and nutrient concentration of *Agaricus bisporus*. **Sarhad J Agric** 36:958-965.

Gea FJ, Santos M, Diáñez F, Tello JC, Navarro MJ (2012) Effect of spent mushroom compost tea on mycelial growth and yield of button mushroom (*Agaricus bisporus*). **World J Microbiol Biotechnol** 28:2765-2769.

Gea FJ, Carrasco J, Diáñez F, Santos M, Navarro MJ (2014) Control of dry bubble disease (*Lecanicillium fungicola*) in button mushroom (*Agaricus bisporus*) by spent mushroom substrate tea. **Eur J Plant Pathol** 138:711-720.

Gea FJ, Navarro MJ, Santos M, Diáñez F, Carrasco J (2021) Control of Fungal Diseases in Mushroom Crops while Dealing with Fungicide Resistance: A Review. **Microorganisms** 9:585.

Grimm D, Kuenz A, Rahmann G (2021) Integration of mushroom production into circular food chains. **Organic Agriculture** 11:309-317.

Largeteau ML, Llarena-Hernández RC, Regnault-Roger C, Savoie JM (2011) The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: biology, cultivation and non-medicinal valorisation. **Appl Microbiol Biotechnol** 92:897-907.

Marín F, Santos M, Diáñez F, Carretero F, Gea FJ, Yau JA, Navarro MJ (2013) Characters of compost teas from different sources and their suppressive effect on fungal phytopathogens. **World J Microbiol Biotechnol** 29:1371–1382.

Martos ET, Zied DC, Junqueira PPG, Rinker DL, Da Silva R, Toledo RCC, Dias ES (2017) Casing layer and effect of primordia induction in the production of *Agaricus subrufescens* mushroom. **Agric Nat Resour** 51:231-234.

Murmu R, Maurya AK, John V (2020) Mycoflora of certain casing materials used in the production of white button mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach). **International J of Chem Stud**, 8:2863-2868.

Navarro MJ, Santos M, Diáñez F, Tello JC, Gea FJ (2011) Toxicity of compost tea from spent mushroom substrate and several fungicides towards *Agaricus bisporus*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS. **Anais** [...] Villenave d'Ornon Cedex: Institut National de la Recherche Agronomique, p. 196-201

Navarro MJ, Gea FJ, Pardo-Giménez A, Martínez A, Raz D, Levanon D, Danay O (2020) Agronomical valuation of a drip irrigation system in a commercial mushroom farm. **Sci Hort** 265:109234.

Noble R, Goodchild M, Jenkins D, Burton K, Walker D, Moorhouse E (2017) Precision Irrigation of Mushrooms Using a Novel Dielectric Tensiometer. **Mushroom News**, 65(10), 8-17.

Pardo-Giménez A, González JEP, de Figueirêdo VR, Zied DC (2014) Adaptabilidad de cepas brasileñas de *Agaricus subrufescens* Peck a la fructificación sobre diferentes capas de cobertura en cultivo comercial. **Rev Iberoam Micol** 31: 25-130.

Pardo-Giménez A, Pardo JE, Zied DC (2017) Casing materials and techniques in *Agaricus bisporus* cultivation. **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications** 385-413.

Pardo-Giménez A, Pardo JE, Dias ES, Rinker DL, Caitano CEC, Zied DC (2020) Optimization of cultivation techniques improves the agronomic behavior of *Agaricus subrufescens*. **Sci Rep** 10:1-9.

Sánchez EJ, Zied DC, Alberto E (2018) Edible mushroom production in the Americas. In 9th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. WSMBMP Shanghai, p. 2–11.

Siddiqui WN, Bashir H, Khalid AN (2020) Cultivation of wild indigenous *Agaricus bisporus* and *Agaricus subrufescens* from Pakistan. **Fungal Biol** 10:466-474.

Shi N, Ruan H, Jie Y, Chen F, Du Y (2020) Sensitivity and efficacy of fungicides against wet bubble disease of *Agaricus bisporus* caused by *Mycogone perniciosus*. **Eur J Plant Pathol** 157:873-885.

Thakur MP (2020) Advances in mushroom production: Key to food, nutritional and employment security: A review. **Indian Phytopathol**, 73: 377-395.

Tomizawa MM, Dias ES, Assis LJD, Gomide PHO, Santos JBD (2007) Genetic variability of mushroom isolates *Agaricus blazei* using markers RAPD. **Ciência e Agrotecnologia** 31:1242-1249

Valizadehkaji B, Abbasifar AR, Ahsani Iravini M, Hoseinabad M (2019) Evaluation of the Effect of Vermicompost Extract Spray on Growth Indices of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*).

Vieira Junior WG (2021) **Caracterização genética e diferentes condições de cultivo em *Agaricus subrufescens***. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Unesp, Jaboticabal.

Weltzien HC (1991) Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In **Microbial ecology of leaves**. New York: Springer, p. 430-450.

Wisitrassameewong K, Karunarathna SC, Thongklang N, Zhao R, Callac P, Moukha S, Férandon C, Chukeatirote E, Hyde KD (2012) *Agaricus subrufescens*: a review. **Saudi J Biol Sci** 19:131-146

Zied DC, González JEP, Dias ES, Pardo-Giménez A (2017) Characteristics, production, and marketing of the sun mushroom: the new medicinal cultivated mushroom. In: Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.) **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications** 361-384.

Zied DC, Pardo-Giménez A (2018) Enhanced production of the medicinal mushroom. In: Sanchez JE, Mata G, Royse DJ (Eds.) **Updates on tropical mushrooms: basic and applied research**. San Cristóbal de Las Casas: El Colegio de la Frontera Sur, p. 59.

Zied DC, Sánchez JE, Noble R, Pardo-Giménez A (2020) Use of Spent Mushroom Substrate in New Mushroom Crops to Promote the Transition towards A Circular Economy. **Agronomy** 10:1239.

CAPÍTULO 2 – APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO (ESTERILIZADO E NÃO ESTERILIZADO) SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE *Agaricus subrufescens*

RESUMO - O objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento agrônômico do *Agaricus subrufescens* quando submetido a aplicação de extratos aquosos que foram esterilizados e não esterilizados, e aplicados sobre a camada de cobertura em diferentes momentos e concentrações. O experimento foi conduzido em fatorial triplo (3 momentos de aplicação x 5 concentrações de extrato x 2 tratamentos térmicos) com 4 repetições em cada tratamento. A avaliação agrônômica consistiu em análise da produtividade, número de cogumelos e massa média dos cogumelos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade. A produtividade e a massa média dos cogumelos foram afetadas estatisticamente pelos três fatores avaliados (tratamento térmico, concentração de extrato e momentos de aplicação), enquanto o número de cogumelos não foi influenciado pelos momentos de aplicação. O extrato aquoso esterilizado e não esterilizado não influenciaram o pH e a condutividade elétrica das camadas de cobertura.

Palavras chave: Cogumelos cultivo, microbiologia agrícola, rendimento, solução irrigadora,

CHAPTER 2 – APPLICATION OF COMPOST TEA (STERILIZED AND NON-STERILIZED) ON THE CASING LAYER OF *Agaricus subrufescens*

ABSTRACT - The objective of the present work was to evaluate the agronomic behavior of *A. subrufescens* when submitted to the application of compost tea that were sterilized and non-sterilized, and applied to the casing layer at different moments and concentrations. The experiment was conducted in triple factorial (3 application moments x 5 extract concentrations x 2 heat treatments) with 4 replications in each treatment. The agronomic evaluation consisted of analysis of yield, number of mushrooms and weight of mushrooms. Data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey test, under the level of 5.0% probability. The yield and the weight of mushrooms were statistically affected by the three factors evaluated (heat treatment, concentration of extract and application moments), while the number of mushrooms was not influenced by the application moments. The sterilized and non-sterilized compost teas did not influence the pH and electrical conductivity of the casing layer.

Keywords: Agricultural microbiology, cultivation mushrooms, irrigating solution, yield

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de *A. subrufescens* atualmente é embasado em técnicas que são utilizadas no cultivo de *A. bisporus* (Martos et al., 2017). No entanto, existe uma série de pesquisas que vêm sendo desenvolvidas nos últimos anos buscando aprimorar técnicas de produção que sejam específicas para o cultivo do cogumelo do sol (Pardo-Giménez et al., 2020b; Llarena-Hernandéz et al., 2011)

Nesse sentido, pode-se citar que a aplicação de extrato aquoso, que já foi estudada no cultivo de *A. bisporus* (Gea et al., 2012; Valizadehkaji et al., 2019), é um campo que ainda pode ser melhor explorado no cultivo de *A. subrufescens*, no que diz respeito ao tratamento térmico utilizado sobre o extrato aquoso, concentração de extrato aplicado sobre a camada de cobertura e os momentos ideais de aplicação.

Um breve relato sobre a aplicação de extrato aquoso a base de composto colonizado sobre a camada de cobertura de *A. subrufescens* pode ser encontrado em Zied et al. (2017), em meio a um apanhado de experimentos utilizando as linhagens ABL 04/49 e ABL 99/30. Os autores mencionam que é possível realizar a irrigação da camada de cobertura utilizando a solução, onde observa-se que foram testadas diferentes concentrações de extrato aquoso esterilizado e não esterilizado. Valizadehkaji et al. (2019), aplicaram extrato aquoso esterilizado a base de vermicomposto sobre a camada de cobertura e composto de *A. bisporus*, testando também diferentes concentrações da solução.

Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da aplicação de extrato aquoso de composto colonizado esterilizado e não esterilizado, sobre desempenho agrônômico de *A. subrufescens*, quando aplicado em diferentes momentos e concentrações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado sob delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial triplo (3 momentos de aplicação x 5 concentrações de extrato x 2 tratamentos térmicos), totalizando 30 tratamentos, com 4 repetições, o que proporcionou um montante de 120 unidades experimentais. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

2.2 COMPOSTO

O composto utilizado neste experimento foi preparado para o cultivo de *A. bisporus* e fornecido pela empresa Compobras (Castro, Paraná, Brasil) cuja análise mineral encontra-se na Tabela 1.

Para seu preparo a fase I durou 22 dias e a fase II durou 7 dias, totalizando 29 dias. Para sua formulação, foram utilizados 900 kg de palha de trigo, 1.400 kg de bagaço de cana, 45 kg de farelo de soja, 4,5 kg de uréia, 5 kg de sulfato de amônio, 10 kg de superfosfato simples e 40 kg de calcário. Os materiais volumosos (palha de trigo e bagaço de cana-de-açúcar) foram umedecidos por 9 dias e revirados a cada 2 dias. Os materiais concentrados (farelo de soja, uréia, sulfato de amônio, superfosfato simples e calcário) foram adicionados sobre a leira de compostagem após cada revirada, ao longo da fase I. Para a pasteurização, o composto permaneceu por 18h a 59 ± 1 °C. Já o condicionamento, ocorreu por 8 dias a 47 ± 2 °C, onde essas duas operações representam a fase II da compostagem.

