

Crescimento micelial de *Agaricus bisporus* em meios de cultivo e substratos alternativos

Minotto, Elisandra^{1,5}; Eduardo Bernardi²; Caroline Neugebauer Wille³; José Soares do Nascimento⁴

¹Programa Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brasil; ²Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas; ³Programa Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brasil; ⁴Departamento de Fisiologia e Patologia, CCS/Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, Brasil; ⁵elisminotto@gmail.com

Minotto, Elisandra; Eduardo Bernardi; Caroline Neugebauer Wille; José Soares do Nascimento (2014) Crescimento micelial de *Agaricus bisporus* em meios de cultivo e substratos alternativos. Rev. Fac. Agron. Vol 113 (1): 66-72.

O cultivo de *Agaricus bisporus*, tem sido realizado a partir de uma mistura de substratos celulósicos compostados e pasteurizados. A formulação dos substratos destinados à produção deste macrofungo é um fator determinante na otimização da colonização do substrato e na produtividade de *Agaricus* spp. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento de *A. bisporus* em meios de cultivo e substratos constituídos de casca de amendoim, casca de mamona, casca de soja, folhas de milho e substrato compostado, suplementados com farelos de soja e de trigo em diferentes concentrações. O ensaio I constituiu-se na formulação de meios de cultura à base de substrato compostado, casca de amendoim, casca de mamona, casca de soja e folha de milho adicionados de diferentes concentrações (0, 10% e 20%) de farelos de soja e de trigo. Os mesmos foram vertidos em placas de Petri, repicados com um disco de micélio de *A. bisporus* (ABI01/09) e incubados a 25±1°C. O ensaio II consistiu na utilização dos mesmos substratos empregados no ensaio anteriormente descrito, assim como a suplementação com farelos. Para tanto, os substratos foram umedecidos por 24 horas, acondicionados em tubos de ensaio, repicados com um disco de micélio de *A. bisporus* (ABI01/09) e incubados a 25±1°C. Entre os meios de cultura testados o meio à base de substrato compostado proporcionou o maior crescimento e biomassa fúngica de *A. bisporus* com adição de 10% de farelo de soja. Além disso, o micélio de *A. bisporus* colonizou mais rapidamente os substratos sem a adição de farelos.

Palavras-chave: Champignon, Biomassa fúngica, Suplementação, Taxa de crescimento

Minotto, Elisandra; Eduardo Bernardi; Caroline Neugebauer Wille; José Soares do Nascimento (2014) Mycelial growth of *Agaricus bisporus* in culture media and alternative substrates. Rev. Fac. Agron. Vol 113 (1): 66-72.

The cultivation of *Agaricus bisporus* mushroom, has been made from a mixture of cellulosic composted and pasteurized substrates. The substrate formulation destined to macrofungi production is a determining factor on optimization of the substrate colonization and productivity of *Agaricus* sp. This work aimed to evaluate the mycelium growth of *A. bisporus* in culture media and substrates composed of peanut hulls, castor hulls, soybean hulls, maize leaves and composted substrate supplemented with different concentrations of soybean and wheat bran. In the assay I, different concentrations (0,10 e 20%) of soybean and wheat bran were added on culture media based on composted substrate, peanut hulls, castor hulls, soybean hulls and maize leaves. They were poured into Petri dishes, pricked out with a mycelium disc of *A. bisporus* (ABI01/09) and incubated at 25±1°C. The assay II consisted of the use of the same substrates applied in the assay I, as well as bran supplementation. For this purpose, the substrates were soaked for 24 hours, placed into test tubes, pricked out with a mycelium disc of *A. bisporus* (ABI01/09) and incubated at 25±1°C. Of all culture media tested, the medium based on composted substrate provided the highest growth and fungal biomass of *A. bisporus* with 10% soybean bran addition. In addition, *A. bisporus* mycelium colonized more quickly the substrates without bran addition.

Key words: Champignon, Fungal biomass, Supplementation, Growth rate

Recibido: 13/08/2013

Aceptado: 28/05/2014

Disponível on line: 01/07/2014

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUÇÃO

O cultivo de cogumelos é mundialmente dominado pela produção de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, popularmente conhecido como “cogumelo branco”, “champingnon de Paris” ou “cogumelo do botão branco”. Esta foi a primeira espécie comercialmente cultivada no Brasil, introduzida em 1953 devido à crise avícola (Molena, 1980). Desde então, o cultivo de cogumelos comestíveis no país expandiu significativamente devido ao seu alto valor nutricional (rico em proteínas e carboidratos) e baixo conteúdo lipídico, além das propriedades com efeito protetor, imunomodulatório e antioxidante, que enquadra-os como alimentos nutracêuticos.

