

# DOSSIÊ TÉCNICO

Produção de semente de cogumelos  
comestíveis e medicinais

Luiz Henrique Rosa

Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais  
CETEC

maio  
2007

## Sumário

<b>1</b>	<b>Importância da produção de “sementes” de cogumelos .....</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Reino fungi – Filo Basidiomycota .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Conceitos básicos em microbiologia .....</b>	<b>4</b>
<b>4</b>	<b>Reprodução dos fungos basidiomicetos .....</b>	<b>5</b>
<b>5</b>	<b>Processo de esterilização .....</b>	<b>6</b>
<b>5.1</b>	<b>Esterilização com calor úmido (autoclavagem).....</b>	<b>7</b>
<b>6</b>	<b>Preparo dos meios de cultura .....</b>	<b>8</b>
<b>7</b>	<b>Condições de crescimento das matrizes .....</b>	<b>9</b>
<b>8</b>	<b>Técnicas para isolamento de matrizes .....</b>	<b>10</b>
<b>9</b>	<b>Montagem do banco de matrizes .....</b>	<b>11</b>
<b>10</b>	<b>Equipamentos necessários e suas funções .....</b>	<b>11</b>
<b>11</b>	<b>Escolha e preparo do grão .....</b>	<b>12</b>
<b>12</b>	<b>Preparo da “semente” .....</b>	<b>12</b>
<b>13</b>	<b>Preservação e transporte da “semente” .....</b>	<b>13</b>
<b>14</b>	<b>Contaminações .....</b>	<b>13</b>
	<b>Referências .....</b>	<b>14</b>

**Título**

Produção de “semente” de cogumelos comestíveis e medicinais

**Assunto**

Cultivo de cogumelo

**Resumo**

O consumo de cogumelos comestíveis e medicinais tem aumentado consideravelmente no mercado brasileiro. Isto se deve, principalmente, aos benefícios para a saúde de algumas espécies cultivadas. O sucesso do cultivo de espécies de cogumelos comestíveis e medicinais ainda é uma atividade limitada por uma série de fatores. O primeiro passo rumo ao avanço no cultivo de cogumelos passa primeiro pela produção da “semente”. É praticamente inviável pensar em cultivo rentável utilizando técnicas de produção avançadas sem contar com uma “semente” que corresponda a essa tecnologia. Os termos matriz, micélio, “spawn”, branco e “semente” são termos utilizados como referência ao material necessário para se cultivar e produzir diferentes tipos de cogumelos e representa a primeira etapa técnica da produção. Para a maioria dos cogumelos comestíveis comercializados a produção de “semente” segue recomendações técnicas semelhantes. A produção das “sementes” de cogumelo pode ser resumida pelas seguintes etapas: preparo do meio de cultura para isolamento; colheita de um cogumelo saudável; isolamento da matriz primária a partir do micélio terciário (fragmento interno do cogumelo) ou de esporos presentes nas lamelas; cultivo e manutenção adequada da matriz primária em meios de cultura específicos e em condições de assepsia; preparo da matriz secundária, escolha e preparo do grão para inoculação da matriz secundária; inoculação e incubação da matriz secundária sobre o grão; armazenamento e distribuição adequados das “sementes”; controle de qualidade da “semente” produzida. Todas as etapas devem ser realizadas em laboratório devidamente equipado para controle estrito das condições de esterilidade, pois contaminações por outros fungos, bactérias e insetos são muito frequentes.

**Palavras chave**

*Agaricus blazei*; agricultura; cogumelo; cogumelo do sol; cultivo; incubação; inoculação; produção; semente; sementeira

**Conteúdo****1 Importância da produção de “sementes” de cogumelos**

O aumento do consumo de cogumelos comestíveis e medicinais aumenta se deve, principalmente, aos benefícios para a saúde de algumas espécies cultivadas. O sucesso do cultivo de espécies de cogumelos comestíveis e medicinais ainda é uma atividade limitada por uma série de fatores. O primeiro passo rumo ao avanço no cultivo de cogumelos passa primeiro pela produção da “semente”. É praticamente inviável pensar em cultivo rentável utilizando técnicas de produção avançadas, sem contar com uma “semente” que corresponda a essa tecnologia.

Os termos matriz, micélio, “spawn”, branco e “semente” são termos utilizados como referência ao material necessário para se cultivar e produzir diferentes tipos de cogumelos e representa a primeira etapa técnica da produção.