Tabela 1. Análise mineral do composto utilizado no experimento

N	P₂O₅	K₂O	Ca	Mg	S
-----g.kg ⁻¹ -----					
22,03	13,85	34,57	66,04	6,60	16,78
Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
-----mg.kg ⁻¹ -----					
3.846,00	65,00	181,00	1.095,00	190,00	239,00
M.O.		Umidade		C/N	
-----%-----					
68		3		17/1	

2.3 LINHAGEM E INÓCULO

A linhagem utilizada no experimento foi a ABL 98/11, a qual se encontra depositada na coleção micológica pública da FCAT, do Centro de Estudos de Cogumelos, o que permite o acesso aberto a pesquisadores interessados. O inóculo foi produzido à base de grãos de sorgo (*Sorghum bicolor*), cozidos por aproximadamente 40 minutos em água fervente. Após o cozimento, o excesso de água foi drenado por 20 minutos e 2% de calcita foram adicionados aos grãos, tendo como base seu peso úmido, para fornecimento de cálcio e elevação do pH (Andrade et al., 2007).

Após homogeneização da calcita, os grãos foram autoclavados por um período de 4 horas a 121 °C. Após atingirem o equilíbrio térmico, à temperatura ambiente, os grãos foram inoculados em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar. O inóculo foi incubado à temperatura de 28°C.

2.4 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO

A inoculação do composto foi realizada utilizando-se 1% de inóculo para cada unidade experimental (Braga et al., 2006) a qual continha 1 kg de composto.

A incubação foi realizada em câmara de alvenaria, onde as variáveis temperatura e umidade relativa do ar foram controladas. A temperatura foi mantida em 28°C e a umidade relativa do ar em 95% (Siddiqui et al., 2020).

2.5 CAMADA DE COBERTURA

A camada de cobertura utilizada foi a turfa de musgo, de origem brasileira, comercializada pela empresa +Terra (Castro, Paraná, Brasil). A camada foi depositada sobre o composto nivelado, 17 dias após a inoculação, quando o mesmo se apresentou totalmente colonizado, em quantidade suficiente para atingir uma altura de 3,0 cm (Wisitrassameewong et al., 2012).

2.6 RUFFLING E INDUÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO

Foi realizado o ruffling antes do micélio atingir a superfície da camada de cobertura, aos 6 dias após o recobrimento do composto (Pardo-Giménez et al., 2020b). Ao final de 24 horas após o ruffling, iniciou-se o processo de indução de frutificação, onde a temperatura da câmara foi diminuída em 2°C por dia, até atingir 20°C, e logo em seguida, foi elevada em 2°C por dia, até atingir novamente 28°C (Pardo-Giménez et al., 2020b).

2.7 EXTRATO AQUOSO (EA)

Para a confecção do extrato (Figura 1), foi utilizado o composto colonizado com a mesma linhagem de *A. subrufescens* (ABL 98/11). O composto foi selecionado visualmente, sendo escolhidas as unidades experimentais que se apresentavam totalmente colonizadas, apresentando exsudatos sobre a superfície do composto e que não apresentavam contaminações. Em uma proporção de 1 kg de composto para 5 litros de água de torneira (1:5), a solução permaneceu em repouso dentro de um recipiente aberto, pelo período de 1 hora e temperatura de 25°C. Posteriormente, o composto foi retirado e o extrato aquoso foi filtrado, em peneira de 10 mesh (2,0 mm). A partir da solução obtida, metade do extrato foi esterilizado, a 121°C pelo período de 30 minutos e a outra metade não.

2.7.1 APLICAÇÃO NA CAMADA DE COBERTURA

Todas as caixas receberam uma dose fixa de irrigação (2,212 L.m⁻²). Todavia, dentro dessa dose fixa, foram diluídas 4 diferentes concentrações de extrato, sendo elas (0 L de extrato + 2,212 L de água por m⁻² (0% de E.A.); 0,276 L de extrato + 1,936 L de água por m⁻² (12,5% de E.A.); 0,553 L de extrato + 1,659 L de água por m⁻² (25% de E.A.); 1,106 L de extrato + 1,106 L de água por m⁻² (50% de E.A.); e finalmente 2,212 L de extrato + 0 L de água por m⁻² (100% de E.A.).

O extrato foi aplicado sobre a camada de cobertura em diferentes momentos, com os dias contados a partir da adição da camada sobre o composto, sendo eles no 6^o dia (aplicação após o ruffling) e no 11^o dia. Houve tratamentos que receberam aplicação cumulativa, ou seja, no 6^o e 11^o dia. O composto utilizado na primeira aplicação, possuía 23 dias de colonização e o composto utilizado na segunda aplicação, possuía 28 dias de colonização.

Para a aplicação da solução sobre a camada de cobertura, foi utilizado um regador com capacidade de 1 litro. Durante o ciclo produtivo, fora dos momentos de aplicação, os tratamentos receberam irrigação convencional conforme a necessidade de cada unidade experimental.

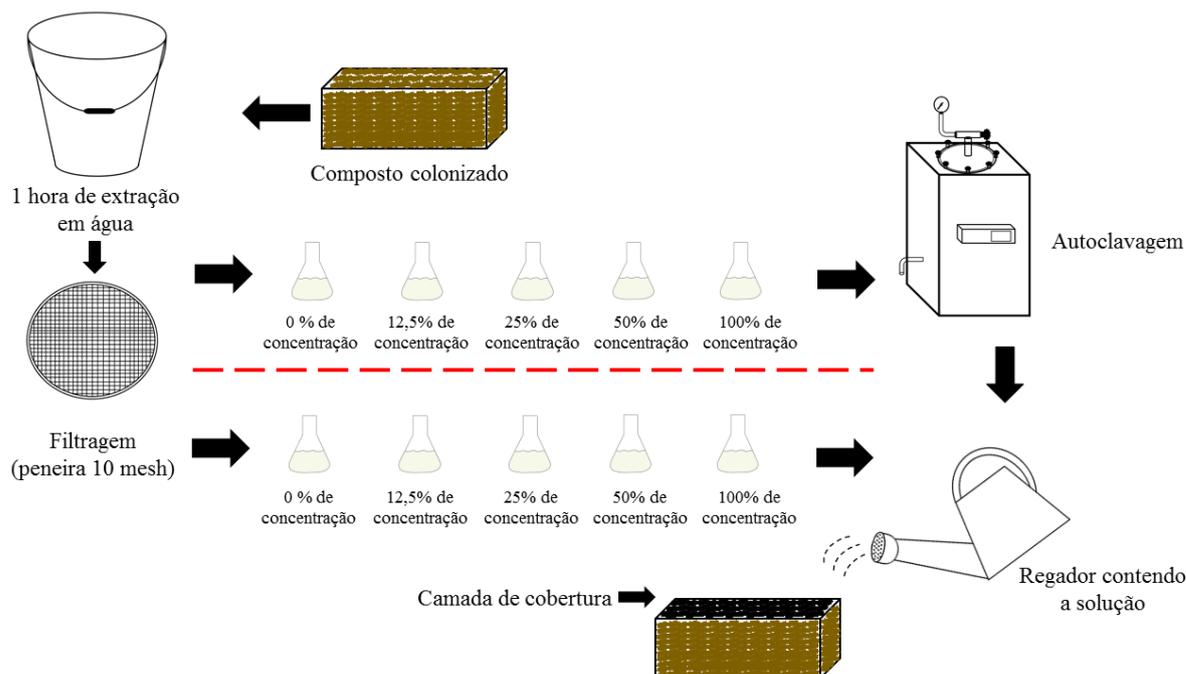


Figura 1. Etapas para a confecção do extrato aquoso de composto colonizado esterilizado e não esterilizado.

2.8 COLHEITA E PÓS-COLHEITA

O período de frutificação se iniciou em 14 dias após a adição da camada de cobertura. A colheita foi realizada manualmente até 3 vezes ao dia e foram colhidos os cogumelos com o píleo ainda fechado (Pardo-Giménez et al., 2020b). Como procedimentos pós-colheita, a base do estipe foi cortada como forma de higienização e logo em seguida os cogumelos foram lavados em água corrente para limpeza do píleo e dos resíduos de camada de cobertura.

2.9 PARÂMETROS AVALIADOS

2.9.1 AVALIAÇÃO AGRONÔMICA

A avaliação agronômica consistiu na coleta diária de dados, que ao final foram utilizados para mensurar a produtividade, número de cogumelos e massa média dos cogumelos. Todos os parâmetros foram calculados segundo Andrade et al., (2007). A produtividade foi calculada dividindo-se a massa fresca de cogumelos pela massa fresca de substrato inicial de cada unidade experimental. A eficiência biológica foi obtida dividindo-se a massa fresca de cogumelos pela massa seca do substrato inicial. Esses dois valores são apresentados em porcentagem e para isso ao final foram multiplicados por 100. O número de cogumelos foi obtido através da contagem diária e soma de todos os basidiomas colhidos. A massa média dos cogumelos foi obtida dividindo-se a massa total de cogumelos frescos pelo número de basidiomas colhidos.

2.9.2 AVALIAÇÃO MINERAL

O teor de elementos minerais foi mensurado no composto e no extrato aquoso do composto colonizado, realizado pelo Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da FCA-UNESP de Botucatu, seguindo a metodologia descrita em Brasil (2014).

2.9.3 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E pH

A condutividade elétrica (C.E.) e o pH foram quantificados na camada de cobertura ao final da última aplicação, utilizando 10 gramas de turfa diluídos em 50 mL de água deionizada, em frascos erlenmeyer, que foram agitados pelo período de 30 minutos a 25°C (Aenor 2001a; Aenor 2001b). A mesma solução foi utilizada para mensurar o pH e a condutividade elétrica.

2.9.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação agrônômica foi submetida à análise de variância utilizando o software estatístico SISVAR 5.7 (Ferreira, 2019) e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

3 RESULTADOS

A produtividade e a eficiência biológica foram afetadas de forma significativa pelo tratamento térmico, concentrações e momentos de aplicação dos extratos aquosos. O extrato aquoso esterilizado se mostrou superior ao não esterilizado quando aplicado no 11º dia, sob a concentração de 50% e no 6º dia sob a concentração de 100%. Com relação a momentos de aplicação, a aplicação cumulativa no 6º e 11º dia apresentou uma produtividade e eficiência biológica superior à aplicação única do 6º dia, sob a concentração de 100% de extrato não esterilizado, assim como, a aplicação cumulativa do extrato esterilizado sob a concentração de 25%, se mostrou superior às aplicações únicas. Em se tratando de concentrações, o tratamento que recebeu 100% água não esterilizada sobre a camada de cobertura no 11º dia, apresentou um valor superior ao tratamento que recebeu 50% de extrato não esterilizado no mesmo dia (Tabela 2).

A variável número de cogumelos não foi afetada pelos momentos de aplicação, porém sofreu influência das concentrações e tratamento térmico. Observa-se que o extrato não esterilizado obteve um maior número de cogumelos quando aplicado na concentração de 25% no 11º dia. O extrato esterilizado, por sua vez, apresentou um número de cogumelos superior quando comparado ao extrato não esterilizado, aplicado no 6º e 11º dias, sob a concentração de 50%. Por sua vez, a concentração que favoreceu o número de cogumelos foi 12,5% de extrato esterilizado aplicado no 11º dia, em contraste com a concentração de 25% de extrato esterilizado, que resultou em menor número de cogumelos quando aplicado no mesmo dia.

