



RAQUEL SANTOS AZEVEDO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA NO PROCESSO DA
COMPOSTAGEM NA PRODUÇÃO DO
COGUMELO *Agaricus brasiliense* E A
UTILIZAÇÃO DO COMPOSTO DE *Pleurotus sp.*
NA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO DE
FRANGO DE CORTE**

LAVRAS - MG

2014

RAQUEL SANTOS AZEVEDO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA NO
PROCESSO DA COMPOSTAGEM NA PRODUÇÃO DO COGUMELO
Agaricus brasiliense E A UTILIZAÇÃO DO COMPOSTO DE *Pleurotus sp.*
NA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO DE FRANGO DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Rosane Freitas Schwan

LAVRAS - MG

2004

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Vieira, Raquel Santos Azevedo.

Caracterização física e microbiológica do processo de compostagem do cogumelo *Agaricus blazei* e sua utilização em frangos de corte / Raquel Santos Azevedo Vieira. – Lavras : UFLA, 2014.

115 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Rosane Freitas Schwan.

Bibliografia.

1. Compostagem. 2. *Agaricus blazei*. 3. Nutrição. 4. Monogástricos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 576.163

RAQUEL SANTOS AZEVEDO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA NO
PROCESSO DA COMPOSTAGEM NA PRODUÇÃO DO COGUMELO
Agaricus brasiliense E A UTILIZAÇÃO DO COMPOSTO DE *Pleurotus sp.*
NA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO DE FRANGO DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 12 de março de 2004.

Dr. Antonio Gilberto Bertechini UFLA

Dr. Romildo da Silva UFLA

Dr. Eustáquio Souza Dias UFLA

Dr. Henrique César Pereira Figueiredo UFLA

Dra. Rosane Freitas Schwan
Orientadora

LAVRAS - MG

2004

Ao senhor Deus e ao grande autor dessa vitória alcançada e uma grande pessoa que foi todo o estímulo para ter chegado até aqui depois de tanta luta (meu pai Haroldo).

AOS MEUS PAIS,

OFEREÇO

A minha querida mãe Irene,
Aos meus irmãos Henrique e Iara,
Aos meus filhos Henrique, Daniel e Bernardo.
A minha grande companheira Vó Celeste,
A minha grande amiga Cláudia Braga,
Ao Breno pelo apoio e estímulo,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Estamos sempre agradecidos de tudo que nos ocorre, desde o momento em que se acorda, pois para existirmos necessitamos da presença de alguém. Ninguém vive no mundo sozinho, portanto fazer o melhor que pudermos para os outros como forma de agradecimento por algum dia alguém ter estendido a mão onde não se esperava existir ajuda. Isso é agradecimento!!!

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras-UFLA, pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Dra. Rosane Freitas Schwan pelos poucos 4 anos, mas muito representativos na base da confiabilidade, orientação, ensinamentos, conselhos, críticas e auxílios durante os anos experimentais e também pessoais, MUITO OBRIGADA!!!

Ao professor Antonio Gilberto Bertechini pela oportunidade de continuar na esperança dos estudos e nos ensinamentos a cada dia, desde a graduação.

Aos professores Eustáquio Souza Dias e Romildo da Silva pela orientação, sugestões e amizade durante todo trabalho.

Ao professor Henrique César Pereira Figueiredo pela disponibilidade e auxílio para a finalização do trabalho.

Aos funcionários no Laboratório de Nutrição Animal pela disponibilidade e auxílio nas análises.

Aos alunos do Laboratório de Anatomia Vegetal pela paciência e disponibilidade do espaço e material cedido durante a execução das lâminas do intestino.

Aos funcionários da avicultura Borginho, Senhor Geraldo, Borginho filho e Preto.

Aos companheiros da Microbiologia, Mirian (também pelo xilol), Aramália, Fernanda, Sheila, Cristina, Luís, Euziclei, Claudinelli, Cláudia Eugênia, Cidinha, Ivani, Luziane, Déborah, Evânia, Cláudia Labory, Pascoal, Marisa, Alexandre, Márcia, Luana e Magda.

A minha grande amiga Cláudia Braga vulgo Claudinha por toda ajuda necessária e desnecessária durante todo o período de trabalho experimental, pelas horas de trabalho no computador, horas e dedos nas confecções das lâminas... AGRADEÇO DE MONTÃO!!! Fora tudo, pela amizade, atenção, apoio e dedicação. OBRIGADA!!!!

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade de realização deste curso de Doutorado.

A todo o corpo docente e aos funcionários do Departamento de Ciências dos Alimentos e do Departamento de Biologia.

RESUMO GERAL

O trabalho objetiva caracterizar o estado físico-químico e microbiológico do processo da compostagem para a produção do cogumelo *Agaricus blazei* e a utilização do composto para a alimentação de animais monogástricos. O experimento laboratorial de produção de cogumelos na UFLA, onde utilizou para a compostagem 50% de bagaço de cana e 50% de capim *coast cross* e mais as suplementações. Para resultados físico-químicos o material da compostagem apresentou em condições propícias com coloração, e maciez ao tato, sendo os valores de Fibra Detergente Neutro de 68,60%, Fibra Detergente ácido 52,90%, lignina 53,50%, Proteína Bruta 6,26% e celulose 0,60%. Sucessão microbiana na seguinte ordem: bactérias, fungos e actinomicetos. A população bacteriana esteve constante em número de 3×10^8 UFC (Unidade formadora de colônia)/g durante todo o processo de compostagem; predominando os gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Serratia*. Os actinomicetos com importante representação na parte mesofílica e termofílica, população inicial de $6,6 \times 10^7$ UFC/g no primeiro dia de coleta e aumentando para final de $3,0 \times 10^8$ UFC/g predominando os gêneros *Streptomyces* e *Micronospora*. Os fungos filamentosos tiveram caráter termofílico ocorrendo na temperatura mais elevada durante a compostagem, sendo a população de $1,7 \times 10^8$ UFC/g reduzindo no final do processo, sendo o gênero predominante o *Aspergillus fumigatus* denominado produtor de celulase. Todos os microrganismos tiveram grande importância devido às transformações ocorridas no material por ocasião da produção de enzimas, que degradam as fibras. A produção do cogumelo *Agaricus blazei* teve uma média de 1,53g/ 100g de composto, sendo uma boa resposta. O segundo experimento foi realizado no Departamento de Zootenia da Universidade Federal de Lavras em que se utilizou 500 pintinhos de 1 dia da linhagem Cobb 500, onde foram divididos em 20 parcelas com 25 pintos. Foi utilizado Delineamento Inteiramente Casualizado em que foram fornecidos 5 tratamentos na qual se avaliou desempenho das aves e alturas das vilosidades do jejuno. Para desempenho o consumo de ração não apresentou diferença significativa, conversão alimentar no período de 1-39 e 21-39 dias foi significativo pela análise de regressão mostrando que na medida em que se aumentam os níveis do composto piora a conversão, sendo o mesmo resultado para ganho de peso no período de 1-39 dias. O rendimento de carcaça o melhor nível é o de 1,5 % de composto, e para vilosidades do jejuno a maior altura foi para a testemunha e subsequente o nível de 1,5% de composto na ração. No geral o nível de 0,5% de composto na ração teve melhor resposta para desempenho e vilosidades

Palavras-chave: Compostagem, *Agaricus blazei*, nutrição e monogástricos.

GENERAL ABSTRACT

This work had as objective to characterize the physical-chemical and microbiological composting process for mushroom *Agaricus blazei* production and the composite utilization for monogastric animals feeding (broiler). Where it was utilized for the composting 50% of sugar-cane bagasse and 50% of coast-cross grass, adding together supplements with limestone, plaster, phosphate, KCl and wheat crumb. For physical-chemical results, the composting material appears itself in favourable conditions with brown colouring, white points and softness to touch, being the values of NDF 68.60%, ADF 52.90%, lignine 53.50%, CP 6.26% and cellulose 0.60%. During the following order: bacteria, fungi and actinomycetes. The bacterial population was constant in number of 3×10^8 (clony forming unit)/g during the whole composting process; predominant genera *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Serratia*. The actinomycetes with important representation in the mesophylic and thermophylic part, presenting an initial population of 6.6×10^7 UFC/g on the first day of collection and with an increase to the final stage of 3.0×10^8 UFC/g predominant genera *Streptomyces* and *Micronospora*. The filamentous fungi had thermophilic character occurring in the highest temperature during the composting, and the population of 1.7×10^8 UFC/g reducing in the final of composting process is the predominant genus *Aspergillus fumigatus* called producer of cellulase. All microorganisms had a great importance due to transformations occurred on the material because of the enzymes production which degrade the fibers. The mushroom *Agaricus blazei* production had an average 1,53g/100g of compound being a good response to the conditions of the substrate preparation during the composting. The second trial was accomplished at the DZO/UFLA and 500 young chicken of one-day ancestry Cobb 500, which were divided into 20 plots of 25 chicks. It was completely randomized design in which 5 treatments were given, being 0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0% of compound during feeding in which evaluated performance from the birds and at the same time the height of villosity jejunum thereof. For performance the feed intake was not significantly different ($P < 0.01$); feed conversion for 1-39 and 21-39 days was significant by the regression analysis showing that as the compound levels increase, get worst the conversion; being the same result to gain weight for a period of 1-39 days. The carcass yield was significative ($P < 0.05$), showing that the best level is 1.5% of compound, for abdominal fat there was no significative difference and for villosity of jejunum the greatest height was for the evidence and subsequently the 1.5% level of compound in the feeding. Generally, the 0.5% level of compound in the diet had a better answer to performance and villosity.

Keywords: Composting. *Agaricus blazei*. Nutrition. Monogastric.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 Fórmula esquemática da molécula de lignina de conífera..... 34
- Figura 2 Esquema geral do processo de degradação da lignina..... 35
- Figura 3 Dinâmica da temperatura (°C) e umidade relativa do material (%) durante o processo da compostagem 36

CAPÍTULO 2

- Figura 1 Frequência de bactérias, actinomicetos, leveduras e fungos filamentosos isolados do composto durante o processo de compostagem e seu material de origem bagaço de cana-de-açúcar e feno de capim *Coast-Cross* na 2ª repetição 74
- Figura 2 Frequência de bactérias, *actinomicetos*, leveduras e fungos filamentosos isolados do composto durante o processo de compostagem e seu material de origem bagaço de cana-de-açúcar e feno de capim *Coast-Cross* na 3ª repetição..... 74

CAPÍTULO 3

- Figura 1 Efeito dos níveis de adição do composto sobre o ganho de peso de frangos no período de 0 a 21 dias de desenvolvimento 104

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1	Produção de cogumelo <i>Agaricus blazei</i>	30
----------	---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Espécies de bactérias, <i>actinomicetos</i> e fungos filamentosos isolados do composto durante o processo de compostagem e seu material de origem cana-de-açúcar (bagaço) e feno de capim <i>coast-cross</i> . Entre parênteses o número de isolados identificados	82
----------	--	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Composição percentual das rações experimentais de acordo com a fase de criação	98
Tabela 2	Composição química do composto exaurido do crescimento do cogumelo <i>Pleurotus sajor caju</i>	99
Tabela 3	Médias das temperaturas em °C de máxima e mínimas durante o período Experimental	101
Tabela 4	Desempenho de frangos de corte em diferentes períodos de idade alimentados com rações adicionadas de composto exaurido do cultivo do cogumelo <i>Pleurotus ssp</i>	103
Tabela 5	Características da carcaça e altura das vilosidades do jejuno das aves no período experimental de 1 a 39 dias com diferentes níveis de adição do composto exaurido do cogumelo à ração.....	106

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 Introdução Geral	13
1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Sistema de cultivo	16
2.2	Cultivo do cogumelo do gênero <i>Agaricus</i>	17
2.2.1	Formulação do composto e compostagem	18
2.2.2	Pasteurização e condicionamento (Fase II)	21
2.3	Produção de inoculantes	22
2.4	Inoculação e incubação - corrida do micélio (Fase III)	25
2.5	Camada de cobertura e indução de primórdios	25
2.6	Instalações e condições de frutificação	27
2.7	Colheita e processamento	29
2.8	Doenças, contaminantes e pragas	31
2.9	Compostagem	31
2.10	<i>Agaricus blazei</i>	38
2.11	Fungos termofílicos	42
3	COMPOSTO	45
3.1	Substrato pós-produção de cogumelo	47
3.2	Composto na alimentação animal	48
3.3	Probióticos	50
3.3.1	Modo de ação dos probióticos	51
3.4	Modo de ação dos antibióticos	52
3.5	Antibióticos <i>versus</i> Probióticos	53
3.6	Microvilosidades	55
	REFERÊNCIAS	57
	CAPÍTULO 2 Diversidade microbiana durante a compostagem de bagaço de cana para a produção de <i>Agaricus brasiliensis</i>	65
1	INTRODUÇÃO	67
2	MATERIAIS E MÉTODOS	69
2.1	O preparo, composição química e amostragem do composto	69
2.2	Pasteurização	69
2.3	Análise microbiológica	70
2.4	Identificação de Bactérias	71
2.5	Identificação de <i>actinomicetos</i>	71
2.6	Identificação de fungos filamentosos	72
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.1	Microbiota da fase I da compostagem	73
3.2	Microbiota da fase II da compostagem	80
4	CONCLUSÃO	86

	REFERÊNCIAS	87
	CAPÍTULO 3 Utilização do composto exaurido de <i>Pleurotus spp.</i>	
	no desempenho de frango de corte	92
1	INTRODUÇÃO	94
2	MATERIAL E MÉTODOS	97
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	102
4	CONCLUSÃO.....	108
	REFERÊNCIAS	109
	ANEXOS	112

CAPÍTULO 1 Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO

A compostagem é praticada desde a história antiga, porém até recentemente, de forma empírica. Gregos, romanos e povos orientais já sabiam que resíduos orgânicos podiam ser retornados ao solo ou para alguma outra forma de utilização. No entanto, só a partir de 1920, com Albert Howard, é que o processo passou a ser pesquisado cientificamente e realizado de forma racional. Nas décadas seguintes, muitos trabalhos científicos lançaram as bases para o desenvolvimento desta técnica, que hoje pode ser utilizada em escala industrial. Esse processo pode ser definido como uma bioxidação aeróbica exotérmica de um substrato orgânico heterogêneo, no estado sólido. É denominada uma ecotecnologia por permitir o retorno da matéria orgânica para outros fins.

Os componentes orgânicos biodegradáveis passam por etapas sucessivas de transformação sob a ação de diversos grupos de microrganismos, resultando num processo bioquímico altamente complexo (EPSTEIN, 1998).

Durante a compostagem, há proliferação de populações complexas de diversos grupos de microrganismos (bactérias, fungos e *actinomicetos*), que vão se sucedendo de acordo com as características do meio, sendo essa elevação da temperatura ser variável de acordo com o local da meada. No início do processo da compostagem há forte crescimento dos microrganismos mesófilos, com aumento da temperatura, resultante da biodegradação, a população de mesófilo diminui e os termófilos proliferam com maior intensidade, eliminando os microrganismos patogênicos. Embora a maior parte do metabolismo na compostagem seja devido às fermentações, as transformações ideais ocorrem nas regiões onde predominam condições aeróbicas ou semiaeróbicas, que impedem

o estabelecimento de microrganismos anaeróbicos estritos, razão pela qual o composto deve ser revolvido com frequência. Com esse procedimento se tem o melhor fracionamento das fibras e uma alta atividade microbiana na decomposição do composto (CHANG, 1989). O carbono é a principal fonte de energia e o nitrogênio é importante para a síntese celular. Os microrganismos também necessitam de micronutrientes como: Cu, Ni, Mo, Fe, Mg, Zn e Na, sendo utilizados nas reações enzimáticas, porém detalhes desses processos são pouco conhecidos.

O cultivo de *Agaricus blazei* em moldes comerciais é muito recente e, no entanto tem se utilizado as técnicas já existentes para o cultivo de outros fungos como “*Champignon*” (*Agaricus bisporus*) e “*Shiitake*” (*Lentinula edodes*).

O crescimento de cogumelos comestíveis e/ou medicinais em substratos com resíduos agrícolas já tem sido estudado (CHANG; QUIMIO, 1982; IMBERNON; LEAPLAE, 1972; LAMBERT, 1941), no entanto são escassas as informações quanto às transformações químicas, físicas e microbiológicas que ocorrem no decorrer do preparo desse composto.

O sucesso da produção está sempre correlacionado com as etapas que precedem esse processo que são: escolha dos materiais para compostagem que tenham uma boa relação C/N, aeração, umidade, pH, temperatura, acondicionamento, pasteurização, inoculação e incubação. Como se observa o cultivo do *Agaricus blazei* é composto de várias etapas interdependentes e essenciais para obtenção da máxima produtividade. Dessa forma, ações unilaterais que proporcionam incremento em apenas uma das etapas de cultivo, podem representar muito pouco no resultado final de produtividade, sendo necessária uma atuação equilibrada em todas as etapas de cultivo, para se obter maior produtividade.

Assim sendo, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar o substrato da compostagem microbiológica, física e quimicamente, e a produção do cogumelo *Agaricus blazei*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sistema de cultivo

A escolha da tecnologia de cultivo e o preparo do substrato de cultivo dependem da espécie de cogumelo que se pretende cultivar, da disponibilidade e custo de resíduos agroindustriais e outros insumos e, de forma ainda mais óbvia, do custo de produção e mercado.

Basicamente, o cultivo de qualquer cogumelo pode ser realizado em condições naturais não assépticas ou sob condições axênicas, isto é, o substrato deve ser submetido à esterilização e as técnicas de cultivo são assépticas até a colonização total de substrato pelo cogumelo (EIRA, 2000).

Sob condições naturais não assépticas, os cogumelos podem ser cultivados em quatro grupos de substratos: em hospedeiros vivos (micorrízicos ecologicamente dependentes e aqueles que causam doenças em essências florestais); substratos “*in natura*” com relação C/N maior que 100/1, tais como troncos de madeira sem qualquer preparação prévia (usados para cultivo de *Shiitake*, *Pleurotus spp.* e fungos medicinais como o *Ganoderma lucidum*, *Pycnoporus spp.* e outros); resíduos agroindustriais com relação C/N entre 50 e 100/1, tais como palhas pré-tratadas por compostagem curta e pasteurização severa (*Pleurotus spp.*, *Volvariella volvacea* e outros) ou apenas pasteurização severa, como no caso de cavacos de madeiras obtidos pela trituração de galhos finos e/ou serragem fresca (*Shiitake*, *Auricularia sp* e outros); e palhas e resíduos agroindustriais com relação entre 25 e 50/1, com prévia compostagem (Fase I), pasteurização e condicionamento (Fase II), utilizados para o cultivo de *Agaricus spp.*

Outro padrão de substrato enriquecido com relação C/N entre 15 e 25/1, pode ser utilizado no sistema de cultivo de cogumelo sob condições axênicas,

tais como *Shimeji* (*Pleurotus ostreatus*), o *Shiitake* (*Lentinula edodes*), a *Flammulina velutipes*, *Pholiota nameko* e vários outros, inclusive qualquer dos cogumelos normalmente cultivados sob condições naturais não assépticas. A principal razão da utilização de substratos com relação C/N estreita, no cultivo axênico é obter elevadas produtividades, visando cobrir os custos dos processos de esterilização e assepsia e, principalmente, para obter produções no tempo e quantidades requeridas pelo mercado consumidor. Sempre que a relação C/N for estreita (15 a 20:1) e ocorram açúcares, aminoácidos, vitaminas e outros compostos de baixo peso molecular, prontamente disponíveis.

Há ainda uma técnica chinesa de cultivo, que envolve a pasteurização severa de substratos à base de capim, denominada “*Jun-Cao*”. Essa técnica envolve substratos de relação C/N abaixo de 50/1, mas submetidos à pasteurização severa (vapor fluente durante 8 a 12 horas).

2.2 Cultivo do cogumelo do gênero *Agaricus*

O cultivo de cogumelos “*Champignon*” e “Cogumelo do Sol” envolve as seguintes etapas (WUEST; DUFFY; ROYSE, 1980): obtenção das matrizes e sementes (inoculantes ou *spawn*), compostagem. Fase I; pasteurização e condicionamento do substrato. Fase II; inoculação e incubação. Fase III; cobertura do substrato colonizado (camada de cobertura); indução dos primórdios e produção dos basidiomas.

O cogumelo *Agaricus blazei*, vulgarmente chamado “cogumelo do Sol” é de ocorrência natural nas regiões serranas da Mata Atlântica do Estado de São Paulo. Seu cultivo vem seguindo as mesmas técnicas utilizadas para o “*Champignon*”, quanto à formulação, compostagem, pasteurização e condicionamento do substrato, inoculação, incubação e colocação da camada de cobertura, exceto para a frutificação, que requer temperatura entre 20 e 30°C.

2.2.1 Formulação do composto e compostagem

Os cogumelos possuem enzimas lignolíticas (lacase), celulolíticas e hemicelulolíticas. Entretanto, deve-se salientar que os cogumelos nutrem-se de açúcares, mas sob condições naturais não assépticos, se tais compostos tiverem presentes, é a microbiota meso e termofílica que prevalecerá no sistema e não permitirá a colonização do substrato pelo cogumelo inoculado. Essa é a razão pela qual, sob condições naturais, faz-se necessário o pré-tratamento do substrato de cultivo (composto) através do processo de compostagem, pasteurização e condicionamento do composto, para que estabeleça uma microbiota responsável pela biostase favorável ao cultivo de cada cogumelo.

Os cogumelos são aptos para crescer em grande variedade de resíduos agrícolas, dentre eles, o bagaço de cana (BUSWELL; CAI; CHANG, 1996). O *Agaricus blazei* é produzido em vários tipos de substratos ricos em lignina e celulose, inclusive o bagaço de cana (LIZUKA, 1997), pois tem a habilidade de utilizá-los como fonte de nutrientes. A utilização de substratos lignocelulósicos pelo fungo depende da sua capacidade de secretar celulasas, hemicelulasas e ligninases, enzimas que hidrolisam as macromoléculas celulose, hemicelulose e lignina, respectivamente, liberando nutrientes para o seu crescimento (BUSWELL; CAI; CHANG, 1996). Esse mesmo autor relatou que a produção de enzimas é parte crucial do processo de colonização do substrato, e importante na determinação do rendimento da produção de cogumelo.

Um dos fatores mais importantes no desenvolvimento próspero do cultivo em escala industrial é a alta disponibilidade de substratos na região de instalação da produção, onde certamente são mais baratos (WORRAL; YANG, 1992). O bagaço de cana apresenta-se como uma boa alternativa para o cultivo do *Agaricus blazei*, pois além de ser amplamente disponível nas regiões produtoras de açúcar, álcool e cachaça, é segundo Nussio e Balsalobre (1993)

matéria-prima relativamente homogênea em termos de composição química, características físicas e bromatológicas. Pequenas variações nessas características, decorrentes das diferentes origens do bagaço, são devidas a fatores como: variedades de cana-de-açúcar (NUSSIO; BALSALOBRE, 1993), tipos de solo e processos de extração do caldo pelas indústrias. Embora sejam escassas as publicações sobre o cultivo de *Agaricus blazei* em bagaço de cana, outros cogumelos já foram cultivados nesse substrato com sucesso.

