



STEFANY DE SOUZA SILVA

**DESEMPENHO DE *Agrocybe aegerita* EM FUNÇÃO DO
SUBSTRATO DE CULTIVO**

**LAVRAS-MG
2023**

STEFANY DE SOUZA SILVA

DESEMPENHO DE *Agrocybe aegerita* EM FUNÇÃO DO SUBSTRATO DE CULTIVO

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias
Orientador

Prof. Dr. Diego Cunha Zied
Coorientador

**LAVRAS-MG
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Stefany de Souza.

Desempenho de *Agrocybe aegerita* em função do substrato de cultivo/ Stefany de Souza Silva. - 2023.

69 p.

Orientador(a): Eustáquio Souza Dias.

Coorientador(a): Diego Cunha Zied.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. *Agrocybe aegerita*. 2. Substrato. 3. Produtividade. I. Dias, Eustáquio Souza. II. Zied, Diego Cunha. III. Título.

STEFANY DE SOUZA SILVA

DESEMPENHO DE *Agrocybe aegerita* EM FUNÇÃO DO SUBSTRATO DE CULTIVO

**PERFORMANCE OF *Agrocybe aegerita* AS A FUNCTION OF THE CULTIVATION
SUBSTRATE**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de maio de 2023

Dr. Eustáquio Souza Dias

Dr. Diego Cunha Zied

Dr. Félix Gonçalves Siqueira

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias
Orientador

Prof. Dr. Diego Cunha Zied
Coorientador

**LAVRAS-MG
2023**

*A Deus que sempre cuidou de mim,
Aos meus pais João e Silvia,
Aos meus irmãos, Miguel, Pablo e família,
Ao meu namorado Jonas e sua família,
A minha grande amiga Cibelli que esteve comigo nos momentos
mais difíceis,
A minhas amigas Aline e Beatriz,
Ao meu orientador Eustáquio e sua esposa Cidinha,
Ao meu coorientador Diego,
A Elisângela,
A todos os meus amigos e colegas de profissão do BIOFUNGI,
Aos meus grandes amigos e parceiros de profissão que jamais esquecerei do CECOG,
A todos da minha família e amigos que torceram por mim durante
esta caminhada,*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Especialmente a Deus.

A minha família por todo apoio e carinho.

Ao meu orientador professor Dr. Eustáquio Souza Dias.

Ao meu coorientador professor Dr. Diego Cunha Zied.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Ao Programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola (UFLA).

A todos os técnicos laboratoriais do programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola (UFLA).

Ao núcleo de pesquisa de Biologia e Cultivo de Cogumelos Comestíveis (BIOFUNGI).

Ao Centro de estudos em Cogumelos Comestíveis da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Câmpus Dracena (UNESP).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Muito obrigada!

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo, o desenvolvimento de uma tecnologia de cultivo do cogumelo comestível *Agrocybe aegerita* no Brasil, abordando diferentes aspectos, tais como tipo de substrato base, tipo de suplemento e condicionadores de pH. O primeiro ensaio foi realizado em duplo fatorial, consistindo-se de 7 tratamentos x 3 manejos (abertura total na superfície do saco de cultivo; 3 cortes; 6 cortes), e como substratos: serragem, palha de feijão, pergaminho, feno de braquiária, bagaço de cana-de-açúcar, todos suplementados com 10% de farelo de trigo e 2% de calcário calcítico. Testou-se três tratamentos controle: palha de feijão, feno de braquiária e pergaminho, com apenas 2% de calcário. Os blocos produzidos foram pasteurizados a 80°C por 12 horas + autoclavagem de 4 horas, inoculados com 3% de inóculo em câmara de fluxo laminar. O segundo experimento foi realizado para validação de dados do primeiro, utilizando apenas um manejo. Avaliou-se novamente como substratos: serragem, bagaço de cana-de-açúcar e feno de braquiária, todos com 10% de farelo de trigo + 2% de calcário, pasteurizados a 80°C durante 24 horas + 2 horas de autoclavagem. Os blocos de serragem foram inoculados com 4% de inóculo e os demais com 3%. O terceiro ensaio avaliou 4 suplementos a serem empregados no cultivo, farelo de trigo (FT), farelo de arroz (FA), fubá (F) e FT+ FA+F. O quarto ensaio avaliou o efeito de níveis de gesso e calcário calcítico (0,5%; 1%; 2%) no cultivo. Os blocos do terceiro e quarto ensaio foram autoclavados por 4 horas e inoculados com 3% de inóculo. Os blocos de todos os ensaios, foram incubados a 25°C e cultivados em sala a 25°C, com ar condicionado, sistema de nebulização e umidade acima de 80%. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados e os dados de colheita dos cogumelos calculados pelo teste de médias e tratados pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade, com opção de transformação: raiz quadrada $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y+0.5)$, utilizando o programa estatístico Sisvar. O feno de braquiária atingiu a maior eficiência biológica (EB) de 10,09% e maior produtividade (P) de 3,49% no primeiro ensaio no manejo 2, porém as diferenças não foram significativas. Selecionou-se no segundo experimento, a palha de feijão como substrato base devido aos melhores resultados obtidos: 5,81% (P) e 16,60% (EB). Como manejo, optou-se pela retirada completa do saco de cultivo para indução da formação dos cogumelos. A utilização do farelo de trigo como suplemento no substrato de cultivo, proporcionou no terceiro ensaio os melhores resultados: 4,78% (P) e 17,32% (EB), enquanto que o gesso a 1% foi apresentou os melhores resultados como condicionador do substrato: 2,36% (P) e 8,94% (EB). Os resultados do presente trabalho mostraram claramente que o desempenho do cogumelo *A. aegerita* é influenciado fortemente pelas características químicas e físicas do substrato. Entretanto, este desempenho provavelmente deve ser muito influenciado também pelos fatores genéticos intrínsecos à espécie, o que requer trabalhos futuros de seleção de linhagens mais apropriadas para o cultivo deste cogumelo no Brasil.

Palavras-chave: *Agrocybe aegerita*. Substrato. Produtividade.

ABSTRACT

The present study aimed at developing a cultivation technology for the edible mushroom *Agrocybe aegerita* in Brazil, addressing various aspects such as the type of base substrate, supplement type, and pH conditioners. The first trial was conducted as a double factorial, consisting of 7 treatments x 3 managements techniques (full opening of the cultivation bag surface; 3 cuts; 6 cuts). The substrates used were sawdust, bean straw, coffee parchment, brachiaria hay, sugarcane bagasse, all supplemented with 10% wheat bran and 2% calcitic limestone. Three control treatments were tested: bean straw, brachiaria hay, and parchment, with only 2% calcitic limestone. The produced blocks were pasteurized at 80°C for 12 hours + 4 hours of autoclaving, inoculated with 3% inoculum in a laminar flow chamber. The second experiment aimed at validating the data from the first experiment, using only one management technique. The substrates were again evaluated: sawdust, sugarcane bagasse, and brachiaria hay, all with 10% wheat bran + 2% calcitic limestone, pasteurized at 80°C for 24 hours + 2 hours of autoclaving. Sawdust blocks were inoculated with 4% inoculum, while the others were inoculated with 3%. The third trial evaluated 4 supplements to be used in cultivation: wheat bran (FT), rice bran (FA), cornmeal (F), and FT+FA+F. The fourth trial assessed the effect of gypsum and calcitic limestone levels (0.5%; 1%; 2%) on cultivation. Blocks from the third and fourth trials were autoclaved for 4 hours and inoculated with 3% inoculum. Blocks from all trials were incubated at 25°C and cultivated in a room at 25°C with air conditioning, misting system, and humidity above 80%. The experimental design used was randomized blocks, and mushroom harvest data were analyzed using the mean test and treated with the Tukey test at a 5% probability level, with the option of transformation: square root of $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y+0.5)$, using the statistical program Sisvar. Brachiaria has achieved the highest biological efficiency (BE) of 10.09% and highest productivity (P) of 3.49% in the first trial with management technique 2, although the differences were not significant. In the second experiment, bean straw was selected as the base substrate due to the best results obtained: 5.81% (P) and 16.60% (BE). The complete removal of the cultivation bag was chosen as the management technique to induce mushroom formation. The use of wheat bran as a supplement in the cultivation substrate yielded the best results in the third trial: 4.78% (P) and 17.32% (BE), while 1% gypsum showed the best results as a substrate conditioner in the fourth trial: 2.36% (P) and 8.94% (BE). The results of this study clearly demonstrated that the performance of *A. aegerita* mushrooms is strongly influenced by the chemical and physical characteristics of the substrate. However, this performance is likely to be significantly influenced by intrinsic genetic factors of the species as well, which necessitates future work in selecting more suitable strains for cultivating this mushroom in Brazil.

Keywords: *Agrocybe aegerita*. Substrates. Productivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Porcentual de distribuição de cogumelos no mundo.....	18
Figura 2- Basidiomas da espécie <i>Agrocybe aegerita</i>	27
Figura 3- Processo de umidificação da palha de feijão em caixa d'água.....	34
Figura 4- Drenagem da palha de feijão em caixa plástica agrícola.....	34
Figura 5- Pesagem de <i>Agrocybe aegerita</i> em balança analítica.....	36
Figura 6- Representação do corte realizado em blocos do Manejo 1.....	37
Figura 7- Regiões das incisões feitas nos blocos de cultivo do Manejo 2.....	37
Figura 8- Localização das incisões feitas nos blocos do Manejo 3.....	37
Figura 9- Porcentual de contaminação dos tratamentos do ensaio I.....	43
Figura 10- Contaminação em blocos do ensaio I.....	43
Figura 11- Bloco de bagaço de cana-de-açúcar não colonizado por <i>A. aegerita</i>	45
Figura 12- Cogumelos formados em blocos do manejo 1.....	48
Figura 13- Cogumelos gerados em blocos submetidos a manejo 2.....	49
Figura 14- Cogumelos formados no manejo 3.....	50
Figura 15- Taxa de contaminação apresentado pelos tratamentos do ensaio II.....	51
Figura 16- Primórdios na base de bloco de cultivo composto de palha de feijão.....	54
Figura 17- Diferença de coloração entre os basidiocarpos de <i>A. aegerita</i>	55
Figura 18- Índice de contaminação em blocos do ensaio III.....	56
Figura 19- Produção de <i>A.aegerita</i> em blocos de cultivo suplementados com farelos.....	58
Figura 20- Incidência de contaminações nos blocos do ensaio IV.....	60
Figura 21- Blocos de cultivo completamente exposto ao ambiente e apresentando a perda da cobertura micelial.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Países líderes na produção mundial de cogumelos comestíveis.....	21
Tabela 2- Dados de produção de cogumelos comestíveis no Brasil.....	22
Tabela 3- Substratos utilizados no cultivo de <i>Agrocybe aegerita</i> no âmbito internacional.....	30
Tabela 4- Formulações do substrato de cultivo do cogumelo <i>Agrocybe aegerita</i> , utilizando diferentes tipos de substrato base.....	33
Tabela 5- Tratamentos de formulação do substrato de cultivo do cogumelo <i>A. aegerita</i> para o ensaio II.....	38
Tabela 6- Tratamento para seleção de suplemento para cultivo de <i>A. aegerita</i>	39
Tabela 7- Composição dos substratos em função da adição do condicionante.....	40
Tabela 8- Teor de umidade e pH dos substratos.....	42
Tabela 9- Resultados de colonização dos diferentes substratos avaliados para o cultivo de <i>A. aegerita</i>	44
Tabela 10- Resultado das variáveis analisadas do cultivo de <i>Agrocybe aegerita</i> no ensaio I.....	46
Tabela 11- Aspectos físicos e químicos dos substratos do ensaio II.....	50
Tabela 12- Produtividade de <i>Agrocybe aegerita</i> no ensaio II.....	52
Tabela 13- Teor de umidade e pH dos diferentes substratos para cultivo de <i>A. aegerita</i> no ensaio III.....	56
Tabela 14- Dados do desempenho agrônômico de <i>A. aegerita</i> no ensaio III.....	57
Tabela 15- Valores de pH, matéria seca e umidade dos substratos do ensaio IV.....	59
Tabela 16- Médias de produtividade do cultivo de <i>A. aegerita</i> no ensaio IV.....	60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Compostos bioativos expressos por <i>Agrocybe aegerita</i>	28
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	16
1.1.2 Objetivo Geral	16
1.1.3 Objetivos Específicos	17
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	18
2.1 Cogumelos comestíveis	18
2.2 Panorama sobre o mercado de cogumelos comestíveis	20
2.4 Caracterização biológica da espécie <i>Agrocybe aegerita</i>	26
2.5 Propriedades bioquímicas de <i>Agrocybe aegerita</i>	27
2.6 Substratos para a produção do cogumelo <i>Agrocybe aegerita</i>	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Obtenção do inóculo e produção da matriz secundária	31
3.2 Formulação dos substratos	31
3.2.1 Ensaio I: Avaliação de diferentes matérias-primas como substrato base para	32
3.2.2 Manejo dos blocos de cultivo visando a frutificação de <i>Agrocybe aegerita</i>	35
3.2.3 Ensaio II: Validação dos resultados de produção de <i>A. aegerita</i> nos diferentes substratos base usando o melhor manejo.	35
3.2.4 Ensaio III: Efeito do tipo de suplementação sobre a produtividade de <i>Agrocybe aegerita</i>	37
3.2.5 Ensaio IV: Avaliação de dois condicionantes de substrato em dois níveis	38
3.3 Parâmetros físicos e químicos dos substratos	39
3.4 Produtividade e eficiência biológica	39
3.5 Análise estatística	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Ensaio I: Seleção de substrato base para produção do cogumelo <i>Agrocybe aegerita</i>	41
4.1.1 Dados de pH, matéria seca e umidade dos substratos	41
4.1.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio I	41
4.1.3 Índice de colonização dos substratos	43
4.1.4 Dados de produção do cultivo de <i>Agrocybe aegerita</i> no Ensaio I	44

4.2 Ensaio II: Validação dos resultados de produção de <i>A. aegerita</i> nos diferentes substratos base usando o melhor manejo.	49
4.2.1 Dados de pH, matéria seca e umidade dos substratos	49
4.2.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio II	50
4.2.3 Dados de produção do cultivo de <i>Agrocybe aegerita</i> no Ensaio II	51
4.3 Ensaio III: Efeito da suplementação na produtividade de <i>Agrocybe aegerita</i>.	54
4.3.1 Dados de pH, matéria seca e umidade dos substratos	54
4.3.3 Desempenho agrônômico de <i>Agrocybe aegerita</i> no Ensaio III	56
4.4 Ensaio IV: Avaliação de dois condicionantes de substrato em dois níveis.	57
4.4.1 Dados de pH e teor de umidade dos substratos	57
4.4.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio IV	58
4.4.3 Dados de produção do cultivo de <i>Agrocybe aegerita</i> no Ensaio IV	59
5 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Agrocybe aegerita* é um basidiomiceto agárico saprófito de podridão branca de origem europeia considerado cosmopolita, encontrado comumente em Portugal em períodos de umidade prolongada., O fungo atua decompondo subprodutos agrícolas e florestais, além da serapilheira que se forma naturalmente em função da queda de galhos e folhas, em especial de árvores decíduas como *Populus* e *Salix* spp. (FRINGS *et al.*, 2020). Na Itália, crescem em choupos velhos particularmente na região da Campânia, do qual são utilizados como suporte para as videiras (LANDI *et al.*, 2017a).

A espécie é amplamente conhecida no âmbito internacional, por exibir propriedades de grande interesse biotecnológico, exploradas por diversos cientistas, principalmente micologistas que desenvolvem estudos com foco na área de genética molecular há décadas, nos quais *Agrocybe aegerita* tem sido utilizado como modelo de frutificação monocariótica em contraste ao sistema convencional de frutificação dicariótica (HERZOG *et al.*, 2016). Inclusive, a partir do sequenciamento do genoma da espécie, um conjunto de ferramentas moleculares foi desenvolvido (FRINGS *et al.*, 2020).

A. aegerita também apresenta biocompostos altamente ativos com diferentes potencialidades nutricionais e medicinais, tais como antioxidantes, antienvhecimento, atividade fibrinolítica e anticoagulante contra trombose. Dentre os mais variados compostos, pode-se destacar β -glucanas, lectinas, terpenóides, protetores orgânicos no cérebro, fígado e rim por exemplo, sendo descritos até mesmo antibióticos produzidos a partir do fungo, denominados *agrocybin* e *agrocibenina* (BANDURA *et al.*, 2021; NIVEIRO; UHART; ALBERTÓ, 2020; JING *et al.*, 2018; KOUTROTSIOS *et al.*, 2014; LI *et al.* 2020; TAYYROV *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2020).

