

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE SISAL, DENDÊ E CACAU NA PRODUÇÃO
DE *Pleurotus ostreatus***

RAFAEL MOTA DA SILVA

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
Fevereiro - 2018**

**RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE SISAL, DENDÊ E CACAU NA PRODUÇÃO
DE *Pleurotus ostreatus***

RAFAEL MOTA DA SILVA

Engenheiro Agrônomo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2012

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares
Co-orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Amélia Alves Duarte

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
Fevereiro - 2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

S586r Silva, Rafael Mota da.
Resíduos agroindustriais de sisal, dendê e cacau na produção de
Pleurotus ostreatus / Rafael Mota da Silva._ Cruz das
Almas, BA, 2018.

114f.; il.

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares.
Coorientadora: Elizabeth Amélia Alves Duarte.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Cogumelos – Fungos. 2.Culturas agrícolas –
Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.
II.Título.

CDD: 582.28

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.

Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615). Os dados para catalogação foram enviados

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE SISAL, DENDÊ E CACAU NA PRODUÇÃO
DE *Pleurotus ostreatus***

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
RAFAEL MOTA DA SILVA**

Realizada em fevereiro de 2018

Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno (Orientadora)

Prof. Dra. Karina Zanoti Fonseca
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinadora externa

Prof. Dr. José Maria Rodrigues da Luz
Universidade Federal de Viçosa - UFV
Examinador Externo

Prof. Dr. Vinícius Reis de Figueiredo
Instituto Federal Baiano-IF BAIANO
Examinador Externo

Prof. Dr. José Luiz Bezerra
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

DEDICATÓRIA

À Deus e a minha família

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida.

Aos meus pais Maria Dulce Cleide Mota e Idelval Santana da Silva, pela educação, ensinamentos e por ter acreditado em mim.

Aos irmãos Igor Rangel e Micaella Mota.

À minha orientadora Prof^a Ana Cristina Fermino Soares, por ter acreditado no meu potencial, pelos ensinamentos, carinho e confiança.

À minha co-orientadora e amiga Dra. Elizabeth Amélia Alves Duarte, pelos ensinamentos, carinho, paciência.

À minha namorada Sara Samanta, pelo incentivo e companhia a todos os momentos e por acreditar em mim.

Aos meus estagiários Felipe, Marcos e Carlos por toda ajuda e parceria.

Aos amigos Tony, Ângelo, Gabriel, Filipe, Niely, Isabela e Nayla pelos incentivos e companhia.

Aos eternos amigos e irmãos da República Sisaleira.

Aos grandes amigos, Cristiano, Thiago Oliveira, Erasto, Adailson e Rafael Bitencourt pelo incentivo.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pela formação profissional e pelo suporte físico e financeiro para execução desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro à pesquisa e pela bolsa de doutorado.

A todos que de forma direta ou indireta auxiliaram nesse trabalho.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
REFERENCIAL TEÓRICO	10
ARTIGO 1	
PRODUÇÃO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> EM SUBSTRATOS FORMULADOS COM RESÍDUOS DE SISAL E TEGUMENTO DA AMÊNDOA DE CACAU.....	29
ARTIGO 2	
<i>Pleurotus ostreatus</i> PRODUZIDO EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE DENDÊ E CACAU	53
ARTIGO 3	
SUBPRODUTOS DA AGROINDÚSTRIA CACAUEIRA NO CULTIVO DE <i>Pleurotus ostreatus</i>	73
ARTIGO 4	
DIFERENTES TIPOS DE INÓCULO (SPAWM) NA COLONIZAÇÃO E PRODUÇÃO DE <i>Pleurotus ostreatus</i>	94
CONSIDERAÇÕES FINAIS	115

RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE SISAL, DENDÊ E CACAU NA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

Autor: Rafael Mota da Silva

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO: As espécies do gênero *Pleurotus* colonizam uma diversidade de resíduos lignocelulósicos e produzem cogumelos com elevado valor nutricional. As cadeias produtivas do sisal, dendê e cacau geram uma grande quantidade de resíduos que na maioria das vezes são descartados inapropriadamente, podendo estes serem utilizados na produção de substratos para o cultivo de *P. ostreatus*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a colonização e produção de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos da agroindústria do sisal (*Agave sisalana* Perrine), dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.) e cacau (*Theobroma cacao* L.), e com o uso de diferentes tipos de inóculo (*spawn*). Dentre as formulações avaliadas utilizando os resíduos da cadeia produtiva do sisal e cacau, o substrato formulado com 76% de resíduos de sisal e suplementado com 20% de tegumento da amêndoa de cacau foi o mais adequado para o cultivo de *P. ostreatus*, com eficiência biológica de 113%. Dentre todos os substratos formulados, a combinação de 86,4% do mesocarpo do fruto do dendê e 9,4% do tegumento da amêndoa do cacau apresentou 148,8% de eficiência biológica, sendo este o substrato mais indicado para a produção de *P. ostreatus*. Para os substratos formulados com resíduos da casca do fruto de cacau e tegumento da amêndoa de cacau, a formulação mais eficiente foi com a concentração de 67,2% e 28,8% respectivamente, com 35,6% de eficiência biológica. A utilização de inóculo preparado em estacas galhos de flecha de sisal e de eucalipto e gliricídia, denominados de semente estaca, reduziu o período de colonização do substrato por *P. ostreatus* em 25% e aumentou a eficiência biológica em 32%, não alterando os teores nutricionais do cogumelo. Este estudo apresenta informações a cerca do potencial de resíduos agrícolas e agroindustriais de sisal, dendê e cacau para o cultivo do cogumelo comestível *P. ostreatus*.

Palavras-chaves: Cogumelo ostra; Bioconversão; *Spawn*; Eficiência biológica.

AGROINDUSTRIAL RESIDUES FROM SISAL, OIL PALM AND COCOA FOR *Pleurotus ostreatus* PRODUCTION

Autor: Rafael Mota da Silva

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: Species of the genus *Pleurotus* colonize a diversity of lignocellulosic residues and produce mushrooms with high nutritional value. Brazil stands out in agricultural production, where the productive chains of sisal, palm and cacao generate a large amount of waste that is most often discarded inappropriately, and can thus be reused for the production of substrates for *P. ostreatus* cultivation. The objective of this work was to evaluate the colonization and production of *P. ostreatus* in substrates formulated with agroindustrial residues of sisal (*Agave sisalana* Perrine), oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.), and cacao (*Theobroma cacao* L.), and with the use of different types of inoculum. Among the formulations evaluated using the sisal and cacao residues, the substrate formulated with 76% of sisal residues and supplemented with 20% cocoa nut integument was the most suitable for production of *P. ostreatus* with biological efficiency of 113%. The substrate formulated with 86.4% of the oil palm fruit mesocarp and 9.4% of the cocoa almond tegument presented 148.8% of biological efficiency, being the most efficient of all formulated substrates for *P. ostreatus* production. When using the substrates formulated with cocoa fruit peel and cocoa almond tegument, the most efficient one was with 67.2% and 28.8% of each residue, respectively, with a biological efficiency of 35.6%. The use of spawn prepared with branches from sisal flower stalks and from eucalyptus and gliricidia reduced the colonization period of *P. ostreatus* by 25% and increased the biological efficiency by 32%, without affecting mushroom's nutritional contents. The present work presents significant information about the potential of agricultural and agroindustrial residues of sisal, palm and cacao for the cultivation of the edible mushroom (*P. ostreatus*).

Keywords: Oyster mushrooms; Bioconversion; Spawn; Biological efficiency

REFERENCIAL TEÓRICO

1. Cogumelos:

Os cogumelos são fungos que pertencem aos filos Basidiomycota e Ascomycota e formam macroestruturas denominadas de corpos de frutificação, carpóforos ou basidiocarpos, recentemente classificados de basidiomas, constituindo uma fase transitória no ciclo de vida destes microrganismos (Souza e Aguiar, 2004). A ordem *Agaricales* do filo Basidiomycota apresenta espécies de cogumelos comestíveis, medicinais, alucinógenos, micorrízicos ou saprófitas, os quais despertam grande interesse nos aspectos ecológico, alimentício, farmacêutico e industrial (Alexopoulos et al., 1996; Muzzi et al., 2013; Nascimento et al., 2014; Areu et al., 2015).

Os cogumelos fazem parte da alimentação humana há milhares de anos, e por suas características sensoriais, atributos culinários e seu excelente valor nutricional, são considerados como uma iguaria (Valverde et al., 2015). Também são referidos como alimentos nutracêuticos, devido a suas propriedades medicinais (Chang e Miles, 2008).

Segundo a Resolução RDC nº 272 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) “cogumelo comestível é definido como produto obtido de espécie (s) de fungo (s) comestível (is), tradicionalmente utilizada (s) como alimento. Pode ser dessecado, inteiro, fragmentado, moído ou em conserva, submetido ao processo de secagem, defumação, cocção, salga ou fermentação e/ou outro processo tecnológico considerado adequado e seguro para a produção de alimentos” (Anvisa, 2005).

Atualmente existem aproximadamente 140.000 espécies de cogumelos descritos, sendo 2.000 dessas consideradas comestíveis e 700 com propriedades farmacológicas elucidadas. No entanto, apenas 25 espécies são cultivadas comercialmente (Valverde et al., 2015). A comercialização mundial de cogumelos comestíveis, medicinais e selvagens movimenta cerca de US\$ 45 bilhões e o cultivo de cogumelos comestíveis é responsável por 67% desse valor, com aproximadamente US\$ 30 bilhões (INPA, 2016).

A China é o país com maior produção de cogumelos comestíveis e trufas no mundo, com 7.786,368 toneladas, seguido da Itália, Estados Unidos, Países Baixos, Polônia e Espanha (FAO, 2016).

No Brasil, a produção de cogumelos ainda é muito pequena quando comparada a produção nos países europeus e asiáticos, chegando a aproximadamente 12.744 toneladas por ano (Gomes et al., 2016). Entretanto, a produção de cogumelos vem crescendo em diversos estados do país como São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Rio de Janeiro, sul da Bahia, Pernambuco, Brasília e Rio Grande do Sul, sendo considerada uma importante alternativa de renda para pequenos produtores da agricultura familiar (ANPC, 2016).

Os brasileiros consomem em torno de 160 gramas de cogumelos *per capita* por ano, valor considerado baixo quando comparado ao consumo de alguns países europeus como a França, Itália e a Alemanha, que apresentam consumo superior a 2 kg por habitante (ANPC, 2016). No entanto, esses valores estão aumentando, em virtude do conhecimento acerca dos benefícios do seu consumo, o alto valor nutricional e medicinal dos cogumelos (Kalač, 2009).

Os cogumelos são ricos em proteínas, fibras, apresentam baixo teor de lipídios e produzem inúmeros metabólitos de interesse farmacêutico e medicinal, com atividade antioxidante, antitumoral, imunestimulante e/ou antimicrobiana (Elmastas et al., 2007; Moradali et al., 2007). Estudos recentes têm apontado para as propriedades terapêuticas dos cogumelos, sendo uma fonte de extração de novos compostos antimicrobianos, particularmente os metabólitos secundários, dentre os quais se destacam os terpenos, esteroides, derivados do ácido benzóico, quinolonas, mas também de alguns metabólitos primários, como o ácido oxálico, peptídeos e proteínas, com uma grande variedade de aplicações biotecnológicas e ambientais (Knop et al., 2015; Valverde et al., 2015).