O substrato para o cultivo comercial de *A. bisporus* pode ser preparado a partir de uma mistura de materiais orgânicos sujeitos ao processo de compostagem para torná-lo apropriado ao seu crescimento (Colak, 2004). A composição e as características do substrato compostado dependem da qualidade e do tipo das matérias-primas utilizadas. Uma ampla variedade de resíduos agroindustriais, como, palhas de cereais (arroz, trigo, aveia e cevada, capim), subprodutos (bagaço de cana), esterco de cavalo, de galinha são os componentes mais utilizados como fontes de substratos (Chang & Buswell 1996; Chang & Miles, 2004; Minhoni et al., 2005; Andrade et al., 2008). A formulação do composto é um fator determinante na produtividade e na composição nutricional de *Agaricus* spp. Enquanto que o adequado processo de compostagem, a otimização da colonização e da frutificação do cogumelo são determinados pela manutenção do equilíbrio entre os nutrientes, especialmente regulados pela proporção entre o carbono e o nitrogênio (Andrade et al., 2008).

Muitos basidiomicetos se desenvolvem em meios simples, que tenham disponibilidade de carbono assimilável, nitrogênio, fontes de fósforo e sais minerais necessários (Silva, 2004). No entanto, alguns cogumelos são mais exigentes em relação ao substrato e, substratos pobres nutricionalmente necessitam de suplementação com materiais enriquecidos, como farelos. Farelos de arroz e soja são fontes de nutrientes utilizadas como suplemento, pois estimulam o crescimento micelial de diversas espécies de cogumelo (Rossi et al., 2001). A suplementação de substratos com farelos de trigo e o de milho são comuns no cultivo de *P. ostreatus* (Wang et al., 2001).

O preparo do substrato empregado para a cultura de *A. bisporus* é o mais complexo utilizado na produção de cogumelos comestíveis. O composto é preparado em duas etapas que envolve o processo de compostagem e pasteurização do substrato, apresentando assim algumas desvantagens como: maior custo de implementação, tempo e espaço necessários para a cultura (Sánchez, 2004). Devido a isto, estudos empregando substratos não compostados para a produção de *A. bisporus* tem sido realizados nos últimos anos (Sánchez & Royse, 2001; Sassine et al., 2005; Royse et al., 2008).

A adaptação de linhagens de *Agaricus* sp. a novos resíduos possibilitará um maior conhecimento sobre suas exigências de cultivo, proporcionando o estabelecimento de novas técnicas. Assim, este

trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento de *A. bisporus* em meios de cultivo e substratos constituídos de casca de amendoim, casca de mamona, casca de soja, folhas de milho e substrato compostado para cogumelo, suplementados com farelos de soja e de trigo em diferentes concentrações.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório Experimental de Micologia (LEMICO) do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brasil. O material biológico utilizado nestes ensaios foi oriundo de culturas de cogumelos da espécie *A. bisporus* linhagem ABI01/09, depositados na coleção LEMICO/UFPel/RS/Brasil, preservadas em óleo mineral.

Crescimento do micélio fúngico sobre diferentes meios de cultura

Para a realização dos testes de crescimento micelial *in vitro*, foram utilizados cinco substratos distintos, sendo eles: substrato compostado utilizado na produção comercial do cogumelo, casca de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), casca de mamona (*Ricinus communis* L.), folhas de milho (*Zea mays* L.) casca de soja (*Glycine max* (L.) Merr.), suplementados com farelo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.), ou farelo de trigo (*Triticum aestivum* L.) em diferentes concentrações. Os meios de cultivo foram preparados de acordo com Donini et al. (2006b). Os mesmos foram vertidos em placas de Petri descartáveis (90 x 15 mm), repicados com discos de cultura (10 mm) de *A. bisporus* linhagem ABI01/09, previamente ambientados aos respectivos meios.