A massa média dos cogumelos foi afetada de forma significativa pelos três fatores estudados nessa pesquisa (tratamento térmico, concentrações e momentos de aplicação). Em se tratando de tratamento térmico, é possível observar que o extrato esterilizado se sobressaiu quando comparado ao extrato não-esterilizado,

quando aplicado sob a concentração de 100% no 6º dia. Quando as concentrações são comparadas entre si, é possível observar que a concentração de 100% de extrato esterilizado obteve cogumelos mais pesados e as concentrações de 12,5%, 25% e 50% proporcionaram os cogumelos mais leves, quando foram aplicados no 6º dia. Finalmente, quando os momentos de aplicação são comparados entre si, é possível observar que o extrato esterilizado aplicado no 6º dia originou os cogumelos mais pesados e quando aplicado no 11º dia e 6º e 11º dias, originou cogumelos mais leves.

Tabela 2. Avaliação agrônômica do cogumelo *A. subrufescens* submetido a aplicação de extratos aquosos

Concentração	Extrato esterilizado			Extrato não esterilizado		
	6º dia	11º dia	6º e 11º Dia	6º dia	11º dia	6º e 11º dia
Produtividade (%)						
100% água	9,93	11,06	10,76	12,20	14,00 a	12,06
12,5% extrato	13,66	11,50	11,43	13,06	8,76 ab	10,10
25% extrato	9,00 B	8,46 B	13,93 A	9,20	11,50 ab	10,16
50% extrato	10,06	12,80 α	14,30	10,56	7,76 bβ	10,93
100% extrato	12,13 α	8,93	9,46	7,90 Bβ	8,73 ABab	12,90 A
C.V. (%)	26,11					
Eficiência Biológica (%)						
100% água	14,60	16,27	15,83	17,94	20,59 a	17,74
12,5% extrato	20,10	16,91	16,81	19,21	12,89 ab	14,85
25% extrato	13,23 B	12,45 B	20,49 A	13,53	16,91 ab	14,95
50% extrato	14,80	18,82 α	21,03	15,54	11,42 bβ	16,08
100% extrato	17,84 α	13,13	13,92	11,62 Bβ	12,84 ABab	18,97 A
C.V. (%)	26,11					
Número de cogumelos (uni.)						
100% água	3,00	5,00 ab	3,66	4,66	4,33	5,33
12,5% extrato	5,33	5,33 a	4,66	5,00	4,66	3,66
25% extrato	4,33	2,66 bβ	4,66	3,33	5,33 α	4,00
50% extrato	4,00	4,66 ab	5,33 α	3,33	3,66	3,33 β
100% extrato	4,00	3,66 ab	3,00	3,66	3,00	4,33
C.V. (%)	31,09					
Massa Média (g)						
100% água	33,11 ab	22,04	28,21	29,00	31,60	24,66
12,5% extrato	25,70 b	22,36	25,93	25,97	18,96	32,89
25% extrato	21,33 b	33,50	30,43	27,61	21,95	26,69
50% extrato	26,14 b	27,97	34,95	31,80	21,47	33,07
100% extrato	49,90 Aαa	24,27 B	32,80 B	27,83 β	31,00	30,51
C.V. (%)	34,10					

As letras maiúsculas comparam os resultados entre momentos de aplicação. As letras minúsculas comparam os resultados entre concentrações de extrato aquoso. As letras gregas (alfa e beta) comparam os resultados entre tratamento térmico. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

Quando os extratos aquosos são comparados entre si, é possível observar que o extrato esterilizado possui maior quantidade de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), sódio (Na) e boro (B). Por sua vez, o extrato não esterilizado possui maior quantidade de nitrogênio (N), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). O extrato aquoso esterilizado apresentou condutividade elétrica de 7.740,00 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, estatisticamente maior que o extrato não esterilizado, com 7.670,00 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. O pH das duas soluções não foi alterado pelo tratamento térmico (Tabela 3).

Tabela 3. Análise mineral dos extratos aquosos

	N	P	K	Ca	Mg	S	C.E.
	-----mg.L ⁻¹ -----						$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$
Esterilizado	77,00 B	254,00 A	1.595,00 A	205,00 A	141,00 A	1.183,00 A	7.740,00 A
Não esterilizado	133,00 A	243,00 B	1.490,00 B	198,00 B	134,00 B	1.044,00 B	7.670,00 B
	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn	pH
	-----mg.L ⁻¹ -----						--
Esterilizado	164,0 A	1,47A	0,28 B	1,28 B	0,82 B	0,20 B	6,86 A
Não esterilizado	152,0 B	0,98 B	0,49 A	1,40 A	0,89 A	0,25 A	6,86 A

As letras maiúsculas comparam os resultados entre tratamento térmico (esterilizado e não esterilizado). As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

A aplicação dos extratos aquosos na camada de cobertura não reflete em aumento da C.E. da mesma, visto que dentre todas as concentrações e tratamento térmico adotado (esterilizado e não esterilizado), não houve diferença significativa entre os valores. O mesmo ocorre para pH, que se mantém entre 7,21 e 7,38, não diferindo estatisticamente perante a aplicação de extratos aquosos (Tabela 4).

Tabela 4. Condutividade elétrica e pH das camadas de cobertura submetidas a aplicação de extratos aquosos

Concentração	Condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		pH	
	Esterilizado	Não Esterilizado	Esterilizado	Não Esterilizado
100% água	1.036,30	893,46	7,35	7,35
12,5% extrato	1.006,80	1.107,03	7,32	7,38
25% extrato	1.207,00	902,26	7,26	7,34
50% extrato	1.055,06	1.356,33	7,32	7,36
100% extrato	1.249,66	1.344,30	7,22	7,21
C.V. (%)		20,07		1,23

A ausência de letras indica que não houve diferença estatística entre os fatores analisados. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

4 DISCUSSÃO

Llarena-Hernández et al. (2011), cultivaram a linhagem de *A. subrufescens* ABL 98/11 em composto comercial fabricado para produção de *A. bisporus*, e alcançaram a produtividade de aproximadamente 160g de cogumelos por kg de composto (equivalente a 16% de produtividade). Zied et al. (2021), cultivando quatro diferentes linhagens de *A. subrufescens*, obtiveram a produtividade média de 14,94% para a linhagem ABL 98/11, muito próxima a encontrada nesse experimento.

Valizadehkaji et al. (2019), testaram a aplicação de diferentes concentrações de extrato aquoso esterilizado a base de vermicomposto, aplicado no composto e na camada de cobertura de *A. bisporus*, que ao contrário do observado neste experimento, resultou em uma diminuição da produtividade, número e massa média dos cogumelos com a maior concentração utilizada, 100% extrato. Neste experimento, a produtividade foi afetada positivamente pelo extrato esterilizado, assim como, a massa média foi influenciada pelo extrato esterilizado em sua concentração máxima, 100%, quando aplicado no 6º dia. Tal fato justifica a constante condução de novas pesquisas que determinem métodos de cultivo exclusivos para o *A. subrufescens*, visto que sua tecnologia de produção está embasada no cultivo de *A. bisporus* (Martos et al., 2017).

A combinação de 100% extrato esterilizado, aplicado no 6º dia, produziu os cogumelos com a maior massa média encontrada no experimento, considerada alta quando comparada ao experimento de Llarena-Hernández et al. (2011), onde

cultivando a linhagem ABL 98/11 em composto comercial para produção de *A. bisporus*, alcançaram a massa média de 19 gramas. A aplicação precoce de extrato aquoso sobre a camada de cobertura pode ser indicada a produtores que têm interesse em produzir cogumelos de massa média elevada, visto que esse padrão é uma exigência da indústria (Pardo-Giménez et al., 2020a).

Valizadehkaji et al. (2019), verificaram que o extrato aquoso esterilizado de vermicomposto possui altos valores de N, P, Zn (respectivamente 812,00, 630,00 e 5,4 mg.L⁻¹), muito acima dos encontrados neste experimento. Em contrapartida, o mesmo extrato possui menores valores de K, Ca, Fe e Mn (respectivamente 1.160,00, 70,00, 0,20 e 0,4 mg.L⁻¹).

Verificamos também menor teor de cobre no extrato esterilizado quando comparado ao extrato não esterilizado, muito semelhante ao encontrado por Valizadehkaji et al. (2019), que obteve 0,2 mg.L⁻¹ de cobre ao esterilizar extrato aquoso de vermicomposto. O alto valor de Cu, Mn e Zn encontrados no extrato aquoso não esterilizado, podem estar relacionados com o maior número de cogumelos do tratamento que recebeu aplicação no 11º dia, com 25% de extrato aquoso não esterilizado, visto que segundo Wisitrassameewong et al. (2012), esses minerais são responsáveis por estimular a frutificação.

Embora a C.E. dos extratos seja considerada muito alta, em média 7.705,00 µS.cm⁻¹, o valor ainda se encontra abaixo do reportado por Marín et al. (2013), que ao estudarem extratos aquosos de quatro diferentes fontes, definiram o extrato aquoso de composto exaurido de cogumelos como sendo o de maior C.E. dentre os estudados, com uma média de 9.270,00 µS.cm⁻¹.

A aplicação de extrato aquoso esterilizado e não esterilizado no cultivo do *A. subrufescens* não interfere negativamente no pH e C.E. da camada de cobertura, visto que nenhuma camada ultrapassou 1.600,00 µS.cm⁻¹ de C.E. e o pH de todos os tratamentos se manteve dentro dos parâmetros ideais para o gênero *Agaricus* (Pardo-Giménez et al., 2014; Martos et al., 2017).

5 CONCLUSÃO

As aplicações cumulativas favoreceram a produtividade, enquanto as diferentes concentrações e tratamento térmico empregados, de forma geral, não aumentaram o rendimento do *A. subrufescens*. Contudo, existem determinadas combinações que podem favorecer o número de cogumelos e a massa média dos cogumelos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aenor (2001a) **Mejoradores de suelos y sustratos de cultivo**. Determinación del pH, ed. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) - Norma Española UNE-EN 13037, Madrid.

Aenor (2001b) **Mejoradores de suelos y sustratos de cultivo**. Determinación de la conductividad eléctrica. ed. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) - Norma Española UNE-EN 13038, Madrid.

Andrade MCN, Kopytowski Filho J, Minhoni MTD, Coutinho LN, Figueiredo MB (2007) Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. **Braz J Microbio** 38:243-247.

Ferreira D (2019) SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Rev Bras Biom** 37:529-535.

Braga GC, Montini RMC, Salibe AB (2006) Parâmetros da produção de *Agaricus blazei* sob diferentes condições ambientais de cultivo. **Sci Agrar Paran** 5:47–56.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2014) **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/DAS/CGAL. 220 p.