Para a maioria dos cogumelos comestíveis comercializados a produção de “semente” segue recomendações técnicas semelhantes. A produção das “sementes” do “Cogumelo do Sol” (*Agaricus blazei*) pode ser resumida pelas seguintes etapas:

1. Preparo do meio de cultura para isolamento;
2. Colheita de um cogumelo saudável;
3. Isolamento da matriz primária a partir do micélio terciário (fragmento interno do cogumelo) ou de esporos presentes nas lamelas;
4. Cultivo e manutenção adequada da matriz primária em meios de cultura específicos e em condições de assepsia;
5. Preparo da matriz secundária
6. Escolha e preparo do grão para inoculação da matriz secundária;
7. Inoculação e incubação da matriz secundária sobre o grão;
8. Armazenamento e distribuição adequados das “sementes”;
9. Controle de qualidade da “semente” produzida.

Todas as etapas devem ser realizadas em laboratório devidamente equipado para controle estrito das condições de esterilidade, pois contaminações por outros fungos, bactérias e insetos são muito frequentes.

## **2 Reino fungi – Filo Basidiomycota**

Os fungos são seres vivos extremamente importantes e diversificados que estão presentes diariamente na vida do homem. Mofos, bolores, fermentos e cogumelos são termos utilizados para denominar os fungos. Apesar da importância dos fungos, no Brasil ainda não foi realizado um estudo aprofundado do potencial das espécies presentes em nossos ecossistemas (ROSA, 2002).

Ao longo dos tempos, os cogumelos têm sido apreciados pelo seu sabor, textura e atributos medicinais. Contudo, o reconhecimento como importantes fontes de substâncias biologicamente ativas vem tomando força atualmente (CHANG, 1999).

Em todo o mundo, diferentes populações têm utilizado cogumelos para prevenir e até curar doenças. São conhecidas diferentes espécies de cogumelos, sendo algumas tóxicas, alucinógenas, afrodisíacas, nutricionais e medicinais.

O termo cogumelo é utilizado para caracterizar os fungos que produzem corpos de frutificação macroscópicos (basidiomas) e que têm forma de guarda-chuva (FIG. 1). Também são comumente conhecidos como chapéus-de-sapo e orelha-de-pau. Os cogumelos são alimentos de grande valor nutritivo, contendo poucas calorias, apresentando-se como uma boa opção de fonte alimentar (BONONI et al., 1995).

Os cogumelos são consumidos principalmente por europeus e asiáticos, sendo que em certos países mais desenvolvidos o seu consumo chega em média de 4 kg por habitante/ano. No Brasil, o consumo ainda está distante de um potencial satisfatório, e é estimado em aproximadamente 70 g por habitante/ano.

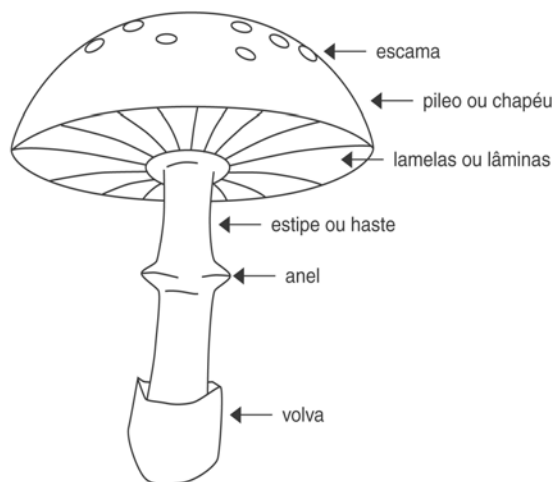


FIGURA 1 - Corpo de frutificação de um cogumelo e suas partes.  
Fonte: ROSA, 2007

Nos últimos anos, o consumo de cogumelos vem aumentando consideravelmente e se destaca devido ao seu sabor refinado, grande valor nutritivo, pelo seu potencial medicinal e aumento da oferta e procura, tornando-se, gradativamente, um produto mais popular e acessível. Em 1994, o valor da produção mundial de cogumelos e seus produtos medicinais foi estimado em aproximadamente 14 bilhões de dólares, semelhante à produção mundial de café de 15 bilhões de dólares em 1997 (Chang, 1999). Os principais cogumelos cultivados atualmente no Brasil são o *Agaricus bisporus* Lange (Champignon de Paris), *Lentinula edodes* Berk. (Pegler) (Shiitake), espécies do gênero *Pleurotus* (Shimeji e Hiratake) e, atualmente o *Agaricus blazei* Murrill ("Cogumelo do Sol").

### 3 Conceitos básicos em microbiologia

Para entender de forma adequada os processos de produção de "sementes" dos cogumelos comestíveis e medicinais é necessário conhecer a definição dos termos técnicos utilizados em microbiologia, quais sejam:

**Aeróbio** – Organismo que utiliza oxigênio para respirar e desenvolver.

**Agar** – Um polissacarídeo (açúcar) extraído de algas marinhas e utilizado como agente solidificante em meios de cultura para crescimento dos fungos.

