UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

DESENVOLVIMENTO DE CINCO LINHAGENS DE *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) ("Champignon de Paris") EM DIFERENTES FORMULAÇÕES DE COMPOSTO E MEIOS DE CULTURA

JOÃO PAULO FURLAN DE JESUS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU-SP
Abril – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

DESENVOLVIMENTO DE CINCO LINHAGENS DE *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) ("Champignon de Paris") EM DIFERENTES FORMULAÇÕES DE COMPOSTO E MEIOS DE CULTURA

JOÃO PAULO FURLAN DE JESUS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU-SP
Abril – 2011

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

Jesus, João Paulo Furlan de, 1985-
J58d Desenvolvimento de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) ("Champignon de Paris") em diferentes formulações de composto e meios de cultura / João Paulo Furlan de Jesus. - Botucatu : [s.n.], 2011

vi, 77 f. : ils. color. gráfs., tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2011
Orientador: Marli Teixeira de Almeida Minhoni
Inclui bibliografia

1. Cogumelos. 2. Crescimento micelial. 3. Composto. 4. Linhagem. I. Minhoni, Marli Teixeira de Almeida. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "DESENVOLVIMENTO DE CINCO LINHAGENS DE Agaricus bisporus Lange (Imbach) EM DIFERENTES FORMULAÇÕES DE COMPOSTO E MEIOS DE CULTURA

ALUNO: JOÃO PAULO FURLAN DE JESUS

ORIENTADORA: PROFa DRa MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA MINHONI

Aprovado pela Comissão Examinadora

PROFa DRa MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA MINHONI

DRa MEIRE CRISTINA NOGUEIRA DE ANDRADE

PROF. DR. EDUARDO BAGAGLI

Data da Realização: 04 de fevereiro de 2011

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marli Teixeira de Almeida Minhoni, minha segunda mãe, pela orientação, paciência, confiança e carinho durante a realização deste trabalho.

Aos responsáveis pelo Programa de Pós-Graduação em Energia na Agricultura – FCA/ UNESP, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado e auxílio financeiro sempre constante para a realização deste trabalho, em especial aos Coordenadores.

A Carolina Bugalho Kohori, pelo companheirismo e força.

A meus grandes amigos, Fabrício Rocha Viera e Eduardo Pinheiro Sampaio Risso, pelas importantes sugestões e ajuda ao decorrer do trabalho.

Aos amigos Thiago Supino, André Bueno de Barros e Denis Ryuiti Nakacima durante as viradas do composto.

Aos funcionários do Módulo de Cogumelos José Antônio Fogaça (Toninho) e Ivando Roberto Fogaça (Zé Grilo PM), pelo auxílio constante durante os experimentos.

À técnica de laboratório Maria de Fátima Almeida Silva, do Departamento de Produção Vegetal - FCA/UNESP, pelo auxílio durante os experimentos.

Aos funcionários da Sessão de Pós-Graduação pelo pronto atendimento e esclarecimentos prestados durante a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo concedimento de uma bolsa de estudo para a realização desta pesquisa.

À meus Pais, por todo apoio e amor.

Dedico

Aos meus pais, Júlio e Rose

SUMÁRIO

Página
1. RESUMO 1
2. SUMMARY 2
3. INTRODUÇÃO..... 3
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 5
4.1. Histórico do cultivo de *Agaricus bisporus* 5
4.2. Produção Mundial e Nacional 7
4.2. Importância nutricional e médica 9
4.3. O cultivo do Champignon 9
4.4. Linhagens de *Agaricus bisporus* 10
4.4.1. Cultivo *in vitro* 11
4.5. Composto para *A. bisporus* 12
4.5.1. Tipos de composto 13
4.5.2. Suplementação nitrogenada 14
4.5.3. Método de compostagem 17
5. MATERIAL E MÉTODOS 21
5.1. Experimento I 21
5.1. Linhagens de *Agaricus bisporus* 21
5.1.1. Preparo de inóculo 21
5.2. Composto 24
5.1.2.1. Pré-umedecimento 27
5.1.2.2. Compostagem (Fase I) 28
5.1.2.3. Pasteurização e condicionamento (Fase II) 29
5.1.3. Inoculação 30
5.1.4. Camada de cobertura 30
5.1.5. Indução e desenvolvimento dos primórdios 31
5.1.6. Colheita 32
5.1.7. Variáveis analisadas 33
5.1.7.1. Relativas ao composto 33
5.1.7.1.1. Carbono, nitrogênio, relação C:N, matéria orgânica, pH e umidade dos compostos 33
5.1.7.1.2. Perda de massas seca e fresca dos compostos 33
5.1.7.1.3. Temperatura de compostagem 34
5.1.7.2. Relativos à produção 35
5.1.7.2.1. Número de basidiomas 35
5.1.7.2.2. Produtividade (base fresca) 35
5.1.7.2.3. Eficiência Biológica 35
5.1.8. Delineamento experimental 36
5.1.9. Análise estatística 36
5.2. Experimento II 36
5.2.1. Isolamento 36
5.2.2. Meios de cultura 38
5.2.3. Inoculação 38
5.2.4. Incubação e avaliação do crescimento 39
5.2.5. Delineamento experimental 40
5.2.6. Análise estatística 40
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 41
6.1. Experimento I 41

6.1.1 Relativos às Fases I e II 41
6.1.2 Relativos à produção 50
6.2. Experimento II 63
7. CONCLUSÕES 69
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 70

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Formulações de compostos utilizados para o cultivo de *Agaricus* ao longo da história 6
Tabela 2. Contribuição mundial da produção de cogumelos da China desde 1978 7
Tabela 3. Produção de cogumelos comestíveis em alguns países da Europa, desde 1999 (x 1000 tons) 8
Tabela 4. Produção (volume de vendas) de cogumelos *Agaricus* e exóticos nos EUA 8
Tabela 5. Materiais volumosos e suplementos nitrogenados comumente utilizados como fonte de carbono e nitrogênio para confecção de composto de *Agaricus bisporus* 14
Tabela 6. Exemplo de formulação de composto sintético, para aproximadamente 12 a 15 toneladas de composto úmido após a pasteurização 16
Tabela 7. Comparação entre os custos dos materiais utilizados como suplementação nitrogênada para composto de *A. bisporus* 16
Tabela 8. Parâmetros observados durante o processo de compostagem 18
Tabela 9. Origem e técnicas culturais das linhagens utilizadas no Experimento I 23
Tabela 10. Matérias primas utilizadas para confecção do composto sintético . 25
Tabela 11. Matérias primas utilizadas para confecção do composto clássico .. 25
Tabela 12. Teores médios de carbono (C), nitrogênio (N), matéria orgânica (MO), relação C:N, nitrogênio orgânico (N org.) e nitrogênio inorgânico (N inorg.) dos ingredientes utilizados na formulação dos compostos 26
Tabela 13. Análise de nitrogênio, fósforo, potássio, macro e micronutrientes, pH e relação C:N do farelo de soja e esterco de galinha obtidas do Laboratório de Solos e Fertilizantes da FCA, UNESP, Botucatu 26
Tabela 14. Comparação entre os custos dos materiais utilizados para confecção dos compostos clássico e sintético 27
Tabela 15. Metodologia de amostragem de variáveis dos compostos durante o processo de compostagem, pasteurização e condicionamento 33
Tabela 16. Tratamentos experimentais utilizados na avaliação do experimento a campo de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* produzidas em dois tipos de suplementação nitrogenada..... 36
Tabela 17. Tratamentos experimentais utilizados na avaliação do experimento *in vitro* de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* produzidas em dois tipos de meio de cultura 40
Tabela 18. Parâmetros avaliados durante o processo de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento 42
Tabela 19. Valores de F obtidos na análise de variância, através do teste de Tukey 5%, dos teores de carbono, nitrogênio, pH, matéria orgânica, umidade

e temperatura durante as fases FI e FII dos compostos clássico e sintético 47
Tabela 20. Valores de F obtidos das análises de produtividade, massa fresca total de basidiomas, número de basidiomas e eficiência biológica (referênte a 25 dias de produção) de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético 51
Tabela 21. Valores de F obtidos na análise de variância da massa fresca e número de basidiomas durante os 3 fluxos de produção de cinco linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético 58
Tabela 22. Produtividade (em porcentagem) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 9,52; CV (%) = 32,57; para o 2° Fluxo, MG = 7,49; CV (%) = 29,69; para o 3° Fluxo, MG = 2,71; CV (%) = 35,43 59
Tabela 23. Massa fresca (em quilos) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 1238,13; CV (%) = 32,57; para o 2° Fluxo, MG = 274,43; CV (%) = 29,69; para o 3° Fluxo, MG = 352,52; CV (%) = 35,43 60
Tabela 24. Número de basidiomas das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 65,44; CV (%) = 36,44; para o 2° Fluxo, MG = 81,77; CV (%) = 28,34; para o 3° Fluxo, MG = 26,09; CV (%) = 38,55 61
Tabela 25. Eficiência biológica (em porcentagem) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 29,36; CV (%) = 32,24; para o 2° Fluxo, MG = 23,08; CV (%) = 29,71; para o 3° Fluxo, MG = 8.36; CV (%) =35,41 62
Tabela 26. Comparação estatística dos parâmetros alfa, beta e gama do modelo de regressão não linear [1], referente a cinética de crescimento miceliano de *Agaricus bisporus*, segundo meio de cultura e linhagem. (pelo

teste não paramétrico de Stundent-newman-kills)..... 65

Lista de Figuras

Página
Figura 1. Fluxograma do processo de compostagem 19
Figura 2. Zonas de uma leira de compostagem de *Agaricus* sp 20
Figura 3. Atividades realizadas durante a condução do Experimento I 22
Figura 4. Esquema de execução da compostagem 28
Figura 5. Entrada dos compostos no módulo de produção Dalsem Mushroom Projects para o início da FII (pasteurização e condicionamento). a. Controle das variáveis ambientais através de sensores de temperatura (média de dois sensores) inseridos no centro das caixas contendo composto clássico e sintético; b. organização das caixas para permitir o fluxo de ar equalizado durante o processo 29
Figura 6. Adição da camada de cobertura. a. adição da camada de cobertura; b. nivelamento da camada de cobertura; c. fechamento das embalagens plásticas para corrida do micélio; d. organização das repetições nas prateleiras 31
Figura 7. Desenvolvimento dos basidiomas. a. desenvolvimento dos primórdios; b. ponto de colheita 32
Figura 8. Metodologia de avaliação das temperaturas nos compostos clássico e sintético durante a compostagem. Foram utilizadas 3 zonas (A, B e C) e destas foram elaboradas as temperaturas médias 34
Figura 9. Procedimentos realizados para o isolamento dos basidiomas de *A. bisporus.* A. Esterilização da câmara de fluxo laminar com lâmpada UV; B. Basidiomas selecionados para o processo de isolamento; C. Placa de Petri com meio de cultura sólido CA (Composto ágar); D. Posicionamento dos dedos para partir o basidioma ao meio; E. Basidioma com pseudotecido exposto; F. e G. Retirada de pseudotecido com pinça estéril; H. Meio de cultura com inoculada com pseudotecido 37
Figura 10. Procedimentos realizados para a repicagem das matrizes primárias de *A. bisporus* A. Matrizes primárias selecionadas para o processo de repicagem B. Esterilização da câmara de fluxo laminar com lâmpada UV; C. Placa de Petri com meio de cultura sólido CA (Composto ágar); D. Furação com vazador de 5mm para fragmentação do micélio; E. Coleta dos discos com micélio a serem inoculados; F. Inoculação no meio de cultura sólido 39
Figura 11. Dinâmica da temperatura (°C) dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umidecimento e compostagem. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 43
Figura 12. Dinâmica da dispersão dos valores de massa seca dos compostos clássico e sintético, nos estágios de pré-umedecimento, no início da compostagem, no início da pasteurização e no momento da inoculação. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) +

gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 44
Figura 13. Dinâmica da dispersão dos valores de massa fresca dos compostos clássico e sintético, nos estágios de pré-umedecimento, no início da compostagem, no início da pasteurização e no momento da inoculação. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 44
Figura 14. Dinâmica do pH dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 45
Figura 15. Dinâmica da matéria orgânica (em porcentagem) dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 45
Figura 16. Dinâmica da relação C:N dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 46
Figura 17. Temperatura média dos compostos (clássico e sintético) durante o processo de pasteurização e condicionamento. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 49
Figura 18. Produtividade acumulada (em porcentagem) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MG = 19,73; CV (%) = 20,71. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 51
Figura 19. Massa fresca (em quilos) e número de basidiomas acumulados

das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Massa fresca de basidiomas, MG = 25,65; CV (%) = 20,71; número de basidiomas, MG = 1726; CV (%) = 21,41. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 52

Figura 20. Massa fresca acumulada (em gramas) das linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 54

Figura 21. Número de basidiomas acumulados das linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 55

Figura 22. Eficiência biológica (em porcentagem) acumulada das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MG = 61.03; CV (%) = 21,65. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%) 56

Figura 23. Velocidade instantânea estimada do crescimento micelial das linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) cultivadas nos meios de cultura CA e BDA (crescimento do diâmetro da colônia em placas de Petri). CA. Meio de cultura de à base de extrato de composto padrão para cultivo de *Agaricus bisporus* após compostagem, pasteurização e condicionamento; BDA. batata, dextrose, ágar 66

Figura 24. Velocidade instantânea estimada do crescimento micelial das linhages 04/02, 05/03, 06/05, 09/10 e 09/11 cultivadas nos meios BDA e MC respectivamente (crescimento do diâmetro da colônia em placas de Petri). MC. Meio de cultura de à base de extrato de composto padrão para cultivo de *Agaricus bisporus* após compostagem, pasteurização e condicionamento; BDA. batata, dextrose, ágar 67

1. RESUMO

A produção de composto de qualidade para *Agaricus bisporus* e a pesquisa por linhagens produtivas são alguns dos principais fatores relacionados à produtividades elevadas. Desta forma, foram realizados dois experimentos: 1. a campo, avaliou-se o efeito da suplementação nitrogenada na formulação de dois tipos de compostos, clássico e sintético, para o cultivo de cinco linhagens de *A. bisporus*: ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11; 2. avaliou-se a influência de cinco linhagens de *A. bisporus no* desenvolvimento micelial em dois meios de cultura sólidos (CA, composto ágar; e BDA, batata dextrose ágar). No experimento 1, constatou-se durante o processo de compostagem, pasteurização e condicionamento o composto clássico obteve temperatura média e perda de massa 10,56 e 13,29% superiores ao composto sintético, respectivamente. O composto clássico obteve as maiores eficiências biológicas ao final de 25 dias de produção, pelas linhagens ABI-05/03, ABI-06/05 e ABI-04/02 com valores de 83,95, 79,45 e 77,49%, respectivamente. Além da eficiência biológica, houve uma tendencia de maior produtividade, número e massa de fresca de basidiomas quando as linhagens foram cultivadas em composto clássico. No experimento II as maiores velocidades de desenvolvimento micelial das linhagens de *A. bisporus* foram observadas nos meios de cultura CA. Concluiu-se que não houve ligação entre os resultados observados nos experimentos I e II em relação ao potencial genético das linhagens.

Palavras chave: Cogumelos, crescimento micelial, composto, linhagem.

DEVELOPMENT OF FIVE *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) ("Champignon de Paris") STRAINS IN DIFFERENT COMPOST FORMULATIONS AND CULTURE MEDIA. Botucatu, 2011. 77p.

Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: JOÃO PAULO FURLAN DE JESUS

Adviser: MARLI TEIXEIRA DE ALMEIDA MINHONI

2. SUMMARY

The production of quality compost for *Agaricus bisporus* and the research for high productivity strains are some important factors involving high yields. Were carried out two expiriments: 1. at field, the effect of the type of nitrogen supplementation was evaluated, elaborating two types of compost, classic and synthetic, cultivating five strains of *A. bisporus* ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11; 2. was evaluated the influence of five *A. bisporus* strains on the rate of micelial growth in different type of culture media (MC, compost media; BDA, potato-dextrose-agar). In the first experiment, the data showed that during the composting process, pasteurization and conditioning, the averages temperatures and weight loss 10,56 and 13,29% higher in the classic compost than the synthetic compost . The classic compost had the higher biological efficiency in the end of the crop (25 days), for the strains ABI-05/03, ABI-06/05 e ABI-04/02 with values of 83,95, 79,45 e 77,49, respectively. Moreover, there was a tendency for higher yields, number and fresh weight of mushrooms when the strains were cultivated in the classic compost. In the second experiment the highest micelial growth rate by the *A. bisporus* strains were observed in the compost agar media. It was observed that were no relation between the data in experiments I and II, by the genetic potential of the strains.

Keywords: Mushrooms, micelial growth, compost, strains.

3. INTRODUÇÃO

Atualmente, estima-se que a produção mundial de cogumelos esteja em torno de 26,9 milhões de toneladas. Na América Latina, a produção de cogumelos vem crescendo desde 1945, e entre os anos de 1995 a 2001, obteve aumento de 31%. Apesar do aumento da produção, a demanda ainda é baixa e estima-se que em comparação com o mercado mundial, a produção de cogumelos na América Latina esteja em torno de 1,3%. O Brasil está entre os maiores produtores da região, responsável por 10,6% da demanda. Dentre os principais, o cogumelo *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) ("Champignon de Paris") é o fungo mais importante dos cogumelos comestíveis cultivados no mundo todo e estima-se que sua produção esteja em torno de 40% da produção mundial de cogumelos comestíveis.

Dentre os fatores relacionados a produtividades elevadas no cultivo de *A. bisporus*, podem ser citados como os mais relevantes a produção de composto, tornando-se necessário o domínio do conhecimento sobre o comportamento químico, físico e biológico do fungo, bem como o processo de compostagem e também a linhagem a ser utilizada para o cultivo. Naturalmente, fungos do gênero *Agaricus* possuem a capacidade de hidrolisar materiais ricos em energia, como resíduos agrícolas e florestais, porém necessitam que estes materiais, com componentes lignocelulósicos complexos, sejam degradados em formas mais simples, e prontamente assimiláveis, justificando a necessidade da compostagem, porém a taxa de conversão destes resíduos varia conforme o potencial genético da linhagem utilizada.

Os materiais e a tecnologia (instalações, equipamentos, mão de obra, etc.) utilizados para a confecção de um composto seletivo para *A. bisporus*, são os custos majoritários no cultivo de *Agaricus* e quando somados atingem cerca de 50% das despesas no cultivo.

Diversos materiais podem ser utilizados para o cultivo, como palhas e/ou capins e esterco de animais, portanto, torna-se importante investigar o efeito de diferentes linhagens de *Agaricus bisporus* sobre a viabilidade e potencial de conversão em biomassa fúngica de compostos suplementados com diferentes fontes de nitrogênio como resíduos da agroindústria.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Histórico do cultivo de *Agaricus bisporus*

O consumo de cogumelos pelo homem é uma prática milenar e relatos na literatura datam a existência desta prática desde os primórdios da civilização (EIRA; MINHONI, 1997). O cogumelo *Agaricus bisporus* Lange (Imbach) ("Champignon de Paris") é o fungo mais importante dos cogumelos comestíveis cultivados no mundo todo e estima-se que sua produção esteja em torno de 40% da produção mundial de cogumelos comestíveis (SANCHEZ; ROYSE, 2009).

O cultivo de *A. bisporus* teve origem na França, no meio do século XVII, de forma casual, quando cultivadores de melão na França perceberam que alguns cogumelos com elevado valor gastronômico (aroma, textura e sabor) desenvolviam-se sobre as camas utilizadas para estocagem dos frutos, composta de diversos tipos de palhas (arroz, trigo, aveia) misturadas com estercos de animais (aves, bovinos, equinos). Ao longo evolução da fungicultura, os esforços basearam-se em aprimorar a variedade de resíduos (Tabela 1) e a forma como que podem ser utilizados para o cultivo de *Agaricus*. Cerca de dois séculos depois, em 1865 o cultivo foi introduzido na América utilizando instalações semelhantes a uma indústria e posteriormente passou também a ser utilizado na Europa (BONONI et al., 1999). Com o avanço da tecnologia, atualmente grande parte da pesquisa é direcionada para o melhoramento genético das linhagens de *A. bisporus*, devido ao fato destas serem geneticamente instáveis (LOFTUS et al. 1988; LI et al., 1994

Fungo	Materiais volumosos (%)	Suplementação (%)	Condicionadores inorgânicos (%)	Referência
A. brunnescens	palha de trigo (50), cama de cavalo (35)	esterco de galinha (10), superfosfato (1)	gesso (4)	Eicker, 1980
A. bisporus	palha de trigo (69,4)	cama de frango (19,1), farelo fibroso de melaço (7,2)	gesso (4,3)	Flegg; Randle, 1980
A. bisporus	palha de trigo ou arroz (60), esterco de cavalo (26)	farelo de arroz ou algodão (4,5), esterco de galinha (7)	gesso (2,5)	Vedder, 1985
A. bisporus	palha de trigo (39,3), feno (24,8), espigas de milho (25,1)	fubá de soja (4,8), uréia (0,6)	gesso (5,4)	Gibbons et al., 1991
A. bisporus	bagaço de cana-de-açúcar (77), esterco de cavalo (12)	esterco de galinha (6,2), uréia (0,6), sulfato de amônia (0,8), farelo de soja ou arroz (0,9), superfosfato simples (0,3), cloreto de potássio (0,2)	carbonato de cálcio (1,1), gesso (0,9)	Bononi et al., 1999
A. bisporus	cama de cavalo (esterco + palha) (90)	esterco de galinha (1,8), farelo de algodão (4,6), sulfato de amônia (0,5)	$CaCO_3$ (0,9) e gesso (1,4).	Bononi et al., 1999
A. bisporus	palha de arroz (62,4), cama de cavalo (26,8)	sulfato de amônia (2,4), superfosfato simples (2,4)	cal (6)	Bononi et al., 1999
A. blazei	palha de cost cross (24,61), bagaço de cana (59,06)	farelo de soja (10,6)	gesso (1,86), calcário (3,86)	Kopytowski Filho, 2006
A. bisporus	palha de trigo ou arroz (56,6), cama de cavalo (5,4)	esterco de galinha (36,4)	gesso (1,6)	C-Point, 2008
A. bisporus	palha de trigo ou arroz (65,1)	esterco de galinha (27,8), sulfato de amônia (0,8), uréia (0,3)	gesso (6,0)	Altieri et al., 2009
A. bisporus	palha de trigo ou arroz (58,5)	esterco de galinha (6,4), resíduo de moinho de azeitona (25,2), sulfato de amônia (1,4), uréia (0,5), resíduo de fios de lã (3)	gesso (5,0)	Altieri et al., 2009
A. blazei	bagaço de cana (13,20), capim braquiária (21,10), capim cost-cross (58,40)	farelo de soja (3,7), uréia (1,3), sulfato de amônia (1,3)	gesso (1,0)	Colauto et al., 2010
A. blazei	casca de semente de gira-sol (50), palha de trigo (41)	farelo de trigo (4,5), sulfato de amônia (0,35), uréia (0,35)	gesso (1,9), carbonato de cálcio (1,9)	Matute et al., 2010
A. blazei	Palha de aspargo (68,6), casca de algodão (19,6)	torta de soja (9,8)	gesso (2)	Wang et al., 2010
A. blazei	Palha de aspargo (58,8), esterco de vaca (29,4)	torta de soja (9,8)	gesso (2)	Wang et al., 2010
A. bisporus	Palha de trigo (51,4), palha de fava (8,5)	esterco de galinha (24,4), resíduo de oliveira (10,6), sulfato de amônia (0,8), uréia (0,3)	gesso (5,7)	Parati et al., 2011
A. bisporus	Palha de trigo (54,8), palha de fava (9,7)	esterco de galinha (25,1), sulfato de amônia (0,8), uréia (0,3), resíduo de fios de lã (3)	gesso (6,1)	Parati et al., 2011

Tabela 1. Formulações de compostos utilizados para o cultivo de *Agaricus* ao longo da história.

UMAR; VAN GRIENSVEN, 1999; XUE et al., 2008), torna-se indispensável intensa a atenção de geradores e distribuidores de "matrizes fúngicas" além de empresas de produção de inóculo para prevenir alterações morfológicas e fisiológicas que podem resultar em degeneração da linhagem e manter as características de alto rendimento e produto de qualidade.