As mensurações do crescimento radial do micélio fúngico foram realizadas a cada 48 horas, em oito direções. A partir de 48 horas após a incubação, até a completa colonização do meio em uma das repetições, fato que ocorreu após 16 dias de incubação. Após a última avaliação do crescimento, o meio de cultura foi dissolvido em água destilada fervente (500 mL). A biomassa fúngica úmida (Mmu) foi recolhida com uma alça de platina, depositada em papel manteiga (4x4 cm) previamente pesado, e seco em estufa a 45°C por 48 horas, para a obtenção da biomassa fúngica seca (Mms). Através da subtração da umidade obteve-se a biomassa micelial para cada tipo de meio de cultivo utilizado sob os diferentes tratamentos.

Colonização do substrato

O teste de colonização de substrato *in vitro*, constituiu-se dos mesmos substratos empregados no ensaio anteriormente descrito, assim como a suplementação com farelos. Os substratos secos foram previamente umedecidos por 24 horas, posteriormente, a água foi escorrida e os mesmos suplementados com os farelos de trigo e de soja nas concentrações de 0-10-20%, em relação à massa úmida dos substratos. Os substratos foram preparados de acordo com Minotto et al. (2008) e, posteriormente, um disco de cultura (10 mm) de *A. bisporus* (ABI01/09), foi transferido individualmente para tubos de ensaio contendo o substrato. Os tubos foram fechados com papel alumínio e incubados a

25±1°C. Avaliações do crescimento micelial foram realizadas em quatro direções paralelas, a cada 48 horas, até os 36 dias de incubação. Foram realizadas oito leituras ao longo do experimento iniciando a partir do quinto dia.

O delineamento experimental para os dois ensaios foi inteiramente casualizado, compreendendo 5 tratamentos. A unidade experimental constou de uma placa/tubo, respectivamente, sendo cinco repetições/tratamento. As variáveis analisadas no primeiro ensaio foram: biomassa fúngica e crescimento radial da colônia e, para o segundo ensaio foi à velocidade de crescimento do micélio no substrato. Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variância e ao teste de Duncan ($\alpha=0,05$) para comparação das médias, utilizando-se o programa estatístico SANEST (Zonta & Sanest Machado, 1984).

RESULTADOS

Crescimento do micélio fúngico sobre diferentes meios de cultura

A completa colonização do meio de cultura em um dos tratamentos ocorreu após 16 dias de incubação, para o tratamento casca de amendoim adicionado de 20% de

farelo de trigo. De acordo com os dados mostrados na tabela 1, a adição de farelo de soja nas duas concentrações apresentou as maiores médias de biomassa micelial para a maioria dos substratos estudados. A exceção foi o substrato compostado e a casca de mamona adicionados com 20% de farelo de soja, pois nesses tratamentos as médias de biomassa fúngica apresentaram-se inferiores as observadas com a adição de 10% do mesmo farelo. A casca de amendoim na concentração 20% de farelo de trigo também obteve média elevada de massa micelial, não diferindo significativamente da suplementação com 10 e 20% de farelo de soja (Tabela 1). Os substratos sem suplementação apresentaram média de crescimento inferior aos tratamentos que receberam a adição de farelos.

A análise dos dados do crescimento micelial de *A. bisporus*, através do teste de Duncan, demonstrou que a adição de 20% de farelo de trigo ao substrato propiciou aumento significativo do crescimento do micélio fúngico para os meios de cultura constituídos de casca de amendoim, de mamona e de soja (Tabela 2). Por outro lado, os meios de cultivo elaborados a partir da casca de soja e folhas de milho apresentaram as menores médias de crescimento micelial quando suplementados com 10% de farelo de trigo e de soja, respectivamente.

Tabela 1: Biomassa fúngica (g) de *A. bisporus* (ABI01/09), cultivado em meios à base de diferentes substratos suplementados com farelos de soja e de trigo nas concentrações 0-10-20%, após 16 dias de incubação a 25±1°C. Médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$).

Meio de cultura	Biomassa fúngica (mg)				
	0%	10% soja	10% trigo	20% soja	20% trigo
Composto	29,0 ±1,0c	141,0 ± 4,0 a	61,2 ±2,5b	66,2 ±3,6 b	55,0 ±4,3 bc
Casca amendoim	3,0 ±0,5c	70,0 ± 3,0 a	31,0 ±2,7bc	60,4 ±2,8 ab	78,6 ±3,8a
Casca de mamona	15,8 ±2,0 d	43,8 ±2,0 a	37,0 ±1,9ab	33,4 ±2,2bc	24,4 ± 2,9cd
Folhas de milho	20,6 ±3,2c	50,0 ±1,5 ab	38,2±3,2 bc	69,6 ±3,7a	31,2 ± 3,0 bc
Casca de soja	25,0 ±2,4c	76,8 ±3,0 ab	50,2 ±4,1bc	85,4 ±3,4 a	51,4 ±2,8bc

Tabela 2: Crescimento micelial (cm) de *A. bisporus* (ABI01/09), cultivado em meios à base de diferentes substratos suplementados com farelos de soja e de trigo nas concentrações 0-10-20%, após 16 dias de incubação a 25±1°C. Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$).

