

AVALIAÇÃO DO CULTIVO E PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DO EXTRATO DE *PSILOCYBE CUBENSIS*

LUIZE GARCIA DE MELO¹; EDUARDO BERNARDI², DIULIANI FONSECA
MORALES²; LISIANE VOLCÃO³

¹Universidade Federal de Pelotas – luizegarmel@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – edu.bernardi@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - diulimoralesfonseca@gmail.com

³Universidade Federal do Rio Grande – lisivolcao@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os macrofungos desempenham funções essenciais nos ecossistemas, como a decomposição e ciclagem de nutrientes, convertendo material orgânico em potenciais substratos funcionais. Também são ótimas fontes alimentares para a população, podendo ser utilizados no desenvolvimento de medicamentos, nutracêuticos ou suplementos. (STAMETS, 1996; SANCHEZ, 2010, ANDRADE *et al.*, 2017; VELÁZQUEZ NARVÁEZ *et al.*, 2018). As propriedades medicinais, provenientes de cogumelos podem estar associadas aos compostos antioxidantes, como fenóis e flavonóides (UMEKO *et al.*, 2015; VELÁZQUEZ NARVÁEZ *et al.*, 2018; ZIED *et al.*, 2018).

Muitos estudos avaliam a produtividade e eficiência biológica através do cultivo controlado de cogumelos em substratos como restos de materiais residuais, além de crescer em diferentes condições climáticas (SANCHEZ, 2010; ANDRADE *et al.*, 2017). As técnicas e melhoramentos resultantes do cultivo de basidiomicetos permitem diminuição significativa nos custos de produção (DONINI *et al.*, 2005). Sendo necessário analisar a viabilidade de resíduos agroindustriais ou outras matérias-primas e técnicas de acordo com a espécie de cogumelo.

As espécies do gênero *Psilocybe* são encontradas em campos de pastagens, devido à sua associação ecológica coprófila (STAMETS, 1996). Os estudos com o alcaloide psilocibina presente em *Psilocybe cubensis* têm crescido para aplicações em neurociência e saúde mental, como depressão resistente ao tratamento e dependência em outras substâncias químicas (NICHOLS, JOHNSON & NICHOLS, 2016; LEWIS *et al.*, 2016; HARRIS CARHART *et al.*, 2018). Nesse sentido, é importante desenvolver estudos que descrevam as propriedades antioxidantes que podem constituir esses macrofungos e possibilitar melhores formas de cultivo testando substratos adequados para a espécie *P. cubensis*. O objetivo do estudo foi avaliar em laboratório o cultivo do macrofungo *P. cubensis* em mistura de substrato combinado para a produção de extrato aquoso e quantificar os fenóis totais e a porcentagem da atividade antioxidante.

2. METODOLOGIA

A linhagem foi multiplicada através de esporos de *P. cubensis* em grãos de canjica de milho cozido, segundo Bernardi & Nascimento (2011) com modificações. Para o cultivo foi utilizado mistura do substrato comercial para plantas Carolina Soil® com arroz integral triturado, na proporção de 2:1 (p:p). O material utilizado foi umedecido, homogeneizado e esterilizado em autoclave. A inoculação se fez através de uma porção de 3% de “spawn” de *P. cubensis* em

cada pacote contendo 200g do substrato úmido. Os sacos foram armazenados em BOD a 25º C durante a fase de colonização (BERNARDI & NASCIMENTO, 2011). Após a colonização os substratos foram transferidos para uma câmara de frutificação com temperatura entre 23-28º C e umidade relativa do ar de 75-90%. Os basidiomas foram coletados manualmente, pesados, colocados em envelopes de papel e secos em estufa a 50º C até peso constante, obtendo-se assim a massa fresca e seca de cogumelos. O cálculo da produtividade e eficiência biológica, segundo Bernardi & Nascimento (2011).

