

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONOMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**PRODUTIVIDADE DE *Agaricus blazei* Murril EM FUNÇÃO DO
AMBIENTE DE CULTIVO, MASSA DO SUBSTRATO E CAMADA DE
COBERTURA**

GILBERTO COSTA BRAGA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas do Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia – Área de Concentração em
Energia na Agricultura.

BOTUCATU – SP
Abril - 1999

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**PRODUTIVIDADE DE *Agaricus blazei* Murril EM FUNÇÃO DO
AMBIENTE DE CULTIVO, MASSA DO SUBSTRATO E CAMADA DE
COBERTURA**

GILBERTO COSTA BRAGA

Orientador: Prof. Dr. Augusto Ferreira da Eira

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas do Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia – Área de Concentração em
Energia na Agricultura.

BOTUCATU – SP
Abril - 1999

BIOGRAFIA DO AUTOR

GILBERTO COSTA BRAGA, filho de Gilberto Lírio Braga e Maria de Lourdes Passos Costa, nasceu em 5 de março de 1963, Belo Horizonte, MG.

Em 10 de agosto de 1990, graduou-se em Engenharia Agrônômica, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Em 6 de dezembro de 1994, obteve o título de *Magister Scientiae* em Engenharia Agrícola, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Em março de 1995, ingressou no Curso de Doutorado em Agronomia, na Universidade Estadual Paulista – UNESP, em Botucatu, SP.

Este trabalho é dedicado aos meus pais,
Lourdes e Gilberto, e aos meus irmãos e amigos,

e inspira-se na convicção de que só se consegue a saúde e o máximo desenvolvimento da nossa capacidade intelectual, prestando absoluta atenção às leis naturais, que são as de Deus, e ordenando a nossa vida mediante o respeito e o amor devido a estas leis.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agronômicas - FCA da UNESP – Universidade Estadual Paulista do Campus de Botucatu, pela oportunidade de realizar este Curso.

À CAPES, pelo suporte financeiro.

Ao Módulo de Cogumelos e seus funcionários: Felix, Gerson, Arnaldo e Zezinho, pelos apoios e companheirismo.

Ao Professor Augusto Ferreira da Eira, pela orientação.

Aos funcionários do Departamento de Defesa Fitossanitária, pelo apoio.

Ao Professor do Departamento de Ciências Ambientais, Ademércio Antônio Pacolla, pelos conselhos e amizade.

Ao Professor do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências, José Raimundo de Souza Passos, pela participação e conselhos na área estatística.

À Cidade de Botucatu, que me acolheu durante esta etapa da minha vida acadêmica.

Ao Professor do Departamento de Engenharia Rural, Widsney Alves Ferreira, pelos conselhos e apoios prestados.

Ao Professor do Departamento de Engenharia Rural, Marco Antônio M. Biaggioni, pelo companheirismo e hospedagem.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização dos Cursos de Graduação e Mestrado.

À Professora Sandra Maria Couto, do Departamento de Engenharia Agrícola – UFV, Viçosa, MG, pelos conselhos e apoios prestados.

Ao Professor Tetuo Hara, do Departamento de Engenharia Agrícola – UFV, Viçosa, MG, pelos conselhos e apoios prestados.

Aos meus colegas de curso.

Eu agradeço e dedico especialmente este trabalho à Ariane Busch Salibe, pela paciência e carinho, às secretárias domésticas Edinei e Rosângela, pelos cuidados e apoios prestados, aos meus amigos Amauri, Marcos Braga, Renato, Wilson, Aldenise e outros, pela amizade, companheirismo e que, direta ou indiretamente, contribuíram para a sua realização.

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE QUADROS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY.....	3
3. INTRODUÇÃO.....	5
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
4.1. Técnicas de cultivo.....	10
4.1.1. Substrato de cultivo (compostagem).....	10
4.1.2. Inoculação e colonização do composto.....	13
4.1.3. Cobertura do substrato de cultivo e produção.....	14
4.1.4. Sistemas de cultivo.....	17
4.2. Fatores de produtividade.....	17
4.3. Ambientes protegidos.....	20
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
5.1. Procedimentos e material utilizado no preparo do substrato de cultivo.....	23
5.1.1. Material e formulação do composto.....	23
5.1.2. Compostagem Fase I.....	25
5.1.3. Compostagem Fase II.....	25
5.1.4. Produção do inoculante (“semente”).....	26
5.1.5. Inoculação e colonização do substrato.....	27
5.1.6. Preparo da camada de cobertura.....	28
5.1.7. Metodologia de colheita.....	29
5.1.8. Parâmetros de avaliação.....	29
5.2. Frutificação e produtividade de <i>A. Blazei</i> em função da massa do substrato e da espessura da camada de cobertura, em dois ambientes de cultivo protegido.....	29
5.2.1. Ambientes de condução do experimento.....	30

5.2.2. Delineamento estatístico.....	34
5.3. Frutificação e produtividade de <i>A. blazei</i> , em função de diferentes choques térmicos no substrato de cultivo.....	35
5.3.1. Descrição dos tratamentos.....	35
5.3.2. Delineamento estatístico.....	36
5.4. Produtividade de <i>A. blazei</i> em função de três diferentes condições ambientais de cultivo protegido	37
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6.1. Frutificação e produtividade de <i>A. blazei</i> em função da massa do substrato e da espessura da camada de cobertura, em duas condições ambientais de cultivo protegido.....	40
6.1.1. Efeitos da espessura da camada de cobertura em cada ambiente de cultivo e vice-versa.....	44
6.1.2. Efeitos da massa de substrato em cada ambiente de cultivo e vice-versa.....	46
6.2. Frutificação e produtividade de <i>A. blazei</i> , em função de choques térmicos no substrato de cultivo.....	50
6.3. Produtividade de <i>A. blazei</i> , em função de três diferentes condições ambientais de cultivo protegido.....	57
7. CONCLUSÕES.....	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
APÊNDICE.....	70

LISTA DE QUADROS

Quadros	Páginas
1. Porcentagens de C e N, e relação C/N dos materiais utilizados na formulação do composto para o preparo dos substratos de cultivo de <i>A. blazei</i>	23
2. Materiais e formulação do composto para o preparo do substrato de cultivo de <i>A. blazei</i> utilizado nos experimentos.....	24
3. Cronograma de execução da compostagem Fase I.....	25
4. Caracterização química dos materiais utilizados no preparo da camada de cobertura do substrato de cultivo dos experimentos.....	28
5. Tratamentos em função da combinação entre massa do substrato, espessura da camada de cobertura e tipo de ambiente protegido.....	30
6. Médias das temperaturas mínima e máxima registradas nos dois ambientes de cultivo durante os respectivos períodos de avaliação.....	42
7. Resumo da análise de variância do esquema fatorial, com o teste F, para os parâmetros avaliados, segundo os fatores A (Dois ambientes de cultivo protegido), B (Três espessuras da camada de cobertura) e C (Duas massas do substrato).....	43
8. Resumo da análise de variância, com o teste F, para os parâmetros avaliados, com o desdobramento das interações entre a espessura da camada de cobertura e o tipo de ambiente de cultivo.....	44
9. Comparação entre os valores médios observados, pelo teste de Tukey, para os parâmetros avaliados, em função das três espessuras da camada de cobertura e nos dois ambientes de cultivo.....	45
10. Resumo da análise de variância, com o teste F, para os parâmetros avaliados, com o desdobramento das interações entre a massa do substrato e o tipo de ambiente de cultivo.....	47
11. Comparação entre os valores médios observados, pelo teste de Tukey, para os parâmetros estudados, em função das duas massas do substrato e nos dois ambientes de cultivo.....	48
12. Resultado da análise multivariada dos perfis médios, com o teste F, para os parâmetros avaliados, distribuídos segundo os tratamentos de choque térmico e avaliados em quatro períodos de mensuração.....	51

13. Resultados das diferenças encontradas entre os períodos de avaliação, a partir dos intervalos de confiança a 95%, para os contrastes dos parâmetros avaliados.....	53
	54
14. Médias e desvios-padrão da produtividade de cogumelos (kg/100kg), avaliados em quatro períodos, em função dos tratamentos de choque térmico.....	55
	55
15. Médias e desvios-padrão do número de cogumelos colhidos, avaliados em quatro períodos, em função dos tratamentos de choque térmico.....	
16. Início da produção (dias/10), parâmetros estimados do modelo logístico ($\hat{\alpha}$, $\hat{\beta}$ e $\hat{\gamma}$), ponto de inflexão (\hat{I}) e coeficiente de determinação da regressão, segundo os tratamentos e as repetições.....	58
	59
17. Resumo do teste estatístico de Kruskal-Wallis, com os resultados de comparação entre os tratamentos considerados, em função dos parâmetros avaliados.....	
18. Resultados gerais por repetição e por tratamento, referentes ao experimento 1 de avaliação da camada de cobertura, da massa do substrato e do ambiente de cultivo na frutificação e produtividade de <i>A. blazei</i>	71
	73
19. Resultados gerais por repetição e por tratamento, referentes ao experimento 2 de avaliação de choques térmicos na frutificação e produtividade de <i>A. blazei</i>	

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Páginas
1. Câmara ou túnel de pasteurização e condicionamento do composto.....	26
2. Esquema da estrutura coberta com bambu (paredes e telhado) segundo os planos: A- em perspectiva; B- corte horizontal e C- corte vertical.....	32
3. Esquema da estufa plástica segundo os planos: A- em perspectiva; B- corte horizontal e C- corte vertical (orientação em relação ao corte B).....	33
4. Temperaturas máxima e mínima no ambiente coberta com bambu, registradas entre os períodos de cobertura do substrato e o término da colheita (02/06/98 a 22/10/98, respectivamente).....	41
5. Temperaturas máxima e mínima no interior do ambiente coberto com plástico, registradas entre os períodos de transferência das parcelas experimentais (47 dias após a cobertura do substrato) e o término da colheita (20/07/98 a 06/10/98, respectivamente).....	42
6. Produtividade média de cogumelos, por massa de substrato, em função dos períodos de avaliação.....	54
7. Número médio de cogumelos colhidos em função dos períodos de avaliação.....	55
8. Produção média acumulada de <i>A. blazei</i> , por caixa contendo 8 kg de substrato cada, após o primeiro choque térmico e em função dos tratamentos avaliados.....	56
9. Produtividades acumuladas observadas (obs) e modeladas (mod), referentes às repetições do tratamento de ambiente de cultivo coberto com lona plástica.....	60
10. Produtividades acumuladas observadas (obs) e modeladas (mod), referentes às repetições do tratamento de ambiente de cultivo coberto com bambu.....	61
11. Produtividades acumuladas observadas (obs) e modeladas (mod), referentes às repetições do tratamento de ambiente de cultivo em sala climatizada.....	61
12. Produtividades médias (5 repetições) acumuladas de cogumelos, observadas durante o período de cultivo, para os tratamentos de cultivo protegido.....	62
13. Cogumelos <i>A. blazei</i> em desenvolvimento na camada de cobertura do substrato. A- caixa plástica contendo o substrato coberto com o material de cobertura e os cogumelos em crescimento; B- detalhe dos cogumelos em diferentes estágios de crescimento.....	70
14. Detalhes de cogumelos <i>A. blazei</i> inteiros (A) e partidos ao meio (B), após colhidos.....	70

1. RESUMO

Dado à escassez de informações ou relatos técnico-científicos sobre o cultivo protegido de *Agaricus blazei* Murril, este trabalho teve como objetivos, avaliar os efeitos do ambiente de cultivo, da massa do substrato, da espessura da camada de cobertura e de choques térmicos no substrato de cultivo, na frutificação e produtividade de cogumelos *A. blazei*. Foram realizados dois experimentos. O primeiro constou da avaliação de três espessuras da camada de cobertura (3, 5 e 8 cm), duas massas de substrato (5 e 10kg) e dois ambientes de cultivo protegido (ambiente coberto com bambu e estufa coberta com lona plástica). O substrato de cultivo foi acondicionado em caixas plásticas, representando as parcelas experimentais. Cada tratamento foi constituído por 5 parcelas experimentais. O segundo experimento foi constituído por 5 tratamentos, sendo 3 com choques térmicos de 15°C e 2 controles (15°C e 25°C). Os choques térmicos foram aplicados no substrato de cultivo variando o número de choques e a duração de cada um, sendo tratamento 1: três choques térmicos com duração de 24 horas cada e em intervalos de 21 dias; tratamento 2: três choques térmicos com duração de 72 horas cada e em intervalos de 21 dias e tratamento 3: um choque térmico com duração de 72 horas. Nesse experimento, o cultivo foi realizado em uma sala escura sob condições controladas de temperatura (25°C) e umidade relativa do ar (80%). Os resultados foram obtidos a partir de 4 períodos de 21 dias de mensurações, que constituíam os intervalos entre os choques. Em função desses dois experimentos, foi realizada uma terceira

avaliação onde se determinou a produtividade máxima, a taxa máxima de produtividade e o tempo de início de produção, em função dos três ambientes de cultivo referidos nesses dois experimentos. A partir dos resultados, concluiu-se que: no inverno, o ambiente coberto com plástico, promoveu condições ambientais mais favoráveis à produtividade de *A. blazei*, do que o ambiente fechado com bambu; camadas de cobertura do substrato com 5 e 8 cm de espessura, foram mais produtivas do que a camada com 3cm; não houve efeito da espessura da camada de cobertura na produtividade de *A. blazei*, para o cultivo nas condições do ambiente coberto com bambu; o aumento da massa do substrato, promoveu aumentos na produtividade por área de cultivo e no número de cogumelos colhidos; em condições mais rústicas como o ambiente coberto com bambu, onde não há controle das condições ambientais, o aumento da massa de substrato não promoveu aumento de produtividade; a aplicação de choques térmicos, nos binômios tempo-temperatura utilizados, não causaram efeitos significativos na produtividade e no número de cogumelos colhidos; o cultivo em condições ambientais controladas e com ausência de luz, propiciou um ciclo de produção mais curto e iniciou a produção em menor tempo, comparado ao cultivo em estrutura mais rústica coberta com bambu.

PRODUCTIVITY OF *Agaricus blazei* Murril IN RELATION TO THE CULTIVATION ENVIRONMENT, THE SUBSTRATE MASS, AND THE CASING LAYER. Botucatu, 1999.

Thesis (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: GILBERTO COSTA BRAGA

Supervisor: Prof. Dr. AUGUSTO FERREIRA DA EIRA

2. SUMMARY

Given the shortage of information and technical scientific reports on the protected cultivation of *A. blazei*, the objectives of this work were to evaluate the effects of cultivation environment, mass of the substrate, thickness of the casing layer, and thermal shocks in the cultivation substrate, on the growth and productivity of the mushroom *A. blazei* Murril. To obtain the results, two experiments were performed. The first consisted of evaluating three thicknesses of casing layer (3, 5 and 8 cm), two substrates of different masses (5 and 10kg) and two types of protected cultivation (covered with bamboo and in a greenhouse covered with blue plastic canvas). in plastic boxes. Each different treatment was performed on 5 units (plastic boxes) of cultivation substrate. The second experiment consisted of five units, three with thermal shocks and one a control. The thermal shocks were applied to the cultivation substrate in varying number and duration, treatment 1 being: three thermal shocks of 24 hours duration; treatment 2: three thermal shocks of 72 hours duration, and treatment 3: one thermal shock of 72 hours duration. In this experiment, cultivation was carried out under controlled conditions in a room at temperature (25°C) and relative humidity (80%). The measurements were taken and shocks applied at four 21 day intervals. After these two experiments, a third evaluation was accomplished determining the maximum productivity, the maximum rate of production and the beginning time of production, in relation to the three cultivation environments used in the two experiments. From these results, it was concluded that: in the winter, the greenhouse covered with plastic, promoted more favourable

environmental conditions for the production of *A. blazei*, than the structure covered with bamboo; in the greenhouse, casing layers of 5 and 8 cm thickness were more productive than the 3 cm layer; there was no effect on productivity from the thickness of the casing layers in the bamboo covered structure; the increase of substrate mass promoted increases in productivity for a cultivation area and in the number of picked mushrooms; in more rustic conditions, without environmental control, the productivity of mushrooms per substrate mass can be larger, when using a smaller mass per unit area; the application of thermal shocks, in the used binomial time-temperature, didn't affect the productivity or the number of picked mushrooms; the cultivation in the controlled environmental conditions and with light absence, led to a shorter production cycle and production beginning earlier, compared with cultivation in a more rustic structure covered with bamboo.

KEY WORDS: *Agaricus blazei*; medicinal mushrooms; casing layer; substrate mass; plastic greenhouse; thermal shocks.

3. INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo de cogumelos comestíveis vem crescendo significativamente devido ao reconhecimento do seu alto valor nutritivo e ao aumento da oferta, tornando o produto mais popular e acessível, sendo os principais cogumelos cultivados o *Agaricus bisporus* Lange (champignon); o *Lentinula edodes* Berk. (shiitake) e espécies do gênero *Pleurotus* (Eira & Minhoni, 1997).

Recentemente, a espécie de cogumelo denominada *Agaricus blazei* vem despertando grande interesse comercial pelo alto valor nutritivo e medicinal, principalmente para o mercado de exportação, cujo maior consumidor é o Japão. No Brasil, o preço pago ao produtor, por intermediários, varia de US\$100,00 a US\$150,00 por kg desidratado. Estima-se que aproximadamente 20 toneladas de cogumelos *A. blazei* desidratados foram produzidos na safra 96/97 (primavera e verão, respectivamente). Deste total, mais de 90% foram exportados para o Japão e uma pequena parcela para os EUA e Coreia (Braga et al., 1998).

O consumo brasileiro de *Agaricus blazei* ainda é muito baixo, porém há grande expectativa em relação ao potencial de uso medicinal deste cogumelo, onde espera-se que outros segmentos, como as indústrias farmacêutica e alimentícia, possam participar aumentando a pesquisa, o consumo e, conseqüentemente, a produção.

Por tratar-se de uma cultura recente e dado a ausência de pesquisas, o cultivo de *A. blazei* no Brasil ainda é praticado de forma empírica e sem embasamento técnico

pela maioria dos produtores. Este fato tem tornado o cultivo um negócio de risco, pouco produtivo e de alto custo. A maior produção de *A. blazei* encontra-se no Estado de São Paulo, onde são explorados principalmente nas épocas de primavera e verão, sob condições de cultivo não protegido.

A falta de tecnologia desenvolvida para o cultivo protegido de *A. blazei* tem levado a maioria dos produtores a praticar o sistema de cultivo desprotegido, ou seja, em canteiros e a céu aberto, proporcionando maiores riscos à produção em função das variações ambientais. Por outro lado, alguns produtores estão adotando o sistema de cultivo protegido, porém a maioria com índices de produtividade ainda muito baixos e, portanto, economicamente insatisfatórios.

A busca de índices satisfatórios de produtividade no cultivo de cogumelos comestíveis, é um desafio que depende de estudos e pesquisas sobre diversos fatores que podem afetar a produtividade dos cogumelos. Esses fatores incluem a linhagem do inoculante, o nível tecnológico (substrato de cultivo, camada de cobertura, etc.) e a habilidade do cultivador em manter as condições ambientais favoráveis, praticando com rigor todas as operações culturais necessárias, bem como o controle de pragas e contaminantes. Neste sentido, espera-se que os rendimentos de produção em cultivos de *A. blazei* aumentem com o desenvolvimento e a introdução de novas tecnologias de cultivo.

Vários fatores influem no crescimento, desenvolvimento e produção de *A. blazei*, sendo as condições climáticas uma das que mais contribuem na duração do ciclo de cultivo, início da produção e produtividade, destacando-se a temperatura e a umidade relativa do ar.

O cultivo de *A. blazei* caracteriza-se por ser de clima relativamente quente, comparado ao Champignon, porém a ausência de informações científicas sobre níveis de temperatura ideais durante a etapa de produção, parece ser a principal causa de baixas taxas de produtividade, associado à falta de outras informações como: quantidade e características ideais da camada de cobertura do substrato, forma de disposição do substrato no ambiente de cultivo, entre outros.

Dado à escassez de informações ou relatos técnico-científicos sobre o cultivo protegido de *A. blazei*, este trabalho teve como objetivos:

- avaliar os efeitos da espessura da camada de cobertura e massa do substrato e dois ambientes de cultivo protegido, na frutificação e produtividade de cogumelos *A. blazei*;
- avaliar o efeito de choques térmicos de resfriamento no substrato de cultivo, na frutificação e na produtividade de cogumelos *A. blazei*, cultivados sob condições ambientais controladas;
- determinar o efeito de três ambientes de cultivo protegido, na produtividade máxima, na taxa máxima de produtividade e no início de produção de cogumelos *A. blazei*.