Em relação a sua composição nutricional, a espécie possui vitaminas do complexo B (B2, B3 e B5), aminoácidos essenciais e minerais (KOUTROTSIOS *et al.*, 2014), polissacarídeos (LI *et al.*, 2018), alto teor de proteínas, umidade, baixo índice de lipídeos e carboidratos. O cogumelo é muito apreciado gastronomicamente pelo seu sabor único, aroma agradável e textura firme que se mantém após a fervura, ficando denso e crocante (LANDI, *et al.*, 2017a; BANDURA *et al.*, 2021). Na Itália, o cogumelo é vendido de 7 a 8 euros o quilo (FERREIRA, 2014).

Segundo Ferreira (2014), o cultivo de *A. aegerita* foi iniciado em 1950, sendo cultivado em diversos países como Espanha, China, Argentina, Alemanha, Itália, Tailândia, Grécia e Estados Unidos, utilizando como substrato bagaços de frutos, palha de trigo

(FERREIRA, 2014), palha de arroz e serragem (LANDINGIN, 2020). Alguns trabalhos, revelam que a composição do substrato afeta consideravelmente a eficiência biológica da espécie e o teor de nutrientes nos basidiocarpos (BANDURA *et al.*, 2021). Embora vários estudos tenham sido conduzidos acerca dos aspectos genéticos, bioquímicos e nutricionais relacionados aos compostos bioativos de *Agrocybe aegerita*, poucas pesquisas foram realizadas sobre o cultivo comercial da espécie. Mesmo no âmbito internacional, os trabalhos são muito escassos e alguns antigos. Praticamente inexistem estudos recentes sobre o desenvolvimento tecnológico envolvendo tipos de substratos ou de manejo visando o aumento de produtividade ou eficiência biológica da espécie. Isso inclusive, dificulta a utilização de valores que poderiam ser utilizados como referência para novos trabalhos.

No Brasil, não há registros de cultivo de *A. aegerita*, o que significa que o mesmo não está presente no mercado brasileiro de cogumelos. Porém, é notório o potencial que a espécie apresenta como uma das opções de mercado, ainda mais levando-se em consideração a grande disponibilidade de matérias-primas de fácil acesso e de baixo custo no país, principalmente palhas.

Portanto, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma tecnologia de cultivo do cogumelo comestível *Agrocybe aegerita* no Brasil, abordando diferentes aspectos, tais como tipo de substrato base, tipo de suplemento e condicionadores de pH.

1.1 OBJETIVOS

1.1.2 Objetivo Geral

Avaliar a produtividade de *Agrocybe aegerita* em diferentes substratos base em paralelo ao manejo, suplementos de melhor desempenho e condicionantes em diferentes concentrações e combinações.

1.1.3 Objetivos Específicos

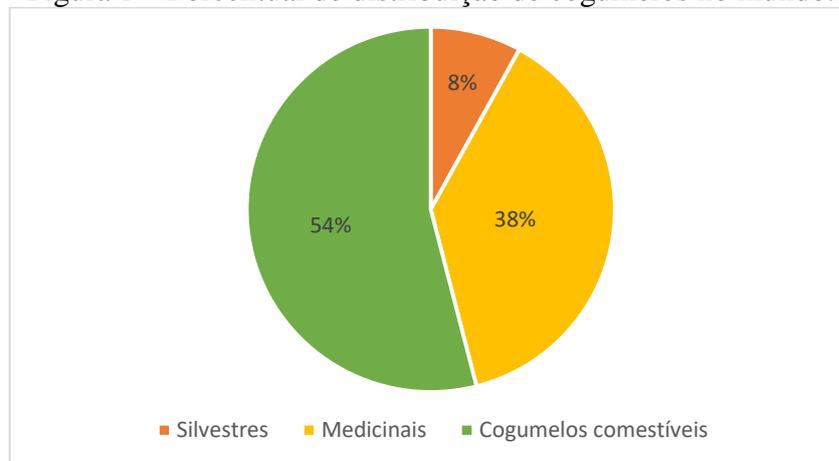
1. Determinar um substrato base de melhor desempenho: serragem de eucalipto, bagaço de cana-de-açúcar, palha de feijão, feno de braquiária e pergaminho de café.
2. Definir o suplemento de melhor desempenho: farelo de trigo, farelo de arroz e fubá.
3. Analisar o efeito de dois tipos de condicionantes: gesso e calcário calcítico.
4. Avaliar o efeito de diferentes tipos de manejo em função dos substratos de cultivo visando a indução da frutificação.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Cogumelos comestíveis

O mercado global de cogumelos é movimentado por três variações dos mesmos: comestíveis, medicinais e silvestres (selvagens), avaliado em US\$ 63 bilhões no ano de 2013. Desse total, os cogumelos comestíveis representaram 54%, o equivalente a US\$ 34 bilhões gerados contra 38% de medicinais e 8% os silvestres (Figura 1), sendo a China o principal produtor de cogumelos no mundo (ROYSE; BAARS; TAN, 2017).

Figura 1 – Porcentual de distribuição de cogumelos no mundo.



Fonte: Adaptado de Royse, Baars e Tan (2017).

O consumo de cogumelos comestíveis é datado desde o império romano, onde romanos os consagravam como “alimento divino”, que para eles nada mais eram do que o resultado de relâmpagos enviados por Júpiter (MORAIS, 2016), por aparecerem após tempestades.

Grande parte das espécies de cogumelos comestíveis está inserida na divisão *Basidiomycota*. Estas espécies, produzem estruturas macroscópicas (basidiomas) responsáveis pela produção dos esporos (basidiósporos), tendo como principal característica a presença de um basídio que pode apresentar morfologia e coloração diversificada (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010). De acordo com Frank (2019), são conhecidas cerca de 2.000 espécies, sendo que dessas, cerca de 20 são cultivadas comercialmente.

Entende-se que, cogumelos comestíveis são os que não possuem “compostos tóxicos característicos, como os ciclo-peptídeos, mono-metil-hidrazina, coprina, muscarina, muscimol (ácido ibotênico), psilocina e psilocibina” (BACH, 2017), por isso recomenda-se o consumo apenas de espécies cultivadas comprovadamente reconhecidas como comestíveis. Evidentemente, a ausência de compostos tóxicos não é suficiente para tornar determinada

espécie de cogumelo adequada para o consumo humano. É necessário também que a espécie apresente boas características organolépticas, que incluem não apenas sabor e aroma, mas também textura e maciez (SE TIVER UMA REFERÊNCIA, INCLUA, POR FAVOR).

Segundo Royse, Baars e Tan (2017), cinco principais gêneros de cogumelos comestíveis representam 85% da produção mundial: *Lentinula* em primeiro lugar com 22%, em segundo lugar o gênero *Pleurotus* com 19% (distribuído entre 5 a 6 espécies), *Auricularia* (17%) em terceiro lugar, e ocupando as últimas posições o gênero *Agaricus* e *Flammulina* com respectivamente 15% e 11%.

Como alimento, os cogumelos possuem em sua composição uma riqueza de nutrientes: proteínas, vitaminas, fósforo, carboidratos, minerais, riboflavina, ergosterol e aminoácidos. Além disso, são conhecidos por apresentar compostos bioativos como os compostos fenólicos e flavonoides, dentre outros, conhecidos por apresentar propriedades antioxidantes, antitumorais, antivirais, antibacteriana e anti-hipercolesterolêmica, podendo auxiliar na prevenção de várias doenças. Os cogumelos podem ser aplicados não somente ao consumo, mas também em diversos processos biotecnológicos, inclusive como conservante natural através do seu extrato (MACHADO, 2017; SILVA, 2016; BACH, 2017; CONTESSA *et al.*, 2018).

Segundo Rodrigues e Okura (2022), espécies de cogumelos como *Agaricus bisporus*, *Agaricus subrufescens*, *Lentinulas edodes* e *Pleurotus ostreatus*, apresentam em média um teor de proteínas variando de 9,83 a 41,92%, carboidratos de 23,4 a 70,91%, índice de fibras alimentares de 12,76 a 46,62% e cerca de 5% de lipídeos, o que é considerado baixo (FURLANI; GODOY, 2007). Naturalmente, valores acima de 30% de proteína devem ser vistos com cautela, uma vez que muitos estudos utilizaram o valor de conversão de 6,25 quando, na verdade, o fator correto deveria ser de 4,38, uma vez que os fungos tem parte do seu teor de nitrogênio envolvido na composição da quitina, o que não ocorre com outros tipos de alimentos.

Em relação a matéria seca dos cogumelos *in natura*, esta corresponde de 5 a 15% da sua massa (BACH, 2017). Ademais, os cogumelos *in natura* são na verdade ricos em água, cerca de 90%, o que os torna um produto totalmente fresco. Em função desta característica, deve-se ter cuidado ao afirmar-se que os cogumelos frescos são ricos em proteína, pois esta premissa somente é válida para os cogumelos secos.

Os cogumelos comestíveis são comercializados em várias formas, desde *in natura*, como nas suas derivações como o cogumelo desidratado, em conserva, em pó, em cápsulas como suplemento alimentar, etc. Os cogumelos frescos destacam-se pela sua utilização em

diversos pratos gastronômicos de maior requinte, entretanto, os cogumelos em conserva são também muito tradicionais na culinária brasileira, em especial o *champignon* de Paris no preparo de estrogonofe e do molho madeira. Em menor proporção, vem os cogumelos desidratados, sendo o *funghi secchi porcini* o mais tradicional, mas também os cogumelos mais comerciais tais como o shiitake e o shimeji, os quais vem se popularizando em função do seu sabor *umami* devido aos aminoácidos livres (ácido glutâmico e aspártico) e os nucleotídeos 5-monofosfato purina inosina (IMP) e 5-monofosfato de guanosina (GMP) (BACH, 2017), conferindo este sabor que geralmente agrada somente uma parcela da população por ser mais refinado.

Os cogumelos comestíveis são produtos muito atrativos, e apesar de estarem ganhando cada vez mais espaço no mercado nacional, o valor comercializado ainda é empecilho para o avanço do consumo, sendo pouco presente na mesa dos brasileiros, além da falta de informação compartilhada acerca de seus benefícios fisiológicos, e dos desafios enfrentados por produtores.

2.2 Panorama sobre o mercado de cogumelos comestíveis

A produção mundial de cogumelos comestíveis tem aumentado significativamente desde a última década, alcançando em 2013 US\$ 34 bilhões de quilos produzidos. Considerando que o crescimento populacional no mundo no mesmo ano atingiu cerca de 7,1 bilhões, é impressionante o volume *per capita* de cogumelos produzidos no mundo (ROYSE; BAARS; TAN, 2017). Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, entre 1993 a 2013, 66,5% da produção mundial referiu-se à China, e 23,8% à Europa, restando às demais regiões do mundo cerca de 9,6% da produção (SILVA, 2015).

Atualmente, cinco países se destacam na produção comercial de cogumelos comestíveis: China, Estados Unidos (EUA), Holanda, Polônia e Espanha, cujos valores estão representados na Tabela 1. Segundo Vieira Junior *et al.* (2021), a evolução na produção mundial pode estar relacionada “ao desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e economicamente rentáveis, que contam com o cultivo em menor espaço físico, com ciclos de colheita mais curtos, mantendo a sustentabilidade e viabilidade econômica”. Além disso, há ainda o fator da sazonalidade e da necessidade do melhoramento genético das espécies.

Tabela 1- Países líderes na produção mundial de cogumelos comestíveis.

PAÍSES	PRODUÇÃO (MT)
China	34,8 MT
EUA	0,421 MT
Holanda	0,300 MT
Polônia	0,280 MT
Espanha	0,166 MT

Legenda: MT= Milhões de toneladas.

Fonte: Adaptado de Vieira Junior *et al.*, 2021.

O início da fungicultura no Brasil se deu a partir da primeira metade do século XX com a imigração asiática, principalmente da população japonesa e chinesa, que trouxe consigo práticas de cultivo de cogumelos tradicionais na Ásia, inseridas especificamente no estado de São Paulo. O cultivo, restrito em pequenas propriedades e a mão de obra familiar foi sendo transmitida de geração em geração. Além disso, grandes nomes foram essenciais para o crescimento da fungicultura no Brasil: Oscar Molena, Araildes Fontes Urben, Augusto Eira e Vera Bononi, os quais foram responsáveis pela pesquisa ou busca do conhecimento sobre o desenvolvimento tecnológico e, ao mesmo tempo, na difusão de tecnologia, tornando-se também uma referência para novas gerações de pesquisadores na área da fungicultura e da micologia em geral (DIAS, 2010).

A produção de cogumelos comestíveis no Brasil está em constante progresso a partir dos últimos anos, uma vez que diversos produtores vêm investindo no mercado, apesar das dificuldades enfrentadas. Em 2013, o principal cogumelo produzido era o “Champignon de Paris” (*Agaricus bisporus*) vendido principalmente na forma de conserva. Esta forma preferencial de comércio e consumo permitiu que grande quantidade passasse a ser importada da China, onde os preços praticados representam uma grande dificuldade para o fungicultor brasileiro. Em função disso, muitos deles migraram para a produção do shimeji, o qual é comercializado majoritariamente como cogumelo fresco. *Pleurotus ostretus* var. *florida*, ocupa a primeira posição, devido ao menor custo de produção e maior comercialização do cogumelo vendido *in natura*. Mas, outras linhagens de *P. ostretatus*, tais como o shimeji preto, além de outras espécies, como *P. eryngii* e *P. djamor* também fazem parte deste mercado. Neste somatório, os cogumelos *Pleurotus*, conhecidos como *oyster mushrooms* passaram a ocupar o primeiro lugar, enquanto que *A. bisporus* (champignon de Paris) passou para o segundo lugar e o *Lentinula edodes* (shiitake) para o terceiro lugar.

Segundo Sánchez, Zied e Albertó (2018), de um total de 45.875 toneladas produzidas na América do Sul, 15.696 toneladas de cogumelos comestíveis seriam produzidas

anualmente no Brasil. Os dados de distribuição das espécies cultivadas, estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados de produção de cogumelos comestíveis no Brasil.

ESPÉCIE	PORCENTUAL (%)	TONELADAS (T)
<i>Pleurotus var. Flórida</i>	48%	7.475
<i>Agaricus bisporus</i>	33%	5.150
<i>Lentinula edodes</i>	13%	2.172
Outros (<i>A. subrufescens</i> , <i>P. djamor</i> , <i>P. cornucopiae</i> , <i>P. eryngii</i> , <i>Pholiota nameko</i> , <i>Flammulina velutipes</i> , etc)	6%	900

Fonte: Adaptado de Sánchez, Zied e Albertó (2018).

Estudos apontam que o consumo per capita de cogumelos alcança o valor de 288 g/ano no Brasil (URBEN, 2017), o que é ainda muito baixo, uma vez que na França consome-se 2 kg/ano, enquanto que nos países asiáticos, como a China e a Coreia do Sul, o número é ainda maior, ultrapassando mais de 8 quilos por ano (ANPC, 2013).

Atualmente, os principais produtores do Brasil se concentram nos estados de São Paulo e Paraná, estados com grande influência da população japonesa, que fornecem juntos 90% da produção nacional (SÁNCHEZ; ZIED; ALBERTÓ, 2018). Entretanto, sabe-se que existem muitos outros produtores espalhados entre os demais estados do Brasil.

São Paulo é considerado o grande centro de produção e importação no Brasil, com cerca de 505 produtores distribuídos em 93 municípios paulistas, alcançando uma produção anual em torno de 12 mil toneladas de cogumelos (ANDRADE, 2021). Para se ter uma ideia, 88,06% da produção nacional se concentra em Mogi das Cruzes, seguido por Campinas com 10,85% e Sorocaba com 1,09% (CABRERA *et al.*, 2020).

Já no estado do Paraná, as cidades de Castro, Tijucas do Sul e Curitiba são as maiores produtoras de cogumelos, devido à maior demanda advinda de grandes comércios como supermercados, restaurantes e hotéis (CABRERA *et al.*, 2020), existindo grandes produtores de composto de *Agaricus bisporus*, por exemplo.

Grande parte dos fungicultores brasileiros são de pequenos produtores, com baixa capacidade de investimento, trabalhando ainda de forma amadora. Até este momento, há uma grande necessidade de desenvolvimento tecnológico voltado para esta realidade para

profissionalização do setor, ainda que não se deve perder de vista a importância do investimento de pesquisa visando as fazendas de cogumelos de alto investimento tecnológico (DIAS, 2010). A dificuldade crescente de mão de obra tem evidenciado que a fungicultura no Brasil, da mesma forma como ocorreu em outros países ocidentais, tende a ser operada por empresas com maior capacidade de investimento em alta tecnologia, o que inclui a mecanização. Mas, não apenas isso, uma vez que a mecanização de algumas etapas é também uma de se alcançar competitividade com o mercado externo. Isso significa que o número de produtores tenderá a diminuir, sendo substituídos por empresas com maior capacidade de produção.