**Antibacteriano** – Agente que mata ou previne o crescimento de bactérias.

**Antibiótico** – Substância que em pequenas concentrações tem atividade antimicrobiana.

**Antifúngico** - Agente que mata ou previne o crescimento de fungos.

**Assepsia** – Uma condição em que microrganismos prejudiciais estão ausentes.

**Autoclave** - Aparelho que utiliza o vapor d'água sob pressão para realizar a esterilização.

**Basídio** - Estrutura especial semelhante a uma clava, onde se originam os basidiósporos exógenos dos fungos basidiomicetos (cogumelos).

**Basidioma** – Corpo de frutificação que carrega os basídios, os quais produzem os basidiósporos.

**Basidiomicetes** – Classe de fungos que formam basidiósporos (cogumelos).

**Basidiósporos** - Esporo sexuado produzido após união de dois núcleos numa estrutura especial conhecida como basídio.

**Cenocítico** – Termo aplicado a uma célula ou hifa não-septada que contém vários núcleos.

**Clone** – População de células descendentes de uma única célula.

**Coleção de cultura** – Depósito de microrganismos e células mantidos para uso constante.

**Cultura** – População de microrganismos cultivados em um meio.

**Desinfecção** – Processo em que se utiliza uma substância química para destruir microrganismos patogênicos ou indesejáveis.

**Desinfectante** – Agente que elimina as células vegetativas de microrganismos, dotados de potencial patogênico, de materiais ou ambientes inanimados.

**Detergente** – Agente sintético de limpeza, contendo substâncias tenso-ativas que não precipitam em águas salobras.

**Espécie** – Grupo taxonômico básico.

**Estéril** – Livre de organismos vivos.

**Esterilização** – Processo de esterilizar; morte de toda e qualquer forma de vida.

**Filamentoso** – Caracterizado pela presença de estruturas filiformes.

**Fluxo laminar** – Circulação de corrente de ar em que os fluxos não se misturam; o ar move-se paralelo ao longo das linhas do fluxo.

**Germicida** – Um agente capaz de matar germes, geralmente microrganismos patogênicos.

**Glicose** – Carboidrato classificado como monossacarídeo utilizado como fonte de carbono nos meios de cultura para crescimento dos fungos.

**Hifa** – Um filamento de um micélio.

**Hipoclorito** – Composto contendo cloro utilizados como desinfectantes e agentes sanitificantes.

**Incineração** – Destruição de microrganismos pela combustão, transformando em cinzas.

**Incubação** – Manutenção de culturas de fungos em condições favoráveis para seu crescimento.

**Inoculação** – Introdução artificial de microrganismos ou substâncias no meio de cultura.

**Meios de cultura** – Substâncias utilizadas para fornecer nutrientes para o crescimento e multiplicação de microrganismos.

**Micélio** – Massa de filamentos, ramificados ou enovelados, que constitui a estrutura vegetativa de um fungo.

**Microrganismos** – Qualquer organismo de dimensões microscópicas.

**Patogênico** – Organismo capaz de produzir doença.

**Peptona** – Proteína parcialmente hidrolisada.

**pH** – Símbolo do grau de acidez ou alcalinidade de uma solução; representa a concentração hidrogeniônica.

#### 4 Reprodução dos fungos basidiomicetos

Os cogumelos se reproduzem-se sexuadamente (FIG.2) por meio de esporos denominados basidiosporos, localizados em estruturas chamadas de basídios que se localizam nas lamelas. Também pode se reproduzir assexuadamente (reprodução vegetativa) pela multiplicação de qualquer parte do corpo de frutificação. Não formam sementes como os vegetais, mas sim esporos, que são estruturas microscópicas.

Ao germinarem os esporos produzem células que se arranjam em filamentos denominados hifas. As hifas crescem no solo ou sobre outro substrato formando o micélio. Os primórdios são formados pela fusão de hifas de dois micélios de cargas genéticas distintas, e este dá origem ao corpo de frutificação, ou seja, o cogumelo propriamente dito (FIG.3).