4. REVISÃO DE LITERATURA

Os cogumelos são fungos que existem na natureza sendo conhecidos e apreciados há mais de dois mil anos, quando os gregos e os romanos os consideravam como alimento especial (Quimio et al., 1990). São conhecidas milhares de espécies diferentes de cogumelos; alguns venenosos, outros alucinógenos e, ainda, os que possuem propriedades medicinais curativas e até afrodisíacas (Bononi et al., 1995; Hobbs, 1995).

Os cogumelos são alimentos de elevado valor nutritivo, contendo poucas calorias. Seu conteúdo em proteínas é relativamente alto, alcançando de 1,5 a 6% de sua massa fresca, evidenciando as diferenças entre as espécies (Steineck, 1987; Vedder, 1991). Além do conteúdo em proteínas, os cogumelos também são ricos em vitaminas como B, C e D e contém níveis altos de riboflavina, tiamina, niacina e ácido fórmico. São fontes ricas em ferro, potássio e fósforo (Quimio et al., 1990).

Além do excelente valor nutritivo, têm sido atribuídas aos cogumelos comestíveis propriedades medicinais no tratamento de diversas enfermidades, sobretudo no uso conjunto de terapias contra tumores cancerígenos. Neste sentido, estudos científicos sobre agentes antitumorais têm tido progressos a partir de polissacarídeos extraídos de cogumelos (Chihara, 1978; Chang & Miles, 1989; Mizuno et al., 1990; Hobbs, 1995).

Existem relatos que durante séculos os cogumelos eram prescritos para várias doenças. Algumas das prescrições, relativas ao valor medicinal dos cogumelos, eram consideradas como duvidosas por estarem ligadas a superstições, convicções e mitos. Mais

tarde, pesquisas mostraram que algumas das prescrições não eram meros mitos pois apresentaram comprovações científicas (Quimio et al., 1990). Um dos primeiros estudos sobre o potencial de aplicação medicinal dos cogumelos data de 1959, quando um possível agente antitumoral, descrito como Calvacina, foi isolado do cogumelo *Calvatia gigantea* (Chang & Hayes, 1978). Estudos realizadas no Instituto de Pesquisas do Centro Nacional do Câncer, em Tóquio, mostraram que injeções intraperitoneais de extratos aquosos de *Auricularia auricula*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pholiota nameko* e *Pleurotus ostreatus* tiveram efeito inibitório no crescimento de tumores de Sarcoma 180 induzidos em ratos albinos suíços (Ikekawa et al., 1969).

Recentemente, a espécie *A. blazei* começou a despertar grande interesse, a partir de estudos científicos que o relataram como cogumelo com propriedades medicinais potenciais. Estes estudos realizados com cobaias em laboratório, mostraram que polissacarídeos do tipo beta glucanas, extraídos de basidiocarpos de *A. blazei*, apresentaram forte ação contra tumores tipo Sarcoma 180 induzidos nas cobaias (Mizuno et al., 1990; Kawagishi et al., 1990; Itoh et al., 1994; Osaki et al., 1994; Eguchi et al., 1995). Estudos sobre a ação antimutagênica de extratos dos cogumelos Shiitake (*L. edodes*) e *A. blazei*, vem sendo realizados também no Brasil (Denadai et al., 1998; Alves de Lima et al., 1998).

O cogumelo *A. blazei*, também conhecido popularmente como “Cogumelo do Sol”, é de ocorrência natural nas regiões serranas da Mata Atlântica do sul do Estado de São Paulo, Município de Piedade e, segundo relatos de produtores, a espécie nativa foi coletada inicialmente por um agricultor e estudioso (Sr. Furumoto), que a cultivou entre as décadas de 60 e 70. Na época, algumas amostras foram levadas para o Japão com o interesse em estudar suas propriedades medicinais. Devido às condições climáticas favoráveis ao cultivo deste cogumelo, matrizes reproduzidas no Japão foram enviadas de volta ao Brasil e, desde então, várias técnicas de produção têm sido adaptadas, sempre com base no cultivo de champignon (*A. bisporus*). Somente a partir de 1990 o cultivo comercial desse cogumelo praticamente teve início e de forma muito rudimentar e artesanal (Braga et al., 1998).

A. bisporus foi o primeiro cogumelo a ser produzido em escala comercial no Brasil e, atualmente, é o mais cultivado, seguido pelo *L. edodes* (Shiitake) e por algumas espécies do gênero *Pleurotus* (Bononi et al., 1995; Eira & Braga, 1997).

4.1 Técnicas de cultivo

O cultivo de *A. blazei* baseia-se nas técnicas utilizadas para a produção do champignon e envolve as seguintes etapas (Chang & Miles, 1989; Vedder, 1991; Eira & Minhoni, 1997):

1. Preparo do substrato de Cultivo (compostagem);
 - Fase I da compostagem (“outdoor”);
 - Fase II da compostagem (pasteurização e condicionamento “indoor”);
2. Inoculação ou “semeadura”;
3. Colonização do substrato inoculado ou “corrida do micélio”;
4. Cobertura do substrato;
5. Produção;
6. Processamento.

O champignon é cultivado segundo uma tecnologia bem desenvolvida para as condições ambientais de clima temperado, onde o cogumelo produz favoravelmente à temperatura de 15 a 18°C (Chang & Miles, 1989). No caso de *A. blazei*, cujo crescimento ocorre favoravelmente em ambiente com temperaturas entre 25 e 30°C (Braga et al., 1998), falta ainda o desenvolvimento de tecnologia principalmente para as etapas de produção (camada de cobertura, ambiência e indução de primórdios) e processamento, fatores estes diretamente ligados à produtividade e qualidade do produto.

Segundo Fidalgo & Guimarães (1985), a produtividade do *Agaricus* é altamente dependente do substrato (composto) e da matriz (semente) usados no cultivo, bem como do controle das condições ambientais, tais como temperatura, ventilação, luz e umidade.

4.1.1 Substrato de cultivo (compostagem)

O sucesso da cultura do *Agaricus* depende em grande parte do preparo adequado do substrato onde o cogumelo irá se desenvolver. Este substrato de cultivo é resultado da compostagem de material orgânico particulado e misturado. O processo de

compostagem pode ser definido como um processo de biodegradação ou decomposição de matérias-primas orgânicas, onde o desenvolvimento de populações microbianas irá ocorrer, caracterizado pelo aumento da temperatura no interior da massa do composto (Flegg et al., 1985; Vedder, 1991).

O composto é preparado a partir de material residuário da agricultura, pecuária ou sub-produtos da agro-indústria, tais como: esterco animal, principalmente o equino e avícola, e restos vegetais ligno-celulósicos como palhas de trigo, arroz, milho, feno de forrageiras, bagaço de cana-de-açúcar, colmos, tortas, etc. (Bononi et al., 1995; Eira & Minhoni, 1997).

Diversas fórmulas têm sido propostas na literatura para compostos destinados ao cultivo de *Agaricus* (Chang & Hayes, 1978; Steinek, 1987; Gibbons et al., 1991; Ferreira, 1992). O composto é constituído, em geral, de material fibroso à base de palhas de vegetais, ricos em carbono (C) e pobres em nitrogênio (N) e, portanto, possuem relação C/N alta. A relação C/N no início da compostagem deve estar compreendida entre 25 e 30. Assim, o nitrogênio orgânico deve ser corrigido com a adição de material suplementar, como farelos, tortas e adubos minerais (Stamets & Chilton, 1983; Steinek, 1987; Chang & Miles, 1989).

A qualidade da palha empregada é importante na condução do processo ideal. Além de apresentar composição bastante estável, deve ser um material com propriedades químicas e estruturais ideais na preparação do composto para *Agaricus* (Overstijns & Bockstaele, 1979; Flegg et al., 1985; Chalaux et al., 1991).

Independentemente do tipo de composto e da formulação utilizada, o seu preparo envolve duas fases: a Fase I: condicionamento inicial; e a Fase II: pasteurização e condicionamento final (Hayes, 1980; Minnigerode, 1981; Stamets & Chilton, 1983; Chang & Miles, 1989; Straatsma et al., 1994).

O objetivo da Fase 1 de compostagem é misturar, empilhar e umedecer as matérias-primas, iniciando o processo de compostagem, durante o qual vários microrganismos se desenvolvem com natural aumento da temperatura, alcançando 70-75°C. Nas palhas ou outros resíduos agrícolas os principais componentes são a celulose, a hemicelulose e a lignina. A hemicelulose geralmente encontra-se em associação íntima com a celulose nas fibras das palhas, que são facilmente decompostas pelo ataque de bactérias e alguns fungos durante o processo de compostagem. Como resultado da atividade dos

microrganismos, o conteúdo de proteínas aumenta pela conversão de materiais nitrogenados simples, como amônia e nitratos, em proteínas complexas (Chang & Miles, 1989).

Durante a compostagem Fase 1, são efetuados os seguintes procedimentos: montagem da pilha; umedecimento do material; adição de suplementos e homogeneização da massa ou revolvimento (Stamets & Chilton, 1983; Quimio et al., 1990; Camp Op et al., 1991). Ao final desta fase, o composto para *A. bisporus* deve apresentar as seguintes características: coloração uniformemente marrom; as palhas ainda longas e fibrosas, mas pouco resistentes; umidade em torno de 70%; forte cheiro de amônia; pH entre 8,0 e 8,5; ocorrências de colônias brancas de actinomicetos; conteúdo de nitrogênio entre 1,5 e 1,7 (Stamets & Chilton, 1983; Straatsma et al., 1994). Entretanto, não há relatos de estudos sobre o conteúdo ideal de N para o substrato de cultivo de *A. blazei*, elemento este considerado determinante na suplementação de N orgânico ou inorgânico a ser considerado na formulação do composto e deve ser estudado nesse sentido.

A Fase II ocorre em instalações fechadas conhecidas como túneis ou câmaras de pasteurização (Flegg et al., 1985; Chang & Miles, 1989). Os objetivos desta fase são: eliminar insetos e outras pragas trazidas da Fase 1; destruir esporos de microrganismos contaminantes e promover temperaturas uniformes entre 50 e 60°C para garantir a decomposição do composto através de microrganismos termófilos. Este procedimento torna o composto um meio seletivo, favorecendo o crescimento do cogumelo (Hayes, 1980; Minnigerode, 1981; Chang & Miles, 1989). Segundo Gerrits (1977), quimicamente o processo é caracterizado pela utilização de carboidratos prontamente disponíveis na massa pelos microrganismos termófilos e pela incorporação ou volatilização de amônia, de forma que sua concentração final no composto não seja tóxica ao cogumelo. Flegg et al. (1985) citam que o tempo necessário para completar a Fase II de compostagem é governado por três fatores principais: temperatura, nível inicial de amônia e aeração.

Stamets & Chilton (1983) citam que o preparo do substrato de cultivo pode ser feito por dois procedimentos: compostagem longa e compostagem curta. A compostagem longa tem duração de 25-27 dias na Fase I, e 2-3 dias na Fase II, e a compostagem curta, com duração de 8-9 dias e 8 dias, respectivamente. Segundo Flegg et al. (1985) a Fase I pode durar de 7 a 14 dias, e a Fase II, de 4 a 8 dias.

O túnel ou câmara de pasteurização é uma instalação feita geralmente em alvenaria, onde a massa de composto fica empilhada com altura de 2 metros. O piso é vazado formando um "plenum" por onde o ar é insuflado para o composto através de ventilador centrífugo. Durante a ventilação, o ar é recirculado dentro do túnel e misturado com ar ambiente, possibilitando o controle da temperatura da massa do composto (Flegg et al., 1985; Vedder, 1991). A pasteurização deve ocorrer a temperaturas ao redor de 60°C, com duração de 2 a 6 horas, quando então deve ser abaixada para aproximadamente 50°C para o condicionamento final do composto. Terminada a Fase II, o composto deve ser esfriado para níveis de temperatura entre 26 e 28°C, adequados à inoculação e desenvolvimento do micélio do *Agaricus* (Stamets & Chilton, 1983; Flegg et al., 1985; Chang & Miles, 1989).

4.1.2 Inoculação e colonização do composto

A inoculação é a transferência do fragmento do micélio do cogumelo para o composto preparado, para que o fungo se desenvolva e o colonize. A produção do inóculo inicia-se pelo isolamento do fungo, através de fragmentos de um basidiocarpo de cogumelo sadio, em meio de cultura estéril e sob condições assépticas, para formar a matriz primária. Em seguida, fragmentos da matriz primária são transferidos para outro meio, geralmente grãos de trigo cozidos e autoclavados, formando a matriz secundária, cujos fragmentos são utilizados para a produção do inoculante ou "spawn" (Zadrazil & Grabbe, 1983; Rajarathnan & Bano, 1987; Chang, 1991; Eira & Minihoni, 1997).

Os meios de cultura normalmente utilizados na produção do inoculante são grãos de cereais, como trigo, sorgo, milho e aveia (Stamets & Chilton, 1983; Abe et al., 1990; Ferreira, 1992; Bononi et al., 1995; Eira & Braga, 1997).

Após a inoculação, o micélio do *A. blazei* deve desenvolver-se no substrato de forma vigorosa e livre de contaminações. Se a fase de crescimento do micélio não ocorrer com rapidez suficiente, outros organismos podem estabelecer-se no composto e interferir em seu crescimento.

O desenvolvimento do micélio de *Agaricus* no composto poderá ocorrer dentro de prazo variável. De acordo com Stamets & Chilton (1983) e Vedder (1991), a quantidade de inóculo, a umidade do composto e as condições ambientais na câmara de incubação são fatores a serem considerados para o ótimo desenvolvimento do micélio. Esses

autores citam ainda que o conteúdo de umidade do substrato deve ser de 65-66% e a temperatura de 25°C.

A quantidade de inoculante a utilizar é um dos fatores que definirá a velocidade de crescimento do micélio no composto. Quanto maior e mais uniforme for a quantidade de “semente” adicionada, mais rápido o micélio irá colonizar o substrato. Braga et al. (1997) citam que para a adequada colonização de *A. blazei* no composto, a quantidade de inoculante deve ser de 10 a 20kg por tonelada de composto, ou seja, 1 a 2% da massa de composto, cuja colonização deverá ocorrer em período de 20-25 dias. Quimio et al. (1990) sugerem 6 kg de inoculante de *A. bisporus* por tonelada de composto úmido, estando colonizado após 12-14 dias. Vedder (1991) recomenda 7 litros de inoculante por tonelada de composto.

A completa colonização do composto ocorre quando fica nítida a ocorrência de uma teia branca, lembrando um emaranhado de fios de seda sobre a superfície do composto, formando bloco coeso, momento em que está pronto para receber a camada de cobertura (Eira & Minihoni, 1997).

Em alguns cultivos de champignon, a fase de colonização do composto ocorre no mesmo local de produção de cogumelos, onde este composto é colocado em camas dispostas em prateleiras de madeira, ou metálicas, ou em caixas de madeira (Stamets & Chilton, 1983; Vedder, 1991). Em cultivos pouco tecnificados, geralmente utilizam-se sacos plásticos dispostos em prateleiras (Quimio et al., 1990). No Brasil, tradicionalmente utiliza-se sacos plásticos de polietileno para acomodar o composto nas fases de colonização e produção, pois são de baixo custo e práticos, facilitando a erradicação de possíveis focos de contaminações (Bononi et al., 1995; Eira & Braga, 1997).

Em cultivos de *A. blazei*, a maioria dos produtores utiliza os sacos plásticos como embalagem do substrato, para a etapa de colonização do micélio. Recentemente, com a adaptação de algumas técnicas de produção, esta etapa têm sido feita colocando-se o substrato em camas sobre prateleiras ou caixas de madeira (Braga et al., 1998).

4.1.3 Cobertura do substrato de cultivo e produção

A cobertura do substrato é a etapa do cultivo em que se adiciona terra e/ou outro material sobre o substrato colonizado. Ela é responsável pela variação ambiental

necessária para a mudança fisiológica no comportamento do micélio, que passa do estado vegetativo para o reprodutivo, ou seja, induz a formação de primórdios de basidiocarpos (Hayes et al., 1969; MacCanna, 1984; Flegg et al., 1985; Vedder, 1991). É, portanto, um dos fatores mais importantes na produtividade e uniformidade na colheita.

Segundo Stamets & Chilton (1983), as funções básicas da camada de cobertura do substrato são: proteger o substrato colonizado contra a perda de umidade; promover microclima úmido para a formação e desenvolvimento dos primórdios; servir como reservatório de água para os cogumelos em crescimento e favorecer o desenvolvimento de microrganismos benéficos à frutificação. Os autores citam também que no preparo da camada de cobertura, o material deve ser escolhido cuidadosamente e de acordo com suas propriedades físicas e químicas como: capacidade de retenção de água; porosidade adequada; possuir microbiota benéfica; servir como fonte de nutrientes para o desenvolvimento dos cogumelos; possuir pH entre 7,0 e 7,5, e estar livre de insetos, nematóides e microrganismos competidores. Flegg et al. (1985) acrescentam que a camada de cobertura deve favorecer a formação de gradientes de concentração de CO₂ e possuir condição diferenciada de nutrientes com o substrato de cultivo.

Esta etapa de cultivo está praticamente bem dominada em cultivos de *A. bisporus*, porém, nenhum estudo científico foi relatado sobre a camada de cobertura do substrato em cultivos de *A. blazei*, relativo aos fatores que a envolvem com a indução de primórdios e produção.

Em cultivos de *A. bisporus*, diversos materiais têm sido utilizados como camada de cobertura do substrato. Na Europa é comum o uso de turfa misturada com areia e CaCO₃ (Vedder, 1991; Noble & Gase, 1995). No Brasil, vários produtores utilizam o solo de superfície como camada de cobertura, adicionando-se apenas o calcário como corretivo do pH (Bononi et al., 1995; Eira & Minhoni, 1997).

A camada de cobertura utilizada no cultivo desprotegido de *A. blazei* tem sido o solo retirado durante a preparação dos canteiros. Normalmente não é feito tratamento deste solo, apenas adiciona-se calcário para corrigir o pH ao redor de 7. A falta de controle das condições ambientais e a ausência de critérios na escolha e uso da camada de cobertura do substrato, têm ocasionado baixa produtividade (Braga et al., 1998).

Outros materiais são relatados como camada de cobertura do substrato de *Agaricus* como: solos orgânicos; resíduo de carvão vegetal (Eger, 1962); vermiculita (Noble & Gase, 1995), resíduos de papel picado (Dergham & Lelley, 1995), entre outros.

A indução de primórdios está associada ao crescimento do micélio no substrato de cultivo. As exigências para o desenvolvimento dos corpos frutíferos dos cogumelos na camada de cobertura são distintas das condições favoráveis à fase de crescimento "vegetativo" do *Agaricus*.

Existe uma relação íntima entre o crescimento do micélio, indução de primórdios e concentração de CO₂ na camada de cobertura (Tschierpe 1973; Peerally, 1978). Os primórdios formam-se na camada de cobertura a uma profundidade onde a concentração de CO₂ é favorável, sendo variável em função de suas temperatura, umidade, porosidade, pH e microbiota (Flegg, 1953; Visscher, 1978; Tschierpe, 1973). O crescimento do micélio do *Agaricus*, na fase vegetativa, ocorre à concentração de CO₂ ao redor de 6700 ppm e para a fase de frutificação, níveis entre 300 e 1000 ppm são considerados ideais (Long & Jacobs, 1968).

Segundo Kalberer (1995), a produção do *Agaricus* envolve duas camadas horizontais, sendo uma o substrato de cultivo, geralmente com profundidade de 15-20 cm e, sobreposta a esta, a camada de cobertura, com 3 a 6 cm de espessura. O autor cita ainda que o teor de matéria seca do *A. bisporus* é influenciado por: período de colheita; fase de desenvolvimento do cogumelo; espessura ou profundidade da camada de cobertura e pelos potenciais de água da camada de cobertura e do substrato, concluindo que o conteúdo de matéria seca dos cogumelos aumenta com a diminuição do potencial de água da camada de cobertura. Kalberer (1985) verificou que camadas de cobertura mais finas produziram cogumelos com maior conteúdo de matéria seca, porém a produtividade em base úmida foi menor.

O início de formação de primórdios, após a colocação da camada de cobertura no substrato, pode ser muito variável em cultivos de *A. blazei*. Isto tem sido verificado com frequência devido, principalmente, à falta de controle das condições ambientais no cultivo, ocasionando enormes variações, principalmente na temperatura e na umidade relativa do ar. No período de colheita, é favorável manter a temperatura no interior da casa de cultivo entre 25 e 30°C, e a umidade relativa do ar, ao redor de 80%, porém

temperaturas acima de 35°C inibem a indução dos primórdios. Também é necessário garantir boa renovação do ar através de ventilação (Braga et al., 1998).