O histórico do cultivo de cogumelos no Brasil é tão recente quanto o hábito do brasileiro em consumi-los. O início ocorreu em 1953, com o cultivo do Champignon de Paris por italianos (Oscar Molena, em Atibaia, SP) e imigrantes chineses (região de Mogi das Cruzes) adaptando as tecnologias para as condições do Brasil. Inicialmente diversas dificuldades foram enfrentadas (EIRA; MINHONI, 1997). As metodologias e tecnologias foram sendo aprimoradas, sempre para atender a biologia do fungo em cultivo. Para o champignon, durante a formação e desenvolvimento dos basidiomas, é necessário que a temperatura média do ambiente seja de 17-20 ºC, dificultando o cultivo deste em países tropicais, devido à necessidade de climatização para tornar a produção constante ao longo do ano.

4.2. Produção Mundial e Nacional

Atualmente, estima-se que a produção mundial de cogumelos esteja em torno de 26,9 milhões de toneladas, sendo os maiores produtores mundiais China (com 75% da produção mundial), Estados Unidos, França, Holanda, Alemanha (Tabelas 2, 3 e 4) e Japão e como principais consumidores Alemanha, Holanda, Japão e China (DIAS et al., 2004). Com o desenvolvimento de tecnologias para a produção de novas espécies de cogumelos, nos anos 80 as preferências para o consumo diversificaram-se (BANO; RAJARATHNAM, 1988) e vem sendo mantidas até hoje (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

Tabela 2. Contribuição mundial da produção de cogumelos da China desde 1978 (CHANG, 2010).

Anos	Produção Mundial (x 1,000 MT)	Produção da China (x 1,000 MT)	Contribuição pela China (%)
1978	1.060,0	60,0	5,7
1983	1.453,0	174,5	12,0
1990	3.763,0	1.083,0	28,8
1994	4.909,3	2.640,0	53,8
1997	6.158,4	3.918,0	63,6
2002	12.250,0	8.764,0	71,5
2009	26,930,0	20.200,0	75,0 +

São conhecidas mais de dez mil espécies de cogumelos; entretanto, somente cerca de duas mil, pertencentes à pelo menos 30 gêneros, são consideradas comestíveis. Destas, 20 são cultivadas comercialmente e menos de 10, são industrializadas (BRAGA *et al*., 1998).

Tabela 3. Produção de cogumelos comestíveis em alguns países da Europa, desde 1999 (x 1000 tons) (CHANG, 2010).

Países	**Ano**				
	1999	**2000**	**2001**	**2002**	**2003**
Holanda	258,0	265,0	275,0	270,0	265,0
França	151,9	154,0	150,5	140,0	133,0
Espanha	74,0	79,0	84,0	86,0	88,0
Itália	80,0	88,0	88,0	88,0	76,0
Reino Unido	102,9	88,0	86,0	86,0	66,0
Irlanda	62,0	66,5	67,7	66,0	66,0
Alemanha	60,0	62,0	63,0	62,0	62,0
Bélgica	44,5	41,5	42,5	41,5	40,0
Dinamarca	8,3	7,8	7,4	7,4	7,4
TOTAL	841,6	851,8	864,1	846,9	803,4

Tabela 4. Produção (volume de vendas) de cogumelos *Agaricus* e exóticos nos EUA (CHANG, 2010).

Ano	**Volume (x 1000 kg)**	**Valor (US$/kg)**	**Valor total (Milhões de US$)**
99-00	393.254,0	2,21	867,1
00-01	390.065,0	2,23	868,7
01-02	383.034,0	2,36	903,5
02-03	384.719,0	2,32	890,6
03-04	388.716,0	2,36	918,9
04-05	386.908,0	2,34	908,4

Embora não existam dados oficiais relativos à produção total brasileira, estima-se que atualmente esteja na ordem de 15.000 toneladas anuais de cogumelos frescos, das quais 62,5 % é devida ao *A. bisporus* (5000 ton.), 15 % ao *A. blazei* (1200 ton.) e o restante para outros cogumelos. Atualmente, alguns cultivadores de *A. blazei* já possuem produção própria com mais de 10 toneladas de cogumelos desidratados por ano, sendo a maioria no Estado de São Paulo. A America Latina produz apenas 1,3% do total de cogumelos cultivados no mundo inteiro. Dentre os maiores produtores nesta região estão o México (58,6%), Chile (17,6%) e o Brasil (10,6%). A estimativa e de que na America Latina o consumo *per capita* seja de 125g por ano (TAVEIRA; NOVAES, 2007) .

4.2. Importância nutricional e médica

O "champignon de Paris", como diversos cogumelos comestíveis, possui elevado valor nutricional e na sua constituição possui certos componentes ativos com efeitos benéficos nos tratamentos de hiperglicemia e hipercolesterolemia, sendo justifica-se pelo alto teor de carboidratos complexos com alto peso molecular (polissacarídeos), fibras dietéticas - variando entre 20% (peso seco) para as espécies de *Agaricus* (como o champignon) a 50% para espécies de *Pleurotus* (como o ostra phoenix) - e antioxidantes (STAMETS, 2005; JEONG et al., 2010). Os cogumelos não possuem colesterol, vitamina A e vitamina C, porém são fonte de algumas vitaminas B - como a riboflavina (B_2), niacina (B_3) e ácido pantoteônico (B_5) - os ergosteróis (quando expostos na luz ultravioleta se convertem na pró-vitamina D), fontes de minerais essenciais - especialmente selênio, cobre e potássio - importantes elementos para a função imune e produção de antioxidantes para a redução de radicais livres (CHANG, 2008). O valor das proteína bruta é maior que a maioria dos vegetais, variando entre 15,2g/100 g de peso seco no *L. edodes* a 80,93g/100g em *Agaricus bisporus* (BARROS et al., 2008). Comparando-se o teor protéico da carne bovina com algumas espécies *Agaricales* observa-se que a carne bovina possui em torno de 14,8% de proteína em peso seco, ao passo que os fungos *Agaricales* apresentam 22,5%. De acordo com a classificação de alimentos funcionais pelo Instituto Internacional de Ciências da Vida na Europa (DIPLOCK et al., 1999), os cogumelos estão ganhando reconhecimento internacional como um alimento funcional importante na recuperação, prevenção e tratamento de algumas doenças (CHEUNG, 2008). Além destas qualidades os cogumelos comestíveis são muito versáteis na culinária podendo ser assados, cozidos, grelhados ou salteados ("sautéed"), e ainda combinam com sopas, patês, saladas e chás (MILLER, 1993; CZARNECKI, 1995; PISTO, 1997; BRILL, 2002; CARLUCIO, 2003).

4.3. O cultivo do Champignon

O *A. bisporus* é um *Agaricaceo,* pertencente ao filo *Basidiomycota* (KIRK et al., 2001), onde encontram-se os principais cogumelos comestíveis consumidos e/ou produzidos pelo homem. Estes fungos, na fase reprodutiva, produzem uma estrutura denominada basidioma ou ascoma (popularmente conhecida como “cogumelo”), sendo

portanto classificados como fungos macroscópicos pertencentes aos filos *Basidiomycota* e *Ascomycota* (MILES; CHANG, 1997). Outra classificação para os "cogumelos" encontrada na literatura amplamente aceita por micologistas é: um fungo macroscópico, com distinto corpo de frutificação, sendo grande o suficiente para ser visto a "olho nu" e ser coletado com as mãos (CHANG; MILES, 1989).

Para obtenção de produtividades elevadas, o fungicultor deve dominar algumas peculiaridades em relação à fisiologia, nutrição e metabolismo do fungo além de entender como ocorre a correlação entre estes fatores, onde são: 1. o isolado fungico a ser utilizado deve possuir potencial genético elevado; 2. a seletividade no composto deve ser o mais seletivo possível para o desenvolvimento do fungo; 3. a tecnologia de cultivo adequada (controle preciso das variáveis ambientais, utilização de camada de cobertura de qualidade, higiene, mão-de-obra qualificada para colheita, monitoramento e controle de pragas e doenças) (VAN GRIESVEN, 1988; BRAGA, 1998; ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; MANOLOPOULOU et al., 2007).

Todo o processo de cultivo do champignon pode ser dividido em seis etapas iniciando-se através da produção do inóculo (“spawn”), seguido da FI (compostagem), FII (pasteurização e condicionamento do composto), FIII (inoculação e incubação do composto), adição da camada de cobertura, indução dos primórdios e a produção dos basidiomas propriamente dita (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

4.4. Linhagens de *Agaricus bisporus*

A produção mundial de cogumelos e as tecnologias de cultivo tendem a evoluir em paralelo com o mercado consumidor, visto que a exigência pela qualidade do produto é o objetivo dos fungicultores. Portanto, além de fornecer produtividades elevadas, a linhagem utilizada no cultivo deve possuir características peculiares para atender o mercado. Em países cujo cultivo de cogumelos existe a longa data, é comum a utilização de linhagens de *A. bisporus* com denominações, morfologia e características produtivas estabelecidas para os fungicultores. Em países cujo o consumo de Champignon fresco é elevado, como os europeus, à preferência do consumidor são para cogumelos com aspecto firme e coloração branca, e para atender estas necessidades, novas técnicas de produção como o melhoramento genético e outras práticas, incluindo controle preciso das variáveis ambientais, avançado controle de qualidade e manejo pós colheita

(DIAMANTOPOULOU; PHILIPPOUSSIS, 2001). As classificações tradicionais de *Agaricus* geralmente dependem das características de cultivo e diferenças morfológicas, sendo facilmente afetadas pelos fatores ambientais de cultivo além de algumas possuírem resistência a microorganismos parasitas e competidores (ANDERSON et al., 2001; MAMIRO; ROYSE, 2008). Portanto, a escolha da linhagem é um fator de importância fundamental para obter-se sucesso no cultivo de Champignon, pois as mesmas podem diferir quanto à velocidade de crescimento, resistência a fungos contaminantes, temperatura e umidade ótimas de incubação, formação de basidiomas, tamanho e forma dos basidiomas, eficiência biológica e produtividade (DIAMANTOPOULOU; PHILIPPOUSSIS, 2001; MANOLOPOULOU et al., 2007).

4.4.1. Cultivo *in vitro*

Muitos fungos possuem a capacidade de converter materiais lignocelulósicos ricos em energia, como resíduos agrícolas e/ou florestais, em biomassa para alimentação humana e animal (SHIBATA; DEMIATE, 2003). Esta capacidade decompositora é realizada por enzimas hidrolíticas, como a celulase, com potencial para degradar celulose em proteínas, fibras, vitaminas, sais minerais e até compostos bioativos com propriedades medicinais, e por sua vez, sua eficiência em converter substratos em proteínas é muito superior à de plantas e de animais (KÜES; LUO, 2000; MINHONI et al., 2005).

O cultivo *in vitro* busca elucidar as condições ótimas de crescimento do fungo, em relação a meios de cultura, temperatura e tempo de incubação (STAMETS, 2005), e este conhecimento é um pré-requisito para o seu cultivo comercial, em substrato formulado.

O crescimento micelial de microorganismos sobre um determinado período de tempo resultado em uma típica curva sigmoidal, que pode ser dividida em algumas fases com propriedades fisiológicas características. A primeira fase é conhecida como lag-fase, e é caracterizada por um crescimento micelial menor; a segunda fase é o crescimento exponencial, caracterizado por um crescimento máximo e constante; a terceira fase é caracterizada pela estabilização ou declínio do crescimento e algumas vezes é conhecida como fase estacionária de curta duração, sendo seguida pelo quarto estágio, caracterizado pela morte (MONTINI et al., 2006). As formas de avaliação do

desenvolvimento micelial podem ser realizadas através do crescimento radial, vigor, velocidade de crescimento e massa do micélio.

Na literatura é comum a utilização de meio de cultura sólido para avaliação do crescimento micelial em experimentos com condições laboratoriais, assim adaptando o substrato de cultivo em um meio artificial e como uma forma de sintetizar o natural, recomenda-se o uso de um meio de cultura de composição semelhante a do substrato de cultivo como o extrato de composto propriamente dito (BONONI et al., 1999; MINHONI et al., 2005; DONINI et al., 2006). Apesar do meio de cultura elaborado através do extrato do substrato de cultivo possuir as características semelhantes ao natural, muitas vezes é difícil extrapolar os resultados de laboratório para condições à campo.

4.5. Composto para *A. bisporus*

A prática empregada para a produção do substrato de cultivo de *A. bisporus* é popularmente conhecida como compostagem ou fermentação do estado sólido e ocorre através da decomposição aeróbia de palhas e/ou capins e suplementos nitrogenados, de origem orgânica e/ou inorgânica, gerando o cinergismo de diversos microorganismos, incluindo bactérias e fungos termófilos que, em conjunto com outros fatores, governam o processo e tornam o substrato propício ao desenvolvimento e produção do cogumelo propriamente dito (VAN GRIESVEN, 1988; ADAMS; FROSTICK, 2008). A necessidade da aplicação do processo de compostagem para o cultivo de *Agaricus* justifica-se pelo fato destes fungos serem decompositores secundários, ou seja, ao contrário de outros cogumelos, como o Shiitake (*Lentinula edodes*), o Maitake (*Grifola frondosa*), Reishi (*Ganoderma lucidium*), o Shimeiji (*Pleurotus ostreatus*) que são saprófitas primários, não serem aptos a degradar componentes lignocelulósicos complexos, e, por isso, necessitam que outros microrganismos iniciem a degradação do substrato anteriormente ao seu desenvolvimento (HERRERA, 2001). Neste sentido, é importante mencionar que a composição do substrato de cultivo, as características dos parâmetros físicos, químicos e/ou biológicos do processo, bem como as características do fungo que se pretende cultivar, são fatores que afetam a produtividade (ROYSE et al., 2010).

4.5.1. Tipos de composto

Na literatura existem diversas formulações de composto para o cultivo de *A. bisporus*, as quais podem ser classificadas em: 1. Composto clássico, utilizando resíduos da agroindústria à base de palhas como material volumoso, estercos de animais para suplementação das fontes de nitrogênio requeridas pelo cogumelo e gesso utilizado para correção da umidade e pH; 2. Composto sintético utilizando palhas, a suplementação nitrogenada utiliza fontes orgânicas (farelos) e inorgânicas de nitrogênio (sulfato de amônia, uréia, superfosfato simples), gesso e calcário calcítico; 3. Composto orgânico, com uso de materiais com certificação orgânica. É proibido o uso de uréia, de sulfato de amônio e de superfosfato simples (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; KOPYTOWSKI FILHO, 2004; MINHONI et al., 2005).

Segundo Minhoni et al. (2005) os componentes para a formulação de compostos de cultivo de cogumelos, situam-se em 3 classes:

1. Materiais ricos em celulose, hemicelulose e lignina, tais como palhas, bagaço de cana-de-açúcar e "camas" de produção animal à base de palha de trigo, arroz, cevada, entre outros (Tabela 5). Estes materiais são de estrutura química complexa e de difícil decomposição, com nutrientes não imediatamente disponíveis aos microrganismos.

2. Materiais ricos em nitrogênio, tais como a uréia, farelo de soja, sementes de algodão, tortas de resíduos da industrialização de produção de bebidas, esterco de animais, etc (Tabela 5). Com exceção da uréia, estes substratos são chamados de ativadores do composto, por possuírem proteínas, gorduras e carboidratos prontamente disponíveis aos microrganismos no processo de compostagem. Da mesma forma que estes nutrientes estão prontamente disponíveis, eles são relacionados como fontes precursoras da formação de odores, além do aumento da densidade do composto;

3. Materiais denominados de condicionadores inorgânicos: gesso e calcário.

O gesso tem a função de minimizar o aspecto de "graxa" no composto além de fornecer um sistema tampão ao processo de compostagem (BEYER, 2003). O mesmo autor afirma que o gesso também possui a função de flocular colóides no composto, evitando que as palhas permaneçam unidas durante o processo, aumentando a

concentração de oxigênio no interior da leira de compostagem, assim gerando maior condição de aerobiose e permitindo aumento nas atividades químicas e microbiológicas.

Tabela 5. Materiais volumosos e suplementos nitrogenados comumente utilizados como fonte de carbono e nitrogênio para confecção de composto de *Agaricus bisporus* (Banco de dados do Módulo de Cogumelos da FCA/UNESP).

Materiais volumosos	**Nitrogênio**	**Carbono**	**C:N**
	----- % -----		
Bagaço de cana-de-açúcar	0,4	53,0	149
Braquiária	0,7	48,0	65
Cana-de-açúcar fresca	1,4	51,0	37
Napiê	0,6	26,0	47
Napiê Triturado fresco	1,4	51,0	35
Capim colonião	1,0	49,9	52
Capim tifton	1,5	45,0	30
Palha de arroz	0,8	48,0	49
Palha de cevada	0,4	52,0	142
Palha de trigo	0,4	53,0	145
Feno de sorgo	0,8	52,0	63
Palha de cana-de-açúcar	0,5	50,6	101
Esterco de cavalo	1,5	50,0	34
Suplementos nitrogenados			
Esterco de galinha	4,2	33,0	8
Esterco de frango, 3ª criada	3,5	31,8	8-19
Farelo de algodão	6,0	52,0	9
Farelo de arroz	2,2	49,0	22
Farelo de cacau	2,4	51,0	21
Farelo de soja	7,1	51,0	6
Farelo de trigo	3,0	53,0	18
Fubazão	1,5	54,0	35
Torta de soja	4,3	21,2	5
Torta mamona	6,1	40,0	7
Residuo de soja	3,8	41,0	11
Sulfato de amônia	22,0	-	0,04
Uréia	45,0	27,0	0,6

4.5.2. Suplementação nitrogenada

O aspecto energia é cada vez mais evidenciado pela interferência no custo final dos produtos e disponibilidade. Assim também são os resíduos gerados na exploração avícola, atividade que, pelos índices de produtividade alcançados, destaca-se

pela velocidade da conversão energética, merecendo destaque as oportunidades de reciclagem da biomassa gerada como resíduo/subproduto no processo.

A cadeia produtiva de fertilizantes é composta pelo segmento extrativo mineral, que fornece a rocha fosfática, o enxofre e as rochas potássicas, pelo segmento que produz as matérias-primas intermediárias como o ácido sulfúrico, o ácido fosfórico e a amônia anidra, pelo segmento produtor de fertilizantes simples e pelo segmento produtor de fertilizantes mistos e granulados complexos (NPK) (EMBRAPA, 2004).

Geralmente a determinação da formulação do substrato de cultivo dá-se através da disponibilidade e custo dos materiais na região. Devido à indisponibilidade da cama de cavalo em grandes quantidades, a maioria da produção de cogumelos no Brasil é feita em compostos sintéticos (BONONI et al., 1999; MINHONI et al., 2005). Para Beyer (2003), a utilização de esterco de animais para a suplementação nitrogenada é economicamente viável, sendo a forma mais barata utilizada. Portanto, compostos naturais ainda são muito empregados na Holanda, França e em locais e épocas do ano, onde a cama de cavalo seja suficientemente abundante (van GRIESVEN, 1988).

Grande parte dos tipos de resíduos vegetais podem ser utilizados para a formulação de compostos clássicos. Para Vedder (1996), palhas de cereais são utilizadas na maioria dos países como material básico para o composto, sendo a palha de trigo a mais comumente utilizada na Europa e Estados Unidos, e os compostos à base de palha de arroz os mais utilizados nos países asiáticos.

No Estado de São Paulo, devido à disponibilidade baixa do esterco de cavalo e abundancia do bagaço de cana-de-açúcar, a maioria dos fungicultores opta pela confecção de compostos sintéticos, substituindo o esterco eqüino por bagaço. Além da substituição deste material volumoso, a formulação padrão do Módulo de Cogumelos FCA/UNESP, para composto de *Agaricus*, substitui o esterco de galinha com fonte nitrogênio, por farelo de soja, sulfato de amônia e uréia para formulação de composto sintético (Tabela 6). Um dos fatores mais importantes para a escolha de materiais viáveis para confecção de composto para *Agaricus* é em relação a disponibilidade destes na região visando baixar o custo das matérias primas e frete (Tabela 7).

Mediante a escolha dos materiais, é importante também definir a relação inicial entre as quantidades de carbono (C) e nitrogênio (N) a qual será estabelecida. A relação C:N inicial assim como o tipo de suplemento nitrogenado utilizado

afetam diretamente a produtividade de *A. bisporus*, e atualmente é definida a relação C:N inicial do composto como padrão em torno de 28:1 e é considerado ideal para o cultivo quando a relação C:N de 18:1 é obtida após as etapas FI e FII do processo de compostagem. (VAN GRIESVEN, 1988; OEI, 2003).

Tabela 6. Exemplo de formulação de composto sintético, para aproximadamente 12 a 15 toneladas de composto úmido após a pasteurização (MINHONI et al., 2005).

Componentes	Quantidade, kg (peso de massa seca)
Bagaço de cana-de-açúcar	2500
Palha de braquiária	2500
Farelo de soja	400
Uréia	100
Gesso	107
Calcário calcítico	107
Total	5610
N orgânico inicial do composto, g kg^{-1}	21,25
Relação C/N inicial do composto	28

Tabela 7. Comparação entre os custos dos materiais utilizados como suplementação nitrogênada para composto de *A. bisporus* (informação pessoal CATI-Botucatu).

Materiais	**Custo, R$/kg**
Esterco de galinha	0,15 - 0,25
Esterco de frango	0,09 - 0,11
Farelo de algodão	0,90
Farelo de soja	1,19
Farelo de trigo	0,42
Sulfato de amônia	0,65
Uréia	1,05

A relação C/N inicial do substrato está intimamente associada aos níveis de amônia durante a compostagem e, neste sentido, é fundamental que não ultrapasse limites que prejudiquem a produtividade. Para o *A. bisporus*, níveis satisfatórios devem ser inferiores a 1 mg de amônia kg^{-1} de composto fresco ou então, equivalentes a 5-10 mg de amônia kg^{-1} de composto na atmosfera do túnel de pasteurização (CORMICAN; STAUTON, 1991; GERRITS,1988).

Experimentos com uréia, esterco de galinha e palha de trigo mostraram que os melhores rendimentos de *A. bisporus* foram obtidos com níveis de amônia de 4 mg kg^{-1} de composto fresco, ao final das Fases I ou II, equivalendo a níveis de

nitrogênio de 20 g kg^{-1} de matéria seca de composto na formulação inicial (GERRITS, 1988).

O comportamento acima descrito pode estar fundamentado nos tipos de metabolismos microbianos existentes no substrato em compostagem. Inicialmente, a comunidade microbiana mesofílica, naturalmente em maior número devido à sua versatilidade nutricional e metabólica, utiliza os compostos mais solúveis do substrato, mineralizando o nitrogênio orgânico e liberando $NH_4 \rightarrow NH_3$. Com o estímulo, processos oxidativos elevam a temperatura e a comunidade termófila, inicialmente em menor número, tem sua atividade e número aumentados, o que eleva ainda mais a temperatura, fato este que torna o ambiente desfavorável aos mesofílicos. Ademais, a concentração elevada de nitrogênio na forma amoniacal é tóxica para os mesofílicos, mas não limitante a alguns grupos termófilos (GRIESVEN, 1988).

4.5.3. Método de compostagem

O método de compostagem usualmente utilizado para *A. bisporus* é o método de compostagem curta (*Short Composting*), desenvolvido por SIDEN e HAUSER na década de 50 (LABORDE et al., 1993).

HERRERA (2001) define o processo de compostagem como uma decomposição aeróbia de substratos orgânicos em condições que permitam atingir temperaturas suficientemente elevadas para o crescimento de microrganismos termófilos.

Van Griesven (1988), afirma que o início do processo de compostagem inicia-se pelo desenvolvimento da microbiota mesofílica indígena no composto, ou seja, os materiais volumosos, água, minerais e as fontes de nitrogênio. A microbiota hidrolisa carboidratos (em particular polissacarídeos), portanto há liberação de calor no processo. Através da decomposição de proteínas, a amônia é gerada, como um resultado de processo de mineralização do nitrogênio orgânico (amonificação), sendo outro fator que eleva a temperatura do composto (Tabela 8), um dos objetivos fundamentais para tornar a palha macia e perder sua serosidade e rigidez (específica para cada material utilizado). Entretanto a concentração de amônia não pode ser elevada, uma vez que níveis elevados são tóxicos para a microbiota existente. Com o aumento da temperatura, a microbiota mesofílica existente é substituída por microorganismos termofílicos como as actinobactérias (EIRA; MINHONI, 1997), porém o processo de decomposição não cessa.