Meio de cultura	Crescimento micelial (cm)				
	0%	10% soja	10% trigo	20% soja	20% trigo
Substrato compostado	4,07 ±0,6 cd	6,07 ±0,4a	5,46 ±0,8 ab	3,68 ±0,2 d	4,87 ±0,2 bc
Casca amendoim	1,82 ±0,4 d	4,48 ±0,3 b	4,06 ±0,2 bc	3,61 ±0,2 c	5,59 ±0,3 a
Casca de mamona	2,42 ±0,2 c	2,88 ±0,4 c	3,80 ± 0,4 b	2,46 ±0,4 c	4,31 ±0,3 a
Folhas de milho	2,77 ±0,3 b	2,88 ±0,6b	4,01 ±0,4a	3,82 ±0,3 a	3,30 ±0,2 ab
Casca de soja	3,61 ±0,2 ab	3,96 ±0,5a	3,18 ±0,6 b	4,11 ±0,5 a	4,04 ±0,6 a

Colonização do substrato

O micélio fungico de *A. bisporus* colonizou de maneira mais eficiente os substratos compostado sem a adição de farelos (13,37 cm), bem como, os substratos casca de amendoim e folhas de milho adicionado de 10% de farelo de soja ou trigo (cerca de 3,0 cm) (Tabela 3). Enquanto que, a suplementação do substrato compostado e da casca de mamona com diferentes concentrações dos dois farelos, não propiciou a colonização do mesmo pelo fungo. Fato este que pode ser observado através da comparação das médias de crescimento micelial, mostrados na tabela 3.

Nos tratamentos formulados com substrato a base de casca de soja não se observou crescimento do micélio do cogumelo. A ausência de crescimento também foi verificada na concentração mais elevada (20%) para os dois farelos, quando estes foram adicionados aos substratos casca de amendoim, casca de mamona e folha de milho (Tabela 3).

Os dados referentes à taxa crescimento micelial diário de *A. bisporus* foram ajustados a um modelo linear e, são apresentados na figura 1. A maior taxa de crescimento do micélio fúngico foi observado no substrato compostado quando comparado aos demais substratos e suplementações. Após o 9º dia de incubação, o crescimento diário do micélio fúngico do isolado ABI01/09 mostrou-se superior nos tratamentos sem adição de farelos quando comparados aos tratamentos suplementados. Essa condição foi mantida, especialmente, no substrato compostado e na casca de mamona durante todo período de avaliação (36 dias). Nos substratos casca de amendoim e folha de milho a média de crescimento diário do micélio do champignon foi semelhante para os três tratamentos avaliados, ou seja, a adição dos farelos de soja e de trigo na concentração 10% não diferiu nos tratamentos sem suplementação.

Tabela 3: Crescimento micelial (cm) de *A. bisporus* (ABI01/09), em diferentes substratos suplementados com farelos de soja e de trigo nas concentrações 0-10-20%, após 15 dias de incubação a $25\pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($\alpha = 0,05$).

Substrato	Crescimento micelial (cm)				
	0%	10% soja	10% trigo	20% soja	20% trigo
Composto	13,37±0,5 a	9,98 ±0,2 b	8,22 ±0,3 c	6,83 ±0,4 d	7,45 ±0,3 cd
Casca de amendoim	3,56 ±0,2 a	3,32 ±0,3 a	3,15 ±0,2 a	0,0 b	0,0 b
Casca de mamona	2,15 ±0,2 a	1,03 ±0,1 c	1,37 ±0,1 b	0,0 d	0,0 d
Folhas de milho	3,32 ±0,4a	3,32 ±0,2 a	3,01 ±0,2 a	0,0 b	0,0 b