Gea FJ, Santos M, Diáñez F, Tello JC, Navarro MJ (2012) Effect of spent mushroom compost tea on mycelial growth and yield of button mushroom (*Agaricus bisporus*). **World J Microbiol Biotechnol** 28:2765-2769.

Llarena-Hernández RC, Largeteau M, Farnet AM, Minvielle N, Regnault-Roger C, Savoie JM (2011) Phenotypic variability in cultivars and wild strains of *Agaricus brasiliensis* and *Agaricus subrufescens*. In 7. International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. INRA.

Marín F, Santos M, Diáñez F, Carretero F, Gea FJ, Yau JA, Navarro MJ (2013) Characters of compost teas from different sources and their suppressive effect on fungal phytopathogens. **World J Microbiol Biotechnol** 29:1371–1382.

Martos ET, Zied DC, Junqueira PPG, Rinker DL, Da Silva R, Toledo RCC, Dias ES (2017) Casing layer and effect of primordia induction in the production of *Agaricus subrufescens* mushroom. **Agric Nat Resour** 51:231-234.

Pardo-Giménez A, González JEP, de Figueirêdo VR, Zied DC (2014) Adaptabilidad de cepas brasileñas de *Agaricus subrufescens* Peck a la fructificación sobre diferentes capas de cobertura en cultivo comercial. **Rev Iberoam Micol** 31:125-130.

Pardo-Giménez A, Carrasco J, González JEP, Ortí MÁ, Zied DC (2020a) Influence of substrate density and cropping conditions on the cultivation of sun mushroom. **Span J Agric Res** 18:19.

Pardo-Giménez A, Pardo JE, Dias ES, Rinker DL, Caitano CEC, Zied DC (2020b) Optimization of cultivation techniques improves the agronomic behavior of *Agaricus subrufescens*. **Sci Rep** 10:1-9.

Siddiqui WN, Bashir H, Khalid AN (2020) Cultivation of wild indigenous *Agaricus bisporus* and *Agaricus subrufescens* from Pakistan. **Fungal Biol** 10:466-474.

Valizadehkaji B, Abbasifar AR, Ahsani Iravini M, Hoseinabad M (2019) Evaluation of the Effect of Vermicompost Extract Spray on Growth Indices of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*).

Wisitrassameewong K, Karunarathna SC, Thongklang N, Zhao R, Callac P, Moukha S, Férandon C, Chukeatirote E, Hyde KD (2012) *Agaricus subrufescens*: a review. **Saudi J Biol Sci** 19:131-146

Zied DC, González JEP, Dias ES, Pardo-Giménez A (2017) Characteristics, production, and marketing of the sun mushroom: the new medicinal cultivated mushroom. In: Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.) **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications** 361-384.

Zied DC, Junior WGV, Soares DM, Stevani CV, Dias ES, Iossi MR, Pardo-Giménez A (2021) Overview of four *Agaricus subrufescens* strains used in the last 15 years in Brazil and other countries and current potential materials for the future. **Mycol Prog** 20:953-966.

CAPÍTULO 3 – APLICAÇÃO DE EXTRATO AQUOSO (OBTIDO SOB DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO) SOBRE A CAMADA DE COBERTURA DE *Agaricus subrufescens*

RESUMO: O objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento agrônômico do *Agaricus subrufescens* quando submetido a aplicação de extratos aquosos, obtidos em diferentes tempos de extração e aplicados sobre a camada de cobertura em diferentes momentos. O experimento foi conduzido em fatorial triplo (8 momentos de aplicação x 2 tempos de extração x 2 ambientes de cultivo + 2 controles) totalizando 34 tratamentos, com 4 repetições cada, o que proporciona um montante de 136 unidades experimentais. A avaliação agrônômica consistiu em análise da produtividade, número de cogumelos, massa média dos cogumelos, eficiência biológica e precocidade. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade. Também foram analisados os teores minerais no composto e dos extratos aquosos, assim como pH e condutividade elétrica da camada de cobertura e dos extratos aquosos. A produtividade e eficiência biológica foram afetadas positivamente pelo ambiente de cultivo, enquanto a massa média foi afetada pelos três fatores estudados (momentos de aplicação, tempo de extração e ambiente de cultivo). O número de cogumelos apenas foi afetado pelo tempo de extração e ambiente de cultivo e a precocidade apenas por tempo de extração.

Palavras Chave: Cogumelos cultivo, microbiologia agrícola, rendimento, solução irrigadora,

CHAPTER 3 – APPLICATION OF COMPOST TEA (OBTAINED UNDER DIFFERENT FERMENTATION TIMES) ON THE CASING LAYER OF *Agaricus subrufescens*

ABSTRACT: The objective of the present work was to evaluate the agronomic behavior of *A. subrufescens* when submitted to the application of compost teas, obtained at different extraction times and applied to the casing layer at different moments. The experiment was conducted in triple factorial (8 application moments x 2 extraction times x 2 cultivation environments + 2 controls) totaling 34 treatments, with 4 replications each, which provides an amount of 136 experimental units. The agronomic evaluation consisted of analysis of yield, number of mushrooms, weight of mushrooms, biological efficiency and precocity. Data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey test, under the level of 5.0% probability. Mineral contents in the compost and compost teas were also analyzed, as well as pH and electrical conductivity of the casing layer and compost tea. Yield and biological efficiency were positively affected by the cultivation environment, while the weight was affected by the three factors studied (application moments, fermentation time and cultivation environment). The number of mushrooms was only affected by fermentation time and cultivation environment, and precocity only by fermentation time.

Keywords: Agricultural microbiology, cultivation mushrooms, irrigating solution, yield

1. INTRODUÇÃO

Existem algumas divergências na literatura quando se leva em consideração o tempo de extração do extrato aquoso. Iossi et al. (2018), relataram aplicação de extrato aquoso sobre a camada de cobertura de *A. subrufescens*, obtido sob o tempo de extração de 1 hora. Em contrapartida, Gea et al. (2012) (cultivo de *A. bisporus*) e Tolardo et al. (2015) (cultivo de *A. subrufescens*), relataram uso de extrato aquoso obtido sob o tempo de extração de 24 horas. Por fim, Valizadehkaji et al. (2019), relataram a aplicação de extrato aquoso no cultivo de *A. bisporus*, porém os autores não esclarecem em qual tempo de extração o extrato foi obtido.

Até o momento, a época de aplicação mais usual no cultivo de *A. bisporus* tem sido quando os cogumelos começam a produzir primórdios sobre a camada de cobertura (Gea et al., 2012).

O ambiente de cultivo controlado é preferido em condições de experimentação pois permite que a temperatura, umidade relativa e outros fatores sejam controlados, havendo menor interferência de fatores ambientais externos. No entanto, segundo Vieira Junior (2021), o *A. subrufescens* costuma ser cultivado sob baixo nível tecnológico, onde as variáveis não são adequadamente controladas. Essa modalidade de cultivo pode favorecer o rendimento do cogumelo em alguns casos, atrelado à adaptabilidade da linhagem.

Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o desempenho agrônômico do *A. subrufescens* submetido a aplicação de extrato aquoso de composto colonizado obtido em diferentes tempos de extração e aplicado em dois ambientes de cultivo em diferentes momentos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado sob delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial triplo (8 momentos de aplicação x 2 tempos de extração x 2 ambientes de cultivo + 2 controles), totalizando 34 tratamentos, com 4 repetições, o que proporcionou um montante de 136 unidades experimentais. Os controles receberam apenas irrigação convencional sobre a camada de cobertura. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

2.2 COMPOSTO

O composto utilizado neste experimento foi preparado para o cultivo de *A. bisporus* e fornecido pela empresa Compobras (Castro, Paraná, Brasil) cuja análise mineral encontra-se na Tabela 1.

Para seu preparo, a fase I durou 22 dias e a fase II durou 7 dias, totalizando 29 dias. Para sua formulação, foram utilizados 900 kg de palha de trigo, 1.400 kg de bagaço de cana, 45 kg de farelo de soja, 4,5 kg de uréia, 5 kg de sulfato de amônio, 10 kg de superfosfato simples e 40 kg de calcário. Os materiais volumosos (palha de trigo e bagaço de cana-de-açúcar) foram umedecidos por 9 dias e revirados a cada 2 dias. Os materiais concentrados (farelo de soja, uréia, sulfato de amônio, superfosfato simples e calcário) foram adicionados sobre a leira de compostagem após cada revirada, ao longo da fase I de compostagem. Para a pasteurização, o composto permaneceu por 18h a 59 ± 1 °C. Já o condicionamento, ocorreu por 8 dias a 47 ± 2 °C, onde essas duas operações representam a fase II da compostagem.

Tabela 1. Análise mineral do composto utilizado como substrato no experimento

N	P₂O₅	K₂O	Ca	Mg	S
----- g.kg ⁻¹ -----					
22,24	12,43	34,71	32,85	6,91	12,96
Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
----- mg.kg ⁻¹ -----					
3.707,00	74,00	222,00	2.795,00	204,00	228,00
M.O.		Umidade		C/N	
-----%-----					
71		2		18/1	

2.3 LINHAGEM E INÓCULO

A linhagem utilizada no experimento foi a ABL 04/49, a qual se encontra depositada na coleção micológica pública da FCAT, do Centro de Estudos de Cogumelos, o que permite o acesso aberto a pesquisadores interessados. O inóculo foi produzido à base de grãos de sorgo (*Sorghum bicolor*), cozidos por aproximadamente 40 minutos em água fervente. Após o cozimento, o excesso de água foi drenado por 20 minutos e tendo como base seu peso úmido, 2% de calcita foram adicionados aos grãos, para fornecimento de cálcio e elevação do pH (Andrade et al., 2007).

Após homogeneização à calcita, os grãos foram autoclavados por um período de 4 horas a 121 °C. Após atingirem o equilíbrio térmico, à temperatura ambiente, os grãos foram inoculados em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar. O inóculo foi incubado a uma temperatura de 28°C.

2.4 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO

A inoculação do composto foi realizada utilizando-se 1% de inóculo para cada unidade experimental (Braga et al., 2006), a qual continha 2,8 kg de composto.

O experimento foi conduzido em duas câmaras de alvenaria, em uma delas as variáveis temperatura e umidade relativa do ar foram controladas e na outra foram semi-controladas. Na câmara controlada, a temperatura foi mantida em 28°C e a umidade relativa do ar em 95% (Siddiqui et al., 2020). A câmara semi-controlada

possuía apenas o sistema de refrigeração, mas não aquecimento, o que gerou maior oscilação térmica entre dia e noite.

2.5 CAMADA DE COBERTURA

Foi utilizada a turfa de musgo como camada de cobertura, de origem brasileira, sendo ela fornecida pela empresa +Terra (Castro, Paraná, Brasil). A camada foi depositada sobre o composto nivelado, 22 dias após a inoculação, quando o mesmo se apresentou totalmente colonizado, em quantidade suficiente para atingir uma altura de 3,0 cm (Wisitrassameewong et al., 2012).