Produtos decompostos de polissácarios e proteínas (incluindo aminoácidos e amônia) são destinados ao metabolismo intermediário. Através deste processo, novas células são constantemente formadas, novamente contendo polissacarídeos (a parede celular) e proteínas (o conteúdo celular), e parte desta microbiota é assimilada novamente (linha pontilhada, Figura 1.), enquanto outra parte da microbiota auxilia na decomposição (linhatracejada, Figura 1.). O resultado é a constante troca e a sucessão de geração de microorganismos.

Tabela 8. Parâmetros observados durante o processo de compostagem (ADAMS; FROSTICK, 2008).

Parâmetros	Dia					
	1	8	15	32	33	88
Temperatura, °C	75	69	25	25	25	20
Umidade, %	77	72	61	63	62	61
Matéria orgânica, %	86	82	78	77	76	60
Perda de matéria orgânica, %	100	76	60	55	53	25
pH	7,17	7,90	7,20	7,75	6,52	6,38

A quantidade de amônia gasosa livre (NH_3) na atmosfera do composto é o resultado de constante processo de decomposição, amonificação, processo de síntese e imobilização do nitrogênio (VAN GRIESVEN, 1988). Parte da amônia será liberada na atmosfera, enquanto que outra parte será incorporada na forma de lignina. No final do processo, somente restarão alguns polissacarídeos, e cerca de metade deles serão hidrolisados em CO_2 e H_2O, reflexo da produção de energia para o processo ocorrer, podendo ser expresso da seguinte forma:

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 2824$ kJ

onde os polissacarídeos são representados por $C_6H_{12}O_6$

Grandes quantidades de lignina são acumuladas e no final é gerado um complexo denominado lignina-humus, rico em nitrogênio, com os polissacarídeos remanescentes e a biomassa formada torna-se o alimento que o cogumelo utiliza para o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo (KOPYTOWSKI FILHO, 2006).

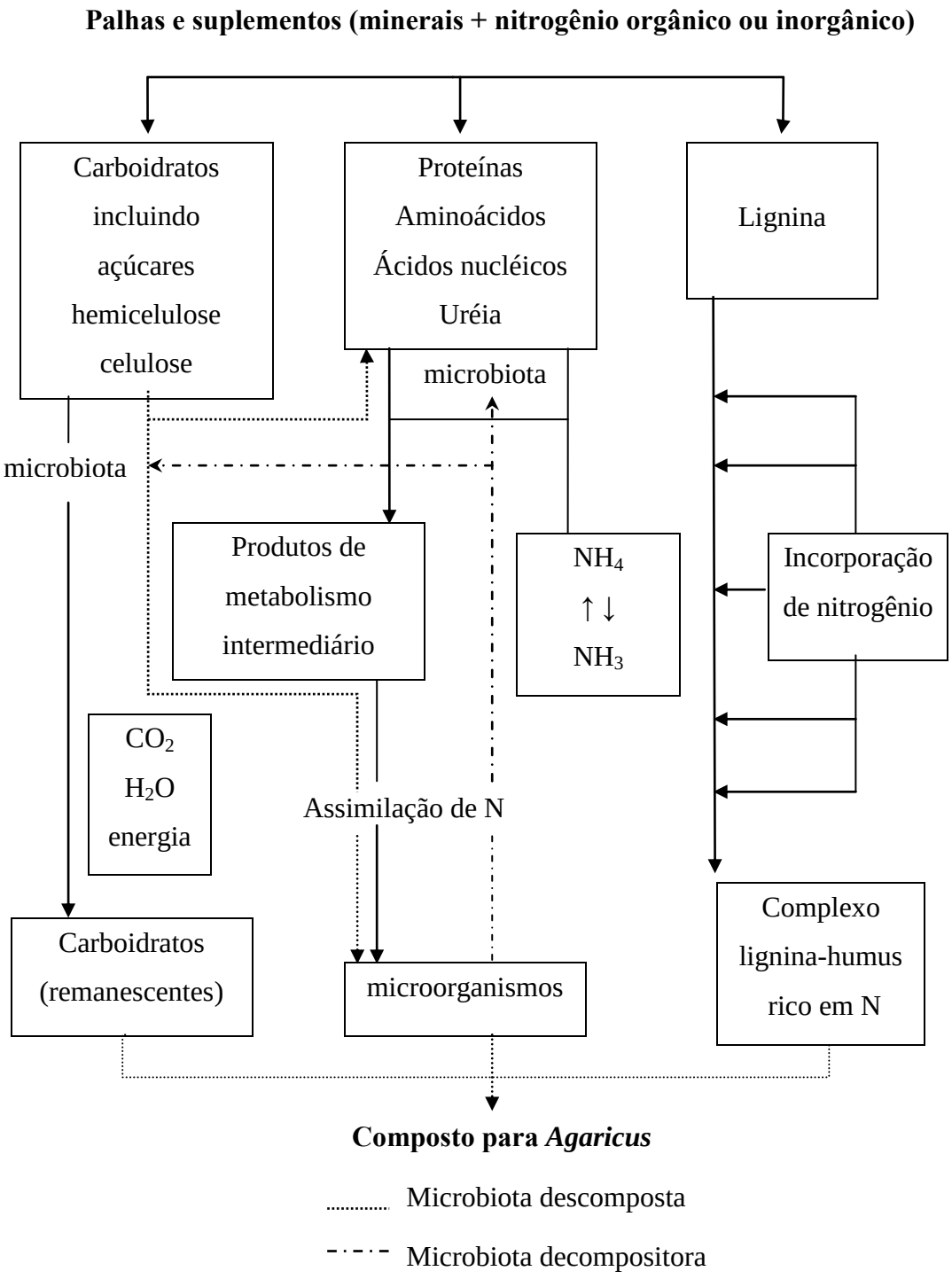
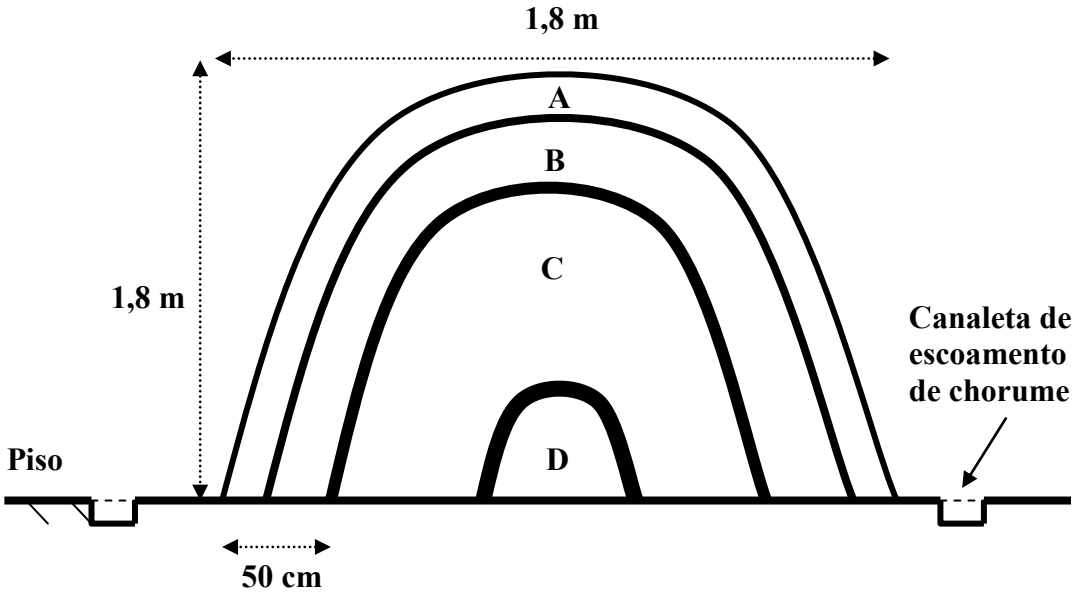


Figura 1. Fluxograma do processo de compostagem (VAN GRIESVEN, 1988)

Uma vez formulado o composto, monta-se a leira, colocando-se os materiais em camadas e durante processo, geralmente em intervalos de 2 a 3 dias, são realizadas misturas periódicas. Na leira de compostagem formada, a atividade microbiana eleva a temperatura para 60 a 80°C. A leira possui regiões com atividade microbiana e

umidade diferentes. A superfície possui umidade baixa e condições máximas de aerobiose, enquanto à região central, tem umidade maior e é parcialmente anaeróbia (Figura 2). Daí a necessidade de revirada periódica, com objetivo de homogeneizar, as condições de umidade e temperatura por toda a massa do composto. As reviradas também servem para aumentar a oxigenação do composto e isto é muito interessante, pois uma decomposição ou compostagem predominantemente aeróbia resulta em composto de melhor qualidade (EIRA; MINHONI, 1997; MINHONI et al., 2005).



A. Zona externa, mais fria.
B. Zona de atividade de actinobactérias, mais seca em relação às zonas mais internas.
C. Zona com condições mais favoráveis para compostagem: temperatura de 43 a 80ºC e umidade de 70%.
D. Zona anaeróbia e temperatura baixa, 38 a 43ºC, desfavorável à compostagem.
Figura 2. Zonas de uma leira de compostagem de *Agaricu*s sp (adaptado de VEDDER, 1996).

Ao final desta Fase I de compostagem, o composto deve apresentar as seguintes características: umidade em torno de 65-70%, pH entre 7,5 e 8, coloração da palha de amarela a marrom, com massa miceliana branca, (presença de actinobactérias) e teor reduzido de amônia (MINHONI et al., 2005, ADAMS; FROSTICK, 2008).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram divididos em duas etapas e ambos foram conduzidos na área experimental do Módulo de Cogumelos, localizado na Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Campus de Botucatu, SP.

No primeiro experimento, a campo, avaliou-se o efeito do tipo de suplementação nitrogenada na produção das cinco linhagens de *A. bisporus* utilizadas no experimento à campo (Figura 3). Para a execução do segundo experimento, *in vitro*, foram coletados os basidiomas produzidos em campo e estes foram isolados para avaliar-se o desenvolvimento micelial das cinco linhagens de *A. bisporus* em meio de cultura sólido.

5.1. Experimento I

5.1.1. Linhagens de *Agaricus bisporus*

Para a utilização das linhagens de *A. bisporus* no experimento de campo foram empregadas técnicas culturais de isolamento e repicagem das matrizes. Estas, de origem de locais distintos, estavam armazenadas na Micoteca do Módulo de Cogumelos FCA/UNESP (Tabela 9).

5.1.1.1. Preparo de inóculo

As metodologias para preparo do inóculo seguiram a literatura descrita por Minhoni et al. (2005).

Pré-umedecimento:
Umedecimento e misturas diárias da palha de cana e do bagaço de cana com objetivo de atingir 80% de umidade dos materiais.
Duração: 6 dias

FI (compostagem):
Adição dos suplementos nitrogenados e misturas para homogeneizar e gerar condição de aerobiose ao processo.
Duração: 12 dias

FII (Pasteurização e condicionamento):
Pasteurização à 59°C durante 8-10h seguido de condicionamento à 47-49°C durante 10 dias.
Duração: 12 dias

Inoculação e incubação:
Adição do composto em caixas de 13kg de massa fresca de composto "semeado" com 1,5% de inóculo dos isolados. Incubação à 25°C.
Duração: 21 dias

Adição da camada de cobertura:
Adição de camada de cobertura e incubação até o início da produção.
Duração: 15 dias

Indução, produção e colheita:
Redução da temperatura, aumento na concentração de O_2 e irrigação da camada de cobertura, seguido de colheita durante 25 dias.
Duração: 35 dias

Figura 3. Atividades realizadas durante a condução do Experimento I.

Tabela 9. Origem e técnicas culturais das linhagens utilizadas no Experimento I.

Linhagem	Técnica cultural	Origem
ABI-05/03	Isolamento	Basidioma adquirido de produtores da região de Cabreúva/SP
ABI-04/02	Isolamento	Basidioma adquirido de produtores da região de Mogi das Cruzes/SP
ABI-06/05	Isolamento	Basidioma adquirido de produtores da região de Piedade/SP
ABI-09/10	Repicagem	Matriz provinda de laboratório de micélio da região de Hong Kong, China
ABI-09/11	Repicagem	Matriz provinda de laboratório de micélio da região de Hong Kong, China

Matriz primária

As matrizes primárias do banco de matrizes foram cultivadas em meio de cultura à base de composto ágar. Para o preparo deste meio, inicialmente, foi coletada amostra mista de composto ao final da Fase II e com relação C:N ao redor de 18:1, subseqüentemente desidratada em estufa a 100°C durante 36h. Após, adicionou-se 45 g deste composto em 600 mL de água destilada e ferveu-se durante 15 minutos. Filtrou-se em peneira comum de malha fina. Completou-se o volume do filtrado para 500 mL. Autoclavou-se a 121 ºC por 30 minutos. Após 24 horas, adicionou-se 15g de Agar e autoclavou-se novamente por mais 30 minutos (tindalização). Após resfriamento à aproximadamente 45-50 ºC, o meio foi vertido em placas de Petri de 90 x 15 mm (20 mL/placa) em ambiente estéril.

Matriz secundária

Os procedimentos para o preparo do meio de cultura da matriz secundária foram os mesmos utilizados para o preparo da matriz primária, inoculando-se um disco de 0,5 cm de diâmetro da matriz primária no centro da placa de Petri. Após o processo de transferência dos discos com micélio da matriz primária, as placas foram vedadas com filme plástico PVC e acondicionadas em BOD (Biological Oxygen Demand) a temperatura de 25°C ±1 durante 12 dias, em ausência de luz, até total colonização do substrato.

Matriz terciária

O substrato utilizado para a produção do inóculo foi à base de *Sorghum bicolor* L., proveniente da Fazenda Experimental Lageado – FCA/UNESP.

Os grãos secos, acondicionados em sacos de aniagem, foram imersos em tanque com água de abastecimento público, sob fervura, através da injeção de vapor de caldeira (na base do recipiente), para o cozimento por 40 minutos. Após, os sacos foram retirados do tanque e suspensos para o escoamento da água remanescente através de um sistema hidráulico, por aproximadamente 40 minutos. Em seguida, foram adicionados 20 g kg^{-1} de calcário calcítico e 140 g kg^{-1} de gesso de construção, em relação ao peso úmido dos grãos cozidos, e todos os materiais foram misturados em betoneira de construção.

Para a formação do inóculo (matriz terciária) foram utilizados sacos de polipropileno de alta densidade (PEAD) com cerca de 250g de substrato. Estes sacos foram soldados a quente na parte superior, adicionada de filme Tyvec®, permitindo assim o processo de esterilização sem ruptura da embalagem e também, aeração para o desenvolvimento do micélio. Os sacos foram autoclavados a 121ºC durante 4 horas.

Após resfriamento até temperatura ambiente, as matrizes terciárias foram inoculadas, em câmara de fluxo laminar, com a matriz secundária e incubada por 10 dias a 25 ± 1 ºC até a completa colonização do substrato.

5.1.2. Composto

As matérias primas utilizadas para confecção dos compostos clássico e sintético, bem como as quantidades de carbono e nitrogênio, massa seca e relação C:N destas estão apresentadas nas tabelas 10 e 11.

Para sulfato de amônia e uréia, as quantidades de carbono e nitrogênio seguiram as especificações técnicas fornecidas pelos fabricantes. Para o bagaço de cana-de-açúcar, palha de cana-de-açúcar, farelo de soja e o esterco de galinha as determinações de carbono e nitrogênio foram efetuadas no Laboratório de Análise de Solo, do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agronômicas UNESP, Botucatu, SP (Tabelas 12 e 13). Para tanto, 500g de cada material (3 sub-amostras homogeneizadas) foram previamente submetidas à desidratação em estufa a 100°C durante

36h para diminuir-se a possibilidade de alterações bioquímicas nos materiais e, conseqüentemente, os teores de carbono e nitrogênio observados (MINHONI et al., 2005). Com este procedimento foi possível avaliar a umidade de cada material.

Tabela 10. Matérias primas utilizadas para confecção do composto sintético (análises realizadas pelo Departamento de Recursos Naturais, da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu, SP).

Materiais	**N**	**C**	**Massa seca**	**Relação C:N**
	---------- kg ----------			
Bagaço de cana-de-açúcar	0,70	98,90	200,20	141:1
Palha de cana-de-açúcar	1,09	110,06	217,50	101,2:1
Farelo de Soja	2,41	16,83	34,00	7,70:1
Uréia Agrícola (45% N)	3,38	1,65	7,50	0,6:1
Sulfato de Amônia (20% N + 12% S)	1,50	-	7,50	-
Calcário calcítico	-	-	12,00	-
Gesso (CaSO4)	-	-	24,00	-
TOTAL	9,08	227,43	466,70	25,05:1*

*Relação C:N inicial estimada através de software desenvolvido pelo Módulo de Cogumelos, FCA/UNESP

Tabela 11. Matérias primas utilizadas para confecção do composto clássico (análises realizadas pelo Departamento de Recursos Naturais, da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu, SP).

Materiais	**N**	**C**	**Massa seca**	**Relação C:N**
	---------- kg ----------			
Bagaço de cana-de-açúcar	0,39	54,34	110,00	141:1
Palha de cana-de-açúcar	0,94	94,88	187,50	101,2:1
Esterco de galinha	6,30	49,16	150,00	8:1
Uréia Agrícola (45% N)	-	-	-	0,6:1
Sulfato de Amônia (20% N + 12% S)	-	-	-	-
Calcário calcítico	-	-	11,00	-
Gesso (CaSO4)	-	-	22,00	-
TOTAL	7,62	198,37	447,50	26,02 : 1*

*Relação C:N inicial estimada através de software desenvolvido pelo Módulo de Cogumelos, FCA/UNESP

Após a aquisição do farelo de soja utilizado no composto sintético, foram coletadas amostras (em triplicata de 200g de massa fresca) para análise (Tabelas 15 e 16) e este foi armazenado durante 30 dias em sala com temperatura controlada em torno de 45-50°C e umidade relativa do ar em torno de 10-15%. Esta sala é comumente utilizada para a estocagem de grãos e farelos de diversos materiais, evitando-se assim o perecimento destes através de temperatura de 45-50ºC e a contaminação por microorganismos, além da

violação das embalagens por roedores e outros. Devido ao fato do esterco de galinha não ser um material nobre e possuir uma carga muito grande de microrganismos no momento que é retirado da granja, torna-se inviável condicionar este na sala de armazenamento anteriormente citada, podendo ocasionar possíveis contaminações dos demais materiais armazenados na sala. Desta forma, após o recebimento do esterco de galinha, este foi armazenado no pátio de compostagem, com cobertura e ventilação natural.

Tabela 12. Teores médios de carbono (C), nitrogênio (N), matéria orgânica (MO), relação C:N, nitrogênio orgânico (N org.) e nitrogênio inorgânico (N inorg.) dos ingredientes utilizados na formulação dos compostos.

Materiais	**N**	**C**	**MO**	**Peso seco**	**Relação C:N**	**N org.**	**N inorg.**
	kg					**%**	
Clássico							
Esterco de galinha	6,30	49,16	83,55	150,00	8:1	7,62	nd
Sintético							
Farelo de Soja	2,41	16,83	30,29	34,00	7,70:1	4,20	nd
Uréia Agrícola (45% N)	3,38	1,65	-	7,50	1:45	nd	3,38
Sulfato de Amônia (20% N + 12% S)	1,50	-	-	7,50	1:20	nd	1,50

Tabela 13. Análise de macro e micronutrientes, pH e relação C:N do farelo de soja e esterco de galinha obtidas do Laboratório de Solos e Fertilizantes da FCA, UNESP, Botucatu.

Constituintes	Farelo de soja	Esterco de galinha
	%	
N	7,10	4,20
P_2O_5	1,37	5,74
K_2O	2,63	2,97
Ca	0,37	18,6
Mg	0,23	0,68
S	0,27	0,55
MO	89,1	55,7
C	49,5	32,77
	mg/kg	
Na	59	3881
Cu	16	99
Fe	244	4851
Mn	73	358
Zn	57	370
C:N	7	12
pH	5,9	7,81

Finalmente foi realizado o levantamento de custo das matérias-primas utilizadas para a confecção dos compostos clássico e sintético (Tabela 14).

Tabela 14. Comparação entre os custos dos materiais utilizados para confecção dos compostos clássico e sintético.

Materiais	**Composto sintético**	**Composto clássico**
	---------- R$/kg ----------	
Palha de cana	75,40	65,00
Bagaço de cana	45,50	27,50
Esterco de galinha		50,00
Farelo de soja	47,60	
Uréia	7,87	
Sulfato de amônia	4,87	
Gesso	8,88	8,14
TOTAL, R$	**190,12**	**150,64**

5.1.2.1. Pré-umedecimento

Inicialmente, as quantidades de bagaço e palha de cana foram pesadas e separadas para ambos os compostos para o início do pré umedecimento. Entre os materiais volumosos utilizados nos compostos (palha e bagaço de cana), optou-se em iniciar o pré umedecimento somente com a palha de cana, portanto esta foi desenfardada, espalhada na pista em áreas de aproximadamente 3x3m e durante este procedimento realizou-se o umedecimento com quantidade abundante de água. Justifica-se o início do pré-umedecimento somente com a palha de cana por que enquanto esta possui fragmentos de 10 a 80 cm, para o bagaço, estes são de apenas 0,1 a 2cm e portanto quanto mais fragmentado o material esteja a absorção de água por este é maior. Por este motivo, torna-se necessário iniciar o pré-umedecimento da palha de cana, anterior ao bagaço. Não existe uma regra, com o tempo exato para o pré-umedecimento dos diversos materiais que podem ser utilizados na compostagem, e para tanto o ponto ideal deste estágio pode ser decidido de duas formas. A mais precisa, porém demorada, é conferir a umidade dos materiais dia-a-dia, com objetivo de alcançar 80% de umidade. Outra forma, empírica, mas rápida, é uma avaliação sensorial utilizando as mãos, conferindo a textura do materiais e/ou aplicando pressão (torcer) para verificar o escorrimento d'água. Como este experimento utilizou dois tipos de materiais volumosos foi necessário conduzir e observar o pré-umedecimento da palha de cana durante 3 dias, e somente no quarto dia foi adicionado o bagaço para cada composto. No quarto dia, os materiais de cada composto foram

organizados em pilhas de 1,80m de largura, 4,0m de comprimento e 1,80m de altura. O processo de pré-umedecimento totalizou seis dias e diariamente foram realizadas misturas com objetivo de homogeneizar os materiais e adição de água abundante para obter umidade de 80% (Figura 4).

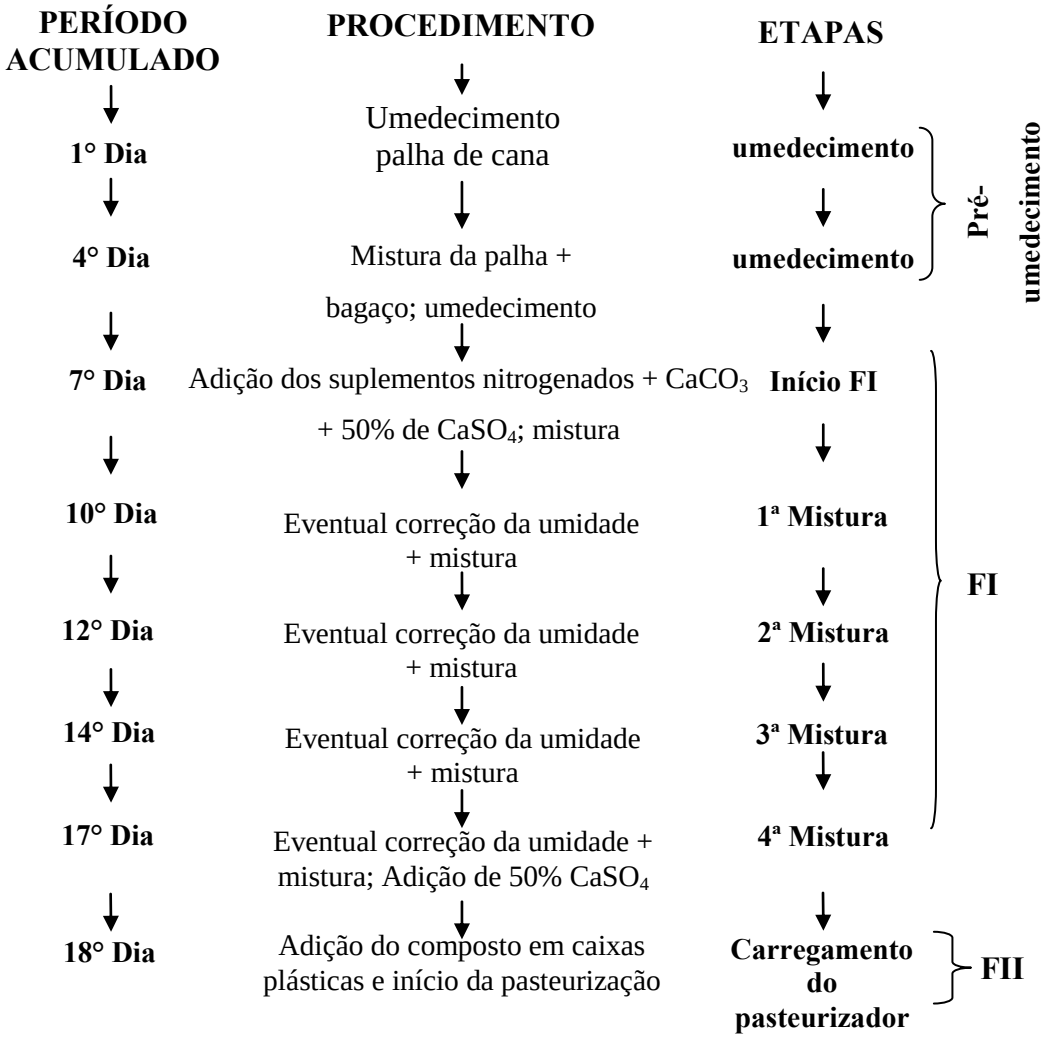


Figura 4. Esquema de execução da compostagem.