4.1.4 Sistemas de cultivo

São praticados dois sistemas de cultivo: desprotegido ou a céu aberto, que ainda é o mais utilizado por produtores, e o cultivo protegido, em ambiente fechado. O cultivo desprotegido de *A. blazei* consiste na colocação direta do substrato colonizado em covas ou sulcos lineares (canteiros) feitos no solo e a céu aberto. Dependendo da região onde se deseja produzir o *A. blazei*, a época ideal de cultivo, no sistema a céu aberto, ocorre no período compreendido entre a primavera e o verão, podendo, em alguns casos, chegar até meados de outono. O cultivo protegido de *A. blazei* é feito em estufas plásticas, porém com resultados de produtividade ainda insatisfatórios devido à falta de tecnologia adequada (Braga et al., 1998).

4.2 Fatores de produtividade

O início da formação de primórdios, após a colocação da camada de cobertura no substrato de *Agaricus*, pode ocorrer em tempo variável e é dependente de uma série de fatores, como estágio de colonização do micélio no substrato no momento em que é coberto, temperatura ambiente, concentração de CO₂, e características do próprio material de cobertura. Em cultivos tecnificados de *A. bisporus*, o início das frutificações ocorre de 17 a 21 dias após a cobertura do substrato. A formação dos primórdios ocorre em uma sucessão de fluxos e com intervalos de 6 a 12 dias (Flegg et al., 1985).

A variação da espessura da camada de cobertura do substrato promove diversos efeitos na indução de primórdios e produtividade de basidiocarpos. O uso de camadas de cobertura menores que 2,5 cm de espessura facilita o ressecamento e a formação de estroma e, conseqüentemente, diminui a produtividade. Camadas de cobertura mais espessas induzem maior número de frutificações (Vijay et al., 1987).

Camadas de cobertura de 3 cm de espessura necessitam de maior freqüência de irrigação, quebrando o equilíbrio de gases no processo de indução de primórdios

(Flegg, 1953). O uso de camadas com espessura superior a 5 cm retém mais água e proporcionam melhor proteção do substrato contra o ressecamento, permitem também maior absorção de água pelo cogumelo, promovem o aumento no número de cogumelos e a redução do seu tamanho e da sua massa seca. Em ambientes com menor controle das condições ambientais, é recomendado o uso de camadas de cobertura mais espessas (MacCanna, 1984; Hayes et al., 1978).

Os fatores físicos relacionados à camada de cobertura do substrato são relatados como determinantes na produtividade de *Agaricus bisporus* (Flegg et al., 1985). A produtividade, em relação à espessura da camada de cobertura, é muito variável e se relaciona com as características físicas, químicas e biológicas do material utilizado (Colauto, 1998).

A maioria dos fatores que afetam o crescimento micelial no substrato, também se aplica ao seu desenvolvimento na camada de cobertura, mas não à indução de frutificação dos cogumelos. Enquanto altos níveis de salinidade e altas concentrações de CO₂ favorecem o crescimento micelial, estes fatores são inibidores da frutificação. As interações entre as propriedades físicas dos materiais utilizados na cobertura, o ambiente de cultivo, o planejamento da colheita e o comportamento do cogumelo a certos fatores, podem ter influência importante na produção e produtividade de *A. bisporus* (Flegg et al., 1985).

Dentre os diversos fatores que afetam o crescimento e a produção de cogumelos, a temperatura é um dos mais importantes e vital para a cultura de cogumelos. O ambiente úmido associado a níveis favoráveis de temperatura, influem diretamente na frutificação e desenvolvimento do *A. bisporus* (Chang & Miles, 1989).

O processo de indução de primórdios de *Agaricus* envolve complexa interação entre diversos fatores de ordem química, física e biológica. Entre esses fatores, a temperatura é citada como uma das mais importantes (Peerally, 1978). Para alguns cogumelos, a indução de primórdios ocorre por processos de estresse químico ou físico. Segundo San Antonio (1981), Quimio et al. (1990) e Bononi et al. (1995), a indução de primórdios em *L. edodes* ocorre com a imersão das toras colonizadas em água a baixas temperaturas.

Considerando que os basidiocarpos contêm aproximadamente 90% de água, o rendimento da produção será determinado pelo relacionamento íntimo entre a disponibilidade de nutrientes do substrato, as quantidades de água contidas no substrato e na camada de cobertura e a regularidade das irrigações (Flegg et al., 1985). A água necessária ao

desenvolvimento dos cogumelos provém do substrato e da camada de cobertura, sendo que este último contribui com maior quantidade, evidenciando a importante necessidade de promover irrigações sistemáticas a fim de manter a umidade da camada de cobertura em níveis favoráveis (Kalberer, 1983).

Não há ainda método que possa determinar o rendimento potencial de produção de um determinado substrato. A produtividade de *A. bisporus*, por área de cultivo, pode ser aumentada utilizando-se maiores massas de substrato, mas a produtividade por massa é decrescente (Flegg et al., 1985). A causa freqüente de declínio de produtividade de camas de cultivo mais espessas, pode ser atribuída às temperaturas excessivas que podem ocorrer durante a colonização do micélio e logo após a colocação da camada de cobertura no substrato. Outro fator que influencia este declínio é a maior distância, na qual nutrientes das camadas mais baixas do substrato são mais dificilmente transportados para os esporóforos formados na superfície da camada de cobertura. Em cultivos de *A. bisporus* com camadas de substrato de 2,5 e 5,0 cm, a produtividade pode chegar a valores entre 250 e 350 kg de cogumelos frescos por tonelada de substrato, enquanto que camadas de cobertura com 12,5 cm produziram 125 a 250 kg/ton (Flegg & Ganney, 1973).

O número de cogumelos colhidos é uma importante avaliação da produtividade, assim como o é também o peso colhido. Considerando que o peso de cogumelos colhidos pode, algumas vezes, estar associado às quantidade e qualidade do substrato, o número de cogumelos é ainda menos previsível. Quando a massa do composto por unidade de área aumenta, o número de cogumelos por unidade de área também aumenta na mesma proporção da massa de cogumelos colhidos. A situação torna-se mais complexa ao se observar que grandes variações de números de cogumelos ocorrem para uma mesma massa de substrato em diferentes fases da colheita, em um mesmo cultivo (Cooke & Flegg, 1962).

O método para expressar o rendimento ou a produtividade, tanto para fins práticos ou científicos é fator importante e deve ser estabelecido. A Sociedade Internacional de Ciência do Cogumelo recomenda que seja citado o rendimento ou produtividade com base no peso, em kg, de cogumelos frescos por tonelada de composto preparado e pronto para ser inoculado. Outras expressões também devem ser consideradas como: massa de composto por unidade de área; profundidade da cama; umidade do composto e fase de maturidade dos cogumelos. Em uma unidade de produção que possui área fixa de

cama ou superfície de cultivo, é crucial que o rendimento de cogumelos seja determinado pela área disponível de cama. Outro método utilizado em pesquisas científicas é a eficiência biológica, expressa pelo peso fresco ou seco de cogumelos produzidos por unidade de matéria seca do composto (Flegg et al., 1985).

4.3 Ambientes protegidos

O ambiente protegido tem função primordial na produção de cogumelos, considerando os aspectos de economicidade e praticidade, onde é criado ambiente mais favorável às espécies cultivadas, cuja produção possa ocorrer em qualquer época do ano. Torna-se, assim, evidente a importância das estufas ou dos abrigos, cujas funções essenciais são permitir produções fora de época, ou forçadas, criando as condições ambientais exigidas pelas espécies nas diferentes fases de crescimento e proteção no que se refere às repetidas condições climáticas desfavoráveis que, por vezes, prejudicam a produção.

A solução de problemas relacionados à produção agrícola em épocas climaticamente desfavoráveis, pode ser obtida pela aplicação de medidas que visam a alteração do microclima de determinado ambiente. Nesse aspecto, o insumo que tem sido largamente utilizado é o filme plástico. Além do seu uso no inverno, objetivando o aproveitamento do efeito estufa, sua aplicação pode ser aproveitada também como proteção contra chuvas (Alpi & Tognono, 1978).

Em termos gerais, as estufas são as construções utilizadas em regiões frias, justamente para proteger o cultivo e armazenar a energia do sol através do efeito estufa. Uma estufa para exercer sua função primordial, deve ser planejada de tal forma a possuir área e volume de acordo com o clima de cada região. Quanto maior a estufa, maior também será sua capacidade energética, pois assim armazenará quantidade elevada de massa de ar quente para suportar o período de ausência do sol (Sganzerla, 1995).

Numa estufa a quantidade de radiação solar que atravessa o material de cobertura depende do ângulo de incidência e das propriedades do material de revestimento, podendo passar até 85% do fluxo incidente. O calor da atmosfera no interior da estufa aumenta à medida que a energia calorífica cresce no exterior e será tanto maior, quanto maior for a

vedação da construção. Portanto, durante o dia, em presença da radiação solar, a temperatura média do ar dentro de uma estufa pode aumentar muito (50°C) e tornar-se prejudicial à maioria das culturas (Alpi & Tognono, 1978). Em cultivos de *A. blazei* temperaturas como essas não devem ocorrer pois inibem a indução e frutificação de primórdios dos cogumelos (Braga et al., 1998).

Os meios e sistemas destinados ao controle de temperatura dentro de uma estufa podem tanto diminuir como aumentar o calor interno. Vários recursos para evitar a ocorrência das altas temperaturas geradas na estufa podem ser adotados com relativa eficiência, dependendo do caso. Esse controle da temperatura pode ser conseguido por meio de sombreamentos através de filmes plásticos pigmentados ou opacos e sombrites, pela retirada do ar aquecido interno por ventilação forçada ou sistemas convectivos naturais (termossifões) e por processos de resfriamento evaporativo da água ou "cooling system" (Alpi & Tognono, 1978).

Mesmo considerando-se todos esses fatores, as vantagens do sistema de cultivo protegido de *A. blazei*, comparado ao cultivo em canteiros desprotegidos a céu aberto são inúmeros. Ao se abrigar ou proteger o cultivo, tem-se um relativo controle das condições ambientais, podendo estender o período de colheita ao longo do ano e possibilitando maior controle de pragas e doenças, com menores riscos para a produção (Braga et al., 1998).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi executado avaliando-se três condições ambientais de cultivo, três espessuras de camada de cobertura, duas massas de substrato e o efeito de choques térmicos no substrato de cultivo, sobre a frutificação e produtividade de *A. blazei*. Para tanto, foram realizadas três avaliações a saber:

- 1 - Frutificação e produtividade de *A. blazei* em função da massa do substrato e da espessura da camada de cobertura, em duas condições ambientais de cultivo protegido.
- 2 - Frutificação e produtividade de *A. blazei*, em função de choques térmicos no substrato de cultivo.
- 3 - Produtividade de *A. blazei* em função de três diferentes condições ambientais de cultivo protegido.

Todas as avaliações foram conduzidas na área experimental do Departamento de Defesa Fitossanitária (Módulo de Cogumelos) – FCA, UNESP, “Campus” de Botucatu.

5.1. Procedimentos e material utilizado no preparo do substrato de cultivo.

Os substratos de cultivo foram preparados segundo metodologia utilizada para o *A. bisporus* e inclui as seguintes etapas (Chang & Miles, 1989; Vedder, 1991; Eira & Braga, 1997):

- ◆ Material e formulação do composto;
- ◆ Compostagem Fase I;
- ◆ Compostagem Fase II;
- ◆ Inoculação ou “semeadura”;
- ◆ Colonização do substrato inoculado;
- ◆ Preparo da camada de cobertura.

5.1.1. Material e formulação do composto

Os materiais utilizados no preparo do composto orgânico foram: bagaço de cana-de-açúcar residuário de usina de álcool; cama de baia de cavalo com feno de Coast Cross; capim brachiaria e farelo de soja. Amostras foram retiradas desses materiais e enviadas para análise no Departamento de Solos da FCA-UNESP, Botucatu, onde foram determinados os conteúdos de N e C, necessários à formulação do composto (Quadro 1).

Quadro 1- Porcentagens de C e N, e relação C/N dos materiais utilizados na formulação do composto para o preparo dos substratos de cultivo de *A. blazei*.

Materiais	%N	%C	C/N
Cama de cavalo	1,4	48,0	28/1
Capim brachiaria	1,0	50,0	50/1
Bagaço de cana-de-açúcar	0,3	57,3	184/1
Farelo de soja	6,56	46,0	7/1

Fonte: Depto de Solos da FCA – UNESP, Botucatu.

Com relação ao volume de composto a ser preparado, considerou-se a capacidade do túnel de pasteurização do Módulo de Cogumelos, o qual era de aproximadamente 6,0 toneladas de composto úmido. Desta forma, o cálculo de massa necessária foi feito a partir da massa final de substrato a ser preparada. Admitiu-se, para efeito de cálculo, que a massa final do substrato possuía aproximadamente 65% de umidade. Assim, a matéria seca final (MSf) foi determinada aplicando-se o seguinte cálculo:

$$MSf = 6,0 \cdot 0,35$$

$$MSf = 2,10 \text{ ton.}$$

Como a perda de matéria seca durante as compostagens Fases I e II é de aproximadamente 35% (Eira & Braga, 1997), aplicou-se um fator de correção para determinar a massa da matéria seca inicial (MSi) do composto, conforme o seguinte cálculo:

$$MSi = 2,10 \div 0,65$$

$$MSi = 3,23 \text{ ton.}$$

Assim, os materiais e a formulação utilizados na preparação do composto orgânico são apresentados no Quadro 2 abaixo. A escolha dessa formulação foi baseada em Braga & Eira (1998).

Quadro 2- Materiais e formulação do composto para o preparo do substrato de cultivo de *A. blazei* utilizado nos experimentos.

Materiais	Percentuais (%)	Massa seca (kg)	Massa de N (kg)	Massa de C (kg)
cama de cavalo c/ feno	20	646,2	9,05	310,2
bagaço de cana de açúcar	35	1130,8	3,39	647,9
capim brachiaria	25	807,7	8,08	403,8
farelo de soja	10	323,1	20,23	148,6
sulfato de amônia	3,0	96,9	19,38	
calcário	4,0	129,2		
super fosfato simples	1,0	32,3		
gesso	2,0	64,6		
total	100	3230,8	60,13	1510,5
C/N inicial: 25; Conteúdo de N inicial: 1,9%				

5.1.2. Compostagem Fase I.

A compostagem Fase I foi realizada em área coberta e piso de concreto, onde ocorreram a montagem da pilha ou meda de compostagem com os materiais volumosos (cama de cavalo, bagaço de cana de açúcar e capim brachiaria), as reviradas, o umedecimento e a suplementação (adição de farelo de soja, sulfato de amônia, calcário, super fosfato simples e gesso). A dinâmica de irrigações e reviragens ocorreu de acordo com o cronograma mostrado no Quadro 3 abaixo.

Quadro 3- Cronograma de execução da compostagem Fase I.

Etapas	Procedimento	Período acumulado
Montagem da meda	Em camadas + água	1 ^o dia
1 ^a Revirada	água	5 ^o dia
2 ^a Revirada	Suplementação + água	7 ^o dia
3 ^a Revirada		9 ^o dia
4 ^a Revirada	-	11 ^o dia
Carregamento do pasteurizador	-	13 ^o dia

5.1.3. Compostagem Fase II

A compostagem Fase II ocorreu em uma câmara ou túnel de pasteurização (instalação em alvenaria possuindo um “plenum” no piso com 20cm de altura) com dimensões de 2,5 x 5,0m por 2,5m de altura e possuindo sistema de ventilação para a aeração e recirculação do ar na massa de composto, conforme mostra a Figura 1.

Após ter passado pela Fase I, o composto foi transferido para o túnel e submetido à pasteurização e ao término do seu condicionamento físico químico e biológico.

A pasteurização foi realizada injetando-se vapor d’água (produzido por uma caldeira) na massa de composto, por tubulações abaixo da massa (no plenum) e durou cerca de 12 horas, com temperatura de 60 a 65°C.

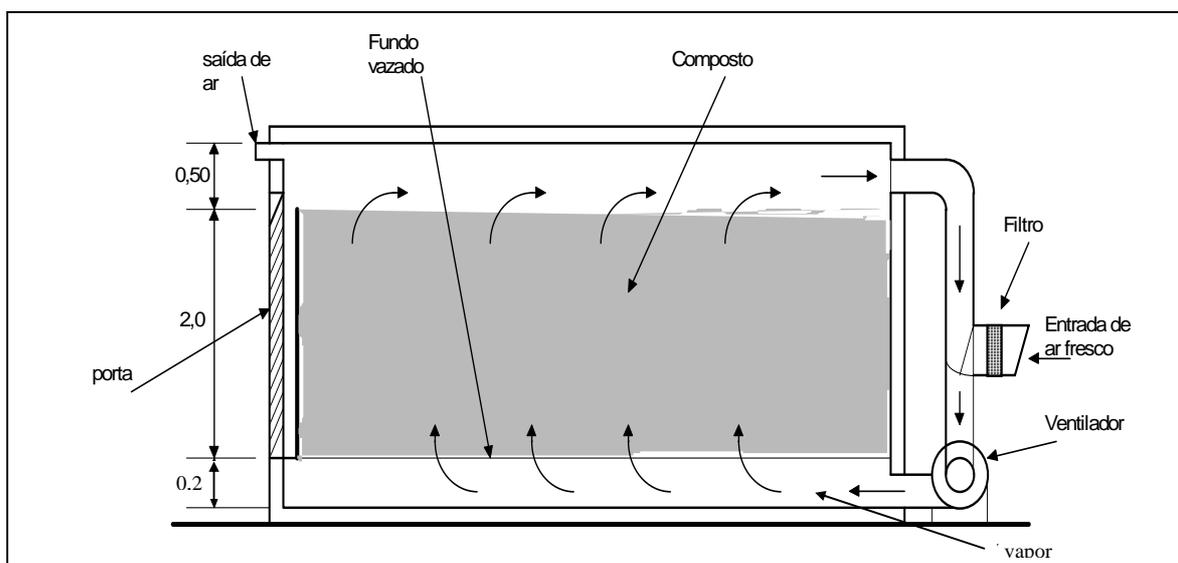


Figura 1- Câmara ou túnel de pasteurização e condicionamento do composto.

Após a pasteurização, procedeu-se ao término do condicionamento da massa de composto, com temperaturas entre 45 e 50°C, por período de 8 dias.

O controle das temperaturas foi feito pelas regulagens dos registros de passagem de ar quente recirculado (200m³/ton.h) e ar externo (cerca de 10%), que compõem o sistema de ventilação e aeração. O monitoramento das temperaturas foi feito por termômetros cujos sensores foram introduzidos no interior da massa.

Ao final do processo, a massa foi esfriada até aproximadamente 28°C, ventilando-a com o ar ambiente, à mesma razão de aeração especificado acima.

5.1.4. Produção do inoculante (“semente”)

Na produção do inoculante, foi utilizada matriz secundária proveniente de culturas armazenadas no banco de matrizes do Módulo de Cogumelos, linhagem AB 97/12, a partir de basidiocarpos de *A. blazei* coletados em Piedade, SP, no verão de 1997. A identificação da espécie foi feita de acordo com Heinemann (1993).

Foram utilizados grãos de trigo, procedentes da Fazenda Experimental da FCA/UNESP de Botucatu, na quantidade de 50 kg. Os grãos foram primeiramente cozidos em água fervente por aproximadamente 30 minutos. A seguir, o excesso de água foi escorrida

dos grãos, quando então foi adicionado, a eles, carbonato de cálcio e gesso nas quantidades de 1 e 3%, respectivamente, do peso dos grãos cozidos. Após ter sido homogeneamente misturado com esses ingredientes, os grãos, ainda quentes, foram acondicionados em frascos de vidro cujos volumes eram de 650 ml. Foram colocados, aproximadamente, 500 g de grãos em cada frasco, ou 2/3 de seu volume, num total de 160 frascos. Os frascos, assim cheios, foram tampados com tampas perfuradas centralmente, onde foram colocados chumaços de algodão para permitir a passagem de oxigênio para o interior dos frascos de vidro. Após rosqueadas nos frascos, as tampas foram protegidas com uma folha de papel e, então, todos os frascos foram colocados em alto clave e esterilizados à 1 atm (120°C) por 3 horas.

Após o processo de esterilização, os grãos contidos nos frascos foram postos a esfriar à temperatura de aproximadamente 25°C e, então, foram inoculados com fragmentos de matriz secundária, em condições adequadas de assepsia, dentro de uma câmara de fluxo laminar. Após inoculados, os grãos, ainda nos frascos, ficaram em incubação em ambiente à 25°C, durante aproximadamente 30 dias. Após esse período, os grãos de trigo haviam sido colonizados pelo micélio do *A. blazei*, ficando nítido o aspecto esbranquiçado das hifas e rizomorfias do fungo, estando pronto para ser inoculado no substrato de cultivo.

5.1.5. Inoculação e colonização do substrato

Ao final da Fase II de compostagem, o composto foi embalado e inoculado. A embalagem utilizada na etapa de colonização do *A. blazei* foi o saco plástico preto reciclado de polietileno, com capacidade para 60 litros, e o inoculante utilizado foi produzido no Módulo de Cogumelos, de acordo com o item 5.1.4..