Por ter característica fibrosa, o bagaço quando prensado pode condicionar espaços com aeração suficiente para suportar o crescimento micelial. Assim, o fungo consegue miceliar no substrato de bagaço “*in natura*”, mesmo que em baixa velocidade, mas a produção de corpos de frutificação pode ser reduzida devido à escassez de nutrientes. As suplementações com nutrientes, de preferência solúveis para estarem prontamente disponíveis para o fungo, são necessárias.

Todo composto para o cultivo de cogumelo do gênero *Agaricus* tem como regra geral, o componente volumoso à base de palhas, capim ou outros materiais fibrosos, geralmente muito ricos em carbono (C) e pobres em nitrogênio (N) e fósforo (P) e, componentes concentrados (normalmente farelos e tortas), incorporados em quantidades adequadas para atingir as relações C:N:P: 30:1:0,2. Além desses nutrientes principais estão presentes macroelementos, microelementos K, S, Ca e alguns traços como Mg, Mn, Zn, Bo, Co, Mo, etc., já estão presentes nos materiais em quantidades suficientes ao metabolismo global da compostagem nas fases I, II e III (STANIER; DOUDOROFF; ADELBERG, 1969). A incorporação do sulfato de cálcio (gesso) facilita a aeração; aumenta a capacidade de retenção de água e, os íons de Ca^{++} e SO_4^- do gesso são utilizados pelo fungo. O gesso também floclula coloides, propiciando uma estrutura mais granular ao composto, que aumenta a produtividade do *A. bisporus* (VAN GRIENSVEN, 1988).

Na fungicultura moderna vem sendo mais utilizados os “cogumelos sintéticos”, mas, cada formulação influencia na produtividade, tal como foi observado por Gibbons, Maher e Todd (1991). Cada fungicultor, entretanto, busca uma combinação mais próxima às matérias-primas existentes em sua região que, se corrigidas convenientemente, formarão um substrato de qualidade e de baixo custo. Assim, cada tonelada de capim (componente volumoso) pode-se combinar materiais concentrados e insumos, visando atingir a relação C/N requerida (aproximadamente 30/1). Para *Agaricus blazei*, ao contrário do propalado em alguns livros, deve-se alargar essa relação até aproximadamente 37/1 (KOPYTOWSHI, 2002). Com relação C/N larga e/ou reviragens frequentes a Fase I de compostagem pode ser completada entre 7 e 14 dias, processo também chamado de “*short composting*”. Ao final da fase I deve-se obter as seguintes características no substrato: umidade em torno de 70%; pH entre 7,5 e 8,0; coloração da palha de amarelo a marrom, com manchas brancas de *actinomicetos* e outros microrganismos térmófilos (camadas externas da meada) e odor de amônia (STEINECK, 1987; STRAATSMA, 1994a, 1994b).

Na compostagem, a retenção de nitrogênio na biomassa depende do teor inicial de nitrogênio e da presença de carbono mais prontamente disponível no composto (VAN GRIENSVEN, 1988). Formulações de composto com elevado teor inicial de nitrogênio, mas baixos teores de carbono assimiláveis redundam em maior perda por volatilização do NH_3 e menor incorporação de N na biomassa.

O Brasil como maior produtor e exportador mundial de café, sua agroindústria gera mais de um milhão de toneladas de resíduos sólidos (casca, borra, polpa e folha) por ano. Apesar de alguns desses resíduos apresentarem concentrações elevadas de açúcar, proteína e lipídios, jamais foram aproveitados na alimentação animal devido à presença de compostos tóxicos e

antinutricionais, como cafeína e taninos. Esses resíduos causam igualmente problemas de poluição ao meio ambiente.

Soccol e Fan (2002) estudaram a possibilidade de se produzir cogumelos do gênero *Pleurotus* a partir de resíduos da agroindústria do café, sendo que os resultados obtidos demonstram que a cafeína apresenta reação negativa ao crescimento do fungo e ácido tânico até 100 mg/L estimula o crescimento do micélio. Com relação à degradação da cafeína e tanino na casca de café após o crescimento do cogumelo, foi possível demonstrar que esse fungo não degrada cafeína, só absorve-a, por isso no corpo de frutificação encontraram cafeína. Dessa forma, o uso da casca de café poderá dar origem a um novo tipo de cogumelo do tipo *Pleurotus* contendo pequenos teores de cafeína no corpo de frutificação. Por fim, demonstra que resíduo da agroindústria de café apresenta rendimentos semelhantes aos obtidos com esses substratos tradicionais.

2.2.2 Pasteurização e condicionamento (Fase II)

A pasteurização para *Agaricus spp.* visa elevação uniforme da massa de composto até a temperatura de 62°C/ 6 horas, para saneamento do composto, seguindo-se o condicionamento físico, químico e biológico do composto, a 47°C, durante 7 a 10 dias .O pasteurizador deve possibilitar o controle da temperatura, através do sistema de ventilação, ajustando-se as proporções de reciclagem do ar quente (150 a 200 m³/t.h) e o ar novo e filtrado (10 a 40 m³/t.h), mantendo-se o regime de ventilação constante durante toda a pasteurização e condicionamento e, quando o odor amoníaco desaparece (teor , 10 ppm de NH₃) promove-se o resfriamento rápido até 25 °C, para efetuar-se a inoculação. O dimensionamento do pasteurizador e ventilador é um problema pela quantidade de material a ser pasteurizado e o fluxo de ar a ser liberado.

No resfriamento para a inoculação do *Agaricus*, os termófilos entram em latência e a estrutura celular dessa biomassa é digerida e assimilada pelo *Agaricus*.

Ao final do processo de pasteurização e condicionamento, a quantidade de carboidratos degradáveis diminui, formando um complexo lignina-húmus mais estável; grande parte do NH_3 é incorporada à biomassa (proteínas); a relação C/N estreita-se entre 16 a 17/1; o índice pH diminui para 7,5; a temperatura para 25 °C e, a umidade, para 60 a 65% (VEDDER, 1996).

2.3 Produção de inoculantes

Os fungos reproduzem-se sexuadamente por intermédio de esporos ou, assexuadamente (reprodução vegetativa), pela multiplicação de qualquer fragmento do corpo de frutificação ou do micélio.

Na reprodução assexuada, a partir da germinação de dois basidiósporos em substrato e condições favoráveis, origina-se um micélio de hifas haploides (n) com interseptos uninucleados (porção da hifa delimitada por dois septos), o micélio primário. Quando duas hifas do micélio primário se encontram, ocorre a fusão de citoplasma (Plasmogamia) resultando células binucleadas ou dicariotas (n+n). Assim, inicia-se o processo de formação do micélio secundário por crescimento vegetativo. Em certa fase do desenvolvimento do micélio secundário, inicia-se a diferenciação do micélio terciário (basidioma) e a formação dos basídios. Os núcleos fundem-se resultando um núcleo diploide (2n); há o início de formação dos esterigmas e o núcleo sofre novas divisões (meiose e mitose), resultando 4 núcleos, com número haploide de cromossomos que, cercado de protoplasma, migram para os esterigmas e formam os basidiósporos.

As matrizes primárias são obtidas pelo isolamento dos fragmentos do basidioma (via assexuada para manter as características genéticas do basidioma desejado) e através dos basidiósporos (via sexuada pelo isolamento monospórico e/ou multiespórico, quando se visa o melhoramento genético seguido da seleção massal desejada). Na obtenção das matrizes, ressalta-se, a utilização de meios de cultura muito ricos e completamente diferentes dos substratos de cultivo, pode levar à seleção de mutantes nutricionais (saltações paramorfogênicas adaptadas ao meio), com possíveis alterações simultâneas de outras características importantes.

A fusão dos protoplastos aumenta a frequência de cruzamentos de organismos nos quais os cruzamentos naturais são infreqüentes ou inexistentes, além de possibilitar o avanço na engenharia genética nesse campo (VAN GRIENSVEN, 1998).

A preservação das matrizes primárias implica na redução do metabolismo à latência para que as linhagens possam ser conservadas viáveis pelo maior tempo possível. Alguns cogumelos (*A. blazei* e *Volvariella volvacea* entre outros) não resistem às temperaturas e devem ser conservados em câmara climatizada a 22+ ou - 1°C. A maioria dos outros cogumelos, entretanto, pode ser mantida em geladeira (4 + ou - 1°C) e, as matrizes primárias podem durar até seis meses, desde que acondicionadas em tubos de ensaio, vedados com tampa hermética para evitar a desidratação do meio de cultura e da matriz. O uso de óleo mineral, previamente esterilizado, tem-se mostrado importante, pois protege o micélio contra a dessecação resultante da condensação de vapor nas variações de temperatura durante o armazenamento. Algumas culturas, preservadas dessa forma, podem continuar viáveis por até dois anos. Também pode ser usado com bons resultados discos de cultura preservados em frascos herméticos contendo água estéril.

O nitrogênio líquido e a liofilização são os métodos mais utilizados nas coleções de culturas internacionais (SAN ANTONIO,1978), mesmo para cogumelos de clima quente como *A. blazei* (criopreservação a - 80°C ou N₂ líquido a - 186 °C, desde que o inóculo seja suspenso em glicerol a 10% e o protocolo de descongelamento, seja rápido a 35 °C (MONTINI et al., 2002).

A matriz secundária é obtida pela transferência de pequenas porções de micélio da matriz primária para frascos contendo substrato do tipo grãos, serragem ou fibras (composto). O substrato é acondicionado em frascos com tampas forradas internamente com discos de papel de filtro, e submetidos à esterilização durante 2 a 4 horas a 1 atm ou 120 °C, ou tindalização, repetindo-se o processo após 12 horas. Os frascos são inoculados em condições assépticas e incubados à temperatura de 25 °C durante 20 a 30 dias, período suficiente para que ocorra a colonização total do substrato. Obtidas as matrizes secundárias, serão usadas para a produção do inóculo (semente ou *spawn*) (EIRA; MINHONI, 1997; GIBBONS; MAHER; TODD, 1991).

Dessa forma, quando as hifas de cogumelos crescem em grandes quantidades de substratos (grãos, serragem, materiais celulósicos ou minerais enriquecidos), sob condições axênicas, recebem o nome de inóculo (termo diretamente ligado aos propágulos viáveis do fungo, as hifas), inoculantes (que, além do inóculo, inclui o veículo sólido ou substrato, como serragem, grãos e outros), semente (pelas suas relações com a propagação que, no caso de inoculantes para cultivo de cogumelos, seria assexuada e vegetativa) e ainda *spawn* que é um termo genérico na literatura mundial próximo a inoculante ou semente (FLETCHER; WHITE; GAZE, 1986; RAJARATHANAM; BANO, 1987; SAN ANTONIO, 1984).

2.4 Inoculação e incubação - corrida do micélio (Fase III)

A semente é utilizada à razão de 1 a 2% da massa de composto em base úmida. O período de colonização do substrato varia com o tipo de inóculo, qualidade do composto e condições da câmara de cultivo, mas de modo geral, oscila entre 14 e 21 dias, quando o micélio aflora à superfície do composto e procede-se a cobertura do substrato colonizado com solo ou outros materiais (camada de cobertura ou “*casing layer*”).

A fase III (vulgarmente denominada “corrida do micélio), nos cultivos mais tecnificados é efetuada em massa, sob condições de temperatura e aeração controladas, em túneis similares aos de pasteurização com reciclagem, resfriamento (temperatura controlada entre 24 e 25 °C) e renovação do ar (cerca de 2 a 3 vezes o seu volume por dia) uma vez que, nessa fase, os teores de CO₂ permanecem muito elevados (VAN GRIENSVEN, 1988).

Modernas tecnologias de cultivo vêm utilizando suplementação do composto com materiais orgânicos em nitrogênio (VAN GRIENSVEN, 1988), como por exemplo, o *Champfood* de uma companhia da Holanda, proposto para suplementar o substrato com relação C/N inicialmente mais larga (até 50/1). O adubo é adicionado após a colonização total do substrato pelo cogumelo (a Fase III que, nessa tecnologia é realizada em massa). Os produtos comerciais usam o farelo de soja com disponibilidade controlada, à base de 1 a 1,4 Kg/m² de cama de cultivo (densidade de substrato entre 85 e 95 Kg de substrato úmido/m²).

2.5 Camada de cobertura e indução de primórdios

A camada de cobertura representa um dos principais fatores para o incremento a produtividade, qualidade e uniformidade na colheita do “*champignon*” (COLAUTO, 2002). Modernamente, utiliza-se uma mistura de

turfa negra ou “*black peat*” (80%) e turfa fibrosa marrom ou “*brown peat*” (20%), neutralizada com carbonato de cálcio calcítico (VAN GRIENSVEN, 1988). Para evitar nematoides e outros problemas da fungicultura, a camada de cobertura deverá ser submetida a processos de pasteurização (60-65 °C), ou desinfecção com formol (a 10%, 10L/m³), volatilizado à temperatura a 15 °C.

A camada de cobertura proporciona variação ambiental necessária para a mudança fisiológica do comportamento do micélio, que passa de um estado vegetativo para reprodutivo, com conseqüente indução e desenvolvimento de primórdios. Além disto, a camada de cobertura proporciona superfície uniforme, regula a temperatura entre o substrato e o ambiente, retém água para evitar o ressecamento do substrato, fornece água para o basidiocarpo, suporta mecanicamente o desenvolvimento do corpo de frutificação, permite trocas gasosas, é uma barreira de proteção para os microrganismos, permite o crescimento de bactérias favoráveis e não é fonte de nutrientes para o desenvolvimento do micélio.

Diversos fatores físicos, químicos e biológicos colaboram concomitantemente para que o fenômeno da indução ocorra. Dentre eles estão a profundidade, porosidade, água, potencial osmótico, gases, principalmente o hormônio, substâncias químicas voláteis ou não, microrganismos, principalmente bactérias, filtrados de fungos, bactérias e metabólitos da camada de cobertura. No entanto, devido à complexidade de interação dos mesmos, muitas pesquisas apresentam mais sugestões que conclusões por não conseguirem isolar todas as variáveis que interferem na indução de primórdios.

Diversas camadas de cobertura são relatadas como: esterco de vaca decomposto, polpa de papel moído de resíduos industriais, resíduos de madeira, bagaço, composto exaurido, terra orgânica, “terra de minhoca”, cristais de água, cinzas de diversos materiais, fibra de coco, *rockwool* (lã mineral). Resíduo de carvão, resíduo de fibra de plantas, bolo de cal (Cal + água), abeto, casca de

ervilhas, perlite, vermiculita, espuma de poliuretano picada e tijolos quebrados finamente (COLAUTO, 2002).

Quanto à camada de cobertura para o *A. blazei*, um pequeno ganho em relação ao uso da terra de barranco, foi obtido pela incorporação de 30% de carvão vegetal (resíduo de carvorarias), passando-se de uma produtividade de 5% para 8 a 12% em base úmida (80 a 120g de cogumelo fresco por Kg de substrato úmido). Para esse tipo de cobertura, a produtividade foi significativamente maior na espessura entre 5 e 8 cm. Entretanto, o incremento mais significativo na produtividade (100% acima da terra + carvão), foi alcançado com a turfa de Zanta Catarina e Xisto calcítico, para duas linhagens de *A. blazei*, que foram estatisticamente similares, nas suas respostas aos tipos de cobertura testados (COLAUTO, 2002).

No Brasil há o predomínio do uso de camadas de cobertura à base de terra argilosa ou mista além de turfas brasileiras mais recentemente. Entretanto, o manejo desse material requer a devida atenção para se atingir uma elevada produtividade.

2.6 Instalações e condições de frutificação

A cultura do *A. blazei*, por exigência de alguns compradores estrangeiros (principalmente o japonês), ocorre de forma rudimentar em canteiros no campo. Nesse particular, esse tipo de tecnologia de cultivo “*outdoor*” é que originou a denominação popular desse cogumelo como “cogumelo do sol”. Deve-se frisar, entretanto, que os canteiros são cobertos com espessa camada de capim, formando um microclima indispensável à frutificação nessas condições rústicas, mas sob a camada de capim, praticamente não há luz (intensidade menor que 50 Lux, às 12 horas).

Na etapa de frutificação, estão as maiores diferenças no cultivo do *A. blazei* em relação ao *A. bisporus*: condições de temperatura entre 25 e 30 °C, procedidas de baixa temperatura (15 a 20 °C), teor de CO₂, abaixo de 500 ppm e abundante irrigação da camada de cobertura. Para o *A. bisporus*, a indução de primórdios também depende da aeração (teor de CO₂ ao redor de 600 ppm), mas a indução, ocorre com o resfriamento gradual de 22 para 16 a 17 °C.

Os mecanismos de indução dos primórdios para o *A. blazei*, estão relacionados às variações de temperatura e umidade, normalmente, ocorrem nos ciclos dia-noite, principalmente na entrada e saída do inverno. Verificou-se experimentalmente, que a produtividade em ambiente de estufa de lona plástica (amplitude térmica entre 15 e 35 °C) foi maior (14% em base úmida) que é a obtida em câmara de cultivo com temperatura constante a 25 °C (11,8%) e, em ambiente rústico (estufa de bambu) com amplitude térmica entre 10 e 30 °C. Por outro lado, sob condições constantes de 15°C não houve indução dos primórdios, os quais prontamente surgiram, quando os substratos de cultivo foram recolocados à temperatura de 25 °C. No cultivo em estufa plástica, a produtividade foi significativamente maior na densidade de 60 Kg do substrato/m² foi significativamente mais produtiva (COLAUTO, 2002).

A primeira colheita ocorre em aproximadamente 20 dias após a colocação da cobertura, mas para o *A. blazei*, pode levar meses na dependência do ambiente de cultivo, linhagens e outros fatores bióticos e abióticos não controlados ou desconhecidos. Por exigência do mercado, o cogumelo deve ser colhido quando alcançar seu maior tamanho, ainda no estágio imaturo, com o chapéu de formato cilíndrico, véu fechado estirpe curto e espesso. Após uma primeira colheita, realizam-se normalmente outras, espaçadas de 10 a 14 dias, denominados fluxos. Todo o ciclo de cultivo completa-se em aproximadamente 120 dias, quando a colheita começa a tornar-se inviável economicamente. Isso significa que serão possíveis 3 a 4 ciclos por ano na mesma instalação. O

rendimento economicamente viável deve ser de 10% de cogumelos frescos ou 1% de cogumelos desidratados em relação ao peso do composto úmido. Quanto maior o período de colheita menor a quantidades de cogumelos, tanto em massa quanto em aspecto, devido à incidência de pragas e doenças (KOPYTOWSKI, 2002). Dessa forma, a exemplo dos efeitos da amplitude térmica e dos valores extremos da temperatura máxima e da mínima, sob condições sanitárias pouco controladas maior produtividade é obtida com menor densidade de composto por área de cultivo.

A umidade relativa do ar deve ser controlada entre 70 a 80% (mais baixa que o *A. bisporus*). As irrigações devem ser feitas de preferência nos intervalos das colheitas, pois os cogumelos tendem a apresentar doenças e nematoides.

Uma ventilação adequada é essencial para reduzir o teor de CO₂ a um nível de 400 a 500 ppm, gerado durante as fases de desenvolvimento do cogumelo. Na frutificação o efeito danoso provocado pelo elevado teor de CO₂ é o alongamento da estirpe, e a prematura abertura do píleo, reduzindo a qualidade e produtividade (EIRA, 2002)

2.7 Colheita e processamento

Iniciando a frutificação o ponto de colheita deve ser aquele em que o cogumelo atinge seu maior peso, associado à sua maior qualidade comercial. Atualmente, os padrões comerciais são estabelecidos pelo mercado exportador japonês.

Qualquer que seja o padrão, o produtor deve seguir rigorosas regras de higiene e limpeza, pois se trata-se sobre tudo de um alimento, lembrando-se também que será direcionado a um mercado de exportação que é muito exigente e, portanto, os riscos de rejeição são grandes.

Assim, uma vez ocorrida às frutificações o momento correto da colheita da *Agaricus blazei* deve ser estabelecido, pois se for atrasada, o cogumelo desenvolve-se muito ocasionando a abertura do chapéu (píleo) e, logo em seguida, o rompimento do véu, momento a partir do qual inicia-se o processo de esporulação e de reações químicas que escurecem o cogumelo, diminuindo em muito seu valor comercial. Por outro lado, não deve ser colhido muito cedo, pois seu peso será reduzido.

Na colheita, os cogumelos são escovados, lavados e submetidos à desidratação (7 a 10% de umidade, em secadores de bandeja vertical ou horizontal à temperatura de 45 a 60 °C). Apesar desses procedimentos de pós-colheita, foram detectados problemas na qualidade sanitária desses produtos (ROSA et al., 1999) e, ainda, não existe qualquer legislação para controle de qualidade na comercialização do *A. blazei* no Brasil.

Os processos de secagem precisam ser bem desenvolvidos, para assegurar maior rapidez, evitando-se a proliferação do grupo de bactérias “coli-aerogenes” (*Escherichia coli* e *Aerobacter aerogenes*, ambas isoladas em meio presuntivo VRB - Violet red bile Agar) no próprio cogumelo e, suas características putrescíveis, fazem com que a microbiota aumente a níveis incompatíveis com a comercialização do produto (ROSA et al., 1999).

Tabela 1 Produção de cogumelo *Agaricus blazei*

Repetição	Peso do cogumelo (g/100 g de composto)
1	1,54
2	1,54
3	1,53
Média	1,53

2.8 Doenças, contaminantes e pragas

No Brasil, tanto no cultivo do *A. blazei* como no *A. bisporus*, o baixo índice de desenvolvimento tecnológico (qualidade de composto, camada de cobertura, geralmente solo sem qualquer tratamento e a rusticidade das instalações de cultivo) são as causas da baixa produtividade, que se agrava com incidência de pragas (moscas *Sciaridae*) e doenças (COUTINHO, 2000; EIRA, 2000; FIGUEIREDO; MUCCI, 1985).

Pragas são animais agentes patogênicos, nocivos para os vegetais ou produtos vegetais (insetos, ácaros, fungos, bactérias vírus nematoides, plantas invasoras, camundongos, etc.).

A contaminação em meio de cultura é normalmente causada por fungos presentes e pertencentes, em sua maioria, à classe desses fungos imperfeitos. Também existem os fungos competidores (saprófitas), que são aqueles que competem com o cogumelo o mesmo substrato de cultivo. Alguns desses são: mofo verde oliva (após a pasteurização) - *Chaetomixam olivaceo*, mofo rosa - *Geotrichum sporendonema* (fungo do solo), mofo cinza, falsa trufa - *Diehilomyces microspora*, *Aspergillus spp* e *Trichoderma spp*.(I seminário do cogumelo *Agaricus blazei Murril* de MG, 2003).