Atualmente, a fungicultura brasileira é caracterizada por pequeno volume de produção e preço elevado, contando apenas com certos nichos de mercado. Para o futuro, espera-se que o volume de produção cresça muito e que o preço seja menor, porém, com abrangência maior do mercado consumidor. Mas, em relação à América do Sul em geral, percebe-se que o Brasil já está numa situação mais avançada. Na Argentina, por exemplo, o preço praticado para o consumidor final é muito mais elevado em comparação ao Brasil, pois seria inviável para o fungicultor argentino aplicar o mesmo valor de comercialização utilizado no Brasil. Possivelmente, na América Latina, apenas o México ocupa uma posição superior ao Brasil. E, neste contexto, devemos considerar que o México foi contemplado por uma cultura pré-hispânica de consumo de cogumelos, o que certamente, tem favorecido muito o seu desenvolvimento neste mercado.

Aos poucos, o mercado de cogumelos comestíveis no Brasil se expande, não somente nos restaurantes de comida japonesa, mas também de outros negócios gastronômicos, os quais oferecem opções de pratos com cogumelos, o que desperta curiosidade. Atualmente, já é possível consumir uma quiche com recheio à base de cogumelos em uma cafeteria na cidade de Lavras. Tudo isso, tem sido também favorecido pelo aumento da demanda por parte dos adeptos da alimentação vegana e vegetariana, sendo os cogumelos uma excelente fonte de proteína alternativa em substituição da carne, além de ser um produto rico em propriedades terapêuticas. Portanto, percebe-se o fortalecimento de um mercado consumidor de cogumelos, caracterizado tanto pela filosofia de vida vegana como pela filosofia vegetariana, ou simplesmente por aqueles que buscam uma alimentação mais saudável.

2.3 Parâmetros de cultivo de cogumelos comestíveis

Para que a produção de cogumelos possa ocorrer de forma segura, é preciso realizar um planejamento de todas as etapas que serão executadas desde a seleção do substrato,

aquisição do inóculo, processo de colonização do composto (crescimento micelial) e colheita (MARTOS; HECK, 2021), levando sempre em consideração a espécie a ser cultivada para que seja feita a correta escolha da tecnologia de cultivo.

O cultivo pode ser realizado em condições naturais não assépticas ou sob condições axênicas, ou seja, o substrato deve ser previamente umidificado, geralmente de 65 a 70% e submetido à esterilização mantendo a assepsia até a colonização total do substrato pelo cogumelo, o que garante o crescimento apenas do fungo de interesse. Já o cultivo em condições naturais não assépticas, este pode ser feito com diferentes tecnologias. A mais tradicional delas, envolve a obtenção do substrato de cultivo pelo sistema de compostagem e pasteurização, o qual sofre variações em função do tipo de cogumelo a ser cultivado. De modo geral, o substrato compostado passa pelas fases I e II, sendo que a primeira fase se refere à compostagem em si e a segunda fase ao processo de pasteurização (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

Para os cogumelos *Agaricus*, a fase II conta com um processo de condicionamento, o qual pode durar vários dias (DIAS, 2010). No caso de *Pleurotus*, o mesmo sistema pode ser utilizado, entretanto, a compostagem é mais curta e o condicionamento não é necessariamente obrigatório (SIQUEIRA *et al.*, 2012). Apesar disso, é prática comum para os produtores de composto no cultivo de shimeji fazer um condicionamento de 3 a 5 dias após a pasteurização.

Além da compostagem e pasteurização, há várias alternativas de tratamento do substrato de cultivo, incluindo a pasteurização direta do substrato utilizando vapor ou a imersão em água quente, além de vários tipos de tratamento químico (GOWDA; MANVI, 2019). Evidentemente, todos os tratamentos que incluem a imersão em algum tipo de solução, apresenta a grande desvantagem da geração de um efluente que precisa ser dispensado de forma adequada. Além disso, alguns desses tratamentos contêm produtos químicos que apresentam certos riscos para a saúde humana. Portanto, considerando a filosofia dos cogumelos como alimentos saudáveis, mesmo que esses produtos não apresentem concentrações residuais de risco, os mesmos não podem ser considerados ambientalmente corretos.

É importante mencionar que, o cultivo axênico permite a utilização de vários resíduos agrícolas como substrato, contando com a suplementação com farelos. dependendo das matérias-primas utilizadas, de modo que o substrato final apresente uma relação C/N adequada (MACHADO, 2019). Uma das opções é a técnica JunCao (Jun = fungo, Cao = gramínea), trazida para o Brasil em 1995 pela pesquisadora Araildes Fontes Urben da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a qual consiste em substituir os substratos de

cultivo habituais (trancos de árvore ou a serragem) pelo uso de capim, ou seja, gramíneas (EMBRAPA, 2019). Porém, a técnica pode ser de difícil acesso para o produtor devido ao investimento em tecnologia, já que exige a utilização de equipamentos como a autoclave. A realização de novos estudos para utilização de técnicas que não exijam alto custo de produção são necessários para aumentar e baratear a produção de cogumelos comestíveis.

A quantidade de inóculo está ligada à colonização do substrato, e é essencial para o sucesso da produtividade e da eficiência biológica dos cogumelos. Royse (2002), em seu trabalho analisando o efeito de várias taxas de “spawn” e suas possíveis interações em relação ao rendimento, tamanho e dias da produção de *Pleurotus cornucopiae*, observou que conforme a taxa de “spawn” aumentava, o mesmo ocorria com a sua produtividade, sendo recomendado a utilização de níveis de 3,75-5% (peso úmido). Para o autor, esse aumento no rendimento pode ser explicado pelo fato de que o nível elevado de nutrientes disponíveis nas taxas mais altas de inóculo oferece mais energia para o desenvolvimento e crescimento micelial. Além disso, quando o inóculo é adicionado em vários pontos do substrato, permite que a colonização ocorra de forma mais rápida, fazendo com que o ciclo de produção seja concluído rapidamente. Esse processo é muito importante para a redução do tempo de exposição do substrato não colonizado a contaminantes.

Oliveira (2018) relatou que, na etapa de frutificação, furos podem ser feitos no saco de cultivo para que a ventilação possa entrar no substrato, já que o nível de dióxido de carbono aumenta durante a fase de colonização. Portanto, a entrada de ar por esses furos tende a induzir a frutificação uma vez que o micélio tende a crescer bem em ambiente com elevado teor de gás carbônico, mas, para a frutificação, requer um teor de CO₂ abaixo de 1000 ppm. Normalmente, quando o ambiente não é ventilado de forma adequada observa-se deformação dos basidiomas, em especial com a formação de estipes muito longos e píleos pequenos.

Segundo Bernardi *et al.* (2007), a frutificação dos cogumelos requer condições climáticas favoráveis para seu desenvolvimento, sendo que a umidade relativa do ar é um fator chave para a frutificação de qualquer espécie. Fatores como teor de CO₂ e temperatura são bastante variáveis de acordo com a linhagem, espécie e, até mesmo da exigência de mercado para determinado tipo de cogumelo.

A umidade é um dos principais parâmetros de cultivo e está associada à aeração e porosidade do substrato. Deve-se atentar para a quantidade de umidade presente no substrato, pois um teor de umidade muito acima do desejado pode diminuir a sua porosidade, o que, conseqüentemente, inibe a respiração do fungo (OLIVEIRA, 2018), além de favorecer o

crescimento de bactérias anaeróbicas. Segundo Esposito e Azevedo (2010), ao final da compostagem, a umidade do substrato deve ser de 65 a 70%, em termos gerais.

O pH também é outro fator importante para a colonização do substrato, e pode afetar a morfologia do cogumelo. Apesar dos fungos crescerem bem em ambientes ácidos, o substrato de cultivo deve ter pH acima de 7 (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010). Isso é necessário porque, ao final da colonização, quando se iniciará a frutificação dos cogumelos, o substrato já se encontra com pH ácido, entre 5,0 e 6,0. Condições externas, como a luminosidade, também podem influenciar tanto a forma como a cor dos basidiomas, variando de acordo com diferentes espécies ou linhagens (ALBUQUERQUE; PEIL; NASCIMENTO, 2012; OLIVEIRA, 2018).

2.4 Caracterização biológica da espécie *Agrocybe aegerita*

O gênero *Agrocybe* pertence à família Strophariaceae (NIVEIRO; UHART; ALBERTÓ, 2020). Cerca de 29 espécies do gênero foram relatadas na América Central e do Sul (COIMBRA, 2015), as quais são de ocorrência em áreas naturais como florestas, solo com serapilheira, mas também em áreas antrópicas como jardins e solo adubado, e até mesmo espécies coprófilas. Calaça, Cortez e Santos (2020) relataram o primeiro registro desta espécie no Cerrado brasileiro.

Agrocybe aegerita é denominado como “*black poplar mushroom*” (cogumelo do álamo negro) ou cogumelo do choupou, conhecido popularmente na Itália como Pioppino (LANDI *et al.*, 2017), na China como “Yangshugu” (JING *et al.*, 2018) e “Samthaube” na Alemanha (KLEOFAS *et al.*, 2014), sendo cultivado comercialmente e apreciado tipicamente na América do Norte, no sul da Europa e na Ásia.

Com respeito às suas características morfológicas, o píleo de *A. aegerita* é convexo, expandindo para o plano em sua maturidade, de tonalidade cinza amarelado a marrom acinzentado, mais escuro no centro. As lamelas, inicialmente são cinzentas, tornando-se castanho chocolate quando os esporos da espécie são eliminados em sua maturidade. O estipe é branco, adornado com um anel membranoso bem desenvolvido, geralmente de cor marrom devido ao esporo (JASIŹSKA; SOBIERALSKI; SIWULSKI, 2012) (Figura 2).

Figura 2 – Basidiomas da Espécie *Agrocybe aegerita*.



Fonte: Do autor (2022).

2.5 Propriedades bioquímicas de *Agrocybe aegerita*

A espécie *Agrocybe aegerita* possui a capacidade de sintetizar diversos compostos bioativos de alta aplicação biotecnológica, como enzimas. O Quadro 1 apresenta alguns desses compostos que podem ser utilizados e qual sua função. Petrovič *et al.* (2015) transformaram um extrato metanólico de uma amostra silvestre de *A. aegerita* em um produto na forma de pó, com o propósito de incorporação em *cream cheese*, gerando um produto comercial com maior atividade antioxidante. A amostra exibiu alta atividade antioxidante, além de alto teor de carboidratos, cinzas e proteínas. Os autores também determinaram que a espécie possui ácidos graxos como o linoleico e tocoferóis, além de trealose e ácido málico, que foi o ácido orgânico predominante. Sobre o produto, puderam concluir após o teste de análise sensorial, que a maior aceitação foi em relação ao produto incorporado no *cream cheese*, do que este consumido sozinho.

Landi *et al.* (2017) relataram um estudo comparativo acerca dos valores nutricionais e da composição química entre *A. aegerita* (pioppino) e *A. bisporus* (*champignon*), a fim de incentivar o consumo e cultivo do cogumelo. Segundo os autores, o pioppino é mais rico em proteínas e glicose em sua composição, cerca de 1,5 vezes mais do que em *champignon*. O teor de aminoácidos livres foi 0,69 vezes menor em pioppino do que no *champignon*, sendo o ácido glutâmico o mais abundante entre os aminoácidos livres na espécie neste estudo.

Quadro 1 - Compostos bioativos expressos por *Agrocybe aegerita*.

Composto bioativo	Atividade	Referência
Ribotoxina <i>Ageritin</i>	Efeitos citotóxicos e promotores de morte celular em linhagens de células modelo do SNC como vimblastina.	Landi <i>et al.</i> , (2017b)
Lipoxigenase	Solúvel e ativa em <i>E. coli</i> (expressa de forma recombinante)	Karrer; Rühl (2019)
Polissacarídeos	Protetores orgânicos no cérebro, fígado e rim. Atividade antioxidante, antienvelhecimento.	Jing <i>et al.</i> (2018)
Serina protease ACase	Atividade fibrinolítica e anticoagulante contra trombose, terpenóides	Li <i>et al.</i> (2018)
Ribotoxina <i>Ageritin</i>	Entomoxidade contra <i>Aedes aegypti</i>	Tayyrov <i>et al.</i> (2019)
Fucogalactana	Inibição da arginase de <i>Leishmania amazonensis</i>	Motoshima (2018)

Fonte: Do autor (2023).

SONG *et al* (2020) avaliaram a otimização da produção e caracterização de peptídeos antioxidantes a partir de hidrólise enzimática de *Agrocybe aegerita*, utilizando o método de superfície de resposta, para prevenção de patogênese causada pelo estresse oxidativo, pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS). Os autores encontraram vinte e cinco novos peptídeos antioxidantes, potenciais derivados da proteína do cogumelo. Os autores sugeriram que estes podem ser utilizados como antioxidantes naturais em alimentos funcionais. Considerando que *Agrocybe aegerita* exibe tanto propriedades terapêuticas quanto nutricionais de alto nível, esta poderá ser chave para o crescimento do seu consumo no mercado.

2.6 Substratos para a produção do cogumelo *Agrocybe aegerita*

A relação carbono/nitrogênio é um fator muito importante para o sucesso da colonização e produção de cogumelos (FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011), que possui como regra geral a escolha de materiais geralmente à base de palhas, capim ou outras plantas. Utiliza-se principalmente resíduos de serragem e de bagaço de cana-de-açúcar com farelo de arroz, farelo de trigo e farelo de soja como suplementos (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

A suplementação é especialmente importante na etapa de compostagem para estimular o desenvolvimento de microrganismos durante a decomposição. Algumas espécies como

Agaricus bisporus, por exemplo, cresce em substratos compostados com razão C/N ótima de 16 a 18/1, valor encontrado no final do processo de compostagem, pasteurização e condicionamento (FERREIRA; ALMEIDA NETO; ASSUNÇÃO, 2020). Para outras espécies tais como *Pleurotus ostreatus*, a relação C/N ideal está entre 20 e 50/1 para o cultivo axênico, segundo Figueiró e Gracioli (2011).

Nutrientes como Carbono (C), Nitrogênio (N), Fósforo (P), Enxofre (S), Potássio (K) e Magnésio (Mg) são considerados macronutrientes para os fungos, sendo absorvidos em maior quantidade, enquanto que outros são requeridos em pequenas quantidades, como ferro, zinco, manganês, cobre e molibdênio, os quais são classificados como elementos traços (Andrade *et al.*, 2011).

Um levantamento foi realizado em relação a substratos já utilizados anteriormente em experimentos internacionais no cultivo de *Agrocybe aegerita*, e o desempenho de cada um desses pode ser observado na Tabela 3.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, há uma grande discrepância nos valores de eficiência biológica (EB) acerca do cultivo de *Agrocybe aegerita*, incluindo relatos de valores de EB variando de 6,3 a 24,8% e outros de 29,2 a 128,1%. Quando comparado com outras espécies, tais como *Pleurotus ostreatus*, o número de trabalhos sobre o cultivo deste cogumelo ainda é muito pequeno e a diferença encontrada nos valores de EB evidencia a necessidade de mais trabalho sobre este tema, principalmente para as condições brasileiras.

Tabela 3 – Substratos utilizados no cultivo de *Agrocybe aegerita* no âmbito internacional.

Substratos (material volumoso)	Suplemento	EB (%)	Referência
Palha de trigo	CaCO ₃ 2% +	47,5 - 49,8	Phillippoussis; Zervakis; Diamantopolou, (2001)
Resíduo de algodão	Farelo de trigo	30,5 - 34,9	
Casca de amendoim	10%	7,1 - 10,1	
Palha de trigo	CaCO ₃ 1%	56,4 – 57,0	Uhart, Piscera e Albertó, (2008)
	CaCO ₃ 1) + Farelo de soja 20%	140 - 179	
	CaCO ₃ 1% + Flocos de aveia 20%	90 - 125	
Palha de trigo 100%		10,1	
Palha de trigo 75% + Resíduos sólidos 25%		13,2	
Palha de trigo 50% + Resíduos sólidos 50%		15,5	
Resíduos sólidos 100%	NÃO	6,3	
Palha de trigo 80% + Milheto 20%		10,6	Isikhuemhen, Mikiashvili e Kelkar, (2009)
Palha de trigo 70% + Resíduos sólidos 10% + Milheto 20%		24,8	
Palha de trigo 70% + Resíduos sólidos 20% + Milheto 10%		51,4	
Palha de trigo 80% + Resíduos sólidos 10% + Milheto 10%	NÃO	42,9	
Casca de amêndoa e noz	CaCO ₃ 4% + CaSO ₄ 2%	26,2	
Serragem de faia	+Farelo de trigo	38,3	
Sabugo de milho	5%	46,8	
Bagaço de uva + bagaço de algodão	NÃO	128,1	Koutrotsios <i>et al.</i> (2014)
Acícula de pinheiro		52,4	
Folhas de palmeira		93,5	
Palha de trigo		61,4	
Substrato de acácia		24,5	
Palha de trigo		20,2	Ferreira (2014)
Palha de trigo + serragem (7:3)		12,89	Landingin <i>et al.</i> (2019)

Legenda: EB: Eficiência biológica.