Nas últimas décadas, o crescimento nas pesquisas e no conhecimento biotecnológico sobre a produção e consumo de cogumelos tem possibilitando um aumento significativo no cultivo de cogumelos comestíveis (Zhang et al., 2013; Corrêa et al., 2016).

Os cogumelos podem ser simbiotes e saprófitos, com a capacidade de extração de nutrientes de uma gama de substratos como gramíneas, madeira e resíduos agrícolas (Urban, 2004b). A nutrição dos cogumelos está diretamente

ligada à sua ecologia e fisiologia e, o seu conhecimento favorece o cultivo deste macrofungos. Os fungos parasitas apresentam a capacidade de extrair seu alimento de plantas e insetos vivos, causando danos ao seu hospedeiro. Tais fungos na maioria das vezes causam grandes preocupações e prejuízos para os agricultores. Os cogumelos saprófitos, por sua vez, retiram o seu alimento de materiais orgânicos em decomposição, como por exemplo, resíduos agrícolas, madeira de árvores mortas, excrementos de animais, etc. (Chang e Miles, 2004). Esses cogumelos podem ser cultivados em resíduos agrícolas e agroindústrias, permitindo a ciclagem de nutrientes com geração de um alimento rico em proteínas e minerais.

Dentre as diversas espécies de fungos utilizadas para a produção de cogumelos comestíveis destacam-se as dos gêneros: *Agaricus*, *Lentinula* e *Pleurotus*, sendo o *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Emil J. Imbach conhecido popularmente como champignon de Paris, o *Lentinula edodes* (Berk.) conhecido como shiitake Pegler e o *Pleurotus ostreatus* (Jacq.exFr.) P.Kumm. conhecido como cogumelo ostra (Corrêa et al., 2016).

2. Gênero *Pleurotus*:

Pertencente à classe Basidiomycetes, subclasse Hollobasidiomycetidae, ordem Agaricales e família Pleurotaceae, o gênero *Pleurotus* consiste em mais de 200 espécies saprófitas distribuídas em todo o mundo, em ambientes temperados e tropicais (Patel et al., 2012; Gomes-Correa et al., 2016). É popularmente conhecido como cogumelo ostra ou cogumelo gigante, sendo também conhecido pelos asiáticos como Shimeji ou Hiratake. Constitui um grupo de fungos cosmopolitas, que podem ser encontrados em diversas regiões do mundo, especialmente em ambientes de floresta (Carvalho et al., 2010; Adebayo e Martínez-Carrera, 2015).

As espécies que representam este gênero, assim como todos os fungos, não possuem clorofila, sendo dependentes do substrato de cultivo para o seu desenvolvimento. Os mesmos dispõem de um complexo enzimático que auxilia a degradação da celulose, hemicelulose e lignina presente nos vegetais, sendo conhecidos como fungos causadores da podridão branca da madeira. As enzimas envolvidas nesse complexo são as celulasas, celobiases, hemicelulasas,

ligninases, lacases, entre outras (Schmidt et al., 2003; Abreu et al., 2007). Esse aparato enzimático permite aos representantes do gênero *Pleurotus* colonizar uma grande diversidade de resíduos lignocelulósicos (Sofi et al., 2014; Koutrotsios et al., 2014; Fernandes et al., 2015), possibilitando o seu desenvolvimento em condições rústicas de cultivo, requerendo menor tempo de cultivo ao ser comparado a outros cogumelos comestíveis (Bonatti et al., 2004; Gern et al., 2008). Esse processo possibilita a bioconversão de resíduos agrícolas de baixo valor econômico em um alimento com alto teor de proteína, incluindo aminoácidos essenciais aos seres humanos (Kakon et al., 2012).

Os basidiomas do gênero *Pleurotus* se destacam nutricionalmente por serem fontes de proteínas, fibras dietéticas e carboidratos, ricos em vitaminas (incluindo tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, ergosterol e niacina), com valores consideráveis de micronutrientes (fósforo, potássio, manganês, cálcio e ferro) e baixo teor de lipídeos (Maftoun et al., 2015). Além do valor nutritivo, estes fungos apresentam propriedades com aplicabilidade biotecnológica, farmacológica e ambiental (Knop et al., 2015).

Dentre as espécies do gênero *Pleurotus*, as mais importantes são o *P. ostreatus* (cogumelo ostra), *P. djamor* (cogumelo ostra cor-de-rosa), *P. pulmonaris* (cogumelo phoenix oyster), *P. sajor caju* (cogumelo abaloneiro cinzento ostra), *P. cornucopiae* (cogumelo ostra ramificado), *P. citrinopileatus* (cogumelo ostra dourada), *P. eryngii* (cogumelo rei), *P. tubérculo-regio* (cogumelo rei tubérculo) e *P. ostreatoroseus*. As espécies cultivadas em grande escala são o *P. ostreatus* e *P. pulmonarius* (Adebayo et al., 2012; Bazzanella et al., 2013; Gomes-Correa et al., 2016).

2.1. *Pleurotus ostreatus*:

O *P. ostreatus* (Figura 1) representante tipo da família Pleurotaceae é classificado como decompositor primário e assim como grande parte do gênero, possui basídio com quatro basidiósporos e um sistema de "mating" tetrapolar, apresentando grampo de conexão e sistema hifálico monomítico (Kong, 2004).



Figura 1. *Pleurotus ostreatus*.

Fonte: Rafael Mota da Silva.

Nos últimos anos, vários trabalhos têm demonstrado as diferentes potencialidades de *P. ostreatus*. A rusticidade, o rápido crescimento, a elevada produtividade, o elevado teor nutricional e seu sabor agradável fazem com que este esteja entre os cogumelos mais produzidos e consumidos em várias regiões do mundo (Ibekwe et al., 2008, Valverde et al., 2015, Corrêa et al., 2016). Essas características e a possibilidade dessa espécie ser cultivada em diversos resíduos agroindustriais são os principais fatores que fazem com que pequenos agricultores familiares possam cultivar esse fungo. Vários trabalhos têm sido desenvolvidos para viabilizar a produção de *Pleurotus* sp em diferentes resíduos agroindustriais. Raymond et al. (2013) avaliaram o potencial de sua produção no resíduo da folha e do tronco de sisal e Bento et al. (2014) trabalharam com bagaço de cana de açúcar e fibra de coco no cultivo de *P. ostreatus*. Yang et al. (2015) testaram resíduo de chá no cultivo de espécies do gênero de *Pleurotus* e Wisbeck et al. (2016) avaliaram o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em folhas de pupunheira.

3. Resíduos agroindustriais:

O Brasil se destaca na produção agrícola, sendo este um dos setores econômicos mais estratégicos para a consolidação do programa de estabilização da economia (Schneider et al., 2012). O país apresenta uma grande extensão

territorial e uma produção agrícola elevada, com a geração de cerca de 350 milhões de toneladas de resíduos agroindustriais (Pereira, 2006). A geração de resíduos a nível mundial, a partir dos processos agroindustriais e agrícolas, tem sido um problema ao longo dos anos, devido ao montante de biomassa seca acumulada anualmente, estimada em $1,09 \times 10^{11}$ toneladas (Chang e Miles, 2008).

Na maioria das vezes, esses resíduos são descartados de maneira inapropriada, devido aos altos custos com o transporte e as suas características físico-químicas, acarretando sérios problemas ambientais e de saúde pública (Passos, 2005; Lennartsson et al., 2012). Portanto, torna-se imprescindível o conhecimento das características físico-químicas, a quantidade e disponibilidade da biomassa gerada, para a definição de modos de reutilização e destinação desses resíduos, com destaque para o potencial de utilização desses resíduos nos setores comercial, industrial e agrícola (Dias et al., 2003; Passos, 2005).

Uma alternativa promissora para a utilização de resíduos de origem agrícola e agroindustrial é a fungicultura, ou seja, o cultivo de cogumelos, o qual se aliado à sua inserção na dieta de parte da população que sofre com problemas de desnutrição, em regiões do mundo com baixo índice do IDH, e na geração de renda, torna-se expressivo e reforça o enorme potencial desses resíduos (Furlani e Godoy, 2005). O processo de bioconversão de resíduos agroindustriais pelo fungo *P. ostreatus* apresenta-se como uma forma eficiente para reciclagem desses materiais (Adebayo e Martínez-Carrera, 2015).

A capacidade do fungo colonizar e produzir cogumelos em substratos lignocelulósicos está diretamente relacionado ao vigor do micélio e à capacidade de ativação de mecanismos fisiológicos para a produção de enzimas (Mata et al., 2001). Sabe-se que a produção de cogumelos comestíveis em escala comercial é influenciada diretamente pelas condições ambientais, as características genéticas do fungo e os fatores físicos, químicos, nutritivos e microbiológicos do substrato (Pardo et al., 2002). O substrato é a fonte nutricional para o crescimento e desenvolvimento do fungo e, conseqüentemente, para a produção dos cogumelos. Portanto, a sua qualidade influencia significativamente no crescimento e vigor micelial. Segundo Moura (2008), o substrato tem influência direta na composição de minerais dos basidiomas e isso ocorre em virtude das hifas dos fungos estarem em contato direto com o composto, retirando os elementos

essenciais. Entretanto, isso também possibilita o acúmulo nos basidiomas de metais pesados como chumbo, mercúrio e arsênio, quando presentes nos substratos.

Atualmente vários resíduos são utilizados para a produção de substratos de cultivo de *P. ostreatus* tais como: resíduos da folha e troncos de sisal, espigas de milho, fibra de coco, casca de café, bagaço de uva, casca de eucalipto suplementados com farelos de soja e trigo (Raymond et al. 2013, Bento et al. 2014, Koutrotsios et al. 2014).

3.1. Resíduo de sisal:

O cultivo do sisal (*Agave sisalana* Perrine) para extração da fibra dura é uma das principais fontes de renda e de sobrevivência de produtores rurais da região semiárida da Bahia. O Brasil lidera o *ranking* mundial na produção e exportação de fibra de sisal (FAO, 2016) e o estado da Bahia lidera com 96,4% da produção nacional (IBGE, 2015).

O semiárido apresenta limitações para a produção agrícola, em virtude do clima e do solo, fatores que colaboraram para que a cultura do sisal, com as suas características de resistência a seca e a rusticidade dos cultivos, tenha se constituído em uma das principais alternativas de produção agrícola e geração de renda no semiárido da Bahia (Dias et al., 2015).

Nos últimos anos, a produção média anual de fibra de sisal no Brasil foi de 100 mil toneladas (CONAB, 2015). Entretanto, a fibra, que é o principal produto da cultura do sisal, representa apenas 4% do peso fresco da folha, restando 16% de resíduo sólido e 80% de resíduo líquido (Andrade et al., 2012). De acordo com os dados disponibilizados pela CONAB, calcula-se que a quantidade de resíduo gerado anualmente seja aproximadamente 2,5 milhões de toneladas.