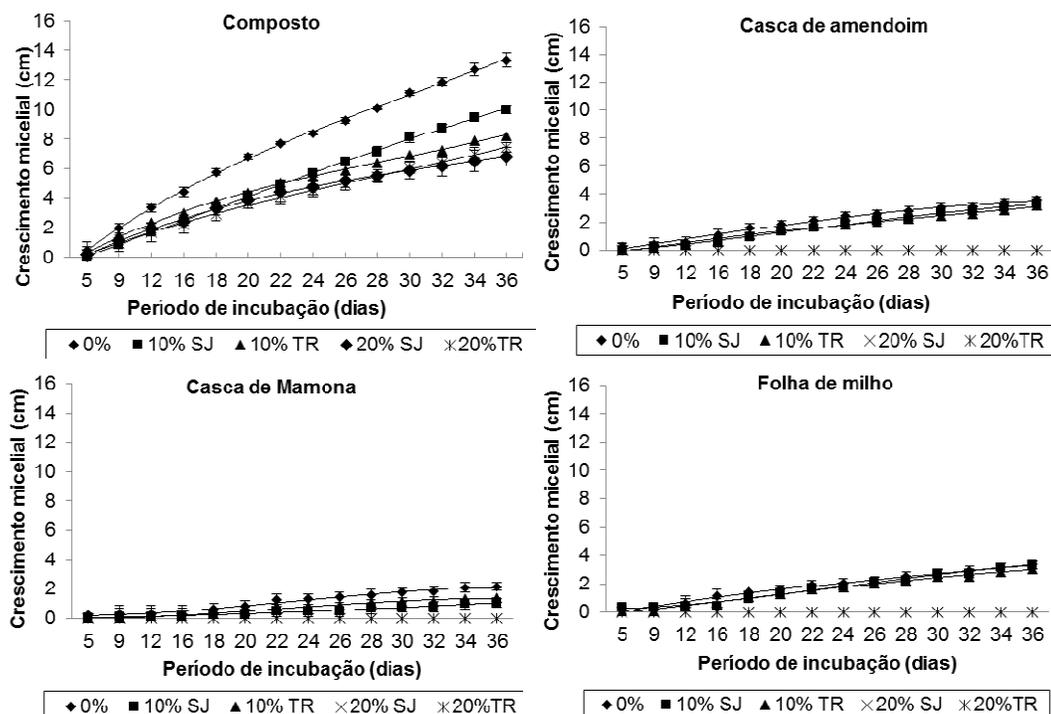


Figura 1: Taxa de crescimento micelial ($\text{cm}\cdot\text{dia}^{-1}$) de *A. bisporus* (ABI01/09), em diferentes substratos suplementados com farelos de soja e de trigo nas concentrações 0-10-20%, após 36 dias de incubação a $25\pm 1^\circ\text{C}$.

DISCUSSÃO

O micélio dos cogumelos comestíveis depende de vários aspectos para atingir níveis satisfatórios de colonização, como por exemplo, composição do meio de cultivo e de substratos, sendo que a qualidade do micélio pode ser evidenciada através do crescimento homogêneo do fungo. Segundo Royse (2002), é necessário também levar em consideração o potencial genético de cada espécie, linhagem, qualidade nutricional, fatores ambientais e estrutura do substrato. No presente trabalho, o crescimento do micélio fúngico de *A. bisporus* foi mais eficiente em colonizar meios de cultivos ou substratos constituídos de substrato compostado. No entanto, com a adição de farelo de soja ou de trigo nos demais meios de cultivo, especialmente a casca de amendoim, obteve-se médias de crescimento semelhantes aos do substrato compostado. Resultados estes, não observados para o crescimento micelial nos substratos esterilizados, no qual o *Agaricus bisporus* apresentou as maiores médias de crescimento (entre 6,8 e 13,37 cm) nos tratamentos constituídos de substrato compostado.

Como observado na tabela 1, a suplementação dos meios de cultivo de *A. bisporus* principalmente com farelo de soja estimula uma maior produção de biomassa. Isso provavelmente se deve à elevada fonte de carbono e nitrogênio facilmente assimilada por este fungo, que está disponível no meio de cultivo. O mesmo não ocorreu com o crescimento micelial, pois a maioria dos tratamentos apresentou maior crescimento quando suplementados com farelo de trigo (tabela 2).