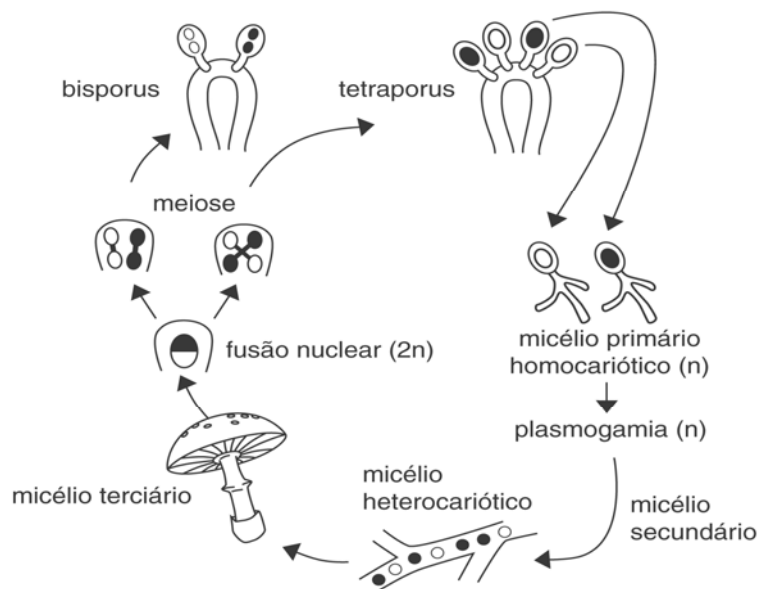


FIGURA 2 - Ciclo da reprodução sexuada de um fungo basidiomiceto (*Agaricus bisporus* – champignon de Paris).  
Fonte: ROSA, 2007

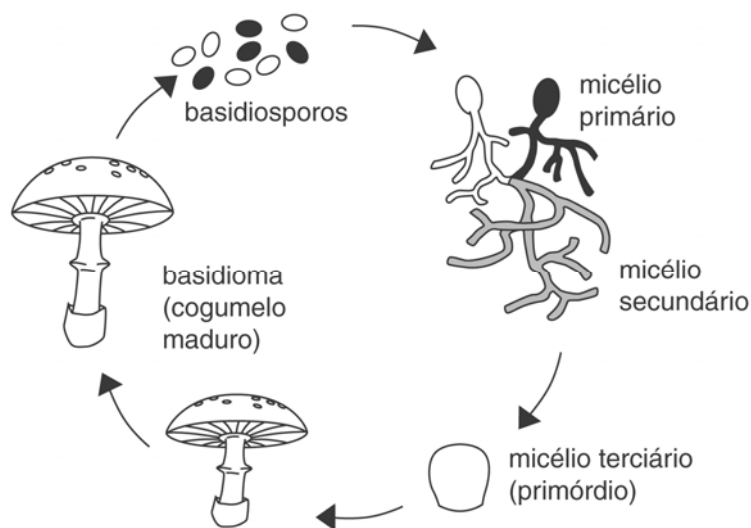


FIGURA 3 - Ciclo de vida de um cogumelo.  
Fonte: ROSA, 2007

## 5 Processo de esterilização

Procedimentos inadequados de desinfecção e esterilização podem constituir a maior fonte de problemas no preparo de “sementes” de cogumelos comestíveis e medicinais.

Diferentes processos físicos e químicos (TAB.1) podem ser utilizados para o controle de contaminantes (bactérias, vírus, outros fungos e invertebrados) durante os processos de produção de “sementes” de cogumelos.

TABELA 1

Processos físicos e químicos utilizados para controle de contaminações durante a produção de “sementes” de cogumelos.

<b>Físicos</b>	<b>Químicos</b>
Calor úmido	Cloro
Calor seco	Formol
Incineração	Fenol
Baixas temperaturas	Iodo
Radiações ionizantes	Álcool
Radiações não-ionizantes	Detergentes
Filtração	Metais pesados

Fonte: ROSA, 2007

Tanto os processos físicos quanto os químicos são utilizados nas diferentes etapas da produção de “sementes”. Para o preparo dos meios de cultura de crescimento e desenvolvimento das matrizes primária e secundária, o calor úmido é utilizado para esterilização (processo de autoclavagem).

Por meio de uma alça de platina, as matrizes são repicadas e mantidas evitando contaminações incinerando-a em chama do bico de Bunsen. Na capela de fluxo laminar, equipamento utilizado para repique das matrizes, existe uma lâmpada que emite luz ionizante (ultravioleta) que previne o crescimento de microrganismos contaminantes.

Todos os agentes químicos citados na Tabela 1 são utilizados no processo de produção de “sementes”. Estes agentes são fundamentais para realizar a assepsia das bancadas da área de produção, bem como todos os equipamentos utilizados.

### 5.1 Esterilização com calor úmido (autoclavagem)

O calor úmido é o processo mais eficiente para esterilização dos materiais utilizados para produção de “sementes” de cogumelos comestíveis. O calor úmido é capaz de desnaturar e coagular substâncias essenciais para o desenvolvimento de organismos contaminantes. O calor úmido na forma de vapor d’água (autoclavagem) é um método essencial em uma unidade de produção de “sementes” de cogumelos.