A inoculação foi realizada distribuindo-se o inoculante em camadas durante a colocação do substrato nos sacos plásticos. Os sacos, ao final da inoculação e enchimento, continham aproximadamente 15,0 kg cada. A quantidade de inoculante utilizado foi de 1,0% da massa de substrato por saco, ou seja, 150 g. Durante a inoculação, foram tomados todos os cuidados de higiene e assepsia para evitar possíveis contaminações.

Após a inoculação, o substrato ensacado foi transferido para uma sala, com temperatura regulada para 26°C ± 2°C e disposto em prateleiras. O período de incubação

foi de aproximadamente 30 dias, quando o substrato colonizado apresentava-se como bloco consistente, com crescimento micelial vigoroso, coloração branca e odor característico.

Após colonizado, o substrato foi transferido dos sacos para caixas plásticas com as dimensões de 0,35 x 0,48 cm por 0,40 cm de altura, caracterizando assim as parcelas experimentais, nas quantidades especificadas em cada tratamento.

5.1.6. Preparo da camada de cobertura

Na execução dos experimentos, utilizou-se como camada de cobertura uma mistura de 75% de terra proveniente de latossolo vermelho mais 25% de carvão moído. A terra de latossolo possuía textura argilosa (28, 52 e 20%, respectivamente areia, silte e argila) e foi proveniente da Fazenda Experimental da FCA – UNESP, Botucatu e teve seu pH corrigido previamente.

O carvão moído é um material residuário de máquinas empacotadoras de carvão para churrasco e foi obtido da Carvoaria Tomas, localizada no Município de São Manuel, SP. A caracterização desse material é apresentada no Quadro 4.

A mistura dos materiais foi feita manualmente, com o auxílio de pá e enxada. Durante a mistura, promoveu-se o umedecimento dos materiais (próximo à capacidade de campo), pela adição de água com o auxílio de regador. A mistura foi feita com 15 dias de antecedência da cobertura do substrato, quando foi desinfestada com formol (segundo metodologia descrita por Eira & Braga, 1997) e protegida com lona plástica.

Todas as análises do material de cobertura foram realizadas no Departamento de Solos da FCA/UNESP, campus de Botucatu.

Quadro 4- Caracterização química dos materiais utilizados no preparo da camada de cobertura do substrato de cultivo dos experimentos.

MATERIAL	pH	M.O. ^{***}	P ^{**}	H+Al [*]	K [*]	Ca [*]	Mg [*]	SB [*]	CTC [*]	V%
Latossolo vermelho	4.2	6	3	75	0.3	11	4	15	91	17
Latossolo verm.+ calcário calcítico	7.7	15	19	7	0.9	280	68	354	361	98
Latossolo verm.+ calcário calcítico + Carvão	7.8	99	2	9	1,0	150	138	289	298	97

* - mmol/dm³; ** - mg/dm³; *** - g/dm³

5.1.7. Metodologia de colheita

Os cogumelos foram colhidos manualmente e o ponto de colheita foi estabelecido quando os cogumelos atingiram o maior tamanho, no seu estágio imaturo, com o chapéu ainda fechado ou na iminência de abrir.

Após colhidos, os cogumelos foram limpos e a base das estipes (“pés”) foram raspados com uma faca para a retirada de frações da cobertura e micélio que normalmente ficam aderidas a elas.

A pesagem dos cogumelos, após colhidos, foi feita em balança digital com precisão de 0,1g .

5.1.8. Parâmetros de avaliação

Os parâmetros avaliados nos experimentos foram:

- ◆ produtividade de cogumelos por unidade de área de cultivo: kg de cogumelos frescos / m² de superfície de cultivo;
- ◆ produtividade de cogumelos por massa de substrato: kg de cogumelos frescos / 100 kg de massa de substrato úmido;
- ◆ número de cogumelos colhidos;
- ◆ Massa média por cogumelo colhido, em g ;
- ◆ Eficiência biológica EB: (kg de cogumelos frescos / kg de massa seca de substrato) x 100, expressa em % (Rajarithnam & Bano, 1987; Flegg et al., 1985; Eira & Minhoni, 1997).

5.2. Frutificação e produtividade de *A. blazei* em função da massa do substrato e da espessura da camada de cobertura, em dois ambientes de cultivo protegido.

O experimento constou de doze tratamentos, combinando os fatores massa de substrato (nos níveis de 5 e 10kg), espessura da camada de cobertura do substrato (nos níveis de 3, 5 e 8 cm) e ambiente de cultivo protegido (cobertura com bambu e cobertura com lona plástica), conforme Quadro 5.

Quadro 5- Tratamentos em função da combinação entre massa do substrato, espessura da camada de cobertura e tipo de ambiente protegido.

Tratamentos	Ambiente de cultivo	Massa de substrato (kg)	Espessura da camada de cobertura (cm)
1	Bambu	5	3
2		10	3
3		5	5
4		10	5
5		5	8
6		10	8
7	Plástico	5	3
8		10	3
9		5	5
10		10	5
11		5	8
12		10	8

Após a colonização, o substrato contido nos sacos plásticos foi transferido para as caixas plásticas. Dessa forma, a massa de substrato de 5kg equivalia à relação de 30 kg de substrato colonizado/m² e a massa de 10kg à relação de 60 kg/m². Esta transferência foi feita acomodando-se o substrato de forma a preencher todos os cantos da caixa e nivelando-o, para garantir a homogeneidade de distribuição do material de cobertura. Foram preparadas o total de 60 caixas, representando as unidades experimentais (5 repetições por tratamento).

Após a transferência do substrato e adição manual da cobertura, as caixas ficaram quatro dias em ambiente a 27°C (sala construída em alvenaria com sistema de controle da temperatura interna), para a reorganização do micélio.

5.2.1. Ambientes de condução do experimento

Conforme salientado, este experimento foi conduzido em dois ambientes: estrutura rústica construída com cobertura e fechamentos laterais de bambu, e estrutura construída com arcos metálicos e fechada com lona plástica.

A estrutura com fechamento em bambu possuía dimensões de 8 x 8m por 3m de altura, conforme esquematizado na Figura 2. Internamente a ela, as caixas com o substrato colonizado foram colocadas próximas ao piso (solo batido) e sobre toras roliças de eucalipto, formando três fileiras de caixas. A ventilação, nessa estrutura, ocorreu de forma natural, através da passagem do ar pelos espaços entre os bambus.

A estrutura coberta com lona plástica tinha as seguintes dimensões: 8 x 4m por 2,5m de altura, possuindo sistema de ventilação forçada por intermédio de dois ventiladores conforme mostra a Figura 3. A lona plástica colocada como cobertura possuía cor azul e, no lado da estrutura voltado ao poente, foi pintada externamente de branco (tinta latex), como forma de inibir a incidência de radiações solares no interior do ambiente de cultivo. A lona plástica utilizada era da marca “Carreteiro”, com espessura de 1 mm. Em seu interior, as caixas com o substrato colonizado foram colocadas em prateleiras suspensas de madeira.

Após o período de quatro dias para reorganização do micélio (27°C), todas as 60 caixas foram colocadas no ambiente com cobertura de bambu. Logo após, procedeu-se à cobertura do substrato com o material preparado segundo descrito no item 5.1.5. Após aproximadamente 47 dias deste procedimento, transferiu-se, ao acaso, a metade de todos os tratamentos, ou seja, 30 caixas, para o interior do ambiente coberto com lona plástica.

Ambas as estruturas possuíam sistema para microaspersão de água para o umedecimento automática do ar ambiente (higrostato com sensor de molhamento). A manutenção da umidade da camada de cobertura do substrato foi feita através de irrigação manual, utilizando-se regador de plástico.

As temperaturas máxima e mínima foram monitoradas e registradas com o auxílio de um termômetro de máxima e mínima, instalado no interior das casas de cultivo.

Ambas as estruturas proporcionavam um ambiente interno sombreado durante o dia.

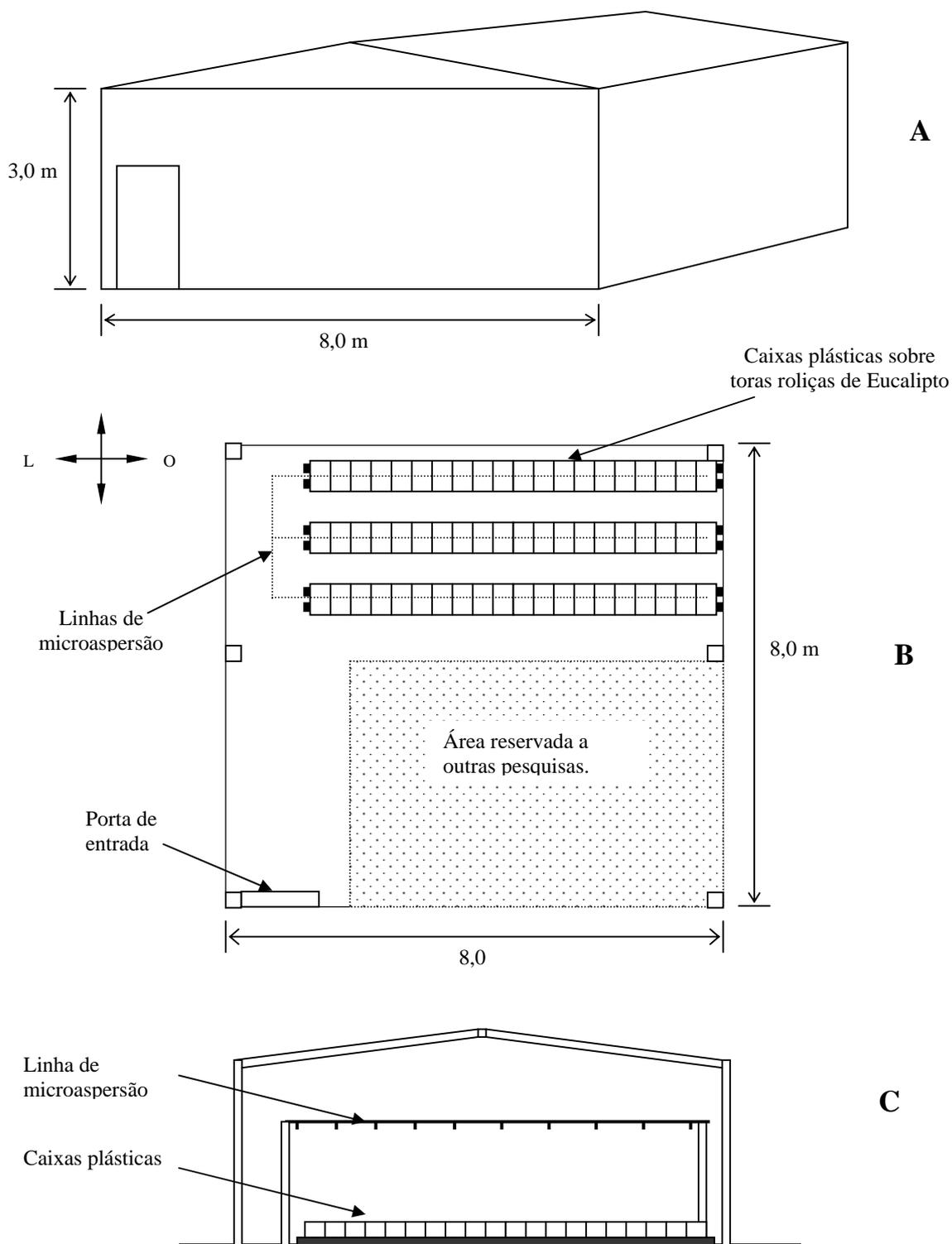


Figura 2. Esquema da estrutura coberta com bambu (paredes e telhado) segundo os planos: A- em perspectiva; B- corte horizontal e C- corte vertical.

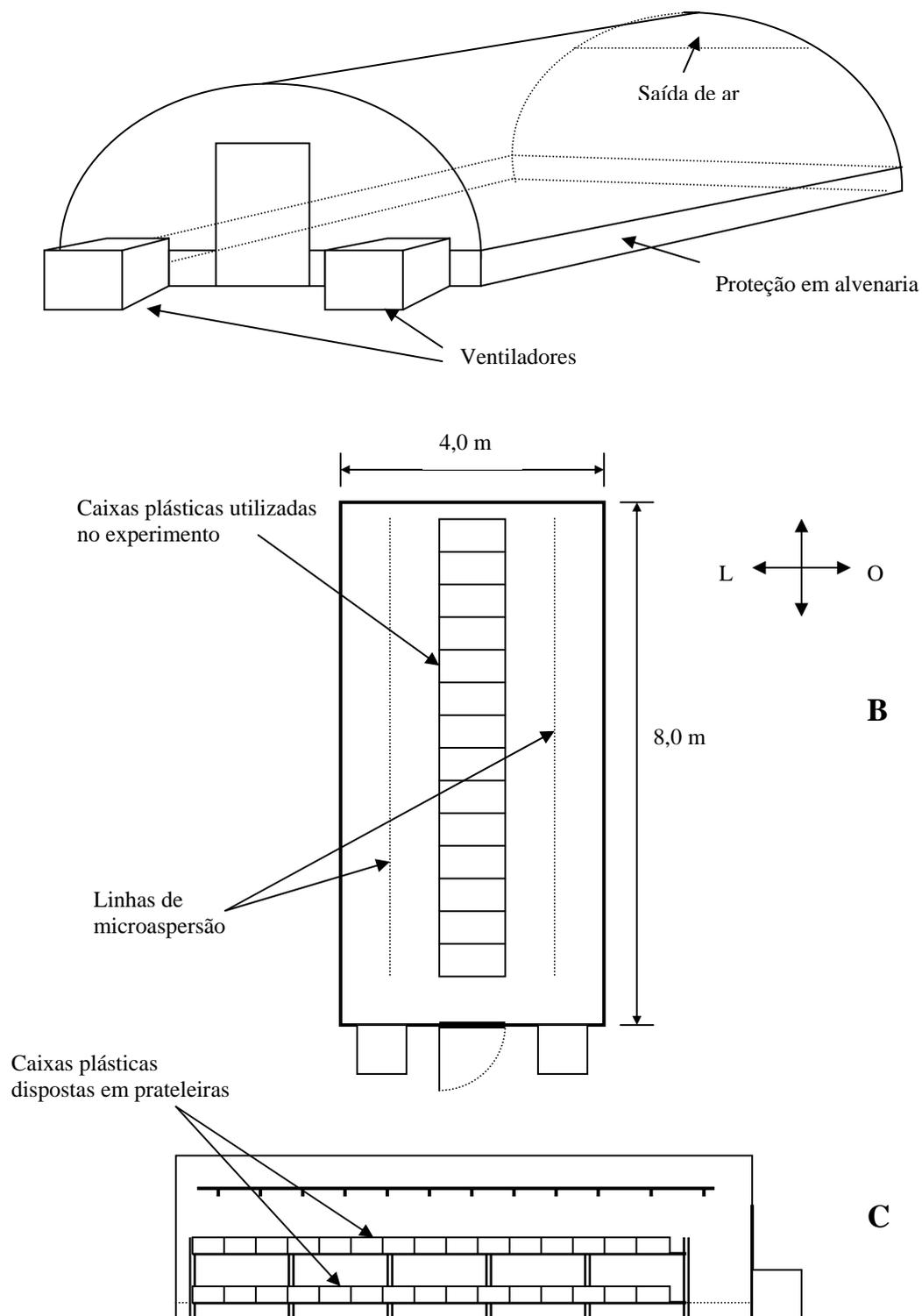


Figura 3. Esquema da estufa plástica segundo os planos: A- em perspectiva; B- corte horizontal e C- corte vertical (orientação em relação ao corte B).

5.2.2. Delineamento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2 x 2 x 3. Os fatores considerados e os seus respectivos níveis foram:

- Ambiente: bambu e lona plástica após bambu;
- Massa do substrato: 5kg ou 30kg/m² e 10kg ou 60kg/m²;
- Espessura da camada de cobertura: 3, 5 e 8cm.

O ambiente lona plástica após bambu, refere-se aos tratamentos da estufa plástica (Quadro 5), cujas parcelas experimentais foram inicialmente avaliadas no ambiente coberto com bambu, sendo transferidas para a estufa 47 dias após a colocação da camada de cobertura.

O modelo estatístico associado a este delineamento possuiu a seguinte forma (Banzatto & Kronka, 1989):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, 12 \text{ (tratamentos)} \\ j = 1, 2, \dots, 5 \text{ (repetições)} \end{array}$$

onde: Y_{ij} = valor observado na parcela, que recebeu o tratamento i na repetição j ;

μ = média da população;

T_i = efeito do tratamento aplicado na parcela;

e_{ij} = efeito dos fatores não controlados na parcela.

Uma vez ajustado o modelo estatístico, foi aplicada a técnica de Análise de Variância. Para a comparação entre as médias dos tratamentos, foi aplicado o teste Tukey, ao nível de 5% de significância, conforme descrito por Banzatto & Kronka (1989).

5.3. Frutificação e produtividade de *A. blazei*, em função de diferentes choques térmicos no substrato de cultivo

Neste ensaio utilizou-se uma sala climatizada e escura, onde o cultivo ocorreu em condições controladas de temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, umidade relativa do ar de $80\% \pm 5\%$ e renovação do ar interno.

As parcelas experimentais continham 8 kg de substrato colonizado com *A. blazei*, acondicionados em caixas plásticas, similares às utilizados no experimento anterior. O método de acomodação do substrato nas caixas também foi o mesmo do experimento anterior.

Após colocadas as caixas com o substrato colonizado no interior da sala climatizada, procedeu-se a cobertura do mesmo com uma camada de 5 cm de espessura do material preparado e descrito no item 5.1.5.

A umidade da camada de cobertura do substrato foi mantida através de irrigações manuais, utilizando-se regador de plástico, sendo aplicados, aproximadamente, o equivalente a $2,5 \text{ l/m}^2$ de água, conforme as necessidades, em função de secamentos superficiais na camada de cobertura.

5.3.1. Descrição dos tratamentos.

Este experimento foi constituído por 5 tratamentos com 6 repetições cada, sendo que três foram com choques térmicos e dois tratamentos controle. Os choques térmicos foram aplicados ao substrato de cultivo, transferindo-se as caixas referentes aos tratamentos para uma câmara fria à temperatura de 15°C ., variando o número de choques e a duração dos mesmos, conforme é descrito a seguir:

Tratamento 1: Três choques térmicos com duração de 24 horas cada;

Tratamento 2: Três choques térmicos com duração de 72 horas cada;

Tratamento 3: Um choque térmico com duração de 72 horas;

Tratamento 4: Controle (sem choque térmico) a 25°C ;

Tratamento 5: Controle (sem choque térmico) a 15°C .

Com relação aos tratamentos 1 e 2, os três choques térmicos ocorreram aos 21, 42 e 63 dias após a adição da camada de cobertura no substrato de cultivo, respectivamente 1^o, 2^o e 3^o choques. Para o tratamento 3 o choque térmico ocorreu apenas aos 20 dias após a adição da camada de cobertura. Após o 3^o choque térmico, as avaliações continuaram por mais 42 dias, totalizando 105 dias

Para efeito da análise dos resultados, foram considerados apenas os quatro primeiros tratamentos. A produção de cogumelos foi observada em quatro períodos, sendo:

Período 1: aos 21 dias após o 1^o choque térmico;

Período 2: aos 21 dias após o 2^o choque térmico;

Período 3: aos 21 dias após o 3^o choque térmico;

Período 4: aos 42 dias após o 3^o choque térmico.

O tratamento 5 com o mesmo número de repetições, foi colocado na câmara fria para avaliar a eventual produção de cogumelos à temperatura de 15°C, mas não foi incluído na análise pois nada produziu.

5.3.2. Delineamento estatístico

Foi realizada a análise multivariada de perfil (Morrison, 1988), com quatro tratamentos e 6 repetições, avaliadas em quatro períodos. O modelo estatístico associado a este delineamento possuiu a seguinte forma:

$$Y_{ijk} = \mu_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2, \dots, 4$ (tratamentos)
 $j = 1, 2, 3, 4$ (períodos)
 $k = 1, 2, \dots, 6$ (repetições)

Onde: Y_{ijk} = valor observado na parcela K, que recebeu o tratamento i, no período j;

μ_{ij} = média do tratamento i, no período j;

ε_{ijk} = efeito dos fatores não controlados na parcela.

Frente a este modelo estatístico, foram considerados, basicamente, cinco objetivos experimentais, especificados através das seguintes hipóteses estatísticas:

H_{01} : os perfis são paralelos;

H_{02} : os perfis são idênticos;

H_{03} : não há efeito dos tempo;

H_{04} : não há efeito do tempo em cada tratamento;

H_{05} : não há efeito do tratamento em cada período.