2.9 Compostagem

A compostagem é definida como a decomposição biológica e a estabilização de substratos orgânicos em condições que permitam o desenvolvimento de temperaturas termófilas, resultando na produção de calor de origem biológica, com obtenção do produto final suficientemente estável, higiênico, semelhante a um material rico húmico para disposição e utilização

sobre os solos, e outras finalidades sem impacto negativo sobre o ambiente (MUSTIN, 1987).

A compostagem é um processo dinâmico que envolve a atividade combinada de microrganismos sendo estes, bactérias, fungos, *actinomicetos* e outras populações biológicas; cada gênero de microrganismo ativo na decomposição de algumas partículas da matéria orgânica. Os mais ativos são aeróbios e anaeróbios facultativos, sendo que a atividade de cada um completa a do outro.

A sucessão da população reflete o meio ambiente presente devido à temperatura e os substratos que estão no estado contínuo de fluxo. O substrato está envolvido no rompimento de substâncias complexas em substâncias mais simples (RODALE, 1971).

O conhecimento de como variam as características físico-químicas e microbiológicas do substrato, durante o processo de compostagem, é importante porque permite, em um dado momento, analisar microrganismos que se generem como produtos intermediários e tenham importância biológica e industrial.

Todos os parâmetros ambientais são de grande importância no processo da compostagem e que influem sobre a população de microrganismos, a grande maioria deles estão presentes em grande quantidade em todos os substratos orgânicos destinados a ser decomposto. As bactérias, *actinomicetos* e fungos são responsáveis por mais de 95% da atividade microbiana que ocorre no processo da compostagem (MUSTIN, 1987).

A identificação da microflora presente no composto permite realizar o estudo das funções específicas de cada grupo de microrganismos e determinar sua ação potencial, em que área da nutrição poderá se encaixar, sendo importante substrato para o cultivo do cogumelo.

Blandón-Castano, Rodríguez-Valencia e Dávila-Arias (1998) encontraram maior quantidade de aeróbios mesófilos, leveduras e *actinomicetos*

no composto onde a umidade está no valor de 74,83% comparada a de 87,90%, e também no composto onde se tinha maior quantidade de carboidratos solúveis que era de 69,31% em contrapartida com 61,44%. Permite com isso observar que onde se tem maior disponibilidade de nutrientes, ocorreu melhor estabelecimento dos microrganismos e as condições físicas do meio propiciaram o crescimento, como aeração e pH.

Esse mesmo trabalho mostrou que à medida que transcorria o processo de transformação da matéria orgânica, aumentava-se os microrganismos aeróbios mesófilos e *actinomicetos*, pois sendo esses importantes na transformação da matéria orgânica.

Ocorrem no processo de compostagem inúmeras modificações, pois maior parte do metabolismo na compostagem é devido às fermentações, sendo que as transformações ideais ocorrem nas regiões onde predominam condições aeróbicas ou semiaeróbicas, que impedem o estabelecimento de microrganismos anaeróbios estritos, razão pela qual o composto deve ser revolvido com frequência, para que as condições sejam homogêneas em todo material (BRAGA, 1997).

O produto da compostagem pode ter inúmeras finalidades. A aplicação do material no solo produz múltiplos benefícios como: aumentar permeabilidade, agregação de partículas, macro e microelementos; corrige a acidez, incrementa a população de microrganismos e melhora a eficiência e o uso de nutrientes por parte da planta (RODALE, 1971). É usado também como substrato para a produção de cogumelos comestíveis, por ser um composto sólido com nutrientes necessários para o desenvolvimento dos mesmos por serem organismos saprófitos, ou seja, necessitam do fornecimento de substâncias orgânicas em decomposição (BRAGA, 1997).

Mais relacionado a este tipo de finalidade que é a produção do substrato podemos dividir a compostagem em 2 fases. A fase I inclui a seleção e a mistura

dos ingredientes, onde os mesmos devem estar com grandes disponibilidade e volume. Normalmente, isso dependerá da região de produção para se obter resíduos agrícolas e após sua análise de composição efetuar o processo. Nessa fase a temperatura chega à 80°C com aquecimento próprio. A fase II começa com pasteurização por 8h com 56-60°C e continua com condicionamento por um período de 7 dias na temperatura de 45°C, para volatilização do NH₃ (FLEGG; SPENCER; WOOD, 1985; VAN GRIENSVEN, 1988).

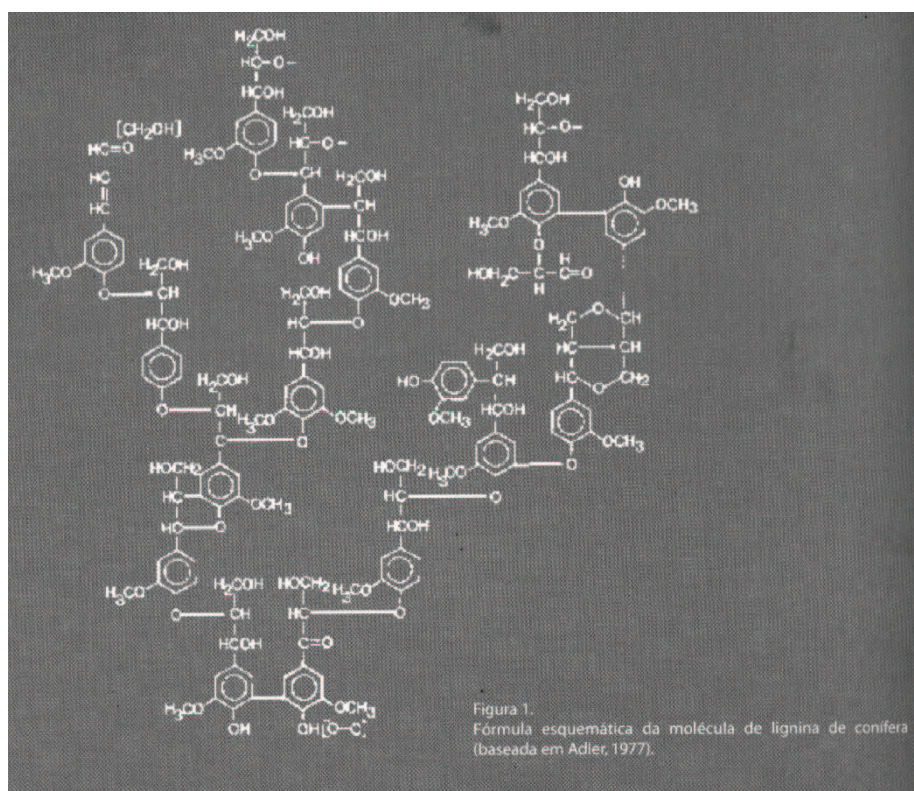


Figura 1 Fórmula esquemática da molécula de lignina de conífera

Fonte: Baseada em Adler (1977)

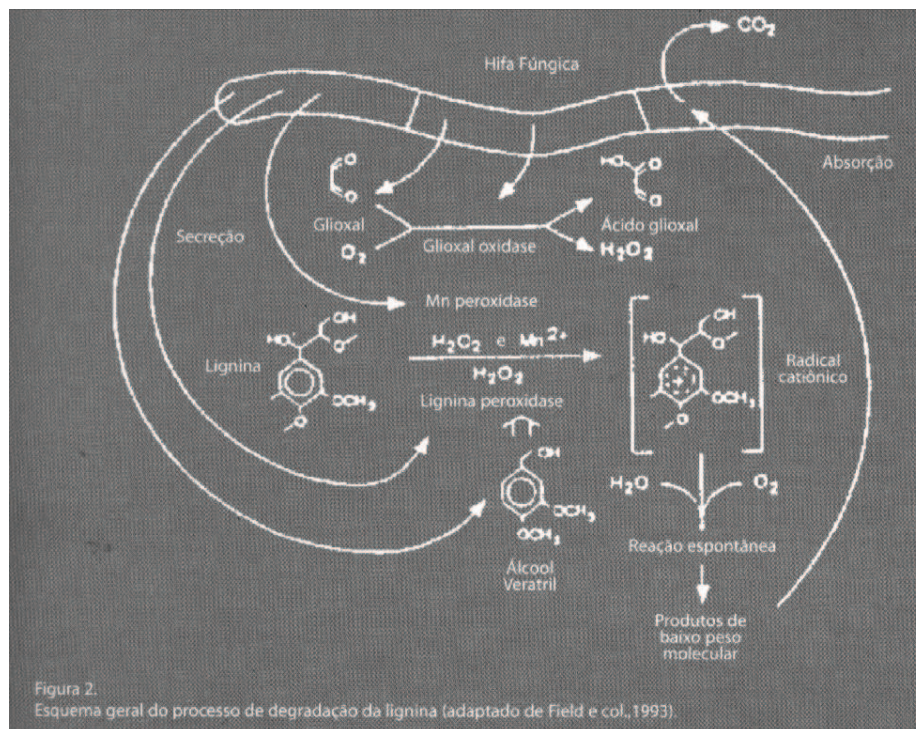


Figura 2 Esquema geral do processo de degradação da lignina

Fonte: Adaptado de Field e col. (1993)

Existem vários parâmetros físico-químicos fundamentais no processo de compostagem que se aborda para um bom resultado no processo de produção do cogumelo sendo. Aeração - a compostagem é um processo aeróbico, sendo vital para a atividade microbiana, pois necessitam de O_2 para oxidar a matéria orgânica. Durante o processo a demanda de O_2 é bastante elevada e a falta pode tornar um fator limitante prolongando o ciclo da compostagem.

Temperatura - a compostagem pode ter regiões de temperatura termofílica (45 à 85°C) como mesofílica (25 à 43°C). Esse é um parâmetro que serve como fator indicativo do equilíbrio biológico, pois temperatura de 40 a 60°C no segundo ou terceiro dia é sinal de que o ecossistema está em equilíbrio.

Umidade, no composto este valor está entre 50 e 60%, sendo fundamental para a vida microbiana. Um teor de água muito alto pode impedir a eficiência de outros parâmetros, como a passagem de oxigênio, podendo provocar zonas de anaerobiose, mas se esse teor for abaixo de 40% inibe a atividade microbiana.

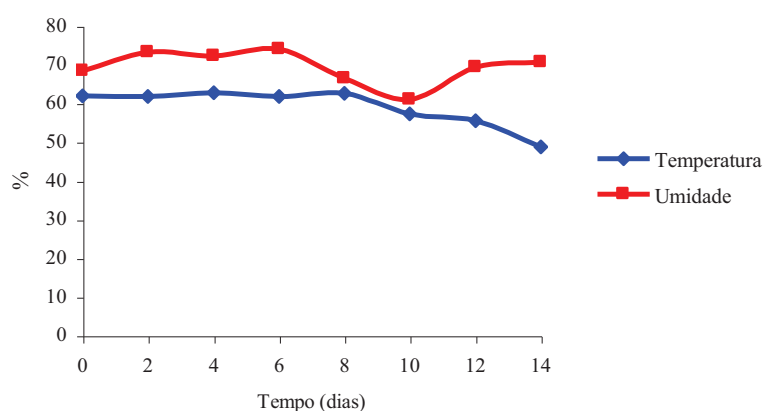


Figura 3 Dinâmica da temperatura (°C) e umidade relativa do material (%) durante o processo da compostagem

Relação C/N, os microrganismos necessitam de carbono como fonte de energia, e de nitrogênio para síntese de proteínas. Essa relação deve situar em torno de 30; se for mais baixa pode ocorrer grande perda de nitrogênio por volatilização da amônia, se for muito elevada os microrganismos não encontraram N suficiente para síntese de proteínas e terão seu desenvolvimento limitado. Independente da relação C/N inicial, no final da compostagem a relação C/N converge para 10 a 20.

A relação C/N pode ser diminuída pela adição de suplementos, pode haver inibição do crescimento do fungo. Singh e Verma (1996) estudando fontes

de carbono e nitrogênio e interferência da relação entre esses elementos sobre o crescimento de linhagens de *Lentinula lateritia* constataram que o desenvolvimento do fungo foi menor quando a razão foi menor, ou seja, grande quantidade de N no substrato em relação ao teor de C, pode ter um efeito inibitório sobre o crescimento desses fungos. Maziero (1990) observou que o nitrogênio em elevada concentração reprime a degradação da lignina, retardando ou até inibindo completamente o desenvolvimento do fungo. Também comenta que substratos ricos em N não devem ser utilizados isoladamente para o cultivo de cogumelo, devido ao fato de não proporcionarem uma total colonização do substrato e não permitirem a produção de corpos de frutificação.

Song, Cho e Nair (1987) constataram máximo crescimento micelial com a relação C/N de 30:1 e, à medida que aumentavam ou diminuía essa razão, obtinham menores valores de biomassa microbiana.

Jong e Birmingham (1992) citaram que a razão entre C e N afetou a velocidade de crescimento micelial, qualidade do cogumelo, integridade e longevidade dos blocos de substrato durante o ciclo da produção.

Estrutura - estudos demonstraram que a disponibilidade da área de superfície diminuiu com o aumento do tamanho da partícula do substrato, diminuindo a atividade hidrolítica, causando um limitante para agentes hidrolíticos (ZADRIAZIL; PUNIYA, 1995). Sendo assim, quanto mais fina é a granulometria, maior é a área exposta à atividade microbiana, o que promove o aumento das reações químicas, visto que aumenta a área superficial em contato com o oxigênio.

PH - não é um fator crítico na compostagem, mas níveis muito baixos ou muito altos reduzem ou até inibem a atividade microbiana. A passagem à fase termofílica é acompanhada de rápida elevação do pH, que se explica pela hidrólise das proteínas e liberação da amônia. O pH do meio da compostagem depende do substrato de partida. Entretanto, pode ser modificado pelo

metabolismo do microrganismo em crescimento. Os microrganismos anaeróbios tendem a neutralizar o seu próprio meio se tornando assim mais favorável (MUSTIN, 1987).

No que se refere à composição do substrato, existem inúmeras fontes de resíduos para a produção do composto, isso dependerá da região que se encontra para facilitar a aquisição, disponibilidade e custo do transporte.

Bisaria, Madan e Vasudevan (1997) obtiveram um ótimo resultado na produção de cogumelo comestível utilizando como substrato farelo de arroz e trigo.

Straatsma et al. (2000), utilizando bagaço de cana e palha de trigo obtiveram um aumento de produtividade de 20% comparado com a formulação tradicional que é à base de palha de capim e esterco de cavalo fresco.

Em geral, podem-se fazer inúmeras formulações desde que para a finalidade que se propõem, que é o substrato para a produção de cogumelo, observa-se a porcentagem de carbono e nitrogênio presente nos resíduos. Dependendo da formulação efetuada, pode apresentar alguma que necessita de suplementação devido à baixa disponibilidade ou ausência de alguns nutrientes.

2.10 *Agaricus blazei*

O *Agaricus blazei* é um macrofungo, pertencente ao Reino *Fungi*, Divisão: *Eumycota*, Subdivisão: *Basidiomycotina*, Classe: *Hymenomicetes* (*Basidiomycetes*), Ordem: *Agaricales*, Família: *Agaricaceae* e Gênero: *Agaricus*. É um cogumelo comestível e apresenta diversas propriedades farmacológicas, com amplo estudo em virtude de sua grande capacidade de aumentar as defesas naturais do organismo. Em relação às propriedades nutricionais, o fungo apresenta elevado teor de proteínas em forma de aminoácidos, contém vitaminas como: niacina, tiamina e riboflavina (RIBEIRO, 2002).

Há mais de 30 anos, o botânico Takatoshi Furomoto, descobriu nas regiões serranas da Mata Atlântica do Estado de São Paulo, mais especificamente na Região de Piedade, um cogumelo que denominou de “cogumelo Piedade”. Ele verificou que o cogumelo possuía propriedades medicinais e sem recursos técnicos para aprofundar os seus estudos, decidiu enviar o produto para os Centros de Pesquisas da Argentina e Japão. Os estudos no Japão foram iniciados no ano de 1975, mas só em 1996 é que os pesquisadores classificaram o cogumelo com o nome de *Agaricus blazei Murril* (ABM) e deram início as pesquisas de suas propriedades medicinais (KAWAGISHI; INAGAKI; KANAO, 1989; MIZUNO; HAGIWARA; NAKAMURA, 1990).

Após a identificação, começaram as pesquisas e descobriram um polissacarídeo (principalmente β -glucan) que atuava como substância antitumoral. Pesquisas revelam que o polissacarídeo β -glucano atua no organismo humano aumentando as funções imunológicas, acarretando o aumento de macrófagos, “*NATURAL KILLER CELL*” (NKC), células T, células B e células complementares, evitando a regeneração e metástase do câncer (MIZUNO; HAGIWARA; NAKAMURA, 1990).

No Japão, o *Agaricus blazei* recebe o nome comercial de *Himematsutake* ou *Kawariharatake*. Atualmente é cultivado no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais. No Brasil recebe o nome comercial de Cogumelo do Sol e é também conhecido popularmente como cogumelo de Deus, cogumelo princesa e cogumelo piedade (KAWAGISHI; INAGAKI; KANAO, 1989).

Os países da Ásia e da Europa têm a tradição no consumo e cultivo de cogumelos. *Agaricus bisporus* e *Lentinula edodes* são cogumelos mais consumidos no mundo.

Toda a tecnologia da produção do *Agaricus blazei* segue os passos do cogumelo *Agaricus bisporus*, em que sua história vem a partir de produtores de melão que utilizavam palha suja de esterco para aquecer o seu cultivo verificaram o aparecimento de *champignon* na palha. Essa palha foi levada para cavernas e nelas os produtores começaram a obter cogumelos após 4 a 12 meses de espera. No Reino Unido o cultivo data de 1870. A tecnologia de produção de micélio ou matriz para a cultura foi descoberta entre 1893 e 1905 e foi sem dúvida o passo fundamental para o desenvolvimento da produção de *champignon* em todo o mundo.

Durante a 1^a e 2^a Guerra Mundial quando a França foi invadida, esse cultivo de *champignon* em cavernas permitia a produção de alimentos fora das vistas do inimigo e, portanto mais difícil de ser perdido. Confiscada a necessidade e outras dificuldades advindas a guerra levou ao desenvolvimento da cultura do *champignon* e principalmente da produção de “*blanche*” ou “*spawn*” ou seja, o material necessário para semear a espécie (CHALLEN et al., 2000).

A partir daí a evolução do cultivo foi rápida. A produção passou a ser realizada em casa de alvenaria, modulares, com estantes permitindo o máximo aproveitamento de espaço e controle das condições ambientais. Da França o cultivo se espalhou por outros países da Europa e Estados Unidos onde peculiaridades locais introduziam novidades no cultivo (BONONI, 2002).

O cultivo de cogumelo está diretamente ligado a reciclagem econômica de resíduos agrícolas e agroindustriais, tais como o esterco bovino, equino, de aves, porcos e outros animais domésticos, palhas e outros resíduos do trigo, arroz, milho, algodão, madeira, bagaço de cana, resíduos de serrarias e muitos outros (COCHRAN, 1978; CHANG; MILES, 1984, 1989).

Além da versatilidade metabólica, outro aspecto que ressalta a importância dessas fontes alternativas de proteína não convencional, é o elevado

potencial metabólico desses microrganismos, pois o tempo de geração da maioria dos fungos é de apenas algumas horas (PRYBYLOWICZ; DONOGHUE, 1990; ZADRAZIL; DUBE, 1992).

As propriedades medicinais e nutracêuticas de alguns cogumelos também vêm incrementando o seu valor agregado. Os cogumelos já eram utilizados desde os tempos mais remotos com finalidades medicinais para combater hemorragias, cólicas, feridas, asma, e outros problemas. Algumas tribos indígenas brasileiras usavam *Pycnoporus sanguineus* (“orelha de pau cor vermelho intenso”), para a cicatrização de feridas. (BONONI et al., 1995).

Os cogumelos são riquíssimos em vitaminas e sais minerais, o que os qualificam como nutracêuticos dotados de comprovada capacidade nutritiva, juntamente com vários princípios ativos neles contidos, dotados de elevada capacidade, imunomoduladores, inclusive antitumoral e antiviral. O isolamento e identificação bioquímica e molecular dos princípios ativos dos cogumelos são glucanas, AHCC (Componente ativo de hemi-celulose), ergosterol e adrenocromo.

Glucanas: o cogumelo de sol foi profundamente estudado pelo Prof. Ghoneun na UCLA, um dos mais conceituados centros de pesquisas do mundo, em cancerologia, que demonstrou que o extrato aquoso do Cogumelo do Sol, injetado em camundongos, fazia aumentar de maneira significativa a contagem de células NK (CD- 56), as quais são componentes do sistema imunológico com poder destrutivo por citólise de células neoplásicas citado por Veronese (2002).

Ergosterol: recentemente em 2001, Takaku & Cols., no Japão, isolaram uma fração lipídica do cogumelo *Agaricus blazei*, com atividade antitumoral que foi identificada como *Ergostrol*. Administrado por via oral em camundongos com Sarcoma 180 permitiu após 20 dias, uma redução significativa do tumor, sem quaisquer efeitos colaterais. O mecanismo de ação do ergosterol foi comprovado ser a inibição da angiogênese. Tais achados permitiram incluir o

ergosterol como substância antiangiogênica natural, contida no cogumelo *Agaricus blazei* e, desse modo ampliando o atual *armamentarium* antitumoral.

Recentemente, estudos “*in vivo*” em laboratórios do Japão, utilizando frações de extratos hidro-alcóolicos de *Agaricus blazei*, apontaram para uma substância com forte atividade antitumoral, polissacarídeos de ligação beta (beta glucanas), associado a proteínas, formando um complexo glico-proteico de ligação (1-6) β -D-glucan-proteína (MIZUNO; HAGIWARA; NAKAMURA, 1990).

Por outro lado, existem dúvidas quanto às propriedades nutracêuticas dos cogumelos, quando consumidos na forma de chá, tal como propolado pela mídia sobre extratos hidrossolúveis, obtidos por fervura, já existindo dados sobre efeitos hepatotóxicos desses tipos de extratos (EIRA et al., 2000). Outras dúvidas estão relacionadas às linhagens em cultivos, doses e estágio de desenvolvimento do basidioma.

A quimioproteção do cogumelo *Agaricus blazei* na hepatocarcinogênese induzida, está sendo estudada em lesão pré-neoplásicas no fígado de camundongos machos *Wistar*, nas etapas de pré e pós-iniciação, induzidas pela dietilnitrosamina. Os resultados indicam que o tratamento com *A. blazei* não causam toxicidade hepática e renal e apresentam efeitos hepatoprotetores, para doses moderadas do agente hepatocarcinogênico dietilnitrosamina (BARBISAN et al., 2002).

2.11 Fungos termofílicos

Entre os fungos, somente algumas poucas espécies têm a capacidade de crescer a temperatura relativamente alta e podem ser subdivididas em 2 categorias: a dos fungos termófilos (aqueles que possuem temperatura mínima de

crescimento acima de 20°C e temperatura máxima de crescimento acima de 50 °C).