O aparelho utilizado para esterilizar com vapor d’água sob pressão é a AUTOCLAVE, equipamento fundamental na área de microbiologia e assemelha-se a uma panela de pressão.

Uma autoclave é operada a uma pressão de 15 lb/pol<sup>2</sup> que corresponde a uma temperatura de 121°C. O tempo necessário para esterilizar nesta temperatura depende do material a ser tratado. Para os meios de cultura o tempo pode variar de 15-30 minutos. Para esterilizar os grãos que servirão de veículo para o micélio do “Cogumelo do Sol” o tempo pode variar de 1,5 a 3 horas. Para o uso correto da autoclave deve-se seguir as seguintes etapas:

- Verificar o nível de água da autoclave. O nível deve estar acima da resistência para que o aparelho não sofra danos;
- Ligar a chave geral e colocar o termostato do aparelho no nível máximo;



- Fechar a tampa da autoclave e abrir a válvula de escape de vapor. A câmara da autoclave é primeiramente lavada com vapor fluente, para remover e evitar a formação de bolsões de ar residual, que pode comprometer a esterilização;
- Depois da saída constante de vapor (aproximadamente 10 minutos) fechar a válvula de escape e deixar chegar 121°C ou 1 atm;
- Colocar o termostato do aparelho no nível médio e marcar o tempo de autoclavação.

Para o controle de qualidade da temperatura ótima de esterilização (121°C) recomenda-se utilizar fita de autoclave sobre o material a ser preparado.

## 6 Preparo dos meios de cultura

Para o isolamento, repique e manutenção das matrizes dos cogumelos comestíveis e medicinais é necessário o preparo de um substrato adequado para o crescimento das hifas. Tais substratos são preparados em condições adequadas de laboratórios e chamados tecnicamente de meios de cultura.

O meio de cultura mais utilizado para o crescimento das matrizes de cogumelos é denominado de Agar Batata e têm a seguinte formulação:

### **Agar Batata**

140g de batata inglesa  
 10g de dextrose (ou açúcar comum)  
 20g de agar (ou gelatina branca se sabor)  
 1000ml de água destilada

Modo de fazer:

- Autoclavar a batata inglesa em em 500ml de água destilada por 15 minutos a 121°C e coar o caldo da batata em algodão ou gaze;
- Suspende o agar ou gelatina em 500ml de água destilada;
- Misturar o caldo da batata filtrada com o agar fundido, adicionar a dextrose e completar o volume para 1l de água destilada;
- Nesta etapa poder ser acrescentado 100mg de um antibacteriano ao meio de cultura para inibir o crescimento de bactérias contaminantes;
- Distribuir o meio bem dissolvido em frascos tipo Pirex que resistam a altas temperaturas;
- Autoclavar por 20 minutos a 121°C;
- Distribuir o meio em placas de Petri estéreis e esperar solidificar.

Este meio de cultura é recomendado pela American Public Health Association (APHA, 1984) para o crescimento e identificação de fungos. Para inibir o crescimento de bactérias contaminantes durante o processo de isolamento das matrizes primárias, pode ser utilizado um antibacteriano (cloranfenicol ou estreptomina) comprado em empresas especializadas ou em farmácias.

Outros meios de cultura também podem ser utilizados. Tais meios podem ser comprados prontos de empresas especializadas, sendo que dentre os existentes destacam-se:

### **Agar Batata Dextrosado**

Fórmula (g/l)	
Agar bacteriológico	15,0
Dextrose	20,0
Infuso de batata	4,0
pH final	5,6±2 a 25°C

### **Agar Extrato Malte**

Fórmula (g/l)	
Agar bacteriológico	15,0
Extrato de malte	30,0
Peptona de soja	5,0
pH final	5,4±2 a 25°C

### **Agar Sabouraud Dextrosado**

Fórmula (g/l)	
Agar bacteriológico	15,0
Dextrose	40,0
Peptona de carne	5,0
Peptona de caseína	5,0
pH final	5,6±2 a 25°C

### **Agar Seletivo para Fungos**

Fórmula (g/l)	
Agar bacteriológico	15,5
Ciclohexamida	0,4
Cloranfenicol	0,05
Dextrose	10,0
Peptona de soja	10,0
pH final	6,9±2 a 25°C

### **Aveia Dextrose Agar**

Fórmula (g/l)	
Agar bacteriológico	17,0
Aveia	50,0
pH final	5,7±2 a 25°C

## **7 Condições de crescimento das matrizes**

Os fungos necessitam de quatro condições físicas para crescimento e desenvolvimento nos meios e cultura. São elas a temperatura, o pH, a atmosfera de oxigênio e a umidade.