Fonte: Do autor (2023).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do inóculo e produção da matriz secundária

Para a realização do presente estudo, utilizou-se a espécie *Agrocybe aegerita*, originária do Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Campiñón (CIES – Espanha), a qual foi cedida pelo Centro de Estudos em Cogumelos Comestíveis (CECOG), localizado na Universidade Estadual de São Paulo, Campus Dracena. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cogumelos Comestíveis, Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras.

Previamente aos experimentos, selecionou-se uma matriz primária recém obtida por isolamento a partir de basidiomas sadios em condições assépticas. O isolamento foi feito a partir de fragmentos do pseudotecido interno do corpo de frutificação, os quais foram transferidos para placas contendo meio BDA (200 g de Batata, 10g de Dextrose e 15g de Ágar para 1 litro de água). As placas foram incubadas a 25°C até a completa colonização, cerca de 15 dias.

Para a obtenção da matriz secundária, grãos de sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) foram cozidos por aproximadamente 30 minutos e drenados durante 10 minutos. Após a secagem, adicionou-se 2% de calcário calcítico, sendo homogeneizados e transferidos para sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) com 300 gramas de grãos cada. Os sacos foram selados, e então esterilizados por 4 horas em autoclave a 121 °C. Após o resfriamento, os sacos foram inoculados com discos de 4mm colonizados pelo fungo a partir das placas obtidas anteriormente. Os sacos foram incubados em BOD a 25°C por cerca de duas semanas, quando o substrato estava completamente colonizado. Este material foi utilizado como inóculo (*Spawn*).

3.2 Formulação dos substratos

Para este trabalho, foram conduzidos experimentos sequenciais cujos resultados serviram como base para elaborar os experimentos subsequentes. Em função disso, novos experimentos foram sendo agregados, principalmente na parte de avaliação de diferentes matérias-primas para a formulação do substrato de cultivo.

3.2.1 Ensaio I: Avaliação de diferentes matérias-primas como substrato base para cultivo de *Agrocybe aegerita*.

As diferentes formulações apresentaram como diferença a matéria-prima volumosa, aqui denominada de substrato base, sendo que a suplementação e condicionador de pH de todas foi exatamente igual. Como substrato base foram testados: bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), Feno de braquiária (*Brachiaria decumbens*), palha de feijão (*Phaseolus vulgaris*), pergaminho (endocarpo do grão de café - *Coffea arabica*) e serragem de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). Três tratamentos foram testados como controle: T6, T7 e T8, os quais não receberam suplementação com farelo de trigo. Estes substratos-base (pergaminho, palha de feijão e feno de braquiária) apresentam teor de nitrogênio que poderia ser suficiente para atender as necessidades nutricionais de *A. aegerita*, ao contrário dos demais (serragem e bagaço de cana) cujo teor de nitrogênio é muito baixo para permitir a sua utilização sem suplementação proteica. Além das formulações, diferentes manejos de cultivo foram testados em conjunto no caso do presente ensaio, que serão explicados na próxima subseção. As formulações podem ser observadas através da Tabela 4.

Tabela 4- Formulações do substrato de cultivo do cogumelo *Agrocybe aegerita*, utilizando diferentes tipos de substrato base.

TRATAMENTOS	FORMULAÇÃO (%)
T1	88% serragem + 10% de farelo de trigo + 2% de calcário calcítico
T2	88 % pergaminho + 10 % de farelo de trigo 2% de calcário calcítico
T3	88 % palha de feijão + 10% farelo de trigo + 2% de calcário calcítico
T4	88% feno de braquiária + 10% farelo de trigo + 2% de calcário calcítico
T5	88% bagaço de cana + 10% farelo de trigo + 2% de calcário calcítico
T6	98% palha de feijão + 2% de calcário calcítico
T7	98% pergaminho + 2% de calcário calcítico
T8	98% feno de braquiária + 2% de calcário calcítico

Fonte: Do autor (2023).

Os materiais que compõem cada tratamento, foram previamente triturados quando pertinente, pesados e reservados até a realização do experimento.

No caso, da palha de feijão, optou-se por hidrata-la no dia anterior da montagem do experimento por se tratar de um material com maior dificuldade de absorção de água. Para isto, imergiu-se completamente a palha dentro de uma caixa d'água com capacidade para 500 litros (Figura 3) durante 2 horas. Após este período, o material foi transferido para caixas organizadoras agrícolas denominadas de hortifruti, de forma a permitir a drenagem do excesso de água. Durante a drenagem, as caixas foram protegidas com lona plástica para evitar o acesso de moscas sobre o substrato base (Figura 4).

Figura 3- Processo de umidificação da palha de feijão em caixa d'água.



Fonte: Do autor (2022).

Figura 4- Drenagem da palha de feijão em caixa plástica agrícola.



Fonte: Do autor (2022).

Em todos os tratamentos, os ingredientes foram misturados, adicionando-se água de forma a se obter cerca de 65% de umidade. A água foi adicionada pouco a pouco, sendo que,

a cada volume de água adicionada, tomava-se uma porção do substrato e se espremia entre os dedos. Quando um pouco de água escorria entre os dedos, considerava-se que a umidade ideal havia sido atingida. Para cada tratamento de substrato, foram retiradas amostras para aferição de pH e teor de umidade. A determinação de matéria seca de cada tratamento, foi utilizada para os cálculos futuros de eficiência biológica (EB).

Ao final, os substratos foram transferidos para sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) com filtro para troca gasosa, pesando 1,3 kg cada, exceto para o tratamento 1 (serragem), no qual utilizou-se 2 kg por saco. A diferença de massa de substrato por bloco entre os tratamentos ocorreu em função da escolha de se utilizar determinado volume como padrão, equivalente a 12 cm de altura no bloco. Portanto, todos os blocos apresentaram as mesmas medidas de tamanho, em vez de apresentar a mesma massa.

Todos os blocos foram pasteurizados por 12 horas, contadas a partir do momento que a temperatura no interior dos blocos atingiu 80°C, aferida com termômetro digital com haste. Posteriormente, os blocos foram submetidos à autoclavagem à 121 °C por 4 horas. A pasteurização anterior ao processo de autoclavagem foi utilizada para evitar problemas de fermentação enquanto os blocos aguardavam a autoclavagem. Isso feito em função do grande número de blocos e da pequena capacidade de volume da autoclave utilizada. Após o resfriamento, os blocos foram inoculados em câmara de fluxo laminar, utilizando-se 3% de inóculo, o qual foi inteiramente misturado em todo o substrato. Os sacos foram selados com o auxílio de uma seladora de pedal. Os blocos foram dispostos em prateleiras em sala com temperatura ambiente de 25 °C ± 2°C durante cerca de 15 dias ou até completa colonização do substrato.

Após a corrida micelial, cada bloco foi separado de acordo com seu respectivo manejo, transferidos e distribuídos aleatoriamente em prateleiras dentro de uma sala de cultivo com ar condicionado e sistema de nebulização. A umidade do ar foi mantida acima de 80% e temperatura a 25°C ± 2°C até que ocorresse a frutificação. Os blocos foram expostos a fotoperíodo de 12 horas em luz e 12 horas em escuro.

Os cogumelos produzidos foram levados para serem pesados no laboratório em balança analítica devido a sua leveza (Figura 5), e os dados registrados diariamente a partir da formação dos basidiocarpos.

Figura 5- Pesagem de *Agrocybe aegerita* em balança analítica.



Fonte: Do autor (2022).

3.2.2 Manejo dos blocos de cultivo visando a frutificação de *Agrocybe aegerita*

Três manejos foram realizados em todas as formulações do ensaio I afim de induzir a frutificação dos blocos de cultivo: a- Abertura total na parte superior do saco de cultivo; b- 3 cortes de 3cm de comprimento feitos com estilete nas laterais dos blocos; c- 6 cortes de 3cm.

Para cada tipo de substrato, foram utilizados 21 blocos, os quais foram distribuídos entre os 3 manejos, resultando em 7 repetições por manejo.

Para o manejo 1, no qual os blocos foram completamente abertos na parte superior, o corte foi feito 3cm acima do substrato, conforme indicado na Figura 6, com o auxílio de uma tesoura desinfectada com álcool 70%.

Para o manejo 2, os três cortes foram feitos com o auxílio de uma régua para marcar o tamanho da incisão e um estilete desinfectado com álcool 70% para fazer os cortes. O primeiro corte foi feito na parte frontal do bloco (face do filtro de troca gasosa), o segundo corte na região detrás do primeiro, e o terceiro em uma lateral do bloco (Figura 7). Priorizou-se, fazer cortes em regiões com sinal de primórdios, caso houvesse.

Para o manejo 3, os seis cortes foram feitos seguindo-se o mesmo procedimento anterior, porém com dois cortes na parte frontal do bloco, um na parte posterior do bloco, um em cada lateral e um corte na parte inferior do bloco (Figura 8). As incisões foram feitas com estilete desinfectado com álcool 70%.

3.2.3 Ensaio II: Validação dos resultados de produção de *A. aegerita* nos diferentes substratos base usando o melhor manejo.

Em função dos problemas de contaminação, e a não formação de basidiocarpos no primeiro ensaio para alguns tratamentos, foi conduzido o ensaio II com o propósito de validação dos resultados do ensaio I. Para isto, foram utilizados apenas 4 tratamentos,

selecionados a partir dos melhores resultados observados no ensaio I, os quais estão representados na Tabela 5. Para todos estes tratamentos, optou-se por utilizar o manejo único de remoção completa do saco plástico, deixando o bloco de substrato colonizado, completamente exposto ao ambiente.

Figura 6 – Representação do corte realizado em blocos do Manejo 1.



Fonte: Do autor (2022).

Figura 7 – Regiões das incisões feitas nos blocos de cultivo do Manejo 2.



Fonte: Do autor (2022).

Figura 8 – Localização das incisões feitas nos blocos do Manejo 3.



Fonte: Do autor (2022).

Tabela 5– Tratamentos de formulação do substrato de cultivo do cogumelo *A. aegerita* para o ensaio II.

TRATAMENTOS	FORMULAÇÃO (%)
T1	88% de serragem + 10% de farelo de trigo + 2 % de calcário calcítico
T2	88% de bagaço de cana-de-açúcar + 10% de farelo de trigo + 2% de calcário calcítico
T3	88% de feno de braquiária + 10% de farelo de trigo + 2 % de calcário calcítico
T4	88% de palha de feijão + 10% de farelo de trigo + 2% de calcário calcítico

Fonte: Do autor (2023).

Todos os procedimentos foram conduzidos da mesma forma descrita anteriormente para o ensaio I, desde o preparo dos ingredientes até o acondicionamento, exceto pela esterilização e inoculação, onde os blocos foram submetidos a 24 horas de pasteurização a 80°C e autoclavagem durante 2 horas a 121°C. Esta mudança no procedimento ocorreu em função dos problemas de contaminação observados no ensaio I. Semelhantemente, foram utilizados blocos de 2 kg para o tratamento com serragem, os quais foram inoculados com 4% de *Spawn*, e 1,5 kg para os demais substratos base onde inoculou-se 3% de *spawn*. Cada tratamento, foi composto por 10 repetições, correspondendo ao total de 50 blocos.

Após os blocos terem sido totalmente colonizados, retirou-se completamente os sacos plásticos com o auxílio de uma tesoura desinfetada com álcool 70%. Como anteriormente, o cultivo foi conduzido em ambiente com temperatura de 25°C ± 2°C e umidade relativa do ar acima de 80%. Os blocos foram expostos a fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

3.2.4 Ensaio III: Efeito do tipo de suplementação sobre a produtividade de *Agrocybe aegerita*

A partir dos resultados obtidos nos ensaios I e II, realizou-se o ensaio III, com o objetivo de se definir o melhor tipo de suplemento. Conforme definido no ensaio II, utilizou-se o manejo de remoção completa do saco plástico.

Todos os procedimentos de preparo do substrato de cultivo foram os mesmos utilizados nos ensaios anteriores, exceto que neste ensaio utilizou-se apenas a palha de feijão como substrato base, variando-se somente o tipo de suplemento. Para cada tratamento foram

utilizadas 10 repetições, totalizando 50 blocos, sendo que, cada saco recebeu 1,3 kg de substrato. Nesse ensaio, definiu-se como método de esterilização a autoclavagem por 4 horas a 121°C, uma vez que, para este substrato, este tratamento foi o que apresentou os menores índices de contaminação. Os blocos receberam 3% de inóculo, e o período de colonização, manejo e formação dos basidiocarpos, ocorreram conforme descrito anteriormente. Os diferentes suplementos estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6– Tratamentos para seleção de suplemento para cultivo de *A. aegerita*.

TRATAMENTOS	FORMULAÇÃO (%)
T1 (controle)	98% de palha de feijão + 2% de calcário calcítico
T2	88% de palha de feijão + 10 % de farelo de trigo + 2% de calcário calcítico
T3	88% de palha de feijão + 10% de farelo de arroz + 2% de calcário calcítico
T4	88% de palha de feijão + 10% de fubá + 2% de calcário calcítico
T5	88,1% de palha de feijão + 3,3% de farelo de trigo + 3,3% farelo de arroz + 3,3 % de fubá + 2% de calcário calcítico

Fonte: Do autor (2023).

3.2.5 Ensaio IV: Avaliação de dois condicionantes de substrato em dois níveis

Em função dos resultados obtidos a partir do ensaio III, o farelo de trigo foi escolhido para ser utilizado o ensaio IV. Para este propósito, foram testados dois níveis de gesso e de calcário calcítico. Nesse experimento, manteve-se somente um manejo, que foi a remoção dos sacos plásticos para induzir a formação dos cogumelos. As respectivas formulações estão descritas na Tabela 7. Todos os processos de preparo do substrato, inoculação, esterilização e cultivo do cogumelo, descritos anteriormente no ensaio III, foram realizados no presente ensaio, com a exceção de que cada bloco recebeu 1,2 kg de substrato.

Tabela 7– Composição dos substratos em função da adição do condicionante.

Tratamentos	Porcentagem dos substratos (%)
T1	PF 89% + FT 10% + CC 1%
T2	PF 88% + FT 10% + CC 2%
T3	PF 89% + FT 10% + G 1%
T4	PF 88% + FT 10% + G 2%
T5	PF 89% + FT 10% + CC 0,5% + G 0,5%
T6	PF 88% + FT 10% + CC 1%+ G 1%

Legenda: PF: palha de feijão; FT: farelo de trigo; CC: calcário calcítico; G: gesso.

Fonte: Do autor (2023).

3.3 Parâmetros físicos e químicos dos substratos

Durante a montagem de todos os ensaios, após a homogeneização de todos os substratos, foram retiradas amostras para análise de pH e teor de umidade.

