

## Tratamentos térmicos do calcisto para uso como camada de cobertura no cultivo de *Agaricus brasiliensis*

Thermal treatments on lime schist casing layer for *Agaricus brasiliensis* cultivation

Nelson Barros Colauto<sup>I</sup> Adriano Reis da Silveira<sup>II</sup> Augusto Ferreira da Eira<sup>II</sup>  
Giani Andrea Linde<sup>III</sup>

### - NOTA -

#### RESUMO

A escolha da camada de cobertura é uma das mais importantes etapas do cultivo de *Agaricus brasiliensis*. Apesar dessa importância, poucos estudos relatam o uso de diferentes tratamentos térmicos para o controle da microbiota em camadas de cobertura alternativas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da pasteurização e da autoclavagem do material alternativo calcisto para utilização como camada de cobertura no cultivo de *A. brasiliensis*. O fungo foi inicialmente crescido em grãos de trigo e transferido para meio de cultivo previamente compostado. Após a completa colonização, a camada de cobertura (calcisto) pasteurizada ou autoclavada foi adicionada. Avaliaram-se a eficiência biológica, o número e a biomassa de cogumelos produzidos e o fluxo de produção. Concluiu-se que a camada de cobertura com calcisto autoclavado reduz o tempo de produção, a eficiência biológica e o número e a biomassa de cogumelos cultivados. Entretanto, a camada de cobertura com o calcisto pasteurizado é a mais eficiente para o cultivo de *A. brasiliensis*.

**Palavras-chave:** eficiência biológica, *Agaricus blazei*, massa do cogumelo, tratamento térmico.

#### ABSTRACT

Casing layer choice is one of the most important phases on *Agaricus brasiliensis* cultivation. Besides the importance of it few studies report the use of different heat treatments to control the microbiota in alternative casing layers. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of pasteurized or autoclaved lime schist as an alternative casing layer on *A. brasiliensis* cultivation. The fungus was previously grown on wheat grains and transferred to a substratum

previously composted. After substratum mycelium colonization a pasteurized or autoclaved lime schist casing layer was added on. It was evaluated the biological efficiency, the number and mass of produced mushroom and the production flush along cultivation. It was concluded that autoclaved lime schist casing layer decreases period of production, biological efficiency, number and mass of cultivated mushrooms. However pasteurized lime schist casing layer is the most efficient on *A. brasiliensis* cultivation.

**Key words:** biological efficiency, mushroom mass, production flush, *Agaricus blazei*, thermal treatment.

O *Agaricus brasiliensis* Wasser et al. (*A. blazei* Murrill ss. Heinemann), de acordo com WASSER et al. (2002), é um basidiomiceto originário do Brasil que tem sido alvo de vários estudos em relação a suas propriedades medicinais imunomoduladoras e antitumorais (MOURÃO et al., 2009). Entre as várias etapas do cultivo de cogumelos, a camada de cobertura é uma das mais importantes (BRAGA et al., 1998). Nessa etapa, na superfície do substrato de cultivo colonizado, materiais com capacidade de absorção de água, como solo e/ou turfa, são adicionados. A camada de cobertura proporciona uma variação ambiental necessária para a mudança fisiológica no comportamento do micélio, e o fungo passa do estado de crescimento vegetativo para reprodutivo (COLAUTO & EIRA, 1998).

<sup>I</sup>Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Paranaense (UNIPAR), 87502-210, Umuarama, PR, Brasil. E-mail: nbc@unipar.br. Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

<sup>III</sup>Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, UNIPAR, Umuarama, PR, Brasil.