### **Temperatura**

A temperatura exerce grande influência no crescimento dos fungos. Isto se deve ao fato de que todas as reações químicas dos seres vivos são estritamente dependentes da temperatura. Os fungos são organismos mesófilos, ou seja, necessitam de temperaturas moderadas para crescimento que variam de 25 a 40°C. Contudo, a temperatura ideal para o crescimento e desenvolvimento das matrizes do “Cogumelo do Sol” é de 28± 2°C.

### **Potencial Hidrogeniônico (pH)**

O potencial hidrogeniônico (pH) representa a quantidade de íons hidrogênio presente em um ambiente. O pH ótimo para o crescimento do micélio do *A. blazei* encontra-se no valor neutro da variação, ou seja, pH 7. Em valores de pH extremos o micélio do *A. blazei* fica comprometido e restrito e pode chegar a morte.

### **Atmosfera**

Os cogumelos comestíveis em seu ambiente natural necessitam de quantidades variadas de oxigênio e por isso são classificados como aeróbios. Para o cultivo e manutenção de matrizes de cogumelos comestíveis o oxigênio deve estar disponível para que ocorram as devidas reações metabólicas necessárias a sua sobrevivência. Como as matrizes de *A. blazei* crescem nos meios de cultura sólidos em placas de Petri, a quantidade de oxigênio é suficiente para seu desenvolvimento.

## **Umidade**

A umidade relativa do ar para a obtenção e crescimento das matrizes deve ficar entre 60 a 80%. A manutenção deste percentual de umidade é de grande importância para que ocorram reação enzimáticas ótimas e, conseqüentemente, um crescimento apropriado do micélio fúngico. Além disso, a manutenção de uma umidade ideal evita o ressecamento do meio de cultura onde a matriz está armazenada.

## **8 Técnicas para isolamento de matrizes**

A obtenção de matrizes primárias, em laboratório, para o cultivo de cogumelos por meio de dois processos:

- **Assexuado** – multiplicação de um pedaço qualquer do micélio. Obtenção por meio de fragmentos do cogumelo. Este processo mantém as características genéticas do cogumelo desejado.
- **Sexuado** – utilização dos esporos que se encontram nas lamelas dos cogumelos (basidiósporos). Este processo visa o melhoramento genético seguido de uma seleção para determinação da produtividade.

Os dois processos têm suas vantagens e desvantagens. No processo sexuado pode-se obter recombinações de linhagens da mesma espécie. Contudo, estas recombinações podem expressar ao acaso características favoráveis ou desfavoráveis. Para a obtenção de matrizes por meio dos basidiósporos é recomendado que se realizem testes de velocidade de colonização no composto e a porcentagem de produtividade, antes de sua comercialização.

No processo assexuado, o mais utilizado, são obtidos clones da linhagem original por meio de repiques sucessivos de matrizes selecionadas, ou seja, que apresentam as mesmas características genéticas e fisiológicas; vantagem quando se possui uma matriz robusta e produtiva. Contudo, caso ocorra muitos repiques da linhagem original o micélio perde o vigor, cresce mais lentamente e a produtividade diminui. É recomendado um repique máximo de quatro vezes a partir da matriz primária estocada.

Grande parte das “sementes” comercializadas são produzidas a partir de matrizes obtida por reprodução assexuada. Para o isolamento das matrizes primárias deve-se:

- Escolher um cogumelo de boa aparência e fresco (colhido até no máximo 24 antes do isolamento);
- Lavar o cogumelo selecionado com hipoclorito de sódio (água sanitária) com 2% de cloro ativo;
- Cortar o cogumelo ao meio para retirada de um pequeno fragmento interno (região do contexto) com auxílio de uma pinça previamente esterilizada para inoculação em placa de Petri com o meio de cultura (FIG.4);
- Incubar a placa de Petri inoculada a 28°C por um período de sete dias para obtenção da matriz primária;
- Repicar a matriz primária em tubos de ensaio contendo o meio de cultura e incubar a 28°C por sete dias para crescimento.

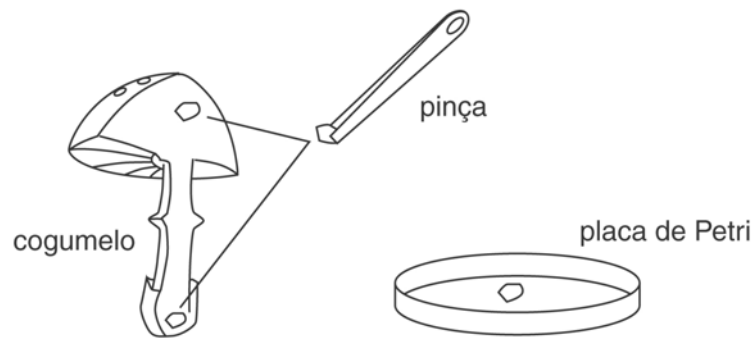


FIGURA 4 - Obtenção da matriz a partir do corpo de frutificação.  
Fonte: Luiz Henrique Rosa

Toda a fase de obtenção de matrizes deve ocorrer em condições assépticas em ambiente ou capela de fluxo laminar com filtro microbiológico adequado. Durante o processo de isolamento das matrizes primárias deve-se descartar as que o micélio cresce semelhante a algodão (“fluffy”), que poderá produzir um micélio estéril que reduz a produtividade (EIRA, 2003). O micélio do tipo rizomórfico (semelhante a pequenas raízes) é o ideal para obtenção de produtividade adequada.

