# Tecnologia de cultivo do cogumelo medicinal Agaricus blazei (Agaricus brasiliensis)

Augusto Ferreira da Eira<sup>1</sup>, José Soares do Nascimento<sup>2</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>3</sup> e Paulo Gustavo Celso<sup>4</sup>

Agaricus blazei foi estudado em projeto temático quanto à tecnologia de cultivo, composição bioquímica e efeitos protetores. A nomenclatura A. blazei refere-se ao senso de Murrill que examinou cogumelos da Flórida, nos Estados Unidos. Entretanto, há relatos de sua origem no Brasil (Wasser et al., 2002) quando japoneses, que teriam obtido alguns benefícios à saúde, o remeteram ao Japão para estudos de suas propriedades medicinais. Nessa oportunidade, exsicatas do Brasil foram examinadas e relatadas por Heinemann (1993).

Na década de 90 uma intensa propaganda deu a esse cogumelo a fama de "cura tudo", elevando substancialmente seu valor no mercado nacional e internacional. Atualmente, o mercado do A. blazei fatiado e desidratado vem sendo intermediado por atacadistas que dominam o contato com os exportadores (principalmente para o Japão) e pagam ao produtor entre R\$ 60,00 (Tipo C) e R\$ 180,00 (Tipo A) por quilo desidratado (1kg desidratado corresponde a, aproximadamente, 10kg de cogumelo fresco).

Com o aumento da oferta no Brasil e no exterior (a China entrou no mercado), o preço internacional vem caindo. O Brasil, segundo dados da Secex, aumentou as exportações oficiais de 17,5t, em 1997, para aproximadamente 35t, entre 2002 e

2004, mas o preço de venda nesse mercado caiu de US\$ 148,00/kg desidratado (1997) para aproximadamente US\$ 100,00, atualmente. Mesmo assim, a título de comparação, o preço do shiitake no mercado externo é muito inferior ao do A. blazei (US\$ 6,25/kg desidratado).

Perante este mercado e propaganda estudou-se, no âmbito de um projeto temático multidisciplinar, a identificação de linhagens cultivadas no Brasil e as tecnologias de cultivo para incrementar a produtividade e reduzir os custos de produção (formulação do substrato, camada de cobertura e variáveis climáticas).

## Identificação do *A. blazei* e valor nutracêutico

A identificação taxonômica de linhagens do A. blazei (isoladas de basidiocarpos produzidos em São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul) foi efetuada pelos micologistas André de Meijer e Maria Ângela L. de A. Amazonas seguindo o senso de Heinemann (1993). Posteriormente, concluiu-se que as linhagens brasileiras devem seguir a nomenclatura Agaricus blazei (Murrill) ss. Heinemann ou a proposta de uma nova espécie Agaricus brasiliensis (Wasser et al., 2002), pois diferem das linhagens dos cogumelos da Flórida identificados por Murrill. A

caracterização genética por RAPD mostrou que as linhagens brasileiras são muito semelhantes: zero de distância genética entre as linhagens ABL97/11, ABL99/25 e ABL99/29; 10% entre esse grupo e a linhagem ABL99/28 e 20% entre a linhagem ABL99/26 e as demais (Colauto et al., 2002) (Figura 1).

Define-se como nutracêutico o valor de um alimento que encerra, de seus constituintes nutritivos, alguns princípios ativos coadjuvantes de terapias convencionais ou protetores contra radiações e drogas mutagênicas e carcinogênicas. As substâncias indicadoras de propriedades nutracêuticas mais estudadas são polissacarídeos de ligação β (βglucanas), isoladamente ou associados a proteínas para formar complexos glicoprotéicos de ligações (1→6) β-D-glucan-proteína (Mizuno et al., 1995). Entretanto, nos estudos das propriedades medicinais do A. blazei, observou-se que a determinação indireta das β-glucanas pela hidrólise enzimática das ligações α não era repetitiva (apesar de infundida no mercado), apresentando um erro analítico que não permitia distinguir diferenças significativas entre amostras de cogumelos tão distantes quanto Lentinula edodes e A. blazei (Eira, 2003). Análises enzimáticas a partir da β-glucosidase reduziram alguns desses erros (menor desvio-padrão

 $\triangleright$ 

Aceito para publicação em 5/4/2005.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Dr., prof. titular de Microbiologia Agrícola, Unesp/Faculdade de Ciências Agronômicas e supervisor do Departamento de Pesquisa da Fungibras, fone/fax: (14) 3815-2255, e-mail: augusto\_eira@fca.unesp.br.