2.6 RUFFLING E INDUÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO

Foi realizado o ruffling antes de o micélio atingir a superfície da camada de cobertura, aos 3 dias após o recobrimento do composto (Pardo-Giménez et al., 2020). Após 24 horas do ruffling, iniciou-se o processo de indução de frutificação, onde a temperatura foi diminuída em 2°C por dia, até atingir 20°C, e logo em seguida, a temperatura foi elevada em 2°C por dia, até atingir novamente 28°C (Pardo-Giménez et al., 2020). Na câmara semi-controlada não foi possível realizar a elevação da temperatura, visto que a mesma conta apenas com sistema de refrigeração.

2.7 EXTRATO AQUOSO (EA)

Para a confecção do extrato aquoso (Figura 1), foi utilizado o composto colonizado com a mesma linhagem de *A. subrufescens* (ABL 04/49). O composto foi selecionado visualmente, sendo escolhidas as unidades experimentais que se apresentavam totalmente colonizadas, apresentando exsudatos sobre a superfície do composto e que não apresentavam contaminações. Em uma proporção de 1 kg

de composto para 5 litros de água de torneira (1:5), a solução permaneceu em repouso dentro de um recipiente aberto, em temperatura de 25°C. Dois extratos aquosos foram confeccionados, em função do tempo de repouso. Uma extração ocorreu pelo tempo de 1 hora e a outra extração ocorreu pelo tempo de 24 horas. Posteriormente, o composto foi retirado e o extrato aquoso foi filtrado, em peneira de 10 mesh (2,0 mm). O extrato obtido foi diluído a uma concentração de 12,5%, e cada unidade experimental recebeu 100 mL dessa solução em diferentes momentos. Essa diluição é equivalente a 2,212 L de irrigação por m² (0,276 L de extrato + 1,936 L de água).

2.7.1 APLICAÇÃO NA CAMADA DE COBERTURA

O extrato foi aplicado sobre a camada de cobertura em diferentes momentos, onde os dias foram contados a partir da adição da camada sobre o composto, sendo eles no 3º dia (aplicação logo após o ruffling), 6º, 9º, 12º e 15º dia. Houve tratamentos que receberam aplicação cumulativa, no 3º e 9º dia, no 6º e 12º dia e por fim no 9º e 15º dia. Para cada momento de aplicação foram preparados dois extratos aquosos (1 hora e 24 horas). O composto utilizado na primeira aplicação, possuía 25 dias de colonização; na segunda aplicação possuía 28 dias de colonização; na terceira aplicação possuía 31 dias de colonização; na quarta aplicação possuía 34 dias de colonização; e por fim na quinta aplicação possuía 37 dias de colonização.

Para a aplicação da solução sobre a camada de cobertura, foi utilizado um regador com capacidade de 1 litro. Durante o ciclo produtivo, fora dos momentos de aplicação, os tratamentos receberam irrigação convencional conforme a necessidade de cada unidade experimental.

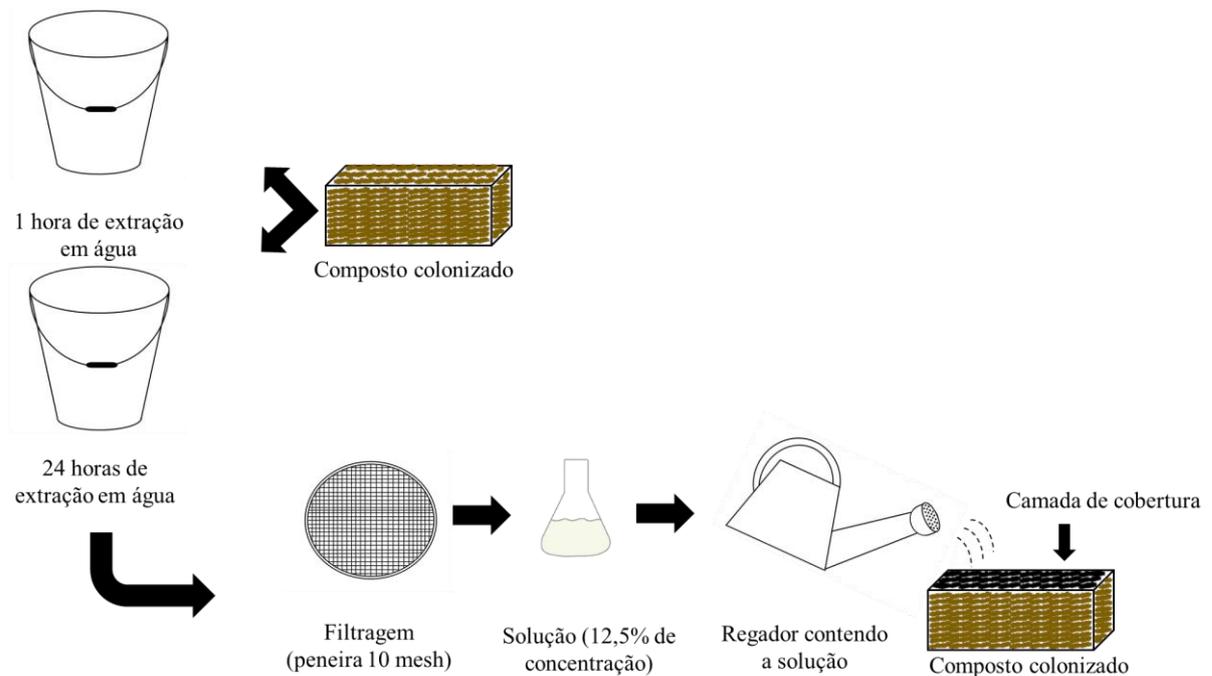


Fig. 1 Etapas para a confecção do extrato aquoso de composto colonizado

2.8 COLHEITA E PÓS-COLHEITA

O período de frutificação se iniciou 17 dias após a adição da camada de cobertura. A colheita foi realizada manualmente até 3 vezes ao dia e foram colhidos os cogumelos com o píleo fechado (Pardo-Giménez et al., 2020). Como procedimentos pós-colheita, a base do estipe foi cortada como forma de higienização e logo em seguida os cogumelos foram lavados em água corrente para limpeza do píleo e dos resíduos de camada de cobertura.

2.9 PARÂMETROS AVALIADOS

2.9.1 AVALIAÇÃO AGRONÔMICA

A avaliação agronômica consistiu na coleta diária de dados, que ao final foram utilizados para mensurar a produtividade, eficiência biológica, precocidade,

número e massa média dos cogumelos. Todos os parâmetros foram calculados segundo Andrade et al. (2007). A produtividade foi calculada dividindo-se a massa fresca de cogumelos pela massa fresca de substrato inicial de cada unidade experimental. A eficiência biológica foi obtida dividindo-se a massa fresca de cogumelos pela massa seca do substrato inicial. Esses dois valores são apresentados em porcentagem e para isso ao final foram multiplicados por 100. A precocidade é calculada somando-se a produção da primeira metade do tempo de colheita, multiplicando-a por 100 e dividindo-se pela produção total, sendo expressa em porcentagem. O número de cogumelos foi obtido através da contagem diária e soma de todos os basidiomas colhidos. A massa média dos cogumelos foi obtida dividindo-se a massa total de cogumelos frescos pelo número de basidiomas colhidos.

2.9.2 AVALIAÇÃO MINERAL

O teor de elementos minerais foi mensurado no composto e no extrato aquoso do composto colonizado, realizado pelo Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da FCA-UNESP de Botucatu, seguindo a metodologia descrita em Brasil (2014).

2.9.3 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E pH

A condutividade elétrica e o pH foram quantificados na camada de cobertura ao final da última aplicação, utilizando 10 gramas de turfa diluídos em 50 mL de água deionizada, em frascos erlenmeyer, que foram agitados pelo período de 30 minutos a 25°C (Aenor 2001a; Aenor 2001b). A mesma solução foi utilizada para mensurar o pH e a condutividade elétrica.

2.9.4 TEMPERATURA DO SUBSTRATO

A temperatura do substrato foi monitorada manualmente em cada câmara, através de termohigrômetros instalados dentro das caixas com substrato. Os dados foram coletados diariamente.

2.9.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A avaliação agrônômica foi submetida à análise de variância utilizando o software estatístico SISVAR 5.7 (Ferreira, 2019) e as médias comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade. Uma análise de componentes principais (PCA) biplot foi realizada entre os parâmetros agrônômicos, o teor de nutrientes, pH e condutividade elétrica dos extratos aquosos, utilizando o software estatístico Statgraphics Centurion.

3. RESULTADOS

Quando os ambientes de cultivo são comparados é possível observar que a câmara semi-controlada proporcionou melhores resultados de produtividade e eficiência biológica que a câmara controlada, para o tratamento que recebeu o extrato aquoso de 24 horas sob aplicação no 12º dia e aplicação cumulativa no 6º e 12º dia, demonstrando que a câmara semi-controlada pode favorecer o cultivo. Os momentos de aplicação e os extratos aquosos, não diferiram estatisticamente entre si quanto a produtividade e eficiência biológica (Tabela 2).

Para a variável número de cogumelos, o ambiente que apresentou os maiores valores foi o semi-controlado com aplicação no 12º dia e no 6º e 12º dia, ambos com o extrato de 24 horas. Quando os tempos de extração são comparados entre si, é possível observar que o extrato de 24 horas apresentou uma média superior ao extrato de 1 hora, quando aplicado no 12º dia em câmara semi-controlada.

A variável massa média foi afetada pelos 3 fatores estudados nessa pesquisa (tempos de extração, momentos de aplicação e ambiente de cultivo). O ambiente que favoreceu a massa média dos cogumelos foi o ambiente controlado, quando recebeu aplicação do extrato de 24 horas no 9º dia, apresentando os cogumelos de maior massa média. Em contrapartida, os tempos de extração que obtiveram maior

massa média foram o extrato aquoso de 24 horas no 3º dia e o extrato aquoso de 1 hora no 9º dia, ambos na câmara semi-controlada.

A massa média dos cogumelos foi a única variável que apresentou diferença estatística para os momentos de aplicação, onde é possível observar que o 3º dia é o mais indicado para a aplicação do extrato aquoso de 24 horas, favorecendo o peso dos cogumelos, e o 9º dia é o menos indicado, produzindo cogumelos mais leves. Por fim, o controle cultivado em câmara semi-controlada produziu cogumelos de maior massa média em relação ao controle cultivado em câmara controlada.

A variável precocidade apresentou diferença estatística quando os tempos de extração foram comparados entre si. O extrato aquoso obtido a partir de 1 hora de extração apresentou a maior precocidade do experimento, sendo significativa quando comparada ao extrato aquoso de 24 horas, aplicados no 6º e 12º dia em câmara controlada. Os momentos de aplicação e os ambientes de cultivo não diferiram estatisticamente para precocidade.