Apenas uma pequena parte desse resíduo é utilizada como adubo nos plantios de sisal e também na alimentação animal. A maior parte desse resíduo é abandonada em forma de pilhas nas propriedades rurais (Sousa et al., 2008; Andrade et al., 2012; Ribeiro et al., 2015). Além desses resíduos do campo, a industrialização da fibra seca também gera resíduos, como o pó fino gerado durante o beneficiamento da fibra no processo de limpeza em uma máquina conhecida como bateadeira.

3.2. Resíduo de cacau:

O cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) é uma planta arbórea perene, originária entre a bacia amazônica, o rio Orinoco e as Guianas, com importância mundial devido ao seu valor econômico, social e nutricional (Souza e Dias, 2001).

Os principais países produtores de cacau são Costa do Marfim, Gana, Indonésia, Camarões, Nigéria, Brasil e Equador. O Brasil ocupa o sexto lugar no mundo entre os produtores, com seis estados produtores: Bahia, Pará, Espírito Santo, Amazonas e Mato Grosso. A produção brasileira de cacau em 2016 atingiu 213 mil toneladas, em 775 mil hectares cultivados com uma produtividade de 303 kg/ha (FAO, 2016; IBGE, 2017).

Durante a produção do cacau é gerada uma enorme quantidade de resíduos vegetais, com a casca do fruto representando aproximadamente 80% da sua composição (Mororó, 2006). Estima-se que para produzir uma tonelada de amêndoas secas, são geradas aproximadamente sete toneladas de casca fresca (Sodré et al., 2012), com aproximadamente 1.5 milhões de toneladas de resíduo da casca do fruto de cacau em 2016 no Brasil.

Durante o processamento industrial para obtenção do líquido (matéria-prima do chocolate) é produzido outro resíduo denominado de tegumento da amêndoa do cacau (TAC), conhecido também como casca da semente do cacau. Uma tonelada de amêndoa, com 7% de umidade, pode gerar de 80 kg a 120 kg de TAC após o processamento (Silva et al. 2015). Calcula-se que na Bahia em 2014 foram gerados aproximadamente 16,2 mil toneladas de tegumento de amêndoa de cacau. Na maioria das vezes, esses resíduos são deixados nas plantações em forma de “casqueiros”, o que constitui uma fonte de inóculo para fitopatógenos da cultura, sendo possível sua utilização para outros fins (Mororó, 2006). A casca do fruto pode ser utilizada na alimentação animal, na produção de biogás e biofertilizante, na produção de álcool, na extração de pectina e na obtenção de proteína microbiana (Silva et al., 2001). O resíduo do tegumento da amêndoa do cacau é utilizado atualmente nas caldeiras (Mororó, 2012).

3.3. Resíduo de dendê:

O dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.) conhecido como palma-de-óleo-africana é a cultura mais produtiva dentre as oleaginosas. O dendezeiro é uma cultura

perene que se adapta a climas tropicais úmidos, apresenta um ciclo de 25 anos, protege o solo e fixa grande quantidade de carbono atmosférico. Essa cultura possui o sistema de produção bem estabelecido, mediante décadas de estudos e adoção das melhores práticas em nível comercial (Breure, 2003; Corley e Tinker, 2003; Gomes Junior et al., 2017).

A cultura do dendezeiro contribui de maneira significativa na economia do Brasil e do mundo. A produção mundial de cachos de dendê foi de 300 milhões de toneladas e a produção nacional foi em torno de 1,6 milhões toneladas em 2016 (FAO, 2016). O processamento dos frutos do dendezeiro fornece diversos resíduos como a torta de palmiste, engaços, fibras da prensagem do mesocarpo e cascas. A fibra da prensagem do mesocarpo do fruto do dendê (MFD) representa 12% do montante (Rosa et al. 2010). Esses resíduos do dendê na maioria das vezes são utilizados como adubo nas plantações e como fonte de energia em usinas ou para a manufatura de uma série de produtos para a agricultura ou outras indústrias (Furlan Júnior et al., 2006).

4. Fatores que influenciam na produção de cogumelos comestíveis:

Além da escolha da matéria prima para a formulação do substrato, que deve estar de acordo com as exigências nutricionais da espécie a ser cultivada, vários fatores estão relacionados com a sobrevivência e multiplicação dos fungos produtores de cogumelos, atuando de maneira isolada ou em conjunto.

Entre os principais fatores nutricionais relacionados ao substrato de cultivo pode-se destacar: a relação C/N, a composição química, a atividade da água (A_w), a acidez (pH) e a granulometria. De acordo com Urben (2004a), a relação C/N é uma condição importante para o cultivo de cogumelos e, a maior disponibilidade de nitrogênio do que de carbono proporciona o supercrescimento do micélio e a inibição dos basidiomas. Eira (2004) ressalta que no cultivo axênico de cogumelos, a relação C/N ideal deve estar entre 20 a 50/1.

Alguns elementos minerais desempenham papéis importantes nas atividades fisiológicas da célula do fungo para obtenção de energia e regulação da pressão osmótica. O fósforo e potássio, especificamente, influenciam não só apenas no crescimento micelial, mas também na formação de corpos de frutificação. Os micronutrientes Fe, Cu, Zn, Mn, B e Mo agem como catalisadores

da ação de enzimas específicas (Bisko, 2004), as vitaminas, em especial B1 (tiamina), são fundamentais para o crescimento micelial e a formação dos basidiomas (Chen, 2005).

A faixa de pH ideal para o desenvolvimento dos cogumelos depende do seu metabolismo, podendo variar entre 4,0 e 7,0 para o crescimento micelial e 3.5 a 5.0 para a formação do basidioma (Urben, 2004a). Entre os fatores ambientais, o teor de umidade, temperatura, luminosidade, e as trocas gasosas são essenciais na produção de cogumelos. Segundo Urben (2004), o teor de umidade ideal para a maioria dos cogumelos é de 80 a 90%. Chang e Miles (2004) ressaltam que a umidade adequada do substrato deve estar entre 50 a 75% e a do ambiente de 85 a 95%, para que haja condições ideais de desenvolvimento do fungo.

Em algumas espécies do gênero *Pleurotus*, o crescimento micelial pode ser estimulado por altas concentrações de CO₂. A concentração de CO₂ no ambiente da sala de crescimento deve ser controlada por meio de ventilação, especialmente durante a formação e desenvolvimento de corpos de frutificação (Won-sik, 2004). De acordo com Rossi et al. (2001), a produção de celulase, hemicelulase e outras enzimas pelo microrganismo são influenciadas pelas trocas gasosas que ocorrem no substrato na fase do crescimento vegetativo.

Para o sucesso do cultivo de cogumelos, a produção do inóculo e a técnica de cultivo são primordiais. O inóculo, também conhecido como *spawn*, em geral é formado por grãos colonizados com micélio do fungo obtido de uma cultura pura, e este é utilizado para a colonização do substrato de cultivo. O inóculo sólido pode ser produzido com diversos grãos (centeio, milho, sorgo, arroz) ou materiais lignocelulósicos serragem, resíduo de algodão suplementado com farelo de trigo (Zhang et al., 2014). Para que se tenha bons resultados é essencial que o inóculo esteja jovem e isento de contaminantes (Chang; Milles, 2004).

Todos os fatores relatados acima devem ser ajustados de acordo com o cogumelo a ser cultivado e a técnica de cultivo a ser adotada. Atualmente existem várias técnicas de cultivo de cogumelos, as quais variam de acordo com a espécie de cogumelo a ser produzida. Os métodos de cultivo mais utilizados são em toras, prateleiras, caixas, garrafas e sacos. O desenvolvimento de novas técnicas tem possibilitado a utilização de diferentes resíduos agroindustriais como

substratos de cultivo. A seleção dos métodos de cultivo baseia-se na espécie de cogumelo, nas exigências do mercado e preferências dos produtores (Won-sik, 2004). Segundo Sánchez (2010), inúmeros cogumelos podem ser cultivados em substratos compostos por mais de 200 resíduos agrícolas.

A utilização de resíduos advindos das cadeias produtivas do sisal, dendê e cacau na formulação de substratos para a produção de cogumelos comestíveis poderá agregar valor a cadeia produtiva dessas culturas, produzir um alimento de alto valor nutritivo, além de possibilitar a geração de renda e, conseqüentemente, a melhoria na qualidade de vida dos produtores rurais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção do *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos das cadeias produtivas do sisal, dendê e cacau, as características bromatológicas desses resíduos e dos cogumelos produzidos. Adicionalmente, foi avaliada a produção de *P. ostreatus* com inóculo produzidos em estacas, comparado ao inóculo produzido em sementes e no substratos de cultivo dos cogumelos.

Referências Bibliográficas

- ABREU, L.D.; MARINO, R.H.; MESQUITA, J.B.; RIBEIRO, G.T. Degradação da madeira de *Eucalyptus* sp. por basidiomicetos de podridão branca. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.74, p.321-328, 2007.
- ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. S.; PAMPFILE, J. A. Fungos de Interesse: Aplicações Biotecnológicas. Universidade Estadual de Maringá – UEM. Revista UNINGÁ Review – v.21, p.55-59, 2015.
- ADEBAYO, E.A.; OLOKE, J.K.; MAJOLAGBE, O.N.; AJANI, R.A.; BORA, T.C. Antimicrobial and anti-inflammatory potential of polysaccharide from *Pleurotus pulmonarius*. African Journal of Microbiology Research, v. 6, n. 13, p. 3315-3323, 2012.
- ADEBAYO, E.A.E.; MARTÍNEZ-CARRERA, D. Oyster mushrooms (*Pleurotus*) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. African Journal of Biotechnology, v.14, n. 1, p. 52-67, 2015.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. Introductory Mycology. John Wiley & Sons, New York, USA. p. 869, 1996.

- ANDRADE, R.; ORNELAS, J.; BRANDÃO, W. Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. Comunicação SEAGRI, v. 1, p. 14-19, 2012.
- ANPC - Associação Nacional de produtores de cogumelos. Sobre os cogumelos. Disponível em: <http://www.anpc.org.br/index.php/cogumelos>. Acesso em 11 de julho de 2016.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA) e SENAI (SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL). Séries Temáticas – Laboratório. Série Habilitação. Guia para Qualidade em Química Analítica – Uma Assistência à Habilitação. Brasília, 2005
- BAZANELLA, G.C.S.; SOUZA, D.F.; CASTOLDI, R.; OLIVEIRA, R.F.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M. Production of laccase and manganese peroxidase by *Pleurotus pulmonarius* in solid-state cultures and application in dye decolorization. *Folia Microbiologica*, v. 58, n. 6, p. 641 – 647, 2013.
- BENTO, C. B.P.; SILVA, J. S.; RODRIGUES, M.T.; KASUYA, M. C. M.; H. C. MANTOVANI. Influence of white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. *African Journal of Agricultural Research*. V. 8(28). p. 2724-2732. 2014.
- BISKO, N.A.; BILAY, V.T.; BABITSKAYA, V.G.; SCHERBA, V.V.; MITROPOLSKAYA, N.Y.; PUCHKOVA, T.A. Biologically active substances from mycelia of *Ganoderma lucidum*, and *Lentinula edodes*. In: Romaine, Keil, Rinker, and Royse, Eds: *Mushroom Science: Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi*. University Park, PA: The Pennsylvania State University Press. p. 619-623, 2004.
- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.M.; FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, v. 88, p. 3, p. 425-428, 2004.
- BREURE, K. The search for yield in oil palm: basic principles. In: FAIRHURST, T.; HARDTER, R. (Eds.). *The oil palm. Management for large and sustainable yields*. Penang: Potash & Phosphate Institute; Potash Institute of Canada and International Potash Institute, p. 59-98, 2003.