O maior crescimento da biomassa fúngica com a adição de farelo de soja pode estar relacionada à fonte de carbono fornecida e a habilidade de assimilação destes carboidratos por *A. bisporus*. Bernardi et al. (2008), observaram que os meios à base de batata e de substrato compostado, ambos adicionados de dextrose, promoveram maior biomassa para duas linhagens de *A. brasiliensis* (ABL97/11 e ABL97/30). De acordo com Donini et al. (2006a) a adição dos farelos de trigo e de milho ao meio de cultivo para *A. brasiliensis* não influenciou no aumento da biomassa micelial. Liu e Wang (2009) sugeriram que uma combinação de glicose, extrato de levedura, extrato de farinha de milho e extrato de farelo de trigo tem efeitos complementares, tanto na promoção da biomassa quanto para polissacarídeo intracelular em estudo com *A. brasiliensis*.

As diferenças de crescimento e biomassa micelial observados nesse trabalho (tabela 2), também foram observados por Bilay et al. (2000). Os mesmos relataram elevada discrepância na biomassa e no crescimento do micélio das mais de 30 espécies de cogumelos comestíveis e medicinais avaliadas quando esses foram submetidos a diferentes meios de cultivo. Assi et al. (2010) avaliando o desenvolvimento micelial de *P. sajor-caju*, *A. brasiliensis* e *L. edodes* em substratos alternativos, observaram que os meios à base de casquinha, fécula e entrecasca/fibra da indústria de mandioca foram os que mais estimularam o crescimento destes fungos (30 à 60%). Os tratamentos com pó de eucalipto e pó de pinus reduziram o crescimento em 36 e 50%, respectivamente.

O emprego da suplementação dos substratos com diversos tipos de farelos (trigo, soja, milho, aveia) tem o intuito de otimizar a fase inicial do crescimento fúngico e atender as necessidades nutricionais do micélio para que este cresça de forma satisfatória. No entanto, os farelos podem diferir em relação à quantidade de carbono e nitrogênio. Liu e Wang (2009) observaram que para o crescimento micelial de *A. brasiliensis* a farinha de milho e extratos de farelo de arroz podem ser utilizados como fontes de carbono porque suas frações de massa total do açúcar são 78,2 e 67,8%, respectivamente. Além disso, o farelo de trigo e extratos de soja em pó pode ser usado como fonte de nitrogênio, devido às suas elevadas frações de proteína bruta. De acordo com Eira e Minhoni (1997) entre as duas fontes utilizadas neste experimento, o farelo de soja é rico em nitrogênio e o de trigo é considerado pobre, podendo apresentar 7,38 e 1,57% de N, respectivamente. Isto se confirmou no presente experimento, pois dependendo do substrato, foi necessário 10% de farelo de soja ou 20% de farelo de trigo, além disso, nenhum deles foi significativo na ausência de farelos. Cruz et al. (1999), observaram que a utilização de concentrações altas de farelo de aveia proporcionou redução indesejável da taxa de crescimento. Contudo não há concordância entre os autores citados quanto os níveis ideais desses suplementos, tanto que alguns experimentos indicam que há estímulo no crescimento, enquanto outros apontam inibição.

De acordo com o exposto na tabela 3 é possível observar que o crescimento do micélio do cogumelo no substrato compostado apresentou as maiores médias de crescimento (6,8-13,37cm), independentemente do tratamento, em relação aos demais substratos. Isso se deve provavelmente a uma melhor adaptação do fungo ao substrato compostado. Andrade et al. (2008) testando três formulações de composto com palhas de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (cultivares Coast-cross e Tyfton) e Aveia- *Avena sativa*, no cultivo das linhagens de *A. bisporus*, verificaram que a produção de cogumelos foi influenciada pela linhagem e/ou pelo tipo de composto.

O crescimento *in vitro* de *A. bisporus* em substratos não utilizados convencionalmente no cultivo comercial de cogumelos e sem a utilização do processo de compostagem, observados no presente trabalho, demonstra o potencial de utilização destes materiais, o que consequentemente reduziria os custos durante o processo. A busca de técnicas alternativas para o método tem sido almejada desde 1962, quando Till (1962) informou que era possível produzir *A. bisporus* em substrato não compostado esterilizado (121°C) à base de serragem. Sánchez e Royse (2001) relataram a formulação de substrato para *A. bisporus* a partir dos ingredientes utilizados para o cultivo de shiitake e sem compostagem. No qual, observaram o satisfatório desenvolvimento do micélio fúngico e eficiência biológica. Resultados semelhantes, utilizando substrato não compostado também foram observados Royse et al. (2008).

