

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO E CONDIÇÕES DE LUZ NO CRESCIMENTO E MASSA MICELIANA DE *AGARICUS BRASILIENSIS* S. WASSER ET AL.E. Bernardi¹, L.P. Donini, E. Minotto², J.S. do Nascimento

Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Micologia, CP 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: bernardieduardo@yahoo.com.br

RESUMO

O cultivo de cogumelos comestíveis vem tomando relevância no Brasil, principalmente depois de descobertas científicas que comprovaram atividades medicinais exercidas por eles e também pelo seu alto valor nutritivo e, ainda por estes tornarem-se uma fonte de renda alternativa para pequenos e médios produtores. Para realização deste trabalho foram utilizadas duas linhagens de *Agaricus brasiliensis* (ABL97/11 e ABL97/30), provenientes do Módulo de Cogumelos da FCA/UNESP, SP, as quais foram repicadas para diferentes meios de cultivo, à base de composto e adição ou não de dextrose, e incubadas na presença e ausência de luz, visando alterações no desenvolvimento miceliano. Observou-se que a luminosidade não influencia na massa miceliana, muito embora meios com dextrose proporcionaram maior massa miceliana para as duas linhagens. O meio composto-dextrose-ágar (CDA), quando incubado no escuro, proporcionou maior crescimento para as duas linhagens, sendo que a linhagem ABL11/97 apresentou maior crescimento que a linhagem ABL30/97.

PALAVRAS-CHAVE: Cogumelos medicinais, meios de cultura, luminosidade.

ABSTRACT

EFFECT OF MEDIA AND LIGHT CONDITIONS ON THE GROWTH AND MYCELIAL MASS OF *AGARICUS BRASILIENSIS* S. WASSER ET AL. The cultivation of edible fungi is gaining significance in Brazil, particularly in light of scientific research that has proved their medicinal activities and high nutritional value, coupled with the fact that they have become a source of alternative income for small and medium producers. For this study, two strains of *Agaricus brasiliensis* (ABL97/11 and ABL97/30) originating from the Module of Mushrooms of FCA/UNESP, SP were seeded in different cultivation media, consisting of compost and the addition or not of dextrose, and incubated in the presence and absence of light, checking for alterations in the mycelial development. It was observed that the brightness does not influence the mycelium mass, while media with dextrose provided larger mycelium mass for the two strains. Compost agar dextrose medium (CDA) when incubated in the darkness provided larger growth for the two strains, and the strain ABL11/97 presented larger growth than the strain ABL30/97.

KEY WORDS: Medicinal mushrooms, media culture, brightness.

O cultivo de *Agaricus brasiliensis* S. Wasser *et al.*, conhecido popularmente como “cogumelo-do-sol”, no Brasil, ainda é recente, sendo necessária pesquisa básica desde meios de cultura, formulação de composto, camada de cobertura, condições climáticas, dentre outras pesquisas sobre tecnologias de cultivo para a espécie. A técnica de cultivo é baseada na utilizada para *A. bisporus* (Champignon), que consiste na utilização de compostagem à base

de palha de gramíneas, esterco de cavalo, sulfato e cal, a qual é pasteurizada e acondicionada antes da inoculação. Por se tratar de uma espécie que cresce em materiais ligno-celulósicos compostados, também apresenta um bom desenvolvimento em meios de cultura elaborados à base de compostos e quando incubados em temperaturas variando de 25-29° C e umidade relativa de 60-90% (EIRA, 2003; PARK *et al.*, 2003).

¹Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar- FAEM - UFPel/Bolsista Capes.

²Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade - FAEM - UFPel/Bolsista Capes.

A fase de miceliação do composto é de fundamental importância para o cultivo de cogumelos, pois quanto mais rápido ocorrer o seu desenvolvimento menor são os riscos de ocorrerem contaminações por outros fungos ou bactérias, que possam vir a comprometer a produção. Logo, diferentes tipos de compostos e com diferentes fontes nutricionais podem ser mais propícios ao desenvolvimento de uma linhagem do que de outras, bem como fatores externos como temperatura e luminosidade exercem influências nas diferentes fases de produção de cogumelos.