- CARVALHO, C.S.M.; SALES-CAMPOS, C.; DE ANDRADE, M.C.N. Mushrooms of the *Pleurotus* Genus: A review of cultivation techniques. *Interciencia*, v. 35, p. 177–182, 2010.
- CHANG, S.T.; MILES, P.G. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value Medicinal Effect and Environmental Impact. 2ed. CRC Press Boca Raton, 2004.
- CHANG, S.T.; MILES, P.G. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2nd edition, 2008.
- CHEN, A.W. Mushroom Growers' Handbook 2: Shiitake Cultivation. Seoul, Korea: MushWorld, 2005.
- CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). (2015) Sisal 2015: Retrospectiva. Disponível em::http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/sisal__conjuntura_especial_retrospectiva_2015-1.pdf. Acesso em 18 de Fevereiro, 2016.
- CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. B. The Oil Palm. Oxford: Blackwell Science, p. 608, 2003.
- CORRÊA, R.C.G.; BRUGNARI, T.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M.; FERREIRA, I.C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*, v. 50, p. 103 - 117, 2016.
- DIAS, A.B.; CUNHA, A.L.; SILVA, A.O.; OLIVEIRA, I.F. Potencial De Indicação Geográfica Do Sisal Na Bahia. *Cadernos de Prospecção*. v. 8, n. 1, p. 174, 2015.
- DIAS, E.S.; KOSHIKUMO, E.M.S.; SCHWAN, R.F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v.27, n. 6, p. 1363-1369, 2003.
- EIRA, A.F. Fungos comestíveis. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: Educs, p. 379-448, 2004.
- ELMASTAS M.; ISILDAK O.; TURKEKUL I.; TEMUR N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, n. 3, p. 337–34, 2007.

FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2013 |

<<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/F>> Acesso em: 02 de fevereiro 2018.

- FERNANDES, Â.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I.C.F.R. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate, *Food Chemistry*, v. 169, n. 15, p. 396-400, 2015.
- FURLAN JÚNIOR, J.; OLIVEIRA, R. F.; TEIXEIRA, L. B. Compostagem de Engaços de Dendê em Processo de revolvimento mecanizado. Comunicado técnico 156. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. p. 37, 2006.
- FURLANI, R.P.Z.E., GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. *Rev Inst Adolfo Lutz*, v. 64, n. 2, p.149-154, 2005.
- GERN, R.M.M.; WISBECK, E.; RAMPINELLI, J.R.; NINOW, J.L.; FURLAN, S.A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 1, p. 76-82, 2008.
- GOMES-CORREA, R.C.; BRUGNARI, T.; BRATCH, A.; PERALTA, R.M.; FERREIRA, I.C.F.R. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade finding. *Trends in Food Science & Technology*, v. 50, p. 103-117, 2016.
- GOMES, D.; AKAMATSU, I.; SOUZA, E.; FIGUEIREDO, G. J. B. CENSO PAULISTA DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E MEDICINAIS. *Pesquisa & Tecnologia*. v. 13. n. 1. 2016.
- GOMES JUNIOR, R.A.; ABREU, P. A. J.; LIMA G.F.; FRANZINI, V.; ARRUDA, C. E.; SANZ, V.A.; LOPES, B.L.; VIEIRA C. R. N. Sistema de produção de mudas em híbridos interespecíficos entre caiaué e dendê. *Ciência Florestal*, Santa Maria, Brasil, v. 27, n. 1, p. 169-179, 2017.
- IBEKWE, V.I.; AZUBUIKE, P.I.; EZEJI, E.U.; CHINAKWE, E.C. Effects of Nutrient Sources and Environmental Factors on the Cultivation and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Pak. J. Nutr.*, v. 7, n. 2, p. 349-351, 2008.
- INPA - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia.
<http://portal.inpa.gov.br/portal/index.php/ultimas-noticias/914-simposio->

- internacional-sobre-cogumelos-debate-meios-de-tecnologia-e-producao-para-viabilizar-a-comercializacao. Acesso em: 20 de agosto de 2016
- KAKON, A.J.; CHOUDHURY, M.B.K.; SAHA, S. Mushroom is an ideal food supplement. *Journal of Dhaka National Medical College e Hospital*, v. 18, n. 1, p. 58-62, 2012.
- KALAIČ, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food chemistry*, v. 113, n. 1, p. 9-16, 2009.
- KNOP, D.; YARDEN, O.; HADAR, Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 99, n. 3, p. 1025 – 1038, 2015.
- KONG, W.S. Descriptions of commercially important *Pleurotus* species. In: *Mushroom grower's handbook: Oyster mushroom cultivation*. Seoul: Mushroom- Heineart Inc, v.1, p. 54-61, 2004.
- KOUTROTSIOS, G.; KONSTANTINOS, C.M.; IORDANIS, C.; GEORGIOS, I.Z. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi- Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food Chemistry*., v. 161, p. 127-135, 2014.
- LENNARTSSON, P.R.; YLITERVO, P.; LARSSON, C.; EDEBO, L.; MOHAMMAD, J.T. Growth tolerance of zygomycetes *Mucor indicus* in orange peel hydrolysate without detoxification. *Process Biochemistry Journal*, v. 47, n. 5, p. 836-842, 2012.
- MAFTOUN, P.; JOHARI, H.; SOLTANI, M.; MALIK, R.; OTHMAN, N.Z.; EL ENSHASY, H.A. The Edible Mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and Nutritional Values. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, v. 4, n. 2, p. 67-83, 2015.
- MATA, G.; DELPECH, P.; SAVOIE, J.M. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. *Revista Iberoamericana de Micologia*, Bilbao, v. 18, n. 1, p. 118-122, 2001.
- MORADALI, M.F.; MOSTAFAVI, H.; GHODS, S.; HEDJAROUDE, G. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int. Immunopharmacol.*, v. 7, n. 6, p. 701-724, 2007.

- MORORÓ, R.C. Aproveitamento dos Derivados do cacau, Subprodutos e Resíduos do Cacau. In: Raul René Valle. (Org.). Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacaueiro. 1ed.Itabuna, v. 1, p. 204-260, 2006.
- MORORÓ, R.C. Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau. III Congresso brasileiro do cacau “inovação tecnológica e sustentabilidade”. Ilhéus-BA, Novembro, 2012.
- MOURA, P.L.C. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações. Ipen, São Paulo, 2008.
- MUZZI, M.R.S.; NEVES, L.; PAULA, M.T.; BRITO, M.; BRAVO, M.; DINIZ, N. Taxonomia de criptógmas fungos: filo Basidiomycota. Universidade Federal de Minas Gerais Instituto de Ciências Biológicas – ICB - Departamento de Botânica – Belo Horizonte, 2013.
- NASCIMENTO, K.B.M.; MARTINS, A.G.R.; TAKAKI, G M.C.; SILVA, C.A.A.; OKADA, K. Utilização de resíduos agroindustriais para produção de tanase por *Aspergillus* sp isolado do solo da caatinga de Pernambuco, Brasil. E-xacta, Belo Horizonte, v. 7, n. 1, p. 95-103, 2014.
- PARDO, A. et al. Factores que infl uyen en la iniciación de la fructifi cación del champiñón cultivado. I. Factores físicos y ambientales. Factores químicos y nutritivos. ITEA, v. 98, n. 1, p. 33-43, 2002.
- PASSOS, P.R.A. Destinação Sustentável de Cascas de Coco Verde (Cocos nucifera): Obtenção de telhas e chapas de partículas. 2005. 186p. Tese (Doutorado em ciências em planejamento energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
- PATEL, Y., NARAIAN, R., SINGH, V. K. Medicinal properties of *Pleurotus* species (oyster mushroom): A review. World Journal of Fungal and Plant Biology, v. 3, p. 1-12, 2012.
- PEREIRA, R.E. Avaliação do Potencial Nacional de Geração de Resíduos Agrícolas para a Produção de Etanol. 2006.180p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

- RAYMOND, P., MSHANDETE, A.M., KIVAISI, A.K. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* HK-37) on solid sisal waste fractions supplemented with cow dung manure. *Journal of Biology and Life Science*, v. 4, p. 273-286, 2013.
- RIBEIRO, B.D.; BARRETO, D.W.; COELHO, M.A.Z. Use of micellar extraction and cloud point preconcentration for valorization of saponins from sisal (*Agave sisalana*) waste. *Food and Bioproducts Processing*, v. 94, p. 601-609, 2015.
- ROSA, M.F.; MEDEIROS, E.S.; MALMONGE, J.A.; GREGORSKI, K.S.; WOOD, D.F.; MATTOSO, L.H.C.; GLENN, G.; ORTS, W.J.; IMAM, S.H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, v. 81, p. 83-92, 2010.
- 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.
- SÁNCHEZ, C. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* e outros cogumelos comestíveis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 85, p. 1321-1337, 2010.
- SCHNEIDER, V.E. PERESIN, D.; TAISON, A.C.T.; REGINA, A.B.; SAMBUICHI, H.R. Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas. Relatório de Pesquisa. Brasília, 2012.
- SCHMIDT, P., WECHSLER, F.S., NASCIMENTO, J.S.D., VARGAS JUNIOR, F.M.D. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, p. 1866-1871, 2003.
- SILVA NETO, P.J. et al. Sistema de produção de cacau para a Amazônia brasileira. Belém, CEPLAC, p. 125, 2001.
- SILVA, R.B.; FONTES, C.M.A.; LIMA, P.R.L.; GOMES, O.F.M.; LIMA, L.G.L.M.; MOURA, R.C.A.; TOLEDO FILHO, R.D. Cinzas de biomassa geradas na agroindústria do cacau: caracterização e uso em substituição ao cimento. *Ambiente Construído*, Porto Alegre, v. 15, n. 4, p. 321-334, 2015.
- SODRÉ, G.A.; VENTURINI, M.T.; RIBEIRO, D.O.; MARROCOS, P.C.L. Extrato da casca do fruto do cacau como fertilizante potássico no crescimento de mudas de cacau. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 3, p. 881-887, 2012.