 $<sup>^2\</sup>mathrm{Dr.},$  prof. do Instituto de Biologia da UFPEL, C.P. 354, 96010-900 Pelotas, RS.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Dr., prof. da Unipar/Diretoria de Gestão da Pós-Graduação, Praça Mascarenhas de Morais, s/n°, 87502-210 Umuarama, PR. <sup>4</sup>M.Sc., técnico do Laboratório de Apoio Regional Vegetal, Rua Joaquim Nabuco, 447, Cidade Baixa, 90050-340 Porto Alegre, RS.

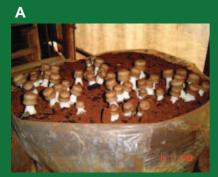




Figura 1. Diferenças agronômicas entre linhagens A. Brasiliensis (= A. blazei ss. Heinemann): (A) ABL1.02 (Fungibras) com bom número de cogumelos relativamente pequenos (entre 20 e 30g de matéria seca/cogumelo); B: ABL2.01 (Fungibras), que produz cogumelos grandes (entre 80 e 120g de matéria seca/cogumelo)

da média, Tabela 1). Por este método, amostras de A. blazei, apresentaram teores de  $\beta$ -glucanas superiores a outras duas espécies de cogumelos (Tabela 1), mas dez a 20 vezes menores (0,5%) que os relatados com a hidrólise das ligações  $\alpha$  (entre 5% e 10% em base seca). Observou-se também que o teor de  $\beta$ -glucanas depende do período de reação e da qualidade e estado da

enzima, ou seja, qualquer erro de metodologia é crítico. Além dos erros analíticos, as  $\beta$ -glucanas não constituem um parâmetro diferencial adequado, pois estão presentes em todos os cogumelos (fazem parte da parede celular).

Outros princípios ativos polares, apolares e de média polaridade, com propriedades quimioprotetoras já foram relatados em extratos do *A*. blazei (Delmanto et al., 2001; Terezan, 2002; Wasser et al., 2002). Esses princípios ativos estão em concentrações muito baixas no cogumelo (Terezan, 2002) e seu consumo deve ser encarado como nutracêutico e preventivo.

Além dos indicadores bioquímicos, a qualidade sanitária dos cogumelos desidratados deverá tornar-se um critério de qualidade obrigatório, pois pode ocorrer a proliferação de bactérias do grupo coli-aerogenes durante processos inadequados do processamento e desidratação (Rosa et al., 1999) (Figura 2).

Quanto ao valor nutricional, observa-se que o A. blazei é mais rico em proteínas que outros cogumelos (Tabela 1), face à sua genética e ao substrato de cultivo mais rico ("composto" com relação C/N de 17/1, após pasteurização e condicionamento), em comparação com os substratos de relações C/N largas (p. ex., o bagaço de cana-deaçúcar e a madeira com C/N>150/1),

 $Tabela\ 1.\ Análise\ bromatológica\ de\ A.\ blazei\ (basidiomas\ fechados\ e\ abertos\ esporulados)\ em\ relação\ a\ outros\ cogumelos\ (dados\ expressos\ na\ base\ seca)$ 