Em vista, deve-se fazer a seleção do material mais adequado a ser utilizado para produção, assim como a utilização de linhagens mais adaptadas ao clima da região produtora. A maioria dos cogumelos comestíveis necessita de condições climáticas, como temperatura oscilando entre 25 e 30° C, sendo que variações bruscas destes valores levam a estagnação do crescimento e em alguns casos pode ocorrer a morte do micélio ou aborto dos primórdios da frutificação, o que comprometeria toda a produção. As linhagens não adaptadas ao clima não apresentarão potencial satisfatório de crescimento e produção de cogumelos (NERONA; LATEZA, 1994; ROSSI *et al.*, 2001).

Para a produção de cogumelos várias etapas devem ser seguidas, sendo que estas vão desde o isolamento até a comercialização do produto. Na pesquisa com linhagens isoladas, um aspecto importante de se observar é a escolha do meio de cultura adequado para a multiplicação deste fungo, visando a produção miceliana suficiente a dar seqüência às etapas seguintes da produção. O desenvolvimento miceliano dos fungos pode ser avaliado de diferentes formas, como: crescimento radial, vigor, velocidade de crescimento e o produto do crescimento radial x vigor, onde meios de cultivo mais pobres ou ricos nutricionalmente exercem influência, bem como outros fatores como luminosidade, temperatura, massa micelial etc (MARINO, 1997).

Este trabalho teve por objetivo avaliar diferentes meios de cultura e a presença e ausência de luminosidade, durante o período de cultivo *in vitro* de *A. brasiliensis*, para se obter maior velocidade de crescimento miceliano e produção de biomassa.

O respectivo trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Micologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

Para realização do experimento foram utilizadas culturas de *A. brasiliensis* linhagens ABL97/11 e ABL97/30, preservadas em meio de cultura à base de composto CDA (EIRA; MINHONI, 1997).

As culturas foram repicadas para placas de Petri, contendo meio de cultura composto-dextrose-

ágar (CDA), sendo estas incubadas a 28° C até a obtenção de crescimento miceliano em toda a placa. Após o crescimento, foi realizado o mesmo processo de repicagem (multiplicação) do micélio para placas de Petri contendo os seguintes meios de cultivo: BDA (batata-dextrose-ágar), BA (batata-ágar), CDA (composto-dextrose-ágar) e CA (composto-ágar), para a realização deste trabalho foi utilizado o composto descrito por NASCIMENTO; EIRA (2003). Todos os meios com pH ajustado para 5,5 e previamente esterilizados em autoclave a 121° C durante 15 minutos, sendo incubados nas mesmas condições até obtenção do crescimento miceliano (EIRA; MINHONI, 1997).

Discos de cultura, com sete dias de incubação e 10 mm de diâmetro, dos respectivos meios, foram novamente repicados para cada meio correspondente, usando-se a mesma metodologia em sete repetições; entretanto, a incubação ocorreu na ausência e presença de luz. As avaliações do crescimento miceliano foram realizadas com o auxílio de uma régua, medindo-se o diâmetro da colônia em oito direções, após o crescimento miceliano atingir a proximidade das bordas da placa em algum tratamento. Após a última avaliação do crescimento, a cultura foi dissolvida em água fervente, aproximadamente 500 mL por repetição, recolhendo-se a massa miceliana em pedaços de papel manteiga previamente pesados (Peso inicial - Pi), a qual foi seca em estufa a 50° C por 24h, obtendo-se a massa seca (Peso final - Pf). Através da diferença entre Pf e Pi obteve-se a biomassa miceliana para cada tipo de meio de cultivo utilizado sob os diferentes tratamentos.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e aplicação do teste de Duncan para comparação de médias, através do Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores-SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

Através da análise da variação podem-se observar diferenças significativas ($\alpha = 0,05$) para a interação entre linhagens, meios de cultura e presença ou ausência de luz, para as duas variáveis analisadas. Os meios à base de composto e à base de batata adicionados de dextrose promoveram maior massa miceliana significativa, não diferindo entre si em relação a luminosidade. Para velocidade de crescimento, o meio CDA promoveu maior crescimento quando incubado no escuro (Tabela 1).