- SOFI, B.; AHMAD, M.; KHAN, M. Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production., v. 8, n. 14, p. 1474-1479, 2014.
- SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S. Melhoramento ambiental e sócio-economia. In: DIAS L.A.S. (Ed.) Melhoramento genético do cacauzeiro. Viçosa, MG: FUNAPE/UFG, p.1-48, 2001.
- SOUZA, M.F.; SILVA, M.N.B.; ALVES, I.; SILVA, J.C.A; COSTA, L.B. Aproveitamento da mucilagem de sisal na alimentação animal. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 27 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 189).
- SOUZA, H.Q.D., AGUIAR, I.D.J.A. Diversity of Agaricales (Basidiomycota) in the Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brazil. Acta Amazonica, v. 34, n. 1, p. 43-51, 2004.
- URBEN, A. F. Fatores que afetam a assimilação de nutrientes e produção de princípios ativos nos cogumelos. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NO BRASIL, 2004a, Brasília. Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 1985. p. 43-51. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, p. 125-133, 2004.
- URBEN, A.F. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. 2.Ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004b.
- VALVERDE, M.E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. International Journal of Microbiology, v. 1, p. 14, 2015.
- WISBECK, E., ALVES, E.P., LIMA, S.G., GERN, R.M.M., SILVEIRA, M.L.L., FURLAN, S.A. Maintenance culture medium and inoculum based on peach palm leaves for *Pleurotus* spp. production. Arq. Inst. Biol., v. 83, p. 1-7, 2016.
- WON-SIK K. Descriptions of commercially Important *Pleurotus* Species. Oyster Mushrooms, Chapter 4, (*Spawn*). Rural Development Administration, Korea, 2004.
- YANG, D.; LIANG, J.; WANG, Y.; SUN, F.; TAO, H.; XU, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, Z.; HO, C.; WAN, Xi. Tea waste: an effective and economic substrate for oyster mushroom cultivation. J Sci Food Agric. V. 96. p. 680–684. 2016.

ZHANG, R.Y., HU, D.D., MA, X.T., LI, S.G., GU, J.G., HU, Q.X. Adopting stick spawn reduced the spawn running time and improved mushroom yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. *Sci. Hortic.*, v. 175, p. 156–159, 2014.

ZHANG, Y., VENKITASAMY, C., PAN, Z., WANG, W. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms—a review. *Trends in food science & technology*, v. 33, 2, p. 78-92, 2013.

ARTIGO 1**PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* EM SUBSTRATOS FORMULADOS COM
RESÍDUOS DE SISAL E TEGUMENTO DA AMÊNDOA DE CACAU**

¹Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Bioscience Journal, em versão na língua inglesa.

Produção de *Pleurotus ostreatus* em substratos formulados com resíduos de sisal e tegumento da amêndoa de cacau

Autores: Rafael Mota da Silva; Marcos de Souza Rodrigues; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

RESUMO: Fungos do gênero *Pleurotus* colonizam uma diversidade de resíduos lignocelulósicos e produzem cogumelos com elevado valor nutricional. As cadeias produtivas do sisal e cacau geram uma grande quantidade de resíduos que na maioria das vezes são descartados inapropriadamente, podendo assim serem reutilizados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos do desfibramento da folha e processamento da fibra de sisal (*Agave sisalana* Perrine) e o tegumento da amêndoa de cacau (*Theobroma cacao* L.). A mistura dos resíduos do desfibramento de folhas de sisal e do beneficiamento das fibras secas foi utilizada na proporção de 70/30 (v/v), respectivamente. Essa mistura foi suplementada com diferentes concentrações do tegumento da amêndoa de cacau, nas proporções de 93.5/2.5; 91/5; 86/10; 76/20; 56/40 g:g e adicionados 3% de carvão moído e 1% de carbonato de cálcio (CaCO₃). Os substratos foram umedecidos, esterilizados em autoclave, inoculados com *P. ostreatus* e incubados em estufa de cogumelos climatizada, com controle de temperatura e umidade e em condições *in vitro* em tubos de ensaio. Avaliou-se a corrida micelial no substrato *in vitro* e na estufa. O início da formação dos primórdios foi observado e, o rendimento de cogumelos, eficiência biológica e a análise centesimal dos cogumelos foram analisados. Diferenças significativas entre os substratos foram evidenciadas com relação a eficiência biológica, produtividade e rendimento. O substrato com 76% da mistura dos resíduos de sisal e 20% do tegumento da amêndoa de cacau apresentou 113% de eficiência biológica, 30.7% de produtividade e um rendimento de 307.6 g kg⁻¹ de substrato, sendo esta formulação a mais adequada para cultivo de *P. ostreatus*. Os cogumelos produzidos apresentaram alto teor de proteína (22.5%) e baixo teor de gordura (1.22%).

Palavras-chaves: cogumelo ostra; bioconversão; *Agave sisalana*; proteína fungica.

***Pleurotus ostreatus* production in substrates formulated with sisal residues and the tegument of the cocoa almond**

Authors: Rafael Mota da Silva; Marcos de Souza Rodrigues; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

ABSTRACT: Fungi of the genus *Pleurotus* colonize a diversity of lignocellulosic residues and produce mushrooms with high nutritional value. The production chains of sisal (*Agave sisalana* Perrine) and cocoa (*Theobroma cacao* L.) generate a large amount of residues that are most often disposed of inappropriately. This work aimed at evaluating the production of *P. ostreatus* on substrates formulated with residues from the sisal leaf decortication process and the dried fiber industrial processing and the cocoa almond tegument. The mixture of sisal decortication residue and dried fiber residue was used in the proportion of 70/30, respectively. This mixture was supplemented with different concentrations of the tegument of the cocoa almond (TAC) in the proportions of 93.5/2.5; 91/5; 86/10; 76/20; 56/40 (g/g), and with the addition of 3% ground charcoal and 1% calcium carbonate (CaCO₃). The substrates were moistened, sterilized in an autoclave, inoculated with *P. ostreatus* and incubated in a mushroom growth chamber with controlled temperature and humidity, and under in vitro conditions in test tubes. The mycelium growth in the substrate was evaluated in vitro and in the mushroom growth chamber. The initial primordial formation was recorded, and mushroom yield, biological efficiency and the centesimal analysis of the produced mushrooms were also determined. Significant differences between the substrates were obtained with respect to the biological efficiency, productivity and yield of mushrooms. The substrate with 76 % of sisal residue mixture and 20% TAC gave a biological efficiency of 113%, a 30.7% yield, with 307.6 g of mushrooms per kilograma of substrate. The mushrooms produced had a high protein content (22.5%) and low fat content (1.22%). This formulation is the most suitable for *P. ostreatus* cultivation.

Keywords: Oyster mushroom; bioconversion; *Agave sisalana*; Fungal protein.

INTRODUÇÃO

Os cogumelos fazem parte da alimentação humana há milhares de anos e são considerados como uma iguaria por suas características sensoriais, seus atributos culinários e o seu alto valor nutricional (Valverde et al., 2015). Nas últimas décadas, as pesquisas e o conhecimento biotecnológico sobre a produção de cogumelos comestíveis têm aumentado e favorecido o seu consumo, com a procura por alimentos saudáveis e funcionais (Corrêa et al., 2016). Esses avanços nas pesquisas têm possibilitado um aumento significativo no cultivo de cogumelos comestíveis (Zhang et al., 2013). A China é o maior produtor de cogumelos comestíveis e trufas do mundo, com 7.7 milhões de toneladas produzidas no ano de 2016 (FAO, 2015). No Brasil, a produção de cogumelos ainda é muito pequena, chegando a aproximadamente 12.744 toneladas por ano (Gomes et al., 2016).

Os cogumelos mais cultivados no mundo são *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Emil J. Imbach., conhecido popularmente como champignon de Paris, seguido de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler conhecido como shiitake e *Pleurotus ostreatus* (Jacq.exFr.) P. Kumm. denominado popularmente de cogumelo ostra (Corrêa et al., 2016). As espécies que representam o gênero *Pleurotus* possuem um complexo enzimático capaz de degradar a lignina presente nos vegetais e são conhecidos como fungos causadores da podridão branca da madeira (Abreu et al., 2007). Esse aparato enzimático lhes permite colonizar uma grande diversidade de resíduos lignocelulósicos (Sofi et al., 2014; Koutrotsios et al., 2014; Fernandes et al., 2015), possibilitando o seu desenvolvimento em condições rústicas de cultivo, requerendo menor tempo de cultivo ao ser comparado a outros cogumelos comestíveis (Bonatti et al., 2004; Gern et al., 2008).

O cultivo do sisal (*Agave sisalana* Perrine) para extração da fibra dura é uma das principais fontes de renda e de sobrevivência de produtores rurais da região semiárida da Bahia. O Brasil lidera o ranking mundial na produção e exportação de fibra de sisal sendo o estado da Bahia responsável por 96,4 % da produção nacional (IBGE, 2015). O semiárido apresenta limitações para a produção agrícola, em virtude do clima, fator que corrobora para que o cultivo de

sisal para extração da fibra tenha se tornado uma das principais alternativas de produção agrícola e geração de renda no semiárido da Bahia (Dias et al., 2015).

Nos últimos anos, a produção média anual de fibra de sisal no Brasil foi de 100 mil toneladas (CONAB, 2015). Entretanto, a fibra que é o principal produto da cultura do sisal representa apenas 4% do peso fresco da folha, restando 16% de resíduo sólido e 80% de resíduo líquido (Andrade et al., 2012). Estima-se que a quantidade de resíduo gerado anualmente seja aproximadamente 2,5 milhões de toneladas. Apenas uma pequena parte desse resíduo vem sendo utilizada como adubo nos plantios de sisal e na alimentação animal, enquanto que a maior parte é abandonada em forma de pilhas nas propriedades rurais (Sousa et al., 2008; Andrade et al., 2012; Ribeiro et al., 2015). A industrialização da fibra seca também gera resíduos, como por exemplo, o pó fino gerado durante o beneficiamento da fibra no processo de limpeza em uma máquina conhecida como bateadeira.

A utilização de resíduos lignocelulósicos provenientes da produção agrícola para a produção de proteína fúngica constitui-se em excelente alternativa de agregação de valor aos resíduos, tendo em vista que o cultivo de cogumelos comestíveis já é uma atividade comercial rentável e estabelecida (Fonseca et al., 2014; Condé et al., 2017).

Na Bahia, além dos resíduos de sisal, existem os resíduos de cacau, como por exemplo, o tegumento de amêndoa do cacau (TAC), oriundo da indústria de moagem das sementes, que é retirado no processo industrial de obtenção do líquido (matéria-prima do chocolate). Uma tonelada de amêndoas com 7% de umidade pode gerar de 80 kg a 120 kg de TAC após o processamento, na Bahia são gerados 10.000 t de TAC. Esse tegumento apresenta bons teores de proteína (14.3%), extrato etéreo (5.5%) e lignina (18.54%) (Azevedo et al., 2011; Silva et al., 2015). Esse resíduo de tegumento de amêndoa do cacau é normalmente descartado pela indústria ou utilizado em associação com madeira para uso nas caldeiras (Mororó, 2012).

Considerando a disponibilidade dos resíduos oriundos do processamento da fibra de sisal e da amêndoa do cacau e o potencial de produção de cogumelos da espécie *P. ostreatus* em diversos resíduos agrícolas e, em condições de cultivo mais rústicas, em especial em relação à temperatura para colonização do substrato e frutificação, e as condições assépticas do ambiente de cultivo, o

presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de produção de *P. ostreatus* em substrato formulado com resíduos do processamento da fibra de sisal e do tegumento da amêndoa do cacau.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e condições de cultivo

Foi utilizado o isolado de *P. ostreatus* Plo 02, pertencente à coleção de fungos do Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Para o preparo do inóculo, fragmentos de micélio do fungo preservados em tubos de ensaio com água esterilizada e vedados, foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo o meio batata, dextrose e ágar (BDA) (Bononi et al., 1999). As placas foram incubadas em BOD, a 25 °C, durante sete dias. Após este período, as culturas foram mantidas a 4 °C até sua utilização.