O extrato aquoso foi preparado por maceração; onde 12g de cada cogumelo desidratado foi extraído com 100ml de água MiliQ por ultrassonicação (SB-5200 DTDN UltrasonicCleaner) a 40º C por 120 min. (ROESLER et al. 2007). Logo, o extrato foi filtrado através de papel filtroWhatman®No. As soluções finais foram armazenadas em ultrafreezer a - 80 ° C até a análise química.

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com metodologia descrita por Roesler et al. (2007). As soluções, incluindo a curva padrão, foram incubadas em banho-maria (5 min.) a 50ºC. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (760 mn), utilizando uma curva padrão preparada com ácido gálico e os valores expresso como equivalentes de ácido gálico (EAG). A atividade antioxidante foi realizada através da análise de DPPH descrito por Roesler et al. (2007) com algumas modificações, a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 517 nm, e os valores expresso como equivalentes de trolox.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma média de produtividade de 29,07% e eficiência biológica de 46,52% (Tabela 1). Ficou aparente que a terceira réplica apresentou maior rendimento visto nos valores para eficiência biológica e produtividade de *P. cubensis* em relação aos demais e em seguida a quarta réplica (Tabela 1). Estes também produziram o maior fluxo de coleta e quantidade de massa úmida. Os valores para eficiência biológica representam a capacidade do cogumelo de transformar substrato seco em basidioma.

Tabela 1 Produtividade e eficiência biológica em substrato de Carolina Soil com casca de arroz integral triturado.

Réplicas	Massa seca	Massa úmida	Eficiência Biológica	Produtividade
1 ^a	4,30g	52,70g	42,16%	26,35%
2 ^a	1,90g	25,30g	20,24%	12,65%
3 ^a	8,70g	107,90g	86,35%	53,95%
4 ^a	5,50g	68,90g	55,12%	34,45%
5 ^a	3,60g	43,90g	35,12%	21,95%
6 ^a	4,00g	50,20g	40,16%	25,10%
Média	4,60g	58,15g	46,52%	29,07%

As diferenças entre as réplicas, observado principalmente no 3^a pacote em relação aos outros, podem estar relacionadas à homogeneização do substrato ocasionando um período de frutificação de cada réplica diferente, apesar de

estarem em condições abióticas iguais. Pois os índices de ph e teor de umidade variam de acordo com a quantidade e concentração de nutrientes e suplementação, sendo condições essenciais que alteram o período de frutificação do cogumelo (RUIZ RODRIGUEZ *et al.*, 2010).

A utilização da mistura de substrato Carolina Soil® e arroz integral triturado não são comumente descritas em literatura. Porém, a suplementação pode contribuir para melhores resultados, devido ao enriquecimento nutricional do substrato. A composição química dos substratos pode tanto influenciar o rendimento quanto o nível de componentes tóxicos e nutricionais do cogumelo (SIWULSKI *et al.*, 2018), ‘bem como a variabilidade da composição nutricional e físico química para diferentes substratos de resíduos agrícolas’, segundo Bernardi *et al.* (2019, p. 99). O cultivo de *P. cubensis* ainda não é amplamente conhecido na literatura, porém, recentemente, foi descrita utilizando meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) com suplementos ciclo-hexamida a 0,5% (Sigma Aldrich, Alemanha) e cloranfenicol a 0,05% (Merck Darmstadt, Alemanha), além de substratos a base de grãos de trigo e palha de trigo para o cultivo (MAHMOUDI *et al.*, 2018).

O extrato aquoso de *P. cubensis* apresentou uma quantidade de 312,7 µg de ácido gálico equivalente/ml de fenóis totais. Quanto a atividade antioxidante, se observou uma taxa de 2242,3 µmol de trolox equivalente/µg de extrato. A partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante ou capacidade sequestradora de radicais livres no ensaio DPPH, sendo ela de 70,5%. Os resultados da atividade antioxidante corroboram com diversos estudos que já constataram uma riqueza de propriedades antioxidantes em cogumelos (SANCHEZ, 2017; VOLCÃO *et al.*, 2019). Além disso, apresentam como principais compostos os fenóis, especialmente ácidos fenólicos, os quais também estão diretamente associados à capacidade antioxidante através dos diferentes extratos tanto de macrofungos cultivados quanto silvestres (STEFANELLO, 2016; VOLCÃO *et al.*, 2019). O conteúdo de fenóis totais depende de fatores como o tempo de extração, o tipo de solvente e concentração, a quantidade de amostra utilizada para o solvente e temperatura, entretanto, supõe-se que outros compostos possam ter funções antioxidantes sem a presença de estruturas fenólicas (MATA *et al.*, 2007; WANG AND XU, 2014).

4. CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos neste estudo, os resultados mostram viabilidade para o cultivo do cogumelo no substrato testado e evidenciam o potencial de propriedades biológicas ativas provenientes de *P. cubensis*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. C. N.; SAAD, A. L. M.; VIANA, S. R. F.; SIQUEIRA, O. A. P. A.; SALES CAMPOS, C. Aproveitamento de resíduos agrícolas no cultivo do cogumelo medicinal *Ganoderma lucidum* utilizando a tecnologia chinesa “JunCao”. **Ambiênciac: Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, Brasil. v. 13, n. 3, p. 271–283, 2017.

STAMETS, P. Psilocybin mushrooms of the world: An Identification Guide. Berkeley, California. Ten Speed Press, 1996. p. 16-17.

SANCHEZ C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Germany. v.85, n.5, p. 1321–1337, 2010.

NARVÁEZ VELÁZQUEZ, A. C. et al. *Agaricus subrufescens* in México: an edible, medicinal, and potentially cultivable non-wood forest resource. **Madera y Bosques**, México, v. 24, n. 2, p., 2018.

UMEO, S.H.; et al. Screening of basidiomycetes in submerged cultivation based on antioxidant activity. **Genetics and Molecular Research**, PR, Brasil, v.14, n. 3, p. 9907–9914, 2015.

ZIED, D. C.; et al. Using of Appropriated Strains in the Practice of Compost Supplementation for *Agaricus subrufescens*. Production. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Switzerland. v. 2, n. 26. 2018.

SANCHEZ C. Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. **Synthetic and Systems Biotechnology**, China. v. 2, n. 1, p. 13 – 22, 2017.

DONINI, L. P.; et al. Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo. v.72, n.3, p.331-338, 2005.

NICHOLS, D. E.; JOHNSON, M. W.; NICHOLS, C. D. Psychedelics as Medicines: An emerging new paradigm. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, United States. v.101, p. 2, 2016.

CARHART-HARRIS, R. L. et al. Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: six-month follow-up. **Psychopharmacology**, v. 235, n. 2, p. 399-408, 2018.

BERNARDI, E. & NASCIMENTO, J.S. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos pasteurizados. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo. v.78, n.2, p.217-223, 2011.

ROESLER, R.; et al. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Food Science and Technology**, India. v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RUIZ-RODRIGUEZ, A. et al. Effect of olive mill waste (OMW) supplementation to Oyster mushrooms substrates on the cultivation parameters and fruiting bodies quality. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n. 7, p. 638-645, 2010.

SIWULSKI, M. et al. The effect of different substrates on the growth of six cultivated mushroom species and composition of macro and trace elements in their fruiting bodies. **European Food Research and Technology**, Poland, v. 245, n. 2, p. 419–431, 2019.

BERNARDI, E.; VOLCÃO, L.M.; DE MELO, L.G.; NASCIMENTO, J.S. Productivity, biological efficiency and bromatological composition of *Pleurotus sajor-caju* growth on different substrates in Brazil. **Agriculture and Natural Resources**, Thailand. v.53, n.2, p.99 – 105, 2019.

VOLCÃO, L. M. et al. Biological activity of aqueous extracts of Southern Brazilian mushrooms. **International Journal of Environmental Health Research**, Brasil. p. 1369-1619, julho de 2019.

MAHMOUDI, E. et al. Alteration of Depressive-like Behaviors by *Psilocybe cubensis* Alkaloid Extract in Mice: the Role of Glutamate Pathway. **Research Journal of Pharmacognosy**, Chile. v. 5, n. 2, p. 17-24, 2018.