Vale ressaltar que, através da hipótese H_{01} , testa-se a não existência de interação entre os tratamentos e os períodos. Esta hipótese é fundamental, pois o resultado do teste determina as outras hipóteses de interesse. Dessa maneira, se H_{01} não for rejeitada, testam-se H_{02} e H_{03} ; caso haja rejeição de H_{03} , constrói-se os intervalos de confiança de T^2 de Hotelling para as diferenças entre as médias de produtividade nos períodos. No caso de H_{01} ser rejeitada, testa-se H_{04} e H_{05} ; caso haja rejeição de H_{04} , constrói-se os intervalos de confiança de T^2 de Hotelling para as diferenças entre as médias de produtividade nos períodos (Rosa, 1994).

5.4. Produtividade de *A. blazei* em função de três diferentes condições ambientais de cultivo protegido.

Esta avaliação constou da comparação entre três tratamentos de ambientes de cultivo protegido, oriundos dos dois experimentos anteriormente descritos (subitens 5.2 e 5.3), sendo eles:

1- ambiente com cobertura de bambu;

2- ambiente com cobertura de lona plástica;

3- sala climatizada com temperatura controlada para $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa de $80\% \pm 5$ (ambiente escuro).

Desta forma, foram utilizados tratamentos considerados homólogos, sendo eles: tratamentos nº 4 e nº 10, referentes ao subitem 5.2 e tratamento controle referente ao subitem 5.3.

Os parâmetros avaliados foram:

- Produtividade máxima (kg de cogumelos frescos/100kg de substrato úmido);
- Tempo de início de produção a partir da adição da camada de cobertura (dias);
- Taxa máxima de produtividade em função do tempo;

Na metodologia estatística desta avaliação, considerou-se os diferentes números de repetições dos tratamentos, ou seja: sala climatizada (6 repetições); cobertura com bambu (5 repetições) e cobertura com lona plástica (5 repetições).

As avaliações foram feitas periodicamente, a partir da data de adição da camada de cobertura, ou seja, de 10 em 10 dias, para todos os tratamentos.

Foi utilizado o modelo de regressão logística, com a seguinte expressão:

$$Y_{ij} = \frac{\alpha}{1 + \exp[-\beta - \gamma t]} \cdot e_{ij} \quad \alpha > 0; \quad \gamma > 0$$

- Onde:
- parâmetro α representa a assíntota da curva, ou seja, a produtividade máxima atingida;
 - parâmetro β está associado à posição ou deslocamento da curva logística;
 - parâmetro γ está relacionado à taxa de produtividade;
 - t = tempo;
 - Y = produtividade acumulada no tratamento i e na parcela j ;
 - e = efeitos dos fatores não controlados na parcela.

O ponto de inflexão (I) definido como o tempo quando ocorre uma mudança na concavidade da curva, a partir do qual a produtividade aumenta à taxas decrescentes e é determinado pela seguinte expressão: $I = -\beta/\gamma$

A estimativa dos parâmetros foi feita pelo método de Newton Raphson (Hoffmann, 1987). O estudo da regressão foi realizada através da técnica da análise de variância e do coeficiente de determinação R^2 .

Posteriormente, foi feita a análise de variância não paramétrica com o objetivo de comparar os parâmetros estimados ($\hat{\alpha}$; $\hat{\beta}$ e $\hat{\gamma}$), o ponto de inflexão I e o início da produção, relativos aos tratamentos, utilizando o teste de Kruskal-Wallis (Siegel, 1975).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para maior clareza e compreensão, os resultados obtidos, a partir das avaliações realizadas, serão apresentados nos itens 6.1, 6.2 e 6.3, como descritos a seguir.

6.1. Frutificação e produtividade de *A. blazei* em função da massa do substrato e da espessura da camada de cobertura, em duas condições ambientais de cultivo protegido.

As temperaturas máxima e mínima registradas nos dois ambientes de cultivo protegido (cobertura de bambu e lona plástica), são apresentadas nas Figuras 4 e 5. Nota-se que o período de avaliação para o ambiente coberto com bambu foi maior do que para o ambiente em estufa plástica. Isto ocorreu por dois motivos: primeiro porque o período de avaliações na estufa plástica iniciou somente 47 dias após a cobertura do substrato, período este quando procedeu-se a transferência da metade das parcelas experimentais de cada tratamento do ambiente coberto com bambu para a estufa plástica (conforme descrito no item 5.2.2) e segundo porque o período de colheita na estufa plástica foi menor.

A referida transferência das parcelas experimentais do ambiente coberto com bambu para o ambiente coberto com lona plástica foi decidida como tentativa de promover condição mais favorável de temperatura às frutificações dos cogumelos que, no ambiente coberto com bambu não estavam ocorrendo. Os seguintes fatos contribuíram para

essa tomada de decisão: 1- as condições de temperatura no interior do ambiente coberto com bambu foram consideradas desfavoráveis às frutificações dos cogumelos, conforme mostra a Figura 4, cujas médias máxima e mínima, até os 47 dias iniciais foram de aproximadamente 13 e 24°C, abaixo, portanto, dos níveis considerados favoráveis ao cultivo de *A. blazei*, segundo Braga et al. (1998), que são de 25 a 30°C; 2- considerando que a época do ano, na fase inicial do experimento, era o inverno, decidiu-se pela transferência da metade das parcelas experimentais para a estufa plástica, cuja função foi a de oferecer condições ambientais internas com temperaturas mais elevadas em relação ao ambiente externo, como tentativa de favorecer (ou forçar) as frutificações dos cogumelos e cujas temperaturas são mostradas na Figura 5 e no Quadro 6 e 3- foi observado que o micélio do *A. blazei* havia colonizado a camada de cobertura após 20 dias da sua colocação sobre o substrato, o que é precedente necessário ao início das frutificações dos cogumelos e, portanto, não se tratava de fatores inibitórios da camada de cobertura.

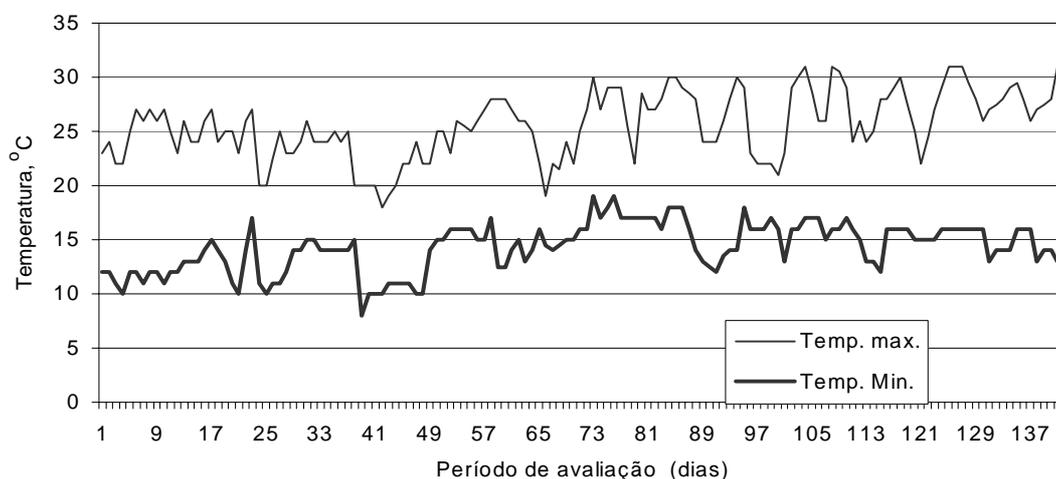


Figura 4- Temperaturas máxima e mínima no ambiente coberto com bambu, registradas entre os períodos de cobertura do substrato e o término da colheita (02/06/98 a 22/10/98, respectivamente).

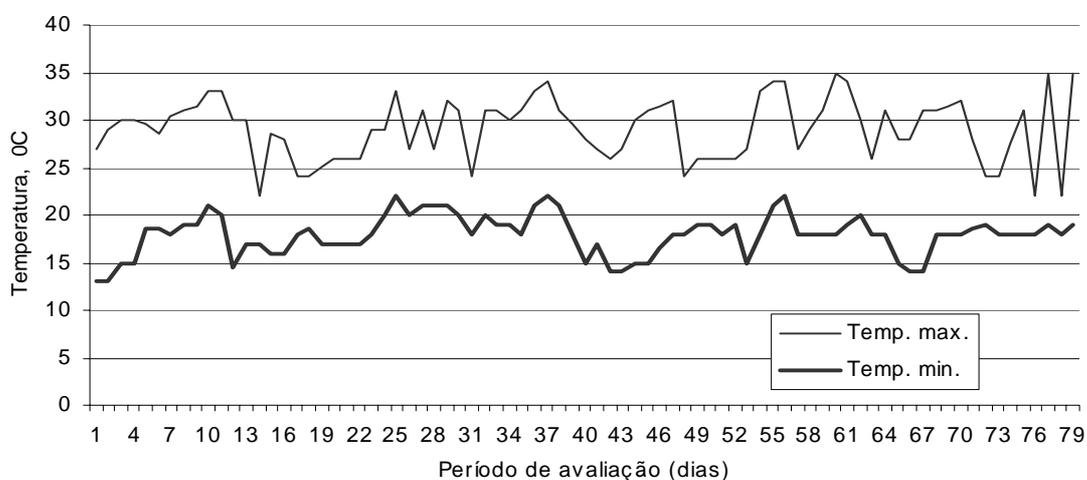


Figura 5- Temperaturas máxima e mínima no interior do ambiente coberto com plástico, registradas entre os períodos de transferência das parcelas experimentais (47 dias após a cobertura do substrato) e o término da colheita (20/07/98 a 06/10/98, respectivamente).

Quadro 6- Médias das temperaturas mínima e máxima registradas nos dois ambientes de cultivo durante os respectivos períodos de avaliação.

Temperaturas médias (°C)	Cobertura de bambu	Cobertura plástica
Máxima	25,61	29,08
Mínima	14,32	17,94

A estrutura coberta com bambu caracterizou-se apenas como abrigo de proteção contra alguns fatores climáticos como chuva, ventos e incidência de radiação solar e, pelo simples efeito de abrigar, este ambiente sofreu alterações substanciais, com parâmetros climáticos próprios, diferenciando-o do ambiente externo mas diretamente dependentemente dele. No caso da estufa, apesar também de ser abrigo, teve como objetivo armazenar calor, criando um ambiente mais quente, cujas temperaturas e médias máxima e mínima são mostradas nas Figuras 4 e 5 e no Quadro 6.

Com base no resumo da análise de variância, apresentado no Quadro 7, os fatores espessura da camada de cobertura e massa de substrato (BxC), atuam isoladamente (interação não significativa para todos os parâmetros), ou seja, há indícios de que o efeito da espessura da camada de cobertura não depende da massa do substrato e vice-versa. Porém, quando esses fatores foram interagidos com o ambiente de cultivo, nota-se que tanto o efeito da espessura da camada de cobertura, como o efeito da massa de substrato, nos parâmetros estudados (exceto para a massa por cogumelo), dependem do ambiente de cultivo e vice-versa (interações AxB e AxC significativas). Por esses resultados, foram analisados, separadamente, o efeitos da espessura da camada de cobertura em cada ambiente de cultivo (Quadro 8), do ambiente de cultivo em cada espessura da camada de cobertura (Quadro 10), da massa de substrato em cada ambiente de cultivo (Quadro 12) e do ambiente de cultivo em cada massa de substrato (Quadro 14). Os resultados dessas análises serão discutidos a seguir.

Quadro 7- Resumo da análise de variância do esquema fatorial, com o teste F, para os parâmetros avaliados, segundo os fatores A (Dois ambientes de cultivo protegido), B (Três espessuras da camada de cobertura) e C (Duas massas do substrato).

F.V.	G.L.	Valores de F				
		Produtividade por massa ¹	Produtividade por área ²	Número de cogumelos	Massa por cogumelo	Eficiência biológica ³
Fator A	1	3.2716 ns	7.2892 **	1.1907 ns	0.6645 ns	3.2716 ns
Fator B	2	14.1493 **	10.1399 **	12.2939 **	0.6353 ns	14.1493 **
Fator C	1	9.7683 **	75.8457 **	54.8433 **	0.8438 ns	9.7683 **
Fator AxB	2	4.1698 *	5.2968 **	2.5061 ns	1.4978 ns	4.1698 *
Fator AxC	1	14.1545 **	14.7672 **	5.8311 *	2.6764 ns	14.1545 **
Fator BxC	2	0.2305 ns	0.5440 ns	0.6944 ns	0.8576 ns	0.2305 ns
Fator AxBxC	2	2.8990 ns	4.4181 *	0.1180 ns	0.3747 ns	2.8990 ns
C.V. (%)		38,216	41,280	26,088	33,230	38,216

** e *: significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

ns: não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

1- kg de cogumelos fresco / 100kg de massa de substrato úmido.

2- kg de cogumelos fresco / m² de área de cultivo.

3- (kg de cogumelos fresco / kg de massa seca de substrato) x 100 (%).

6.1.1. Efeitos da espessura da camada de cobertura em cada ambiente de cultivo e vice versa.

A partir do resumo da análise de variância apresentado no Quadro 8, observa-se que os parâmetros avaliados variaram significativamente, em função da espessura da camada de cobertura do substrato, apenas quando o cultivo ocorreu no ambiente coberto com plástico, isto é, este ambiente de cultivo foi o que mais influenciou o rendimento da produção de *A. blazei*, quando o substrato foi coberto com diferentes espessuras de camada. Observa-se também, que houve efeitos do ambiente de cultivo quando o substrato foi coberto com camadas de 5 e 8 cm de espessura, em todos os parâmetros analisados, ou seja, a produtividade dos cogumelos variou em função das condições ambientais de cultivo, quando o substrato foi coberto com camadas mais espessas. Como forma de descrever a resposta dos parâmetros avaliados diante das três espessuras da camada de cobertura, em cada ambiente de cultivo, e vice e versa, procedeu-se o teste de comparação entre as médias (teste de Tukey), mostrado no Quadro 9.

Quadro 8- Resumo da análise de variância, com o teste F, para os parâmetros avaliados, com o desdobramento das interações entre a espessura da camada de cobertura e o tipo de ambiente de cultivo.

F.V.	G.L.	Valores de F		
		Produtividade por massa	Produtividade por área	Eficiência biológica
Espessura (Bambu)	2	1.4984 ns	0.4030 ns	1.4984 ns
Espessura (plástico)	2	16.8207 **	15.0337 **	16.8207 **
Ambiente (Espessura-3 cm)	1	1.7063 ns	1.1858 ns	1.7063 ns
Ambiente (Espessura-5 cm)	1	5.6683 *	9.4876 **	5.6683 *
Ambiente (Espessura-8 cm)	1	4.2366 *	7.2094 **	4.2366 *

** e *: significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

ns: não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os valores de F dos parâmetros produtividade por massa e eficiência biológica, mostrados no Quadro 8, são idênticos pois seus valores foram obtidos utilizando-se a mesma referência como base de cálculo, ou seja, a massa de cogumelos produzidos, conforme descrito no item 5.1.6.

Quadro 9- Comparação entre os valores médios observados, pelo teste de Tukey, para os parâmetros avaliados, em função das três espessuras da camada de cobertura e nos dois ambientes de cultivo.

Variáveis	Espessura da Camada de cobertura (cm)	Ambientes de cultivo	
		Estufa plástica	Cobertura de bambu
Produtividade por massa de substrato (kg/100kg)	8	11.74 A a	8.70 A b
	5	12.01 A a	8.50 A b
	3	4.47 B a	6.39 A a
Produtividade por área (kg/m ²)	8	5.94 A a	3.85 A b
	5	6.15 A a	3.76 A b
	3	2.36 B a	3.21 A a
Eficiência biológica (%)	8	31.13 A a	23.25 A b
	5	31.87 A a	22.55 A b
	3	11.85 B a	16.96 A a

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna para letras maiúsculas e em cada linha para letras minúsculas, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Observa-se que com as camadas de espessura de 5 e 8 cm as produções foram maiores, comparadas à camada de 3 cm, quando o cultivo ocorreu na estufa plástica. Considerando as diferentes condições de temperaturas observadas nos ambientes de cultivo estudados (Quadro 6), onde na estufa plástica, as temperaturas médias foram mais elevadas, a baixa produtividade observada para a camada de cobertura com espessura de 3 cm pode ter ocorrido por ser mais susceptível ao ressecamento devido ao alto potencial evaporativo em temperaturas elevadas, comparado às camadas mais espessas que, nas mesmas condições, conseguem reter mais água na porção abaixo da superfície e próximo ao substrato, concordando com Kalberer (1985) e Flegg et al. (1985). De outra forma, Visscher (1978) citou

que camadas de cobertura muito finas podem induzir a formação de estroma, inibindo também a frutificação e o rendimento da produção dos cogumelos.

Segundo Kalberer (1995), a maior parte da água contida nos cogumelos é extraída da camada de cobertura e que a manutenção da sua umidade é fundamental à frutificação e desenvolvimento dos cogumelos.

Verifica-se ainda no Quadro 9 que quando o cultivo ocorreu no ambiente coberto com plástico, as camadas de cobertura com 5 e 8 cm de espessura foram significativamente mais produtivas do que a camada de 3 cm, enquanto que no ambiente coberto com bambu não houveram diferenças significativas.

Analisando esses resultados e considerando as condições térmicas em cada ambiente de cultivo avaliados (Figuras 4 e 5), constata-se que as temperaturas mais elevadas ocorridas no interior da estufa plástica, comparadas às do ambiente coberto com bambu, foram mais favoráveis à frutificação quando o substrato foi coberto com as camadas mais espessas de 5 e 8 cm, propiciando maiores produtividades do *A. blazei*.

MacCanna (1984) cita que em ambientes com pouco controle das condições ambientais (como normalmente ocorre em cultivos de *A. blazei*), deve-se utilizar camadas de cobertura mais espessas.

6.1.2. Efeitos da massa de substrato em cada ambiente de cultivo e vice versa

O Quadro 10 apresenta o resumo da análise de variância dos desdobramentos. Todos os parâmetros considerados variaram significativamente em função da massa do substrato, quando o cultivo ocorreu na estufa plástica. Entretanto, para o ambiente coberto com bambu a produtividade por massa de substrato não mostrou diferenças significativas, indicando que nas condições mais rústicas e menos favoráveis ao crescimento dos cogumelos, a variação da quantidade da massa de substrato parece não afetar a sua produtividade. Verifica-se ainda que quando comparados estatisticamente os dois ambientes protegidos, apenas para a massa de substrato de 60 kg/m² ocorreram diferenças significativas nos parâmetros estudados.

Quadro 10- Resumo da análise de variância, com o teste F, para os parâmetros avaliados, com o desdobramento das interações entre a massa do substrato e o tipo de ambiente de cultivo.

F.V.	G.L.	Valores de F			
		Produtividade por massa	Produtividade por área	Número de cogumelos	Eficiência biológica
Massa (Bambu)	1	0.2028 ns	11.8396 **	12.4543**	0.2028 ns
Massa (Estufa)	1	23.7200 **	78.7733 **	48.2201**	23.7200**
Ambiente (massa 30 kg/m ²)	1	1.9081 ns	0.6532 ns	0.8759 ns	1.9002 ns
Ambiente (massa 60 kg/m ²)	1	15.5181 **	21.4033 **	6.1459 *	15.2357 **

** : significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste F.
 ns: não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

No Quadro 11, onde são mostradas as respostas dos parâmetros avaliados frente aos tratamentos aplicados através do teste de Tukey, o ganho de produtividade por unidade de massa de substrato foi diretamente proporcional ao aumento da massa do substrato, ou seja, a produtividade a 60 kg/m² de massa foi o dobro, comparado à massa de 30 kg/m².

Estudos realizados por Flegg et al. (1985) mostraram que a produtividade de *Agaricus* por massa de substrato cresce com o aumento dessa massa por unidade de área, mas que esse aumento não é linear, respondendo a uma taxa decrescente de produtividade. A resposta mais precisa nesse sentido deve ser obtida em outros estudos, testando-se níveis mais abrangentes de massa de substrato.

No entanto, observa-se que em ambos os ambientes de cultivo, as camas com 60 kg/m² de substrato, foram significativamente mais produtivas, em relação à área de cultivo, do que as camas com 30 kg/m² (Quadro 11), sendo que este aumento da produtividade por área, foi proporcionalmente maior do que o aumento da produtividade da massa de substrato.

Quadro 11- Comparação entre os valores médios observados, pelo teste de Tukey, para os parâmetros estudados, em função das duas massas do substrato e nos dois ambientes de cultivo.