A turfa de musgo é a camada de cobertura mais eficiente e utilizada mundialmente (NOBLE & GAZE, 1995). Entretanto, no Brasil, a camada de cobertura mais utilizada é a de subsolo, geralmente próximo do local de cultivo, e/ou misturas com carvão vegetal (BRAGA et al., 1998). COLAUTO et al. (2009) reportam uma camada de cobertura alternativa para o cultivo de *A. brasiliensis*, o calxisto, também conhecido como xisto, proveniente de camadas intermediárias de minas de calcário. A pasteurização e o uso de formol na camada de cobertura são os tratamentos mais utilizados no cultivo de *A. brasiliensis*, porém o segundo pode deixar resíduos químicos indesejáveis (BRAGA et al., 1998). Entretanto, a falta de controle da microbiota, na camada de cobertura, pode levar ao surgimento de insetos ou microrganismos indesejáveis ao cultivo (MENZEL et al., 2003) e, portanto, não é recomendada. Contudo, na literatura pesquisada, não foram encontrados relatos sobre diferentes formas de tratamentos térmicos na camada de cobertura, sendo desconhecido o efeito da autoclavagem da camada de cobertura para o cultivo de *A. brasiliensis*. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da pasteurização e da autoclavagem no material alternativo calxisto para utilização como camada de cobertura no cultivo de *A. brasiliensis*.

Foi utilizado *A. brasiliensis* ABL99/26, pertencente ao Módulo de Biotecnologia de Cultivo de Cogumelos da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu. O micélio foi transferido para grãos de trigo previamente preparados (40min, a 100°C, com adição de 1% de CaCO<sub>3</sub>, autoclavados a 121°C, por 40min) e mantidos no escuro a 25±2°C, até completa colonização. A matéria-prima utilizada para compostagem estava de acordo com COLAUTO et al. (2009). Em seguida, o substrato (2,0kg) foi homogeneizado com 2g de inóculo e mantido no escuro, por 30 dias, a 25°C±2°C, com 90%±8% de umidade relativa (COLAUTO et al., 2008). Em seguida, foi adicionada a camada de cobertura com 4cm de espessura na superfície do substrato colonizado. Foram utilizados 10 potes (repetições) para cada tratamento, distribuídos ao acaso na sala para o cultivo.

Para o preparo da camada de cobertura, foi utilizado calxisto, proveniente de camadas intermediárias de minas de calcário, saturado com água, com pH ajustado para 7,0 com CaCO<sub>3</sub> e dividido em duas partes iguais. A primeira parte foi pasteurizada (CP) a 60°C, por seis horas, e a segunda parte foi

autoclavada (CA) a 121°C, por três horas. Após atingirem temperatura ambiente, cada camada de cobertura foi disposta sobre o substrato colonizado.

Após o micélio surgir na superfície da camada de cobertura, induziu-se a formação de primórdios pelo aumento da ventilação e pela redução da temperatura (20°C). A produção dos basidiocarpos foi realizada a 25°C, sendo a biomassa e o número de cogumelos frescos medidos e registrados diariamente. A umidade do substrato foi determinada por secagem a 105°C, até massa constante. A eficiência biológica (EB) foi calculada considerando a biomassa fresca de cogumelos produzida dividida pela biomassa seca do substrato expressa em porcentagem. As diferenças entre as médias foram determinadas pela análise de variância e pelo teste de Tukey (P<0,05).

Na figura 1, pode-se observar que a produção de basidiocarpos foi maior para CP. Na mesma figura, observa-se também que, para CP, foram seis fluxos de produção de basidiocarpos entre 1 a 2, 5 a 6, 12 a 16, 20 a 22, 26 a 34 e 45 a 49 dias de cultivo, enquanto para CA foram somente dois fluxos de produção entre três e quatro e entre oito e nove dias de cultivo. O uso de CA reduziu o tempo de produção para nove dias, enquanto que CP atingiu a mesma produtividade apenas aos 20 dias. Isso demonstra que CA pode ser utilizada em sistemas de produção de curto prazo, associado a substratos de menor volume, conforme relatado para *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer (COLAUTO et al., 1998). A vantagem desse processo de produção é a menor suscetibilidade ao ataque de pragas e doenças comuns em cultivos de longo prazo.