Para análise do pH, utilizou-se um béquer com capacidade de 25 ml como medida, sendo uma parte de substrato para duas partes de água destilada, ou seja, uma proporção de 2:1. Para a determinação da umidade, as amostras foram acondicionadas em saco de papel *kraft* contendo 100 gramas de substrato em cada e desidratadas a 65°C por 48 horas em estufa. Após o período, as amostras secas foram pesadas novamente para a realização dos cálculos de matéria seca final, seguindo a equação abaixo:

$$\frac{Ms\ real}{MN} = \frac{MN - MS}{MN} \times 100$$

$$\% \text{ Umidade} = 100 - MS$$

Onde:

MN= Matéria natural

MS= Matéria seca

3.4 Produtividade e eficiência biológica

A produção dos cogumelos de todos os ensaios, foi expressa por meio da produtividade (P) e da eficiência biológica (EB). A produtividade e eficiência biológica foram calculadas por meio das seguintes equações, descritas por Dias *et al.* (2003):

$$P (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa úmida do substrato inicial (g)} \times 100}$$

$$EB (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca do substrato inicial (g)} \times 100}$$

3.5 Análise estatística

O delineamento experimental de todos os ensaios realizados foi o delineamento em blocos casualizados. No caso do ensaio I, o delineamento experimental utilizado foi o delineamento em blocos casualizados com fatorial duplo (Fator substrato x Fator manejos). Os dados foram calculados pelo teste de médias e tratadas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade, com opção de transformação: raiz quadrada $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y+0.5)$ utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

As variáveis analisadas foram: produtividade (%), eficiência biológica (%), precocidade (%), massa média dos cogumelos (g), número de cogumelos (u).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio I: Seleção de substrato base para produção do cogumelo *Agrocybe aegerita*

4.1.1 Dados de pH, matéria seca e umidade dos substratos

O teor de umidade dos substratos variou de 63 a 77%, sendo o substrato à base da palha de feijão, o que apresentou o maior teor de umidade. Isso ocorreu em resultado desta matéria-prima ter sido imersa em água por 2h, em vez da adição de água para se atingir a umidade desejada. O valor de pH variou de 6,6 a 7,7 entre os diferentes substratos, provavelmente em função da natureza de cada tipo de substrato. Normalmente, trabalha-se com o ajuste do pH para atingir valores em torno da neutralidade. Neste aspecto, pode-se dizer que os resultados foram satisfatórios (Tabela 8).

Tabela 8– Teor de umidade e pH dos substratos.

TRATAMENTO	UMIDADE (%)	pH
T1	72	7.1
T2	63	6.6
T3	77	7.6
T4	65	7.6
T5	75	7.2
T6	70	7.8
T7	63	7.3
T8	64	7.7

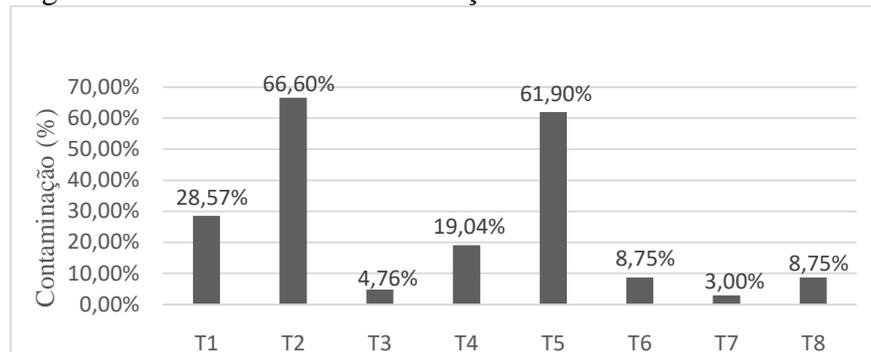
Legenda: T1: serragem; T2: pergaminho; T3: palha de feijão; T4: feno de braquiária; T5: bagaço de cana-de-açúcar; T6- palha de feijão; T7: pergaminho; T8: feno de braquiária. Todos os tratamentos foram suplementados com 10% de farelo de trigo + 2% de calcário calcítico, exceto os tratamentos T6, T7 e T8, que foram suplementados apenas com 2% de calcário calcítico.

Fonte: Do autor (2023).

4.1.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio I

Logo após completar-se dois dias de inoculação, observou-se o surgimento de contaminantes em dois blocos de cultivo, e novamente em outros blocos no 21º, 24º, 29º, 36º e 37º dia. O índice de contaminação (%) do ensaio I, foi o maior, e as porcentagens podem ser observadas na Figura 9.

Figura 9– Porcentual de contaminação dos tratamentos do ensaio I.

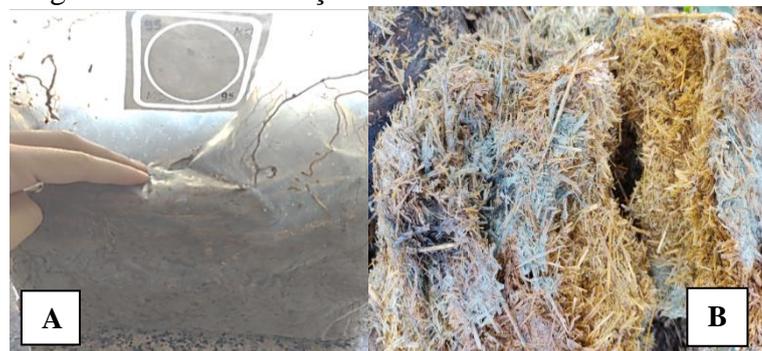


Legenda: T1:serragem; T2: pergaminho; T3: palha de feijão; T4: feno de braquiária; T5: bagaço de cana-de-açúcar; T6: palha de feijão; T7: pergaminho; T8: feno de braquiária. Todos os tratamentos foram suplementados com 10% de farelo de trigo + 2% de calcário, exceto os tratamentos T6, T7 e T8, que foram suplementados apenas com 2% de calcário.

Fonte: Do autor (2023).

A maior taxa de contaminação foi exibida pelo tratamento 2 com a incidência de bactérias, do qual apresentou umidade de 62,7%, pH de 6.6 e o maior teor de matéria seca de 37,3%, o que pode ter influenciado em sua alta taxa devido a maior absorção de água. Observou-se neste ensaio a presença de uma contaminação não identificada em um bloco de bagaço de cana-de-açúcar com aspecto de micélio escuro, mas em geral, houve predominância de fungos filamentosos de coloração verde (Figura 10), possivelmente *Trichoderma* sp. e *Penicillium* sp., dos quais podem se desenvolver no substrato durante o período de crescimento micelial sendo capazes de absorver nutrientes solúveis disponíveis, e também de degradar a celulose do substrato (BERNARDI *et al.*, 2021).

Figura 10– Contaminação em blocos do ensaio I.



A: contaminação com micélio de coloração escura, B: contaminação de coloração verde em bloco de feno de braquiária.

Fonte: Do autor (2022).

4.1.3 Índice de colonização dos substratos

Os resultados de colonização dos substratos estão apresentados na Tabela 9. De acordo com os resultados observados, nem todos os substratos apresentaram colonização adequada. Os substratos com os melhores resultados de colonização foram BC + FT, PF + FT e PF, com índices de 100, 96,4 e 83,3%, respectivamente. Para o bagaço de cana no presente ensaio, observou-se uma grande limitação na colonização quando o bagaço não foi devidamente moído. Mas depois, com o bagaço de cana moído e enriquecido com farelo de trigo apresentou 100% de colonização. Isso demonstra que o fator físico do substrato afeta o desempenho da espécie, fazendo-se necessário sua trituração para favorecer a sua degradação. O bagaço de cana-de-açúcar é um substrato pobre em nutrientes, mas com alto teor de celulose, e isso gera uma elevada relação C/N (BERNARDI; NASCIMENTO, 2011), que faz com que o teor de nitrogênio seja insuficiente para a sua utilização sem uma suplementação adequada. Entretanto, mesmo com a suplementação com o farelo de trigo, a utilização do bagaço de cana pouco triturado não resultou em uma boa colonização (Figura 11). Normalmente, os substratos para o cultivo de cogumelos requerem um certo grau de compactação para favorecer uma colonização, o que não ocorreu neste caso.

Tabela 9– Resultados de colonização dos diferentes substratos avaliados para o cultivo de *A. aegerita*.

TRATAMENTOS	COLONIZAÇÃO (%)		
	Ausente	Parcial	Total
S + FT	26,7	33,3	40,0
P + FT	42,9	57,1	0,0
PF + FT	3,6	0,0	96,4
BQ + FT	13,0	17,4	69,6
BC + FT	0,0	0,0	100,0
PF	16,7	0,0	83,3
P	40,0	60,0	0,0
BQ	62,5	37,5	0,0

S: serragem; P: pergaminho; PF: palha de feijão; BQ: feno de braquiária; BC: bagaço de cana; FT: farelo de trigo (equivalente a 10%). Todos os tratamentos receberam 2% de calcário calcítico.

Fonte: Do autor (2023).

Figura 11 – Bloco de bagaço de cana-de-açúcar não colonizado por *A. aegerita*.



Fonte: Do autor (2022).

No caso da palha de feijão suplementada com farelo de trigo, apenas um bloco não apresentou colonização. Provavelmente, isso ocorreu em função de algum problema localizado com aquela porção do substrato. Dentre os substratos sem o farelo de trigo, a palha de feijão foi o único substrato que apresentou colonização. Surpreendentemente, nem o pergaminho e nem o feno de braquiária apresentou colonização, indicando que *A. aegerita* apresenta uma certa exigência nutricional que torna obrigatória a suplementação do substrato com farelo de trigo.

4.1.4 Dados de produção do cultivo de *Agrocybe aegerita* no Ensaio I

O cultivo teve duração total de 80 dias, com 3 fluxos de produção, e a colonização dos blocos foi concluída numa média de 30 dias, com surgimento de primórdios em 7 dias após o fechamento. Os dados obtidos da produção de *Agrocybe aegerita* no ensaio I, podem ser analisados através da Tabela 10.

Ao analisar os dados, observou-se que o desempenho de *Agrocybe aegerita* em resposta ao manejo 1, manejo 2 e manejo 3, não diferenciou estatisticamente entre os substratos em relação a precocidade, que variou de 100% a 60%. Esse dado, demonstra a eficiência dos manejos na rápida formação de basidiocarpos.

Na variável de produtividade, o feno de braquiária (T4), diferiu estatisticamente da palha de feijão suplementada (T3) no manejo 2, do qual demonstrou a maior média de produtividade de 3,49%, porém os substratos testados não diferiram nesta variável na média geral e nem nos demais manejos significativamente. O feno de braquiária, também se destacou por ter expressado a maior média de 10,09% de eficiência biológica no manejo 2 10,09%, taxa próxima a encontrada por Isikhuemhen, Mikiashvili e Kelkar (2009) de 10,6% de eficiência biológica de *Agrocybe aegerita* em 70% palha de trigo, 10% resíduo sólido da

cama de frango e 20% de milho painço. A palha de feijão suplementada (T3), exibiu 7,64% de eficiência biológica e 2,65% de produtividade no manejo 3, que apesar de ter sido a segunda maior taxa nessas duas variáveis, apresentou média geral de 6,19% de eficiência biológica e 2,14% de produtividade, contra 5,63% e 1,95% respectivamente para feno de braquiária (T4), com rendimento total de 722,2g (*in natura*) em relação a toda colheita do tratamento. Esse dado foi superior ao de Bandura *et al.* (2021), que obteve uma média de rendimento de 122.7g a 132,1g com o manejo de incisão superior completa no cultivo de *Agrocybe aegerita* em substratos a base de palha de trigo, pellets, milho e colza, porém inferior ao dado dos autores de 31,46 a 33,87% de eficiência biológica.

Tabela 10 – Resultado das variáveis analisadas do cultivo de *Agrocybe aegerita* no ensaio I.

TRATAMENTOS	PRC (%)	P (%)	EB (%)	NC (u)	MMC (g)
Manejo 1					
T1: S + FT	-	-	-	-	-
T3: PF + FT	80,00 a	2,31 a	6,67 a	11,80 a	2,50 a
T4: BQ + FT	100,0 a	1,11 a	3,20 a	04,40 a	4,09 a b
T6: PF	93,33 a	2,06 a	5,96 a	28,60 b	1,18 a
Manejo 2					
T1: S + FT	100,0 a	1,97 a b	5,68 a	6,80 a	3,80 a
T3:PF + FT	100,0 a	1,47 a	4,27 a	5,00 a	4,59 a
T4:BQ + FT	99,21 a	3,49 b	10,1 b	7,50 a	6,43 b
T6:PF	-	-	-	-	-
Manejo 3					
T1: S + FT	100,0 a	1,27 a	3,67 a	05,75 a	3,08 a
T3:PF + FT	80,00 a	2,65 a	7,64 a	14,60 a	3,34 a
T4: BQ + FT	100,0 a	1,25 a	3,63 a	07,06 a	2,37 a
T6: PF	60,00 a	1,17 a	3,38 a	05,40 a	4,95 b
CV (%)	29,46%	63,80%	63,79	87,71%	62,98%

Legenda: S: Serragem; PF: palha de feijão; BQ: Feno de braquiária; FT: Farelo de trigo. Todos os tratamentos foram suplementados 2% de calcário. Manejo 1: abertura na parte superior do saco; Manejo 2: 3 cortes; Manejo 3: 6 cortes. PRC: precocidade; P: produtividade; EB: eficiência biológica; NC: número de cogumelos; MMC: massa média de cogumelos (g); (-): ausência de dados. Médias com letras distintas entre linhas, diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2023).

O manejo 1 diferiu estatisticamente dos demais manejos, devido ao maior número de cogumelos representado pela palha de feijão não suplementada (T6) com cerca de 28,60 unidades e peso fresco de 302g no total. Mesmo com um coeficiente de variação muito elevado, observou-se diferença significativa para este parâmetro entre os tratamentos. Apesar disso, o maior número de cogumelos não resultou em maior produtividade para o substrato à

base de palha de feijão. Em relação aos dados de massa média de cogumelos, o tratamento (T4) que utilizou como material volumoso feno de braquiária, apresentou a maior massa total de 6,43g, que diferiu dos demais tratamentos no manejo, e em segundo lugar a palha de feijão controle (T6) com 4,95g no manejo 3 que também diferiu estatisticamente dos outros substratos testados nesse manejo.

Não houve a formação de basidiocarpos em blocos de bagaço de cana-de-açúcar neste ensaio, porque conforme discutido anteriormente, utilizou-se o bagaço não moído e os blocos assim preparados, não apresentaram boa colonização. Acredita-se que essa ausência de colonização nesse tratamento, pode ter sido pelo fato de que os fragmentos do bagaço de cana-de-açúcar utilizado estavam muito grandes. Como se sabe, a compactação do substrato é um fator muito importante para a sua boa colonização e, para este tratamento, observou-se que o substrato não ficou bem compactado em função tanto da textura e densidade do bagaço de cana, bem como em função do tamanho dos seus fragmentos. É importante que tanto o pH como o teor de umidade deste substrato estavam dentro do padrão desejado (7.2 e 75%, respectivamente).

Como demonstrado previamente na Tabela 9, o substrato à base de serragem (T1) apresentou 40% de colonização, que não foi homogênea em alguns blocos apesar da espécie degradar madeira na natureza. Isso pode ser explicado pela composição da serragem de eucalipto, rica em celulose, mas também muito rica em lignina, o que possivelmente gerou um alto gasto metabólico do fungo (FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011; CHRISOSTOMO, 2015). Considerando os blocos que apresentaram colonização suficiente, a maior eficiência biológica para este substrato foi obtida no manejo 2, com 6,80%, valor superior aos do estudo de Uhart, Piscera e Albertó (2008), os quais relataram valores de 0 a 4,1% de eficiência biológica cultivando *A. cylindraceae* em substrato à base de serragem.

Não se observou formação de basidiocarpos nos tratamentos compostos por pergaminho e feno de braquiária não suplementados. No caso do pergaminho suplementado (T2), houve a ocorrência de apenas um cogumelo no manejo 1 após 76 dias de cultivo. O pergaminho possui maior teor de nitrogênio do que serragem e bagaço de cana, com cerca de 0,6% (BRUM, 2007). Entretanto, segundo Zadrazil (1994), para se obter um crescimento satisfatório de micélio e maior rendimento de *A. aegerita*, é necessário aumentar o conteúdo de nitrogênio inorgânico no substrato. Apesar disso, observou-se durante o ensaio que o pergaminho apresenta uma grande dificuldade de absorção de água. Por esta razão, ao adicionar-se água suficiente para 65 a 70% de umidade, ocorreu o acúmulo de água no fundo do saco, o que acabou gerando problemas de anaerobiose. Esse problema pode ter

influenciado negativamente depois na frutificação do cogumelo. Em função deste problema, a utilização do pergaminho requer a sua imersão em água por algumas horas antes da sua utilização, ou a sua utilização em combinação com outros substratos com maior facilidade de absorção de água, como o bagaço de cana, por exemplo.

Uma importante observação feita durante este trabalho, acerca dos tipos de manejo avaliados, foi que muitos primórdios foram formados além dos pontos de abertura ou cortes feitos nos blocos de cultivo. Por exemplo, para o manejo 1, que consistiu na abertura do saco na parte superior do substrato, além dos cogumelos produzidos no topo, vários primórdios formaram-se nas laterais abaixo do topo (Figura 12). Diante disso, foi necessário prosseguir com a abertura do saco para não perder os cogumelos produzidos nessas áreas. Isso provavelmente ocorreu porque houve o desprendimento do plástico em relação ao substrato, o que fez com que a passagem de ar induzisse à frutificação.

Figura 12– Cogumelos formados em blocos do manejo 1.



Fonte: Do autor (2022).