Variáveis	Massa do Substrato (kg/m ²)	Ambientes de cultivo	
		Estufa plástica	Cobertura de bambu
Produtividade por massa de substrato (kg/100kg)	60	12.34 A a	7.59 A b
	30	6.47 B a	8.14 A a
Produtividade por área (kg/m ²)	60	7.63 A a	4.70 A b
	30	2.00 B a	2.51 B a
Número de cogumelos	60	45.93 A a	31.40 A b
	30	14.20 B a	15.80 B a
Eficiência biológica (%)	60	32.73 A a	20.28 A b
	30	17.17 B a	21.56 A a

Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, para letras maiúsculas, e linha, para letras minúsculas, e para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quando todas as condições de cultivo são consideradas favoráveis, deduz-se que o rendimento máximo de colheita será limitado pelas quantidades de água e nutrientes disponíveis para o cogumelo e que estão contidos no substrato, variando de acordo com a quantidade e qualidade deste substrato. Porém, em determinadas condições ambientais, deve-se considerar que outros fatores poderão interagir e influenciar no processo de frutificação e crescimento dos cogumelos.

Portanto, em cultivos de *A. blazei*, onde normalmente o ambiente de produção não é controlado, a produtividade de cogumelos por massa de substrato poderá ser limitada não somente pela quantidade de massa de substrato, mas também pela interação entre esse fator e as condições ambientais de cultivo, principalmente quando o cultivo é feito em ambiente desprotegido, em canteiros a céu aberto, ou seja, nessas condições de cultivo, o aumento da massa de substrato pode não representar, necessariamente, aumento de

produtividade. Sugere-se, portanto, a condução de outros estudos para a determinação de quantidades máximas de massa de substrato em cultivos de *A. blazei*.

No Quadro 11, ainda, constata-se que o número de cogumelos colhidos foi significativamente maior quando cultivados com massa de substrato de 60 kg/m², em ambos os ambientes de cultivo, ou seja, quanto maior é a massa do substrato por unidade de área, maior é o número de cogumelos colhidos e, conseqüente, maior é a produção.

Analisando o Quadro 7, verifica-se que o parâmetro massa por cogumelo colhido não variou significativamente em nenhum dos tratamentos aplicados. Cooke & Flegg (1962) observaram que não há uma relação direta entre número de cogumelos e massa por cogumelo colhido, podendo esse último estar ou não associado às quantidade e qualidade do substrato de cultivo.

A importância prática da relação entre o número e a massa dos cogumelos após a colheita, está em seu tamanho. Cogumelos grandes são mais fáceis e mais rápido de serem colhidos. Cogumelos pequenos dificultam a colheita e o processamento e, conseqüentemente, aumentam o custo de produção. Porém, deve-se priorizar não apenas os aspectos práticos, mas também a qualidade do cogumelo no que diz respeito ao seu conteúdo em substâncias consideradas de importância medicinal. Nesse sentido, outros estudos devem ser realizados para avaliar as relações entre produtividade e qualidade do cogumelo nos aspectos nutricional e medicinal.

O Quadro 11 mostra ainda que o ambiente coberto com plástico apresentou maiores rendimentos na produção de *A. blazei*, em todas as variáveis estudadas, quando cultivado com massa de 60 kg/m² de substrato. Isto evidencia que em condições relativamente mais controladas, como é o caso do túnel azul, cujas temperaturas eram mais elevadas (Quadro 6), a frutificação e, conseqüentemente, a produtividade de cogumelos é maior.

Analisando os resultados obtidos até aqui, é relevante ressaltar que, qualquer que seja a variável física aplicada ao cultivo do cogumelo, a condição climática sempre será um dos fatores limitantes da produção. Nesse sentido, o ambiente protegido tem como função primordial tornar a cultura independente do ambiente exterior, possibilitando não só maior segurança à produção, mas também produções mais elevadas e uniformes com o tempo, tendendo a criar ambiente favorável, mesmo considerando os cultivos que podem ter

ao ar livre possibilidades de êxito, porém sujeitos às incertezas, ou com resultados de produtividade economicamente insatisfatórios.

Tratando-se de ambientes controlados ou semi-controlados (estufas ou simples abrigos), utilizados em cultivos de *A. blazei*, o controle da umidade assume grande importância. Nesse sentido, há dois fatores a considerar: a umidade da cobertura do substrato de cultivo e a umidade atmosférica. Raramente são aplicados sistemas de rega ou de umedecimento do ar baseados em critérios tecnicamente válidos, ou seja, considerando-se, por um lado, as exigências reais da espécie cultivada e, por outro, as condições climáticas no interior da estufa ou casa de cultivo. A irrigação geralmente é efetuada com base puramente empírica e a umidade do ar simplesmente não é monitorada ou controlada. Essa realidade leva à conclusão de que qualquer resultado já obtido está aquém de atingir níveis de produtividade máximos da cultura, o que faz necessário que estudos sejam conduzidos nesse sentido.

Os fatores que influenciam o estado da umidade numa atmosfera fechada são inúmeros. Os materiais de cobertura utilizados no Brasil para a cobertura do substrato de cultivo de *A. blazei* são solos ou misturas de solos com outros materiais (areia, solo, turfas, etc.) cujas características físicas, químicas e biológicas e, conseqüentemente hidrológicas são diferentes e determinam, de certa forma, os diferentes níveis de produtividade em cultivos. A umidade, tanto do material de cobertura do substrato, como do ar, é também elemento importante do sistema, sendo indispensável a sua avaliação, controle e condicionamento.

6.2. Frutificação e produtividade de *A. blazei*, em função de choques térmicos no substrato de cultivo.

As análises foram feitas a partir dos valores médios totais observados nos tratamentos, em cada período de avaliação e, portanto, não são valores acumulados. Foram utilizados a produtividade média de cogumelos por massa de substrato (kg de cogumelos frescos / 100kg de massa úmida de substrato) como parâmetro de produtividade; e o número médio de cogumelos colhidos como parâmetro de frutificação.

Com base no resumo da análise multivariada dos perfis, apresentado no Quadro 12, observa-se que, para os dois parâmetros estudados, a primeira hipótese testada na análise de perfil (H_{01}), referente ao paralelismo dos perfis nos quatro tratamentos, não foi rejeitado, ou seja, os perfis médios são semelhantes (interação não significativa entre os tratamentos e os períodos de avaliação).

Quadro 12– Resultado da análise multivariada dos perfis médios, com o teste F, para os parâmetros avaliados, distribuídos segundo os tratamentos de choque térmico e avaliados em quatro períodos de mensuração.

Hipótese estatística	Resultados do teste estatístico F		
	Produtividade (kg/100kg)	Número de Cogumelos	Conclusões gerais
Paralelismo dos perfis	1.43 ns	0.97 ns	Há semelhança entre os perfis
Coincidência dos perfis	0.37 ns	0.43 ns	Os perfis são coincidentes
Efeito do tempo	22.71 **	15.41 **	Há diferenças entre os períodos

** - significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; ns - não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

O paralelismo entre os perfis indica que, para os parâmetros estudados, as respostas aos tratamentos com choque térmico, comparadas ao tratamento controle, nos períodos de avaliação, possuem o mesmo comportamento. As Figuras 6 e 7 ilustram esses resultados. Nesse caso, observa-se que não houve efeito significativo dos tratamentos (os perfis são coincidentes ou idênticos), ou seja, há indícios de que os choques térmicos não causam influência na produtividade e no número de cogumelos *A. blazei* colhidos.

Por estes resultados, constata-se que a frutificação e a produtividade de *A. blazei*, nas condições estabelecidas no ensaio e para os binômios tempo-temperatura testados, não sofreram influência dos choques térmicos aplicados.

Segundo Stamets & Chilton (1983), Flegg et al. (1985) e Chang & Miles (1989), o ambiente úmido associado a níveis favoráveis de temperatura, influenciam diretamente na frutificação e produtividade do *A. bisporus*, no entanto, não fazem menção a nenhum procedimento de choque térmico para a indução de frutificação desse cogumelo. Estudos científicos sobre outras espécies de cogumelos cultivados, como o *L. edodes* (Shiitake) e o Shimeji, citam o processo de choque térmico como importante na indução de primórdios desses fungos (Quimio et al., 1990; Bononi et al., 1995; Eira & Minhoni, 1997).

No caso de *A. blazei*, a temperatura ambiente associada a outros fatores, como manejo de irrigação da camada de cobertura do substrato, podem indicar interação necessária para promover aumentos na produtividade de forma previsível. A ausência de informações sobre a influência desses fatores na produção de *A. blazei* levam à necessidade de condução de novas pesquisas nesse sentido.

Embora possua cultivo similar ao do champignon (cuja tecnologia está bem desenvolvida), o cogumelo *A. blazei* evidencia algumas características e procedimentos, relativos à fase de crescimento, bem distintos. Nesse estudo, foi constatado que a temperatura na fase de frutificação ao nível de 25°C foi favorável à indução das frutificações de basidiocarpos, concordando com Braga et al. (1998). A não frutificação de cogumelos à temperatura de 15°C, mostrada como resultado do tratamento comparativo realizado em câmara fria, reforça a evidência de diferenças entre os cultivos de *A. blazei* e *A. bisporus* (champignon), que segundo Chang & Milles (1989), este último possui temperatura ótima de frutificação numa faixa entre 15 e 17°C.

Por outro lado, o Quadro 12 revela ainda que houve efeito significativo do tempo, mostrando ser este o único fator de influência na frutificação e, conseqüentemente, na produtividade de cogumelos, quando o cultivo foi submetido aos choques térmicos. Assim, as diferenças encontradas entre os períodos de avaliação, a partir dos intervalos de confiança dos contrastes dos parâmetros estudados, são apresentadas no Quadro 13 e podem ser melhor analisadas pelas Figuras 6 e 7. Observa-se que a produtividade de *A. blazei* não apresentou diferenças entre os períodos 1 e 2, e 3 e 4, mas com uma tendência geral de diminuição da produtividade, com máximos no primeiro e segundo períodos e decréscimos significativos para os demais períodos de avaliação.

Quadro 13- Resultados das diferenças encontradas entre os períodos de avaliação, a partir dos intervalos de confiança a 95%, para os contrastes dos parâmetros avaliados.

Períodos	Diferenças encontradas nos períodos	
	Produtividade (kg/100kg)	Número de cogumelos
1 – 2	=	=
1 – 3	≠	=
1 – 4	≠	≠
2 – 3	≠	≠
2 – 4	≠	≠
3 – 4	=	=

≠ e = : difere e não difere estatisticamente ao nível de 5% de significância, respectivamente.

Período 1: aos 21 dias após o 1^o choque térmico;

Período 2: aos 21 dias após o 2^o choque térmico;

Período 3: aos 21 dias após o 3^o choque térmico;

Período 4: aos 42 dias após o 3^o choque térmico;

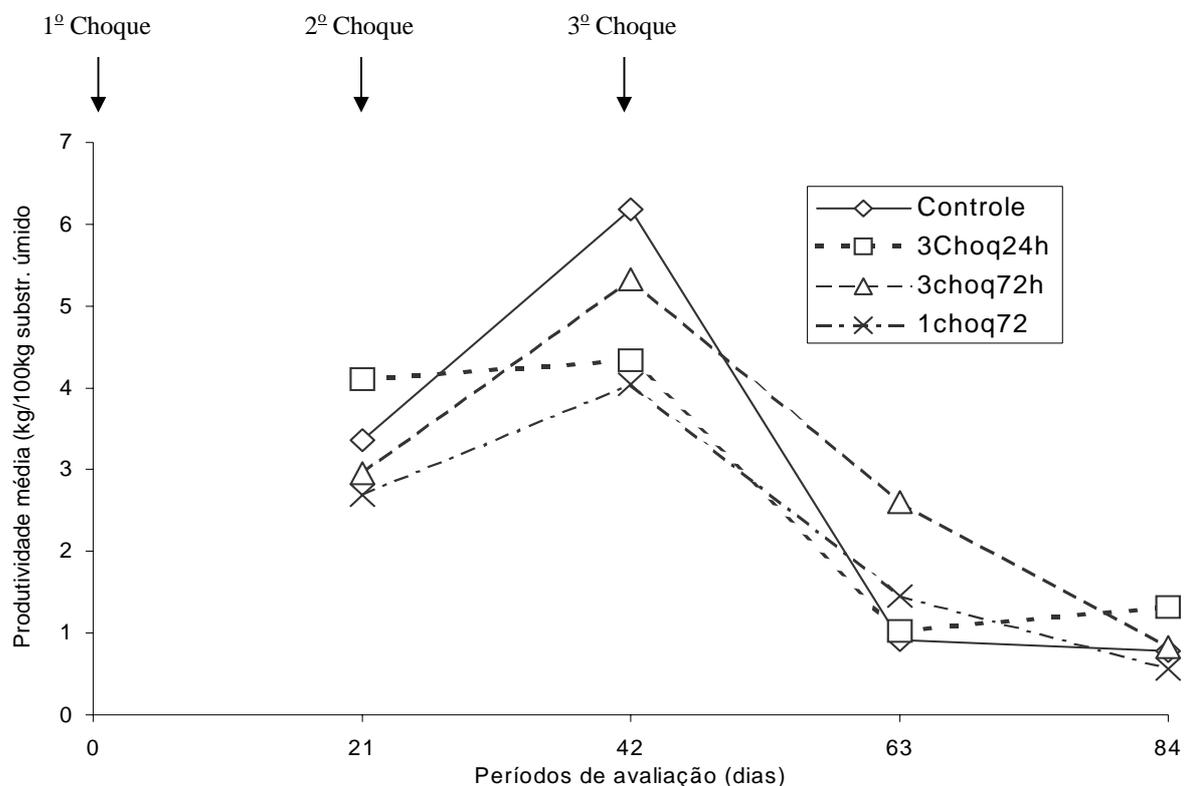


Figura 6- Produtividade média de cogumelos, por massa de substrato, em função dos períodos de avaliação.

Quadro 14- Médias e desvios-padrão da produtividade de cogumelos (kg/100kg), avaliados em quatro períodos, em função dos tratamentos de choque térmico.

Tratamentos	Períodos (dias)			
	21	42	63	84
Controle	3,36 (1,61)	6,19 (2,44)	0,92 (0,55)	0,78 (0,61)
3Choq24h	4,10 (1,73)	4,33 (3,89)	1,03 (0,92)	1,32 (1,11)
3Choc72h	2,96 (2,36)	5,33 (3,16)	2,60 (1,75)	0,83 (0,52)
1Choc72h	2,69 (2,57)	4,04 (3,46)	1,46 (1,27)	0,56 (0,43)

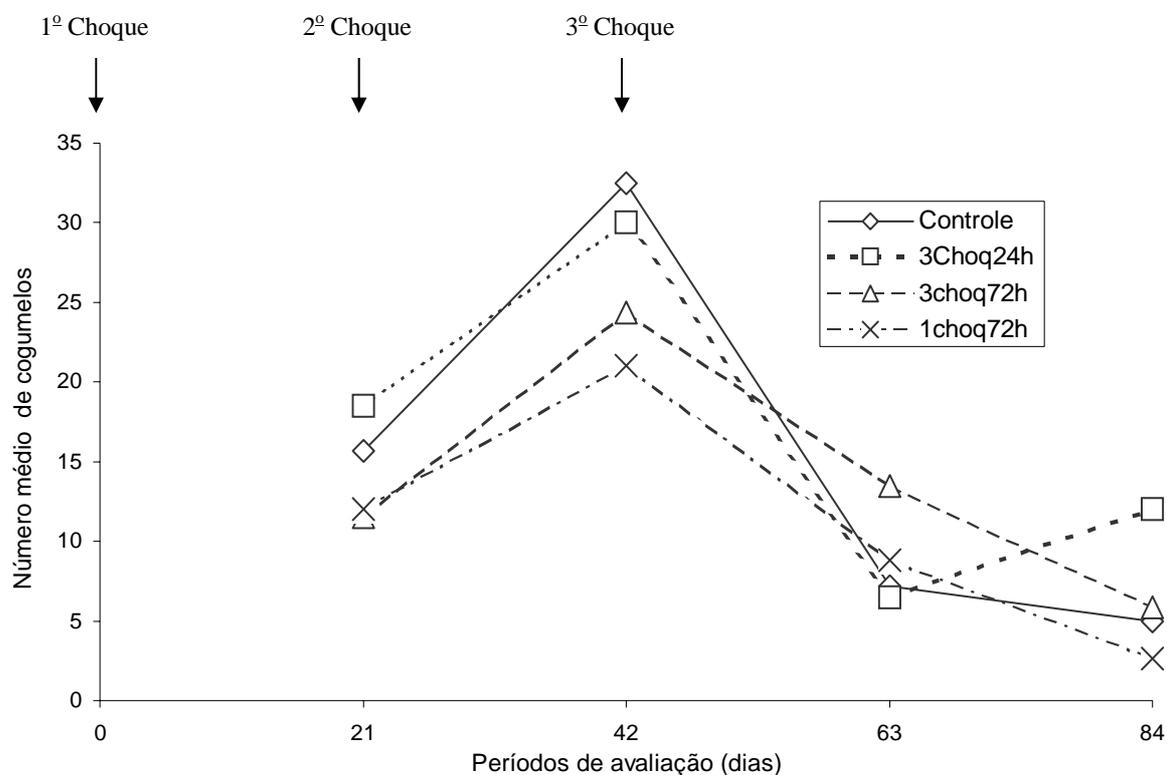


Figura 7- Número médio de cogumelos colhidos em função dos períodos de avaliação.

Quadro 15- Médias e desvios-padrão do número de cogumelos colhidos, avaliados em quatro períodos, em função dos tratamentos de choque térmico.

Tratamentos	Períodos (dias)			
	21	42	63	84
Controle	15,67 (9,46)	32,50 (14,28)	7,17 (7,31)	5,00 (5,25)
3Choq24h	18,50 (14,27)	30,00 (23,18)	6,50 (6,19)	12,00 (16,63)
3Choc72h	11,50 (11,04)	24,33 (18,35)	13,50 (14,68)	5,83 (4,96)
1Choc72h	12,00 (9,14)	21,00 (25,37)	8,83 (9,91)	2,67 (2,88)

A Figura 8 ilustra o comportamento da produção dos cogumelos em função do tempo, onde, por exemplo, para o tratamento controle, a produção cresce com altas taxas seguidas de intervalos não produtivos, evidenciando que, quando *A. blazei* é cultivado em condições ambientais controladas, com temperatura constante de 25°C e umidade relativa do ar em torno de 80%, a sua produção ocorre em picos periódicos, atingindo altas taxas produtivas iniciais, sendo depois decrescentes com o tempo. Neste aspecto, há indícios de que, nessas condições, o cultivo de *A. blazei* possui resposta fisiológica para a indução de frutificação com comportamento similar ao do *A. bisporus*, ou seja, em picos periódicos de produção também. Este comportamento para o *A. bisporus* foi relatado por diversos autores (Stamets & Chilton, 1983; Flegg et al., 1985; Chang & Milles, 1989; Vedder, 1990).

Esses resultados revelam também que a ausência da luz não interfere significativamente na produtividade do *A. blazei*, pois as condições ambientais de cultivo foram na ausência de luz.

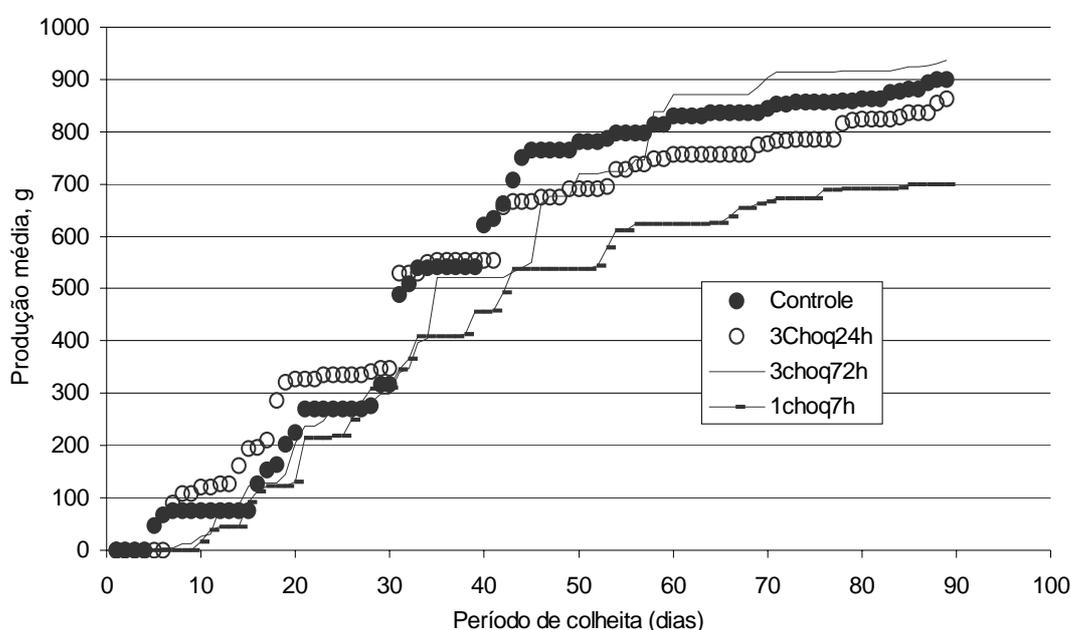


Figura 8– Produção média acumulada de *A. blazei*, por caixa contendo 8 kg de substrato cada, após o primeiro choque térmico e em função dos tratamentos avaliados.