5.1.2.2. Compostagem (Fase I)

No sétimo dia, foram pesados todos os suplementos nitrogenados, o calcário calcítico e 50% da quantidade de gesso para cada um dos compostos. Os materiais foram misturados e a seguir, foram distribuídos manualmente e em diversas camadas durante a montagem da leira de compostagem. Utilizou-se garfo para a montagem das

leiras, cujas dimensões foram de 1,80m de largura, 3,40m de comprimento e 1,80m de altura.

Após a montagem das leiras, foram efetuadas reviradas periódicas (Figura 4) com o objetivo de homogeneizar os materiais, favorecer a aerobiose e corrigir a umidade em torno de 70%, com adições de água de abastecimento público, fazendo-se o uso de mangueira de plástico.

Finalizando, na quarta e última virada foi adicionado o restante do gesso para cada composto visando possíveis erros em relação ao excesso de umidade.

5.1.2.3. Pasteurização e condicionamento (Fase II)

No 12° dia da compostagem, os compostos foram acondicionados em caixas de polipropileno treliçadas, dimensão de 56,5 cm de comprimento x 46,5cm de largura x 28,5 cm de altura, com peso previamente determinado (tara das caixas).

A seguir, as caixas foram pesadas novamente para a determinação da massa fresca de composto por caixa. As caixas foram empilhadas ao acaso, no interior da câmara Dalsem Mushroom Projects® (Figura 5), para pasteurização seguida de condicionamento. A pasteurização ocorreu durante 8h a 59°C e após, o condicionamento deu-se por 10 dias a 47-49°C.

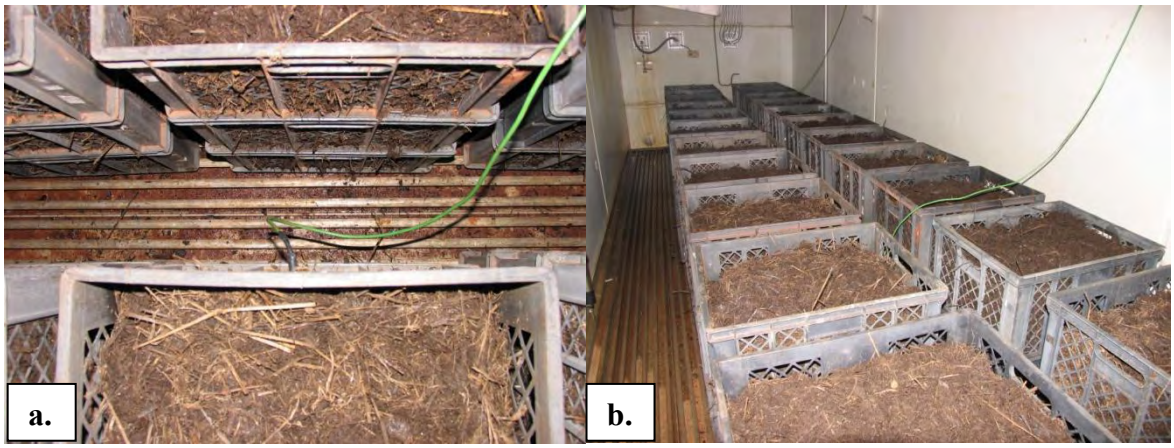


Figura 5. Entrada dos compostos no módulo de produção Dalsem Mushroom Projects para o início da FII (pasteurização e condicionamento). a. Controle das variáveis ambientais através de sensores de temperatura (média de dois sensores) inseridos no centro das caixas contendo composto clássico e sintético; b. organização das caixas para permitir o fluxo de ar equalizado durante o processo.

O controle da temperatura de pasteurização foi realizado através do monitoramento de dois sensores (temperatura média dos sensores, com variação de ± 1,0ºC) inseridos no centro das caixas com cada um dos compostos: clássico e sintético (Figura 5). O aquecimento foi executado por vapor e aeração controlada. Para o controle das variáveis ambientais e registros de dados desta etapa, foi utilizado o software de monitoramento realizado pela Dalsem Mushroom Projects®.

5.1.3. Inoculação

Após o término da pasteurização e condicionamento, todas as caixas foram pesadas novamente para avaliar a perda de massa durante a FII. A seguir, foram preparadas 10 repetições contendo 13,0 kg de composto de ambos os compostos para cada uma das cinco linhagens de *A. bisporus* a ser inoculada. Durante a inoculação, o composto pasteurizado foi transferido equitativamente para novas caixas com as mesmas dimensões e contornadas internamente com um filme plástico flexível de 35 cm de altura, para evitar possíveis contaminações e o ressecamento. A cada porção de composto transferida, foi adicionado uma porção da massa de inóculo de *A. bisporus*, respectivo a cada linhagem, e foi homogeneizado manualmente. Foi repetido este procedimento até que o composto ocupasse todo o volume da caixa e o inóculo de *A. bisporus* correspondente a 15 g kg^{-1} de peso fresco de composto. A seguir, as caixas foram pesadas para 13,0 kg de composto inoculado.

Assim inoculadas, as caixas foram dispostas novamente ao acaso, no interior da câmara Dalsem, para corrida do micélio, 20 dias em ausência de luz, temperatura do composto 24-26°C e umidade relativa do ar de 85- 95%.

5.1.4. Camada de cobertura

Após 20 dias de corrida do micélio, procedeu-se a cobertura do composto com a camada de cobertura previamente preparada. O procedimento foi feito em ambiente coberto, com ventilação natural e piso de concreto.

A camada de cobertura foi constituída por 70% de terra de barranco (Latossolo argilo-arenoso) e 30% de carvão. O pH da terra foi corrigido com calcário calcítico para 7,0, segundo metodologia utilizada por Eira e Minhoni (1997) e Minhoni et

al. (2005). A camada de cobertura foi desinfestada com a utilização de calor úmido (vapor), no interior da Câmara Dalsem, a temperatura de 60°C durante 10 horas.

Para adição da camada de cobertura, as caixas foram retiradas uma a uma, ao acaso, da câmara de incubação e adicionadas de camada de cobertura até a obtenção de uma camada de 4 cm de espessura, sendo então irrigadas manualmente (Figura 6). As caixas foram dispostas em prateleiras com estrutura vazada de ferro e transportadas novamente para o interior da câmara Dalsem com a utilização de empilhadeira, assim sendo reincubadas por 15 dias. A temperatura de incubação ocorreu a 25°C, com baixa renovação de O_2, e umidade relativa de 85-95%.

Figura 6. Adição da camada de cobertura. a. adição da camada de cobertura; b. nivelamento da camada de cobertura; c. fechamento das embalagens plásticas para corrida do micélio; d. organização das repetições nas prateleiras.

5.1.5. Indução e desenvolvimento dos primórdios

Após 15 dias de incubação para colonização da camada de cobertura, foi adicionado água manualmente na superfície dos blocos, com regador, e iniciou-se aeração forçada contínua de 100 m^3 h^{-1} de ar, com renovação de ar externo,

mantendo a temperatura do ar em 19±1°C e umidade relativa em 80-90%. A aeração forçada foi mantida por motor de 1,5 CV, distribuída em linha de tubulação de plástico PVC 200 mm, com orifícios de 4 cm^2, distribuídos em linha a cada 50cm na parte inferior do tubo. Posicionou-se a tubulação na parte superior lateral da estufa.

Durante todo o período de colheita, as condições de indução seguiram estas mesmas condições. Contudo, para evitar o ressecamento da camada de cobertura, foi realizado monitoramento visual e regas manuais sempre que necessário.

5.1.6. Colheita

As colheitas foram manuais, no estádio próximo ao rompimento do véu (Figura 7). Os cogumelos foram colhidos com leve torção da base do estipete, e com utilização de faca, foram cortadas as bases dos estipetes com acumulo de hifas e camada de cobertura. A seguir, os cogumelos foram colocados em sacos plásticos (PEAD), previamente identificados com a numeração da caixa, para determinação da massa fresca em balança eletrônica de 0,1g de precisão.

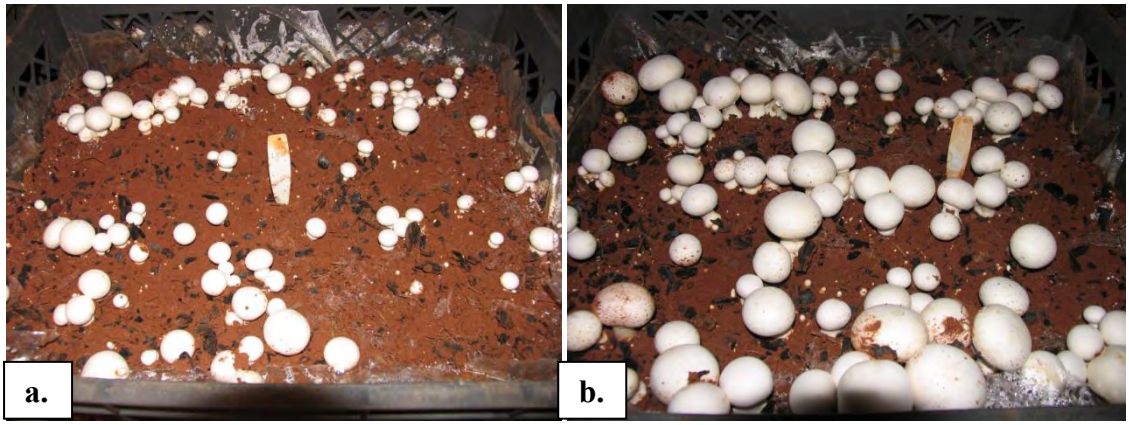


Figura 7. Desenvolvimento dos basidiomas. a. desenvolvimento dos primórdios; b. ponto de colheita.

5.1.7. Variáveis analisadas

5.1.7.1. Relativas ao composto

5.1.7.1.1. Carbono, nitrogênio, relação C:N, matéria orgânica, pH e umidade dos compostos

Ao longo da Fase I e ao final da Fase II, foram coletadas amostras em triplicata de 200g de cada substrato de cultivo, para a determinação dos teores de carbono, nitrogênio, relação C:N, , matéria orgânica, pH e umidade realizadas no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos – FCA/UNESP (Tabela 15).

Tabela 15. Metodologia de amostragem de variáveis dos compostos durante o processo de compostagem, pasteurização e condicionamento.

Variáveis	**Método de amostragem**
Relação C/N Carbono Nitrogênio Matéria orgânica pH Umidade do substrato	Coleta de três amostras de vários pontos dos compostos. Foram coletadas amostras nos dias 3, 4, 6, 12, 14, 17 e 32, após o início do pré-umedecimento.
Temperatura durante a fase I de compostagem	A temperatura foi medida em três planos das pilhas de compostos: "A" (1,60m de altura), "B" (1,00m de altura) e "C" (0,40m de altura). Para cada plano, foram utilizados 3 pontos de aferição para obtenção da temperatura média.
Massas seca e fresca	Como valores iniciais foram utilizadas as massas fresca e seca dos compostos no momento da montagem das leiras. Para as avaliações posteriores os compostos foram transferidos em caixas treliças (no início da formação das leiras e no final das Fases I e II da compostagem) e cada caixa foi avaliada como uma repetição para análise estatística. Foram utilizados 4 dias de avaliação.

5.1.7.1.2. Perda de massas seca e fresca dos compostos

Como valor de massa inicial dos compostos, foi utilizado a massa dos mesmos no início do pré-umedecimento (terceiro dia) dos compostos, descontando a umidade dos materiais (massa seca) e utilizando a umidade atual dos materiais (massa fresca). Um fator que torna imprecisa a coleta de dados para análise estatística em experimentos de compostagem é justificado pelo fato de cada composto ser uma repetição. O ideal, para tornar possível a análise estatística, seria que os compostos (durante a compostagem) fossem fragmentados, para então avaliar a perda de massa de cada composto. Como o processo de compostagem depende da termogênese dos microorganismos ali presentes, não é favorável para o processo realizar este tipo de fragmentação. Isto somente pode ser realizado no início e no final da FII, quando os

compostos foram fragmentados e submetidos a pasteurização e condicionamento sob vapor fluente, assim sendo não dependendo da termogênese. Foram utilizados 4 dias de avaliação, porém foi realizada análise estatística, utilizando teste de Tukey a 5%, somente para os dias 17 e 32 sendo início da FII e final da FII, respectivamente.

5.1.7.1.3. Temperatura de compostagem

Para avaliação das temperaturas de compostagem foram utilizadas 3 zonas na pilha de composto, classificadas como pontos A (situados a 1,60m de altura), B (situados a 1,00m de altura) e C (situados a 0,40m de altura). Para cada ponto, foram utilizados 3 pontos eqüidistantes e feito uma temperatura média, expressa em °C (Figura 8).

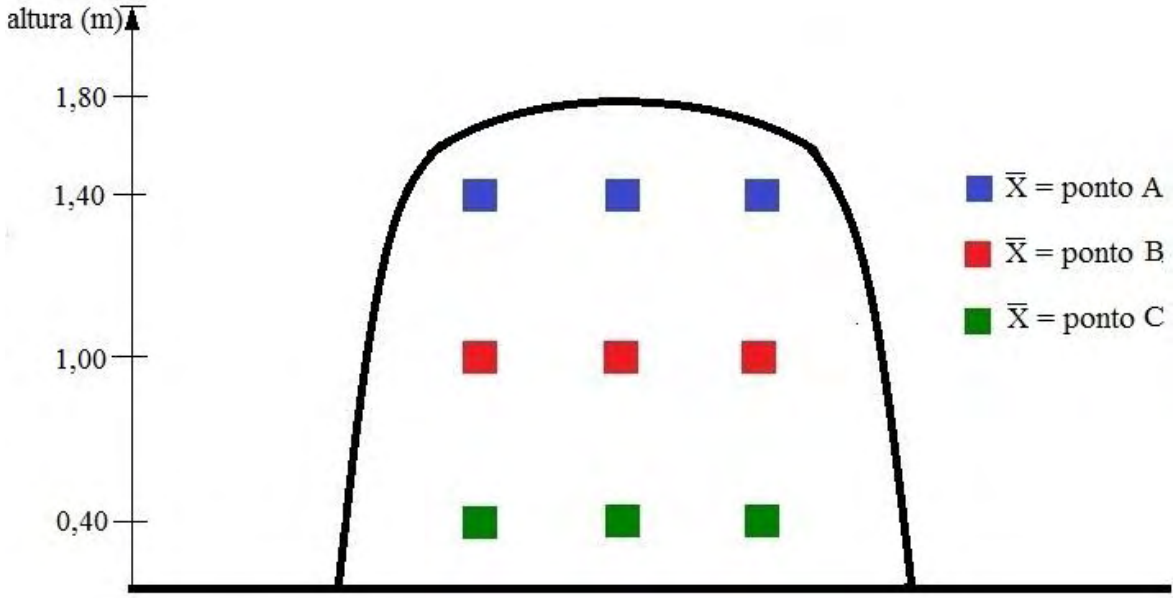


Figura 8. Metodologia de avaliação das temperaturas nos compostos clássico e sintético durante a compostagem. Foram utilizadas 3 zonas (A, B e C) e destas foram elaboradas as temperaturas médias.

5.1.7.2. Relativos à produção

5.1.7.2.1. Número de basidiomas

O número de basidiomas (NB) foi determinado diariamente durante a fase de colheita. Foram registrados o número de basidiomas por repetição e o número de fluxos para cada tratamento.

5.1.7.2.2. Produtividade (base fresca)

A produtividade (P, %) foi determinada como ao final do ciclo de cultivo, sendo o rendimento da massa fresca de basidiomas (MFB) por massa fresca de compost (MFC) no momento da inoculação através da seguinte equação:

$$\mathbf{P} = \frac{\mathbf{MFB}}{\mathbf{MFC}} * \mathbf{100}$$

P: Produtividade, %;

MFB: Massa fresca de basidiomas, g;

MFC: Massa fresca de composto no momento da inoculação, g.

5.1.7.2.3. Eficiência Biológica

A eficiência biológica (EB, %) foi determinada através da seguinte equação:

$$\mathbf{EB} = \frac{\mathbf{MFB}}{\mathbf{MSC}} * \mathbf{100}$$

Onde:

EB: Eficiência biológica, %;

MFB: Massa fresca de basidiomas, g;

MSS: Massa seca de composto no momento da inoculação, g.

5.1.8. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 5x2, correspondente a 5 linhagens e 2 tipos de compostos (Tabela 16), totalizando 10 tratamentos com 10 repetições. Cada repetição correspondeu a uma caixa contendo 13 quilos de composto, totalizando 100 caixas.

Tabela 16. Tratamentos experimentais utilizados na avaliação do experimento a campo de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* produzidas em dois tipos de suplementação nitrogenada.

Tratamentos	Linhagem de *A. bisporus*	Tipo de composto
1	ABI 05/03	Sintético
2		Clássico
3	ABI 04/02	Sintético
4		Clássico
5	ABI 06/05	Sintético
6		Clássico
7	ABI 09/10	Sintético
8		Clássico
9	ABI 09/11	Sintético
10		Clássico

5.1.9. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para tanto, utilizou-se o programa ASSISTAT 7.5 Beta desenvolvido pelo Professor Doutor Francisco de Assis Santos e Silva DEAG-CTRN-UFCG, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

5.2. Experimento II

Para o experimento *in vitro*, foram selecionados os basidiomas das cinco linhagens ao longo da produção do experimento I. Estes basidiomas apresentavam-se firmes, com aspecto sadio, sem a presença de microorganismos contaminantes ou competidores, massa elevada (acima de 30 gramas) e píleo fechado. Após a coleta dos mesmos, estes foram levados para o laboratório para o processo de isolamento.

5.2.1. Isolamento

Para realização do isolamento (Figura 9), foi aplicada a metodologia descrita por Minhoni et al. (2005).

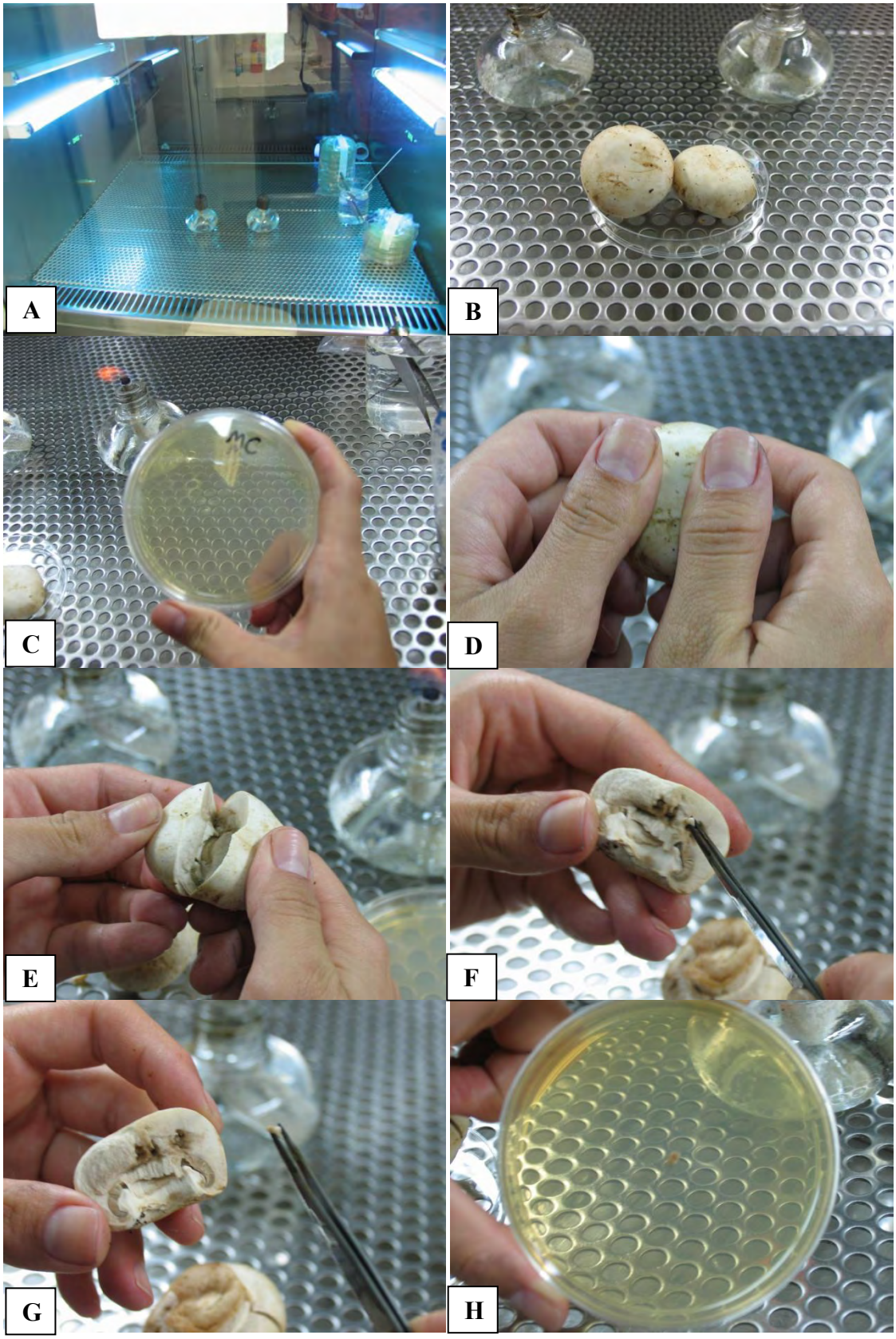


Figura 9. Procedimentos realizados para o isolamento dos basidiomas de *A. bisporus.* A. Esterilização da câmara de fluxo laminar com lâmpada UV; B. Basidiomas selecionados para o processo de isolamento; C. Placa de Petri com meio de cultura sólido CA (Composto ágar); D. Posicionamento dos dedos para partir o basidioma ao meio; E. Basidioma com pseudotecido exposto; F. e G. Retirada de pseudotecido com pinça estéril; H. Meio de cultura com inoculada com pseudotecido.

Em laboratório, cortou-se a base do estípete e realizou-se a remoção de fragmentos da camada de cobertura para evitar possíveis contaminações. A seguir, em condições assépticas em câmara de fluxo laminar, partiu-se o basidioma ao meio, com as mãos e com auxílio de uma pinça previamente flambada, retiraram-se fragmentos do pseudotecido interno. Após, estes fragmentos foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo meio de cultura sólido CA (meio de cultura confeccionado conforme item 5.1.1.1.). As placas foram vedadas com filme plástico para evitar a contaminação por ácaros além da desidratação excessiva do material. Finalmente, as placas de Petri foram incubadas a 25°C, no escuro, por 14 dias.

5.2.2. Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados no experimento *in vitro* foram BDA (Batata dextrose ágar) e CA (Composto ágar).