Esses fungos fornecem um excelente sistema para estudos bioquímicos e fisiológicos, principalmente para aqueles fatores relacionados com estabilidade de suas enzimas e proteínas. Fungos termofílicos podem ser empregados em várias atividades humanas de interesse econômico, atuando diretamente na produção da compostagem, por exemplo, e apresentando alto potencial em matéria-prima para a indústria, devido à estabilidade de suas enzimas a altas temperaturas. Normalmente, a ocorrência de fungos termófilos está relacionada a três fatores: disponibilidade de matéria orgânica para decomposição, umidade adequada e condições de aerobiose. Entre os fungos termófilos podemos encontrar representantes dos gêneros *Phycomycetos*, *Ascomycetos* e outros fungos imperfeitos.

A celulase é uma das enzimas secretadas pelos fungos termófilos em ocasiões que lhe convém. O sistema celulase em fungos compreende 3 enzimas: a endo (1,4) β -D- glucanase (ou simplesmente endoglucanase) a qual cliva aleatoriamente ligações β -glicosídicas, normalmente nas partes amorfas da celulose, a exo (1,4) β - glucanase (exoglucanase) a qual libera celobiose das extremidades redutoras e não redutoras, geralmente da porção cristalina da celulose e a β - glucosidase (celobiase), que libera glicose da celobiose (BHARADW; MAHESHWARI, 1999).

Diversas observações têm correlacionado a liberação das enzimas do sistema celulase com a degradação da celulose e o crescimento do micélio. Em geral, a celulose cristalina parece ser superior na indução das enzimas da celulase em fungos termófilos em relação às formas amorfas (HAASUM et al., 1991), embora alguns fungos termófilos tenham apresentado comportamento oposto, com altas produções de enzimas do sistema celulase quando crescidos em meio contendo hemicelulose (KALOGERIS et al., 2001).

As endoglucanases de fungos termófilos são termoestáveis, com massa molecular de 30 a 100 kDa, com atividade ótima entre 55 e 80 °C entre pH 5,0 a 5,5. As exoglucanases (40 a 70 kDa) são mais ativas entre 50 a 75 °C e são termoestáveis. Ambas as enzimas são glicoproteínas e ensaios realizados após desglicosilação indicaram forte redução na atividade catalítica, sugerindo que a presença do carboidrato é importante na estabilização da estrutura enzimática (KALOGERIS et al., 2001).

Xilana é um polissacarídeo estrutural mais abundante na natureza. Sua completa degradação requer a ação cooperativa de uma variedade de enzimas hidrolíticas: a endoxilanas (cliva aleatoriamente resíduos de xilose ligados por β -1,4), β -xilosidases (hidrolisa xilooligômeros); e diversas enzimas (α -glucuronidase, α -arabinosidase, etc.) que liberam outros açúcares que estão ligados lateralmente ao esqueleto de xilana (BIELY, 1985). As xilanas de fungos termófilos têm recebido especial atenção pela possibilidade de sua utilização na indústria de papel, onde a remoção enzimática das cadeias laterais de xilana ligadas à lignina elimina o tratamento químico realizado com o cloreto, reduzindo custo do processo de clarificação do papel.

Tendo essas enzimas termoestáveis no processo de compostagem, pela alta presença de fungos termófilos, ocorre o interesse de se estudar os metabólitos presentes durante o processo para uso posterior nas indústrias como forma de degradação da fibra sem produtos químicos que podem afetar o meio ambiente, trazendo degradações futuras.

3 COMPOSTO

A compostagem é praticada desde a história antiga, porém até recentemente, de forma empírica. Gregos, romanos, e povos orientais já sabiam que resíduos orgânicos podiam ser retornados ao solo ou para alguma outra forma de utilização. No entanto, só a partir de 1920, com Albert Howard, é que o processo passou a ser pesquisado cientificamente e realizado de forma racional. Nas décadas seguintes, muitos trabalhos científicos lançaram as bases para o desenvolvimento dessa técnica, que hoje pode ser utilizada em escala industrial. Esse processo pode ser definido como uma biooxidação aeróbica exotérmica de um substrato orgânico heterogêneo, no estado sólido.

Os componentes orgânicos biodegradáveis passam por etapas sucessivas de transformação sob a ação de diversos grupos de microrganismos, resultando num processo bioquímico altamente complexo (EPSTEIN,1998).

A quebra da parte lignocelulósica consiste em três maiores componentes: celulose, hemicelulose e lignina com 50%, 20-30% e 10-20% respectivamente. Contudo tecnologias físicas e químicas, em alguns casos, importantes associações ocorrem para o tratamento ou reutilização dessa quebra, semelhantes bioconversões são essenciais para uma rápida conversão prática desses processos. Existem processos economicamente viáveis para a bioconversão da quebra da parte lignocelulolítica que é o cultivo de cogumelos. (CHANG; MILES, 1991). Os cogumelos são alimentos de função nutricional (BUSWELL; CHANG, 1993), e mais recentemente, a atenção foi focada para uma área secundária de exploração com a descoberta que alguns cogumelos produzem metabólitos de grande interesse nutricional e farmacêutico (antitumorais, agentes de imunomodulação e agentes hipocolesterol) (LIU; OOI; CHANG, 1995; MIZUNO et al., 1995) e alimento (componentes de *flavours*) industriais (JONG; BIRMINGHAM, 1992).

Cogumelos são adaptados a se desenvolver em várias fontes lignocelulolíticas, incluindo dessa maneira materiais como grãos de cereais, palhas, algodão de indústrias têxtil (CHANG, 2001), bagaço de cana e polpa de café. A utilização desses subprodutos insolúveis por cogumelos é dependente da produção e secreção de enzimas hidrolíticas (xilanase e celulase) e oxidativas (lacase, peroxidase e glicosidase) que quebram as macromoléculas de celulose, hemicelulose e lignina em moléculas menores, importantes para seu desenvolvimento (BUSWELL; CHANG, 1993). A produção dessas enzimas no micélio do cogumelo é parte crucial para o processo de colonização. A proliferação das enzimas varia de acordo com o cogumelo e o substrato utilizado no cultivo.

Como se sabe o Brasil é rico em subprodutos da agricultura, sendo a cana-de-açúcar de grande importância sócioeconômica para o país. Sendo o bagaço um subproduto da indústria açucareira, e é de interesse para os produtores de cogumelo por ser rico em fibras, com 48% do seu peso, sendo utilizado posteriormente ao processo de compostagem.

Dessa maneira, após a produção de cogumelos se tem um subproduto das “indústrias” de cogumelos, sendo um material com baixo teor de fibra e rico em proteínas, pela presença de micélio envolto no substrato e nitrogênio aminoacídico devido à atividade de proteases e, estudos *in vitro* durante fermentação sólida, essa presença justifica-se pela perda de CO₂. (RAJARATHNAM; BANO, 1988).

O grau de decomposição do substrato pode ser avaliado através da medida das substâncias solúveis em água liberadas ou açúcares liberados. Segundo estudos apresentados por Rajarathnam e Bano (1988) há um aumento progressivo das substâncias solúveis em água durante o cultivo de *Pleurotus flabelatus* em palha de arroz e palha de trigo, sendo que o substrato residual apresentou 4 vezes mais açúcares solúveis que a palha não degradada.

Constatou-se também uma diminuição progressiva dos compostos fenólicos com o aumento do período de incubação, devido à atividade das enzimas oxidativas, secretadas pelo *Agaricus* e que degradam fenóis.

Estudos com *Pleurotus* e *Agaricus* demonstraram que a diminuição no teor de celulose encontrada foi maior durante a frutificação devido à alta taxa metabólica do cogumelo nessa fase de construção dos corpos de frutificação (RAJARATHNAN; BANO, 1989).

A degradação de lignina por *Agaricus spp* através da lacase é maior durante a fase de colonização do substrato pelo micélio. A quebra da lignina permite a liberação de celulose e hemicelulose nessa primeira fase do ciclo de vida facilitando o acesso das mesmas para a degradação enzimática (RAJARATHNAN; BANO, 1989).

3.1 Substrato pós-produção de cogumelo

O grau de decomposição do substrato pode ser avaliado através da medida das substâncias solúveis em água liberadas ou açúcares liberados. Segundo estudos apresentados por Rajarathnam e Bano (1988) há um aumento progressivo das substâncias solúveis em água durante o cultivo de *Pleurotus flabelattus* em palha de arroz e palha de trigo, sendo que o substrato residual apresentou 4 vezes mais açúcares solúveis que a palha não degradada.

De acordo com os mesmos autores há uma tendência de aumento no teor de nitrogênio aminoacídico no substrato residual devido à atividade de proteases e estudos *in vitro* durante fermentação sólida, esse aumento justifica-se pela perda de CO₂.

Constatou-se também uma diminuição progressiva dos compostos fenólicos com o aumento do período de incubação, devido à atividade das enzimas oxidativas, secretadas pelo *Agaricus* e que degradam fenóis.

A diminuição no teor de celulose do substrato depende da espécie cultivada e da quantidade produzida. Estudos com *Pleurotus* e *Agaricus* demonstraram que a diminuição no teor de celulose encontrada foi maior durante a frutificação devido à alta taxa metabólica do cogumelo nessa fase de construção dos corpos de frutificação (RAJARATHNAN; BANO, 1988).

A degradação de lignina por *Agaricus spp* através da lacase é maior durante a fase de colonização do substrato pelo micélio. A quebra da lignina permite a liberação de celulose e hemicelulose na primeira fase do ciclo de vida, facilitando o acesso das mesmas para a degradação enzimática (RAJARATHNAN; BANO, 1988).

3.2 Composto na alimentação animal

Após o ciclo de produção, os substratos utilizados podem servir como fertilizantes no solo, uma vez que são ricos em nutrientes. Esses substratos podem ainda ser reciclados, misturando-se a outros materiais orgânicos e servindo como material para terra de cobertura no cultivo do “*champignon*”.

Resíduos lignocelulósicos podem ainda ser aproveitados como ração animal após o processo de bioconversão por fungos basidiomicetos. Nesses casos, a fermentação sólida aumenta a digestibilidade do substrato lignocelulósicos destinados para alimentação de ruminantes. A digestibilidade da palha de trigo pode ser incrementada utilizando-se *Pleurotus spp.* em experimentos em reatores, em larga escala. Por outro lado, no Chile pode-se observar a ocorrência de um processo de biodegradação em condições naturais, denominado de “Palo Podrido”. Troncos de árvores que ocorrem naquele país, como *Drymis winteri*, *Eucriphia cordifolia*, *Laurelia phippiana* e *Nothofagus dombeye*, são degradados por uma espécie de basidiomiceto causador de podridão branca, *Ganoderma applanatum*. O material resultante desse processo

de degradação é utilizado como forragem para ruminantes, uma vez que após a degradação da lignina o substrato torna-se mais digerível e há ainda, um aumento do teor proteico do substrato (BONONI,1999).

Zhang, Gong e Li (1995), estudando compostos de *Pleurotus ostreatus* com inóculo de *Aspergillus candidus*, concluíram que ocorreu um aumento de proteína bruta de 24,1 para 36,7 e uma diminuição de fibra bruta de 14,8% para 9,8%. E quando analisou aminoácidos houve um aumento tanto nos totais como essenciais, concluindo a efetiva utilização pelo composto na alimentação animal.

Bisaria, Madan e Vasudevan (1997) estudaram a bioconversão do farelo de arroz e de trigo com *Pleurotus sajor-caju*, analisando degradação de hemicelulose, celulose e lignina ocorrendo um decréscimo de 25,6% para 14,4%; 35,8% para 17,9% e 17,2% para 9,5%, respectivamente. A proteína bruta aumentou de 2,87% para 6,3%; e a digestibilidade *in vitro* aumentou de 19,7% para 29,8%. O segundo experimento analisou suplementação de nitrogênio orgânico e inorgânico na bioconversão avaliando os mesmos fatores acima; o nitrato de amônio resultou no máximo 34,7% de matéria orgânica devido à provável boa assimilação de nitrogênio. A atividade máxima de xilanase ocorreu após 20 dias da fermentação.

Zadrazil e Puniya (1995) estudaram a degradação do composto para aumentar a digestibilidade da lignina presente no bagaço de cana com *Pleurotus spp*, com diferentes frações. Concluindo que nas frações de bagaço não apresentaram diferenças significativas para porcentagem de lignina e carbono, mas houve um acréscimo na digestibilidade e conteúdo de nitrogênio na menor fração de bagaço (< 1mm).

Além de se observar pesquisas em nível de substrato de cogumelo, para alimentação, temos que ressaltar a importância do corpo de frutificação (basidiocarpo), em nível de substituição ou suplementação na ração animal. Sendo relevante seu interesse por atuar em vários campos de funcionamento no

organismo, tanto animal como humano podendo citar: nível de proteína, ação anticoccidiana, ação antibiótica e ação sobre a vitamina D₂ (ergosterol).

Mizuno et al. (1998) trataram fêmeas de ratos, via oral com frações solúveis de água quente de *Agaricus blazei* e compararam com ratos tratados somente com solução salina. O principal componente ativo do polissacarídeo foi complexo de α -1,6 e α -1,4 glucanas. Os resultados demonstraram que os polissacarídeos de *Agaricus blazei* iniciam uma atividade antitumoral através da modulação da resposta do sistema imune em fêmeas de ratos de laboratório com tumores.

Fuini (2001) testando a utilização do cogumelo *Agaricus blazei* com função de antibiótico na ração de frango de corte analisou o desempenho e espessura das microvilosidades e os resultados mostraram que não houve diferença significativa para consumo de ração, mas que a porcentagem de 0,25% do cogumelo na ração, melhorava o ganho de peso e a conversão alimentar no período de 1 a 21 dias de idade. Com relação à resposta do sistema imune não foi influenciado comparado com a testemunha, isso foi devido ao tempo pequeno de atuação do composto ser reduzindo para sua ação visto que, os resultados são observados com mais de quarenta dias.

3.3 Probióticos

Os probióticos foram definidos por vários autores, como organismos ou substâncias que contribuem para o equilíbrio da microbiota, sendo atualmente utilizados como promotores de crescimento, em substituição aos antibióticos (PARKER citado por SUIDA, 1994).

Os probióticos podem ser definidos ainda como uma cultura de microrganismos vivos, principalmente o *Lactobacillus sp.*, que alcançam o trato digestivo do animal por meio do alimento e garantem o efetivo estabelecimento

da população intestinal de microrganismo. A cultura deve consistir de uma quantidade específica da bactéria presente, ser mantida na forma desidratada para fins de armazenamento e produzir uma resposta ótima de uma dose específica (CRAWFORD, 1979). Os probióticos são microrganismos naturais do intestino que, após dosagem oral estabilizam e colonizam o trato gastrintestinal, evitando a colonização de microrganismos patogênicos, assegurando assim melhor utilização dos alimentos (WOLTER; HENRY citado por SUIDA, 1994).

Outro conceito, o de Fuller (1988) define que probiótico é um suplemento aditivo de ração constituído por um agente microbiano vivo, que atua benéficamente no hospedeiro, melhorando o equilíbrio da microflora do intestino. O autor menciona também que o efeito dos probióticos é nulo quando os animais não estão contaminados com microrganismos patogênicos.

Os probióticos em sua maioria têm como organismos ativos os *Lactobacillus*, os *Streptococcus*, os *Bacillus* e as leveduras, usados isoladamente ou associados (ZUANON, 1995).

3.3.1 Modo de ação dos probióticos

O modo de ação dos probióticos não está totalmente esclarecido, existindo vários conceitos, explicações e hipóteses, de acordo com os diversos pesquisadores.

Os probióticos atuam inibindo a proliferação de bactérias patogênicas pela produção de ácidos orgânicos e substâncias antibióticas ou pela redução do pH. Bactérias como os *Lactobacillus* são capazes de produzir grandes quantidades de ácido láctico e também ácidos orgânicos, como o ácido acético prejudicial para *E.coli*, e algumas bactérias *gram*-negativas. Essas bactérias benéficas também atuam produzindo enzimas digestivas, sintetizando vitaminas, produzindo metabólitos capazes de neutralizar toxinas bacterianas *in loco* ou

inibindo sua produção; ainda aumentam a imunidade da mucosa intestinal, em resposta às bactérias enteropatogênicas que proliferam no trato digestivo, competindo assim, com as bactérias patogênicas (FERKER, 1999).

Ewing e Cole (1994) descreveram que os Lactobacilos são capazes de influenciar a atividade das enzimas dos microvilos, as quais estão envolvidas no processo de absorção dos nutrientes e dessa forma, beneficiar o hospedeiro.

A maioria das teorias descritas, a que tem se destacado é a teoria da exclusão competitiva. A exclusão de bactérias patogênicas pode ocorrer devido à competição por sítios de adesão às células do epitélio do intestino delgado, onde bactérias como *Lactobacillus* retardam e previnem a proliferação de bactérias patogênicas, ocupando os sítios de adesão ou produzindo um biofilme, que protege fisicamente as células epiteliais, inclusive contra viroses (GEDEK citado por ZUANON,1995).

Os probióticos devem ser estáveis nos alimentos e resistentes à ação de agentes antimicrobianos presentes nas rações e no trato digestivo, sendo também estáveis à ação dos ácidos gástricos durante sua passagem no estômago.

3.4 Modo de ação dos antibióticos

Os antibióticos são utilizados comercialmente desde a década de 1950, pois sua presença em baixas doses na alimentação das aves e outros animais pode produzir uma melhora na conversão alimentar e no crescimento. Segundo Colusi (1993), os antibióticos administrados em pequenas doses e mantidos no alimento durante toda a vida são capazes de produzir uma “seleção na microbiota intestinal a favor das bactérias benéficas”, promovendo uma melhor absorção de nutrientes.

O modo de ação dos antibióticos promotores de crescimento não está completamente claro. Entretanto, para Lancini (1994) eles devem atuar

impedindo o metabolismo bacteriano e reduzindo a competição direta pelos nutrientes entre a bactéria e o hospedeiro. Além disso, reduzir a produção microbiana de metabólitos tóxicos, como as aminas, amônia e endotoxinas que afetam o epitélio intestinal e impedem a absorção de nutrientes.

Lancini (1994) observou também que a presença de antibióticos promotores de crescimento na ração pode aumentar as atividades específicas de determinadas enzimas intestinais e melhorar a absorção de nutrientes, como os aminoácidos. A suplementação com antibióticos reduz a solicitação dietética de proteínas, sugerindo que essa redução seja responsável pela melhora no desempenho de animais que receberam dietas contendo antibióticos.

Ferket (1990) afirma que tais mecanismos basicamente contribuíram para uma melhor utilização dos nutrientes pelas aves, bem como os antibióticos que atuam como promotores de crescimento e são mais ativos contra bactérias *gram*-positivas do que *gram*-negativas, afetando a síntese da parede celular, DNA ou proteínas.

No entanto, Hays (1978) afirma que quando os antibióticos são usados como promotores de crescimento, seus níveis nos tecidos provavelmente não são suficientes para explicar os efeitos no incremento de crescimento.

3.5 Antibióticos versus Probióticos

Há décadas os probióticos e os antibióticos têm sido estudados com o objetivo de melhorar a produtividade; atualmente as pesquisas mostram que a utilização do probiótico é mais racional por não deixar resíduo no meio ambiente, na carcaça do animal e não provocar resistência cruzada com o homem quando comparado ao antibiótico. Atualmente existe uma tendência de aumentar o uso de probióticos nas dietas dos animais em lugar dos antibióticos.

Os probióticos podem substituir os antibióticos: (1) como promotores de crescimento, inibindo o desenvolvimento de bactérias *gram*-negativas; (2) no tratamento de diarreias alimentares ou bacterianas, quando tratadas no início e (3) após o uso de grandes quantidades de antibióticos, como fator de repovoamento de bactérias no trato gastrintestinal.

Bertechini e Hossain (1993) avaliaram promotores de crescimento para frangos de corte e observaram ganho de peso e conversão alimentar significativamente melhores para os tratamentos com virginiamicina mais probiótico Biobac (*Lactobacilua acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Sacharomyces cerevisiae*) em relação ao controle. Porém, não observaram diferenças significativas nos parâmetros estudados entre os tratamentos com virginiamicida mais probiótico e os tratamentos com virginiamicida ou probiótico adicionados às rações isoladamente.

Em um experimento, Álvares, Barra e Gonzáles (1994) também avaliaram o efeito da adição de diferentes promotores de crescimento em dietas de frangos de corte sobre o desempenho. Os produtos avaliados foram *Bacillus subtilis*, bacitracina de zinco e *Lacto-sacc* (*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae* e enzimas). Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto ao ganho de peso das aves, embora o uso da bacitracina de zinco tenha proporcionado um aumento de 8,1% no ganho de peso das aves em relação à testemunha, seguido pelo *Lacto-sacc* com 2,3% e o *Bacillus subtilis* com um aumento de 1,5%. Em relação à conversão alimentar, constatou-se um efeito favorável do probiótico de 2,1%, do antibiótico de 6,3% e de 3,3% do *Lacto-sacc*. Quanto ao consumo de ração, os resultados foram similares entre os tratamentos.

Para avaliar o efeito das rações que continham antibióticos (Colistina e Avoparcin) quimioterápico (*Promax*) e o probiótico (*Toyocerin* composto por

Bacillus toyoi) no desempenho de frangos de corte, Zuanon (1995) realizou dois experimentos. Na fase inicial verificou que as aves alimentadas com dietas contendo probióticos diminuíram o consumo, enquanto as que receberam o antibiótico Avoparcin e Colistina mais Avoparcin apresentaram peso, ganho de peso e conversão alimentar significativamente melhor.

Henrique (1998) realizou um experimento para avaliar o efeito das dietas com os antibióticos virginiamicida e avilamicida, com os probióticos *Biobac* (*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*) e *Calsporin Bs* (*Bacillus subtilis*), e a combinação desses produtos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. Não se observou efeito dos aditivos no consumo da ração, ganho de peso, conversão alimentar, fator de produção e rendimento de carcaça, embora a conversão alimentar dos animais que receberam antibióticos tenha apresentado, na quinta semana de criação, um melhor índice. Com relação à mortalidade, constatou-se uma elevação na presença dos antibióticos e redução na presença dos probióticos em relação ao controle.

Loddi et al. (1998), trabalhando com rações contendo probiótico com *Enterococcus faecium* ou o antibiótico Avoparcina para frangos de corte durante um período de 42 dias, concluíram que a adição de probiótico possibilita a obtenção de melhores resultados de rendimentos de carcaça quando associados ao uso de antibióticos.

3.6 Microvilosidades

O intestino delgado das aves se define como a porção do tubo digestivo em que ocorre os processos finais da digestão dos alimentos e de absorção dos produtos da digestão, apresentando três porções: duodeno, jejuno e íleo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Essas partes do intestino possuem numerosas adaptações que aumentam a superfície absorptiva e secretora: comprimento, pregas, vilos e microvilos. Embora existam características diferenciadoras das várias regiões do intestino, compartilhando muitas características em comum.