6.3. Produtividade de *A. blazei*, em função de três diferentes condições ambientais de cultivo protegido.

Foram utilizados nesta avaliação três ambientes de cultivo protegido, sendo eles os mesmos estudados nos ensaios anteriores, ou seja: ambiente coberto com bambu; ambiente coberto com plástico e sala escura com condições ambientais controladas (temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ e umidade relativa do ar de $80\% \pm 5$).

As temperaturas médias máxima e mínima, verificadas nos ambientes cobertos com bambu e com plástico, são mostradas no Quadro 6 e Figuras 4 e 5 do item 6.1.

Os dados referentes às estimativas dos parâmetros do modelo logístico, ao início da produção e ao coeficiente de determinação R^2 , para os tratamentos de ambiente de cultivo, são apresentados no Quadro 16. Os parâmetros $\hat{\beta}$ e $\hat{\gamma}$ referem-se à determinação do ponto de inflexão (parâmetro \hat{I}). Todas as determinações foram feitas em função das repetições de cada tratamento, que apresentaram ajustes significativos segundo o coeficiente de determinação R^2 .

Com base no resumo do teste de Kruskal-Wallis, de comparação entre os tratamentos pelas medianas dos valores observados, mostrado no Quadro 19, observa-se que todos os parâmetros avaliados apresentaram diferenças significativas (p "values" significativos), em função dos tratamentos de ambiente de cultivo protegido, isto é, há indícios de que o início da produção, a produtividade máxima ($\hat{\alpha}$) e a taxa máxima de produtividade (\hat{I}), dependem do tipo de ambiente de cultivo protegido.

Neste caso, nota-se também que o início da produção dos cogumelos, quando cultivados em ambiente climatizado, ocorreu em tempo significativamente menor do que quando cultivado em ambiente rústico coberto com bambu (Quadro 17). Da mesma forma ocorreu para a taxa máxima de produtividade, ou seja, o tempo necessário para atingir a produtividade máxima de cogumelos foi menor quando o cultivo ocorreu em ambiente climatizado. Diferenças significativas entre as produtividades máximas ocorreram apenas entre os ambientes cobertos com bambu e plástico, sendo o de plástico mais produtivo que o de bambu.

Quadro 16- Início da produção (dias/10), parâmetros estimados do modelo logístico ($\hat{\alpha}$, $\hat{\beta}$ e $\hat{\gamma}$), ponto de inflexão (\hat{I}) e coeficiente de determinação da regressão, segundo os tratamentos e as repetições.

Tratamento	Repetição	Início da produção	$\hat{\alpha}$	$\hat{\beta}$	$\hat{\gamma}$	\hat{I}	R ² (%)
Estufa plástica	1	8,0	16,70	- 6,24	0,63	9,93	97,1
	2	4,1	25,17	- 8,01	0,78	10,22	94,3
	3	4,1	10,97	- 6,77	0,73	9,31	89,6
	4	7,2	19,29	- 9,86	1,09	9,07	99,0
	5	4,1	19,34	- 8,34	0,92	9,06	89,8
Cobertura de bambu	1	11,0	5,04	- 19,03	1,52	12,54	99,9
	2	6,0	4,49	- 5,23	0,43	12,19	97,6
Ambiente climatizado	1	4,0	13,87	- 6,57	1,23	5,33	98,9
	2	4,0	12,08	- 4,14	0,79	5,22	97,8
	3	4,0	8,23	- 15,54	3,45	4,50	98,8
	4	3,0	9,32	- 3,59	0,89	4,02	96,8
	5	3,0	11,12	- 7,67	1,63	4,71	99,7
	6	3,0	10,02	- 3,93	0,96	4,07	98,1

$\hat{\alpha}$: produtividade máxima atingida, em kg de cogumelos frescos / kg de substrato;

$\hat{\beta}$: está associado à posição ou deslocamento da curva;

$\hat{\gamma}$: parâmetro relacionado à taxa de produtividade;

\hat{I} : período em que ocorre uma mudança na concavidade da curva, em dias.

Embora o cultivo em ambiente climatizado, cuja temperatura era constante, tenha atingido o início da produção e as taxas máximas de produtividade em menor tempo, sua produtividade máxima não apresentou diferenças significativas em relação às produtividades atingidas pelos cultivos dos outros dois ambientes. Isto evidencia que, dependendo do tipo de estrutura utilizada para o cultivo de *A. blazei*, ou das condições ambientais, o ciclo da cultura pode ser diferenciado, influenciando diretamente o rendimento da produção em função do tempo.

Quadro 17– Resumo do teste estatístico de Kruskal-Wallis, com os resultados de comparação entre os tratamentos considerados, em função dos parâmetros avaliados.

Parâmetros	Estatística H	p “value”	Resultados
Início de produção	7.89	0.0194 *	Climatizado < bambu Climatizado = plástico Bambu = plástico
Produtividade Máxima ($\hat{\alpha}$)	8.20	0.0166 *	Climatizado = bambu Climatizado = plástico Bambu < plástico
Taxa máxima de Produtividade (\hat{I})	13.30	0.0013 **	Climatizado < bambu Climatizado = plástico Bambu = plástico

** e *: significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste H de Kruskal-Wallis, respectivamente.

ns: não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste H de Kruskal-Wallis.

p "value": probabilidade limite de significância.

Segundo Flegg et al. (1985), a produtividade de uma unidade de produção de cogumelos é determinada pela massa de composto inoculado, pelo rendimento em cogumelos por tonelada deste composto e pelo número de colheitas produzidas em determinado período que, normalmente, é o ano civil. O alto rendimento do substrato, em cogumelos, combinado com um ciclo de colheita relativamente longo, pode não ser mais produtivo, no final das contas, que um cultivo com baixo nível de conversão combinado com ciclo mais rápido de colheita.

As repetições, com as curvas que obtiveram ajustes, referentes aos tratamentos avaliados, são apresentadas nas Figuras 9, 10 e 11. Analisando estas curvas e os coeficientes de determinação R^2 (Quadro 16) e, considerando as diferentes condições ambientais oferecidas em cada tratamento, observa-se que para o tratamento de cultivo em ambiente climatizado, as curvas se ajustaram melhor aos dados, em todas as repetições, comparado aos outros dois tratamentos, evidenciando comportamento mais previsível do crescimento do *A. blazei*.

Estes resultados indicam que, provavelmente, em condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar, o desenvolvimento do *A. blazei* seja mais favorável, promovendo ciclo de produção mais curto, comparado aos outros dois ambientes estudados (túnel azul e cobertura de bambu), que apresentaram amplitudes térmicas médias diárias de aproximadamente 10°C (Quadro 6) em função da influência direta das variações ambientais externas. Estes resultados demonstram a forte influência da temperatura no rendimento da produção de *A. blazei*, concordando Chang & Miles (1989) que afirma ser a temperatura um dos mais importantes fatores de produção e vital ao cultivo de cogumelos.

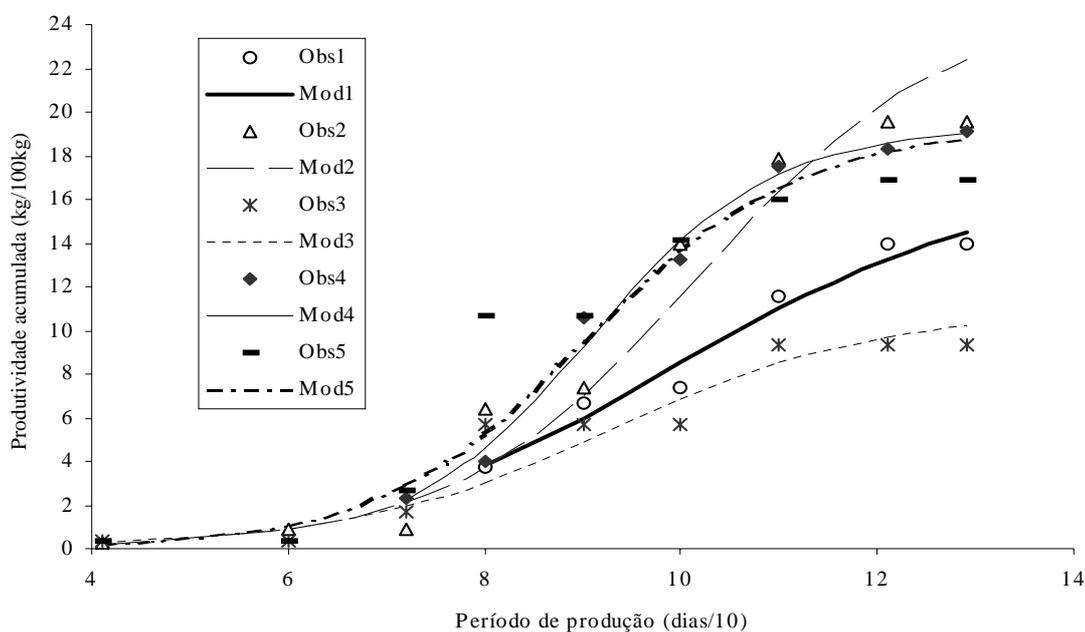


Figura 9- Produtividades acumuladas observadas (obs) e modeladas (mod), referentes às repetições do tratamento de ambiente de cultivo coberto com plástico.

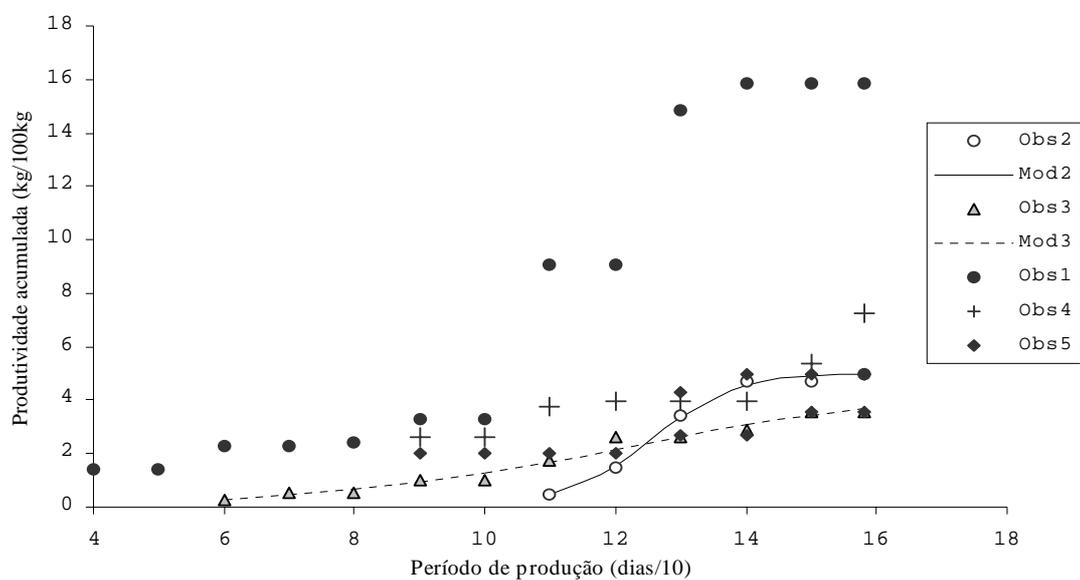


Figura 10- Produtividades acumuladas observadas (obs) e modeladas (mod), referentes às repetições do tratamento de ambiente de cultivo coberto com bambu.

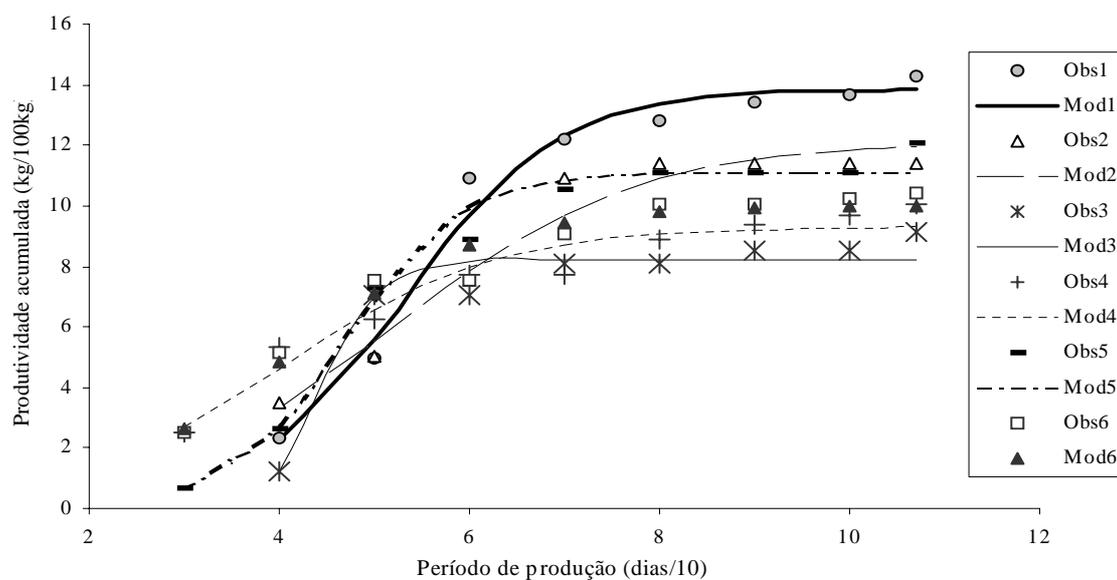


Figura 11- Produtividades acumuladas observadas (obs) e modeladas (mod), referentes às repetições do tratamento de ambiente de cultivo em sala climatizada.

A Figura 12 ilustra os comportamentos das respostas das produtividades médias dos cogumelos em cada ambiente de cultivo protegido, como forma de descrever, com mais clareza, as diferenças ocorridas durante o período de avaliação. Assim, pode-se considerar que os parâmetros aqui avaliados, são de extrema importância na aplicação prática para o planejamento de unidades produtoras de *A. blazei* e deve ser considerado em outros experimentos nesta área.

Outro aspecto a ser considerado está relacionado ao efeito da luz na produtividade do *A. blazei*. Os resultados mostrados até aqui (item 6.2 e Figura 12), indicam que a luz parece não ser um fator de produtividade pois, mesmo na sua ausência, ocorrida no ambiente climatizado, ocorreram frutificações de cogumelos.

Há, no entanto, de ser considerada a qualidade final dos cogumelos produzidos em condições de ambiente confinado no que diz respeito ao conteúdo de substâncias de importância terapêutica tais como os polissacarídeos beta glucanas (β -D-Glucan), segundo Mizuno et al. (1990), Kawagishi et al. (1990), Itoh et al. (1994), Osaki et al. (1994), Eguchi et al. (1995).

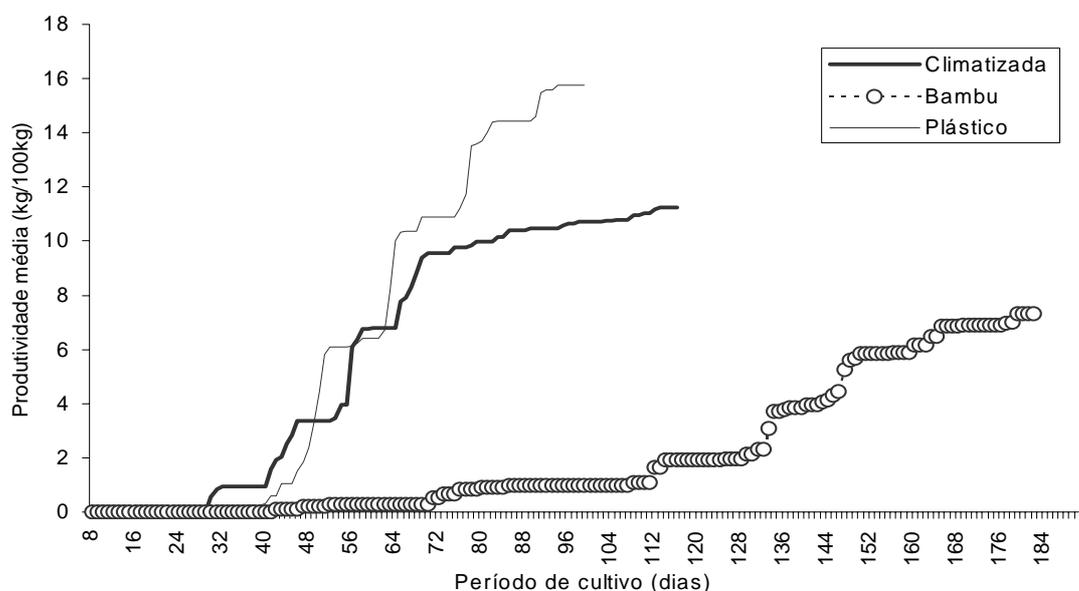


Figura 12- Produtividades médias (5 repetições) acumuladas de cogumelos, observadas durante o período de cultivo, para os tratamentos de cultivo protegido.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho e nas condições e objetivos propostos, concluiu-se que:

1. o ambiente coberto com plástico, promoveu condições ambientais mais favoráveis à produtividade de *A. blazei*, do que o ambiente fechado com bambu.
2. camadas de cobertura do substrato de cultivo com 5 e 8 cm de espessura, foram mais produtivas do que a camada com 3cm.
3. não houve efeito significativo da espessura da camada de cobertura na produtividade de *A. blazei*, para o cultivo nas condições do ambiente coberto com bambu.
4. o aumento da massa do substrato, promoveu aumentos na produtividade por área de cultivo e no número de cogumelos colhidos.
5. em condições mais rústicas (estufa de bambu), sem controle das condições ambientais, o aumento da massa de substrato pode não promover aumento de produtividade.
6. a aplicação de choques térmicos, nos binômios tempo-temperatura utilizados, não causaram efeitos significativos na produtividade e no número de cogumelos colhidos.
7. o cultivo em condições ambientais controladas na ausência de luz, propiciou um ciclo de produção mais curto e iniciou a produção em menor tempo, comparado ao cultivo em estrutura mais rústica coberta com bambu.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, E., EIRA, A.F., MINHONI, M.T.A. Relações entre temperatura de pasteurização e contaminações do composto durante o cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Científica* (São Paulo), v.20, p.423-433, 1990.
- ALPI, A., TOGNONI, F. *Cultura em estufas*. Lisboa: Presença. 1978. 196 p.
- ALVES DE LIMA, P.L., DENADAI, R., SALVADORE, D.M.F., EIRA, A.F., RIBEIRO, L.R. Mushroom "shiitake (*Lentinula edodes*) as a modulator of clastogenic effects in mice. In: ANAIS DO 5º CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MUTAGÊNESE E TERATOGENESE AMBIENTAL, p. 248, 1998.
- BRAGA, G.C., EIRA, A.F., CELSO, P.G., COLAUTO, N.B. *Manual do cultivo de Agaricus Blazei Murr. "Cogumelo-do-Sol"*. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1998. 44p.
- BONONI, V.L., CAPELARI, M., MAZIERO, R., TRUFEM, S.F.B. *Cultivo de cogumelos comestíveis*. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1995. 206p.
- BONZATTO, D.A. & KRONKA, S. do N. Experimentação agrícola. Jaboticabal: FUNEP-FACAV. 257 p. 1989.

- CAMP OP DEN, H.J.M., DERIKX, P.J.L., DRIFT VAN DER, C., VOGELS, G.D., GRIENSVEN VAN, L.J.L.D. Odorous sulfur compounds emitted during conventional outdoor and during indoor-composting. *Mushroom Sci.*, v.13, p.147-154, 1991.
- CHALAUX, N., OLIVER, J.M., MINVIELLE, N. Bench scale composting and wheat straw biodegradability. *Mushroom Sci.*, v.13, p.207-214, 1991.
- CHANG, S.T. Cultivated mushrooms. In: ARORA, D.K., MUKERJI, K.G., MARTH, E.H. *Handbook of applied mycology*. New York: Marcel Dekker, v.3, p.221-240, 1991.
- CHANG, S.T., HAYES, W.A. *The biology and cultivation of edible mushrooms*. New York: Academic Press, 1978. 819p.
- CHANG, S. T. & MILES, P.G. *Edible Mushrooms and their cultivation*. Boca Raton: CRC Press, 1989. 345p.
- CHIHARA, G. Antitumour and immunological properties of polysaccharides from fungal origin. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONGRESS ON THE CULTIVATION OF EDIBLE FUNGI: MUSHROOM SCIENCE, 10, 1978, France. *Proceedings...*France, 1978. v. 2, p. 797-814.
- COOKE, D. & FLEGG, P.B. The relation between yield of the cultivated mushroom and stage of maturity at picking. *J. Hort. Sci.* vol. 37, p. 67-74, 1962
- COLAUTO, N. B. *Influência de Pseudomonas putida na indução de basidiocarpos em Agaricus spp.* Botucatu: Departamento de Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, 1998. 126p. (Tese de Doutorado).
- DENADAI, R., ALVES DE LIMA, P.L, SALVADORE, D.M.F., EIRA, A.F., BAZO, A.P., RIBEIRO, L.R. The protective effect of mushroom (*Agaricus blazei*) teas on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. In: ANAIS DO 5^o CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MUTAGÊNESE E TERATOGÊNESE AMBIENTAL, Curitiba, p. 247, 1998.
- DERGHAM, Y. & LELLEY, JAN I. Interacion between CO₂ concentration, aggregate structure and primordia in paper-containing casing material. *Science and Cultivation of Edible Fungi*, Rotterdam: Elliot. Vol. 1, p. 323-331, 1995.