Em 49 dias de produção, a eficiência biológica e o número de cogumelos foram, respectivamente, 2,2 e 2,0 vezes maior para CP, sendo a biomassa média de cogumelo 10% menor em CA (Tabela 1). Isso sugere que os fatores que induzem a frutificação do *A. brasiliensis*, como baixa temperatura e maior ventilação, com manutenção da umidade, foram pouco eficientes quando CA foi utilizada como camada de cobertura.

A autoclavagem da camada de cobertura pode alterar a porosidade (estrutura secundária) desse material (KURTZMAN JR, 1995), reduzindo a biodisponibilidade de ar e dificultando as trocas gasosas que reduzem a produtividade de basidiocarpos. Além disso, esta elimina os microrganismos da camada de cobertura, permitindo o posterior crescimento de microrganismos competidores

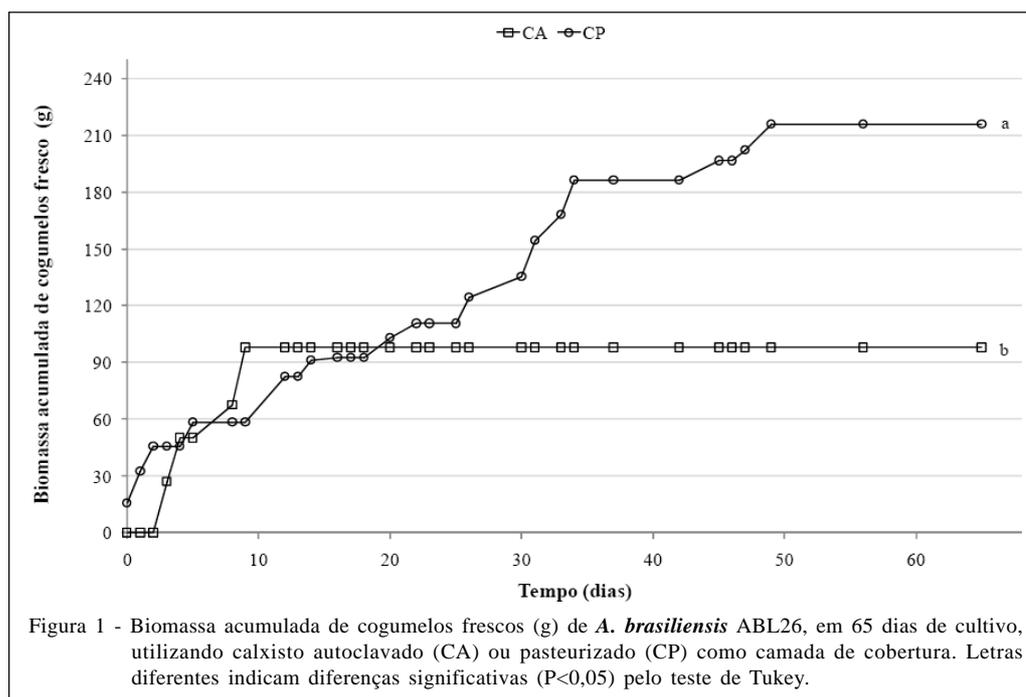


Figura 1 - Biomassa acumulada de cogumelos frescos (g) de *A. brasiliensis* ABL26, em 65 dias de cultivo, utilizando calxisto autoclavado (CA) ou pasteurizado (CP) como camada de cobertura. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

e/ou patogênicos, normalmente de crescimento rápido, que passam a controlar o microecossistema. Outro aspecto importante é o aumento da biodisponibilidade dos nutrientes da camada de cobertura devido ao processo hidrolítico de autoclavagem, facilitando o crescimento de microrganismos indesejáveis ou ainda o surgimento de insetos, conforme relatam MENZEL et al. (2003).