As vilosidades apresentam dimensões diferentes e aumentam sensivelmente a superfície de absorção. Entre as vilosidades localizam-se as glândulas intestinais ou criptas, que se estendem de base das microvilosidades até a musculatura da mucosa. O epitélio das glândulas intestinais e das vilosidades é contínuo, sendo renovado com grande rapidez em função das células epiteliais se desprenderem periodicamente das pontas das vilosidades (TEIXEIRA, 1999).

Na junção íleo-cecal, que é considerada a parte final do intestinal delgado, e onde se inicia o intestino grosso, na qual se segue o final da parte da absorção.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, L. C.; BARRERA, E. M.; GONZÁLES, E. A. Evaluación de promotores del crecimiento para Pollos de engorda. **Veterinaria México**, México, v. 24, n. 2, p. 141-144, feb. 1994.
- BARBISAN, L. F. et al. Influence of aqueous extract of *Agaricus blazei* on rat liver toxicity induced by different doses of diethylnitrosamine. **Journal of Ethnopharmacology**, Botucatu, v. 83, p. 25-32, 2002.
- BERTECHINI, A. G.; HOSSAIN, S. M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frango de corte. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1., 1993, Santos. **Anais...** Santos: Apinco, 1993. p. 1.
- BHARADW, A. J. G.; MAHESWARI, R. A comparison of thermal characteristics and kinetic parameters of trehalases from a thermophilic and mesophilic fungus. Sociedade Europeia, **FEMS Microbiology Letters**, Paris, v. 181, p. 187-193, 1990.
- BIELY, P. Microbial xylanolytic systems. **Trends Biotechnology**, Bratislava, v. 3, p. 286-290, 1985.
- BISARIA, R.; MADAN, M.; VASUDEVAN, P. Utilisation of agro-residus as animal feed through bioconversion. **Bioresource Technology**, Essex, v. 59, p. 5-8, 1997.
- BLANDÓN-CASTANO, G.; RODRÍGUEZ-VALENCIA, N.; DÁVILA-ARIAS, M. T. Caracterización microbiológica y fisico-química de los productos del beneficio del café en proceso de compostaje. **Cenicafé**, Chinchina, v. 49, p. 169-185, 1998.
- BONONI, V. L. R. **Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1999. 184 p.
- BOOTH, C. **The genus Fusarium**. Surrey: Commonwealth mycological Institute, 1971. 237 p.
- BRAGA, G. C.; EIRA, A. F. **Cultivo de cogumelo do sol (*Agaricus blazei*)**. Viçosa, MG: CPT, 1997. 160 p.

BUSWELL, J. A.; CAI Y. J.; CHANG, S. T. Ligninolytic enzyme production and secretion in edible mushroom fungi. In: INTERNATIONAL CONFERENCE MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS, 2., 1996, Pennsylvania. **Anais...** Pennsylvania: [s. n.], 1996. p. 113-122.

BUSWELL, J. A.; CHANG, S. T. Edible mushrooms: Attributes and applications. In: CHANG, S. T. (Ed.). **Genetics and breeding of edible mushrooms**. Switzerland: Gordon and Breach Science, 1993.

CHALLEN, M. P. et al. Transformation technologies for mushrooms. **Mushroom Science XV**, Maastricht, v. 1, p. 165-172, 2000.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. A new look at cultivated mushrooms. **Bioscience**, California, v. 3, n. 6, p. 358-362, 1984.

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

CHANG, S. T.; MILES, P. G. Recent trends in world mushroom production cultivated edible mushroom. **Mushroom Journal**, Boca, v. 504, p. 15-18, 1991.

CHANG, S. T.; QUIMIO, T. H. **Tropical mushrooms**: biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University, 1982.

COCHRAN, K. W. The biology and cultivation of Edible Mushroom. In: CHANG, S. T.; HAYES, W. A. (Ed.). New York: Academic, 1978. p. 169-187.

COLAUTO, N. B. Cultivo de cogumelos utilizando diferentes camadas de cobertura. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS, 1., 2002, Brasília. **Anais...** Brasília: SICOG, 2002. p. 77-80.

COLUSI, A. D. Uso Racional de antibióticos e quimioterápicos em avicultura. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1., 1993, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 1993. p. 67-81.

COUTINHO, L. N. Doenças fúngicas e fungos competidores em cogumelos comestíveis do gênero *Agaricus*. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE, 3., 2000, Mogi das Cruzes. **Anais...** Mogi das Cruzes: Instituto de Biologia, 2000. p. 96-103.

- CRAWFORD, J. S. "Probiotics" in animal nutrition. In: ARKANSAS NUTRITION CONFERENCE, 1., 1979, Arkansas. **Proceeding...**Arkansas: [s. n.], 1979. p. 123-129.
- EIRA, A. F. Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS, 1., 2002, Brasília. **Anais...** Brasília: [s. n.], 2002. p. 77-80.
- EIRA, A. F. Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente). In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUIÇÃO BIOLÓGICO, 3., 2000, Mogi das Cruzes. **Anais...** Mogi das Cruzes: [s. n.], 2000. p. 83-95.
- EIRA, A. F. et al. Efeitos da temperatura de preparação, sobre ação antitumoral de extrato de cogumelos comestíveis. In: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 52., 2000, Brasília. **Anais...** Brasília: Universidade de Brasília, 2000. p. 38.
- EIRA, A. F.; MIMHONI, A. **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis.** Botucatu: FEPAF/UNESP, 1997. 115 p. Módulo de cogumelos.
- EPSTEIN, E. **The science of composting.** Lancaster: Technomic, 1998. 487 p.
- EWING, W. N.; COLE, D. J. A. **The living gut:** na introduction to microorganismos in nutrition. Dungannon: Context, 1994. 220 p.
- FERKET, P. R. Effect of diet gut microflora of poultry. In: GEORGIA NUTRITION CONFERENCE, 1., 1990, Atlanta. **Proceedings...** Atlanta: Georgia University, 1990. p. 123-129.
- FIELD, J. A. et al. Screening for ligninolytic fungi aplicable to the biodegradation of xenobiotics. **Trends in Biotechnology**, São Paulo, v. 11. p. 44-49, 1993.
- FIGUEIREDO, M. B.; MUCCI, E. S. F. Doenças e pragas do cogumelo comestível (*Agaricus campestris* L.). **Biológico**, São Paulo. v. 51, n. 4, p. 93-104, 1985.
- FLEGG, P. B.; SPENCER, D. M.; WOOD, D. A. **The biology and technology of the cultivated mushroom.** Chichester: J. Wiley, 1985.
- FLETCHER, J. F.; WHITE, P. F.; GAZE, R. H. **Mushrooms:** pest and disease control. Newcastle: Intercept, 1986. 156 p.

FUINI, M. G. **Utilização do cogumelo *Agaricus blazei* como alternativa ao uso de antibiótico em rações para frango de corte.** 2001. 64 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

FULLER, R. Basis and efficacy os probiótics. **World Poultry Science Journal**, Shinfiel, v. 44, n. 1, p. 69-70. Feb. 1988.

GIBBONS, W. R.; MAHER, A. A.; TODD, R. L. Button Mushroom production in syntetic compost derived from agricultural wastes. **Biosource Technology**, Chaska, v. 38, n. 1, p. 65-77, 1991.

HAASUM, I. et al. Growth and glucoamylase from *Thermonospora* sp.: influence of additives on thermostability. **Bioresource Technology**, Chaska, v. 34, p. 656-660, 1991.

HAYS, V. M. **The role of antibiotics in efficient livestock production.** New York: Nutrition and Drug Interactions, 1978.

HENRIQUE, A. P. F. **Efeito de probióticos, antibióticos e ácidos orgânicos e suas combinações sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte.** 1998. 88 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1998.

IMBERNON, M.; LEPLAE, M. Microbiologie des substrates destins e la culture del champignon de couche. **Mushroom Sciense**, Eugene, v. 8, p. 363, 1972.

JONG, S.; BIRMINGHAN, S. Cultivation of shiitake mushroom on synthetic logs in the United States. **Mushroom Research**, Eugene, v. 1, p. 67-71, 1992.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 443 p.

KALOGERIS, E. et al. Catalytic properties of the endoxylanase I from *Thermoascus aurantiacus*. **Journal of Molecular Catalysis Bb: Enzymatic**, Athens, v. 11, n. 4, p. 491-501, 2001.

KAWAGISHI, H.; INAGAKI, K.; KANAOKA, T. Fractionation and antitumor activity of the water-in-soluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 186, p. 267-273, 1989.

KOPYTOWSKI, J. **Relação C/N e proporção de fontes nitrogenadas na produtividade do *Agaricus blazei* Murrill e poder calorífico do composto.** 2002. 101 p. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2002.

LAMBERT, E. B. Studies on the preparation of mushroom compost. **Journal Agricultural Research**, Lahore, v. 62, p. 415, 1941.

LANCINI, J. B. Fatores exógenos na função gastrointestinal: aditivos. In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA. **Fisiologia da digestão e absorção das aves.** Campinas: FACTA, 1994. p. 99-126.

LIU, F.; OOI, V. E. C.; CHANG, S. T. Antitumour components of the culture filtrates from *Tricholoma sp.* **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Houndmills, v. 11, p. 486-490, 1995.

LODDI, M. M. et al. Adição de probiótico e antibiótico como promotor de crescimento para frangos de corte: características de carcaça. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1., 1998, Campinas. **Anais...**Campinas: APINCO, 1998. p. 31.

MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus spp.*** 1990. 136 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

MIZUNO, T. et al. Antitumor-active substances from mushrooms. **Food Reviews International**, New York, v. 11, n. 1, p. 23-61, 1995.

MIZUNO, T. et al. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subse in mice. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Bethesda, v. 62, n. 3, p. 434-437, 1998.

MIZUNO, T.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. **Agricultural Biological Chemistry**, Tokyo, v. 54, n. 11, p. 2889-2896, 1990.

MONTINI, J. C. et al. **Métodos de armazenamento de matrizes.** São Paulo: FAPESP, 2002. 26 p.

MUSTIN, M. **Le compost: gestion de la matùre organique.** Paris: Français Dubus, 1987. 954 p.

NUSSIO, L. G.; BALSALOBRE, M. A. A. Utilização de resíduos fibrosos na industrialização da cana de açúcar na alimentação de bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 5., 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 127-150.

PRYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. **Shiitake growers handbook: the art and science of mushroom cultivation**. Dubuque: Kendall/Hunt, 1990. 217 p.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms. Pathology *in vitro* and *in vivo* growth requirements and world status. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, 26, v. 3, p. 243-311, 1988. Part 1B.

RIBEIRO, V. L. Produção de *Agaricus blazei* Murril no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELO NA ALIMENTAÇÃO, 1., 2002, Brasília. **Anais...** Brasília: [s. n.], 2002. p. 71-76.

RODALE, J. I. **The complete book of composting**. Washington: Department of Agriculture, 1971. 1007 p. (Agriculture Information Bulletin, 464).

ROSA, D. D. et al. Exame e controle bacteriológico em amostras do cogumelo *A. blazei* com vistas ao seu uso nutricional. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20., 1999, Salvador. **Anais...** Salvador: [s. n.], 1999. p. 381.

SAN ANTONIO, J. P. Origin and improvement of spawn of the cultivated mushroom *Agaricus brunnescens* Pk. **Horticultural Reviews**, New York, p. 85-111, 1984.

SAN ANTONIO, J. P. Stability of "spawn" stocks of the cultivated mushroom stored for nine years in liquid nitrogen. *Mushroom Science* (part 1) In: INTERNATIONAL CONGRESS ON THE SCIENCE AND CULTIVATION OF EDIBLE FUNGI, 10., 1978, Paris. **Proceedings...** Paris: [s. n.], 1978. p. 103-113.

SINGH, T. G.; VERMA, R. N. Studies on carbon and nitrogen of *Lentinula lateritia*. Peger strains from northeastern India. In: INTERNATIONAL CONFERENCE MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS, 2., 1996, Pennsylvania. **Proceedings...** Pennsylvania: [s. n.], 1996. p. 345-354.

SOCCOL, C. A.; FAN, L. Desenvolvimento de bioprocessos para produção de fungos do tipo *Pleurotus*, *Lentinus*, *Flammulina* a partir dos resíduos da agroindústria do café no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NA ALIMENTAÇÃO, SAÚDE, TECNOLOGIA E MEIO AMBIENTE NO BRASIL, 1., 2002, Brasília. **Anais...** Brasília: [s. n.], 2002. p. 79-80.

SONG, C. H.; CHO, K. Y.; NAIR, N. G. A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. **Mycologia**, New York, v. 6, p. 866-876, 1987.

STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E. A. **Mundo dos micróbios**. Piracicaba: São Paulo, 1969. 741 p.

STEINECK, H. **Cultivo comercial del champiñón**. 2nd ed. Madrid: Acribia, 1987. 142 p.

STRAATSMA, G. et al. Adjustment of the composting process for mushroom cultivation based on initial substrate composition. **Bioresource Technology**, Wageningen, v. 72, p. 67-74, 2000.

STRAATSMA, G. et al. Ecology of thermophilic Fungi in mushroom compost, with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 2, p. 454-458, 1994a.

STRAATSMA, G. et al. Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in button mushroom compost and its effect on yield. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 9, p. 3049-3054, 1994b.

SUIDA, D. **Estimulantes do desempenho de galinhas poedeiras e de frangos de corte**. 1994. 59 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1994.

TEIXEIRA, A. O. **Efeitos das dietas simples e complexas sobre a morfologia intestinal de leitões até 35 dias de idade**. 1999. 60 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1999.

VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. **The cultivation of mushrooms**. Rustington: Darlington Mushroom Laboratories, 1988. 134 p.

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

WORRAL, J. J.; YANG, C. S. Shiitake and oyster mushroom production on apple pomace and saw dust. **Hortscience**, New York, v. 27, n. 10, p. 1131-1133, 1992.

WUEST, P. J.; DUFFY, M. D.; ROYSE, D. J. **Six steps mushroom farming**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, 1980. v. 256, p. 1-6.

ZADRAZIL, F.; DUBE, H. C. The oyster mushrooms: importance and prospects. **Mushroom Research**, Eugene, v. 1, n. 1, p. 25-32, 1992.

ZADRAZIL, F.; PUNIYA, A. K. Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white: rot fungi. **Bioresource Technology**, Braunschweig, v. 54, p. 85-87, 1995.

ZHANG, C. K.; GONG, F.; LI, D. S. A note on the utilisation of spent mushroom compost in animal feeds. **Bioresource Technology**, Essex, v. 52, p. 89-91, 1995.

ZUANON, J. A. S. **Efeito de promotores de crescimento de frangos de corte**. 1995. 70 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1995.

CAPÍTULO 2 Diversidade microbiana durante a compostagem de bagaço de cana para a produção de *Agaricus brasiliensis*

RESUMO

Os cogumelos comestíveis têm ganhado atenção devido às suas propriedades nutricionais e medicinais. A viabilidade econômica do processo de produção de cogumelos depende da composição química do substrato, forma de preparo do composto, nutrientes adicionados além da espécie a ser cultivada. Os custos de produção devem ser reduzidos e os resíduos agroindustriais são uma fonte alternativa e econômica de composto para cultivo de cogumelos. A interação da microbiota natural dos resíduos durante o processo de compostagem influenciará na colonização do cogumelo no composto após o período de compostagem. Assim, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar a microbiota presente no composto à base de bagaço de cana para produção de *A. brasiliensis*. Foi utilizado como substrato: bagaço de cana, capim *coast-cross*, farelo de trigo, superfosfato simples, cloreto de potássio, calcário calcítico e gesso. O processo de compostagem foi feito por 14 dias, onde a cada dois dias fazia-se a reviragem. Após, o composto foi pasteurizado por 15 horas a 55-65 °C. Amostras para isolamento dos microrganismos foram realizadas a cada 2 dias e após a pasteurização. Fez-se diluições seriadas e os microrganismos foram isolados e identificados, seguindo testes específicos para cada grupo de microrganismo. Observou-se que bactérias foram predominantes durante todo o processo (3.0×10^8 UFC/g), sendo identificadas *Bacillus*, *Paenibacillus* e Enterobacteriaceae e seguidas por *actinomicetos* ($2.0-3.0 \times 10^8$ UFC/g) principalmente do gênero *Streptomyces*. Fungos filamentosos foram menos incidentes e com menor diversidade. *Aspergillus fumigatus* foi o fungo predominante durante todo o processo de compostagem e após a pasteurização do composto. O composto de bagaço de cana apresentou microbiota nativa capaz de modificar química e fisicamente o substrato tornando-o viável para a colonização de *Agaricus brasiliensis*.

Palavras-chaves: *Agaricus brasiliensis*. Bagaço de cana. Diversidade microbiana.

ABSTRACT

The comestible mushrooms have gained attention due their nutritional and medicinal properties. The economic viability of the mushrooms production process depends on the chemical composition of the basic substrates, how to prepare the compound, and additional supplements beyond the species to be cultivated. In order to minimise the cost of mushroom production, considerable interest has been shown in the use of agro-industrial residues in the preparation compost of mushrooms growth. However, the natural microbiota interaction present in agricultural residues during the composting process influences the subsequent colonisation of the mushroom. Thus, the objective this study was to isolate and identify the microbiota present in a sugar cane bagasse for production of *A. brasiliensis*. It was used as sugar cane bagasse, coast-cross grass, wheat crumb, simple superphosphate, potassium chloride, limestone and plaster. The composting process was done for 14 days which each two days were mixed. After the compound was pasteurized per 15 hours at 55.65°C. Samples for isolation of the microorganisms were taken every two days and after pasteurization. There was serially diluted, and the microorganisms were isolated and identified following specific tests for each group of microorganisms. It was observed that bacteria were predominant during the whole process (3.0×10^8 UFC/g) and identified, *Bacillus*, *Paenibacillus* and *Enterobacteriaceae* followed by actinomycetes ($2.0-3.0 \times 10^8$ UFC/g), especially of the genus *Streptomyces*. Filamentous fungi were fewer incidents and less diversity. *Aspergillus fumigatus* was the present fungi during the whole composting process and after pasteurization of the compound. The sugar cane bagasse compound presented native microbiota able to modify chemically and physically the substrate making it feasible for the colonization of *Agaricus brasiliensis*.

Keywords: *Agaricus brasiliensis*. Cane sugar bagasse. Microbial diversity.

1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos *A. brasiliensis* (sin. *A. blazei*), *A. bisporus* (*Champignon*), *Pleurotus sajor-caju*, e *Lentinula edodes* (*Shiitake*), têm sido apreciados pelo seu sabor, valor econômico, ecológico e pelas suas propriedades medicinais (SÁNCHEZ, 2004). O valor nutricional e medicinal (BELLINI et al., 2008) aliado às características de *flavour* desejáveis tem colocado o *Agaricus brasiliensis* como um dos cogumelos mais valorizados no mercado mundial (FIRENZUOLI; GORI; LOMBARDO, 2007; STIJVE; AMAZONAS; GILLER, 2002; TAKAKU; KIMURA; OKUDA, 2001).

O cultivo de *Agaricus brasiliensis*, é relativamente recente apresentando produtividade variável, devido entre outros fatores, ao tipo de substrato utilizado para cultivo (FIRENZUOLI; GORI; LOMBARDO, 2007). O baixo custo dos resíduos somado à sua composição rica em carbono, pobres em nitrogênio e fósforo além de K, S, Ca, Mg, Mn, Bo, Mo entre outros confere uma alta produtividade no cultivo de cogumelos comestíveis (SILVA, 1993). Geralmente, o cultivo de *A. brasiliensis* segue as mesmas técnicas utilizadas para o cultivo de *A. bisporus* com algumas diferenças na tradicional formulação do composto à base de *wheat straw*, *straw-bedded horse manure*, *chicken manure and gypsum* (HAVE et al., 2003). Esses resíduos são submetidos a um processo de compostagem, o qual é dividido em duas etapas denominadas fase I e fase II. Na primeira etapa os resíduos são umedecidos, dispostos em camadas para formação das meadas de compostagem e revirados periodicamente por até duas semanas, enquanto na segunda etapa (fase II), o composto é submetido a um processo de pasteurização e condicionamento (CHANG; MILES, 2004). Esse processo é determinante para a qualidade final do composto e, por isso, o sucesso da produção dos cogumelos *Agaricus* depende em grande parte da fase II da compostagem (SÁNCHEZ, 2004).

Durante a pasteurização, pragas, doenças e microrganismos contaminantes são eliminados, enquanto que durante o condicionamento, microrganismos termofílicos, em especial, *actinomicetos*, multiplicam-se convertendo a amônia em proteína microbiana. A ação desses microrganismos termofílicos é muito importante, porque a amônia residual presente no composto é tóxica para as espécies de *Agaricus*, inibindo o seu crescimento micelial e, além disso, ao utilizar a amônia como fonte de nitrogênio, esses microrganismos produzem proteína microbiana que depois será utilizada na nutrição do cogumelo a ser cultivado (CHANG; MILES, 2004; COLAK, 2004; STRAATSMA; BANSON; OLIJNSMA, 2004).

Considerando que os microrganismos que atuam durante a fase II da compostagem (pasteurização e condicionamento) vêm naturalmente dos resíduos utilizados e iniciam o seu crescimento durante a fase I da compostagem, este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade microbiana durante a fase I do processo de compostagem para obtenção do composto de cultivo de *Agaricus brasiliensis*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 O preparo, composição química e amostragem do composto

O composto foi preparado utilizando na sua formulação 45% de bagaço da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* [L.]), 45% de capim *coast-cross* (*Cynodon dactylon* [L.] Pers) 10% de farelo de trigo como matérias-primas principais, sendo ainda suplementado com (%) superfosfato simples (1), cloreto de potássio (1), calcário calcítico (2) e gesso (2). As gramíneas foram misturadas, molhadas abundantemente e acondicionadas em estrado de madeira. Após a montagem da meadas de compostagem, o material foi revirado a cada dias por duas semanas, com adição de água a cada revirada para ajuste da umidade para 65%. Na segunda revirada foram adicionados ao composto o farelo de trigo e os demais suplementos. Imediatamente antes de cada revirada, foram coletadas amostras de 120g para a realização das análises microbiológicas. Antes de cada revirada verificou-se a temperatura do composto a 20 cm de profundidade da meadas, apenas na parte superior da mesma. Após cada revirada foram coletadas amostras do composto para a determinação da umidade após secagem das amostras em estufa a 65 °C com ventilação forçada por 24 horas.

2.2 Pasteurização

Para a pasteurização foi utilizada uma câmara de 2x2x24 m (largura x altura x profundidade) com ventilação forçada e injeção de vapor d'água (*steam*). Após 14 dias de fase I da compostagem, o composto foi acondicionado na câmara e submetido à pasteurização com vapor em duas etapas de 15 horas. O tempo de pasteurização foi contado a partir do momento que a temperatura

atingiu 60° C, entretanto, durante esse período foram registradas temperaturas de até 65° C. Após a primeira etapa de 15 horas, o composto foi retirado da câmara, revirado uniformemente e novamente pasteurizado nas mesmas condições.