Tabela 2. Parâmetros agrônômicos do cogumelo *A. subrufescens* submetido a aplicação de extratos aquosos

Data de Aplicação	Câmara controlada		Câmara semi-controlada	
	1 Hora	24 horas	1 hora	24 horas
Produtividade (%)				
3º dia	13,30	13,75	12,09	17,24
6º dia	12,27	13,72	14,35	17,33
9º dia	11,33	13,49	15,36	15,03
12º dia	11,98	13,80 B	16,99	20,05 A
15º dia	11,47	12,13	13,51	14,12
3º e 9º dia	11,59	12,78	17,07	17,13
6º e 12º dia	15,38	11,04 B	16,01	18,01 A
9º e 15º dia	13,36	13,93	12,10	13,29
Controle		14,46		13,58
C.V. (%)				28,60
Eficiência Biológica (%)				
3º dia	19,56	20,22	17,79	25,35
6º dia	18,05	20,18	21,11	25,48
9º dia	16,66	19,84	22,59	22,11
12º dia	17,62	20,30 B	24,98	29,49 A
15º dia	16,87	17,84	19,87	20,77
3º e 9º dia	17,05	18,80	25,01	25,19
6º e 12º dia	22,62	16,24 B	23,55	26,50 A
9º e 15º dia	19,65	20,50	17,79	19,55
Controle		21,27		19,97
C.V. (%)				28,60
Número de cogumelos (u.)				
3º dia	15,25	17,75	16,00	18,50
6º dia	16,25	17,25	18,50	23,25
9º dia	15,25	16,00	18,25	23,75
12º dia	15,75	18,00 B	21,75 b	30,25 Aa
15º dia	12,75	14,75	17,25	19,25
3º e 9º dia	14,75	14,25	22,50	21,25
6º e 12º dia	19,50	14,75 B	19,00	25,75 A
9º e 15º dia	17,50	17,25	16,50	17,75
Controle		19,50		14,25
C.V. (%)				32,15
Massa média (g)				

3º dia	25,05	21,88	21,04 b	26,66 αα
6º dia	21,05	22,72	22,72	21,84 αβ
9º dia	21,40	24,00 A	23,48 a	17,92 Bbβ
12º dia	21,32	21,25	22,89	18,79 β
15º dia	25,53	23,68	21,34	22,12 αβ
3º e 9º dia	22,33	24,99	21,65	22,73 αβ
6º e 12º dia	22,38	20,55	23,75	19,67 αβ
9º e 15º dia	21,10	23,00	21,24	21,12 αβ
Controle		20,36 B		25,74 A
C.V. (%)			15,98	
Precocidade (%)				
3º dia	46,15	52,63	44,25	52,91
6º dia	54,85	49,76	37,64	56,35
9º dia	50,33	52,71	48,98	46,98
12º dia	45,25	48,71	48,28	64,06
15º dia	43,75	54,17	36,93	57,81
3º e 9º dia	40,91	44,84	42,54	52,96
6º e 12º dia	69,28 a	37,96 b	48,18	43,71
9º e 15º dia	43,77	59,26	40,78	56,71
Controle		36,71		48,33
C.V. (%)			40,98	

As letras maiúsculas comparam os resultados entre ambientes de cultivo. As letras minúsculas comparam os resultados entre extratos aquosos. As letras gregas (alfa e beta) comparam os resultados entre momentos de aplicação. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

A tabela 3 apresenta as médias para as variáveis analisadas, onde é possível observar que apenas o ambiente semi-controlado apresenta estatisticamente melhores resultados para produtividade, eficiência biológica e número de cogumelos.

Tabela 3. Médias dos parâmetros agrônômicos

	Produtividade (%)	E.B. (%)	Número de cogumelos (un.)	Massa média (g)
Data de aplicação	Média	Média	Média	Média
3º dia	14,09	20,73	16,87	23,66
6º dia	14,42	21,20	18,81	22,08
9º dia	13,80	20,30	18,31	21,70
12º dia	15,70	23,09	21,43	21,06
15º dia	12,81	18,84	16,00	23,17
3º e 9º dia	14,63	21,51	18,18	22,93
6º e 12º dia	15,11	22,23	19,75	21,59
9º e 15º dia	13,17	19,37	17,25	21,61
Controle	14,02	20,62	17,12	23,05
Tempo de extração				
1 hora	13,63	20,05	17,29	22,39
24 horas	14,80	21,77	19,35	22,06
Ambiente de cultivo				
Câmara controlada	12,93 B	19,01 B	16,24 B	22,50
Câmara semi-controlada	15,48 A	22,77 A	20,25 A	22,04

As letras maiúsculas comparam os resultados entre ambientes de cultivo. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

O extrato aquoso obtido a partir de 24 horas de extração possui uma carga de nutrientes estatisticamente maior que o extrato de 1 hora. O nitrogênio e o enxofre foram os únicos nutrientes que não diferiram estatisticamente quando os tempos de extração são comparados entre si, ou seja, os extratos de 1 hora e 24 horas possuem a mesma quantidade desses nutrientes (Tabela 4).

Tabela 4. Características químicas dos extratos aquosos (mg.L⁻¹)

Data	N		P		K		Ca		Mg		S	
	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora
3°	110,13	125,53	196,05Da	135,04Db	2.309,33ABa	1.924,00b	335,67Ca	214,33BCb	256,33C a	188,33Bb	516,67B	485,00
6°	133,00	112,93	227,20Ba	173,12Bb	2.021,67B	2.033,67	364,33Ba	238,00Ab	274,00Ba	232,33Ab	520,56B	496,48
9°	105,47	108,27	216,11Ca	150,72Cb	2.474,33ABa	1.706,00b	370,00Aba	201,33Cb	282,67Ba	194,67Bb	475,37B	497,04
12°	110,13	105,00	218,85BCa	153,71Cb	2.235,33ABa	1.630,67b	364,00Ba	221,00ABb	269,67BCa	201,33Bb	511,67B	466,85
15°	120,87	123,20	259,52Aa	193,49Ab	2.731,33Aa	1.776,67b	386,67Aa	228,33ABb	302,33Aa	225,00Ab	633,33Aa	447,96b
	Na		B		Cu		Fe		Mn		Zn	
	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas	1 hora
3°	194,67ABa	157,33Bb	3,88a	2,62Cb	1,54Ba	0,80Db	0,88B	1,21AB	2,02Da	1,00Cb	0,38Ba	0,26Bb
6°	188,33Ba	172,67Ab	4,01a	3,37ABb	1,74Ba	1,36Bb	2,48Aa	1,33ABb	2,26Ba	1,27Ab	0,48Aba	0,38Bb
9°	188,00Ba	156,33Bb	4,00a	2,77Cb	1,76Ba	1,05Cb	1,31Ba	0,76Bb	2,20Ca	1,23ABb	0,42B	0,38B
12°	186,67Ba	149,00Bb	3,98a	3,18Bb	1,62Ba	1,07Cb	1,50B	1,13AB	2,21BCa	1,00Cb	0,40B	0,32B
15°	203,00Aa	153,00Bb	3,93	3,71A	2,24Aa	1,56Ab	1,45B	1,56A	2,58Aa	1,20Bb	0,58A	0,53A

As letras maiúsculas comparam os resultados entre datas de confecção, na mesma coluna. As letras minúsculas comparam os resultados entre tempos de extração. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5% de probabilidade. Data - data de confecção dos extratos aquosos

Os extratos aquosos possuem alta condutividade elétrica devido à alta concentração de sais presentes no composto, a qual é transferida para o extrato aquoso no momento de sua confecção. O extrato aquoso de 24 horas possui C.E. significativamente maior quando comparado ao extrato aquoso de 1 hora, da mesma forma que, quanto mais tarde é confeccionado (15º dia), maior será sua C.E. (Tabela 5). O pH, entretanto, não seguiu um padrão uniforme como a C.E., porém apresentou-se levemente ácido em todas as datas de confecção do extrato aquoso (Tabela 5).

Tabela 5. Condutividade elétrica e pH dos extratos aquosos

Extração	Condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		pH	
	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas
3º dia	7.310,00 Cb	8.700,00 Ca	6,91 Aa	6,71 Ab
6º dia	8.280,00 Ab	9.010,00 BCa	6,59 Bb	6,73 Aa
9º dia	7.520,00 BCb	9.130,00 Ba	6,69 Ba	6,46 Bb
12º dia	7.270,00 Cb	8.990,00 BCa	6,76 ABa	6,67 Aa
15º dia	7.740,00 Bb	9.560,00 Aa	6,36 Ca	6,42 Ba
C.V. (%)	1,99		1,18	

As letras maiúsculas comparam os resultados entre momentos de aplicação, na mesma coluna. As letras minúsculas comparam os resultados entre tempos de extração. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

A camada de cobertura que recebeu o extrato aquoso de 24 horas no 3º dia possui uma C.E. significativamente maior que a camada que recebeu o extrato de 1 hora. Quando os momentos de aplicação são comparados entre si, é possível observar que a camada de cobertura que recebeu aplicação acumulativa tardia, no 9 e 15º dia, possui a menor C.E. dentre os tratamentos (Tabela 6).

O pH das camadas de cobertura diferiu estatisticamente entre os tratamentos que receberam aplicação no 3º dia, 12º dia e 15º dia (extrato de 1 hora) e o tratamento que recebeu aplicação no 9º dia (extrato de 1 hora).

Tabela 6. Condutividade elétrica e pH das camadas de cobertura submetidas a aplicação de extrato aquoso

Aplicação	Condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		pH	
	1 hora	24 horas	1 hora	24 horas
3º dia	1.320,00 b	1.908,50 Aa	7,50 A	7,15
6º dia	1.655,50	1.531,00 AB	7,06 AB	6,96
9º dia	1.621,00	1.581,50 AB	6,70 B	7,10
12º dia	1.399,50	1.412,50 AB	7,53 A	7,52
15º dia	1.414,50	1.722,50 AB	7,60 A	7,42
3 e 9º dia	1.598,50	1.565,00 AB	7,42 AB	7,52
6º e 12º dia	1.495,50	1.548,50 AB	7,29 AB	7,26
9 e 15º dia	1.567,50	1.250,00 B	7,01 AB	7,19
Controle	1.720,00 AB		7,43 A	
C.V. (%)	10,13		2,84	

As letras maiúsculas comparam os resultados entre momentos de aplicação, na mesma coluna. As letras minúsculas comparam os resultados entre tempos de extração. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, sob o nível de 5,0% de probabilidade.

Nota-se que a temperatura do substrato quando cultivado em câmara controlada sofre menor variação quando comparado ao substrato cultivado em câmara semi-controlada (observar número de vezes em que as câmaras sofrem oscilação $> 4,0^{\circ}\text{C}$). Observa-se ainda um alto rendimento nos fluxos subsequentes a essas grandes oscilações de temperatura na câmara semi-controlada, o que não acontece na câmara controlada (Figuras 2 e 3).