Fenômeno semelhante foi observado no manejo 2, o qual propiciou a formação de primórdios tanto a partir das 3 incisões feitas, quanto na superfície do bloco e nas laterais ao redor das incisões. Sempre que os cogumelos desenvolviam fora das incisões os mesmos apresentavam estiolamento, resultando em píleo pequeno, estipe longo e grosso, possivelmente pelo acúmulo de dióxido de carbono dentro do saco de cultivo. Em função deste problema, foi necessário também cortar o saco para colher os cogumelos crescidos nessa região. Após a colheita, a superfície de cada saco foi fechada novamente com fita adesiva. Ao

redor dos cortes e na base, houve o surgimento de primórdios, que não evoluíram devido ao espaço restrito entre o saco e o bloco, tornando-se abortos. No caso dos blocos compostos por serragem (T1), essa incidência não ocorreu, provavelmente por ser um material de maior compactação, que permitiu que não houvesse espaço entre o bloco e o saco de cultivo, demonstrando-se o manejo 2, promissor nesse substrato (Figura 13).

Figura 13– Cogumelos gerados em blocos submetidos a manejo 2.



Fonte: do autor (2022).

Os cogumelos formados nos blocos do manejo 3, apresentaram morfologia mais uniforme. Também houve a incidência de cogumelos na superfície, sendo assim, os sacos foram abertos e fechados novamente com fita adesiva, dobrando a região entre a superfície do bloco e acima do filtro após a colheita, para diminuir o espaço da atmosfera presente dentro do saco, o que foi eficiente. A ocorrência de abortos nesse manejo diminuiu, acredita-se que pela quantidade de cortes feitos nos blocos (6), e então, os basidiocarpos puderam se distribuir melhor nos blocos. Alguns cogumelos formados podem ser observados na Figura 14.

As diferenças entre os tratamentos também não foram significativas para este ensaio, em função do alto coeficiente de variação, de modo que não foi possível definir o melhor substrato ou o melhor manejo. Em função disso, foi conduzido o ensaio II com o propósito de validar os resultados a partir dos melhores resultados obtidos no ensaio I.

Figura 14– Cogumelos formados no manejo 3.



Fonte: Do autor (2022).

4.2 Ensaio II: Validação dos resultados de produção de *A. aegerita* nos diferentes substratos base usando o melhor manejo.

4.2.1 Dados de pH, matéria seca e umidade dos substratos

Os respectivos valores mensurados de cada tratamento em relação ao seu teor de umidade e pH podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11– Aspectos físicos e químicos dos substratos do ensaio II.

Tratamento	Umidade (%)	pH
T1	52	7,0
T2	64	6.9
T3	70	6.9
T4	72	7.2

Legenda: T1: serragem; T2: bagaço de cana-de-açúcar; T3: feno de braquiária; T4: palha de feijão. Todos os tratamentos foram suplementados com 10% de farelo de trigo + 2% de calcário.

Fonte: Do autor (2023).

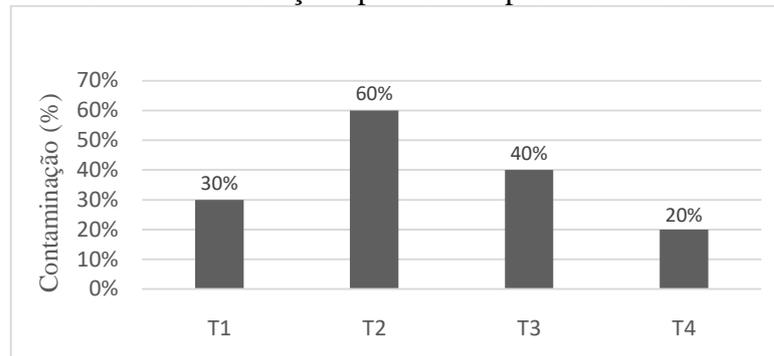
Observou-se neste ensaio, que os valores de umidade variaram de 52 a 72%. O tratamento 1, composto por serragem, apresentou a menor porcentagem em relação à umidade: 52%, abaixo do valor recomendado de 60 a 75% para umidade de substrato (LUNARDI, 2019). Assim como o pergaminho, a serragem também apresenta certa limitação para absorção imediata de umidade. Considerando que, para o preparo dos substratos de

cultivo de cogumelos, utiliza-se uma regra básica de avaliar o teor de umidade apertando uma pequena porção entre os dedos, é evidente que erros podem ser cometidos, principalmente para matérias-primas tais como serragem e pergaminho. Como esses materiais não absorvem água imediatamente, ao se adicionar água e ao se fazer o teste de apertar uma amostra entre os dedos, observa-se o escorrimento de água entre os mesmos antes que a serragem tenha atingido os 65% de umidade desejados.

4.2.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio II

No decorrer do período de colonização dos blocos do ensaio II, notou-se que entre o 12^o e o 18^o dia após a inoculação, houve o surgimento de contaminantes nos blocos de cultivo. O tratamento T4, substrato à base de palha de feijão, apresentou o menor índice de contaminação, enquanto o tratamento T2, composto por bagaço de cana-de-açúcar, apresentou o maior índice de contaminação (Figura 15).

Figura 15– Taxa de contaminação apresentado pelos tratamentos do ensaio II.



Legenda: T1: serragem; T2: bagaço de cana-de-açúcar; T3: feno de braquiária; T4: palha de feijão. Todos os tratamentos foram suplementados com 10% de farelo de trigo + 2% de calcário.

Fonte: Do autor (2023).

Segundo Bernardi *et al.* (2021), o aparecimento de contaminantes pode estar relacionado à preparação do substrato e também à temperatura do tratamento, que é um fator fundamental para a sobrevivência de microrganismos contaminantes. No experimento dos autores utilizando palha de arroz para o cultivo de *Pleurotus sajor-caju*, o tempo de pasteurização da palha por 30 minutos a 95 °C proporcionou os melhores resultados. Já no presente experimento, com método de pasteurização a 80 °C durante 24 horas e autoclavagem a 121°C por 2 horas, não se demonstrou eficiente para eliminar totalmente o nível de contaminação, podendo estar relacionado também a outros fatores, porém, em comparação ao ensaio I, observou-se que, o índice de contaminação diminuiu. Evidentemente, um dos fatores

fundamentais para reduzir os índices de contaminação é a utilização de matérias-primas de qualidade, a qual está relacionada diretamente ao tempo de obtenção da matéria-prima até a sua utilização, bem como as boas condições de armazenamento. O bagaço de cana, por exemplo, será de muito melhor qualidade se utilizado imediatamente após a moagem da cana. Como isso é muito difícil, o ideal é que o bagaço seja desidratado e depois armazenado em boas condições, livre da ação da chuva.

4.2.3 Dados de produção do cultivo de *Agrocybe aegerita* no Ensaio II

Os resultados da análise dos dados de produção do ensaio II, estão representados na Tabela 12. Os dados demonstram que o tratamento à base de palha de feijão, apresentou os melhores resultados, com 56,5% de precocidade, 5,8% de produtividade e 16,6% de eficiência biológica, dado superior ao encontrado por Landingin *et al.* (2020) que relatou 12,89% de eficiência biológica na formulação de 70% palha de arroz e 30% de serragem trabalhando com *Agrocybe cylindraceae*, com rendimento total de 106,9g/750kg.

Tabela 12– Produtividade de *A. aegerita* no ensaio II.

TRATAMENTO	PRC (%)	P (%)	EB (%)	NC (u)	MMC (g)
T2	50,0 b	3,74 b	10,70 b	37,4 b	2,10 a
T3	33,3 c	1,83 c	5,23 c	18,8 c	2,07 b
T4	56,5 a	5,81 a	16,60 a	53,0 a	1,83 c
CV (%)	111,73	36,96	36,99	49,86	70,55

Legenda: T2: bagaço de cana; T3: feno de braquiária; T4: palha de feijão. Todos os tratamentos foram suplementados com 10% de farelo de trigo + 2% de calcário. PRC: precocidade; P: produtividade; EB: eficiência biológica; NC: número de cogumelos; MMC: massa média de cogumelos (g). Médias com letras distintas entre linhas, diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2023).

Ainda no mesmo tratamento, alcançou-se o maior número médio de cogumelos, cerca de 53 unidades, o que não ocorreu com a massa média de cogumelos, a qual foi a menor, com 1,83g. Phillipoussis, Zervakis e Diamantopolou (2001), relataram valores similares avaliando a mesma espécie, com uma média que variou de 0,83 a 2,57g. Por outro lado, Koutrotsios *et al.* (2014) relataram valores mais elevados, com 2,6 a 9,3g. Provavelmente, os basidiocarpos formados nesse tratamento foram mais leves dos que os dos tratamentos 2 e 3. Segundo Figueiró e Graciolli (2011), a palha de feijão como apresenta um teor de 1% de nitrogênio, o que corresponde a um valor adequado para o cultivo de cogumelos do gênero *Pleurotus* e, provavelmente, este foi um fator importante para explicar o melhor desempenho de *Agrocybe aegerita* em palha de feijão. Apesar disso, é importante observar que a palha de feijão

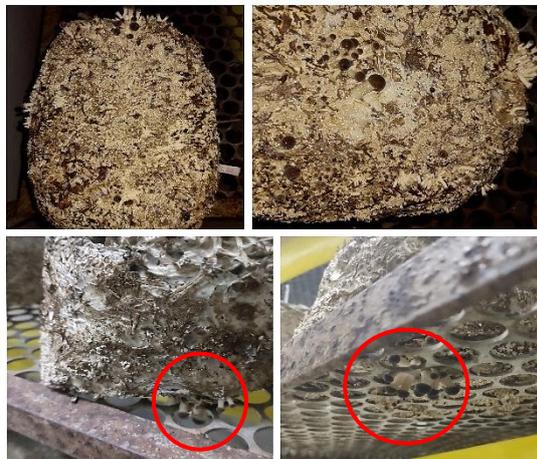
suplementada com farelo de trigo apresentou maior produção do que a palha de feijão não suplementada. Isso pode indicar que *Agrocybe aegerita* seja uma espécie com uma maior exigência quanto ao teor de nitrogênio, entretanto, pode ser também que o teor de nitrogênio da palha de feijão utilizada neste trabalho estava mais baixo. Evidentemente, os teores de proteína bruta de palhadas e capins podem variar muito em função de época de plantio, fertilidade de solo e ainda em função das diferenças genéticas entre as variedades utilizadas.

Ao contrário do primeiro ensaio, houve a formação de basidiocarpos em bagaço de cana-de-açúcar (T2). Para este ensaio, teve-se o cuidado de peneirar o bagaço de cana, antes da sua utilização, descartando-se os fragmentos mais grosseiros retidos na peneira. Portanto, o substrato à base de bagaço de cana neste ensaio foi preparado com fragmentos menores, os quais favoreceram a compactação adequada do substrato. Observou-se que neste mesmo tratamento, os basidiocarpos formados possuíam uma coloração mais clara do que nos outros tratamentos, mesmo antes de atingir a maturidade total. É possível que a composição do substrato à base de bagaço de cana afetou a coloração dos cogumelos, entretanto, é difícil explicar porque isso ocorreu.

O tratamento 3, a base de feno de braquiária, apresentou a menor produtividade e eficiência biológica, com 1,83% e 5,23%, respectivamente. Koutrotsios *et al.* (2014), trabalhando com *A. cylindracea*, relatou que a espécie possui menor capacidade de degradação de lignina. Entretanto, sendo um alimento animal, o feno de braquiária não apresenta um teor de lignina que possa justificar uma menor produção de cogumelos. O maior problema observado foi o elevado índice de contaminação, que atingiu 40% dos blocos. O tratamento 1, composto de serragem, não apresentou basidiocarpos nesse ensaio, o que pode ser explicado pelo baixo teor de umidade (52%), o qual ficou muito abaixo da média normalmente recomendada (65%). Além disso, considerando a informação relatada por Koutrotsios *et al.* (2014) de que esta espécie apresenta menor capacidade de degradação de lignina, ao contrário da braquiária, a serragem de eucalipto apresenta elevado teor de lignina. Uhart, Piscera e Albertó (2008), testando a serragem (100%) no cultivo de *A. aegerita*, relataram que o fungo não colonizou o substrato durante o período de 55 dias. Para os autores, esse comportamento pode estar relacionado ao fraco sistema lignolítico da espécie ou a compactação devido ao tamanho da partícula ser menor. Evidentemente, para o cultivo de qualquer espécie de cogumelo, a suplementação da serragem de eucalipto é essencial. Por isso, para o presente trabalho, não se utilizou serragem sem suplementação com farelo. Apesar disso, este substrato não funcionou, definitivamente, para o cultivo deste cogumelo.

O manejo de retirada completa do saco de cultivo, levou a um excesso de surgimento dos primórdios na base do bloco do tratamento 4 composto por palha de feijão (Figura 16), que foram virados para cima, para que os cogumelos pudessem se desenvolver uniformemente, por serem mais delicados, porém, nem todos os primórdios evoluíram para a formação dos basidiomas. Supõe-se que, devido à palha de feijão ser um substrato poroso, a umidade pode ter se concentrado na base do bloco, local onde a compactação é maior, induzindo o surgimento dos primórdios, mas foi nítido que este manejo proporcionou o aumento da quantidade de cogumelos.

Figura 16- Primórdios na base de bloco de cultivo composto de palha de feijão.



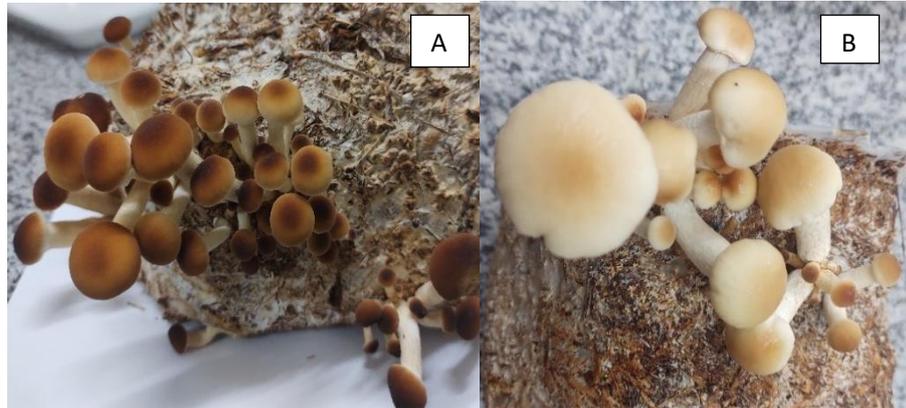
Fonte: Do autor (2022).

O cultivo, teve duração de 72 dias desde a inoculação, com uma média de 30 dias para o término da colonização, e de 7 a 10 dias até o surgimento de primórdios, com 2 fluxos de produção, sendo o primeiro o mais produtivo. Com a intenção de obter um novo fluxo de produção, os blocos do presente ensaio foram irrigados e envoltos em plástico filme para indução da formação de novos basidiocarpos, que ao completar 90 dias após o término do segundo fluxo, apresentou a formação de apenas um cogumelo, que pesou 9g.

Para este ensaio II, foi possível concluir que a palha de feijão apresentou desempenho superior em relação aos demais substratos. E com respeito ao manejo, em função dos problemas enfrentados de descolamento do plástico em relação ao substrato, optou-se pela completa remoção do saco plástico, uma vez que os primórdios se formam com muita facilidade ao redor de todo o substrato. Para estudos futuros, recomenda-se a utilização de blocos maiores e que permitam maior compactação do substrato, de forma que o mesmo permaneça firmemente aderido ao plástico.

A Figura 17 mostra a diferença morfológica dos basidiomas entre os substratos à base de palha de feijão e bagaço. Conforme discutido anteriormente, no caso dos basidiomas produzidos em palha de feijão, estes apresentaram coloração mais escura.

Figura 17– Diferença de coloração entre os basidiocarpos de *A. aegerita*.



Legenda: A: basidiocarpos formados em bloco de palha de feijão; B: basidiocarpo formado em bloco de bagaço de cana-de-açúcar.

Fonte: Do autor (2022).