A velocidade de crescimento linear do micélio de *A. bisporus*, observada neste estudo, foi de 3,7 mm.dia⁻¹ no substrato compostado sem suplementação e inferior a 0,9 mm.dia⁻¹ nos demais substratos. Resultado este,

inferior ao observado por Sánchez e Royse (2001) que relataram uma taxa de crescimento linear de 6,18mm/dia no composto padrão de fase I e 2,91 e 3,22 mm.dia⁻¹ nos tratamentos contendo uma mistura de resíduos de algodão (casca e caroço) e serragem, respectivamente. Royse e Vázquez (2001) constataram, ainda, médias de crescimento micelial iguais no substrato padrão e nos substratos suplementados com farelo de soja e de trigo. Porém averiguaram que o substrato padrão apresentava micélio fino e disperso enquanto que nos tratamentos com suplementação observou-se micélio mais branco e mais denso. Fato este, também observado neste estudo (dados não mostrados).

O cultivo *in vitro* busca elucidar as condições ótimas de crescimento do fungo, em relação a meios e substratos de cultivo, temperatura e tempo de incubação (Hatvani, 2001). Sendo assim, provavelmente a redução e até mesmo a inibição do crescimento micelial em determinados substratos, observados neste trabalho, se deve ao inadequado equilíbrio de fatores essenciais para o desenvolvimento ótimo deste microrganismo, tais como: aeração, umidade, concentração das fontes de carbono e nitrogênio, entre outros. No entanto, não deve ser descartada a possibilidade de utilização desses resíduos agroindustriais para o cultivo de *A. bisporus*, já que o seu crescimento em meios de cultura foi promissor. Deve-se, no entanto, estudar a elaboração de misturas destes substratos, buscando um balanceamento de todos os constituintes, pois segundo Marino (1997) os microrganismos se adaptam aos meios de cultivo em função da disponibilidade de nutrientes e do potencial genético. Dessa forma, uma colonização adequada do meio de cultura exerce fundamental importância na obtenção da massa e crescimento micelial, o que pode influenciar indiretamente a formação de basidiomas e evitar que possíveis fungos competidores se desenvolvam.

CONCLUSÃO

Neste estudo, obtivemos resultados satisfatórios de produção de biomassa e crescimento micelial de *Agaricus bisporus* em meios à base de substratos alternativos suplementados com farelo de soja e de trigo, quando comparados ao substrato compostado. O mesmo não foi observado para o crescimento do micélio nos substratos não compostados, o qual foi reduzido ou mesmo inibido em determinados tratamentos. Entretanto, a realização deste trabalho amplia a gama de materiais que podem vir a ser utilizados na produção de *A. bisporus* em diferentes formulações. Para que isso seja viável é necessário que o verdadeiro potencial de produção de basidiocarpos seja elucidado.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior, pela concessão de subsídios para o desenvolvimento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Andrade, M.C.N., D.C. Zied, M.T.A. Minhoni & J. Kopytoski Filho.** 2008. Yield of four *Agaricus bisporus* strains in three compost formulations and chemical composition analyses of the mushrooms. Brazilian Journal of Microbiology. 39 (3): 593-598.
- Assi, L., J.R. Stangarlin, A.L. Zanella, V. Carré, A. Becker, S.A.R.L. Shikida, & G. Franzener.** 2010. Desenvolvimento de substratos alternativos para o cultivo de cogumelos comestíveis e medicinal. Scientia Agraria Paranaensis. 6 :41-51.
- Bernardi, E., L.P. Donini, E. Minotto & J.S. Nascimento.** 2008. Diferentes meios de cultivo e condições de luz no crescimento e massa miceliana de *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. Arquivos do Instituto Biológico, 75 (3) :375-378.
- Bilay, V.T., E.F. Solomko & A.S. Buchalo.** 2000. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In.: Van Griensven, L.J.L.D. Science and cultivation of edible fungi. Rotterdam: Balkema, :779-782.
- Chang, S.T. & J.A. Buswell.** 1996. Mushroom nutraceuticals. World Journal of Microbiology & Biotechnology.12 (5) :473-476.
- Chang, S.T. & P.G. Miles.** 2004. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact, 2 ed., Flórida: CRC Press, 482 pp.
- Colak, M.** 2004. Temperature profiles of *Agaricus bisporus* in composting stages and effects of different composts formulas and casing materials on yield. African Journal of Biotechnology. 3 (9): 456-462.
- Cruz, O.S., G.S. Castaneda, J.L.P. Hach, M.G. Rojas & E.F. Torres.** 1999. Effect of substrate composition on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodologies. Process Biochemistry, 39: 127-133.
- Donini, L.P., E. Bernardi & J.S. Nascimento.** 2006a. Crescimento *in vitro* de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 41(6) :995-999.
- Donini, L.P., E. Bernardi, E. Minotto & J.S. Nascimento.** 2006b. Efeito da suplementação com farelos no crescimento *in vitro* de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante (*Pennisetum* spp.). Arquivos Instituto Biológico. 73 (3) :303-309.
- Eira, A.F. & M.T.A. Minhoni.** 1997. Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis. 2.ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 115pp.
- Liu G.Q. & X.L. Wang** 2009. Selection of a culture medium for reducing costs and enhancing biomass and intracellular polysaccharide production by *Agaricus brasiliensis* AB2003. Food Technology and Biotechnology. 47 (2) :210-214.
- Hatvani, N.** 2001 Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinula edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. International Journal of Antimicrobial Agents. 17 (1) :71-74.
- Marino, R.H.** 1997. Produtividade do *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. em função dos métodos de isolamento e produção de inoculantes. 134p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