Produção de inóculo (*spawn*)

Grãos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) foram utilizados como substrato para o crescimento do fungo. Estes foram lavados e imersos em água por um período de 1 h e 30 min. O excesso de água foi removido por escorrimento em peneira plástica e os grãos foram transferidos para frascos de vidro, com 100 g por frasco, e foram esterilizados em autoclave a 121 °C por 55 min. Após a esterilização e arrefecimento, cada frasco foi inoculado com 3 discos (5 mm de diâmetro) da cultura do fungo multiplicada em meio BDA por sete dias a 25 °C e estes foram incubados a 25 °C em BOD, durante 20 dias. Os grãos colonizados pelo fungo são denominados de semente (*spawn*).

Tratamento dos resíduos agrícolas e formulação do substrato

O resíduo oriundo do desfibramento de folhas de sisal (resíduo sólido e fresco de sisal) foi coletado no momento do desfibramento no campo, no município de Valente, Bahia, espalhado em área cimentada para secagem ao sol por 48 horas, ensacado e transportado para a unidade de processamento de cogumelos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). O resíduo

do beneficiamento das fibras secas (popularmente denominado de pó de bateadeira) foi coletado em indústria de beneficiamento da fibra. O tegumento da amêndoa de cacau (TAC) foi coletado na região Sul da Bahia, em agroindústria de processamento da amêndoa de cacau. Estes resíduos foram lavados separadamente por imersão em água por um período de 4 h, sendo esse procedimento repetido por três vezes com água potável. Em seguida, estes resíduos foram tratados por imersão em uma solução de 0,5 % de cal hidratado, por um período de 12 h, e foram secos ao ar livre e utilizados para a formulação dos substratos, conforme indicado na tabela 1.

Tabela 1. Formulação dos diferentes substratos com os resíduos do desfibramento de folhas de sisal, do beneficiamento das fibras secas de sisal e com o tegumento da amêndoa de cacau (TAC), e a adição de carvão pulverizado e carbonato de cálcio (CaCO₃).

Substrato	MRPS*	TAC	Carvão	CaCO ₃
S1	93,5%	2,5%	3%	1%
S2	91%	5%	3%	1%
S3	86%	10%	3%	1%
S4	76%	20%	3%	1%
S5	56%	40%	3%	1%

*Mistura dos resíduos do desfibramento da folha do sisal e pó do beneficiamento das fibras de sisal secas na proporção 70/30 respectivamente (v/v).

A proporção da mistura dos resíduos do desfibramento de folhas de sisal e do beneficiamento das fibras de sisal secas foi definida com base em avaliação prévia a este trabalho, em que a proporção de 70 % do resíduo do desfibramento de folhas de sisal e 30 % do resíduo do beneficiamento das fibras apresentou os melhores resultados.

Avaliação do crescimento micelial vertical em substrato

Para avaliação do crescimento micelial vertical foram utilizados tubos de ensaio com 22 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro. Os substratos foram colocados nos tubos até atingir os primeiros 12 cm do comprimento do tubo e

esterilizados em autoclave a 121°C, durante 30 minutos. Foi adicionado na superfície do substrato de cada tubo 1g de inóculo da cultura de *P. ostreatus* em sementes de sorgo, conforme descrito acima. Os tubos foram fechados com tampão de algodão e papel manteiga e incubados a temperatura ambiente (25±2°C), na ausência de luz. A avaliação do crescimento micelial vertical foi realizada por medição com uma régua (mm) do crescimento do micélio fúngico no substrato ao longo do tubo, a cada 24 horas. A avaliação foi finalizada quando o micélio fúngico colonizou todo o comprimento do substrato em um dos seus tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições.

Produção de *P. ostreatus* em estufa de produção de cogumelos

Para avaliar a produção de *P. ostreatus* nos diferentes substratos formulados (tabela 1), a umidade de todos os substratos foi ajustada para 70% com a adição de água potável. Os substratos foram transferidos para sacos sanfonados de polipropileno com filtro de troca gasosa, contendo 2 kg de substrato (peso úmido) em cada saco. Os sacos com os substratos foram fechados e esterilizados em autoclave a 121 °C, por 55 minutos. Após o arrefecimento dos substratos procedeu-se à inoculação com 40 g de semente (grãos de sorgo colonizados com *P. ostreatus*, conforme descrito acima) por saco (correspondendo a 2% do peso do substrato) e estes foram incubados em câmara de incubação, com temperatura de 25±2 °C e umidade relativa de 75-80%. Após a total colonização do substrato, os sacos foram transferidos para a câmara de frutificação e submetidos a um choque térmico, por meio da redução da temperatura do ambiente para 20 °C, com o uso de sistema de nebulização programado para ativar três vezes durante a noite com a duração de 3 minutos cada nebulização. Em seguida foram feitos 12 cortes laterais equidistantes por saco com um bisturi, para a emissão dos corpos de frutificação. A temperatura foi mantida a 25 °C e a umidade entre 80 e 90% na câmara de frutificação, até o fim da produção.

As colheitas foram realizadas duas vezes ao dia, quando os cogumelos apresentavam a conformação do píleo quase plana, sendo este o ponto de colheita dos cogumelos. Após a colheita fez-se a pesagem dos cogumelos, a quantificação do número de cachos e de basidiomas, e a medição do tamanho

médio do estipe e do diâmetro médio do píleo. Em seguida, os cogumelos foram secos em estufa de ventilação forçada, a temperatura de 45°C, até atingirem peso constante.

Avaliação dos parâmetros de cultivo

Para definição da melhor formulação do substrato para a produção de *P. ostreatus*, foram avaliados os parâmetros: duração do ciclo de cultivo (colonização, formação dos primórdios e produção de cogumelos) e a precocidade definida como o tempo decorrido entre o dia da inoculação e o dia de aparecimento dos primórdios.

Eficiência biológica (EB)

A eficiência biológica, ou seja, a capacidade de bioconversão pelo fungo do substrato seco em cogumelos foi calculada com a seguinte equação (Carvalho et al., 2012): $EB\% = \left(\frac{\text{massa fresca de cogumelo}}{\text{peso seco inicial de substrato}} \right) * 100$

Rendimento (R)

O rendimento expressa a capacidade de produção de cogumelos a partir do substrato de cultivo, sendo calculado em gramas de cogumelo produzido por quilo de substrato.

Análise bromatológica dos substratos e dos cogumelos

As amostras dos substratos foram avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, de acordo com os métodos analíticos definidos pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al., 2012). O teor de carbono (C) para posterior cálculo da relação C/N foi analisado de acordo com Carmo e Silva (2012).

O teor de fibra bruta dos cogumelos foi determinado pelo método gravimétrico, seguindo os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). O teor de nitrogênio (N) foi determinado pelo método de Micro-

kjeldahl, conforme metodologia AOAC (1996) e o teor de carboidratos totais foi calculado por diferença (100 g – Fibras totais, proteínas, gorduras e cinzas).

Delineamento experimental e análise estatística

Para avaliação da produção de cogumelos, o experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, com 10 repetições. Para análise química, foram analisadas três amostras compostas com duas repetições cada. Os resultados foram expressos como valores médios \pm desvio padrão (SD).

Os dados referentes às características dos substratos foram comparados pela análise de variância (ANOVA) e agrupados pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento micelial vertical

Os substratos S1 e S3 apresentaram os melhores resultados em termos de crescimento vertical de *P. ostreatus*, com maior capacidade de colonização e velocidade de crescimento micelial. Os substratos S2 e S5 não apresentaram diferença significativa entre si e o substrato S4 promoveu uma colonização mais lenta pelo fungo (Figura 2). O crescimento micelial vertical do *P. ostreatus* nos substratos não foi proporcional ao incremento do tegumento da amêndoa de cacau. A literatura relata que inúmeros fatores podem influenciar no crescimento micelial. Hoa e Wang (2015) atribuem como fatores que interferem no crescimento as características granulométricas, a disponibilidade de nutrientes e as fontes de carbono e nitrogênio dos substratos. Sofi et al. (2014) relataram que a concentração de O₂ no substrato é um dos principais fatores que afeta o crescimento micelial do fungo. As dimensões das partículas que compõem o substrato podem influenciar de forma significativa no crescimento micelial do cogumelo. Resíduos que apresentam partículas de pequenas dimensões podem dificultar as trocas gasosas e conseqüentemente comprometer a velocidade de colonização do substrato (Pedra e Marino, 2006; Donini et al, 2006).

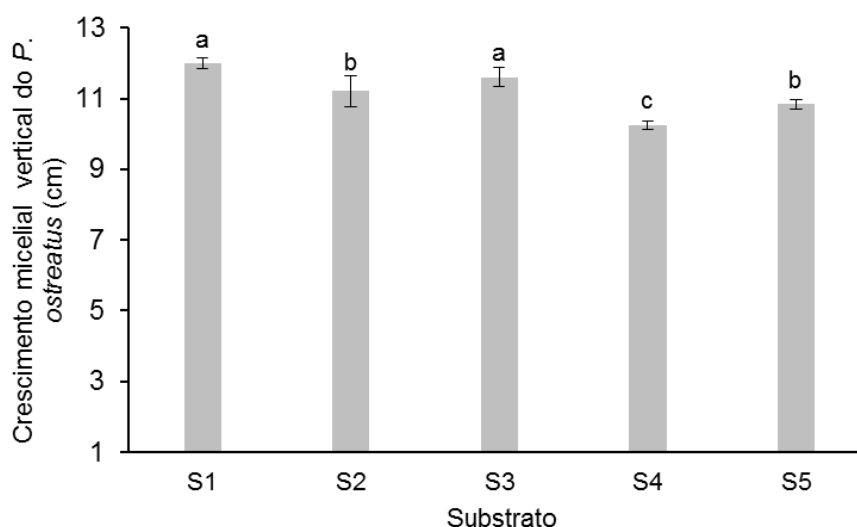


Figura 2. Crescimento micelial vertical *in vitro* de *P. ostreatus* cultivado em substratos formulados com resíduos do desfibramento das folhas de sisal e processamento da fibra seca de sisal e com o tegumento da amêndoa do cacau: S1 = 93,5% de MRPS e 2,5% de TAC; S2=91% de MRPS e 5% de TAC; S3= 86% de MRPS e 10% de TAC; S4= 76% de MRPS e 20% de TAC; S5= 56% de MRPS e 40% de TAC. Em 15 dias de incubação.

Parâmetros de avaliação da produção

Os substratos foram totalmente colonizados pelo *P. ostreatus* entre o 16º e 18º dia após a inoculação e a formação dos primórdios teve início entre o 19º e 21º dia após a inoculação (Tabela 2).

Tabela 2. Corrida micelial (CM), início da formação dos primórdios (IFP), número de cachos (Nº Cachos) e número de basidioma por cacho (Nº Basídios/Cacho) na produção de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos do processamento do sisal e diferentes concentrações de tegumento da amêndoa do cacau.