4.3 Ensaio III: Efeito da suplementação na produtividade de *Agrocybe aegerita*.

4.3.1 Dados de pH, matéria seca e umidade dos substratos

Conforme pode ser constatado na Tabela 13, o pH dos substratos variou de 6,7 a 7,1. Segundo Lunardi (2019), valores de pH de 6 a 7 são favoráveis à produção de basidiomas para a maioria das espécies de cogumelos comestíveis. Portanto, os valores encontrados neste ensaio estão dentro da faixa desejável de pH. Em relação ao teor de umidade dos substratos, os valores variaram de 72 a 74%, o que está acima do valor médio desejado de 65%, mas ainda dentro dos níveis aceitáveis para o cultivo de cogumelos. O maior teor de umidade observado para este ensaio pode ser explicado pelo fato de ter-se utilizado a palha de feijão. Considerando que esta matéria-prima é muito fibrosa e de difícil absorção de umidade, utilizou-se o procedimento de deixar a palha de feijão imersa em água por 2h e depois drenada para escorrer o excesso de umidade. Apesar da drenagem ter sido feita até o dia seguinte, isso não foi suficiente para ajustar a umidade até 65%. Uma das opções para isso seria diminuir o tempo de imersão de 2 para 1h apenas.

Tabela 13- Teor de umidade e pH dos diferentes substratos para cultivo de *A. aegerita* no ensaio III.

TRATAMENTO	UMIDADE (%)	pH
T1- PF	74	7.1
T2- PF+FT 10%	74	6.8
T3- PF+FA 10%	72	6.7
T4- PF+FU 10%	74	6.9
T5- PF+ (FT +FA+FU)	74	7.1

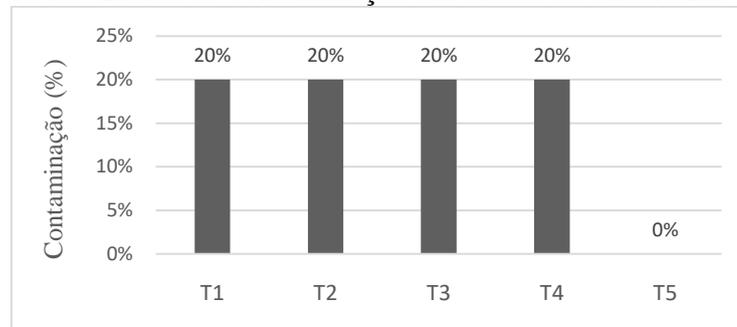
Legenda: PF: palha de feijão (controle); FT: farelo de trigo; FA: farelo de arroz; FU: fubá de milho. T5: cada farelo usado a 3,3%. Todos os tratamentos receberam 2% de calcário calcítico.

Fonte: Do autor (2023).

4.3.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio III

O índice de contaminação do ensaio III variou de 0 a 20% (Figura 18), que foi menor em comparação ao índice de contaminação observado nos ensaios anteriores. O surgimento das primeiras contaminações, aconteceram no terceiro e oitavo dia após a inoculação, e novamente no 28° e 33° dia. Apenas o tratamento 5 não apresentou nenhuma contaminação.

Figura 18– Índice de contaminação em blocos do ensaio III.



Legenda: T1: palha de feijão (PF); T2: PF + 10% de farelo de trigo; T3: PF + 10% de farelo de arroz; T4: PF + 10% de fubá; T5: PF + 3,3% de farelo de trigo + 3,3% de farelo de arroz + de fubá 3,3%. Todos os tratamentos receberam 2% de calcário calcítico.

Fonte: Do autor (2023).

É difícil identificar qual fator poderia explicar melhor os índices de contaminação observados. Naturalmente, poderia ser, a princípio, sugerido que os farelos podem ser uma fonte importante de microrganismos, entretanto, o T1 não teve nenhum tipo de farelo na sua composição, mas apresentou exatamente o mesmo índice de contaminação em relação aos demais. Além disso, todos os tratamentos contendo apenas um tipo de farelo também apresentaram o mesmo índice de contaminação, indicando que nenhum deles pode ser indicado como maior fonte de contaminação. Considerando que o T5 (palha de feijão

suplementada com todos os farelos) não apresentou nenhum bloco contaminado, pode-se sugerir que a contaminação observada nos demais tratamentos pode ter sido mais fortuita, tendo-se originado de contaminação externa. Uma observação importante é que, após a selagem dos sacos plásticos, tem-se observado ainda pequenas fissuras que podem permitir a entrada de agentes contaminantes.

4.3.3 Desempenho agrônômico de *Agrocybe aegerita* no Ensaio III

O cultivo durou 60 dias, com somente um fluxo de produção e média de 30 dias para colonização e 5 dias para o surgimento dos primeiros primórdios. Os dados agrônômicos estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14- Dados do desempenho agrônômico de *A. aegerita* no ensaio III.

TRATAMENTO	PRC (%)	P (%)	EB (%)	NC (u)	MMC (g)
T1	100,0 a	1,73 b	6,28 b	24,13 a	1,10 a
T2	100,0 a	4,78 a	17,3 a	28,60 a	2,59 a
T3	80,00 a	2,13 b	7,72 ab	21,80 a	1,74 a
T4	80,00 a	4,02 ab	14,6 ab	28,40 a	2,62 a
T5	100,0 a	1,68 b	6,09 b	16,80 a	1,73 a
CV (%)	28,99%	74,37%	74,35%	70,31%	89,39%

Legenda: T1: palha de feijão (PF); T2: PF + 10% de farelo de trigo; T3: PF + 10% de farelo de arroz 10%; T4: PF + 10% de fubá 10%; T5: PF + 3,3 % de farelo de trigo + 3,3% de farelo de arroz + 3,3% de fubá. Todos os tratamentos receberam 2% de calcário calcítico. PRC: precocidade; P: produtividade; EB: eficiência biológica; NC: número de cogumelos; MMC: massa média de cogumelos. Médias com letras distintas entre linhas, diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2023).

Os tratamentos T1, T2 e T5 não diferiram estatisticamente quanto à precocidade, com 100,00% para os três. Esse dado permite inferir que a colonização do fungo foi eficiente, pois o surgimento de primórdios ocorreu em 5 dias após o término da corrida micelial. O tratamento 2, utilizando o farelo de trigo como suplemento, apresentou os melhores resultados de produtividade e eficiência biológica, seguido por T4 (suplementação com fubá). Uhart, Piscera e Albertó (2008), obtiveram uma média de 99 a 179% de eficiência biológica, trabalhando com uma cepa comercial e duas selvagens de *Agrocybe cylindracea* em palha de trigo quando suplementada com 20% de flocos de aveia e 20% de farelo de soja, em blocos de 1kg, considerado o rendimento mais alto já descrito para espécie. Os autores indicam a utilização de cepas selvagens no cultivo para um alto rendimento.

Para os parâmetros de número e massa média de cogumelos, não se observou diferenças significativas entre os tratamentos. Assim como observado para os demais

parâmetros, os valores do coeficiente de variação (CV) foram extremamente elevados, o que dificulta encontrar diferenças significativas entre os tratamentos.

Apesar do elevado CV observado, o ensaio III permitiu constatar que a suplementação do substrato com farelo de trigo é realmente importante. Surpreendentemente, a produtividade obtida no substrato suplementado com farelo de arroz foi estatisticamente igual ao substrato não suplementado. O mesmo ocorreu com o substrato suplementado com os três tipos de farelos. Kleofas *et al.* (2014) relataram uma eficiência biológica de 36%, quando suplementou a palha de trigo com bagaço de chá preto, no cultivo de *Agrocybe aegerita*. A produção de *A.aegerita* em blocos de cultivo suplementados, pode ser visualizada na Figura 19.

Figura 19– Produção de *A.aegerita* em blocos de cultivo suplementados com farelos.



Fonte: Do autor (2022).

4.4 Ensaio IV: Avaliação de dois condicionantes de substrato em dois níveis.

4.4.1 Dados de pH e teor de umidade dos substratos

Os respectivos valores mensurados de cada tratamento em relação ao seu pH e teor de umidade, podem ser observados na Tabela 15. Neste ensaio, todos os tratamentos apresentaram pH ácido variando de 5.2 a 5.6, o qual é mais favorável ao o desenvolvimento de contaminantes competidores nos blocos de cultivo (SILVA; BALIONI, 2020).

O calcário calcítico possui a função de regulação de pH, atuando como tampão (ABÍLIO *et al.*, 2020), e o gesso para eliminação de excesso de umidade (URBEN, 2017). Por isso, os tratamentos com calcário apresentaram pH maior em relação àqueles que receberam apenas gesso. Apesar disso, o calcário adicionado não foi suficiente para atingir o pH próximo da neutralidade. Estes resultados foram muito diferentes daqueles observados no ensaio com os diferentes tipos de farelo, quando se observou um pH em torno da neutralidade para todos os tratamentos. Essas diferenças são decorrentes provavelmente, em função dos lotes diferentes de palha de feijão utilizados nos diferentes momentos. O tratamento 6, chamou

atenção para o seu teor de umidade de 82%, acima do porcentual padrão utilizado (60-75%), que segundo Lunardi (2019), interfere na disponibilidade de oxigênio para o crescimento do fungo. Provavelmente isso ocorreu em função de uma má homogeneização da palha de feijão antes de separar os lotes para cada tratamento.

Tabela 15- Valores de pH, matéria seca e umidade dos substratos do ensaio IV.

TRATAMENTO	UMIDADE	pH
T1- Calcário calcítico 1%	69.2	5.6
T2- Calcário calcítico 2%	72	5.6
T3- Gesso 1%	76	5.2
T4- Gesso 2%	76	5.2
T5 – Calcário calcítico 0,5% + Gesso 0,5%	74	5.4
T6- Calcário calcítico 1% + Gesso 1%	82	5.4

Legenda: Para todos os substratos utilizou-se palha de feijão suplementada com 10% de farelo de trigo.

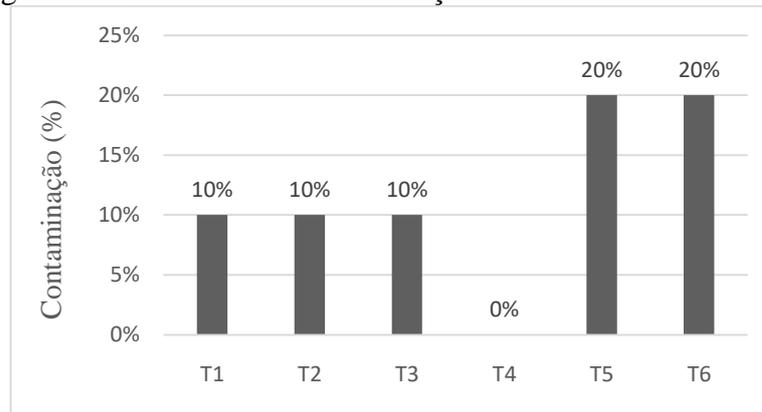
Fonte: Do autor (2023).

4.4.2 Índice de contaminação dos blocos do ensaio IV

Os índices de contaminação do ensaio IV foi semelhante ao ensaio anterior (Figura 20). O maior índice de contaminação foi de 20%, observado nos tratamentos 5 e 6. Os tratamentos de T1 a T4 apresentaram um índice de 10% de contaminação, enquanto que o T4 não teve problema de contaminação (Figura 20). Assim como nos ensaios anteriores, as diferenças de contaminação entre os tratamentos parecem ser mais ocasionais do que relacionadas a alguma diferença entre os tratamentos. Isso parece ainda mais óbvio porque, para este ensaio, o substrato base e o suplemento foram os mesmos, ou seja, os únicos fatores diferentes foram os dois condicionantes e as duas doses testadas. E esses condicionantes não são conhecidos por contribuir com o problema de contaminação no substrato.

Evidentemente, é necessário trabalhar para reduzir o índice de contaminação observado para a utilização da palha de feijão, uma vez que este problema onera ainda mais o custo de produção do substrato de cultivo de cogumelos.

Figura 20- Incidência de contaminações nos blocos do ensaio IV.



Legenda: Para todos os substratos utilizou-se palha de feijão suplementada com 10% de farelo de trigo. T1: calcário calcítico 1%; T2: calcário calcítico 2%; T3: gesso 1%; T4: gesso 2%; T5: calcário calcítico 0,5% + gesso 0,5%; T6: calcário 1% + gesso 1%.

Fonte: Do autor (2023).

4.4.3 Dados de produção do cultivo de *Agrocybe aegerita* no Ensaio IV

O cultivo teve duração de 90 dias, com 2 fluxos de produção, média de 30 dias para o término do período de colonização e 5 dias para surgimento dos primeiros primórdios. Para os parâmetros precocidade e massa média de cogumelos, as diferenças entre os tratamentos não foram significativas, ao contrário dos parâmetros produtividade, eficiência biológica e número de cogumelos, para os quais foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 16).

Tabela 16- Médias de produtividade do cultivo de *A.aegerita* no ensaio IV.

TRATAMENTO	PRC (%)	P (%)	EB (%)	NC (u)	MMC (g)
T1	3,21 a	2,14 ab	8,11 ab	19,11 ab	2,11 a
T2	3,93 a	1,38 b	5,24 b	14,35 b	2,19 a
T3	3,57 a	2,36 a	8,94 a	34,27 a	1,53 a
T4	3,57 a	1,57 b	5,94 b	25,81 ab	1,02 a
T5	5,23 a	1,81 b	6,85 b	20,21 ab	1,97 a
T6	5,27 a	2,18 ab	8,25 ab	22,50 ab	3,21 a
CV (%)	108,31%	79,14%	79,17%	82,23%	174,51%

Legenda: Para todos os substratos utilizou-se palha de feijão suplementada com 10% de farelo de trigo. T1: calcário calcítico 1%; T2: calcário calcítico 2%; T3: gesso 1%; T4: gesso 2%; T5: calcário calcítico 0,5% + gesso 0,5%; T6: calcário calcítico 1% + gesso 1%. Médias com letras distintas entre linhas, diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2023).

O tratamento T3 apresentou no ensaio IV as maiores médias de produtividade e eficiência biológica. Este mesmo tratamento, exibiu uma taxa média de 34,27 unidades de cogumelos, interessante para o produtor, do qual diferiu estatisticamente do tratamento T2 que obteve 14,35 unidades de cogumelos. O gesso é uma fonte de enxofre para o substrato de

cultivo, do qual pode exercer funções como de síntese de aminoácidos essenciais, vitaminas, ativação de enzimas e fixação simbiótica do nitrogênio (MARTINS, 2022). Morceli (2021), trabalhando com a otimização da produção de inóculo de *Agaricus subrufescens*, relatou que as doses de 0 a 2% de gesso e de 1 a 3% de carbonato de cálcio, proporcionaram maior produtividade e número de basidiomas, o que se assemelha ao observado no presente ensaio.

Segundo Oliveira (2018), o aumento da concentração de CaCO_3 no substrato tende a elevar o pH do mesmo. Este parâmetro é um dos fatores muito importantes para se obter maior eficiência biológica. Porém, mesmo com as maiores concentrações de gesso (2%) e calcário calcítico (2%) no substrato de cultivo de *A. aegerita*, observou-se a elevação desejada do pH, o qual ficou abaixo de 6 em todos os tratamentos. A elevação do pH até próximo da neutralidade é muito importante porque, durante a colonização do substrato, o fungo produz ácidos orgânicos, os quais promovem a acidificação, reduzindo o pH do substrato. Neste caso, se o fungo é inoculado em um substrato com pH já ácido, é possível que, no momento da frutificação, o pH esteja muito abaixo do valor ideal para uma boa frutificação. Os melhores resultados de EB foram obtidos nos tratamentos T1, T3 e T6, os quais foram estatisticamente iguais. O efeito do calcário sobre o pH ficou evidente, uma vez que o pH foi maior exatamente nos substratos que receberam este condicionante (T1: pH 5,6; T6: pH 5,4). Apesar disso, provavelmente, o pH ligeiramente superior nesses tratamentos não foi suficiente para garantir um desempenho superior ao T3, que não possuía calcário na sua composição e que apresentou o menor valor de pH (5,2). Portanto, outros experimentos deverão ser feitos no futuro com o propósito de se definir o pH ideal no substrato de cultivo de *A. aegerita*. Em função dos problemas observados e dos resultados obtidos, não foi possível definir o condicionante ideal e nem a dose. Teoricamente, o substrato deveria receber o calcário para a correção do pH e o gesso para garantir melhor estrutura do substrato de cultivo. Houve novamente excesso de primórdios na base do substrato, possivelmente, em função do gradiente de umidade, que favoreceu melhor teor de umidade nessa região, a medida que os blocos iam perdendo umidade na parte superior. A palha de feijão em um substrato de estrutura porosa e segundo Kleofas (2014), um substrato de estrutura solta melhora a disponibilidade de oxigênio, além de favorecer maior perda de água tanto por evaporação como por percolação.