Já o processo de pasteurização da camada de cobertura reduz e não elimina o número de microrganismos viáveis, permitindo a competição e a autorregulação da microbiota presente (COLAUTO & EIRA, 1998). Dessa forma, ocorre o crescimento equilibrado de diferentes microrganismos em conjunto com o micélio do *A. brasiliensis*. Esse efeito de biostase favorece o cultivo de *A. brasiliensis* pela seleção quimioatrativa de microrganismos simbiotes de

interesse para o fungo ao longo de seu crescimento na camada de cobertura. COLAUTO & EIRA (1998) relatam que *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula, que são quimioatraídas pelo fungo, representam metade da microbiota da camada de cobertura no cultivo de *A. bisporus*, que, por sua vez, vem estimular o surgimento de primórdios.

Pode-se concluir que a camada de cobertura com calxisto autoclavado reduz o tempo de produção, a eficiência biológica, o número e a biomassa de cogumelos cultivados. Entretanto, a camada de cobertura com o calxisto pasteurizado é a mais eficiente para o cultivo de *A. brasiliensis*.

#### AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a bolsa de pós-doutorado da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Tabela 1 - Biomassa, número médio dos cogumelos frescos e eficiência biológica de *A. brasiliensis* ABL26 após 65 dias de cultivo utilizando calxisto autoclavado (CA) ou pasteurizado (CP) como camada de cobertura.

Camada de cobertura	Biomassa média por cogumelos (g)*	Número médio de cogumelos*	Eficiência biológica*
CA	41,0 a	2,5 a	16,3 a
CP	45,6 b	5,0 b	36,1 b

\* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

## REFERÊNCIAS

- BRAGA, G.C. et al. **Manual do cultivo de *Agaricus blazei* Murr. "Cogumelo-do-sol"**. Botucatu: FEPAF, 1998. 44p.
- COLAUTO, N.B. et al. Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. **Bioresource Technology**, v.101, p.712-716, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19735998>>. Acesso em: 14 jun. 2010. doi: 10.1016/j.biortech.2009.08.052.
- COLAUTO, N.B. et al. Fatores físicos que afetam a produtividade do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Científica**, v.26, p.25-43, 1998.
- COLAUTO, N.B. et al. Temperature and pH conditions for mycelial growth of *Agaricus brasiliensis* on axenic cultivation. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, p.307-312, 2008. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/2818/2397>>. Acesso em: 14 jun. 2010.
- COLAUTO, N.B.; EIRA, A.F. Avaliação quantitativa da comunidade bacteriana na camada de cobertura de *Agaricus bisporus*. **Energia na Agricultura**, v.13, p.15-26, 1998.
- KURTZMAN JR, R.H. *Agaricus bisporus* (Lge.) Imb. casing layer, II: porosity, the most important character. **International Journal of Mushroom Science**, v.1, p.11-17, 1995.
- MENZEL, F. et al. *Bradysia difformis* Frey and *Bradysia ocellaris* (Comstock): two additional neotropical species of black fungus gnats (Diptera, Sciaridae) of economic importance: a redescription and review. **Annals of the Entomological Society of America**, v.96, p.448-457, 2003. Disponível em: <[http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/0013-8746\(2003\)096%5B0448%3ABDFABO%5D2.0.CO%3B2](http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/0013-8746(2003)096%5B0448%3ABDFABO%5D2.0.CO%3B2)>. Acesso em: 14 jun. 2010. doi: 10.1603/0013-8746(2003)096[0448:BDFABO]2.0.CO;2.
- MOURÃO, F. et al. Antineoplastic activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.901-905, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjm/v40n4/v40n4a22.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2010. doi: 10.1590/S1517-83822009000400022.
- NOBLE, R.; GAZE, R.H. Properties of casing peat types and additives and their influence on mushroom yield and quality. **Mushroom Science**, v.14, p.305-312, 1995.
- WASSER, S.P. et al. Is a widely cultivated culinary-medicinal royal sun *Agaricus* (the himematsutake mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murrill? **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v.4, p.267-290, 2002. Disponível em: <<http://begellhouse.eu/journals/708ae68d64b17c52,72e968661ff5d957,0d3487e1197d1f4e.html>>. Acesso em: 14 jun. 2010.