2.3 Análise microbiológica

Um total de 8 amostras compostas obtidas durante a fase I (tempo 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias) e uma amostra composta obtida imediatamente após a pasteurização (AP) foram utilizadas para contagem total de microrganismos e para posterior isolamento e identificação dos mesmos.

Vinte gramas de cada amostra foram adicionados em 180 mL de água peptonada (1% peptona, 5% de NaCl) e agitados por 5 min. Dessa suspensão de células fez-se diluições seriadas as quais foram plaqueadas em meios de cultura seletivos: 1) Meio Martin (para isolamento de fungos filamentosos) KH_2PO_4 (1.0g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5), peptona (5.0), dextrose (10.0), Rosa de Bengala (0.038), ágar (20), bacitracina (20mg/L); 2), YEPG (para isolamento de leveduras) extrato de levedura (5.0g/L), peptona (10), glicose (20), ágar (20), pH 4.5; 3) *Aaronson* (para isolamento de *actinomicetos*) KNO_3 (2.0g/L), caseína (0.8), NaCl (2.0), K_2HPO_4 (2.0), ágar (20), $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50.0 mg/L), CaCO_3 (20.0), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (40.0); 4) Ágar nutritivo (isolamento de bactérias) extrato de carne (3.0 g/L), peptona (5.0), ágar (20.0). As placas foram incubadas a 40°C por até 48h donde se fez a contagem de colônias (CFU/g).

Para cada tipo de meio de cultura contendo colônias isoladas, a raiz quadrada do número foi tomada de forma aleatória para identificação (HOLT et al., 1994). Os isolados foram purificados e armazenado a -80 oC em 20% de glicerol.

2.4 Identificação de Bactérias

O tamanho, a forma, a cor, a altura e a borda de cada colônia foram observados e coloração de Gram, presença de catalase e a motilidade foram dosados antes replicando as bactérias no losangos de PCA e preservando a -80 oC em 20% de glicerol para posterior identificação.

As bactérias Gram-negativas foram identificados usando Bac-Tray Kits I, II e III (Difco), seguindo as instruções do fabricante.

Bactérias Gram-positivas foram subdivididos em esporos de formadores e não-formadores de esporos esporos por induzir formação (80 oC por 10 min). Subsequente identificação usando exames bioquímicos e testes de mobilidade, conforme recomendado no Bergey's Manual de Bacteriologia determinante (HOLT et al., 1994) e os procariotas (HAMMES; HERTEL, 2003) e confirmada pela API galerias (biomérieux).

2.5 Identificação de *actinomicetos*

Os isolados foram caracterizados e identificados para o gênero com base no nível padrão métodos morfológicos (HOLT et al., 1994; SCHIRLING; GOTTLIEB, 1966). Os isolados foram examinadas quanto a capacidade de uso exclusivo 12 diferentes fontes de carbono (Sucrose, Lactose, D-Fructose, Galactose, d- Manose, D-Maltose, Xylose, L-Arabinose, Celobiose, Rhamnose, acetato de sódio e m-Inositol) Foi analisada a utilização carbono agar (ISP médio 9) (SHIRLING; GOTTLIEB, 1966; VIJAYLAKSHMI; KAVITHA, 2007). Filtro esterilizado fontes de carbono foram adicionados em 1,0% (p/v) com a exceção do acetato de sódio que foi usado em 0,1% (p/v). Glicose positiva 1,0% (p/v) e negativos (não suplementado ISP 9) controles foram incluídos. O crescimento foi avaliado após 7, 14 e 21 dias.

A produção de ácidos provenientes de diferentes fontes de carbono foi observada utilizando lavada duas vezes as suspensões de esporos (em água destilada estéril) para inocular Placas de meio de cultura contendo $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 1,0g; KCl, 0,2g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;; púrpura de bromocresol, 0,07g; ágar, 15g; água destilada, 1l e completado com os mencionados acima de 12 diferentes fontes de carbono. Os resultados positivos foram registrados quando o meio cor mudou de azul para amarelo. Os pigmentos produção foi determinada em glicerol/asparagines agar (ISP médio 5) após 14 dias de incubação. Difusível pigmentos foram divididos em: marrom, amarelo, verde e laranja. Produção de melanina foi determinada em tirosina agar (ISP médio 7). Produção do marrom escuro ao preto solúvel pigmento de melanina foi lida após 4 dias de incubação (SHIRLING; GOTTLIEB, 1966).

2.6 Identificação de fungos filamentosos

Eles foram inicialmente cultivadas em meio BDA (Merck) e observados em microscópio óptico para identificação preliminar. Isso foi feito pela morphotypic análise da colônia, principalmente cores e aparência usando as propostas de Pitt e Hocking (1997). Identificação inicial dos gêneros *Aspergillus* foi feita com lâmina de microscópio exame de esporos e micélio.

Isolados previamente identificados como *Aspergillus* foram ainda identificadas ao nível da espécie segundo Christensen (1981) para as espécies do *Circumdati* seção, Christensen (1982) para as espécies da seção *Flavi*, Klich e Pitt (1988) para as espécies de *Aspergillus* seção *Nigri*.

Suporte adicional para identificação dos fungos foi encontrada em Pitt e Hocking (1997), Raper e Fennell (1965) e Samson et al. (1995).

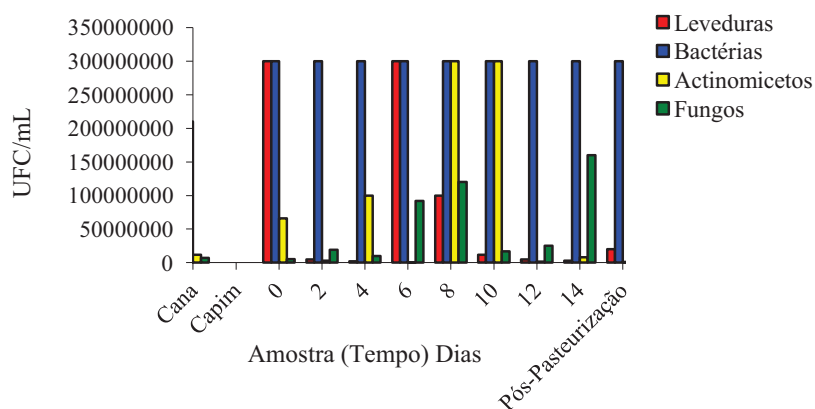


Figura 1 Frequência de bactérias, actinomicetos, leveduras e fungos filamentosos isolados do composto durante o processo de compostagem e seu material de origem bagaço de cana-de-açúcar e feno de capim *Coast-Cross* na 2ª repetição

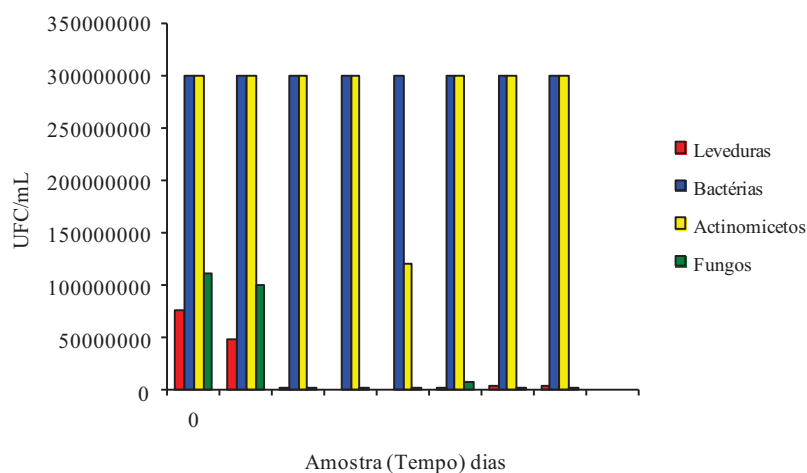


Figura 2 Frequência de bactérias, *actinomicetos*, leveduras e fungos filamentosos isolados do composto durante o processo de compostagem e seu material de origem bagaço de cana-de-açúcar e feno de capim *Coast-Cross* na 3ª repetição

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microbiota da fase I da compostagem

Observou-se uma diversidade em número de indivíduos e de espécies durante o período de compostagem que corresponde a bactérias, *actinomicetos* e fungos filamentosos. Essa diversidade pode estar relacionada, entre outros fatores, com a variação da temperatura durante o processo (Fig. 1). O teor de umidade no composto apresentou variação de 68.5 a 74%, tendo aparentemente menor influencia no desenvolvimento dos microrganismos (Fig.1). Os maiores valores de temperatura (62.6°C) foram observados até o 8º dia de compostagem, provavelmente devido à suplementação nutricional adicional que foi feita no composto na segunda revirada. Colak (2004) observou que a faixa de temperatura ideal da compostagem é de 35-55 °C, pois essa faixa de temperatura permite o desaparecimento mais rápido da amônia e que, após 16 dias de compostagem foram observadas modificações químicas e físicas por ação da microbiota naturalmente presente no processo, propícias ao cultivo de *Agaricus bisporus*.

O processo de compostagem é iniciado pela presença de microrganismos mesófilos que utilizam carboidratos simples e nitrogenados solúveis (SMITH; WOOD; THURSTON, 1995). Com a elevação da temperatura proporcionada pelas reações exotérmicas realizadas pela microbiota, estabelecem-se populações termotolerantes e termofílicas como bactérias *Gram-positivas* e *actinomicetos*, que também são predominantes após a fase termofílica (CAHYANI et al., 2004). Durante o processo de preparação do composto para cultivo de cogumelos *Agaricus*, espécies de *actinomicetos*, fungos e bactérias termófilas são desejáveis para tornar o composto um substrato seletivo, inviável para microrganismos competidores e favoráveis ao crescimento micelial do cogumelo (GBOLAGADE, 2006).

Utilizando o bagaço de cana e capim *coast-cross* como substrato para compostagem observou-se que bactérias estavam presentes durante todo o período de amostragem (com população média de 3×10^8 UFC/g), sendo o grupo mais numeroso e mais diverso seguidos por *actinomicetos* e fungos filamentosos (Fig.1). A maior densidade populacional total foi obtida aos 2 e 10 dias de compostagem apresentando valor de 7.1×10^8 UFC/g, com uma redução até o último dia da fase I (14 dias) sendo a população total de 5.7×10^8 UFC/g. Após a pasteurização, observou-se uma redução da população total, o que era esperado em função da elevação da temperatura acima de 60° C. A porcentagem da população de bactérias, *actinomicetos*, e fungos filamentosos durante o processo de compostagem e após a pasteurização encontram-se na Fig. 1. A população total inicial nos *straws* (capim + bagaço de cana) foi de 3.2×10^8 UFC/g sendo 94% da população total composta de bactérias. As bactérias, principalmente do gênero *Bacillus* dominaram o processo quando ocorreu maior elevação da temperatura. Atkey e Wood (1983), utilizando a palha de trigo como substrato para o cultivo de *Agaricus bisporus* e Cahyani et al. (2004), utilizando palha de arroz, observaram um domínio inicial de procariotos e poucos fungos durante o

processo de compostagem, sendo que *actinomicetos* foram dominantes na fase final da compostagem. Foram identificadas 33 espécies de bactérias, sendo 20 espécies de bactérias *Gram*-negativas e 13 espécies de bactérias *Gram*-positivas. Dentre as *Gram*-positivas 8 espécies pertencem ao gênero *Bacillus* (Table 1). Dentre as espécies de bactérias *Gram*-negativas 18 pertencem à família Enterobacteriaceae. De modo geral, as espécies de bactérias apresentadas na tabela 1 são muito comuns em solos e normalmente contaminam os resíduos agrícolas e as gramíneas utilizadas na produção do composto pelo contato natural dos resíduos com o solo, principalmente depois da colheita e processamento do material. Pelos resultados obtidos pode-se inferir que a diversidade bacteriana foi grandemente afetada pela origem do material, o tratamento de pasteurização e o potencial de colonização do substrato. Além das diferentes espécies de *Bacillus*, foram observadas também espécies de *Pseudomonas*, dentre elas *P. putida*, a qual é conhecida pelo efeito positivo que exerce sobre a frutificação do cogumelo *Agaricus bisporus* (EGER, 1972). Além disso, espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas*, além de outras, podem exercer importante papel também na assimilação de amônia do composto, pela sua capacidade de utilizá-la como fonte de nitrogênio (EGER, 1972)(ref). Espécies potencialmente patogênicas como *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* e *Klebsiella pneumoniae* foram também isoladas durante a fase I da compostagem. Mesmo após a pasteurização, *Escherichia coli* foi encontrada no composto, evidenciando que mesmo a pasteurização a vapor não foi suficiente para eliminar esse microrganismo. Miyatake e Iwabuchi (2005) relataram que temperaturas entre 54 e 70°C exercem maior influência na atividade e diversidade microbiana do composto para cultivo de cogumelos comestíveis. *Escherichia coli*, *Salmonella* e outras espécies patogênicas, bem como *Bacillus subtilis* e *B. pumilus* já foram isoladas durante o processo de compostagem (fase I e II) e observou-se que essas bactérias mesófilas apresentam capacidade de

sobreviver a temperaturas superiores a 55 °C devido a mutações genéticas conferindo a capacidade de termorresistência (DROFFNER; BRINTON JÚNIOR; EVANS, 1995). As espécies microbianas presente no *straw* (bagaço + capim) foi muito semelhante à microbiota presente no início do processo (0 dia) sendo formada por *Bacillus circulans* e *B. liqueniformis* diferindo na população total e apresentando subseqüentes mudanças durante a compostagem. Após o 2º dia outras espécies do gênero *Bacillus* foram isoladas, como *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. sphaericus*, *B. amyloliquefaciens* e *B. anthracis*. Algumas espécies de *Bacillus* já foram isoladas por Gbolagade (2006) em composto para cultivo de *Pleurotus tuber-regium* e de *Lentinum squarrosulus* e parecem que são estimuladoras do crescimento de *actinomicetos* termófilos celulolíticos. Actinomicetos foram identificados a partir do 2º dia de compostagem, momento em que ocorreu maior diversidade de espécies do gênero *Bacillus*. Velázquez-Cedeño et al. (2008) observaram que bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Paenibacillus* foram predominantes na microbiota do composto à base de palha de trigo para cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Espécies de *Bacillus* e *Paenibacillus* são relatadas como espécies que produzem e excretam bacteriocinas capazes de inibir o crescimento de bactérias *Gram*-negativas e positivas além de leveduras (WATABE et al., 2003). Segundo Velázquez-Cedeño et al. (2008) a presença de bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Paenibacillus* promoveu a ação inibitória sobre *Trichoderma harzianum* e estimularam a defesa do cogumelo pelo aumento da secreção de lacases.

Espécies de bactérias *Gram*-negativas foram mais incidentes nos tempos 0 e no 8º dia de compostagem. Espécies identificadas no bagaço de cana deste trabalho já foram isoladas de outros compostos (SUBBARAO, 1992). A importância da presença de bactérias *Gram*-negativas no composto, especialmente *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, deve-se ao alto poder oxidativo, por estimularem o crescimento micelial e a formação de primórdios de *P.*

ostreatus (CHO et al., 2003). *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia* são relatadas como bactérias importantes na complementação da fixação do nitrogênio e na solubilização e disponibilização de fósforo no composto (SUBBARAO, 1992). A maior população de bactérias em geral foi observada após a pasteurização do composto, o que mostra que o processo não compromete a viabilidade desses microrganismos, o que é importante para a manutenção da microbiota natural do composto.

Actinomicetos foi o segundo grupo microbiano com maior densidade populacional apresentando contagem $\leq 1 \times 10^7$ UFC/g nos *straws* e no composto após a pasteurização representando 3.8 e 1.77% da população total, respectivamente (Fig.1). Durante o processo de compostagem a população de *actinomicetos* variou de $2.0-3.0 \times 10^8$ UFC/g sendo que nos dias 2, 4, 10 e 12 de compostagem a população de *actinomicetos* foi de 3.0×10^8 UFC/g. Ross e Harris (1983) relataram que alguns fungos e actinomicetos termófilos dominaram o final do processo da fase II da compostagem, levando ao desaparecimento do amoníaco que é muito tóxico ao cultivo do *Agaricus*. No resfriamento, aos 25°C para inoculação do *Agaricus*, os termófilos entram em latência e a estrutura celular dessa biomassa é digerida e assimilada pelo *Agaricus*. *Streptomyces*, *Micronospora*, *Nocardia*, *Thermonospora*, *Dactylosporangium* e *Kibdelosporangium* foram os gêneros de *actinomicetos* encontrados durante a compostagem. Apenas os gêneros *Streptomyces* e *Nocardia* foram isolados do composto após a pasteurização, sendo que *Streptomyces* foi o único gênero isolado em todas as etapas de isolamento a partir do segundo dia, o que pode ser um indicativo da importância desse gênero para o processo de compostagem. Os demais gêneros foram isolados no 6º, 12º e 14º dias de compostagem. *Actinomicetos* são importantes durante o processo de compostagem, pois modificam o substrato tornando-o adequado à colonização por *Agaricus* uma vez que solubilizam a celulose reduzindo o teor de fibras,

produzem biotina, tiamina e vitamina A, e eliminam, juntamente com fungos termofílicos, o amoníaco (VIJAY; GUPTA, 1994). Por isso, a redução da população de *actinomicetos* após a pasteurização a vapor indica que esse processo pode comprometer ou limitar a qualidade final do composto, apesar de ser uma estratégia importante para pequenos produtores que não dispõem de infraestrutura para a fase II convencional.

Fungos filamentosos apresentaram menor população durante a fase I da compostagem, apresentando maior população aos 10 dias de compostagem (1.2×10^8 UFC/g ou 16.7% da população total) (Fig.1). Entretanto, essa população mostrou-se maior no composto após a pasteurização. A contagem da população de fungos após a pasteurização foi de 1.6×10^8 UFC/g (34% da população total), refletindo a resistência desse grupo à pasteurização seguida da contagem de bactérias (3.0×10^8 UFC/g). Isso por que, espécies de fungos predominantes no processo de compostagem são espécies termorresistentes e atuam na degradação do material ligninocelulósico (TUOMELA et al., 2000) permitindo diminuição do teor de fibra e disponibilizando o substrato para o cultivo de *Agaricus*.

Fungos filamentosos foi o grupo menos diversificado, sendo identificados apenas *Aspergillus fumigatus* e *A. niger* durante todo o processo. Fungos filamentosos têm sido também relatados como importantes agentes durante a compostagem, desempenhando importantes funções na transformação do substrato, permitindo a colonização por *Agaricus bisporus* (RYCKEBOER et al., 2003; VIJAY; GUPTA, 1994). É provável que outras espécies de fungos, além de *A. fumigatus* e *A. niger*, estejam presentes no composto, inclusive espécies que não produzem esporos assexuados, sendo necessária para a sua detecção uma estratégia de isolamento diferente da utilizada neste trabalho, a qual favorece o isolamento de fungos esporulantes. Apesar da pequena diversidade, observou-se que *A. fumigatus* foi persistente durante todo o processo de compostagem, sendo que a sua presença já foi também relatada em

substrato à base de palha de trigo para a produção de *A. bisporus* (FERMOR; RANDLE; SMITH, 1985). Esse fungo é um patógeno oportunista, provocando reações alérgicas em humanos submetidos à frequente exposição aos seus esporos ou imunodeprimidos (LATGÉ, 1999; LATGÉ, 2001). No entanto, *A. fumigatus* é relatado como um importante produtor de celulases termoestáveis (VRIES; VISSER, 2001; XIMENES; FELIX; ULHOA, 1996), as quais podem exercer importante papel no processo de compostagem na degradação parcial da celulose, disponibilizando açúcares solúveis favoráveis à sucessão microbiana (CHANG; MILES, 2004).

3.2 Microbiota da fase II da compostagem

A biomassa morta presente no composto após a pasteurização passa a ser fonte concentrada de compostos orgânicos e inorgânicos que permitirá a colonização pelo cogumelo comestível. Nesse período (*after pasteurization*) as espécies bacterianas identificadas foram *Bacillus circulans*, *Paenibacillus alvei*, *P. polymyxa* e *Escherichia coli*. O isolamento de cepas de *Bacillus* após a pasteurização pode ser justificado por serem bactérias esporulantes e, portanto, resistentes à temperatura de pasteurização, sendo já identificadas nesse mesmo período de preparo do composto para cultivo de *Pleurotus ostreatus* por Velázquez-Cedeño et al. (2004). O isolamento de *Paenibacillus* e *E.coli*, que são bactérias não esporulantes, pode ser explicado devido ao efeito protetor oferecido pela matéria orgânica. Não foi identificada nenhuma outra espécie de bactéria *Gram*-negativa após a pasteurização.

Os *actinomicetos* identificados após a pasteurização refletiram sua a resistência a elevações de temperatura, uma vez que durante o processo de pasteurização a temperatura permaneceu alta na faixa de 55 a 65°C. Os *actinomicetos* e *A. fumigatus* foram identificados no composto após a

pasteurização e compõem a microbiota termorresistente do composto para cultivo de *Agaricus brasiliensis*, semelhantemente ao já relatado para *Agaricus bisporus* (FERMOR; RANDLE; SMITH, 1985). Pode-se atribuir a esses microrganismos a contribuição na modificação física e química do composto pela degradação das fibras.

Desse modo, conclui-se que o bagaço de cana apresentou uma população microbiana diversa, sendo composta principalmente por *Bacillus*, *Streptomyces* e *Aspergillus fumigatus* que são relatadas como microbiota atuante na modificação química e física do composto.

Espécies de *Bacillus*, *Streptomyces* e *Aspergillus* foram as mais persistentes durante a fase I da compostagem, sobrevivendo ao processo de pasteurização a vapor, sendo portanto, as mais termoestáveis.