Linhagem	Basidioma	Proteína bruta	Extrato etéreo	Minerais	Fibra bruta	β-glucana <sup>(1)</sup>	Desvio padrão
		•••••	%		g/100g		
ABL99/25	Aberto	39,18	3,33	7,59	7,83	0,676	0,052
	Fechado	33,40	3,00	7,27	9,71	0,522	0,140
ABL99/26	Aberto	35,03	3,13	7,33	6,93	0,548	0,116
	Fechado	35,88	2,75	7,51	8,46	0,473	0.089
ABL99/29	Aberto	28,94	1,95	6,04	11,81	-	
	Fechado	32,80	2,73	6,54	5,56	0,586	0,129
ABL99/30	Aberto	29,36	1,53	6,84	11,06	0,487	0,043
	Fechado	33,71	2,89	7,09	6,14	0,398	0,073
ABL99/28	Fechado	-	-	-	-	4,00(2)	1,58
POS560	Aberto	23,28	2,56	7,05	10,86	0,413	0,030
LE96/17	Aberto	19,49	3,50	4,40	12,39	0,212	0,003
LE96/17	Aberto	-	-	-	-	$5,\!39^{(2)}$	1,29

<sup>&</sup>lt;sup>(1)</sup>Condições experimentais: liquenase, 10U, 60min a 45°C; β-glucosidase, 0,8U, 30min a 45°C.

Nota: ABL = A. blazei; POS = Pleurotus ostreatus.

 $LE = Lentinula \ edodes.$ 

- = amostras não analisadas.

Fonte: Bach, E.E., 1999, citado por Eira, 2003.

<sup>&</sup>lt;sup>(2)</sup>Método enzimático indireto para determinação de  $\beta$ -glucanas, pela diferença entre o açúcar total e o açúcar livre obtido pela hidrólise dos polissacarídeos de ligações  $\alpha$ .

usados no cultivo do *Pleurotus* spp. e *L. edodes*, respectivamente.

### Tecnologia de cultivo do A. blazei

Para averiguar o efeito das camadas de cobertura na produtividade, utilizou-se inicialmente a mesma formulação de substrato (C/ N::33/1) e os processos de compostagem, pasteurização e condicionamento análogos aos utilizados no cultivo do "champignon" (Van Griensven, 1988, citado por Eira, 2003). Verificou-se que as coberturas à base de turfas e xisto (Figura 3A) podem dobrar a produtividade do *A*. blazei (de 10% para 20% em base úmida), em relação à cobertura com a mistura de terra (70%) e carvão (30%) (Figura 4). Observou-se também produtividade menor no cultivo em condições de campo comparado ao cultivo em condições controladas (Figura 5).

Por outro lado, ao contrário do que se preconizava, as produtividades obtidas em composto com relações C/N iniciais muito largas (150/1) foram estatisticamente superiores às obtidas com formulações próximas às utilizadas no cultivo do A. bisporus (C/N entre 33/1 e 40/1), conforme dados apresentados na Figura 3C. Estes resultados abrem uma futura e econômica opção de trabalho com Fases I e II mais curtas (compostagem, pasteurização e condicionamento do composto) e maior competitividade do A. blazei nas Fases III a V (colonização, cobertura e frutificação).

Outro aspecto importante relatado na Figura 3C (à direita) refere-se à densidade de composto por superfície de cultivo, verificando-se maior produtividade com a densidade de 20kg de composto úmido/m² de superfície de cultivo, principalmente em ambientes rústicos ou com alta incidência de pragas.

Deve-se observar ainda na Figura 3C que a produtividade foi significativamente reduzida com a incorporação de farelo de soja no composto já colonizado pelo A. blazei, ao contrário do que acontece com a alta tecnologia de cultivo do "champignon" (Van Griensven, 1988, citado por Eira, 2003). Como causa indireta, observou-se maior infes-



Figura 2. Sujidades na colheita comprometem a qualidade sanitária dos cogumelos caso a lavagem e secagem não sejam adequadas

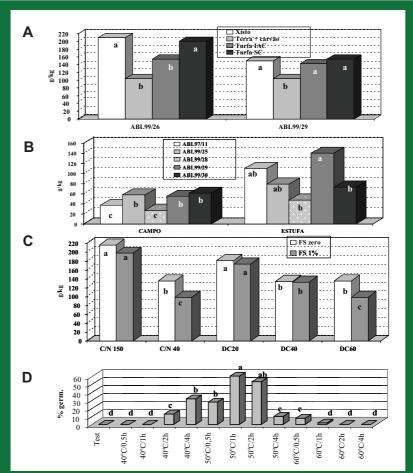


Figura 3. (A) Efeito de camadas de cobertura; (B) ambiente de cultivo e linhagens; (C) relações C/N, densidade de composto  $/m^2$  de superfície de cultivo ( $DC20 = 20 kg/m^2$ ;  $DC40 = 40 kg/m^2$  e  $DC60 = 60 kg/m^2$ ) e adubação do composto colonizado com farelo de soja (FS zero e FS 1%), na produtividade do Agaricus blazei em grama de cogumelo fresco/kg de substrato úmido; (D) germinação de esporos da falsa trufa (%), submetidos a tratamento térmico. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Kruskal-Wallis para p < 0,05)