- EGER, G. The "Halbschalentest", a simple method for testing casing materials. *Mushroom Growers' Assoc. Bull.*, v.148, p.159-168, 1962.
- EIRA, A. F. , MINHONI, M.T.A. *Manual teórico prático do cultivo de cogumelos comestíveis*. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 115p.
- EIRA, A. F., BRAGA, G.C. *Manual do cultivo do "Champignon" (Agaricus spp)*. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 45p.
- FERREIRA, J.E.F. *Cultivo de Cogumelos (Fungicultura)*. São Paulo: Associação dos Eng. Agron., 1992. 11p.
- FIDALGO, O., GUIMARAES, S.M.P.B. A situação do cogumelo comestível no Brasil e no exterior. In: ANAIS I ENCONTRO NACIONAL DE COGUMELOS COMESTÍVEIS, 1985. p. 7-23.
- FLEGG, P.B. Pure apace and relaled properties of casing materials. *Mushroom Sci.* v. 2, p. 149-161, 1953.
- FLEGG, P.B., SPENCER, D.M., WOOD, D.A. *The biology and technology of the cultivated mushroom*. Chichester: John Wiley & Sons, 1985, 347p.
- FLEGG, P.B. & GANNEY, G.W. Cropping of mushrooms on shallow layers of compost. *Sc. Hortic.*, v. 1, p. 331-339, 1973.
- GERRITS, J.P.G. The significance of gypsum applied to mushroom compost, in particular relation to the ammonia content. *J. Agric. Sci. (Netherlands)*, v.25, p.288-302, 1977.
- GIBBONS, W.R., MAHER, A.A., TODD, R.L. Button Mushroom production in syntetic compost derived from agricultural wastes. *Biosource Technol.* v.38, p.65-77, 1991.
- HAYES, W.A., RANDLE, P.E., LAST, F.T. The nature of the microbial stimulus affecting sporophore formation in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Ann. Appl. Biol.*, v.64, p.177-187, 1969.
- HAYES, W.A., YEO, S.G., GRESSWELL, P.A., JAKEMAN, K.J. Paper and pulp mill by-product as a casing medium for mushroom culture. *Mushroom J.*, v.62, p.38-44, 1978.

- HAYES, W.A. *Fungal Biotechnology*. In: SMITH J.E., BERRY D.R. KRISTIANSEN E B. British Mycological Society, Symposium n^o 3. Solid State Fermentation and the cultivation of Edible Fungi, Academic Press. p.175-202, 1980.
- HEINEMANN, P. *Agariceae* des régions intertropicales d'Amérique du Sud: *Agarici Austroamerici* VIII. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg. / Bull. Nat. Plantentuin Belg.* v. 62, p. 355-384, 1993.
- HOBBS, C. *Medicinal mushrooms: an exploration of tradition, healing and culture*. 2 ed. Santa Cruz: Botanica Press, 1995. 251p.
- HOFFMANN, R. *Estatística experimental*. São Paulo: Atlas, 1987. 179p.
- IKEKAWA, T., NAKANISHI, M., MAEDA, Y.Y., UEHARA, N., FUKUOKA, F. Antitumor activity of aqueous extracts of edible mushrooms. *Cancer Res.* v. 59, p.734-735, 1969.
- ITOH, H., ITO, H., AMANO, H., NODA, H. Inhibitory action of a (1→6) β - D - glucan - protein complex (F III-2-b) isolated from *Agaricus blazei* Murill ("himematsutake") on meth a fibrosarcoma-bearing mice and its antitumor mechanism. *J. Pharm.* (Japan). v. 66, p.265-71, 1994.
- KALBERER, P.P. Factors influencing the dry matter content of the fruit bodies of *Agaricus bisporus*. *Science and Cultivation of Edible Fungi*, Rotterdam: Elliot. Vol. 1, p. 417-422, 1995.
- KALBERER, P.P. Influence of the depth of the casing layer on the water extraction from casing soil and substrate by the sporophores, on the yield and on the dry matter content of the fruit bodies of the first three flushes of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Sci. Hortic.* Vol. 27, p. 33-43, 1985.
- KALBERER, P.P. Influence of the depth of the casing layer and the harvesting time on changes of the water content of the casing layer and the substrate caused by the first flush of mushroom. *Sci. Hortic.*(Amst.), v.27, p.9-18, 1983.

- KAWAGISHI, H., INAGAKI, R., KANAO, T., MIZUNO, T., SHIMURA, K., ITO, H., HAGIWARA, T., NAKAMURA, T. Formolysis of a potent antitumor (1→6) β - D - glucan - protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products. *Carbohydr. Res.* v.12, p.393-403, 1990.
- LONG, P.E. & JACOBS, L. Some observations on CO₂ and sporophore initiation in the cultivated mushroom. *Mushroom Sci.* v. 7, p. 373-384, 1968.
- MACCANN, C. *Commercial mushroom production*. Dublin: Foras Taluntais, 1984. 162p.
- MINNIGEROD VON, H. A method for controlling and regulating the composting process. *Mushroom Sci.*, v.11, p.265-278, 1981.
- MIZUNO, T., HAGIWARA, T., NAKAMURA, T., ITO, H., SHIMURA, K., SUMIYA, T., ASAKURA, A. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. *Agric. Biol. Chem.* (Japan), v. 54, p.2889-2896, 1990.
- MORRISON, D.F. *Multivariate statistical methods*. Singapore: McGraw-Hill. 2 ed. 415 p., 1988.
- NOBLE, R. & GAZE, R.H. Properties of casing peat types and additives and their influence on mushroom yield and quality. *Science and Cultivation of Edible Fungi*, Rotterdam: Elliot. Vol. 1, p. 305-312, 1995.
- OSAKI, Y., KATO, T., YAMAMOTO, K., OKUBO, J., MIYAZAKI, T. Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a basidiomycete *Agaricus blazei*, Jun-17. *Carbohydr. Res.*, v. 114, p.342-350, 1994.
- OVERTIJS, O. & BOCKSTAELE, L. Supplementation at casing with keratine protein and corn-gluten. *Mushroom Sci.* v.12, p.371-380, 1979.
- PEERALY, A. Sporophore initiation in *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitorquis* in relation to bacteria and activated charcoal. *Mushroom Sci.* v. 1, p. 611-639. 1978.
- QUIMIO, T.H., CHANG, S.T., ROYSE, D.J. *Technical guidelines for mushroom growing in the tropics*. Roma: FAO, 1990. 155p.

- RAJARATHNAN, S. & BANO, Z. Pleurotus mushroom. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. *Crit. Ver. Food Sci. Nutr.*, v.26, p.157-223, 1987.
- ROSA, G.J.M. *Desenvolvimento de aplicativo para a análise de perfil na experimentação zootécnica*. UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica, Botucatu, p. 82, 1994 (Tese de Mestrado).
- SAN ANTONIO, J.P. Cultivation of the shiitake mushroom. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, v.16, p.151-156, 1981.
- SGANZERLA, E. *Nova agricultura: a fascinante arte de cultivar com os plásticos*. 5 ed. Guaíba: Agropecuária. 1995. 342 p.
- SIEGEL, S. *Estatística não paramétrica*. São paulo: McGraw-Hill, 1975, 350 p.
- STEINECK, H. *Cultivo comercial del champiñón*. 2 ed. Espanha: Acribia, 1987. 142p.
- STAMETS, P. & CHILTON, J.S. *The mushroom cultivator*. Washington: Agrikon Press, 1983. 415p.
- STRAATSMA, G. et al. Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in button mushroom compost and its effect on yield. *Applied and Environmental Microbiol.*, v.60, n.09, p.3049-3054, 1994.
- TSCHIERPE, H.J. Environmental factors and Mushroom growing. *Mushroom J.* v. 2, 77-94, 1973.
- VEDDER, P.J.C. *Cultivo Moderno Del Champiñón*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1991. 370p.
- VIJAY, B., SAXENA, S., SOHI, H.S. Studies on new casing media for *Agaricus Bisporus* (Lange) Sing. *Mushroom J.* n. 178, p.313-315, 1987.
- VISSCHER, H.R. Fructification of *Agaricus bisporus* (Lge.) Imb. in relation to the relevant microflora in the casing soil. *Mushroom Sci.* v.1, p. 641-664, 1978.
- ZADRAZIL, F., GRABBE, K. Edible mushrooms. *Biotecnology*, v.3, n.1, p.146-187, 1983.

APÊNDICE

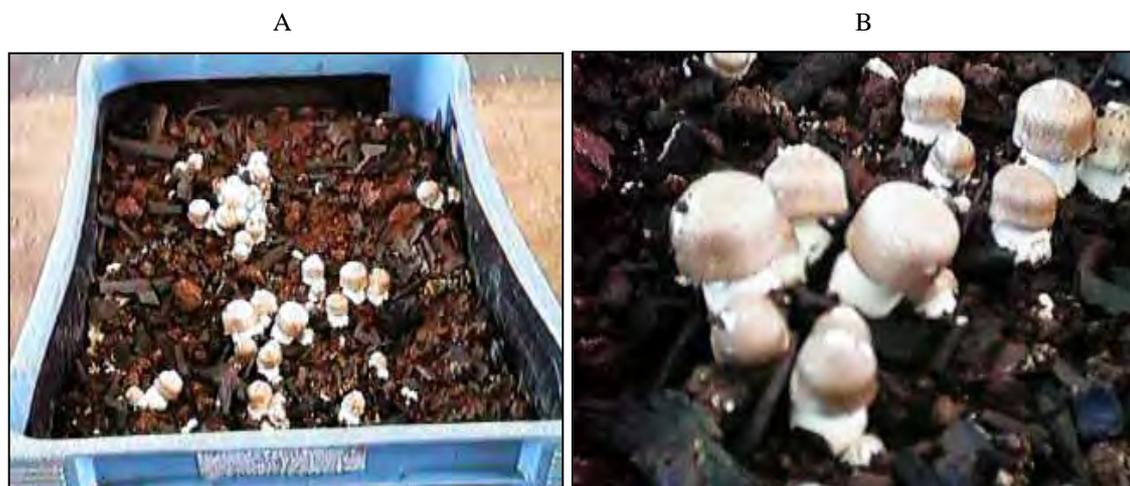


Figura 13. Cogumelos *A. blazei* em desenvolvimento na camada de cobertura do substrato. A- caixa plástica contendo o substrato coberto com o material de cobertura e os cogumelos em crescimento; B- detalhe dos cogumelos em diferentes estágios de crescimento.



Figura 14. Detalhes de cogumelos *A. blazei* inteiros (A) e partidos ao meio (B), após colhidos.

Quadro 18. Resultados gerais por repetição e por tratamento, referentes ao experimento 1 de avaliação da camada de cobertura, da massa do substrato e do ambiente de cultivo na frutificação e produtividade de *A. blazei*.

Trat./rep. ambiente/massa/cobertura	Produção (gramas)	Nº de cogumelos	peso médio por cogumelo (gramas)	kg /m ²	kg/100kg	Eficiência biológica
bambu/5kg/3cm - 1	101,80	5,00	20,36	0,63	2,04	5,40
bambu/5kg/3cm - 2	199,20	7,00	28,46	1,23	3,98	10,57
bambu/5kg/3cm - 3	527,70	14,00	37,69	3,26	10,55	28,00
bambu/5kg/3cm - 4	155,60	9,00	17,29	0,96	3,11	8,26
bambu/5kg/3cm - 5	227,90	8,00	28,49	1,41	4,56	12,09
Total	1212,20	43,00		7,49	24,24	64,32
média	242,44	8,60		1,50	4,85	12,86
bambu/10kg/3cm - 1	1237,00	44,00	28,11	7,65	12,37	32,81
bambu/10kg/3cm - 2	521,90	17,00	30,70	3,23	5,22	13,84
bambu/10kg/3cm - 3	687,00	25,00	27,48	4,25	6,87	18,22
bambu/10kg/3cm - 4	573,40	25,00	22,94	3,55	5,73	15,21
bambu/10kg/3cm - 5	951,40	25,00	38,06	5,88	9,51	25,24
Total	3970,70	136,00		24,56	39,70	105,32
média	794,14	27,20		4,91	7,94	21,06
bambu/5kg/5cm - 1	564,90	24,00	23,54	3,49	11,30	29,97
bambu/5kg/5cm - 2	585,40	28,00	20,91	3,62	11,71	31,06
bambu/5kg/5cm - 3	453,60	18,00	25,20	2,81	9,07	24,06
bambu/5kg/5cm - 4	447,90	10,00	44,79	2,77	8,96	23,76
bambu/5kg/5cm - 5	367,40	16,00	22,96	2,27	7,35	19,49
Total	2419,20	96,00		14,96	48,39	128,34
média	483,84	19,20		2,99	9,68	25,67
bambu/10kg/5cm - 1	1588,40	74,00	21,47	9,82	15,88	42,13
bambu/10kg/5cm - 2	499,80	28,00	17,85	3,09	5,00	13,26
bambu/10kg/5cm - 3	354,90	13,00	27,30	2,20	3,55	9,41
bambu/10kg/5cm - 4	722,30	29,00	24,91	4,47	7,22	19,16
bambu/10kg/5cm - 5	496,40	15,00	33,09	3,07	4,96	13,17
Total	3661,80	159,00		22,65	36,61	97,13
média	732,36	31,80		4,53	7,32	19,43
Bambu/5kg/8cm - 1	159,10	4,00	39,78	0,98	3,18	8,44
Bambu/5kg/8cm - 2	590,00	18,00	32,78	3,65	11,80	31,30
Bambu/5kg/8cm - 3	473,40	22,00	21,52	2,93	9,47	25,11
Bambu/5kg/8cm - 4	536,10	26,00	20,62	3,32	10,72	28,44
bambu/5kg/8cm - 5	707,60	28,00	25,27	4,38	14,15	37,54
Total	2466,20	98,00		15,26	49,32	130,83
média	493,24	19,60		3,05	9,86	26,17
bambu/10kg/8cm - 1	736,00	28,00	26,29	4,55	7,36	19,52
bambu/10kg/8cm - 2	682,00	30,00	22,73	4,22	6,82	18,09
bambu/10kg/8cm - 3	1240,90	51,00	24,33	7,67	12,41	32,92
bambu/10kg/8cm - 4	615,10	50,00	12,23	3,80	6,15	16,32
bambu/10kg/8cm - 5	484,80	17,00	28,52	3,00	4,85	12,86
Total	3758,80	176,30		23,24	37,59	99,71
média	751,76	35,26		4,65	7,52	19,94

Cont.

Trat./rep. ambiente/massa/cobertura	Produção (gramas)	Nº de cogumelos	peso médio por cogumelo (gramas)	kg /m ²	kg/100kg	Eficiência biológica
plástico/5kg/3cm - 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
plástico/5kg/3cm - 2	46,30	1,00	46,30	0,29	0,93	2,46
plástico/5kg/3cm - 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
plástico/5kg/3cm - 4	376,50	16,00	23,53	2,33	7,53	19,97
plástico/5kg/3cm - 5	226,50	11,00	20,59	1,40	4,53	12,02
Total	649,30	28,00		4,02	12,99	34,45
média	129,86	5,60		0,80	2,60	6,89
plástico/10kg/3cm - 1	425,50	26,00	16,37	2,63	4,26	11,29
plástico/10kg/3cm - 2	616,40	23,00	26,80	3,81	6,16	16,35
plástico/10kg/3cm - 3	458,70	15,00	30,58	2,84	4,59	12,17
plástico/10kg/3cm - 4	1270,10	54,00	23,52	7,86	12,70	33,69
plástico/10kg/3cm - 5	396,30	17,00	23,31	2,45	3,96	10,51
Total	3167,00	135,00		19,59	31,67	84,01
média	633,40	27,00		3,92	6,33	16,80
plástico/5kg/5cm - 1	357,70	11,00	32,52	2,21	7,15	18,98
plástico/5kg/5cm - 2	507,20	19,00	26,70	3,14	10,14	26,91
plástico/5kg/5cm - 3	300,50	19,00	15,82	1,86	6,01	15,94
plástico/5kg/5cm - 4	554,80	23,00	24,12	3,43	11,10	29,43
plástico/5kg/5cm - 5	346,30	18,00	19,24	2,14	6,93	18,37
Total	2066,50	90,00		12,78	41,33	109,63
média	413,30	18,00		2,56	8,27	21,93
plástico/10kg/5cm - 1	1395,10	32,00	43,60	8,63	13,95	37,01
plástico/10kg/5cm - 2	1951,20	54,00	36,13	12,07	19,51	51,76
plástico/10kg/5cm - 3	932,30	26,00	35,86	5,77	9,32	24,73
plástico/10kg/5cm - 4	1914,90	76,00	25,20	11,84	19,15	50,79
plástico/10kg/5cm - 5	1687,80	65,00	25,97	10,44	16,88	44,77
Total	7881,30	253,00		48,75	78,81	209,06
média	1576,20	50,60		9,75	15,76	41,81
plástico/5kg/8cm - 1	404,60	13,00	31,12	2,50	8,09	21,46
plástico/5kg/8cm - 2	410,60	17,00	24,15	2,54	8,21	21,78
plástico/5kg/8cm - 3	492,70	30,00	16,42	3,05	9,85	26,14
plástico/5kg/8cm - 4	409,00	15,00	27,27	2,53	8,18	21,70
plástico/5kg/8cm - 5	421,00	20,00	21,05	2,60	8,42	22,33
Total	2137,90	95,00		13,22	42,75	113,41
média	427,58	19,00		2,64	8,55	22,68
plástico/10kg/8cm - 1	1024,80	36,00	28,47	6,34	10,25	27,18
plástico/10kg/8cm - 2	1872,90	75,00	24,97	11,58	18,73	49,68
plástico/10kg/8cm - 3	1620,30	65,00	24,93	10,02	16,20	42,98
plástico/10kg/8cm - 4	1410,80	66,00	21,38	8,72	14,11	37,42
plástico/10kg/8cm - 5	1533,00	59,00	25,98	9,48	15,33	40,66
Total	7461,80	301,00		46,14	74,62	197,92
média	1492,36	60,20		9,23	14,92	39,58

Quadro 19. Resultados gerais por repetição e por tratamento, referentes ao experimento 2 de avaliação de choques térmicos na frutificação e produtividade de *A. blazei*.

Tratamento / repetição	Peso colhido (gramas)	n ^o de cogumelos colhidos	Produtividade (kg/100kg)
Controle-1	1.072,90	97,00	13,41
Controle-2	913,50	61,00	11,42
Controle-3	681,90	33,00	8,52
Controle-4	749,70	54,00	9,37
Controle-5	889,30	49,00	11,12
Controle-6	804,00	48,00	10,05
Total	5.111,30	342,00	
média /caixa	851,88	57,00	10,65
3Choq24h-1	584,10	28,00	7,30
3Choq24h-2	445,60	19,00	5,57
3Choq24h-3	1.389,40	125,00	17,37
3Choq24h-4	742,00	35,00	9,28
3Choq24h-5	1.314,90	125,00	16,44
3Choq24h-6	224,00	12,00	2,80
Total	4.700,00	344,00	
média /caixa	783,33	57,33	9,79
3choq72h-1	318,60	20,00	3,98
3choq72h-2	1.175,00	93,00	14,69
3choq72h-3	446,80	23,00	5,59
3choq72h-4	984,20	32,00	12,30
3choq72h-5	1.209,00	59,00	15,11
3choq72h-6	1.356,80	91,00	16,96
Total	5.490,40	318,00	
média /caixa	915,07	53,00	11,44
1choq72h-1	892,60	34,00	11,16
1choq72h-2	419,50	29,00	5,24
1choq72h-3	246,00	8,00	3,08
1choq72h-4	1.500,30	122,00	18,75
1choq72h-5	283,50	15,00	3,54
1choq72h-6	690,00	48,00	8,63
Total	4.031,90	256,00	
média /caixa	671,98	42,67	8,40