Meio BDA

Para confecção deste meio de cultura, inicialmente foi utilizado 150 gramas de batata descascada e fatiada em cubos para realizar a infusão do material em 1 litro de água destilada durante 10 minutos. Após, filtrou-se o extrato em peneira de malha fina e este foi transferido para um frasco de Duran (capacidade de 1 litro) e completou-se o volume para 1 litro com água destilada. O extrato foi submetido ao processo de esterilização, ou seja, autoclavou-se a 121°C durante 30 minutos e, após 24 horas, adicionou-se 18 gramas de ágar e 15 gramas de dextrose, seguido novamente de autoclavagem a 121°C durante 30 minutos. Após resfriou-se o meio de cultura até 45-50 °C. Assim preparado, o meio foi vertido em placas de Petri descartáveis previamente esterilizadas; 20ml de meio por placa, em câmara de fluxo laminar.

Meio CA

Para confecção deste meio de cultura seguiu-se os procedimentos do item 5.1.1.1., matriz primária.

5.2.3. Inoculação

Para o processo de repicagem e inoculação dos meios de cultura (Figura 10) seguiu-se os procedimentos do item 5.1.1.1., matriz secundária.

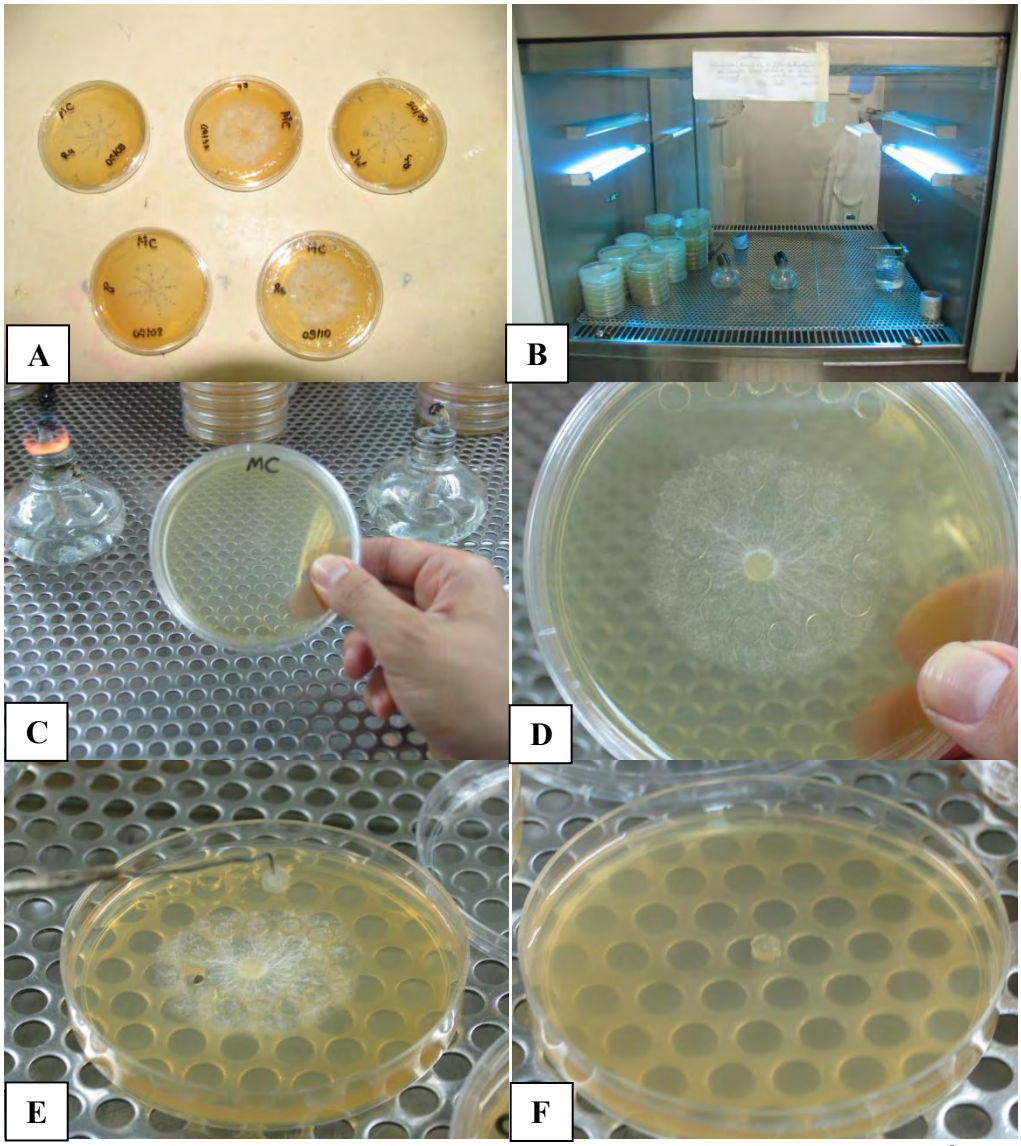


Figura 10. Procedimentos realizados para a repicagem das matrizes primárias de *A. bisporus* A. Matrizes primárias selecionadas para o processo de repicagem B. Esterilização da câmara de fluxo laminar com lâmpada UV; C. Placa de Petri com meio de cultura sólido CA (Composto ágar); D. Furação com vazador de 5mm para fragmentação do micélio; E. Coleta dos discos com micélio a serem inoculados; F. Inoculação no meio de cultura sólido.

5.2.4. Incubação e avaliação do crescimento

Após a inoculação e vedação das placas, estas foram transferidas para uma incubadora tipo BOD (Biologic Oxygen Demand), a 25°C, intervalos de 48 horas

foram realizadas as avaliações de crescimento micelial, marcando-se 8 marcas pontuais diametralmente opostas em sua parte inferior, no limite do crescimento micelial. A leitura ocorreu até que em um dos tratamentos, o micélio de *A. bisporus* atingisse ¾ da placa.

Com este tipo de leitura, foram obtidos oito valores correspondentes ao crescimento radial do fungo, em milímetros. Estes valores foram posteriormente transformados em uma média, as quais foram utilizadas para comparar os resultados obtidos entre os tratamentos.

5.2.5. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 5x2, correspondente a 5 linhagens de *A. bisporus* e 2 tipos de meio de cultura sólido (Batata dextrose ágar e Composto ágar). No total foram 10 tratamentos com 5 repetições. Cada repetição correspondeu à uma placa de Petri, totalizando 50 (Tabela 17).

Tabela 17. Tratamentos experimentais utilizados na avaliação do experimento *in vitro* de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* produzidas em dois tipos de meio de cultura.

Tratamentos	Linhagem de *A. bisporus*	Meios de cultura
1	ABI 05/03	BDA
2		CA
3	ABI 04/02	BDA
4		CA
5	ABI 06/05	BDA
6		CA
7	ABI 09/10	BDA
8		CA
9	ABI 09/11	BDA
10		CA

5.2.6. Análise estatística

Foram utilizados modelos de regressão não linear, com o objetivo de modelar o crescimento micelial de *A. bisporus.* Após selecionado o modelo segundo Montini (2002), foi realizada a análise de variância não paramétrica, referente aos parâmetros do modelo de crescimento, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis. Nos casos em que existiram diferenças significativas, foram aplicados o teste de Student-Newman-Keuls (SNK) em nível de 5% de probabilidade e estimada a velocidade de crescimento instantânea pela primeira derivada da equação ajustada. Para tanto, utilizou-se o programa ASSISTAT 7.5 Beta desenvolvido pelo Professor Doutor Francisco de Assis Santos e Silva DEAG-CTRN-UFCG, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

6. RESULTADOS E DISCUSÃO

6.1. Experimento I

6.1.1. Relativos às Fases I e II de compostagem

Neste item serão discutidos os resultados a respeito das fases I e II de compostagem. É necessário frisar que a compostagem foi dividida em duas etapas. No período de 1 a 6 foi realizado o pré-umedecimento e mistura dos materiais volumosos; no período de 7 a 17 dias, ocorreu a compostagem (Fase I) propriamente dita. Como existem vários métodos de preparo e manejo do composto descritos na literatura, optou-se por avaliar a compostagem a partir do momento em que a água foi adicionada aos materiais, pois neste momento ocorre aumento da temperatura do composto, uma demonstração do início da atividade microbiana. Desta forma, a leitura das variáveis do composto iniciou-se a partir do pré-umedecimento (Tabela 18).

Observando os parâmetros avaliados durante o processo de compostagem, exceto para a temperatura e perda de massa fresca durante FII, nota-se que os valores obtidos de F através da análise de variância não apresentam diferença estatística significativa entre si em relação aos compostos clássico e sintético. A similaridade entre os valores pode ser justificada pelo fato de ambos os compostos possuírem os mesmos materiais volumosos na sua constituição, diferindo-se somente em relação a suplementação nitrogenada. Segundo Flegg e Randle (1980) e Randle e Smith (1986), a natural variabilidade do processo de compostagem dificulta o estabelecimento de diferenças significativas em experimentos com compostos para cogumelos, pois

os resultados levam a um elevado erro padrão, e normalmente, as médias não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 18. Parâmetros avaliados durante o processo de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento.

Parâmetros	Dia						
	3	4	6	12	14	17	32
	Composto sintético[a]						
Temperatura, °C	25	38	29	64	59	63	25
Umidade, %	75,95	78,16	80,49	77,4	75,32	73,56	66,7
pH	6,27	6,13	6,25	7,32	6,4	6,5	6,61
Matéria orgânica, %	86,94	88,2	86,94	73,98	73,08	57,06	48,96
Carbono, %	48,3	49	48,3	41,1	40,6	31,7	30,2
Nitrogênio, %	0,56	0,97	1,5	1,47	1,7	1,72	1,78
Relação C:N	86	50	32	28	24	19	16
	Composto clássico[b]						
Temperatura, °C	38,3	39,7	33,5	67,7	62,7	67,5	25
Umidade, %	77,48	80,63	79,16	73,11	76,13	74,97	68,1
pH	6,38	6,07	6,23	6,93	6,88	7,1	6,8
Matéria orgânica, %	86,94	87,84	88,92	73,08	66,06	55,08	54,36
Carbono, %	48,3	48,8	49,4	40,6	36,7	30,6	27,2
Nitrogênio, %	0,49	0,7	1,11	1,47	1,6	1,77	1,81
Relação C:N	99	70	45	28	23	18	17

Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

O início do processo de compostagem, marcado pela adição dos suplementos nitrogenados, demonstra uma tendência a maiores temperaturas para o composto clássico com a adição do esterco de frango. Durante a adição dos suplementos nos compostos, foi observado previamente que a distribuição do esterco no composto clássico, no 7° dia de compostagem, obteve maior homogeneidade dos materiais em relação composto sintético devido à quantidade superior de materiais adicionados. Ao longo do processo, os compostos clássico e sintético obtiveram temperaturas médias de 62,6 e 56,2°C, respectivamente, onde o composto clássico obteve temperatura média 10,56% superior ao sintético (Tabela 18). Adams e Frostik (2008), avaliando diversos parâmetros durante o processo de compostagem, afirmam que as temperaturas ideais durante 14 dias de compostagem variam entre 65 a 75°C. Peil et al. (1996) avaliando compostos à base de palha de arroz e palha de trigo, obtiveram temperaturas médias entre o 4° ao 14° dia de compostagem de 64-67°C e 60-62°C, respectivamente. Van Griesven

(1988) afirma que o aumento da temperatura (Figura 11) no interior da leira de compostagem no decorrer do processo esta intimamente relacionado com a atividade microbiana no composto, ocasionando redução da massa seca (Figura 12), redução da massa fresca (Figura 13), redução do pH (Figura 14), redução da matéria orgânica (Figura 15), e redução da relação C:N ao consumo do carbono (Figura 16).

Segundo Derikx et al. (1989), a qualidade elevada do composto é obtida quando este sofre uma compostagem intensa, com alto teor de oxigênio e temperaturas de 75 a 80°C.

Delatorre et al. (2010), avaliando enzimas de microorganismos termófilos em processos industriais, observou que temperaturas mais elevadas favorecem a solubilidade, aumentam as taxas de reação e adicionalmente fazem com que a velocidade da reação seja aumentada, necessitando de uma quantidade menor de enzimas, pois um aumento de 10°C na temperatura promove um aumento de aproximadamente 2 vezes na velocidade da reação. Fazendo uma analogia com o processo de compostagem, caracterizado pela atividade de microorganismos termófilos, supostamente temperaturas mais elevadas caracterizam atividade enzimática elevada e conseqüente atividade microbiana elevada.

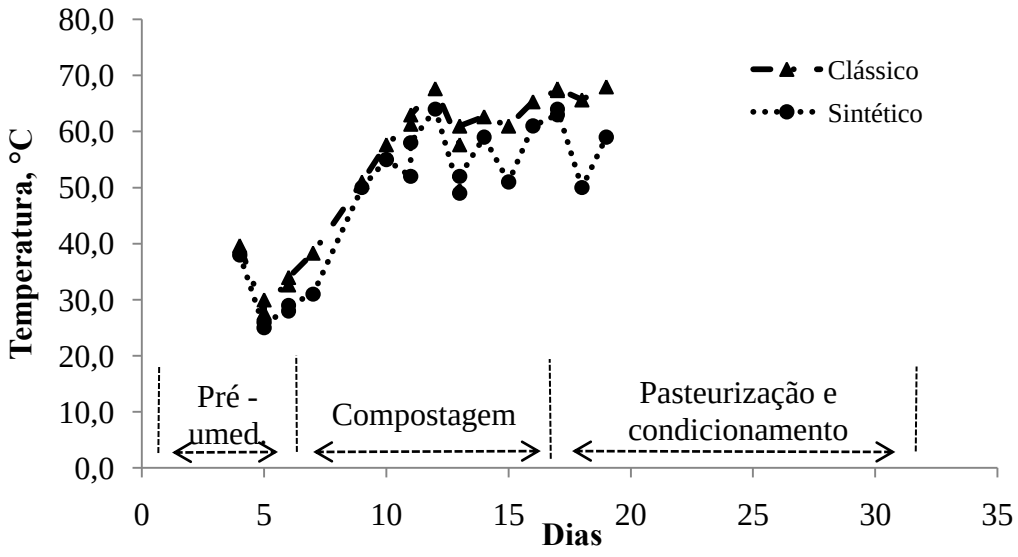


Figura 11. Dinâmica da temperatura (°C) dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umidecimento e compostagem.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

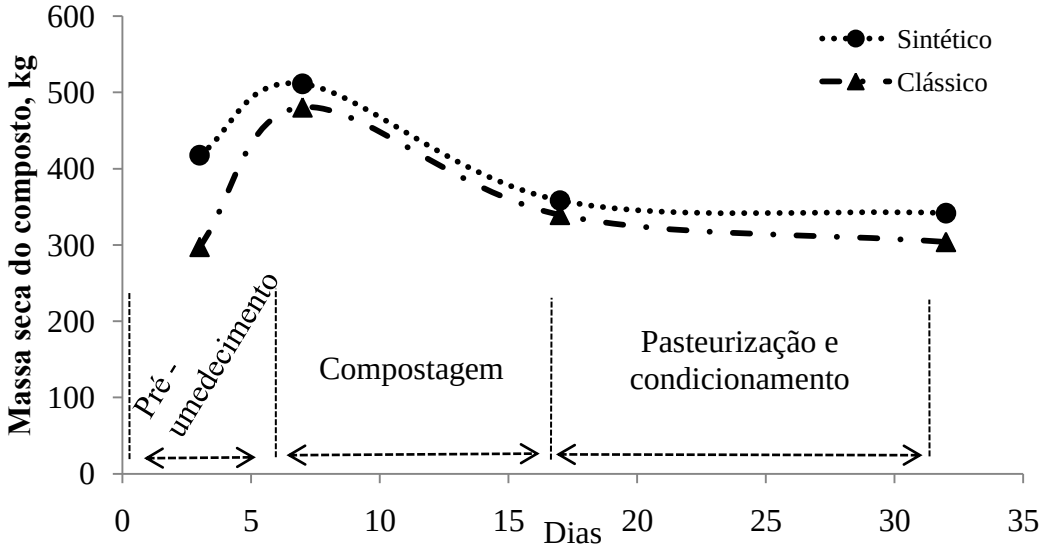


Figura 12. Dinâmica da dispersão dos valores de massa seca dos compostos clássico e sintético, nos estágios de pré-umedecimento, no início da compostagem, no início da pasteurização e no momento da inoculação.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

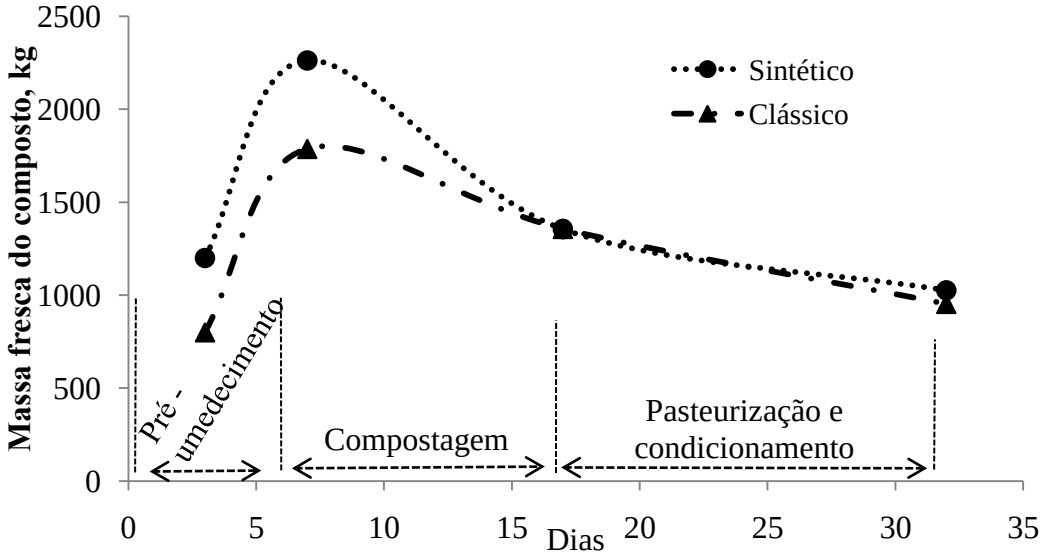


Figura 13. Dinâmica da dispersão dos valores de massa fresca dos compostos clássico e sintético, nos estágios de pré-umedecimento, no início da compostagem, no início da pasteurização e no momento da inoculação.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

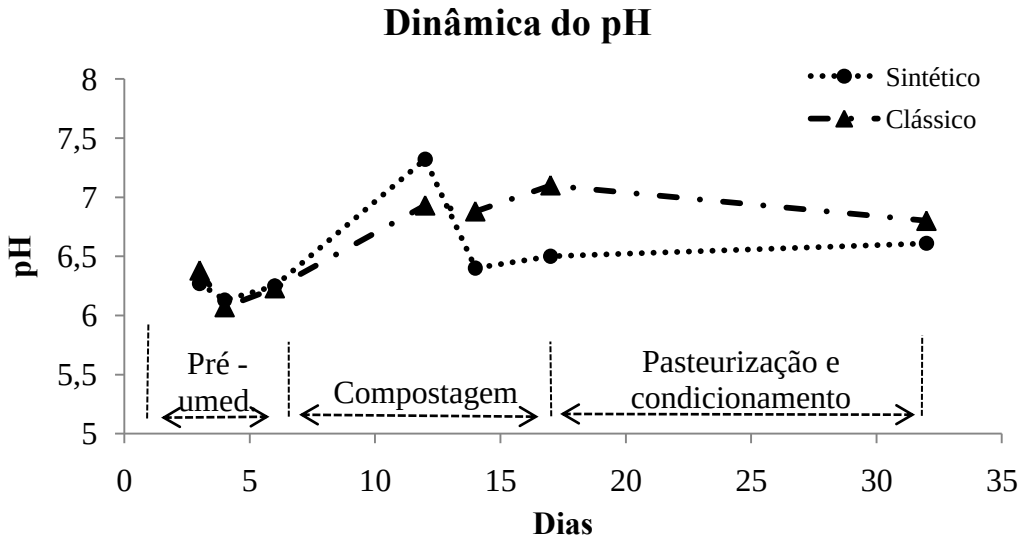


Figura 14. Dinâmica do pH dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

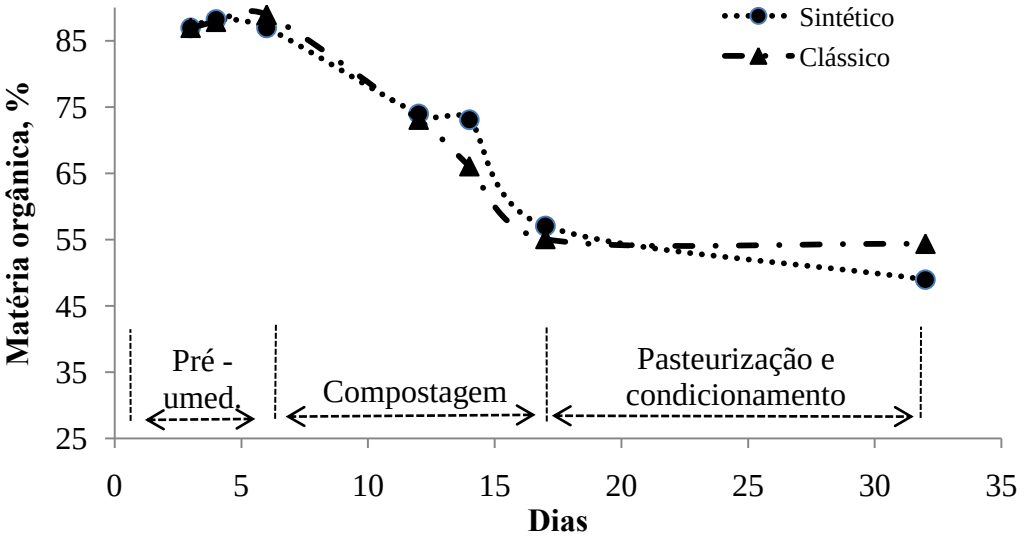


Figura 15. Dinâmica da matéria orgânica (em porcentagem) dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

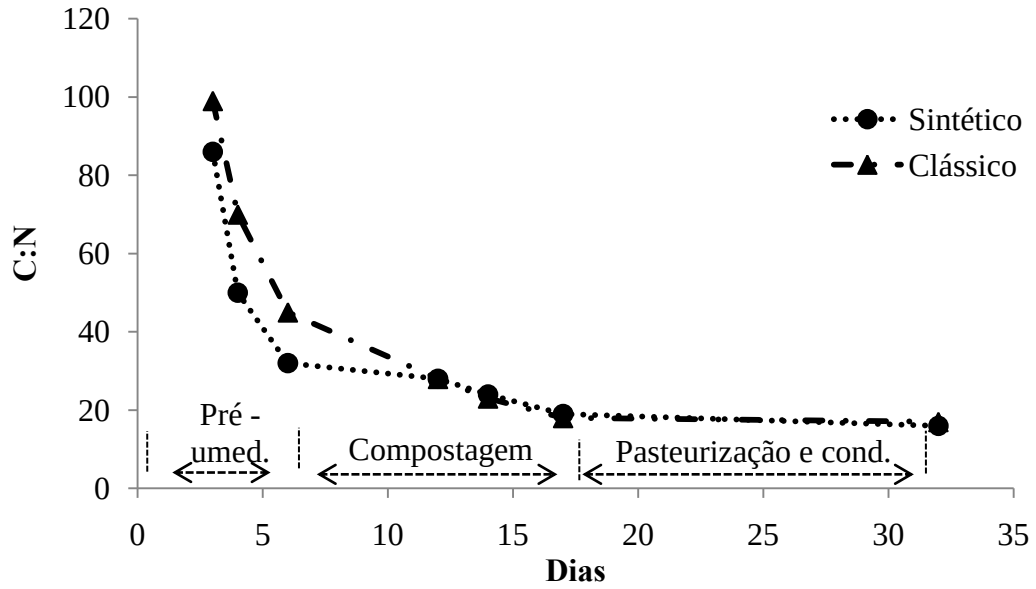


Figura 16. Dinâmica da relação C:N dos compostos clássico e sintético durante os períodos de pré-umedecimento, compostagem, pasteurização e condicionamento.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Como existe uma grande variação em relação a escolha dos materiais utilizados no processo (a demanda de oxigênio durante a compostagem é muito alta porque os microrganismos crescem rapidamente pela liberação de nutrientes solúveis da matéria vegetal, utilizando todo oxigênio disponível no composto em aproximadamente três horas), esta é passível de alterações devido ao fato de possuir controle parcial, de modo que a temperatura no composto pode sofrer grandes variações, ou seja, entre 20-80 °C (DERIKX et al., 1990).