Substratos	CM (dias)	IFP (dias)	Nº Cachos	Nº Basidioma/Cacho
S1	18,0a	20,0a	18,0a	12,0a
S2	17,0a	20,0a	16,0a	12,0a
S3	17,0a	20,0a	16,0a	11,0a
S4	16,0a	19,0a	16,0a	11,0a
S5	18,0a	21,0a	18,0a	13,0a
CV (%)	6,0	6,0	21,0	21,0

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

O ciclo completo de produção de *P. ostreatus* foi em média de 45 dias para todos os substratos avaliados. O número de cachos e de basidioma por cacho não apresentaram diferença significativa em função dos substratos de cultivo utilizados (Tabela 2).

Estudos com diferentes substratos formulados com palha de arroz, de trigo e fibra de coco demonstraram a colonização total dos substratos por diferentes espécies de *Pleurotus* no período de 15 a 24 dias após inoculação (Chanakya et al. 2015 e Figueiró et al. 2011). Os mesmos autores verificaram o início da formação de primórdios entre o 20º e 30º dia após a inoculação. Koutrotsios et al. (2014) relataram valores superiores a 26 dias para a formação de primórdios de *Pleurotus ostreatus* em substratos formulados com subprodutos agroindustriais e florestais. De acordo com Reis et al. (2010), espécies de *Pleurotus* adaptadas ao substrato de cultivo necessitam em média de 15 a 30 dias para a colonização do substrato e de 5 a 10 dias após a colonização, para a emissão dos primórdios.

Os substratos formulados com os resíduos de sisal e o tegumento de amêndoa de cacau permitiram uma boa colonização e formação de primórdios, que são fases essenciais para uma boa produção de cogumelos (Zhang et al., 2014; Hoa e Wang, 2015). A seleção de substratos que possibilitem um rápido crescimento e desenvolvimento micelial é uma das etapas mais importantes para a produção de cogumelos (Albuquerque et al., 2012) e isto foi observado nos substratos formulados com os resíduos de sisal e o tegumento da amêndoa de cacau, com um período médio de 17 dias para colonização do substratos e mais 3 dias para emissão dos primórdios.

Na avaliação dos parâmetros de produção do *P. ostreatus*, o substrato S4 (76% de MRPS e 20% de TAC) proporcionou os maiores valores de eficiência biológica (113%) e rendimento (307.7 g kg⁻¹) (Figura 3). As demais formulações também apresentaram bons resultados em termos de eficiência biológica e rendimento. Os substratos S3 e S5 apresentaram uma média de 100% de eficiência biológica e 273.8 g kg⁻¹ no rendimento e os substratos S1 e S2 proporcionaram uma média para eficiência biológica de 87.2% e os valores de 252.8 g kg⁻¹ e 221.9 g kg⁻¹ respectivamente para rendimento (Figura 3 A, B).

Raymond et al. (2013) obtiveram uma eficiência biológica inferior com 62.9% no cultivo de *Pleurotus* sp. em substratos formulados com resíduos da

folha e do tronco de sisal, suplementados com esterco de vaca. Sofi et al. (2014) observaram valores inferiores de 78% para eficiência biológica, utilizando como matéria prima raspas de madeira e palha de trigo para o cultivo de *P. ostreatus*.

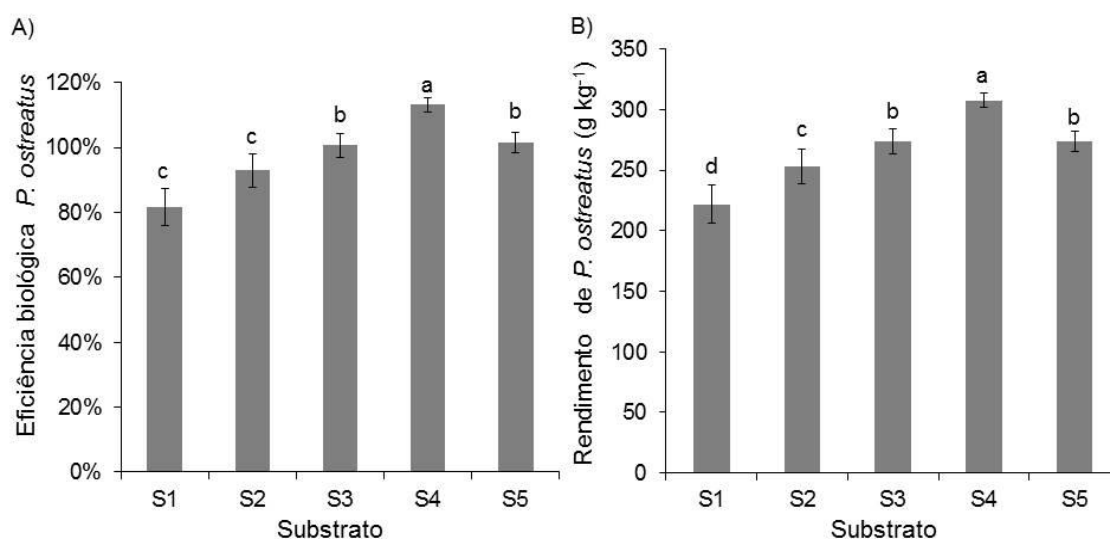


Figura 3. Avaliação da produção do *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos do processamento da fibra do sisal e diferentes concentrações de tegumento da amêndoa do cacau. (A) eficiência biológica e (B) Rendimento.

A eficiência biológica depende essencialmente das características físicas e químicas do substrato, de boas condições ambientais no ciclo de cultivo e do número de colheitas (Aguilar-Rivera et al., 2012). No presente trabalho, o ciclo de produção foi de 45 dias, com três colheitas de cogumelos proporcionando valores de eficiência biológica acima de 100%. Os substratos formulados com os resíduos da cadeia produtiva do sisal e o tegumento da amêndoa do cacau possibilitaram a produção de basidiomas de *P. ostreatus*, com eficiência biológica acima de 100%, sem a necessidade de suplementação adicional com farelos de soja, milho ou trigo. Os produtores de cogumelos vêm buscando novas alternativas para a redução dos custos de produção, aumentando a eficiência biológica, ou seja, produzindo maior quantidade de cogumelos com menos matéria prima (Royse, 2010). No presente trabalho demonstrou-se que os substratos formulados são promissores para a produção de cogumelos comestíveis.

Mangat et al. (2008) relataram que normalmente os materiais lignocelulósicos apresentam baixos teores de proteína, sendo necessária a suplementação com o objetivo de disponibilizar nitrogênio, fósforo e potássio e,

consequentemente, aumentar a produção de basidiocapos. A suplementação é uma etapa essencial para o cultivo e aumento da produção de *P. ostreatus*. No entanto, essa suplementação não deve ser alta, pois pode reduzir a eficiência biológica e o rendimento, além de aumentar os riscos de contaminações (Yildiz et al., 2002; Estrada et al., 2009; Fanadzo et al., 2010). Shen e Royse (2002) e Alam et al. (2010) observaram que o acréscimo de farelo de trigo e milho em pó, em até 30% como suplementação, aumenta a produção de cogumelos, mas concentrações superiores apresentam um efeito negativo na qualidade dos cogumelos e na eficiência biológica.

A relação C/N do resíduo utilizado para o cultivo de espécies de *Pleurotus* é de extrema importância, por interferir diretamente na colonização do substrato e na produção dos cogumelos (Philippoussis et al., 2001). Os resultados de eficiência biológica e rendimento deste trabalho podem estar relacionados com o aumento na relação C/N dos substratos de cultivo, em função da suplementação com o tegumento da amêndoa de cacau (Tabela 3). Os resultados máximos para eficiência biológica e rendimento foram obtidos com o substrato S4 que apresenta 20% de TAC e uma relação C/N de 28/1 (Tabela 3), dentro da faixa relatado por Eira (2004). Além disso, outros fatores devem ser considerados como granulometria, capacidade de retenção de água e substâncias químicas existentes no vegetal de origem, usado na formulação do substrato.

Inúmeros parâmetros são utilizados para avaliar e selecionar resíduos agroindustriais para o cultivo de cogumelos, mas a eficiência biológica é o mais utilizada, por indicar a produção de cogumelos frescos por quilo de substrato seco. A eficiência biológica obtida no presente trabalho foi superior aos valores encontrados na literatura para a produção de *P. ostreatus*, o que evidencia o elevado potencial que estes resíduos oriundos das cadeias produtivas do sisal e de cacau apresentam para a produção deste cogumelo.

Análise centesimal do substrato de cultivo

As análises centesimais dos substratos de cultivo estão apresentadas na tabela 3. Em relação à matéria seca, os substratos S1 e S2 apresentaram os maiores teores, com o valor médio de 31g. Os substratos S3, S4 e S5 apresentaram um valor médio de 28.8g. Com relação à matéria mineral, os

substratos S1, S2 e S3 apresentaram teores entre 20.9g a 21.2g e os substratos S4 e S5 apresentaram valores médios de 18.1g e 19.0g, respectivamente (Tabela 3).

Para proteína bruta, os substratos S1 e S2 apresentaram os maiores valores com 6.7% e 6.3%, respectivamente, e não diferiram estatisticamente. No entanto, houve diferença quando comparados com os substratos S3, S4 e S5 que apresentaram valores de 5.2%, 5.5% e 6.1%, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), lipídios, proteína bruta (PB), carboidratos, celulose, hemicelulose, lignina e relação C/N dos substratos formulados com resíduos do processamento do sisal com diferentes concentrações de tegumento da amêndoa do cacau, para o cultivo de *P. ostreatus* (g em 100 g de matéria seca, média \pm desvio padrão, n = 5).

Constituintes	Substratos					CV%
	S1	S2	S3	S4	S5	
MS	31,1 \pm 0,18a	31,1 \pm 0,05a	29,3 \pm 0,11b	29,1 \pm 2,12b	28,0 \pm 0,40b	0,30
MM	20,9 \pm 3,80a	21,2 \pm 2,10a	21,1 \pm 2,30a	18,1 \pm 5,30b	19,0 \pm 4,40b	5,6
PB	6,7 \pm 0,79a	6,3 \pm 0,94a	5,2 \pm 0,71b	5,5 \pm 0,47b	6,1 \pm 0,35b	11,3
Lipídios	0,42 \pm 0,14b	0,4 \pm 0,16b	0,52 \pm 0,04a	0,55 \pm 0,05a	0,60 \pm 0,04a	14,3
Carboidrato	24,3 \pm 2,79b	25,6 \pm 0,86b	25,7 \pm 2,29b	28,7 \pm 1,91a	27,4 \pm 1,21a	13,60
Hemicelulose	7,8 \pm 1,70a	5,5 \pm 2,70a	7,1 \pm 1,80a	7,8 \pm 3,10a	6,8 \pm 1,50a	24,9
Celulose	23,9 \pm 9,90a	23,5 \pm 9,50a	21,5 \pm 7,70a	21,7 \pm 7,70a	22,7 \pm 8,70a	16,5
Lignina	16,0 \pm 4,20a	17,1 \pm 3,20a	18,6 \pm 2,20a	17,6 \pm 2,70a	17,1 \pm 3,10a	8,5
Relação C/N	22,3 \pm 1,80b	24,6 \pm 3,50b	28,3 \pm 3,50a	28,8 \pm 1,13a	25,1 \pm 3,60b	7,4

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os teores de lipídeos encontrados nos substratos S3, S4 e S5 foram entre 0.52 g e 0.60 g e diferiram dos S1 e S2 com 0.42 g e 0.40 g, respectivamente. Em relação aos teores de carboidratos, os substratos S4 e S5 apresentaram os maiores valores, com 28.7% e 27.4% e não diferiram entre si, mas em comparação com os substratos S1, S2 e S3, estes diferiram significativamente (Tabela 3).