Os meios BDA e CDA, ambos adicionados de dextrose, promoveram maior massa miceliana para as duas linhagens estudadas, sendo que, quando cultivadas em BDA, a linhagem ABL11/97 mostrou-se significativamente superior a ABL30/97 (Tabela 2). O meio CDA proporcionou maior crescimento miceliano para as duas linhagens, as quais não diferiram entre si para esta variável.

Tabela 1 - Média de massa miceliana (g) e crescimento miceliano (cm) das linhagens ABL97/11 e ABL97/30 de *A. brasiliensis* cultivadas em meios à base de composto e batata na presença (claro) e ausência de luz (escuro), após sete dias de incubação.

Variável	Meios	Luminosidade	
		Claro	Escuro
Massa miceliana	BA	0,006 b A	0,007 b A
	BDA	0,019 a A	0,017 a A
	CA	0,005 b A	0,005 b A
	CDA	0,019 a A	0,017 a A
Crescimento miceliano	BA	1,900 c B	2,748 c A
	BDA	2,462 b A	2,755 c A
	CA	2,565 b B	3,384 b A
	CDA	5,030 a B	5,693 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e de mesma letra maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, no nível de 5%.

Tabela 2 - Média de massa miceliana (g) e crescimento miceliano (cm) das linhagens ABL97/11 e ABL97/30 de *A. brasiliensis* cultivadas em meios à base de composto e batata, após sete dias de incubação.

Variável	Meios	Linhagens	
		ABL11/97	ABL30/97
Massa miceliana	BA	0,007 b A	0,007 b A
	BDA	0,022 a A	0,014 a B
	CA	0,004 b A	0,005 b A
	CDA	0,019 a A	0,017 a A
Crescimento miceliano	BA	2,404 c A	2,244 c A
	BDA	3,185 b A	2,031 c B
	CA	3,196 b A	2,752 b B
	CDA	5,545 a A	5,178 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e de mesma letra maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, no nível de 5%.

Para massa miceliana não houve efeito da luminosidade (claro ou escuro), mas observa-se que, no claro, a linhagem ABL11/97 mostrou-se superior a ABL30/97. Em relação ao crescimento miceliano houve efeito positivo no cultivo sob ausência de luz. Além disso, a linhagem ABL11/97 destacou-se, sendo superior a ABL30/97 (Tabela 3).

SINGH; VERMA (2000), em seu trabalho com crescimento micelial do cogumelo *Morchella esculenta*, evidenciaram diferentes resultados de velocidade de crescimento deste fungo diante de diferentes meios de cultivo, resultados estes também observados neste trabalho, mostrando que a composição do meio de cultivo foi fator interferente no desenvolvimento miceliano.

Tabela 3 - Média de massa miceliana (g) e crescimento miceliano (cm) das linhagens ABL97/11 e ABL97/30 de *A. brasiliensis* cultivadas em diferentes meios na presença (claro) e ausência de luz (escuro), após sete dias de incubação.

Variável	Linhagens	Luminosidade	
		Claro	Escuro
Massa miceliana	ABL11/97	0,014 a A	0,012 a A
	ABL30/97	0,011 b A	0,011 a A
Crescimento miceliano	ABL11/97	3,328 a B	3,837 a A
	ABL30/97	2,650 b B	3,453 b A

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, e de mesma letra maiúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan, no nível de 5%.