A massa fresca do composto demonstrou padrão semelhante ao da massa seca, em relação à redução, após o início da FI, explicado pelo fato da umidade de todos os materiais apresentarem para o composto clássico e sintético os valores respectivamente de 79,16% e 80,49%.

Após a fragmentação dos compostos em caixas, entre o início e final da FII, foi possível proceder análise estatística e avaliação da perda de massa dos compostos. O valor de F para a interação dos compostos (clássico e sintético) foi de 102.8345, significativo a 1% (Tukey) (Tabela 19). A perda de massa média para o composto clássico foi 13,29% superior à do composto sintético. Van Griesven (1988)

afirma que a perda de massa está intimamente relacionada com a atividade dos microorganismos no interior do composto.

Tabela 19. Valores de F obtidos na análise de variância, através do teste de Tukey 5%, dos teores de carbono, nitrogênio, pH, matéria orgânica, umidade e temperatura durante as fases FI e FII dos compostos clássico e sintético.

Fator de variação	Valor de F
Realção C:N	0.1846 ns
Carbono	0.0025 ns
Nitrogênio	0.1669 ns
pH	0.3765 ns
Matéria orgânica	0.0025 ns
Umidade	0.0155 ns
Temperatura[a]	10.5603 **
Perda de massa fresca durante FII[b]	102.8345 **

** significativo ao nível de 1%, ns não significativo
a. consultar item 5.1.9.1.2.; b. consultar item 5.1.9.1.3.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Van Griesven (1988), avaliando fontes de nitrogênio no composto, obteve resultados satisfatórios utilizando-se fontes orgânicas, como o esterco de galinha. A uréia e outras fontes inorgânicas de nitrogênio como o sulfato de amônia podem resultar em níveis elevados de amônia no composto. Neste caso, existe fonte reduzida de carbono decomposto prontamente assimilável, e conseqüentemente a microbiota presente no composto não é capaz de incorporar rapidamente estes nutrientes. A relação C:N ideal é temporariamente afetada pela concentração elevada de N disponível. Em seguida é liberada amônia gradualmente através da matéria orgânica decomposta pela microbiota, através da amonificação, e esta amônia pode ser fixada novamente pela microflora, mas parte dela é liberada na atmosfera, ocasionando em maior concentração de nitrogênio no composto, reduzindo a relação C:N e reduzindo os níveis de amônia.

De certa forma, o método de armazenamento do farelo de soja, contribuiu para a redução da comunidade microbiana nativa inicial existente no material, ao contrário do esterco de galinha, o qual foi armazenado em ambiente coberto e temperatura natural desde a retirada da granja.

As quantidades de matéria orgânica e nitrogênio orgânico disponíveis superiores, a quantia de suplemento nitrogenado adicionado ao composto

clássico ocasionando maior homogeneidade dos materiais devido a distribuição mais efetiva dos insumos além da integridade da comunidade microbiana indígena presentes no esterco de galinha, podem ter contribuído para o aumento da atividade da microbiota do processo de compostagem, gerando temperaturas superiores para o composto clássico e maior perda de massa.

A importância de atingir temperaturas ideais durante o processo de compostagem está intimamente relacionada com os níveis de NH_3 no momento da inoculação. Níveis acima de 10 ppm são prejudiciais ao micélio de *A. bisporus* (OEI, 2003). O olfato humano é capaz de detectar níveis de amônia a partir de 50 ppm, portanto sem a utilização de instrumento específico como a "Bomba Dräger" não é possível realizar uma avaliação empírica quando os níveis estão abaixo deste valor. No momento da inoculação foi observado que o composto sintético estava com odor sutil de amônia e pelo fato de não possuir o equipamento específico não foi possível aferir o valor real dos níveis de amônia no momento da inoculação. No entanto, pode-se concluir que os níveis de amônia estavam acima de 50 ppm e talvez não foi suficiente o tempo de compostagem e/ou condicionamento para o composto sintético, assim podendo possivelmente afetar a produtividade, início da produção, número dos basidiomas e a massa fresca de cogumelos.

No início da fase I os teores de matéria orgânica não diferem entre os compostos, porém, no final da fase II o teor de matéria orgânica para o composto sintético (48,96%) foi menor em relação ao composto clássico (54,36%). Adams e Frostik (2008) constataram que, em contraste com as demais variáveis, a matéria orgânica no composto deve reduzir como resultado da bioconversão da matéria orgânica durante o processo de compostagem. No presente, o conteúdo de matéria orgânica reduziu-se até o 15º dia, comportamento típico de processos de compostagem (PARADES et al., 2000; GARCÍA; et al., 2003).

Não houve variação nas temperaturas dos compostos durante a FII por que ambos foram submetidos a tratamento térmico em ambiente com temperaturas homogêneas e para tanto a dinâmica da temperatura de pasteurização e condicionamento dos compostos está ilustrada na Figura 17.

Para a Fase II, os teores de N nos dois compostos também não apresentaram diferença; porém, observa-se uma tendência de maior valor para o composto clássico (1,81%) em relação ao composto sintético (1,78%) (Tabela 18).

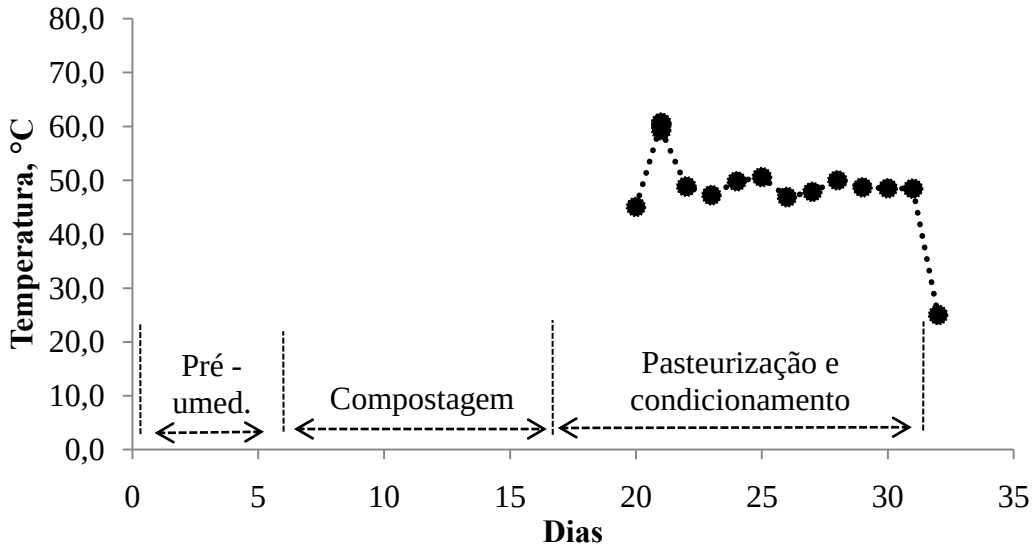


Figura 17. Temperatura média dos compostos (clássico e sintético) durante o processo de pasteurização e condicionamento. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

O pH dos compostos nas Fases I e II é bastante relacionado com a composição dos ingredientes. Adams e Frostik (2008) obtiveram valores de pH entre o início e final da Fase I e início da Fase II de 7,17, 7,90 e 7,20, respectivamente. Esta elevação seguida de redução no pH é um fato comum em compostos clássicos, os quais são comumente preparados com "camas" de animais em grandes proporções nas suas formulações e, portanto, com o pH inicial dos compostos elevado. No presente trabalho contatou-se que o apesar de não ter ocorrido diferenças significativas do pH, o composto sintético tendeu a valor mais elevado, podendo ser justificado por erro de amostragem.

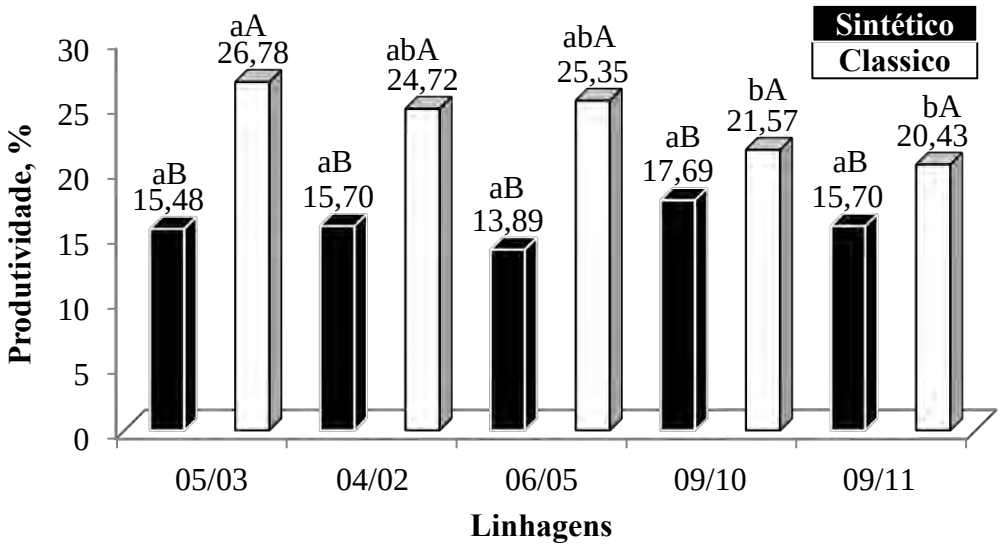
No compostos clássico e sintético conduzidos no experimento nota-se uma tendência de valores inferiores no pH. Segundo Kopytoswki Filho (2006) para os compostos produzidos no Brasil, estes índices devem-se, em grande parte, à adição de grandes quantidades de bagaço de cana-de-açúcar (> 60% na base seca) e gesso nas formulações dos compostos, os quais, na maioria das vezes, ao final da Fase II, apresentam pH inferior a 7,0.

6.1.2. Relativos à produção

A avaliação das variáveis da produção foi conduzida em 25 dias e foi marcada por 3 fluxos de produção. O comportamento das linhagens de *A. biposrus* variou com os fluxos de produção de acordo com o efeito do tipo de composto, da linhagem do fungo ou conforme a interação entre este dois fatores. Houve tendencia de produtividades, número e massa fresca de basidiomas e eficiência biológica superiores para o composto clássico (Figuras 18 a 22).

Ao final dos 25 dias de produção, as maiores produtividades foram observadas nas linhagens ABI-05/03, ABI-06/05 e ABI-04/02 produzidas no composto clássico sendo 26,78, 25,34 e 24,71%, respectivamente, não diferindo estatísticamente entre si, seguidas por ABI-09/10 e ABI-09/11 sendo 21,56 e 20,43%, respectivamente (Figura 18). Através da análise de variância obteve-se o valor de F para o composto de 97,62 e para interação composto x linhagem o valor de F de 3,85, ambos significativo a 1% de probabilidade através do testes de Tukey (Tabela 20). O comportamento da produtividade das linhagens ABI-09/10, ABI-09/11, ABI-04/02, 05/03 e ABI-06/05 produzidos no composto sintético foram: 17,69, 15,70, 15,70, 15,47 e 13,88%, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre as linhagens cultivados no composto sintético. Observando os dados obtidos das médias gerais dos tratamentos ao longo da produção, o composto clássico obteve produtividade e massa fresca de basidiomas 33,96% superior em relação ao composto sintético (Figuras 18 e 19).

Comparando os resultados obtidos no trabalho com outros autores, Andrade et al. (2008) aviliando o efeito de três formulações de composto na produção de quatro linhagens de *A. bisporus* obteveram diferença significativa para a produtividade tanto em relação ao tipo de composto quanto à linhagem utilizada. As linhagens ABI-06/04, ABI-01/01 e ABI05/03 obtiveram as maiores produtividades sendo 18,0, 15,5 e 15,4%, respectivamente. No experimento anteriormente citado, a suplementação nitrogenada dos compostos baseava-se em farelo de soja e uréia, semelhante a suplementação utilizada no composto sintético, além do mais nota-se que os maiores valores de produtividade obtidos por Andrade et al. (2008), são parecidos com os valores obtidos de produtividade do composto sintético.



DMS para colunas = 5.0916 DMS para linhas = 3.6313

*letra minúscula significa comparação entre as linhagens em um mesmo composto; letra maiúscula significa comparação entre os compostos para uma mesma linhagem.

Figura 18. Produtividade acumulada (em porcentagem) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MG = 19,73; CV (%) = 20,71. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Tabela 20. Valores de F obtidos das análises de produtividade, massa fresca total de basidiomas, número de basidiomas e eficiência biológica (referênte a 25 dias de produção) de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético.

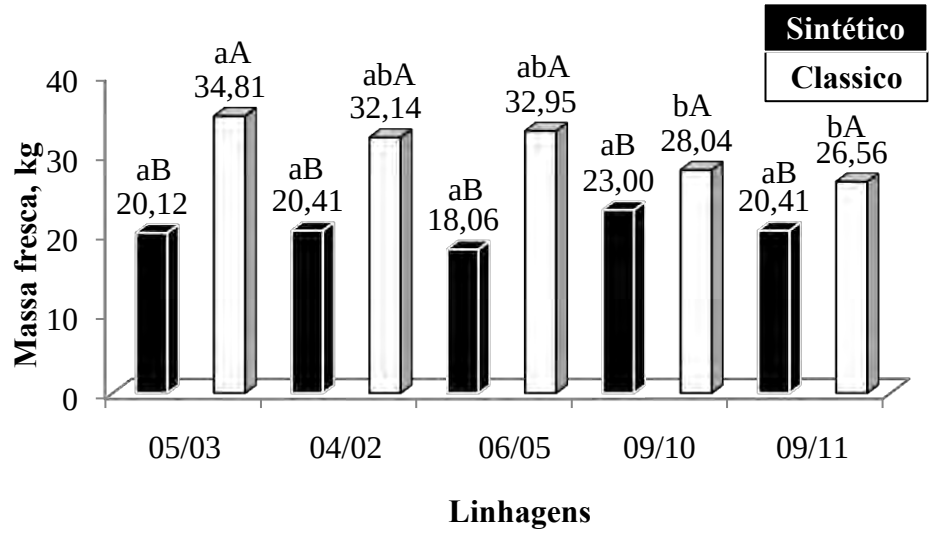
Fator de variação	Produtividade	Massa fresca	Número de basidiomas	Eficiência biológica
Linhagem (L)	1.4898 ns	1.4898 ns	1.9537 ns	1.5423 ns
Composto (C)	97.6232 **	97.6232 **	101.8920 **	114.3005 **
L x C	3.8591 **	3.8591 **	5.9352 **	3.9075 **

** significativo ao nível de 1%, ns não significativo

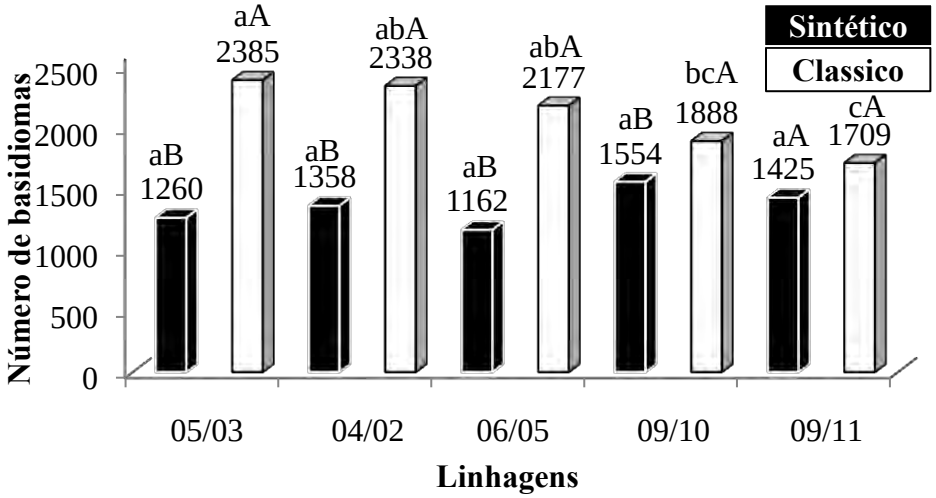
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Gibbons (1991) avaliando a produção de *A. bisporus* utilizando diferentes tipos de "semente", quantidades de inóculo e materias primas para confecção de composto sintético, obteve as maiores produtividades de 19,6, 18,5 e 18,2%. Noble e Gaze (1995) obtiveram resultados semelhantes avaliando o efeito de dois tipos de compostos (1.

composto convencional; 2. composto convencional, 18% + composto exaurido de *A. bisporus*, 82%) não apresentando diferença significativa nas médias de produtividade, sendo 20,9 e 20,7%, respectivamente.



DMS para colunas = 661.9046 DMS para linhas = 472.0690



DMS para colunas = 46.0523 DMS para linhas = 32.8444

*letra minuscula significa comparação entre as linhagens em um mesmo composto; letra maiuscula significa comparação entre os compostos para uma mesma linhagem.

Figura 19. Massa fresca (em quilos) e número de basidiomas acumulados das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Massa fresca de basidiomas, MG = 25,65; CV (%) = 20,71; número de basidiomas, MG = 1726; CV (%) = 21,41. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

As maiores médias alcançadas no composto clássico em relação a massa fresca total de basidiomas ao final dos 25 dias de produção foram das linhagens ABI-05/03, ABI-06/05 e ABI-04/02 sendo 34,81, 32,94 e 32,13 kg, respectivamente, não se diferindo estatísticamente entre si. Já para o conposto sintético não foi verificado diferenças significativas de médias de massa fresca entre as linhagens. Comparando o composto sintético com o clássico, verificou-se que para todas as linhagens o composto clássico proporcionou as maiores médias de massa fresca (Figura 20). As linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11, cultivados no composto clássico, apresentaram massa fresca de basidiomas 31,15, 39,88, 38,48, 36,32 e 37,41%, respectivamente, superiores ao composto sintético (Figuras 19 e 20).

Weil et al. (2006), utilizando composto tradicional da região à base de cama, avaliaram a influência na produção de *A. bisporus* com diferentes concentrações de manganês (Mn) no composto no momento da inoculação e concluiram que aplicando Mn nas concentrações de 186 e 276 mg kg^{-1} e um fertilizante químico cormercial (Micromax 7350 mg kg^{-1}) ocorreu aumento na massa fresca total de basidiomas de 10,0%, 11,7% e 18,3%, respectivamente, em relação ao controle. Analisando os resultados obtidos das análises de macro e micronutrientes do esterco de frango e farelo de soja (Tabela 12) nota-se que a concentração de Mn presente no esterco de galinha é cerca de 490% superior em relação ao farelo de soja, assim sendo, tais valores podem ter contribuído significativamente na produção do composto clássico.

Nas Tabela 20, tem-se os valores de F demonstrando comportamento similar para massa fresca total e número de basidiomas, ambos significativos a 1% para o tipo de composto e a interação linhagem x composto, tendendo para produtividade elevadas para o composto clássico. Para massa fresca, os valores de F para os compostos e interação linhagem x composto são respectivamente 97,62 e 3,85, seguindo o mesmo padrão da produtividade e para número de basidiomas, valores de F do composto e da interação de 101,89 e 5,93, respectivamente.

Na Figura 21 tem-se os gráficos demonstrando o comportamento similar das linhagens de *A. bisporus* com tendência a maior número de basidiomas para o composto clássico em relação ao composto sintético. As linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11, cultivadas no composto clássico, apresentaram número de basidiomas total: 46,87, 41,91, 46,62, 17,69 e 16,61%, respectivamente, superiores ao composto sintético. Analisando os resultados obtidos das médias gerais dos

tratamentos, o composto clássico obteve número e massa fresca de basidiomas 35,54 e 33,95%, respectivamente, superior em relação ao composto sintético.

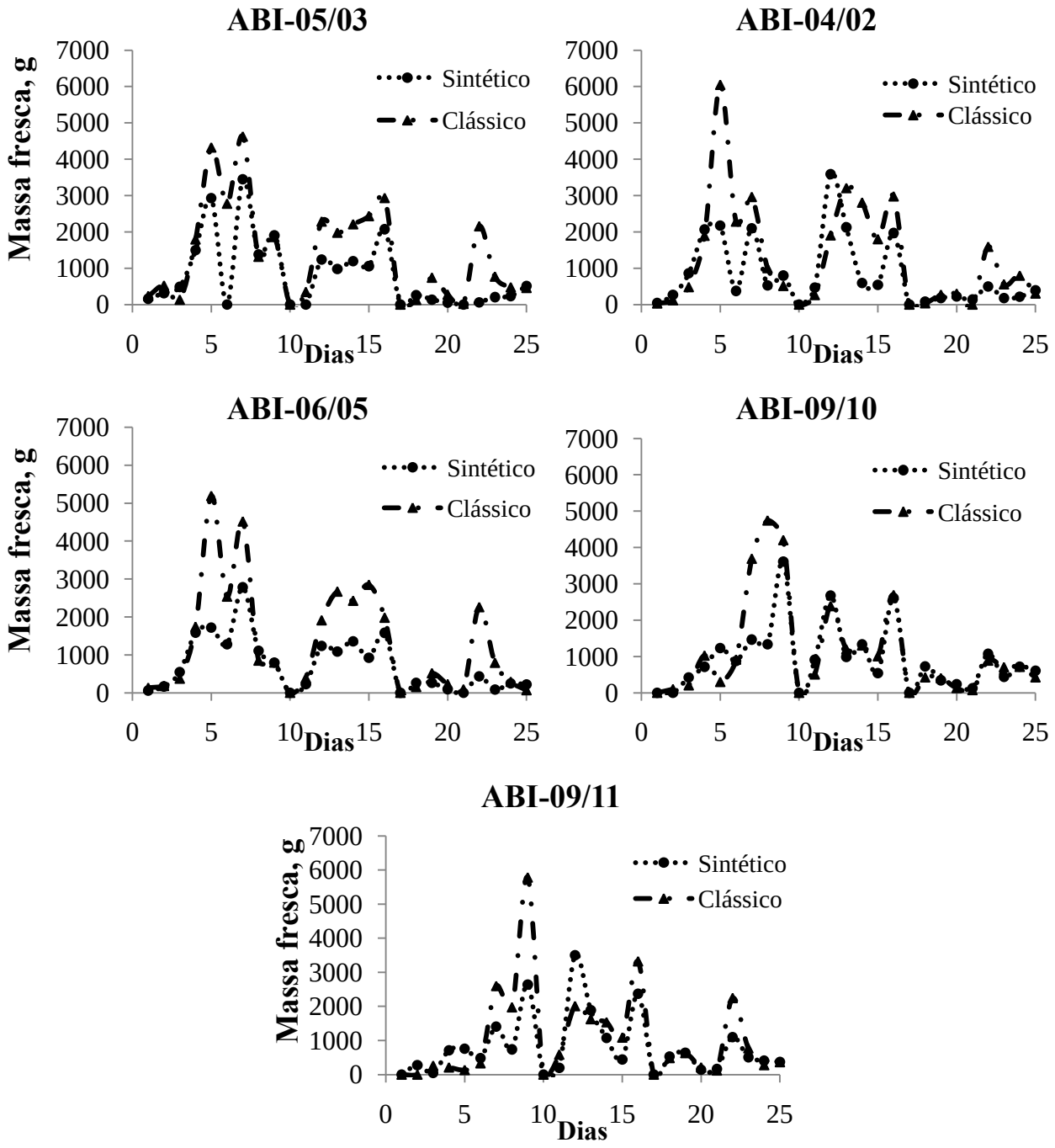


Figura 20. Massa fresca acumulada (em gramas) das linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