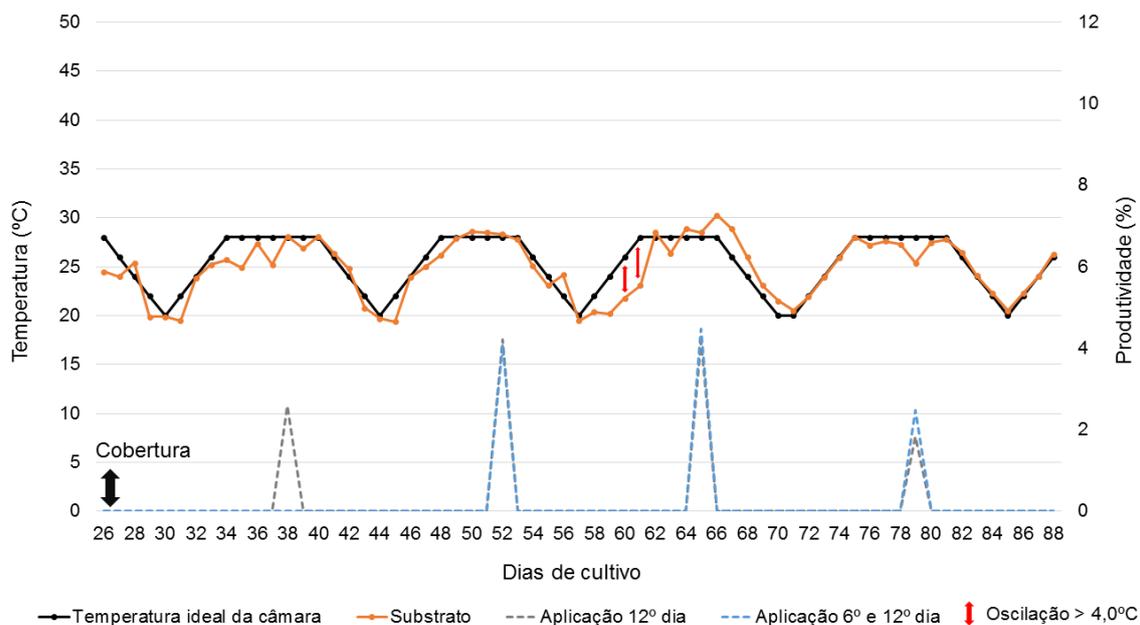


Figura 2 Produtividade de *Agaricus subrufescens* cultivado em câmara controlada, submetido a aplicação do extrato aquoso de 24 horas.

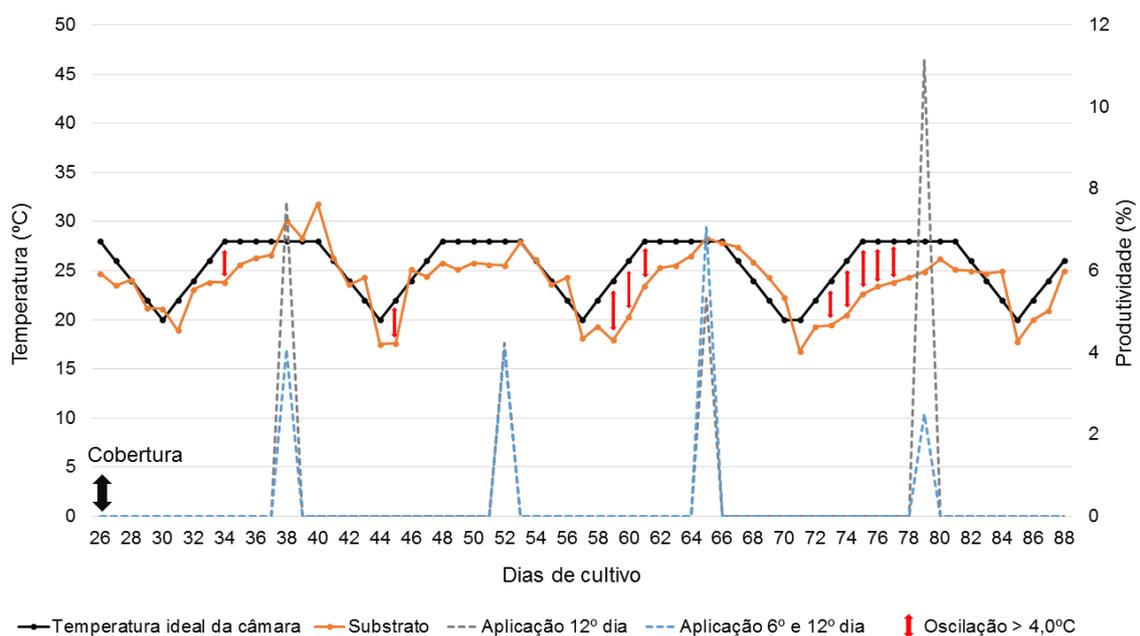


Figura 3 Produtividade de *Agaricus subrufescens* cultivado em câmara semi-controlada, submetido a aplicação do extrato aquoso de 24 horas.

Os biplots (Figura 4) demonstram grande proximidade entre as variáveis Yield e Number, que juntas formam o componente 1 e explicam em média 67,73% das variações obtidas.

Os minerais dos extratos de 24 horas aplicados em ambas as câmaras representam o componente 2 e explicam em média 12,42% das variações obtidas. Neste caso, a localização dos minerais nos quadrantes à esquerda forma um cluster com as aplicações cumulativas e demonstram que essa modalidade de aplicação resulta em excesso de minerais, possuindo uma correlação negativa com a C.E. que se encontra nos quadrantes à direita.

Em contrapartida, os minerais dos extratos de 1 hora aplicados em ambas as câmaras representam o componente 2 e explicam em média 11,15% das variações obtidas. Nesse caso, a localização dos minerais nos quadrantes à direita forma um cluster com as aplicações cumulativas, demonstrando que a extração de 1 hora não carrega excesso de minerais do composto e não interfere negativamente na C.E.

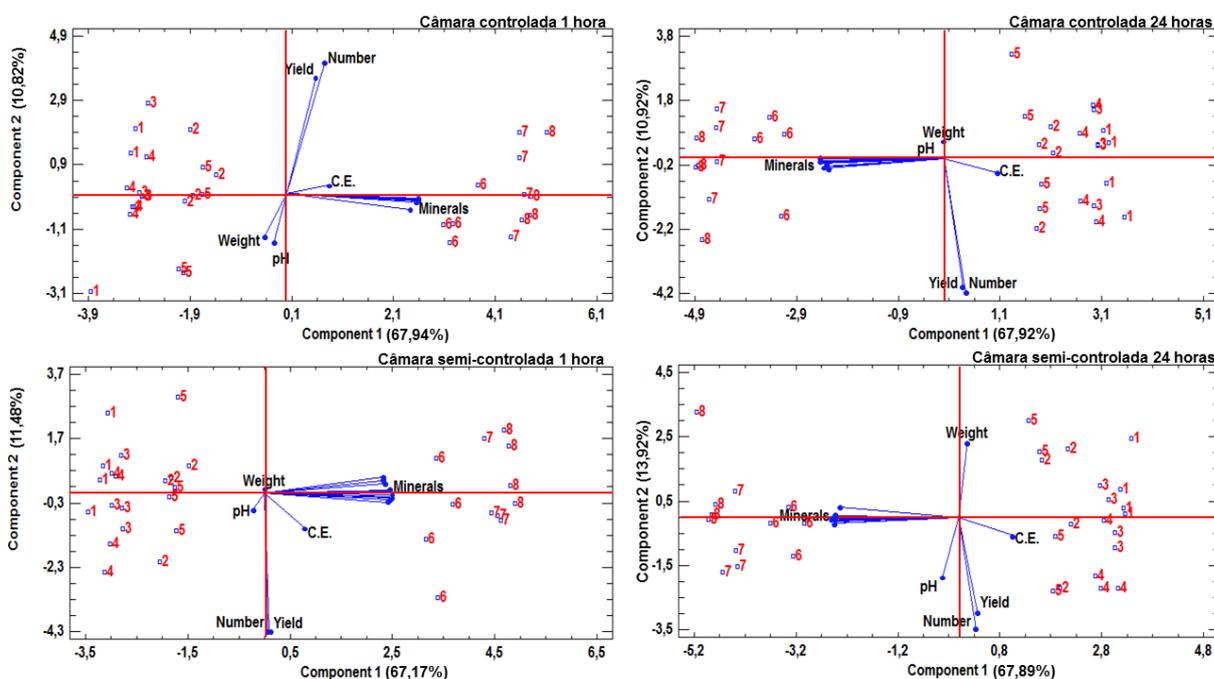


Figura 4. Biplot bidimensional de análise de componentes principais (PCA) mostrando as relações entre as variáveis explicativas (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) e as variáveis de resposta produtividade (Yield), número de cogumelos (Number), massa média dos cogumelos (Weight), potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (C.E.) e minerais dos extratos aquosos (minerals). 1 (aplicação do 3º dia), 2 (aplicação do 6º dia), 3 (aplicação do 9º dia), 4 (aplicação do 12º dia), 5 (aplicação do 15º dia), 6 (aplicação cumulativa do 3º e 9º dia), 7 (aplicação cumulativa do 6º e 12º dia), 8 (aplicação cumulativa do 9º e 15º dia).

4 DISCUSSÃO

Gea et al. (2012) investigando a aplicação de extratos aquosos na camada de cobertura de *A. bisporus*, não encontraram diferenças significativas para produtividade e relataram uma diminuição na produção. Da mesma forma, no presente trabalho é possível observar que os extratos aquosos não influenciaram a produtividade e eficiência biológica do *A. subrufescens*, entretanto, esses parâmetros foram afetados positivamente pelo ambiente de cultivo. A alta produtividade obtida na câmara semi-controlada é considerada um ponto positivo no cultivo de *A. subrufescens*, visto que produtividades em torno de 20% são consideradas elevadas para a espécie, valores encontrados neste trabalho (Tabela 2).

A diferença entre o extrato aquoso aplicado por Gea et al. (2012) e o apresentado neste trabalho é o método de manufatura, visto que usamos o substrato recém-colonizado como ingrediente, enquanto Gea et al. (2012) usaram o substrato no final do cultivo (substrato exaurido cogumelos). Os objetivos também eram diferentes, utilizamos com o intuito de fornecer uma solução nutricional para o fungo e Gea et al. (2012) utilizou-o para controle biológico de patógenos. Por fim, acredita-se que seria promissor a realização de um estudo aplicando o extrato aquoso de composto colonizado como irrigação na camada de cobertura visando o controle biológico de patógenos e também como suplemento nutricional para o desenvolvimento de cogumelos.

Llarena-Hernández et al. (2011), ressaltaram que as linhagens brasileiras de *A. subrufescens* são dependentes das condições de cultivo e geralmente apresentam baixa produtividade. Os autores ainda verificaram que ao cultivar a linhagem ABL 04/49 em composto comercial de *A. bisporus*, foi possível obter uma produtividade de aproximadamente 30 gramas de cogumelos por kg de composto (equivalente a 3% de produtividade) e massa média de 36 gramas.

Fazendo um contraponto com outros trabalhos, Dias et al. (2013), alcançaram o rendimento de 6,8% utilizando a técnica do CACing, que consiste na mescla de composto colonizado com a camada de cobertura. Neste mesmo trabalho, é possível observar que quando cultivo foi submetido a uma temperatura de 19°C, resultou em

rendimentos entre 14,27% e 17,00% de produtividade, muito próximo a alguns tratamentos deste trabalho.