De modo geral, o desempenho agrônômico de *A. aegerita* foi considerado baixo, quando comparado aos melhores resultados relatados na literatura. Por outro lado, observou-se também que o desempenho aqui obtido foi superior a vários resultados relatados em outros trabalhos. Considerando que este é o primeiro trabalho realizado com este cogumelo no

Brasil, pode-se considerar que os resultados foram bastante promissores, pelo fato de ter abordado as questões mais básicas e abrindo as portas para o incremento tecnológico para o cultivo deste cogumelo. Algumas dificuldades e problemas técnicos foram observados, tais como a compactação adequada do substrato e a dificuldade de absorção de água por parte de algumas matérias-primas. Associado a isso, observou-se que a completa abertura dos blocos contribuiu para a perda da massa micelial na superfície do substrato (Figura 21), o que, certamente, limitou a obtenção de um número maior de fluxos.

Figura 21- Substrato de cultivo de *Agrocybe aegerita* completamente exposto ao ambiente e apresentando a perda da cobertura micelial.



Fonte: Do autor (2022).

Uma possível abordagem futura será a utilização de sacos plásticos que permitam acondicionar volume maior de substrato e, ao mesmo tempo, permita maior compactação e a utilização do manejo de furos, de modo que a entrada de ar ocorra apenas através desses furos. Esta estratégia irá garantir, provavelmente, que o substrato tenha a sua umidade preservada e, ao mesmo tempo a sua massa micelial cobrindo a superfície do substrato.

5 CONCLUSÃO

A palha de feijão suplementada com farelo de trigo foi o melhor substrato para o cultivo de *Agrocybe aegerita*.

Para as condições de blocos pequenos com 1,3 kg de substrato, o manejo de retirada completa dos sacos foi o mais adequado para evitar a perda de primórdios formados ao redor de todo o substrato.

Não foi possível definir o melhor condicionante e nem a dose ideal.

REFERÊNCIAS

- ABÍLIO, D. P *et al.* Prospecção e avaliação do potencial biotecnológico de linhagens comerciais de shitake. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 35, n. 4, p. 640-649, 2020. ISSN 2359-6562 (ONLINE) 2359-6562 (CD-ROM).
- ALBUQUERQUE, M.P.; PEIL, R.M.N.; NASCIMENTO, J.S. Capacidade de colonização micelial de *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju* em diferentes substratos. **Caderno de Pesquisa, série biologia**, v.24, n.2, p.40-54, 2012. DOI: <https://doi.org/10.17058/cp.v24i2.3589>.
- ANDRADE, M. C. N *et al.* Estudo comparativo nutricional da madeira e casca de espécie e clones de eucalipto visando o cultivo de shitake em toras. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.35, n.2, p.183-192, 2011.
- ANDRADE, R. C. Cogumelos – Paraná destaca-se na produção de cogumelos comestíveis. Departamento de Economia Rural – DERAL, Divisão de Conjuntura Agropecuária [2021]. Disponível em: <https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2021-06/boletim_semanal_25_deral_24_junho_2021_0.pdf> Acesso em: 24 fev. 2023.
- ANPC. Associação dos Produtores de Cogumelos. **O setor de Cogumelos**. Outubro, 2013. Disponível em: > <https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>< Acesso em: 20 abr.2021.
- BACH, F. **Avaliação do potencial nutricional, antioxidante e antibacteriano de cogumelos comestíveis**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Curitiba, 2017.
- BANDURA, I. I *et al.* Influence of the substrate composition on the yield and nutritional value of the fruiting bodies of the edible mushrooms *Pleurotus citrinopileatus* and *Cyclocybe aegerita*. **Plant Varieties Studying and protection**, Ucrânia, v.17, n.2, 2021. ISSN 2518-1017, DOI: <https://doi.org/10.21498/2518-1017.17.2.2021.236519>.
- BERNARDI, E *et al.* Comparação entre tempos de pasteurização da palha de arroz para o cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em pequena escala. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**, Paranaguá, v.6, n.1, p. 01-14, 2021. ISSN: 2525-4782. DOI:10.21575/25254790rmmma2021vol6n11316.
- BERNARDI, E. *et al.* Utilização de diferentes substratos para a produção de inóculo de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. R. **Ciência Agronômica**, v. 38, n.1, p. 84-89, 2007. ISSN 1806-6690 (online) 0045-6888 (impresso).
- BRUM, S. S. **Caracterização e modificação química de resíduos sólidos do beneficiamento do café para produção de novos materiais**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- CABRERA, L. C *et al.* Caracterização da produção de cogumelos comestíveis: estudo de caso na região de Londrina, Paraná. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p.14, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4416>

CALAÇA, F.J.S; CORTEZ, V.G; SANTOS, X. Dung fungi from Brazil: *Agrocybe pediades* (Fr.) Fayod (Basidiomycota) in Cerrado. **Scientia Plena**, v.16, n.6. DOI: 10.14808/sci.plena.2020.066201.

CHRISOSTOMO, W. **Mecanismos de ligação da serragem de madeira densificada com diferentes teores de umidade em diferentes temperaturas**. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

CITORES, L *et al.* Ageritin, a Ribotoxin from Poplar Mushroom (*Agrocybe aegerita*) with Defensive and Antiproliferative Activities. **Asc Chemical Biology**, v. 14, p. 1319–1327, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00291>.

COIMBRA, V. Checklist of Central and South American (Basidiomycota) II: Strophariaceae. **Mycosphere Online Edition**, v.6, n.4, p. 441-448, 2015. ISSN 2077 7019. DOI: 10.5943/mycosphere/6/4/6.

CONTESSA *et al.* Influência da temperatura na extração de compostos antimicrobianos obtidos de fungos comestíveis. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia e Alimentos**, v.4, n.1, 2018. DOI:10.5965/24473650412018089.

DIAS, E. S *et al.* Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.6, p. 1363-1369, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542003000600022>.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 795-803, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000400001>.

EMBRAPA. **52º Curso sobre cultivo de cogumelos ensina a produzir em ambiente agroflorestal**. Abril, 2019. Disponível em: > <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/42679882/52-curso-sobre-cultivo-de-cogumelos-ensina-a-produzir-em-ambiente-agroflorestal>< Acesso em: 26 abr. 2021.

ESPOSITO, E; AZEVEDO, J. L de. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2 ed. Caxias do Sul: Educs, 2010.

FERREIRA, D. F. **SISVAR: a computer statistical analysis system**. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, D. G; ALMEIDA NETO, O. B de; ASSUNÇÃO, L. S de. Proposta metodológica para o cultivo de cogumelos *Agaricus blazei* pela técnica jun cao em diferentes tiposde substratos. **Caderno de Propriedade Intelectual e Transferência de Tecnologia**, v.2, n.2, p.11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21166/cpitt.v2i2.2055>.

FERREIRA, I. I. da S. **Avaliação do ciclo de vida de cogumelos nativos: Comparação entre sistemas de produção abertos e fechados**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal) – Faculdade de Ciências e tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014.

- FIGUEIRÓ, G.G.; GRACIOLLI, L.A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.
- FRANCK, J.A. **Macrofungos saprofíticos comestíveis da mata atlântica catarinense e aspectos relacionados à produção comercial de cogumelos**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), 2019.
- FRINGS, R. A. *et al.* Multilocus phylogeny - and fruiting feature-assisted delimitation of European *Cyclocybe aegerita* from a new Asian species complex and related specie. **Mycological Progress**, v. 19, p.1001–1016, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01599-zM>.
- FURLANI, R.P.Z.; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciência e tecnologia dos alimentos**. Campinas, v.27, n.1, p 154-157, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100027>.
- GOWDA, N; MANVI, D. Agro-residues disinfection methods for mushroom cultivation: A review. **Agricultural Reviews**, v. 40, n. 2, p. 93-103, 2019. doi 10.18805/ag.R-1735.
- HERZOG, R *et al.* Dikaryotic fruiting body development in a single dikaryon of *Agrocybe aegerita* and the spectrum of monokaryotic fruiting types in its monokaryotic progeny. **Mycological Progress**, v.15, p.947-957, 2016. DOI:10.1007/s11557-016-1221-9.
- HERZOG, R *et al.* Exploring molecular tools for transformation and gene expression. in the cultivated edible mushroom *Agrocybe aegerita*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 97, p. 663-677, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01599-z>.
- ISIKHUEMHEN, O. S; MIKIASHUILI, N. A.; KELKAR, V. Application of solid waste from anaerobic digestion of poultry litter in *Agrocybe aegerita* cultivation: mushroom production, lignocellulolytic enzymes activity and substrate utilization. **Biodegradation**, v.20, p. 351-361, 2009. DOI 10.1007/s10532-008-9226-y.
- JASIŃSKA, A; SIWULSKI, M; SOBIERALSKA, K. Mycelium growth and yielding of black poplar mushroom- *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. on different substrates. **Journal of Agricultural Science and Technology A**, v. 2, n. 9, p. 1040-1047, 2012. ISSN 1939-1250.
- JING, H *et al.* Polysaccharides with Antioxidative and Antiaging Activities from Enzymatic-Extractable Mycelium by *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, China, v. 2018, p.11, 2018. ID: 1584647 DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/1584647>.
- KARRER, D; KÜHL, M. A new lipoxygenase from the agaric fungus *Agrocybe aegerita*: Biochemical characterization and kinetic properties. **Plos One**, v. 14, n.6, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218625>.
- KLEOFAS, V *et al.* Fruiting body production and aroma profile analysis of *Agrocybe aegerita* cultivated on different substrates. **Natural Resources**, v.5, p.233-240, 2014. DOI: 10.4236/nr.2014.56022.

KOUTROTSIOS, G *et al.* Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi – Assessment of their effect on the final product and spent substrate Properties. **Food Chemistry**, Grécia, v. 161, p. 127–135, 2014. DOI, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>.

LANDI, N *et al.* Pioppino mushroom in southern Italy: an undervalued source of nutrients and bioactive compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.97, n.15, p. 5388-5397, 2017. ISSN:1097-0010. DOI 10.1002/jsfa.8428.

LANDI, N *et al.* Pioppino mushroom in southern Italy: an undervalued source of nutrients and bioactive compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.97, n.15, p. 5388-5397, 2017a. ISSN:1097-0010. DOI 10.1002/jsfa.8428.

LANDI, N *et al.* Purification, characterization and cytotoxicity assessment of Ageritin: The first ribotoxin from the Basidiomycete mushroom *Agrocybe aegerita*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects**, v.1861, n.5, p.1113-1121, 2017b. DOI:10.1016/j.bbagen.2017.02.023.

LANDING, H. R. R *et al.* Optimization of Culture Conditions for Mycelial Growth and Basidiocarp Production of *Cyclocybe cylindracea* (Maire), **CLSU International Journal of Science & Technology**, v. 4, n. 1, p. 1-17, 2020. DOI:10.22137/ijst.2020.v4n1.01.

LI, G *et al.* A novel serine protease with anticoagulant and fibrinolytic activities from the fruiting bodies of mushroom *Agrocybe aegerita*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.168, p.631-639, 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.118.

LUNARDI, Juliano Severo. **Cultivo de *pleurotus ostreatus* utilizando bagaço de malte, serragem e casca de arroz**. Monografia (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

MACHADO, Ana Rita Gaia. **Desenvolvimento de produto alimentício inovador a base de cogumelo e tubérculos tropicais**. 2017. 30 p. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal) – Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2017.

MACHADO, Antony Enis Virgínio. **Cultivo integrado do cogumelo *Pleurotus ostreatus* e tomate (*Solanum lycopersicum*)**. Embrapa Agroenergia. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins (UFT), 2019.

MARTINS, O.G. Substrato exaurido de cogumelo para produção de mudas florestais. Tese (Doutorado em Agronomia – Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2022.

MARTOS, E. T; HECK, K. Inoculação de substrato colonizado como alternativa aos pequenos produtores de cogumelos comestíveis no Brasil. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 6, n. 1, p. 62-68, 2021.

MORAIS, K. S.. **Subprodutos da agroindústria do óleo de palma (dendê): Produção de cogumelos comestíveis e insumos para ração de peixes**. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia, 2016.

MORCELI, G. **Otimização do processo de produção de inóculo no cultivo do cogumelo *Agaricus subrufescens***. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônômica) – Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual de São Paulo, Dracena, 2021.

MOTOSHIMA, R. A *et al.* Inhibition of *Leishmania amazonensis* arginase by fucogalactan isolated from *Agrocybe aegerita* mushroom. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p. 532-538, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.109>.

NIVEIRO, N; UHART, M; ALBERTÓ, E. Revision of the genera *Agrocybe* and *Cyclocybe* (Strophariaceae, Agaricales, Basidiomycota) in Argentina. **Rodriguésia**, v. 71, 2020. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202071038>.

OLIVEIRA, C.C. **Produção de cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2018.

PETROVIČ *et al.* Nutritional value, Chemical composition, antioxidante activity and enrichment of cream cheese with chestnut mushroom *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. **Journal Science Technology**, v.52, n.10, p.6711-6718, 2015. DOI 10.1007/s13197-015-1783-6.

PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 191-200, 2001.

RODRIGUES, G. M; OKURA, Mônica Hitomi. Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p.9, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i8.30830>.

ROYSE, D. J. Influence of spawn rate and commercial delayed release nutrient levels on *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) yield, size, and time to production. **Applied and Microbiology Biotechnology**, v.58, p. 527–531, 2002. DOI 10.1007/s00253-001-0915-2.

ROYSE, D. J; BAARS, J; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. **In Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. Ed. by Zied, D. C. & Pardo-Gimenez, A. Wiley-Blackwell, West Sussex, England, p. 5–13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119149446.ch2>.

ROYSE, D. J; BAARS, J; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. **In Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. Ed. by Zied, D. C. & Pardo-Gimenez, A. Wiley-Blackwell, West Sussex, England, p. 5–13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119149446.ch2>.

SÁNCHEZ, J. E; ZIED, D. C, ALBERTÓ, E. Edible mushroom production in the Americas. **In 9th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products WSMBMP**, Shanghai, China, p. 2–11, 2018. **Scientific Journal**, v. 6, n. 1, p. 62-68, 2021. DOI:<http://dx.doi.org/10.5380/biofix.v6i1.76932>.

SILVA, A. S. C. **Parâmetros industriais para produção de *Pleurotus ostreatus***. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita” Instituto de Biociências, Rio Claro, 2016. 137 p.

SILVA, M. M. **Cultivo de cogumelos comestíveis pela técnica Jun-cao**. Monografia (Especialista em Microbiologia) - Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SILVA, N. G. **Estudo da capacidade antioxidante de cogumelos comestíveis**. 2015. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015. 90 p.

SILVA, S. de S; BALIONI, L. F. Estudo comparativo sobre a produção de *Pleurotus ostreatus* cultivado em substratos de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim elefante (*Pennisetum purpureum*), folhas de bananeira (*Musa spp.*) e milho (*Zea mays*). **Caderno de Pesquisa**, Santa Cruz do Sul, v. 32, n. 1, p. 29-38, 2020. DOI: 10.17058/cp.v32i1.15172.

SILVEIRA, C. M; FURLONG, E. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Food Science and Technology**, v. 27, n.4, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000400021>.

SIQUEIRA, F. G *et al.* Cultivation of *Pleurotus* mushrooms in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n.53, p. 11630-11635, 2012. DOI:10.5897//AJB12.451.

SONG, R. *et al.* The optimization of production and characterization of antioxidant peptides from protein hydrolysates of *Agrocybe aegerita*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 134, p.7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109987>.

TAYYROV, A *et al.* Heterologous Production and Functional Characterization of Ageritin, a Novel Type of Ribotoxin Highly Expressed during Fruiting of the Edible Mushroom. *Agrocybe aegerita*. **Applied environmental Microbiology**, v. 85, n. 21, p.15, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01549-19>.

UHART, M; PISCERA, J. M; ALBERTÓ, E. Utilization of new naturally occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.35, p.595-602, 2008. DOI 10.1007/s10295-008-0321-1.

URBEN, A. F. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada: biotecnologia e aplicações na agricultura e na saúde**. 3ª edição. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017.

VIEIRA JÚNIOR, W. G. Influence strains and environmental cultivation conditions on the bioconversion of ergosterol and vitamin D₂ in the sun mushroom. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.102, n.4, p.1699-1706, 2021. Published online in Wiley Online Library. DOI: 10.1002/jsfa.11510.

ZADRAZIL, F. Cultivation of *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. on lignocellulose containing waster. **Mushroom Information**, v.92, p. 5-22, 1994.

ZHANG *et al.* *Agrocybe aegerita* servers as a gateway for identifying sesquiterpene biosynthetic enzymes in higher fungi. **Asc Chemycal Biology**, v.15. n.5, p. 1268-1277. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acsembio.0c00155>.

ZIED, D. C *et al.* Influence of the production environment on the cultivation of lettuce and arugula with spent mushroom substrate. **Journal Environ Management**, v.281: 111799. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111799