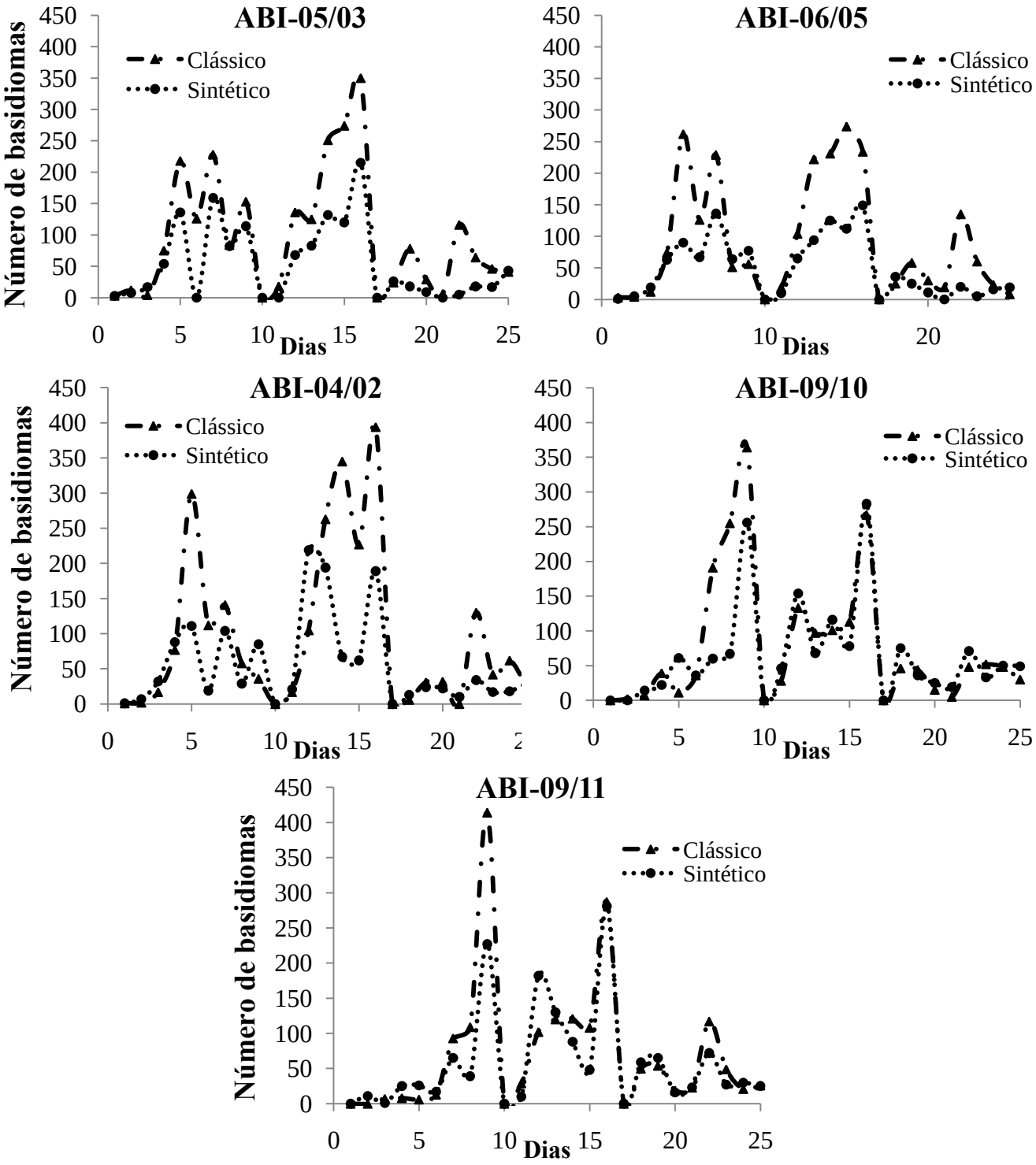
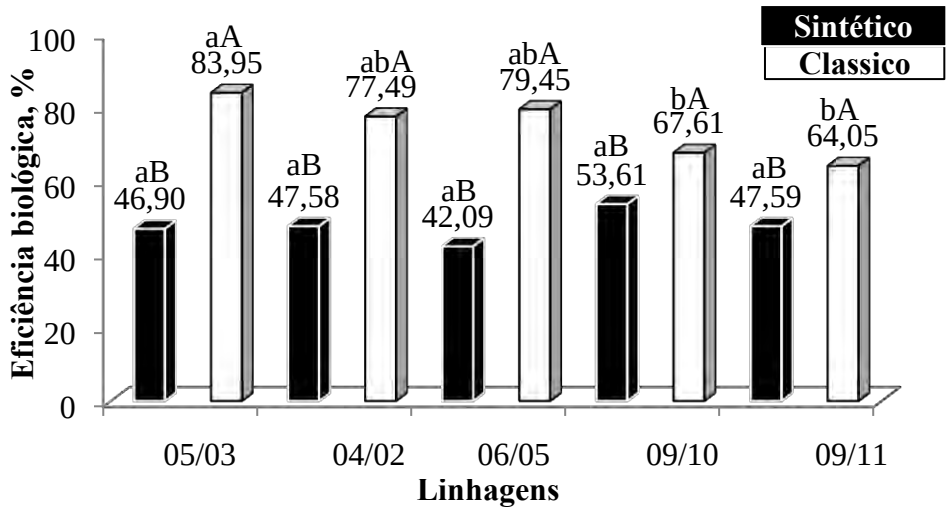


Figura 21. Número de basidiomas acumulados das linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção.
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Os valores de eficiência biológica obtiveram comportamento similar em relação à produtividade, massa fresca e número de basidiomas total, onde as linhagens ABI-05/03, ABI-06/05 e ABI-04/02 (83,95, 79,45 e 77,49%, respectivamente) obtiveram as maiores médias quando cultivadas no composto clássico (Figura 22). Com base nos resultados obtidos das médias gerais dos tratamentos, o composto clássico obteve eficiência biológica 33,96% superior em relação ao composto sintético. Estes resultados estão de acordo com Royse et al. (2008), avaliando o efeito da suplementação do composto *A. bisporus* após o primeiro e segundo fluxo de produção, obteve valores de eficiência biológica ao final de 3 fluxos de produção variando entre 85,2 e 95,1%.



DMS para colunas = 15.7063 DMS para linhas = 11.2017

*letra minuscula significa comparação entre as linhagens em um mesmo composto; letra maiuscula significa comparação entre os compostos para uma mesma linhagem.

Figura 22. Eficiência biológica (em porcentagem) acumulada das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético ao final de 25 dias de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MG = 61.03; CV (%) = 21,65.

Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Royse e Chalupa (2009) cultivando *A. bisporus* em composto formulado por palhas picadas, 2% de cal hidratada e adicionado suplementos comerciais no momento da inoculação (9%) e no momento da adição da camada de cobertura (9-12%) obtendo eficiencia biológica de 92 e 99%, respectivamente, porém citam que tais

resultados são comparados a produtividades obtidas em agroindustrias na América do Norte, com alto nível tecnológico. O mesmo autor afirma que avaliações realizadas anteriormente por outros autores em salas adjacentes e com ambiente de produção similar obteve resultado mais elevado de eficiência biológica de 83,6%, com 3 fluxos de produção em composto suplementado no segundo fluxo com nutriente de liberação controlada.

Sanchez et al. (2008), utilizando composto à base de capim pangola com diferentes fontes de cálcio e pré-colonizado com *Scytalidium thermophilum* para a produção de *A. bisporus*, obteve maior valor de eficiência biológica de 48%, porém o objetivo dos autores foi de testar a possibilidade da utilização deste capim para confecção de composto para *A. bisporus*, e como o capim foi suplementado somente com fontes de cálcio e pré-colonizado por um fungo termófilo, no momento da inoculação a relação C:N dos compostos estava em torno de 36,3:1, sendo que a relação C:N ideal para compostos de Champignon no momento da inoculação varia entre 14-19:1 (LABORDE et al., 1993).

Na Tabela 21 foi analisado os valores de F entre os fluxos de produção para os valores de produtividade, massa de basidiomas, número de basidiomas e eficiência biológica. No 1° fluxo de produção, é possível observar os valores de F são significativos para as linhagens e compostos a 1% de probalidade através do teste de tukey para produtividade, eficiência biológica e massa fresca de basidiomas, somente apresentando significância a 5% de probabilidade em relação ao número de basidiomas para as linhagens, enquanto que para estas variáveis, não houve efeito da interação linhagem x composto. No 2° fluxo de produção, ocorreu comportamento diferentes para os valores de F de eficiência biológica, número e massa de basidiomas, e produtividade houve com efeito dos compostos e a interação linhagem x composto significativos a 1% de probabilidade, enquanto não mostrou diferença significativa para o efeito das linhagens. No 3° fluxo de produção, foi possível observar o efeito significativo (1% de probabilidade) dos valores de F para as linhagens, compostos e a interação linhagem x composto na massa fresca e número de basidiomas, produtividade e eficiência biológica.

No primeiro fluxo de produção as linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11 cultivadas no composto clássico apresentaram massa fresca de basidiomas 31,15, 39,88, 38,48, 36,32 e 37,41%, respectivamente, superiores ao composto sintético (Tabela 23). Para as médias gerais de produtividade e eficiência biológica, para o composto clássico foram 36,51% e 39,13%, respectivamente, superiores em relação ao composto sintético (Tabelas 22 e 25).

Tabela 21. Valores de F obtidos na análise de variância da massa fresca e número de basidiomas durante os 3 fluxos de produção de cinco linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético.

Fator de variação	Produtividade		
	1° Fluxo	2° fluxo	3° fluxo
Linhagem (L)	5.2392 **	1.5827 ns	6.2556 **
Composto (C)	46.8841 **	29.8687 **	52.6479 **
L x C	0.2015 ns	4.3743 **	7.8866 **
	Massa fresca		
Linhagem (L)	5.2392 **	1.5827 ns	6.2556 **
Composto (C)	46.8841 **	29.8687 **	52.6479 **
L x C	0.2015 ns	4.3743 **	7.8866 **
	Número de basidiomas		
Linhagem (L)	2.6601 *	1.5827 ns	2.7880 **
Composto (C)	39.1277 **	29.8687 **	32.6830 **
L x C	0.2801 ns	4.3743 **	8.1733 **
	Eficiência biológica		
Linhagem (L)	5.3248 **	1.5781 ns	6.0079 **
Composto (C)	56.9368 **	37.9566 **	61.2236 **
L x C	0.2367 ns	4.3437 **	7.6227 **

** significativo ao nível de 1%, * significativo ao nível de 5%, ns não significativo
Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

No segundo fluxo, as linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11 cultivados no composto clássico apresentaram massa fresca de basidiomas 47,08, 28,33, 47,38, 0,33 e 6,69%, respectivamente, superiores ao composto sintético. As linhagens ABI-09/10 e ABI-09/11 apesar de apresentarem valores superiores para o composto clássico, porém não se diferiram estatísticamente para o composto sintético. Foi possível observar comportamento similar em relação ao primeiro fluxo, tendendo a maior número de basidiomas total para as linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11 cultivados no composto clássico apresentando valores: 46,37, 24,04, 47,34, 0,28 e 6,65%, respectivamente, superiores ao composto sintético (Tabela 24).

Tabela 22. Produtividade (em porcentagem) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 9,52; CV (%) = 32,57; para o 2° Fluxo, MG = 7,49; CV (%) = 29,69; para o 3° Fluxo, MG = 2,71; CV (%) = 35,43.

Linhagem	Produtividade	
	Sintético	Clássico
	---------- % ----------	
	---------- 1° Fluxo ----------	
ABI-05/03	9,32	13,53
ABI- 04/02	7,08	11,79
ABI-06/05	7,72	12,55
ABI-09/10	7,43	11,67
ABI-09/11	5,43	8,68
Média do fator composto	7,39 b	11,64 a
	---------- 2° Fluxo ----------	
ABI-05/03	5,03 aB	9,38 abA
ABI- 04/02	7,14 aB	9,96 aA
ABI-06/05	4,95 aB	9,40 abA
ABI-09/10	6,97 aA	6,99 bA
ABI-09/11	7,29 aA	7,81 abA
Média do fator composto	6,27 b	8,71 a
	---------- 3° Fluxo ----------	
ABI-05/03	1,12 bB	3,86 aA
ABI- 04/02	1,47 bB	2,96 aA
ABI-06/05	1,21 bB	3,38 aA
ABI-09/10	3,29 aA	2,89 aA
ABI-09/11	2,97 aB	3,93 aA
Média do fator composto	2,01 b	3,40 a

Colunas: letras minúsculas; linhas: letras maiúsculas

* letra minuscula significa comparação entre as linhagens em um mesmo composto; letra maiuscula significa comparação entre os compostos para uma mesma linhagem.

Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

O mesmo comportamento foi observado no terceiro fluxo para os valores de massa fresca de basidiomas do composto clássico em relação ao composto sintético, exceto para a linhagem ABI-09/10. As linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05 e ABI-09/11 cultivados no composto clássico apresentaram massa fresca de basidiomas 39,88, 38,48, 36,32 e 24,46%, respectivamente, superiores ao composto sintético. A linhagem ABI-09/10 obteve ao comportamento contrário do em relação as

outras linhagens ao decorrer do experimento, sendo a massa fresca de basidiomas maior para o composto sintético em comparação ao clássico no terceiro fluxo com 11,97%, porém não apresentando diferença significativa para o composto clássico (Tabela 23).

Tabela 23. Massa fresca (em quilos) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 1238,13; CV (%) = 32,57; para o 2° Fluxo, MG = 274,43; CV (%) = 29,69; para o 3° Fluxo, MG = 352,52; CV (%) = 35,43.

Linhagem	Massa fresca	
	Sintético	Clássico
	---------- % ----------	
	---------- 1° Fluxo ----------	
ABI-05/03	1121	1759
ABI-04/02	921	1532
ABI-06/05	1004	1632
ABI-09/10	966	1517
ABI-09/11	706	1128
Média do fator composto	961 b	1514 a
	---------- 2° Fluxo ----------	
ABI-05/03	654 aB	1219 abA
ABI-04/02	928 aB	1295 aA
ABI-06/05	643 aB	1222 abA
ABI-09/10	906 aA	909 bA
ABI-09/11	948 aA	1016 abA
Média do fator composto	816 b	1132 a
	---------- 3° Fluxo ----------	
ABI-05/03	145 bB	502 aA
ABI-04/02	191 bB	385 aA
ABI-06/05	157 bB	440 aA
ABI-09/10	427 aA	376 aA
ABI-09/11	386 aB	511 aA
Média do fator composto	261 b	443 a

Colunas: letras minúsculas; linhas: letras maiúsculas

* letra minuscula significa comparação entre as linhagens em um mesmo composto; letra maiuscula significa comparação entre os compostos para uma mesma linhagem.

Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

As linhagens ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05 e ABI-09/11 cultivados no composto clássico apresentaram número de basidiomas total 62,85, 51,76, 64,89 e 9,26%, respectivamente, superiores ao composto sintético. A linhagem ABI-09/10 comportamento similar para a massa fresca no terceiro fluxo de produção resultados para o composto sintético 19,51% porém não apresentando diferença significativa para o composto clássico.

Tabela 24. Número de basidiomas das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 65,44; CV (%) = 36,44; para o 2° Fluxo, MG = 81,77; CV (%) = 28,34; para o 3° Fluxo, MG = 26,09; CV (%) = 38,55.

Linhagem	Número de basidiomas	
	Sintético	Clássico
	---------- % ----------	
	---------- 1° Fluxo ----------	
ABI-05/03	60	90
ABI-04/02	47	74
ABI-06/05	52	81
ABI-09/10	51	90
ABI-09/11	41	65
Média do fator composto	50 b	80 a
	---------- 2° Fluxo ----------	
ABI-05/03	59 aB	109 aA
ABI-04/02	73 aB	128 aA
ABI-06/05	52 aB	124 aA
ABI-09/10	71 aA	71 bA
ABI-09/11	73 aA	74 bA
Média do fator composto	65 b	97 a
	---------- 3° Fluxo ----------	
ABI-05/03	14 bB	38 aA
ABI-04/02	15 bB	31 aA
ABI-06/05	11 bB	31 aA
ABI-09/10	32 aA	26 aA
ABI-09/11	28 aA	31 aA
Média do fator composto	20 b	31 a

Colunas: letras minúsculas; linhas: letras maiúsculas

* letra minuscula significa comparação entre as linhagens em um mesmo composto; letra maiuscula significa comparação entre os compostos para uma mesma linhagem.

Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Tabela 25. Eficiência biológica (em porcentagem) das linhagens de *A. bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) produzidas nos compostos clássico e sintético durante os 3 fluxos de produção. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si e para valores não seguidos por letras não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o 1° Fluxo, MG = 29,36; CV (%) = 32,24; para o 2° Fluxo, MG = 23,08; CV (%) = 29,71; para o 3° Fluxo, MG = 8.36; CV (%) =35,41.

Linhagem	Eficiência biológica	
	Sintético	Clássico
	---------- % ----------	
	---------- 1° Fluxo ----------	
ABI-05/03	27,99	42,42
ABI-04/02	21,27	36,96
ABI-06/05	23,19	39,35
ABI-09/10	22,31	36,60
ABI-09/11	16,32	27,22
Média do fator composto	22,22 b	36,51 a
	---------- 2° Fluxo ----------	
ABI-05/03	15,12 aB	29,40 abA
ABI-04/02	21,44 aB	31,23 aA
ABI-06/05	14,87 aB	29,47 abA
ABI-09/10	20,93 aA	21,92 bA
ABI-09/11	21,90 aA	24,50 abA
Média do fator composto	18,85 b	27,31 a
	---------- 3° Fluxo ----------	
ABI-05/03	3,36 bB	12,11 aA
ABI-04/02	4,42 bB	9,29 aA
ABI-06/05	3,64 bB	10,61 aA
ABI-09/10	9,88 aA	9,08 aA
ABI-09/11	8,92 aB	12,32 aA
Média do fator composto	6,04 b	10,68 a

Colunas: letras minúsculas; linhas: letras maiúsculas

Compostos: Sintético= bagaço de cana-de-açúcar (39,8%) + palha de cana (43,2%) + farelo de soja (6,8%) + sulfato de amônia (1,5%) + uréia (1,5%) + gesso (4,8%) + calcário (2,4%); Clássico= bagaço de cana (22,9%) + palha de cana (39,0%) + esterco de galinha (31,2%) + gesso (4,6%) + calcário (2,3%).

Através dos resultados (Tabelas 22 a 25), observa-se que as ABI-09/10 e ABI-09/11 para os parâmetros de produtividade, massa fresca de basidiomas, número de basidiomas e eficiência biológica, no segundo fluxo de produção, quando produzidas no composto sintético não apresentaram diferença estatística entre as demais linhagens, porém seu comportamento ABI-09/10 e ABI-09/11 não foi afetado pelo tipo de composto, em relação as demais linhagens. Para os parâmetros avaliados em relação ao

composto clássico, as linhagens ABI-09/10 e ABI-09/11 apresentaram valores inferiores estatísticamente, em relação as demais linhagens.

No 3º fluxo de produção, em relação ao composto sintético, quando comparados os valores de produtividade, massa fresca de cogumelos, número de cogumelos e eficiência biológica, as linhagens ABI-09/10 e ABI-09/11 apresentaram diferença estatística com valores superiores em relação as linhagens, e não apresentaram diferença estatísca em relação ao composto clássico, tanto em relação as linhagens quanto a interação linhagens composto.

6.2. Experimento II

As velocidades de crescimento micelial, seguiram modelos de regressão não linear, adaptados da metodologia de Montini (2002), sendo detalhada a seguir.

Para explicar a cinética de crescimento das linhagens de *A. bisporus*, em meio de cultura sólido, optou-se em utilizar o modelo de crescimento para avaliar o desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* em meios de cultura sólidos por Montini (2002) testando os modelos logísticos Neibull e Gompertz, tendo como componente determinístico a exponencial de uma função Gompertz segundo Ratkoswsky (1990).

A equação é expressa a seguir, sendo:

$$Y_{ij} = exp\ \{\alpha_j\, exp\ [-\ exp(\beta_j - \gamma_j X_{ij})]\} + e_{ij}$$

onde, Yij é o diâmetro de crescimento (cm); Xij é o tempo (dias); α, β, γ são os componentes do vetor de parâmetros θ; e_{ij} = componente aleatório (ruído). Os índices i e j são relativos à i-ésima observação e ao j-ésimo tratamento (cruzamentos), respectivamente

Uma vez ajustado o modelo para cada combinação de tratamento, linhagem e repetição, foram obtidas as estimativas dos parâmetros pelo método dos quadrados mínimos. A expressão que fornece a derivada ou velocidade instantânea de crescimento (cm dia-1) do componente determinístico f(X) é função dos parâmetros a, b e g, ou seja:

$$f(\mathrm{X}) = \frac{df(\mathrm{X})}{dx} = \propto \gamma \exp\left[(\beta - \gamma \mathrm{X}) - \exp(\beta - \gamma \mathrm{X})\right]$$

A comparação dos parâmetros do modelo de regressão não linear (α, β e γ), foi feita através de análise de variância não paramétrica com aplicação do teste de Kruskal-Wallis. Nos casos em que houve diferença significativa por esse teste, foi aplicado o Teste de Student-Newmam-Kills (SNK) em nível de 5% de significância (Zar, 1996). Nos casos em que dois tratamentos apresentaram igualdade estatística entre os parâmetros α, β e γ, significa que possuem velocidades instantâneas iguais. Caso contrário, basta que um dos parâmetros seja diferente, para assegurar diferença estatística entre as velocidades instantâneas.

O crescimento micelial das linhagens de *A. bisporus* foram determinados através dos parâmetros alfa, beta e gama, os quais interagiram durante a colonização dos meios de cultura, demonstrando comportamento distinto entre as linhagens dependendo do meio de cultivo (substrato) utilizado, conforme reportado em estudos com cogumelos comestíveis e medicinais (GIBBONS et al., 1991; BONONI, 1999; BILAY et al., 2000; ROYSE et al., 2008; ROYSE, 2010) além do potencial genético distinto, em relação ao crescimento micelial entre linhagens fúngicas cultivadas em um mesmo tipo de substrato e nas mesmas condições de cultivo (van GRIESVEN, 1988; DONINI et al., 2006; ROYSE; CHALUPA, 2009)

O experimento *in vitro* foi realizado com o objetivo de avaliar as velocidades desenvolvimento micelial das linhagens de *A. bisporus* e correlacionar os dados obtidos no experimento à campo. Após a avaliação dos resultados obtidos, observou-se que as linhagens após a produção demonstraram as maiores velocidades de crescimento miceliano para os isolados 09/10 e 09/11 quando cultivados em meio de cultura CA, seguidos pela linhagem 09/10 no meio BDA, a linhagem 05/03 no meio CA e a linhagem 09/11 no meio BDA (Figuras 23 e 24)

No meio de cultura CA, foi observado diferença significativa com maior taxa de crescimento para todas as linhagens em comparação ao meio de cultura BDA (Tabela 18). Os maiores crescimentos foram observados nas linhagens 09/10 e 09/11 (Figuras 23 e 24), não se diferindo estatisticamente, seguido pelas linhagens 05/03>04/02>06/05.

No meio de cultura BDA foi observado maior crescimento para a linhagem ABI-09/10, seguido pela linhagem ABI-09/11. As menores médias de crescimento foram observadas nas linhagens 05/03 e 04/02 não se diferindo

estatisticamente (Tabelas 26), seguida pela linhagem ABI-06/05. Para o meio BDA, foi observado a ordem de crescimento 09/10>09/11>05/03≥04/02>06/05.

Tabela 26. Comparação estatística dos parâmetros alfa, beta e gama do modelo de regressão não linear [1], referente a cinética de crescimento micelial de *Agaricus bisporus*, segundo meio de cultura e linhagem (pelo teste não paramétrico de Stundent-newman-kills).

Meio de cultura[a]	Linhagens				
	04/02	**05/03**	**06/05**	**09/10**	**09/11**
	Parâmetro alfa				
CA	1,65 b	1,64 b	1,53 c	1,78 a	1,82 a
BDA	0,96 d	0,92 d	0,8 e	1,74 ab	1,67 b
	Parâmetro beta				
CA	1,23 d	1,4 cd	1,45 cd	1,21 d	1,28 cd
BDA	2,22 b	2,23 b	2,56 a	1,59 c	1,51 cd
	Parâmetro gama				
CA	0,26 b	0,27 b	0,27 b	0,26 b	0,26 b
BDA	0,37 a	0,38 a	0,4 a	0,27 b	0,28 b

1. $Y_{ij} = exp\ \{\alpha_j\ exp\ [-\ exp(\beta_j - \gamma_j X_{ij})]\} + e_{ij}$

a. MC. Meio de cultura de extrato de composto padrão para cultivo de *Agaricus bisporus* após compostagem, pasteurização e condicionamento; BDA. batata, dextrose, ágar;

Por coluna: medianas seguidas de mesma letra, não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo este de Student-Nnewman-Kills.

Para a linhagem ABI-09/10 e ABI-09/11 no meio CA o crescimento não diferiu estatisticamente sendo construída uma única curva de crescimento, ocorrendo o mesmo fenômeno para as linhagens ABI-05/03 e ABI-04/02 no meio BDA e para as linhagens ABI-05/03 e ABI-09/11 nos meios CA e BDA respectivamente.