A linhagem ABL 04/49 naturalmente produz cogumelos de massa média elevada, quando comparada a outras linhagens (Zied et al., 2017). Atrelado a isso, o extrato aquoso de 24 horas aplicado no 3º dia em câmara semi-controlada, proporcionou estatisticamente os cogumelos de maior massa média do experimento, sendo assim, tanto a linhagem quanto o tratamento em questão são indicados para o produtor quando o alvo são cogumelos de massa média elevada.

A aplicação de extrato aquoso de 1 hora apresentou efeito positivo sobre a precocidade apenas no tratamento que recebeu aplicação cumulativa no 6º e 12º dia em câmara controlada. A precocidade obtida pelo tratamento em questão, está de acordo com Vieira Junior (2021), que ao cultivar a linhagem ABL 04/49 em câmara controlada, alcançou a média de 63,52%.

O extrato aquoso de 24 horas possui uma carga de Cu, Mn e Zn estatisticamente maior que o extrato de 1 hora, sendo que esses minerais têm origem no composto e foram transferidos para o extrato aquoso (Tabela 3). Segundo Wisitrassameewong et al. (2012), esses minerais têm papel importante no estímulo à frutificação, o que pode estar relacionado ao maior número de cogumelos obtido no tratamento que recebeu extrato aquoso de 24 horas, no 12º dia em câmara semi-controlada. Uma correlação positiva entre Cu, Mn e número de cogumelos também foi encontrada por Zied et al. (2018).

Ainda segundo o experimento de Zied et al. (2018), os autores observaram que na suplementação sólida via composto, quantidades excessivas de P ($> 3.400 \text{ mg.kg}^{-1}$), K ($> 14.000 \text{ mg.kg}^{-1}$), Mg ($> 1.900 \text{ mg.kg}^{-1}$) e B ($> 22.600 \text{ mg.kg}^{-1}$) podem prejudicar o rendimento total. Neste trabalho, a irrigação da camada de cobertura pode ser considerada uma suplementação líquida, que, no entanto, não proporcionou melhora no rendimento de forma geral. Sendo assim, pode-se concluir que o excesso de nutrientes na camada de cobertura pode ser mais prejudicial do que o excesso de nutrientes no composto, visto que as quantidades de P ($> 192,39 \text{ mg.L}^{-1}$), K ($> 2.084,3 \text{ mg.L}^{-1}$), Mg ($> 242,66 \text{ mg.L}^{-1}$) e B ($> 3,54 \text{ mg.L}^{-1}$), aplicadas na camada de cobertura via extrato aquoso, são menores do que os valores aplicado via composto por Zied et al. (2018).

Alguns tratamentos apresentaram uma C.E. superior a $1.600 \mu\text{S.cm}^{-1}$, considerada acima do ideal para o cultivo do gênero (Pardo-Giménez et al., 2014),

no entanto, isso parece não influenciar a produtividade desses tratamentos, pois esses dois fatores (produtividade e C.E.) possuem uma baixa correlação entre si, a qual não é significativa estatisticamente (dados não apresentados). Com exceção do tratamento que recebeu aplicação no 9º dia do extrato de 1 hora, o pH da camada de cobertura de todos os outros tratamentos variou de 6,9 e 7,6, uma faixa considerada ideal ou muito próxima do ideal para o cultivo do gênero (Martos et al., 2017) (Tabela 5).

A câmara semi-controlada sofreu uma variação de temperatura nos dois últimos fluxos de produção, onde permaneceu abaixo de 25°C. O quarto fluxo, o qual sucedeu-se após 9 dias de temperatura abaixo de 25°C, foi responsável por 55,5% da produtividade total do tratamento que recebeu aplicação do extrato aquoso de 24 horas, no 12º dia em câmara semi-controlada (Figura 3). Isso pode estar associado ao fato de que o metabolismo do fungo é estimulado à frutificação em temperaturas abaixo de 25°C (Pardo-Giménez et al., 2020; Wisitrassameewong et al., 2012). Braga et al. (2006), também encontraram alta produtividade, semelhante a este trabalho, quando cultivaram o cogumelo do sol em ambiente semi-controlado (estufa plástica).

Cabe ressaltar, que quando o ambiente foi avaliado estatisticamente de forma isolada, a câmara semi-controlada obteve maior produtividade, eficiência biológica e número de cogumelos quando comparados à câmara controlada (Tabela 3). Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com Martos et al. (2017), que obtiveram melhor produtividade e eficiência biológica para a linhagem ABL 04/49 quando cultivada em temperatura de 21-26°C durante todo o ciclo de cultivo.

De forma geral, pode-se dizer que os nutrientes dos extratos aquosos apresentaram baixa correlação com os parâmetros agrônômicos de maior interesse (produtividade, número e massa média dos cogumelos) (Figura 4). A baixa correlação encontrada corrobora com os resultados obtidos por Tolardo et al. (2015) e Iossi et al. (2018), que testando a aplicação de extrato aquoso a base de composto colonizado sobre a camada de cobertura de *A. subrufescens*, não encontraram diferença significativa para produtividade, número de cogumelos e massa média dos cogumelos.

No entanto, a posição da produtividade e do número de cogumelos nos biplots (Figura 4), demonstram que essas variáveis podem estar sofrendo influência

de um fator que não foi mencionado até o momento neste trabalho, a microbiota do extrato aquoso. Sabe-se, que o *A. bisporus* pode nutrir-se da biomassa bacteriana presente no processo de cultivo através da produção de enzimas bacteriolíticas, sendo esses microrganismos considerados como promotores de crescimento por diversos fatores (produção de hormônios, solubilização de nutrientes, entre outros) (Carrasco e Preston, 2020). Esta linha de investigação deve ser levada em consideração em pesquisas futuras envolvendo a dinâmica entre o *A. subrufescens* e o microbioma do extrato aquoso.

Por fim, Wisitrassameewong et al. (2012), salientaram que o excesso de matéria orgânica na camada de cobertura pode aumentar a quantidade de microrganismos indesejáveis (microrganismos competidores ou patogênicos), sendo assim, ressalta-se que a adição de extrato aquoso sobre a camada não originou contaminações durante o período de cultivo, o que demonstra segurança em sua aplicabilidade em cultivos comerciais.

5 CONCLUSÃO

A câmara de cultivo semi-controlada proporciona os melhores resultados para produtividade, eficiência biológica e número de cogumelos. O extrato aquoso de 24 horas e a data de aplicação ao 3º dia, proporcionam os cogumelos com maior massa média em câmara semi-controlada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aenor (2001a) **Mejoradores de suelos y sustratos de cultivo**. Determinación del pH, ed. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) - Norma Española UNE-EN 13037, Madrid.

Aenor (2001b) **Mejoradores de suelos y sustratos de cultivo**. Determinación de la conductividad eléctrica. ed. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) - Norma Española UNE-EN 13038, Madrid.

Andrade MCN, Kopytowski Filho J, Minhoni MTD, Coutinho LN, Figueiredo MB (2007) Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. **Braz J Microbio** 38:243-247.

Braga GC, Montini RMC, Salibe AB (2006) Parâmetros da produção de *Agaricus blazei* sob diferentes condições ambientais de cultivo. **Sci Agrar Paran** 5:47–56.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2014) **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/DAS/CGAL. 220 p.

Dias ES, Zied DC, Rinker DL (2013) Physiologic response of *Agaricus subrufescens* using different casing materials and practices applied in the cultivation of *Agaricus bisporus*. **Fungal Biol** 117:569-575.

Ferreira D (2019) SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Rev Bras Biom** 37:529-535.

Carrasco J, Preston GM (2020) Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. **Environ Microbiol** 22:858-872.

Gea FJ, Santos M, Diáñez F, Tello JC, Navarro MJ (2012) Effect of spent mushroom compost tea on mycelial growth and yield of button mushroom (*Agaricus bisporus*). **World J Microbiol Biotechnol** 28:2765-2769.

Iossi MR, Zied DC, Caitano CEC, Teixeira PAG (2018) Aplicação de xarope de composto colonizado de *Agaricus subrufescens* na camada de cobertura. In: 2nd International Meeting of Agrarian Science and Technology. Dracena: Editora Cultura Academica

Llarena-Hernández RC, Largeteau M, Farnet AM, Minvielle N, Regnault-Roger C, Savoie JM (2011) Phenotypic variability in cultivars and wild strains of *Agaricus brasiliensis* and *Agaricus subrufescens*. In 7. International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. INRA.

Martos ET, Zied DC, Junqueira PPG, Rinker DL, Da Silva R, Toledo RCC, Dias ES (2017) Casing layer and effect of primordia induction in the production of *Agaricus subrufescens* mushroom. **Agric Nat Resour** 51:231-234.

Pardo-Giménez A, González JEP, de Figueirêdo VR, Zied DC (2014) Adaptabilidad de cepas brasileñas de *Agaricus subrufescens* Peck a la fructificación sobre diferentes capas de cobertura en cultivo comercial. **Rev Iberoam Micol** 31:125-130.

Pardo-Giménez A, Pardo JE, Dias ES, Rinker DL, Caitano CEC, Zied DC (2020) Optimization of cultivation techniques improves the agronomic behavior of *Agaricus subrufescens*. **Scientific Reports** 10:1-9.

Siddiqui WN, Bashir H, Khalid AN (2020) Cultivation of wild indigenous *Agaricus bisporus* and *Agaricus subrufescens* from Pakistan. **Journal of Fungal Biology** 10:466-474.

Tolardo GS, Dourado FA, Iossi MR, Carvalho BL, Zied DC (2015) Irrigação da camada de cobertura de *Agaricus subrufescens* com solução nutritiva preparada com o composto colonizado. In: VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NO BRASIL & VII SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE COGUMELOS COMESTÍVEIS. **Anais** do Simpósio VIII Simpósio Internacional Sobre Cogumelos No Brasil & VII Simpósio Nacional Sobre Cogumelos Comestíveis. Brasília-DF: Embrapa informações tecnológicas, 1:227-228.

Valizadehkaji B, Abbasifar AR, Ahsani Iravini M, Hoseinabad M (2019) Evaluation of the Effect of Vermicompost Extract Spray on Growth Indices of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*).

Vieira Junior WG (2021) **Caracterização genética e diferentes condições de cultivo em *Agaricus subrufescens***. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Unesp, Jaboticabal.

Wisitrassameewong K, Karunarathna SC, Thongklang N, Zhao R, Callac P, Moukha S, Férandon C, Chukeatirote E, Hyde KD (2012) *Agaricus subrufescens*: a review. **Saudi J Biol Sci** 19:131-146

Zied DC, González JEP, Dias ES, Pardo-Giménez A (2017) Characteristics, production, and marketing of the sun mushroom: the new medicinal cultivated mushroom. In: Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.) **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications** 361-384.

Zied DC, Caitano CEC, Pardo-Giménez A, Dias E, Zeraik ML, Pardo JE (2018) Using of appropriated strains in the practice of compost supplementation for *Agaricus subrufescens* production. **Front Sustain Food Syst** 2:26.