Os resultados deste trabalho, onde se pode observar diferenças de crescimento e massa micelial, também foram observados por BILAY *et al.* (2000) os quais notaram que das trinta espécies de cogumelos comestíveis e medicinais avaliadas, cada qual apresentou maior crescimento do micélio dependendo do meio de cultura ao qual estava submetida. Além disso, outro fator por eles analisado foi quanto ao pH, onde observaram que em diferentes faixas deste parâmetro ocorreram variadas velocidades no crescimento, fato este não possível de ser observado neste trabalho, pois todos os meios de cultivo utilizados encontravam-se na mesma faixa de pH.

Segundo STÖLZER; GRABBE (1991), a velocidade de crescimento é fundamental na seleção de linhagens para produção de cogumelos, pois nas etapas seguintes de produção a competitividade entre organismos habitantes do substrato é um fator preocupante, sendo que o de maior velocidade se estabelecerá primeiro inibindo o crescimento dos demais componentes deste ambiente.

As diferenças nutricionais fornecidas pelos meios de cultivo ao micélio em crescimento também foram relatadas por SILVA *et al.* (2004), os quais utilizando resíduos de frutas como substrato adicionado ao meio mineral, para otimizar o crescimento miceliano de *Pleurotus sajor-caju*, observaram que as maiores médias de biomassa miceliana seca foram encontradas quando utilizaram bagaço cana-de-açúcar, casca de maracujá, casca e coroa de abacaxi.

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa pode-se concluir que:

- a luminosidade não apresenta influência na obtenção de maior massa miceliana;
- os meios CDA e BDA proporcionam maior massa miceliana para as duas linhagens;
- o meio CDA, quando incubado no escuro, favorece maior crescimento para as duas linhagens, sendo que

a linhagem ABL11/97 apresenta maior crescimento que a linhagem ABL30/97.

REFERÊNCIAS

- BILAY, V.T.; SOLOMKO, E.F.; BUCHALO, A.S. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In.: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 2000. p.779-782.
- EIRA, A.F. *Cultivo do cogumelo medicinal Agaricus blazei (Murril) ss. Heinemann ou Agaricus brasiliensis (Wasser et al.)*. Viçosa: Aprenda Fácil. 2003. 398p.
- EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. *Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis*. 2.ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 115p.
- MARINO, R.H. *Produtividade de Pleurotus sajor-caju (Fr.) Sing. em função dos métodos de isolamento e produção de inoculantes*. 1997. 134f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 1997.
- NASCIMENTO, J.S.; EIRA, A.F. Occurrence of the false truffle (*Diehliomyces microsporus* Gilkey) and damage on the himematsutake medicinal mushroom (*Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al.). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, v.5, n.1, p.87-94, 2003.
- NERONA, A.M.; LATEZA, A.S. Mushroom culture in bagasse and mudpress. *Philippine Sugar Technologists*, 1994. p.348-352.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C.L. Determinação da concentração de b-glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murril por método enzimático. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.3, p.312-316, 2003.
- ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.6, p.887-891, 2001.
- ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O.; ANDRIOLI, J.L.; BARBOSA, J.C. Shiitake *Lentinula edodes* production on a sterilized bagasse substrate enriched with rice bran and sugarcane molasses. *Brazilian Journal of Microbiology*, n.34, p.66-71, 2003.
- SILVA, V.V.; CAMPANHA, F.G.; PERALTA, R.M. Otimização do crescimento micelial do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* utilizando resíduos de frutas como substrato. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE CASCAVEL, 1.; SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS DO MERCOSUL, 1., 2004, Cascavel. *Anais*. Cascavel, 2004. p.124.
- SINGH, S.K.; VERMA, R.N. Effect of nutrients on mycelial growth and sclerotia formation in *Morchella esculenta*. In.: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 2000. p.531-534.
- STÖLZER, S.; GRABBE, K. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. In.: MAHER, M.J. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, 1991. p.141-146.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. *SANEST - Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores*. Pelotas, RS: Universidade Federal de Pelotas, 1984. [Registrado na Secretaria Especial de Informática sob nº 066060 - categoria A].

Recebido em 10/4/07
Aceito em 11/8/08