Na Figura 24, nota-se que as velocidades de crescimento exponencial das linhagens de *A. bisporus* tiveram início a partir do 4º dia de crescimento. Apesar da linhagem ABI-09/10 cultivada no meio BDA apresentar o segundo maior crescimento, nota-se que no quinto dia, seu crescimento foi superior somente em relação as linhagens ABI-04/02, ABI-05/03 e ABI-06/05 cultivadas no meio BDA.

Nota-se que até o 10º dia de desenvolvimento micelial das linhagens de *A. bisporus,* a linhagem ABI-04/02 cultivada no meio de cultura CA apresentava a segunda maior tendência de crescimento, porém ao final de 14 dias de avaliação demonstrou o quarto maior crescimento.

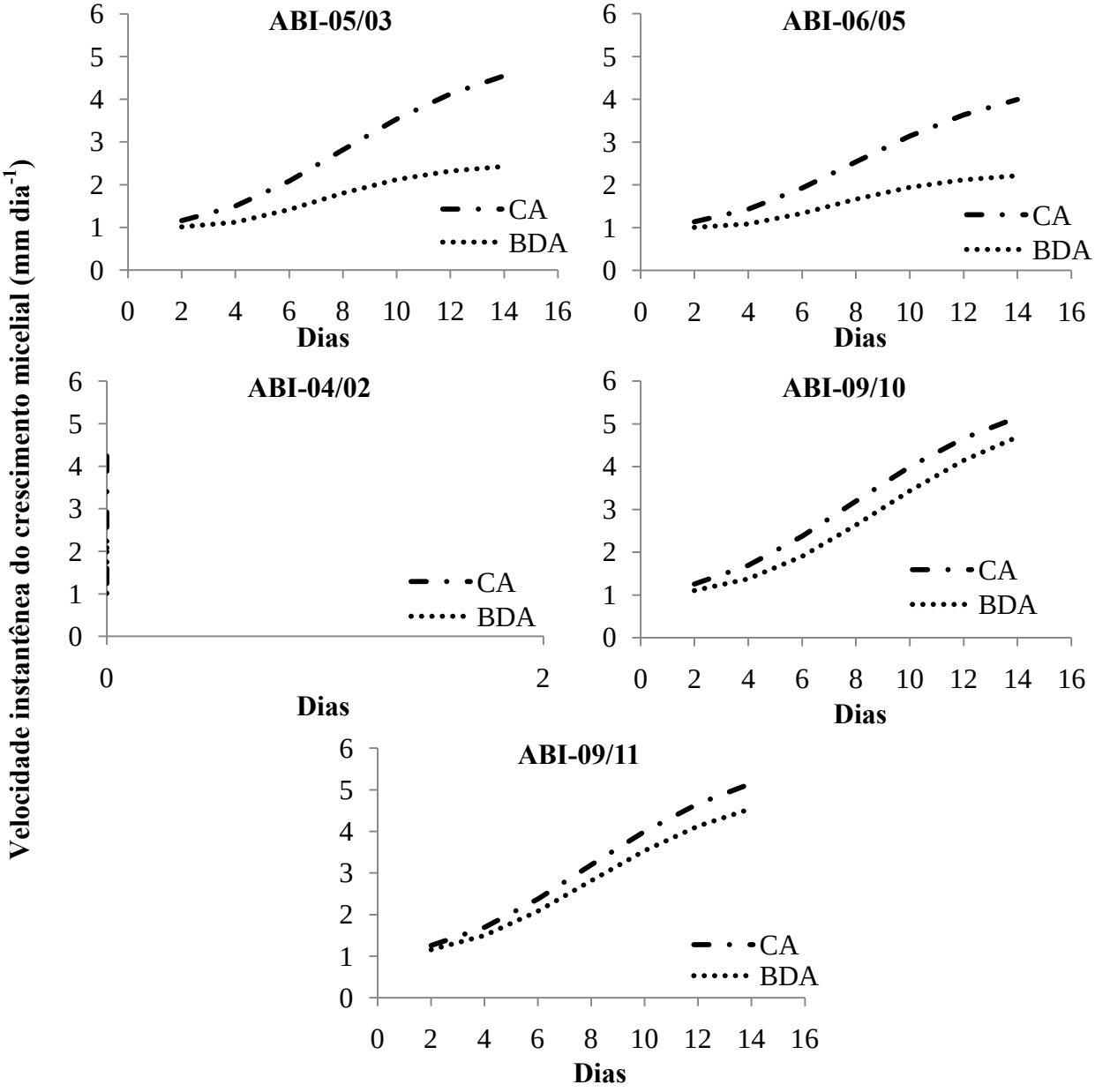


Figura 23. Velocidade instantânea estimada do crescimento micelial das linhagens de *Agaricus bisporus* (ABI-05/03, ABI-04/02, ABI-06/05, ABI-09/10 e ABI-09/11) cultivadas nos meios de cultura CA e BDA (crescimento do diâmetro da colônia em placas de Petri). CA. Meio de cultura de à base de extrato de composto padrão para cultivo de *Agaricus bisporus* após compostagem, pasteurização e condicionamento; BDA. batata, dextrose, ágar.

No 11º dia de crescimento micelial, as linhagens de *A. bisporus* ABI-05/03, ABI-04/02 cultivadas no meio de cultura CA e as linhagens ABI-09/10 e ABI-09/11 cultivadas no meio de cultura BDA foi observado taxa de crescimento similar.

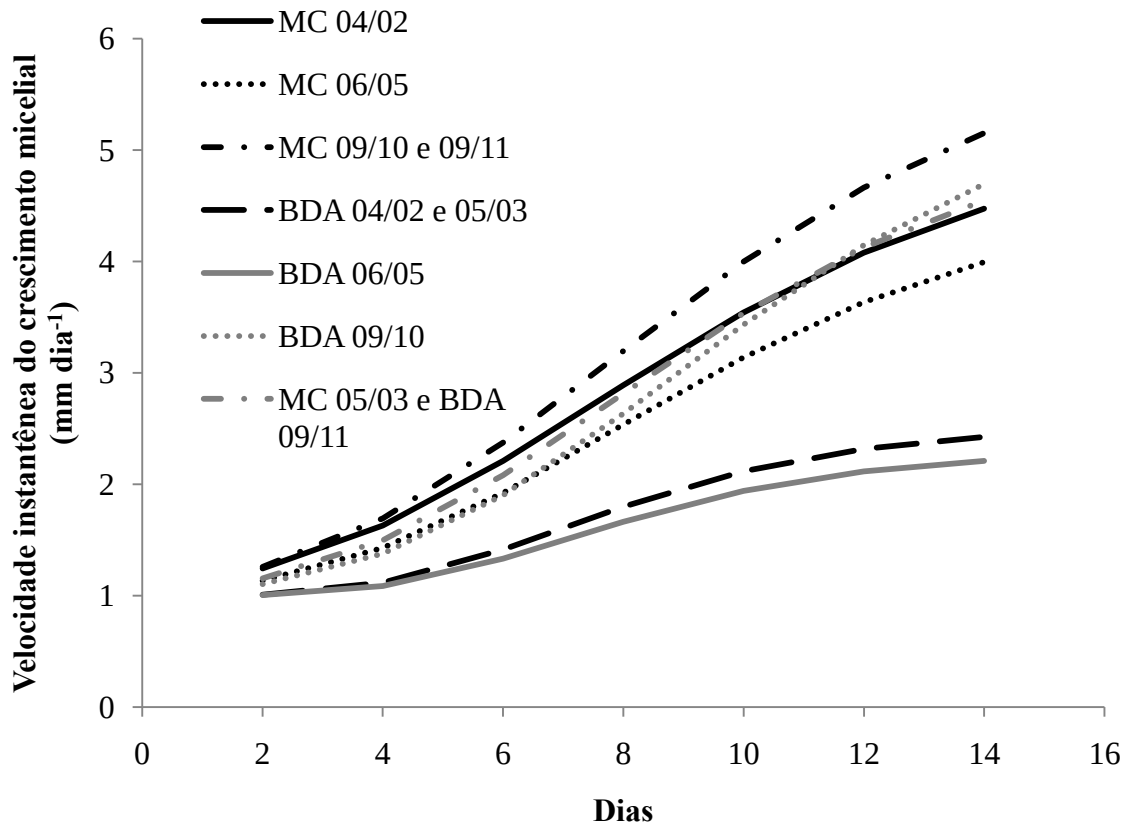


Figura 24. Velocidade instantânea estimada do crescimento micelial das linhagens 04/02, 05/03, 06/05, 09/10 e 09/11 cultivadas nos meios BDA e MC, respectivamente (crescimento do diâmetro da colônia em placas de Petri). MC. Meio de cultura de à base de extrato de composto padrão para cultivo de *Agaricus bisporus* após compostagem, pasteurização e condicionamento; BDA. batata, dextrose, ágar.

Montini et al. (2006), avaliando a cinética do crescimento micelial de linhagens de *L. edodes* em diferentes meios de cultura, observaram diferenças significativas na interação entre linhagens, substratos e dias de avaliação. Andrade (2008), ao avaliar o crescimento micelial de diferentes linhagens de L. edodes submetidas a dez tipos de meio de cultura, verificaram que a linhagem LE-96/18 obteve médias de crescimento micelial superiores às da linhagem LE-95/01 em todos os meios de cultura testados. Andrade et al. (2010) avaliando o crescimento micelial de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* em diferentes temperaturas, observaram diferenças significativas sendo que as linhagens ABI-01/01 e ABI-06/05 incubadas na temperatura de 20°C, obtiveram as maiores médias de crescimento micelial e, na temperatura de 25°C, a linhagem ABI-01/01 apresentou crescimento significativamente maior que todas as demais.

Donini et al. (2005), avaliando a velocidade de crescimento micelial de linhagens de *Pleurotus* spp. em diferentes substratos observaram diferenças

significativas na interação entre linhagens, substratos e dias de avaliação. Regina (2001) concluiu que o crescimento miceliano pode ser influenciado pela redução na concentração de nutrientes e oxigênio, acúmulo de produtos finais tóxicos, produção de metabólitos secundários e mudanças de fatores como o pH.

Através dos resultados obtidos no experimento II, foi observado que as linhagens ABI-09/10 e ABI-09/11 apresentaram os maiores potenciais genéticos em relação ao desenvolvimento micelial, comparado com as demais linhagens, com comportamento diferente em relação a produtividade, massa, número de basidiomas e eficiência biológica quando cultivadas no experimento I. A condução do experimento *in vitro* através do desenvolvimento de *A. bisporus* em meios de cultura sólido teve o objetivo de simular o desenvolvimento destes para aproximar do comportamento à campo, porém como visto no presente trabalho não foi possível correlacionar avaliações em laboratório do experimento II com avaliações do experimento I.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e de acordo com a condução dos experimentos propostos, conclui-se que:

- Houve diferença na produtividade, eficiência biológica, número e massa fresca de basidiomas entre as linhagens de *A. bisporus* independente do tipo de composto cultivado.
- O ciclo de cultivo de todas as linhagens foi mais produtivo e com fluxos mais definidos quando cultivadas no composto clássico.
- As linhagens mais produtivas foram ABI-05/03, ABI-06/05 e ABI/04/02
- No experimento *in vitro,* houve maior taxa de crescimento micelial das linhagens quando cultivadas no meio de cultura composto ágar.
- Não houve relação do potencial genético das linhagens no experimento *in vitro* com o experimento à campo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J. D. W.; FROSTICK, L. E. Investigating microbial activities in compost using mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation as an experimental system. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 1097-1102, 2008.

ALTIERI, R. et al. Performance of olive mill solid waste as a constituent of the substrate in commercial cultivation of *Agaricus bisporus*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Perugia, v. 63, p. 993-997, 2009.

ANDERSON, M. G.; BEYER, D. M.; WUEST, P. J. Yield comparison of hybrid *Agaricus* mushroom strains as a measure of resistance to Trichoderma green mold. **Plant Disease**, Pennsylvania, v. 85, p. 731-734, 2001.

ANDRADE, M. C. N. **Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto**. 2006. 195 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

ANDRADE, M. C. N. et al. Yield of four *agaricus bisporus* strains in three compost formulations and chemical composition analyses of the mushrooms. **Brazilian Journal of Microbiology**, Manaus, v. 39, p. 593-598, 2008.

ANDRADE, M. C. N. et al. Mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains in culture media prepared with sawdust from seven eucalyptus species and three eucalyptus clones. **Acta Scientiarum**: agronomy, Maringá, v. 30, n. 3, p. 333-337, 2008.

ANDRADE, M. C. N. et al. Crescimento micelial *in vitro* de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* submetidas a diferentes condições de temperatura. **Acta Scientiarum**: agronomy, Maringá, v. 32, n. 1, p. 69-72, 2010.

BARROS, L. et al. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food and Chemical Toxicology**, Bragança, v. 46, n. 8, p. 2742-2747, 2008.

BEYER, D. M. **Basic procedures for *Agaricus* mushroom growing**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, Extension Note, 2003.

BILAY, V.T.; SOLONKO, E. F.; BUCHALO, A. S. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In: VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 2000. v. 2, p. 779-782.

BONONI, V. L. et al. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1999. 206 p.

BRAGA, G. C. et al. **Manual de cultivo de *Agaricus blazei* Murril " cogumelo do sol".** Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1998. 44 p.

BRILL, S. **The wild vegetarian cookbook**. Boston: Harvard Commons Press, 2002. 500 p.

CARLUCCIO, A. **The complete mushrooms**: the quiet hunt. New York: Rizzoli International, 2003. 224 p.

CHANG, S. T. Overview of mushroom cultivation and utilization as functional foods. In: PCK, C. (Ed.). **Mushrooms as functional foods**. New Jersey: John Wiley, 2008. p. 1-29.

CHANG, S. T. Mushroom industry: potentials and challenges. In: SEMINAR ON JUNCAO INDUSTRY DEVELOPMENT FOR DEVELOPING COUNTRIES, 2010. **Proceedings…** Fuzhou, China: JUNCAO Institute, 2010.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Edible mushroom and their cultivation**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 345 p.

CHEUNG, P. C. K. Nutritional value and health benefits of mushrooms. In: Mushrooms as functional foods. PCK, C. (Ed.). **Mushrooms as functional foods**. New Jersey: John Wiley, 2008. p. 71-110.

COLAUTO, N. B. et al. Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101 p. 712-716, 2010.

CORMICAN, T.; STAUTON, L. Factors in mushroom (*Agaricus bisporus*) compost productivity. In: MAHER, M. J. (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: A. A. Balkema, 1991. p. 227-234.

CZARNECKI, J. **A cook's book of mushrooms**. New York: Artisan, p. 208, 1995.

DELATORRE, A. B. et al. Microrganismos termofílicos e enzimas termoestáveis de importância comercial. **Perspectivas Online**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 16, p. 132-145, 2007.

DERIKX, P. J. L. et al. Production of methane during preparation of mushroom compost. **Mushroom Science**, v.12, n. 1, p. 353-362, 1989.

DERIKX, P. J. L. et al. Respiratory path ways in *Agaricus bisporus* and *Scytalidium thermophilum.* **FEMS Microbiology Letter**, Nijmegen, v. 66, p. 307-312, 1990.

DIAMANTOPOULOU, P.; PHILIPPOUSSIS, A. Production atributes of *Agaricus bisporus* white and off-white strains and the effect of calcium chloride irrigation on productivity and quality. **Scientia Horticulturae**, Athens, v. 91, p. 379-391, 2001.

DIAS, E. S.; ABE, C. SCHAWN, R. F. Truths and miths about the mushroom *Agaricus blazei*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 5, p. 545-549, 2004.

DIPLOCK, A. T. et al. Scientific concepts of functional foods in europe consensus document. **British Journal of Nutrition**, London, v. 81, p. S1-S27, 1999. Supplement.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. Desenvolvimento in vitro de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, n. 6, p. 995-999, jun., 2006.

DONINI, L. P. et al. Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 331-338, jul./set. 2005.

EICKER, A. Mesophilic fungi associated with cultivation of *Agaricus brunnescens*. **Transactions of the British Mycology Society**, London, v. 74, n. 2, p. 465-470, 1980.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. **Manual teórico-prático de cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 115 p.

ESPOSITO, E. A; AZEVEDO, J. L. Fungos: uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia. **Educs**, Caxias do Sul, v. 12, p. 379-448, 2004.

FAO. **Statistics**. Disponível em: <http://www.fao.org/corp/statistics/en>. Acesso em: 30 ago. 2008.

FLEGG, P. B.; RANDLE, P. E. Effect of duration of composting on the amount of compost produced and the yield of mushrooms. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 12, n. 4, p. 351-359, 1980.

GARCÍA, G. A.; ROIG, A.; BERNAL; M. P. Composting the soild fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. **Bioresource Technology**, Essex, v. 86, p. 59-64, 2003.

GERRITS, J. P. G. Nutrition and compost. In: GRIENSVEN, L. J. L. D. (Ed.). **The cultivation of mushrooms**. Horst: Mushroom Experimental Station, 1988. p. 29-72.

GIBBONS, W. R.; MAHER, A. A.; TODD, R. L. Button mushroom production in synthetic compost derived from agricultural wastes. **Bioresource Technology**, Essex, v. 38, p. 65-77, 1991.

GIROTTO, A. F.; MIELE, M. Situação atual e tendências para avicultura de corte nos próximos anos. **Anuário Avicultura Industrial**, São Paulo, n. 11, p. 20-28, 2004.

GUAN, X. J. et al. Differentiation of commercial strains of Agaricus species in China with inter-simple sequence repeat marker. **World Journal Microbiology and Biotechnology**, Wuhan, v. 24, p. 1617-1622, 2008.

HERRERA, O. M. **Produção, economicidade e parâmetros energéticos do cogumelo *Agaricus blazei*:** um enfoque de cadeia produtiva. 2001. 145 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

JEONG, S. C. et al. White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. **Nutrition Research**, Penrith South, v. 30, p. 49-56, 2010.

KIRK, P. M. et al. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. 9. ed. Wallingford: CAB International, 2001. 655 p.

KOPYTOWSKI FILHO, J. Compostagem orgânica e produção de *Agaricus blazei*. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NO BRASIL, 2., 2004, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2004. p. 55-56.

KOPYTOWSKI FILHO, J. **Produtividade e eficiência biológica de *Agaricus blazei* (MURRIL) HEINEMANN, em diferentes condições de cultivo**. 2006. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

KÜES, U.; LUO, Y. Fruiting body production in basidiomycetes. **Applied Microbiology Biotechnology**, Heidelberg, v. 54, p. 141-152, 2000.

LABORDE, J. et al. Indoor composting: general principles and large scale development in Italy. In: CHANG, S.T., BUSWELL, J. A.; CHIU, S. W. (Ed.). **Mushroom biology and mushroom products**. Hong Kong: Chinese University Press, 1993. p. 93-113.

LI, A. et al. Inheritance of strain instability (sectoring) in the commercial button mushroom, *Agaricus bisporus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Ontario, Canada, v. 60, p. 2384-2388, 1994.

LOFTUS, M. G.; MOORE, D.; ELLIOTT, T. J. DNA polymorphism in commercial and wild strains of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. **Theoretical and Applied Genetics**, Watsonville, v. 76, p. 714-718, 1988.

MAMIRO, D. P.; ROYSE, D. J. The influence of spawn type and strain on yield, size and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted and spent mushroom compost. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 3205-3212, 2008.

MANOLOPOULOU, E. et al. Evaluation of productivity and postharvest quality during storage of five *Agaricus bisporus* strains. **Journal of Food Quality**, Kalamata, v. 30, p. 646-663, 2007.

MATUTE, R. G.; FIGLAS, D.; CURVETTO, N. Sunflower seed hull based compost for *Agaricus blazei* Murrill cultivation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Bahía Blanca, v. 64, p. 742-747, 2008.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Mushroom biology**: concise basics and current developments. London: Scientific, 1997. 194 p.

MILLER, H. **Hope's mushroom cookbook**. Eureka: Mad River Press, 1993. 212 p.

MINHONI, M. T. A.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; ANDRADE, M. C. N. **Cultivo Moderno de *Agaricus blazei* Murrill ss. Heinemann**. Botucatu: UNESP, Faculdade de Ciências Agronômicas; Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2005. 141 p.

MONTINI, R. M. C. **Efeito de linhagens e substratos no crescimento miceliano e produtividade em cultivo axênico do cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes* (berk.) pegler)**. 2002. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2002.

MONTINI, R. M. C.; PASSOS, J. R. S.; EIRA, A. F. Digital monitoring of mycelium growth kinetics and vigor of shiitake (*Lentinula edodes* (berk.) Pegler) on agar medium. **Brazilian Journal of Microbiology**, Botucatu, v. 37, p. 90-95, 2006.

OEI, P. **Mushroom cultivation**. 3. ed. Oegstgees: Backhuys, 2003. 429 p.

PARADES, C. et al. Evolution of organic matter and nitrogen during cocomposting of olive mill wastewater with organic solids. **Biology and Fertility of Soils**, Murcia, v. 32, p. 222-227, 2000.

PARATI, F. et al. Validation of thermal composting process using olive mill solid waste for industrial scale cultivation of *Agaricus bisporus*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Arezzo, v. 65 p. 160-163, 2011.

PEIL, R. M. et al. Desinfestação de composto para cultivo de cogumelo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 2, n. 3, p. 159-164, 1996.

PISTO, J. **Cooking with mushrooms**. Pacific Grove: Pisto's Kitchen, p. 137, 1997.

RANDLE, P. E.; SMITH, J. F. Formulations for short-duration mushroom composts. **Science Horticulturae**, Amsterdam, v. 28, p. 37-45, 1986.

RATKOWSKY, D. A. **Handbook of nonlinear regression models**. New York: Marcel Decker, 1990. 241 p.

REGINA, M. **Cinética do crescimento miceliano de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler em bagaço de cana-de-açúcar e serragem de eucalipto**. 2001. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

ROYSE, D. J. Effects of fragmentation, supplementation and the addition of phase II compost to 2nd break compost on mushroom (*Agaricus bisporus*) yield. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 188-192, 2010.

ROYSE, D. J.; CHALUPA, W. Effects of spawn, supplement and phase II compost additions and time of re-casing second break compost on mushroom (*Agaricus bisporus*) yield and biological efficiency. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, p. 5277-5282, 2009.

ROYSE, D. J. et al. Re-supplementing and re-casing mushroom (*Agaricus bisporus*) compost for a second crop. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Pennsylvania, v. 24, p. 319-325, 2008.

SANCHEZ, J. E.; MEJIA, L.; ROYSE, D. J. Pangola grass colonized with *Scytalidium thermophilum* for production of *Agaricus bisporus*. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 655-662, 2008.

SHIBATA, C. K. R.; DEMIATE, I. M. Cultivo e análise da composição química do cogumelo do sol (*Agaricus blazei* murril). **UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 21-32, 2003.

STAMETS, P. **Mycelium running**: how mushrooms can help save the world. Hong Kong: Ten Speed, 2005. 356 p.

TAVEIRA, V. C.; NOVAES, N. M. C. G.; Consumo de cogumelos na nutrição Humana: uma revisão da literatura. Brasília, DF. **Comunicação em Ciências da Saúde**, Brasília, v. 18, n. 4, p. 315-322, 2007.

UMAR, M. H.; VAN GRIENSVEN; J. L. D. Studies on the morphogenesis of *Agaricus bisporus* : the dilemma of normal versus abnormal fruit body development. **Mycological Research**, Horst, v. 103, n. 10, p. 1235-1244, 1999.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE MUSHROOMS. **Agricultural statistics board**. Washington, DC, 2007.

VAN GRIESVEN, L. J. L. D. **The cultivation of mushrooms**. Horst: Mushroom Experimental Station, 1988. 367 p.

VEDDER, P. J. C. **Cultivo moderno del champignon**. Madrid: Mundi Prensa, 1996. 369 p.

WANG, Q. et al. Yield, dry matter and polysaccharides content of the mushroom *Agaricus blazei* produced on asparagus straw substrate. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 125, p. 16-18, 2010.

WEIL, D. A.; BEELMAN, R. B.; BEYER, D. M. Manganese and other micronutrient additions to improve yield of *Agaricus bisporus*. **Bioresource Technology**, Essex, v. 97, p. 1012-1017, 2006.

XU, J.; HORGEN, P. A.; ANDERSON, J. B. Somatic recombination in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus.* **Mycological Research**, Cambridge, v. 100, n. 2, p. 188-192, 1996.

ZAR, J. H. **Bioestatistical analysis**. 3. ed. New Jersey: Pretice Hall, 1996. 718 p.