## 9 Montagem do banco de matrizes

Depois de obtida a matriz primária é fundamental sua preservação pelo maior tempo possível. Preferencialmente, as matrizes primárias devem ser mantidas em tubos de ensaio com meio de cultura inclinado. Em temperaturas de 20-25°C a matriz primária tem duração de até dois meses, já em baixas temperaturas (4°C em geladeira) o micélio do *A. blazei* pode morrer.

Outros procedimentos de preservação podem ser utilizados para preservar as matrizes primárias como aplicação de óleo mineral sob o crescimento do micélio nos tubos de ensaio e congelamento a -80°C. Uma das técnicas mais práticas é a de Castelani, que consiste na colocação de fragmentos da matriz primária, previamente crescida no meio de cultura, em frascos tipo penicilina, com água destilada esterilizada (CASTELANI, 1970). Este procedimento é de baixo custo e bastante eficaz, e a matriz primária pode ter uma duração de até cinco anos após seu preparo. Após este período de estocagem as matrizes devem ser ativadas e realizado um novo Castelani. A manutenção adequada da matriz primária é fundamental no mercado de produção de “sementes” de cogumelos.

## 10 Equipamentos necessários e suas funções

Para o preparo das “sementes” de cogumelos são necessários os seguintes equipamentos:

**Autoclave vertical** – utilizada para preparar e esterilizar os meios de cultura de crescimento das matrizes e dos grãos que servirão de veículo das matrizes.

**Capela de fluxo laminar** – mantém um ambiente estéril para o isolamento das matrizes e sua inoculação nos grãos devidamente preparados.

**Destilador de água** – produz água destilada utilizada no preparo dos meios de cultura para crescimento das matrizes dos cogumelos.

**Estantes de aço** – utilizado para a colonização dos sacos com grãos inoculados.

**Estufa incubadora** – utilizada para manter temperaturas ótimas para o isolamento e crescimento das matrizes primárias e secundárias.

**Fogão industrial** – utilizado para o cozimento do grão.

**Geladeira** – útil para manter os meios de cultura utilizados para o isolamento e crescimento das matrizes dos cogumelos.

**Microondas** – utilizado para dissolver os meios de culturas

**Panela industrial** – utilizada para o cozimento do grão.

**Seladora** – utilizada para selar os sacos de polipropileno com os grãos após colonização pela matriz secundária.

**Vasilhas de plásticos** – utilizadas para a mistura do gesso e calcário ao grão após cozimento.

**Vidraría e acessórios** – inclui placas de Petri, tubos de ensaio, frascos, pipetas, alças de platina e pissetas utilizados para a manutenção e repique das matrizes dos cogumelos comestíveis.

## 11 Escolha e preparo do grão

Os grãos são utilizados como veículo de inóculo do micélio dos cogumelos comestíveis e permitem fácil manuseio durante a inoculação no composto.

TABELA 2  
Principais grãos utilizados no preparo de “sementes” de cogumelos comestíveis e medicinais.

<b>Tipo de grão</b>	<b>Resultados</b>
Arroz com casca	Tende a agrupar, mas fornece resultados satisfatórios
Sorgo	Excelentes resultados
Trigo	Excelentes resultados

Fonte: BONONI et al., 1995.

Após a escolha do tipo de grão são seguidas as seguintes etapas para o preparo da “semente” de acordo com BONONI (1995):

- Lavagem para retirada do excesso de sujeira (pedaços de pedras, resto de gravetos e pequenos animais);
- Fervura por um período de 15-20 minutos para inibição da germinação e hidratação (ou até ficar “ao dente”);
- Após fervura os grãos são escorridos e misturados a carbonato de cálcio (1%) e gesso (3 a 5% do peso seco dos grãos);
- Ainda quentes, os grãos são colocados em sacos de polipropileno e esterilizados a 120°C ou 1atm. por um período de duas horas.