Figura 4. Frutificação da linhagem ABL99/29 em camada de cobertura à base de 50% de terra de barranco, 25% de munha de carvão vegetal e 25% de turfa de Santa Catarina

tação de moscas das famílias Sciaridae e Phoridae nos tratamentos adubados (pragas de difícil controle no cultivo do *A. blazei*, levando a perdas entre 10% e 50%, segundo Eira, 2003).

A indução da frutificação pelo controle das variáveis climáticas também incrementa e concentra a produtividade do *A. blazei* em fluxos bem definidos. Ocorre quando, a um período de 15 a 20 dias de calor (temperatura ambiente variando entre 20 e 30°C e o composto entre 25 e 27°C), segue-se uma rega abundante com abaixamento da temperatura ambiente, entre 17 e 19°C (composto a 19°C), durante três a cinco dias (período frio), seguido novamente pela elevação da temperatura ambiente, entre 20 e 30°C (composto a 26°C em média),



Figura 5. Frutificação da linhagem ABL1.02 em condições de campo no quarto fluxo. A produtividade é menor pois depende do ambiente, mas os cogumelos são maiores e de melhor aspecto

durante 15 a 20 dias, e aeração profusa (teor de  ${\rm CO_2}$  abaixo de 400ppm), segundo Eira (2003) (Figura 6).

Em contraposição, a produtividade pode ser drasticamente reduzida por problemas sanitários de doenças e pragas, principalmente a falsa trufa (95% a 100%) e as moscas Sciaridae e Phoridae (10% a 50%). Uma variação da tecnologia que pode abrandar os problemas sanitários e do ambiente de cultivo é a adoção de menor densidade de composto/m² (Figura 3C), que deverá ser de 20 a 30kg de composto úmido/ m<sup>2</sup> de superfície de cultivo, para ambientes rústicos e quando ocorrem ou ocorreram esses problemas sanitários e de pragas. Por outro lado, em ambientes tecnificados e com baixa incidência de pragas e doenças, deve-se optar por densidades entre 50 e 60kg de composto/m² (Eira, 2003).

Um dos problemas sanitários mais graves do cultivo do A. blazei foi estudado por Nascimento & Eira (2003) no tocante à etiologia e controle da falsa trufa (Diehliomyces microsporus), que pode reduzir a produtividade em mais de 95%. As principais descobertas foram que esse fungo não sobrevive à temperatura de pasteurização do composto e da camada de cobertura, que é de 62°C, por 4 horas e que temperaturas ao redor de 50°C estimulam ou quebram a dormência dos esporos do fungo competidor, que pode inibir completamente o crescimento do cogumelo no composto mal pasteurizado (Figura 3D). Esta temperatura ao redor de 50°C ocorre em regiões do pasteurizador com sistema de ventilação mal calculado (abaixo de 200m3/t de composto e por hora), criando regiões no pasteurizador onde o ar não circula. O problema vem se alastrando em São Paulo e Estados vizinhos, pela aquisição de composto contaminado proveniente de fornecedores de baixo nível tecnológico (Nascimento,

As moscas das famílias Sciaridae e Phoridae (prejuízos entre 10% e 50% na produtividade), ácaros e nematóides (perdas ainda não determinadas) são os principais problemas de pragas no cultivo do *A. blazei*.