Tabela 1 Espécies de bactérias, *actinomicetos* e fungos filamentosos isolados do composto durante o processo de compostagem e seu material de origem cana-de-açúcar (bagaço) e feno de capim *coast-cross*. Entre parênteses o número de isolados identificados

AMOSTRA (TEMPO)	ESPÉCIES DE BACTÉRIAS	ESPÉCIES DE ACTINOMICETOS	ESPÉCIES DE FUNGOS
Cana	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (2) <i>Bacillus circulans</i> 2 <i>Bacillus licheniformes</i> <i>Enterobacteriaceae. agglomerans</i> <i>Klebsiela oxytoca</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i> (5)
Capim	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <i>Bacillus circulans</i> 1 <i>Bacillus circulans</i> 2 <i>Tatumella ptyseos</i> <i>Pseudomonas. Putida</i> <i>Acetobacter spp</i>		
0 dia	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <i>Bacillus coagulans</i> <i>Bacillus licheniformes</i> <i>Bacillus megaterium</i> 1 <i>Brevibacillus brevis</i> <i>Enterobacteriaceae. agglomerans</i> (3) <i>Pseudomonas pauci</i> <i>Enterobacteriaceae gergovi</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Serratia plymu</i> <i>Serratia odor</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i> (11) <i>Aspergillus</i> (3)

“Tabela 1, continuação ”

AMOSTRA (TEMPO)	ESPÉCIES DE BACTÉRIAS	ESPÉCIES DE ACTINOMICETOS	ESPÉCIES DE FUNGOS
2^o dia	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <i>Bacillus circulans 1</i> <i>Bacillus circulans 2</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>agglomerans (2)</i> <i>Pseudomonas aeruginas</i> <i>Klebsiela rhino</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus (16)</i> <i>Aspergillus</i> (4)
4^o dia	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <i>Paenibacillus macerans</i> <i>Bacillus megaterium 2</i> <i>Klebsiela pneumo (2)</i> <i>Serratia odor</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus (22)</i> <i>Aspergillus</i> (2)
6^o dia	<i>Bacillus sphaericus (3)</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus licheniformes</i> <i>Paenibacillus macerans</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus circulans 2</i> <i>Acinetobacter spp</i> <i>Pseudomonas vesiculares</i> <i>Tatumella ptyseos</i> <i>Flavobacterium. odora</i>	<i>Streptomyces</i> <i>Micronospora (2)</i>	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus (20)</i>
8^o dia	<i>Paenibacillus polymyxa (3)</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus licheniforms</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Enterobacteriaceae.agglomerans</i> <i>Enterobacteriaceae.aerogena</i> <i>Enterobacteriaceae.cloacae</i> <i>Serratia odor (2)</i> <i>Pseudomomas floures</i> <i>Klebsiela rhino</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus (13)</i>

“Tabela 1, conclusão”

AMOSTRA (TEMPO)	ESPÉCIES DE BACTÉRIAS	ESPÉCIES DE ACTINOMICETOS	ESPÉCIES DE FUNGOS
10^o dia	<i>Bacillus macerans</i> <i>Bacillus circulans</i> 2 (2) <i>Klebsiela pneumo</i> <i>Corynebacterium</i> <i>amaloni</i>	<i>Streptomyces</i> (2)	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i> (22)
12^o dia	<i>Bacillus circulans</i> 1 <i>Bacillus circulans</i> 2 <i>Bacillus cereus</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>agglomerans</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Eschericia coli</i> <i>Acinetobacter spp</i>	<i>Streptomyces</i> <i>Micronospora</i> (5) <i>Nocardia</i> (2) <i>Thermonospora</i> (2)	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i> (21)
14^o dia	<i>Bacillus megaterium</i> 1 <i>Bacillus anthracis</i> <i>Bacillus licheniformes</i> (2) <i>Enterobacteriaceae</i> <i>agglomerans</i> <i>Pseudomonas stuarti</i>	<i>Streptomyces</i> (5) <i>Nocardia</i> <i>Thermonospora</i> (3) <i>Dactylosporangium</i> (3) <i>Kibdelosporangium</i>	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i> (8)
Pós-Pas- teurização	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (3) <i>Paenibacillus alvei</i> <i>Bacillus circulans</i> 2 <i>Eschericia coli</i>	<i>Streptomyces</i> (9) <i>Nocardia</i>	<i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i> (7)

Isolados identificados durante a compostagem

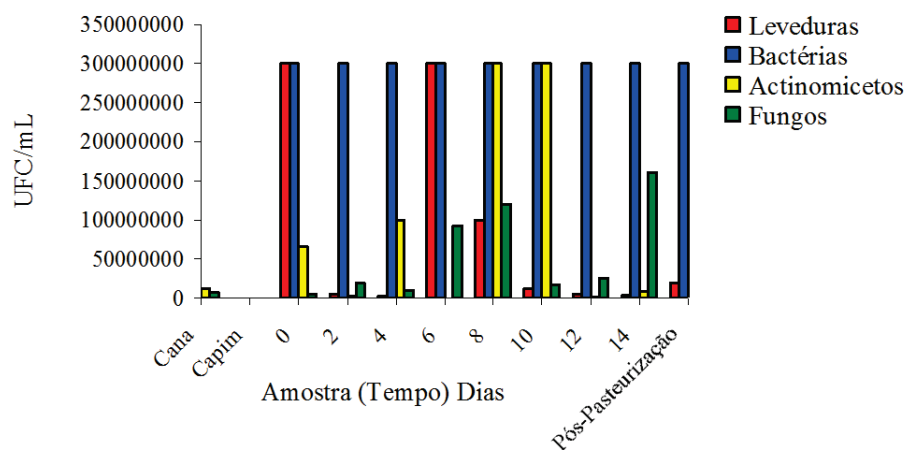


Gráfico 1 Quantidade em UFC/ml de leveduras, bactérias, actinomicetos e fungos por período de compostagem

4 CONCLUSÃO

Apartir das tabelas acima podemos constatar que a microbiota foi predominantemente bacteriana demonstrando a presença de *actinomicetos* e fungos filamentosos sendo estes benéficos para o processo. A presença destes microorganismos tornaram a característica físico-química do material com excelente decomposição .

Os resíduos agrícolas utilizados: bagaço de cana e feno de capim *Coast-Cross* foram importantes no processo da compostagem para a produção de cogumelos *Agaricus blazei* podendo ser utilizados em regiões em que se tenham abundâncias desses materiais.

A produção do cogumelo *Agaricus blazei* teve êxito, demonstrando a eficiência do processo de compostagem.

REFERÊNCIAS

- ATKEY, P. T.; WOOD, D. A. An electron microscope study of wheat straw composted as a substrate for the cultivation of the edible mushroom. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 55, p. 293-304, 1983.
- BELLINI, M. F. et al. Cytotoxicity and genotoxicity of *Agaricus blazei* methanolic extract fractions assessed using gene and chromosomal mutation assays. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 122-27, 2008.
- CAHYANI, V. R. et al. Succession and phylogenetic profile of eukaryotic communities in the composting process of rice straw estimated by PCR-GGE analysis. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 40, p. 334-44, 2004.
- CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. Boca Raton: CRC, 2004.
- CHO, Y. S. et al. Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 218, p. 271-76, 2003.
- CHRISTENSEN, M. A Synoptic key and evaluation of species in the *Aspergillus flavus* group. **Mycologia**, New York, v. 73, p. 1056-1084, 1981.
- CHRISTENSEN, M. The *Aspergillus ochraceus* group: two new species from western soils and a synoptic key. **Mycologia**, New York, v. 74, p. 210-225, 1982.
- COLAK, M. Temperature profiles of *Agaricus bisporus* in composting stages and effects of different composts formulas and casing materials on yield. **African Journal Biotechnology**, Nairobi, v. 3, p. 456-62, 2004.

DROFFNER, M. L.; BRINTON JÚNIOR, W. F.; EVANS, E. Evidence for the prominence of well characterized mesophilic bacteria in thermophilic (50-70°C) composting environments. **Biomassa Bioenergy**, Oxford, v. 8, p. 191-95, 1995.

EGER, G. Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus*. **Mushroom Science**, Toronto, v. 8, p. 719-725, 1972.

FERMOR, T. R.; RANDLE, P. E.; SMITH, J. F. Compost as substrate and its preparation. In: FLEGG, P. B.; SPENCER, D. M.; WOOD, D. A. (Ed.). **The biology and technology of the cultivated mushroom**. Chinchester: J. Wiley, 1985.

FERMOR, T. R.; WOOD, D. A. Microbial biomass in compost: a mushroom nutrient? **Mushroom Journal**, Cambridge, v. 119, p. 388-391, 1982.

FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; LOMBARDO, G. The medical mushroom *Agaricus blazei* Murril: literature and pharmaco-toxicological problems. **Advance Access Publication**, Empoli, v. 5, p. 3-15, 2007.

GBOLAGADE, J. S. Bacteria associated with compost used for cultivation of Nigerian edible mushroom *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer and *Lentinus squarrosulus* (Berk.). **African Journal Biotechnology**, Nairobi, v. 5, p. 338-342, 2006.

HAMMES, W. P.; HERTEL, C. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: DWORKIN, M. et al. (Ed.). **The prokaryotes: an evolving electronic resource for the microbiological community**. New York: Springer-Verlag, 2003.

HAVE, R. T. et al. Lignin degradation by *Agaricus bisporus* accounts for a 30% increase in bioavailable holocellulose during cultivation on compost. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 2242-45, 2003.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

KLICH, M. A.; PITT, J. I. **A Laboratory guide to common Aspergillus species and their Teleomorphs**. North Ryde: CSIRO, 1988. 116 p.

LATGÉ, J. P. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. **Trends Microbiology**, Paris, v. 9, p. 382-389, 2001.

LATGÉ, J. P. *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillosis*. **Clinic Microbiology Review**, Paris, v. 12, p. 310-350, 1999.

MIYATAKE, F.; IWABUCHI, K. Effect of high compost temperature on enzymatic activity and species diversity of culturable bacteria in cattle manure compost. **Bioresource Technology**, Essex, v. 96, p. 1821-1825, 2005.

NTOUGIAS, S. et al. Bacterial diversity in spent mushroom compost assessed by amplified rDNA restriction analysis and sequencing of cultivated isolates. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 27, p. 746-754, 2004.

PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, Essex, v. 74, p. 69-80, 2000.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2nd ed. Cambridge: Chapman & Hall, 1997.

RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. **The Genus Aspergillus**. Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1965.

RODRIGUÉZ, V. N. **Informe annual de actividades de la disciplina de química industrial**. Chinchina: Cenicafé, 1993.

ROSS, R. C.; HARRIS, P. J. The significance of thermophilic fungi in mushroom compost. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 20, p. 61-70, 1983.

RYCKEBOER, J. et al. Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 94, p. 127-137, 2003.

SAMSON, R. A. et al. **Introduction to food-borne fungi**. 4th ed. Wageningen: Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn Delft, 1995.

SÁNCHEZ, C. Modern aspects of mushroom culture technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 64, p. 756-62, 2004.

SILVA, S. C. A cana-de-açúcar como alimento volumoso suplementar. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, I. C.; FARIA, V. P. (Ed.). **Volumosos para bovinos**. Piracicaba: FEALQ, 1993.

SHARMA, H. S. S. Biochemical and thermal analysis of mushroom compost during preparation. In: MAHER, M. J. (Ed.). **Science and cultivation od edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 1998. p. 169-79.

SHIRLING, E. B.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 16, p. 313-340, 1966.

SMITH, J. F.; WOOD, D. A.; THURSTON, C. F. Growth measurement of *Agaricus* mycelium in composed substrates as an indicator of compost selectivity and mushroom productivity. In: ELLIOT, T. J. (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 1995.

STIJVE, T.; AMAZONAS, M. A. L. A.; GILLER, V. **Flavor and taste components of Agaricus brasiliensis ss. Heinenm**: a new gourmet and medical mushroom. Stuttgart: Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 2002.

STRAATSMA, G.; BANSON, R. A.; OLIJNSMA, T. W. Ecology of thermophilic Fungi in mushroom compost, with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. **Applied and Enviromental Microbiology**, Washington, v. 60, p. 454-458, 1994.

SUBBARAO, N. S. **Biofertilizers in agriculture**. 2th ed. New Delhi: Oxford & IBH, 1992.

TAKAKU, T.; KIMURA, Y.; OKUDA, H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus brasiliensis* Murril and its mechanism of action. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 131, p. 1409, 2001.

TUOMELA, M. et al. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 72, p. 169-183, 2000.

VELÁZQUEZ- CEDEÑO, M. et al. Variation of lignocellulosic activities in dual cultures of *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma longibrachiatum* on unsterilized wheat straw. **Mycologia**, New York, v. 96, p. 712-719, 2004.

VELÁZQUEZ- CEDEÑO, M. et al. Role of *Bacillus* spp. in antagonism between *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma harzianum* in heat-treated wheat-straw substrates. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 6966-6973, 2008.

VIJAY, B.; GUPTA, Y. Microflora of *Agaricus bisporus* compost. In: NAIR, M. C. (Ed.). **Advances in mushroom Biotechnology**. Jodhpur: Scientific Publishers, 1994.

VRIES, R. P.; VISSER, J. *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 65, p. 497-522, 2001.

WATABE, M. et al. Inhibition of *Listeria ivanovii* by *Paenibacillus lentimorbus* isolated from phase II mushroom compost. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, Berlin, v. 19, p. 875-77, 2003.

XIMENES, E. A.; FELIX, C. R.; ULHOA, C. J. Production of cellulases by *Aspergillus fumigatus* and characterization of one β glucosidase. **Current Microbiology**, New York, v. 32, p. 119-123, 1996.

CAPÍTULO 3 Utilização do composto exaurido de *Pleurotus spp.* no desempenho de frango de corte

RESUMO

A adição de fungos basidiomicetos na alimentação de frangos tem sido utilizada como forma de reduzir a utilização de antibióticos em função de substâncias produzidas por esses cogumelos capazes de influenciar no sistema imunológico das aves. Avaliou-se a adição de composto exaurido da produção do cogumelo *Pleurotus salor caju* em diferentes níveis sobre o desempenho de frangos de corte de em três fases de crescimento (0-20, 21-39 e 0-39 dias). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, obtidos pelos níveis de composto na ração (0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 %) e 4 repetições, totalizando 20 parcelas contendo 25 aves cada. Foram utilizados 500 pintos de 1 dia de idade. Foram avaliados o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar além das características da carcaça, rendimento, gordura abdominal e altura das microvilosidades do intestino. A adição do composto não influenciou no consumo da ração e conversão alimentar, com valores médios de 3.661,9g/ave e 2,01 respectivamente. Para o ganho de peso houve efeito positivo somente na fase inicial de desenvolvimento mostrando efeito quadrático e valor máximo de ganho de 600,81g com 0,52% de adição. Com relação às características da carcaça. A adição melhorou o rendimento de carcaça até o nível de 1,5% e alterou a altura das microvilosidades do intestino. Sobre a gordura abdominal não houve efeito, com valores médios de 1,5%. Conclui-se que a adição de composto exaurido da produção do fungo *Pleurotus sajor caju* à ração para frangos de corte, é recomendável sendo que o nível de adição de 5% é o melhor recomendado.

Palavras-chave: Aditivos. Aves de corte. Desempenho. Fungos medicinais. Nutrição.

ABSTRACT

The addition of basidiomycetous fungi in the feeding of chickens has been used in order to reduce the use of antibiotics because of substances produced by these mushrooms that can influence in the immune system of the birds. It was evaluated the addition of compost exhausted in the mushroom *Pleurotus salor caju* production at different levels on the performance of broilers from three growth phases (0-20, 21-39 and 0-39 days). The experiment was conducted in a completely randomized design with five treatments, obtained by the levels of the compound in the diet (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0%) and four replicates, totaling 20 plots containing 25 birds each. Five hundred chicks were used from one day of age. The weight gain, feed intake and feed conversion in addition the characteristics of carcass, yield, abdominal fat and height of intestine microvilli were evaluated. The compound addition did not influence the feed intake and feed conversion, with average values of 3.661.9 g/bird and 2.01 respectively. For weight gain there was a positive effect only in the initial stage of development showing a quadratic effect and maximum value of gain from 600.81g with 0.52% of addition. Regarding to carcass traits. The addition improved carcass yield until the level of 1.5% and alter the height of the intestine microvilli. About the abdominal fat had no effect, with average values of 1.5%. It is concluded that the addition of compound exhausted of the production from fungi *Pleurotus sajor caju* the feed for broilers, it is recommended and the addition level of 5% is the best recommended.

Keywords: Additives. Broilers. Performance. Medicinal fungi. Nutrition.

1 INTRODUÇÃO

Durante o crescimento dos frangos, ocorre uma colonização microbiana do trato gastrointestinal dos animais. Essa microbiota tem importante papel na digestão dos alimentos, influenciando na digestibilidade dos nutrientes (NIR; NITSAN; BEM-AVRAHAM, 1988). Como forma de afetar essa colonização, melhorando o desempenho animal, os antibióticos têm sido rotineiramente utilizados desde a década de 50, como opção para aumentar a lucratividade, por meio da eliminação de microrganismos que competem com o hospedeiro pelos nutrientes. Entretanto, nos últimos anos têm crescido a preocupação com o uso indiscriminado de antibióticos, levando muitos países a proibirem seu uso. Essas proibições se baseiam no fato de que as moléculas de alguns desses aditivos apresentam semelhanças com a de antibióticos utilizados na terapêutica humana, o que poderia, por meio do uso indiscriminado e contínuo, induzir, por pressão seletiva, a emergência de bactérias patogênicas multirresistentes a essas drogas (EDQVIST; PEDERSEN, 2002). Como consequência, o mercado consumidor tem apresentado restrição ao consumo de carnes de aves alimentadas com rações que contenham antibióticos (CORRÊA et al., 2001).

Sendo o Brasil um dos grandes produtores e exportadores de frango, deve adequar a sua produção avícola às exigências de mercado. Uma alternativa seria a substituição dos antibióticos, utilizados como promotores de crescimento por outros compostos que realizem o mesmo efeito, porém, naturais. Nesse sentido, utilização de substâncias bioativas, extraídas de determinadas espécies de fungos basidiomicetos surgem como opção.

Os cogumelos são produzidos em substratos denominados compostos, que por sua vez são elaborados por materiais ou subprodutos da agricultura. O cultivo é um processo biotecnológico que recicla hastes de celulose e lignina em função da habilidade que esses fungos possuem de degradar esses compostos

(ZHANG; LI; FADEL, 2002). Após o crescimento e colheita dos cogumelos, o substrato de crescimento pode ser utilizado para outros fins na agropecuária, como adubo ou para alimentação animal (SANCHEZ et al., 2004). Esse composto possui alta degradabilidade e uma grande quantidade de micélio enovelado no mesmo. Além disso, durante o crescimento dos fungos, são produzidas substâncias. Entre essas substâncias, destacam-se os polissacarídeos pertencentes ao grupo β -glucanas, conhecidos por sua atuação como estimulantes da atividade imunológica do hospedeiro (MIZUNO et al., 1998).

Essas substâncias podem ser utilizadas de várias formas, podendo ser purificadas ou não, oriundas dos basidiomas ou do micélio vegetativo ou mesmo do caldo de cultivo do micélio em meio líquido (exopolissacarídeos), na tentativa de substituir os antimicrobianos na avicultura (MACHADO et al., 2007). As propriedades apresentadas por essas substâncias estão relacionadas ao estímulo da resposta imunológica dessas macromoléculas no indivíduo, o que envolve ativação de células imunocompetentes e/ou seus mediadores químicos (DABA; EZERONYE, 2003). Segundo Ito et al. (1997), os polissacarídeos bioativos de *A. blazei* não estão presentes apenas no corpo de frutificação, mas por todo o micélio vegetativo que compõe a massa micelial e permeia o substrato de cultivo.

Alguns trabalhos foram realizados avaliando a adição de cogumelos na alimentação de frangos de corte de várias formas. Machado et al. (2007), avaliaram o efeito da substituição de um antibiótico por diferentes níveis do composto exaurido do cogumelo *Agaricus blazei* sobre o desempenho de frangos de corte, observando que as aves que não receberam qualquer aditivo na dieta apresentaram os piores resultados de desempenho. Guimarães (2006) avaliou a adição do cogumelo desidratado verificando efeito positivo sobre o ganho de peso. Outros trabalhos (FUINI, 2001; SANTOS et al., 2003) também mostraram

que o cogumelo *Agaricus blazei* tem se apresentado como uma alternativa potencial aos antibióticos.

O gênero *Pleurotus* é um dos mais cultivados devido à sua rusticidade e alta eficiência biológica, adaptando-se bem à condição brasileira de clima tropical. É conhecido em diferentes partes do mundo como uma classe de cogumelos de alta habilidade saprofítica e por degradar resíduos lignocelulósicos como substrato (RAGUNATHAN; SWAMINATHAN, 2003). Não se têm dados para verificar se esse composto tem função de probiótico ou antibiótico, pois são introduzidos na ração como aditivo, com finalidade de inocular e manter populações microbianas no trato gastrintestinal dos animais que vão competir por espaço e nutrientes com microrganismos indesejáveis especialmente os patógenos. Dessa forma espera-se melhora na eficiência alimentar, uma atuação como promotor de crescimento. Assim sendo, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito de rações contendo o composto cultivado com *Pleurotus spp.* sobre o desempenho, a qualidade de carcaça e vilosidades intestinais de frangos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, município de Lavras, localizado na Região Sul do Estado de Minas Gerais, a uma altitude de 910 metros. O composto para crescimento do cogumelo foi produzido com os ingredientes bagaço de cana (*Saccharum officinarum* L.) e capim *coast-cross* [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] em iguais proporções, farelo de trigo a 10%, superfosfato simples e cloreto de potássio a 1% e calcário calcítico e sulfato de cálcio a 2%. O cogumelo cultivado foi o *Pleurotus sajor-caju* do Laboratório de Cogumelos Comestíveis do Departamento de Biologia – UFLA. O cultivo do cogumelo foi realizado conforme Silva et al. (2007).

Foram utilizados 500 pintos de um dia Cobb 500, machos, com peso médio de 40 g, distribuídos em 20 boxes de uma bateria metálica, com controle de temperatura através de lâmpadas de aquecimento. As aves foram criadas com água e alimentação à vontade durante toda a fase do experimento. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria (30m x 5,5m), coberta com telha de cimento-amianto e dotadas de Lanternim lanternin, pé-direito de 3,0m, muretas laterais de 0,5 m e o restante das laterais fechadas com tela de arame galvanizado e dotadas de cortina plástica. O galpão apresenta 20 boxes de 0,81 m² (0,9 x 0,9m) cada, com piso de cimento, sendo 20 de cada lado separado por um corredor central de 1m de largura. Após 21 dias a aves foram separadas, e cada parcela foi dividida em duas gaiolas devido à alta densidade.

O experimento foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 tratamentos obtidos pelos níveis de composto na ração (0, 0.5, 1.0, 1.5 e 2.0 %), com 4 repetições, totalizando 20 parcelas contendo 25 aves cada. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através do programa SISVAR (FERREIRA, 1998).

As rações experimentais foram à base de milho e farelo de soja, suplementadas com vitaminas, minerais e aminoácidos, sendo formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2000) (Tabela 1). Utilizou-se um programa alimentar com duas rações distribuídas nos períodos de 1 a 21 dias (inicial) e de 22 a 39 dias (crescimento). Tanto a dieta quanto a água foram fornecidas à vontade.