- Molena, O.** 1980. Dificuldades na produção e na divulgação da cultura de cogumelo In: Encontro nacional sobre cogumelos comestíveis, 1.,1980, Mogi das Cruzes. *Anais...* Instituto de Botânica/ Mogi das Cruzes, p.25-33.
- Minhoni, M.T.A., J. Kopytowski Filho & M.C.N. Andrade,** 2005. Cultivo de *Agaricus brasiliensis* Murrill ss. Heinemann. 3.ed. Botucatu: FEPAF, 141pp.
- Minotto, E., E. Bernardi, L.P. Donini & J.S. Nascimento.** 2008. Crescimento miceliano *in vitro* de *Pleurotus ostreatoroseus* e colonização do substrato capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) suplementado com diferentes farelos. Arquivos do Instituto Biológico. 75 (3) :375-378.
- Rossi, I.H., A.C. Monteiro & J.O. Machado.** 2001. Crescimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 36 (6) :887-891
- Royse, D.J.** 2002. Influence of spawn rate and commercial delayed release nutrient levels on *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) yield, size, and time to production. Applied Microbiology and Biotechnology, 58 :527-531.
- Royse, D.J., J.E. Sanchez, R.B. Beelman & J. Davidson,** 2008. Re-supplementing and re-casing mushroom (*Agaricus bisporus*) compost for a second crop. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 24 :319–325.
- Royse, D. & J.E.S. Vázquez.** 2001. La importancia del cultivo de *Pleurotus spp.*- Estadísticas mundiales de producción, con énfasis en Hispanoamérica. In: Sánchez, J.E.; Royse, D. La Biología y el Cultivo de *Pleurotus spp.* México: UTEHA, p.19-26.
- Sánchez, J.E. & D.J. Royse.** 2001. Adapting substrate formulas used for shiitake for production of brown *Agaricus bisporus*. Bioresource Technology. 77 (1) :65-69.
- Sánchez, C.** 2004. Modern aspects of mushroom culture technology. Applied Microbiology and Biotechnology. 64 (6) :756-762.
- Sassine, Y. N., Y. Ghora, M. Kharrat, M. Bohme & A. M.R. Abdel-Mawgoud.** 2005. Waste paper as an alternative for casing soil in mushroom (*Agaricus bisporus*) production. Journal of Applied Sciences Research. 1(3) :277-284.
- Silva, S.M.** 2004. Formulação de meios de crescimento para o cultivo sólido de *Pleurotus sajor-caju*, à base de serragem de *Pinus spp.* Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, 95pp
- Till, O.** 1962. Champignonkultur auf sterilisiertem naehrsubstrat und die wiederverwendung von abgetragendem kompost. Mushroom Science. 5 (1) :127-133.
- Zonta, E.P. & A.A. Sanest Machado.** 1984. Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores (Software). Pelotas: Universidade Federal de Pelotas.
- Wang, D., A. Sakoda & M. Suzuki,** 2001. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresource Technology.* 78 :293-300.