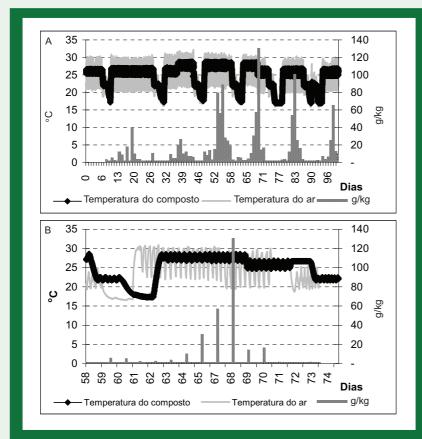


Figura 6. Efeito da alternância de temperatura na indução de fluxos de frutificação do Agaricus blazei (= A. brasiliensis): variações da temperatura do ar e do composto (°C) e produtividade média (g/kg), monitoradas a cada 15 minutos em câmara de cultivo controlada, nos testes de densidade de composto de 20, 40 e 60kg/m² de superfície de cultivo, e suplementação do composto colonizado (farelo de soja). (A) vários fluxos de indução e (B) apenas um fluxo de indução em detalhe

#### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesc – pelas bolsas concedidas e auxílio ao projeto temático "Cogumelos Comestíveis e Medicinais: Tecnologia de Cultivo, Caracterização Bioquímica e Efeitos Protetores dos cogumelos Agaricus blazei Murrill e Lentinula edodes (Berk) Pegler".

### Literatura citada

 COLAUTO, N.B.; DIAS, E.S.; GIMENES, M.A.; EIRA, A.F. Genetic characterization of isolates of the basidiomycete *Agaricus blazei* by rapd.

- Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v.33, p.131-133, 2002.
- DELMANTO, R.D.; ALVES DE LIMA P.L.; SUGUI, M.M.; EIRA, A.F.; SALVADORI, D.M.F.; SPEIT, G.; RIBEIRO, L. R. Antimutagenic effect of Agaricus blazei Murrill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. Mutation Researchenvironmental Mutagenesis And Related Subjects, Amsterdam, v.496, p.15-21, 2001.
- EIRA, A.F. Cultivo do cogumelo medicinal Agaricus blazei (Murrill) ss. Heinemann ou Agaricus brasiliensis (Wasser et al.). Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 2003. 398p.

- HEINEMANN, P. Agarici Austroamericani. VIII. Agariceae des régions intertropicales d'Amérique du Sud. Bull. Jard. Bot. Nat. Belg. /Bull. Nat. Plantentuin Belg. v.62, p.355-384, 1993.
- MIZUNO, T.; SAITO, H.; NISHITOBA, T.; KAWAGISHI, H. Antitumor-active substances from mushrooms. Food Reviews International, v.11, n.1, p.23-61, 1995.
- NASCIMENTO, J.S. Etiologia, controle e demanda de energia na prevenção da falsa trufa em cultivos de Agaricus blazei. 2003. 111P. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.
- 7. NASCIMENTO, J.S.; EIRA, A.F. Occurrence of the False Trufle (Diehliomyces microsporus Gilkey) and Damage on the Himematsutake Medicinal Mushroom (Agaricus brasiliensis S. Wasser et al.). Intern. J. Medicinal Mushrooms, v.5, n.1, p.87-94, 2003.
- ROSA, D.D.; PETTINELLI NETO, A.; CELSO, P.G.; EIRA, A.F. Exame e controle bacteriológico em amostras do cogumelo Agaricus blazei com vistas ao seu uso nutracêutico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20., 1999, Salvador, BA. Resumos..., Salvador, BA: SBM/Finep/Fiocruz/ CNPq, 1999. p.381.
- TEREZAN, A.P. Metabolismo secundário dos fungos comestíveis e medicinais Agaricus blazei e Lentinus edodes: análises comparativas de linhagens e biodegradação de lignina.
  2002. 136f. Dissertação (Mestrado em Química, na área de concentração Química Orgânica), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- 10. WASSER, S.P.; DIDUKH, M.Y.; AMAZONAS, M.A.A.; NEVO, E., STAMETS, P.; EIRA, A.F. Is a widely cultivated culinary-medicinal Royal sun agaricus (the himematsutake mushroom) indeed Agaricus blazei Murrill? International Journal of Medicinal Mushrooms, New York, v.4, p.267-290, 2002.