O composto exaurido do cogumelo foi desidratado em estufa a 110°C por 12 horas e posteriormente foi triturado em moinho com malha de 1 mm, para facilitar a homogeneização na dieta. Da amostra moída foram retiradas subamostras para análises de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS -AOAC, 1990), de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose e lignina pelo método sequencial de Van Soest (1994) e os resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 1 Composição percentual das rações experimentais de acordo com a fase de criação

Ingredientes	1-21 dias	21-39 dias
Milho	55,765	62,089
Farelo de soja	36,048	30,045
Óleo de soja	2,000	3,000
Calcário calcítico	0,980	0,911
Sal comum	0,455	0,400
DL-Metionina (99%)	0,178	0,121
L-Lisina (99%)	0,011	0,011
Colina (60%)	0,040	0,040
Suplemento Mineral	0,100	0,100
Suplemento vitamínico	0,100	0,100
Fosfato bicálcico	1,821	1,334
Anticoccidiano	0,050	0,050

“Tabela 1, conclusão”

Ingredientes	1-21 dias	21-39 dias
Caulim*	2,500	1,800
Total	100,000	100,000
Nível nutricional		
E.M (Kcal/Kg)	3.000	3.077
Proteína bruta (%)	22,08	19,07
Metionina (%)	0,520	0,520
M +C (%)	0,85	0,79
L-Lisina (99%)	1,16	1,00
P disponível (%)	0,450	0,450
Ca (%)	0,97	0,80

*O caulim foi adicionado como material inerte para incorporação do composto

Tabela 2 Composição química do composto exaurido do crescimento do cogumelo *Pleurotus sajor caju*

	MS	PB	FDN	FDA	Lignina	Celulose	Hemicelulose
	(%)						
<i>Pleurotus sajor caju.</i>	70,69	6,26	52,90	68,60	53,50	0,60	15,10

Aos 7, 21 e 39 dias de idade, efetuou-se a pesagem das aves e das sobras de alimento para avaliação do desempenho zootécnico. Os parâmetros de desempenho analisados foram: o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA). Ao final do período experimental (39 dias), foram pesadas e abatidas 3 aves por parcela após jejum de 6 horas. As aves foram amostradas ao acaso, abatidas e evisceradas para avaliação da carcaça. O rendimento de carcaça foi determinado com base na divisão do peso da carcaça limpa com cabeça, pés e vísceras e o peso da ave ao abate em gramas. A gordura abdominal foi determinada através da retirada da gordura localizada na região pélvica, sendo carcaça mantida na gelo para a retirada da mesma. A gordura foi pesada e dividida pelo peso da carcaça limpa e expressa em %.

As vilosidades do duodeno foram avaliadas microscopicamente. Para essa avaliação foram abatidas 8 aves por tratamento no 39^o dia no trigéssimo nono dia do experimento, quando foram coletados cuidadosamente um segmento do duodeno. Depois de coletados os segmentos em 1 cm de diâmetro, fixou-se o material em solução Bouin (150 ml de solução concentrada de ácido pícrico, 50 ml de formol comercial 40% e 10 ml de ácido acético glacial) durante 24 hs e após transferidas para álcool 70%, onde ficaram inclusas até a confecções dos cortes histológicos.

A primeira etapa da inclusão (a desidratação) consistiu na retirada da água dos tecidos e a sua substituição por álcool, na seguinte sequência de soluções com concentrações crescentes álcool: 70, 80, 90 % e duas baterias de álcool etílico absoluto (100%) pelo período de 6 horas cada. Na segunda etapa, álcool presente nos tecidos foi substituído por xilol, sendo as amostra mantidas em álcool e xilol (1:1) por uma hora e posteriormente colocadas em duas baterias de xilol com 30 minutos cada.

Na impregnação o xilol foi substituído por parafina, por meio de banho por 12 horas em parafina fundida em estufa entre 56 a 580 °C. Uma vez impregnados, os tecidos foram colocados em formas de papel, à temperatura ambiente, contendo parafina fundida e deixando-a endurecer. Assim, as amostra envoltas por parafina sólida foram denominadas de blocos.

A finalidade da inclusão foi impregnar os tecidos com uma substância de consistência firme que permite cortá-los em fatias finas para depois corá-los, possibilitando sua visualização ao microscópio.

Os cortes nos blocos foram feitos em micrótomo, com a espessura de 6 µm sendo as fitas obtidas durante a microtomia transferida para banho-maria mantida a 400 °C. Os cortes foram distendidos na superfície da água e depois colocados na superfície de uma lâmina mergulhada no banho-maria.

Para a coloração, os cortes foram desparafinizados,desparafinizados colocados na estufa a 35⁰ C por 12 horas, a seguir, colocados em duas baterias de xilol (quinze minutos cada), depois mergulhados em soluções decrescentes de álcool a 100, 90, 80, 70% denominada de hidratação, pelo período de três minutos cada e, posteriormente, em água comum por três minutos. Os cortes foram então corados pela solução aquosa de hematoxilina por 60 a 90 segundos e deixados em água. Posteriormente, foram corados pela solução eosina azulada por três minutos, permanecendo em água comum por cinco minutos.

Após essa etapa, teve início a desidratação, na seguinte sequência de soluções com concentrações crescentes de álcool: 70, 80, 90% por dois minutos cada e duas baterias de álcool etílico absoluto (100%) pelo período de dois e três minutos cada, se iniciando a diafanização, com duas baterias de xilol por cinco minutos cada. As lâminas foram montadas com uma gota de bálsamo do Canadá sobre o corte, a seguir, colocou-se a laminula.

A temperatura por período esteve no padrão do período do ano, onde as temperaturas são mais elevadas sem queda brusca durante a noite, como acontece no outono (Tabela 3).

Tabela 3 Médias das temperaturas em °C de máxima e mínimas durante o período Experimental

Temperatura			
Período	Mínimas	Máximas	Média
1-21 DIAS	19,0	34,0	26,5
21-39 DIAS	20,0	38,0	29,0
1-39 DIAS	19,5	36,0	27,8
Média Geral	19,5	36,0	27,5

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho estão Demonstradosmostrados na Tabela 3. Não foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) do uso do composto nos vários níveis, sobre o consumo de ração e conversão alimentar, nas duas fases de criação e em relação ao período total (1-39) dias. Machado et al. (2007) observaram aumento do consumo de ração e diminuição da conversão alimentar de frangos de corte alimentados com ração adicionada de doses de 0,2 a 0,8% de composto à ração. Entretanto, na concentração de 1% houve menor ganho de peso e conversão alimentar, o que os autores atribuíram a efeitos antinutricionais e pela maior quantidade de fibras alimentares presentes na dieta (MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003). Fuini (2001), utilizando o cogumelo *Agaricus blazei* como antibiótico, verificou redução do consumo da ração, com o aumento do nível de adição do cogumelo. Da mesma forma, no presente trabalho, esses fatores podem ter contribuído para reduzir os efeitos positivos da adição do composto, ou seja, menor consumo de ração e conseqüentemente menor conversão alimentar.

Tabela 4 Desempenho de frangos de corte em diferentes períodos de idade alimentados com rações adicionadas de composto exaurido do cultivo do cogumelo *Pleurotus ssp*

Período experimental (dias)	Níveis de adição do composto à ração (%)					Média	CV(%)
	0	0,5	1,0	1,5	2,0		
Consumo de ração (g/ave)							
1-21	1.257,7	1.314,7	1.251,1	1.300,8	1.247,9	1.277,4	3,32
22-39	2.377,2	2.398,0	2.391,1	2.387,6	2.394,7	2.389,7	0,89
1-39	3.623,5	3.712,7	3.642,3	3.688,5	3.642,6	3.661,9	1,19
Ganho de peso por ave (g)							
1-21	593,5ab	604,0a	564,2ab	598,7a	506,0b	573,2	6,53
22-39	1.374,0	1.359,7	1.349,5	1.501,2	1.329,2	1.382,7	11,76
1-39	1.874,5	1.859,2	1.820,5	1.817,0	1.748,5	1.823,9	7,24
Conversão alimentar							
1-21	1,75	1,76	1,78	1,80	1,81	1,78	10,27
22-39	2,12	2,19	2,22	2,17	2,47	2,23	7,48
1-39	1,95	1,99	2,02	2,03	2,09	2,01	7,46

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste *Tukey* ($P>0,05$)

O ganho de peso no período de 1 a 21 dias foi influenciado ($P<0,05$) pelo uso do composto. Foi observado comportamento quadrático do ganho de peso em função dos níveis de adição do composto à ração, com valor máximo de ganho de peso de 600,81g quando o nível de adição foi de 0,52% (Figura 1). A partir desse nível de adição, houve redução no ganho de peso. Resultados semelhantes foram observados em outros trabalhos. Machado et al. (2007) observaram aumento no ganho de peso, quando o composto foi adicionado até um nível de 1% da ração, a partir dessa concentração, os efeitos foram negativos. Outros autores também observaram maiores ganhos de peso com a utilização dos cogumelos de outras espécies, como *Lentinula edodes* (GUO,

2003), *Agaricus blazei* (FUINI, 2001), nesses trabalhos os níveis que proporcionaram os melhores resultados estiveram em torno de 0,21 a 0,25% de adição. Em todos os trabalhos citados, as avaliações de ganho de peso foram realizadas somente no período final de crescimento (em torno de 42 dias), diferente do presente trabalho, onde os estudos de ganho de peso foram realizados em duas fases de crescimento, não sabendo então, em qual fase do desenvolvimento houve melhor ganho. Cercos (1975) afirma que os efeitos benéficos de estimulantes de desempenho se manifestam nas quatro primeiras semanas de vida da ave, concordando então, com os dados do presente trabalho.

Os valores médios de consumo de ração (3.661,9g/ave), ganho de peso (1.823,9) e conversão alimentar (2,01) para frangos machos, estão condizentes com os valores encontrados na literatura (MACHADO et al., 2007).

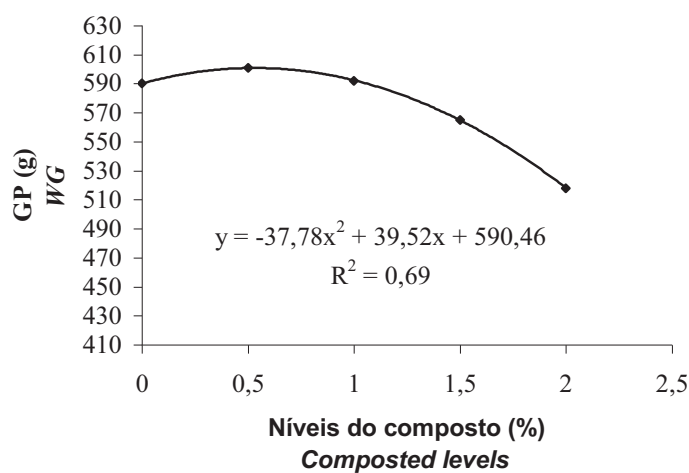


Figura 1 Efeito dos níveis de adição do composto sobre o ganho de peso de frangos no período de 0 a 21 dias de desenvolvimento

Com relação às características das carcaças, a adição do composto exaurido do cogumelo influenciou significativamente sobre o rendimento da mesma e altura das microvilosidades do intestino ($P < 0,05$). Resultados mostram que o rendimento da carcaça aumentou com o aumento dos níveis de adição do composto até o nível de 1,5% que foi superior significativamente ao nível 0 de adição. Os níveis 0,5, 1,0 e 2,0% apresentaram resultados intermediários (Tabela 4). Ao contrário, Machado et al. (2007) não observaram influência da adição de composto exaurido do cogumelo sobre o rendimento de carcaça, com valores médios de 76,62 para os machos e de 71,43 para as fêmeas.

A análise das microvilosidades aos 39 dias mostrou que tratamento que não recebeu o composto, apresentou maior altura das vilosidades, sendo igual estatisticamente aos níveis 1,0% e 1,5% (Tabela 4). As menores alturas foram observadas nos tratamentos 0,5 e 2,0% sendo este semelhante estatisticamente aos níveis 1,0 e 1,5%. Esses resultados mostram que houve uma resposta do trato digestivo aos ingredientes da dieta e esse fato tem importantes implicações sobre o epitélio intestinal. Alterações do tamanho dos microvilos afetam a absorção e, conseqüentemente, o desempenho das aves.

Para a gordura abdominal, não houve efeito significativo ($P < 0,05$) dos níveis de composto adicionados (tabela 4), com valores médios de 1,15%. Esse valor foi superior ao observado Machado et al. (2007), (2,58). Levando em conta a semelhança entre as dietas, as diferenças encontradas entre os dois experimentos devem estar relacionadas ao composto e à espécie do cogumelo.

Tabela 5 Características da carcaça e altura das vilosidades do jejuno das aves no período experimental de 1 a 39 dias com diferentes níveis de adição do composto exaurido do cogumelo à ração

Características	Nível de adição do composto à ração (%)					Média	CV(%)
	0	0,5	1,0	1,5	2,0		
Rendimento de carcaça (%)	77,75b	79,49ab	78,84ab	80,74a	79,01ab	79,16	1,51
Gordura abdominal (g)	1,32	1,15	1,08	1,49	0,89	1,15	26,23
Altura das vilosidades (μm)	937a	518c	833abc	891ab	566bc	749	21,27

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste *Tukey* ($P>0,05$).

As alturas das vilosidades não tiveram relação com o ganho de peso, mostrando assim que o desempenho das aves não foi afetado com a menor altura das criptas, como comprovaram Silva (1990), onde constatou que os maiores valores das vilosidades eram equivalentes ao ganho de peso no exato momento.

Efeitos positivos da adição do composto exaurido do cogumelo *Pleurostus sp.* sobre o desempenho de frangos de corte causaram resultados positivos para ganho de peso até os 21 dias e rendimento da carcaça. Esses resultados podem ter sido causados pelo efeito indireto dos compostos exauridos de fungos basidiomicetos que apresentam características de influenciar no equilíbrio do ecossistema intestinal, inibindo a ação de bactérias patogênicas na mucosa (MACHADO et al., 2007). Sabe-se que o micélio vegetativo das espécies de fungos basidiomicetos, consideradas medicinais também apresenta substâncias bioativas, constituídas principalmente por polissacarídeos do grupo β -glucanas. Esse fato também foi comprovado em *A. blazei* (ITO et al., 1997). A principal característica dessas substâncias, após serem absorvidas pela mucosa do trato intestinal, é a capacidade de atuar como agentes estimulantes da

resposta imunológica das aves, tornando-as menos susceptíveis à ação de patógenos adquiridos via alimentação.

Para a maioria das características avaliadas, consumo de ração, ganho de peso nas fases final e total de crescimento e gordura abdominal, a adição do composto à ração não causou nenhum efeito significativo. Sendo assim, com exceção do ganho de peso na fase inicial de crescimento com níveis de adição superiores a 0,52%, a adição do composto também não prejudicou o desempenho dos frangos. Corrêa et al. (2003) não observaram efeito da adição de probióticos sobre o desempenho de frangos de corte em nenhuma das fases de desenvolvimento. Os autores concluíram que os antibióticos poderiam ser substituídos por probióticos nas condições avaliadas. Da mesma forma, no presente trabalho, a adição de composto exaurido da produção do fungo *Pleurotus sajor caju* é recomendável sendo que o nível de adição de 5% é o melhor recomendado.

4 CONCLUSÃO

A adição do composto exaurido da produção do fungo *Pleurotus sajor caju* influenciou positivamente no desempenho de frangos de corte somente com relação ao ganho de peso na fase inicial de crescimento, sobre o rendimento de carcaça e sobre a microvilosidades do intestino. Sua utilização é recomendável, sendo que o melhor nível de adição é de 5%.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analyses**. 15th ed. Virginia, 1990. v. 1, 648 p.
- BERTECHINI, A. G. **Fisiologia da digestão de suínos e aves**. Lavras: FAEPE-UFLA, 1998. 141 p.
- CORRÊA, G. S. S. et al. Digestibilidade da ração de frangos de corte suplementados com probióticos e antibióticos. **Ciência Rural**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 687-691, 2001.
- CORRÊA, G. S. S. et al. Utilização de antibiótico e probióticos como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Universidade Rural**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 2, p. 75-81, 2003.
- DABA, A. S.; EZERONYE, U. O. Anti-cancer effect of polysaccharides isolated from higher basidiomycetes mushrooms. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 2, n. 12, p. 672-678, 2003.
- DIAS, E. S.; LABORY, C. R. G.; SILVA, R. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. Lavras: FAEPE-UFLA, 2002. 50 p.
- EDQVIST, L. R.; PEDERSEN, K. B. Antimicrobials as growth promoters: resistance to common sense. In: EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. **Late lessons from early warnings: the precautionary principle 1896-2000**. Copenhagen: OPOCE, 2002. Disponível em: <http://reports.eea.eu.int/environmental_issue_report_2001_22/en/issue-22-part-9.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2011.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 225-258.
- FERREIRA, D. N. **Sistema de análise estatística para dados balanceados**. Lavras: UFLA/ DEX/SISVAR, 1998.

FUINI, M. G. **Utilização do cogumelo *Agaricus blazei* como alternativa ao uso de antibióticos em rações para frangos de corte.** 2001. 64 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

GUO, F. C. **Mushroom and herb polysaccharides as alternative for antimicrobial growth promoters in poultry.** 2003. 281 p. Dissertation (Ph. D. in Animal Sciences) - Wageningen University, Wageningen, 2003. Disponível em: <<http://www.agralin.nl/wda>>. Acesso em: 18 dez. 2011.

HARRIS, L. E. Os métodos químicos e biológicos empregados na análise de alimentos. Gainesville: University of Florida, 1970. 150 p.

ITO, H. et al. Antitumor effects of a new polysaccharide-protein complex (ATOM) prepared from *Agaricus blazei* (Iwade strain 101) "Himematsutake" and its mechanisms in tumor-bearing mice. **Anticancer Research**, Athens, v. 17, n. 1(A), p. 277-284, 1997.

MACHADO, A. M. B. et al. Composto exaurido do cogumelo *Agaricus blazei* na dieta de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 1113-1118, 2007.

MIZUNO, M. et al. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 62, n. 2, p. 434-437, 1998.

MIZUNO, T. Medicinal properties and clinical effects of culinary/medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murril (*Agaricomycetideae*) (Review). **International Journal of Medicinal Mushroom**, Haifa, v. 4, n. 4, p. 298-311, 2002.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young nonruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 108, p. 95-117, 2003.

NIR, I.; NITSAN, Z.; BEM-AVRAHAM, G. Development of the intestine, digestive enzymes and internal organs of newly hatched chicks. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 18., 1988, Nagoya. **Proceedings...** Nagoya: Japan Poultry Science Association, 1988. p. 970-971.

RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHAN, K. Nutritional status of *Pleurotus spp.* grown on various agro-wastes. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 371-375, Mar. 2003.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: UFV, 2000. 141 p.

SANTOS, E. C. et al. Uso de beneficiadores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD ROM.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: UFV, 1990. 166 p.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

ZHANG, R. H.; LI, X.; FADEL, J. G. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 82, n. 3, p. 277-284, May 2002.

ANEXOS

TABELA 1A Resumo da análise de variância para o consumo de ração estimado durante o período experimental de 1-21 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	6,15172	1,53793	2,153	0,1243
Erro	15	10,71578	0,714386		
Total	19	16,86750			

CV= 3,32

TABELA 2A` Resumo da análise de variância para o consumo de ração estimado durante o período experimental de 21-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	0,41088	0,10272	0,1243	0,6401
Erro	15	2,39577	0,15971		
Total	19	2,80665			

CV= 0,84

TABELA 3A` Resumo da análise de variância para o consumo de ração estimado durante o período experimental de 1-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	7,49559	1,87389	2,485	0,0881
Erro	15	11,31174	0,7541		
Total	19	18,80733			

CV= 1,18

TABELA 4A` Resumo da análise de variância para a conversão alimentar estimado durante o período experimental de 1-21 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	105,09585	26,27396	1,958	0,1530
Erro	15	201,33180	13,42212		
Total	19	306,42766			

CV= 8,13

TABELA 5A` Resumo da análise de variância para a conversão alimentar estimado durante o período experimental de 21-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	14,95394	3,73848	0,110	0,9771
Erro	15	509,57772	33,97184		
Total	19	524,53167			

CV= 10,31

TABELA 6A` Resumo da análise de variância para a conversão alimentar estimado durante o período experimental de 1-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	26,38249	6,59562	0,487	0,7452
Erro	15	203,12819	13,54188		
Total	19	229,51069			

CV= 7,39

TABELA 7A` Resumo da análise de variância para o ganho de peso estimado durante o período experimental de 1-21 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	10,53837	2,63459	4,705	0,0116
Erro	15	8,39917	0,55994		
Total	19	18,93755			

CV= 6,52

TABELA 8A` Resumo da análise de variância para o ganho de peso estimado durante o período experimental de 21-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	2,44140	0,61035	0,089	0,9845
Erro	15	102,71583	6,84772		
Total	19	105,15723			

CV= 9,69

TABELA 9A: Resumo da análise de variância para o ganho de peso estimado durante o período experimental de 1-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	15,22335	3,80583	0,546	0,7047
Erro	15	104,55442	6,97029		
Total	19	119,77777			

CV= 7,24

TABELA 10A: Resumo da análise de variância para a gordura abdominal estimada durante o período experimental de 1-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	0,77656	0,19414	2,113	0,1297
Erro	15	1,37837	0,09189		
Total	19	2,15493			

CV= 26,23

TABELA 11A: Resumo da análise de variância para o rendimento de carcaça estimado durante o período experimental de 1-39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	18,86949	4,71737	3,281	0,0403
Erro	15	21,56415	1,43761		
Total	19	40,43365			

CV= 1,51

TABELA 12 A. Resumo da análise de variância para a altura das microvilosidades do duodeno estimado durante o período experimental de 1 a 39 dias

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	4	63,810079	15,952520	5,846	0,0403
Erro	15	40,932141	2,728809		
Total	19	104,742220			

CV= 21,27

TABELA 13 A. Análise de variância para a conversão alimentar de 21-39 dias estimada durante o período experimental, considerando regressão para os níveis do composto

...Causas de variação.....	GL.....	SQ.....	QM.....	FProb.> F
Regressão linear	1	0,009610	0,009610	0,287	0,600
Regressão quadrática	1	0,000007	0,000007	0,000	0,989
Desvio	2	0,000053	0,000026	0,001	0,999
Resíduo	15	0,501425	0,033428		

TABELA 14 A. Análise de variância para a conversão alimentar de 1-39 dias estimada durante o período experimental, considerando regressão para os níveis do composto

...Causas de variação.....	G	SQ.....	QM.....	F.....	Prob.> F
Regressão linear	1	0,033814	0,033814	1,940	0,184
Regressão quadrática	1	0,001311	0,001311	0,075	0,788
Desvio	2	0,003092	0,001546	0,089	0,916
Resíduo	15	0,261402	0,017427		

TABELA 15 A. Análise de variância para o ganho de peso de 1-39 estimada durante o período experimental, considerando regressão para os níveis do composto

...Causas de variação	GL.....	SQ.....	..QM...	..	.F.....	Prob.> F
Regressão linear	1	0,038440	0,038440	1,706	0,211	
Regressão quadrática	1	0,000114	0,000114	0,005	0,944	
Desvio	2	0,002046	0,001023	0,045	0,956	
Resíduo	15	0,337975	0,022532			

TABELA 16A. Análise de variância para a produção do cogumelo *Agaricus blazei*

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	Prob.> F
Tratamento	2	0,000033	0,000017	0,167	0,8538
Erro	3	0,000300	0,000100		
Total	5	0,000333			
CV= 0,65					