## 12 Preparo da “semente”

A inoculação das matrizes de cogumelos deve ser realizada em ambiente estéril. É recomendada a utilização de uma capela de fluxo laminar com filtro biológico. Contudo, caso não seja possível a aquisição deste equipamento, pode-se realizar a inoculação em uma mesa com auxílio de uma fonte de calor (bico de Bunsen).

Depois do processo de esterilização os grãos devem ficar resfriando até alcançar a temperatura ambiente. Após resfriamento, fragmentos de 5cm de diâmetro ou de 1/10 da circunferência da matriz em placa de Petri do cogumelo são inoculados nos sacos de polipropileno, ou garrafas, com rolhas de algodão hidrofóbico e incubados em temperaturas de 25-28°C.

Em geral a matriz do cogumelo demora de 25-30 dias para colonizar totalmente os grãos. Os sacos ou garrafas de “semente” que apresentarem qualquer tipo de contaminação devem ser eliminados imediatamente. Antes da comercialização das “sementes” as rolhas devem ser retiradas dos sacos e estes selados com auxílio de uma seladora.

### **13 Preservação e transporte da “semente”**

Os sacos ou garrafas de “semente” devem ser acondicionados em caixas de papelão resistentes e devidamente fechados para serem transportados. Caso a “semente” tenha que ser enviada para regiões distantes, estas devem ser transportadas de avião ou caso o transporte seja rodoviário, recomenda-se que seja feito durante a noite para que não ocorram danos na matriz.

Para os interessados em proceder à comercialização, constitui obrigação do produtor de “sementes”:

- Exigir encomenda prévia de 40 dias para o preparo das “sementes”
- Primar por sua idoneidade no mercado;Pesquisar e comprar insumos e equipamentos para produção da “semente” em empresas devidamente registradas;
- Contratar técnicos devidamente qualificados;
- Ter disponível, no formato de Procedimentos Operacionais Padrões (POP), todos os processos de produção da “semente”;
- Possibilitar visitas de inspeção pelos possíveis compradores;
- Ter toda a documentação da empresa devidamente regulamentada;
- Atentar para a não comercialização de “sementes” contaminadas;Realizar venda mediante contrato e emissão de nota fiscal;Enviar as “sementes” em condições de transporte adequadas;
- Ter disponível um Serviço de Assistência ao Consumidor (SAC);
- Realizar visitas em estações de cultivo para avaliação de qualidade da “semente” comercializada.

### **14 Contaminações**

Em todo o processo que vai do isolamento à produção da “semente” dos cogumelos comestíveis e medicinais podem ocorrer contaminações por bactérias, leveduras, fungos filamentosos, insetos e até pequenos animais.

Uma taxa de 10-25% de contaminação é considerada razoável durante o processo (BONONI et al., 1995). As contaminações podem ocorrer, principalmente, devido à não esterilização correta dos grãos e à falta de condições ideais de assepsia no momento de inoculação e incubação das matrizes. Caso a porcentagem de contaminação seja superior aos valores acima, devem ser adotadas medidas de desinfecção e assepsia completa dos equipamentos e do espaço físico da unidade produtora de “sementes”.

Para a desinfecção da unidade produtora podem ser utilizados diferentes produtos de limpeza tais como: formol 5%, hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo, álcool 70%, fenol 2% sobre as superfícies e bancadas, e em casos mais extremos uma fumigação com brometo de metila ou ácido fórmico nos equipamentos como fluxo laminar, estufa e sala de incubação.

## Conclusões e recomendações

As informações fornecidas são passíveis de serem aplicadas por todas as pessoas interessadas na produção de “sementes” de cogumelos, seja para produção própria, seja para comercialização.

Recomenda-se, no entanto que, para o preparo de “sementes” de cogumelos comestíveis e medicinais seja realizado, sempre que possível, um treinamento apropriado em laboratório especializado. Com isso o técnico responsável pelo processo será capaz de cumprir todos os requisitos de qualidade exigidos para o preparo ideal das “sementes” dos cogumelos escolhidos.

## Referências

### Referências

BONONI, V. L.R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995. 206p.

CASTELANI, A. 1967. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi in distilled water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine Hygiene**. v. 42, p.181-184.

CHANG, S.T. 1999. Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21st century: nongreen revolution. **International Journal of Medicinal Mushrooms**. v. 1, p.1-7.

EIRA, A.F. **Cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (Murrill) ss. Heinemann ou *Agaricus brasiliensis* (Wasser te al.)**. Viçosa. Aprenda Fácil. 2003. 396p.

ROSA, L.H. **Diversidade de fungos *Agaricales* (*Basidiomycota*) em dois fragmentos de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2002, 216p. (Dissertação, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG).

## Nome do técnico responsável

Luiz Henrique Rosa

## Nome da Instituição do SBRT responsável

Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais – CETEC

## Data de finalização

22 maio 2007