Os teores de celulose, hemicelulose e lignina não diferiram entre os substratos, variando respectivamente entre 5.5% a 7.8%, 21.5 a 23.9 e 16% a

18.6% (Tabela 3). O aumento na concentração do TAC na formulação dos substratos não influenciou nos teores de celulose, hemicelulose e lignina.

Para a relação C/N, os substratos S3 e S4 apresentaram os maiores valores com 28.3/1 e 28.8/1, diferindo dos substratos S1, S2 e S5 que apresentaram os menores valores de 22.3/1, 24.6/1 e 25.1/1, respectivamente (Tabela 3). Todos os substratos apresentaram valores de relação C/N dentro da faixa ideal relatada por Eira (2004) que é de 20 a 50/1 em substrato para o cultivo axênico.

A relação C/N do substrato é um fator essencial no cultivo de espécies do gênero *Pleurotus*, devido à sua influência tanto na colonização do substrato, quanto na produção de cogumelos (Figueiró e Gracioli, 2011). Os mesmos autores obtiveram maiores valores de eficiência biológica com os resíduos de palha de arroz (90.4%) e palha de feijão (89.2%) com a relação C/N respectivamente de 44.2/1 e 46.2/1.

Foi realizada uma análise de correlação, a qual indicou correlação significativa entre a composição química das diferentes formulações dos substratos e os parâmetros de produção. Observou-se correlação negativa ($p > 0,05\%$) entre o teor de proteína e as variáveis eficiência biológica e rendimento, assim como para a relação C/N e o crescimento micelial (Tabela 4). Para a relação C/N e as variáveis de eficiência biológica e rendimento, houve correlação positiva ($p > 0,05\%$) como também entre teor de proteína e o crescimento micelial. Não foram visualizadas correlações significativas entre os demais parâmetros de produção e as variáveis avaliadas (tabela 4).

A literatura relata que os cogumelos necessitam de um equilíbrio no substrato quanto a relação C/N. De acordo com Urban (2004a), a relação C/N é uma condição importante para o cultivo de cogumelos, entretanto, a maior disponibilidade de nitrogênio do que de carbono proporciona o supercrescimento do micélio e a inibição da formação dos basidiomas.

Tabela 4. Correlação de Pearson (R) entre os parâmetros de produção (Eficiência biológica (EB), Rendimento, Corrida micelial (CM) e Início da Formação dos Primórdios (IFP) e os teores de proteína, lignina, hemicelulose, celulose e relação C/N dos substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus*).

Parâmetros	Proteína	Lignina	Hemicelulose	Celulose	Relação C/N
EB	(-0.604*)	(-0,330 ^{ns})	(-0.091 ^{ns})	(+0.310 ^{ns})	(+0.618*)
Rendimento	(-0.600*)	(-0,220 ^{ns})	(-0.110 ^{ns})	(+0.300 ^{ns})	(+0.608*)
CM	(+0.593*)	(-0,348 ^{ns})	(-0.010 ^{ns})	(+0.220 ^{ns})	(-0.641*)
IFP	(+0.383 ^{ns})	(-0,099 ^{ns})	(-0.101 ^{ns})	(+0.118 ^{ns})	(-0.288 ^{ns})

ns- Não significativo e * Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade; + Correlação positiva, - Correlação negativa; EB = Eficiência Biológica; CM = Corrida Micelial; IFP= Início da formação dos primórdios.

Análises Centesimal dos corpos de frutificação de *P. ostreatus*

A avaliação das características nutricionais dos cogumelos produzidos em resíduos agroindustriais é extremamente importante, tendo em vista a grande diversidade e a influência desses resíduos no valor nutricional dos basidiomas. As principais propriedades físico-químicas dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzido nos substratos com resíduos do processamento do sisal com diferentes concentrações de tegumento da amêndoa do cacau estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Teores de Umidade (UM), Matéria Mineral (MM), Lipídios, Proteína bruta (PB), Fibra e carboidratos dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos em substratos a base de resíduos do processamento do sisal com diferentes concentrações de tegumento da amêndoa do cacau (g em 100 g de matéria seca, média \pm DP, n = 5).

Substratos	UM	MM	Lipídios	PB	Fibra	Carboidrato
S1	95,1 \pm 0,43a	7,8 \pm 1,61c	1,03 \pm 0,18b	24,3 \pm 2,16a	7,93 \pm 0,46a	58,7 \pm 2,16b
S2	94,9 \pm 0,57a	8,2 \pm 1,27c	1,16 \pm 0,05b	21,1 \pm 1,18a	6,88 \pm 0,67b	62,6 \pm 3,18a
S3	95,4 \pm 0,37a	11,3 \pm 1,81a	1,20 \pm 0,11b	21,7 \pm 1,35a	7,40 \pm 0,25b	58,3 \pm 1,03b
S4	97,2 \pm 3,36a	10,1 \pm 1,06b	1,21 \pm 0,10b	22,9 \pm 1,41a	8,26 \pm 0,82a	58,4 \pm 2,27b
S5	95,0 \pm 0,53a	9,8 \pm 0,44b	1,51 \pm 0,29a	22,3 \pm 1,61a	7,29 \pm 0,91b	59,0 \pm 2,01b
CV	0,80	8,93	11,52	9,14	9,02	3,41

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os teores de umidade e proteína dos cogumelos produzidos em substratos com resíduos do processamento da fibra de sisal com diferentes concentrações de tegumento da amêndoa do cacau não foram afetados. Os teores de matéria mineral, lipídeos, fibra e carboidratos sofreram interferência (Tabela 5). No entanto, essas alterações estão dentro do intervalo de valores encontrado por diversos autores para cogumelos dessa espécie cultivados em resíduos agroindustriais.

Fernandes et al. (2015) avaliando a composição nutricional dos basidiomas de *P. ostreatus* cultivados em substratos formulado com papel branco e papel impresso obtiveram teores inferiores para umidade (90.3% a 91.0%) e proteína (9.7% a 9.3%), teores superiores para carboidratos (73.2% a 78.9%) e matéria mineral (15.9% a 10.5%) e teores similares para lipídeos (1.2 g a 1.7 g). Wang et al. (2015) avaliaram na produção de *P. ostreatus* em substrato formulado com diferentes concentrações de substratos residuais da produção do cogumelo *Hypsizygus marmoreus* e obtiveram valores superiores de proteína (27.8% a 34.9%), de lipídios (1.9% a 2.3%) e fibra bruta (30.2% a 35.3%) e inferiores de carboidratos (20.7% a 27.3%) e matéria mineral (5.5% a 6.6%). Segundo Kalač (2013), os teores de umidade de cogumelos selvagens e cultivados são muito elevados, variando geralmente entre 86% a 92%. Akindahunsi e Oyetayo (2006) relatam que espécies do gênero *Pleurotus* normalmente apresentam baixos teores de lipídeos.

Koutrotsios et al. (2014) encontraram um teor de 14.6% de proteína em cogumelos produzidos em substrato de palha de trigo, que é um substrato comumente utilizado para produção comercial de cogumelos. De acordo com Michael et al. (2011), os teores de proteína e de outros nutrientes dos corpos de frutificações podem variar de acordo com o resíduo a ser utilizado para seu cultivo. Além disso, os substratos também apresentam influência sobre as características químicas, sensoriais e funcionais dos cogumelos (Oyetayo e Ariyo, 2013).

CONCLUSÃO

Os substratos formulados com resíduos do desfibramento de folhas de sisal e do beneficiamento da fibra seca de sisal e suplementados com diferentes concentrações de tegumento da amêndoa de cacau são adequados para o cultivo de *P. ostreatus* por proporcionarem uma rápida colonização, alta eficiência biológica, alta produtividade e alto rendimento.

A combinação de 76% da mistura dos resíduos do desfibramento de folhas de sisal e do beneficiamento das fibras secas de sisal, na proporção 70/30, suplementado com 20% de tegumento da amêndoa do cacau é a formulação mais adequada para compor o substrato de cultivo de *P. ostreatus*, proporcionando uma eficiência biológica de 113% e um rendimento de 307.7 g kg⁻¹ cogumelos, com baixos teores de lipídeos e elevado teor proteico.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L.D.; MARINO, R.H.; MESQUITA, J.B.; RIBEIRO, G.T. Degradação da madeira de *Eucalyptus* sp. por basidiomicetos de podridão branca. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.74, n. 4, p.321-328, 2007.
- AKINDAHUNSI, A.A; OYETAYO, F.L. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotustuber-regium* (fries) singer. LWT Food Sci Tech, v. 39, p. 548 – 553, 2006.
- ALBUQUERQUE, M.P.; PEIL, R.M.N.; Nascimento, J.S. Crescimento micelial de *Lentinus sajor caju* (Fr.) Fr. E *Pleurotus* spp. em diferentes resíduos agrícolas. Biosci. J., Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 895-902, 2012.
- AGUILAR-RIVERA, N.; MORAN, A.C.; LAGUNES, A.D.R.; GONZALEZ, J.M. Production of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) grown on sugar cane biomass (trash, bagasse and pith). Mushrooms: Types, Properties and Nutrition, Nova Science Publishers, Inc., p. 77-103, 2012.
- ALAM, N.; AMIN, R.; KHAIR, A.; LEE, T.S. Influence of different supplements on the commercial cultivation of milky white mushroom. Mycobiology., v. 3, p. 184–188, 2010.

- ANDRADE, R.; ORNELAS, J.; BRANDÃO, W. Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. Comunicação SEAGRI, v. 1, p. 14-19, 2012.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: W. Horwitz (Ed.). Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- AZEVÊDO, J.A.G.; VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; VALADARES, R.F.D.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; DINIZ, L.L.; FERNANDES, H.J. Consumo, digestibilidade total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas para ruminantes de subprodutos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.63, n.1, p.114-123, 2011.
- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.M.; FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. Food Chemistry, v. 88, 3, p. 425-428, 2004.
- BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; MAZIEIRO, R.; TRUFEM, S.F.B. Cultivo de Cogumelos Comestíveis. Ícone. São Paulo, Brazil, p. 206, 1999.
- CARMO, D.L.; SILVA, C.A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 36, p. 1211-1220, 2012.
- CARVALHO, C.S.M.; AGUIAR, L.V.; SALES-CAMPOS, C.; ALMEIDA MINHONI, M.T.; ANDRADE, M.C. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. Braz. J. Microbiol., p. 819–826, 2012.
- CHANAKYA, H.N.; MALAYIL, S.; VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agroresidues. Energy for Sustainable Development, v. 27, p. 84-92, 2015.
- CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). Sisal 2015: Retrospectiva. Disponível em:http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/sisal__conjuntura_especial_retrospectiva_2015-1.pdf. Acesso em 18 de Fevereiro, 2016.
- CONDÉ, V. F.; OLIVEIRA, J. E. Z.; OLIVEIRA, D.M. F. Farinha de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (cogumelo Hiratake) enriquecido em ferro. Ciência e Natura. v.39. p. 01 – 06. 2017.

- CORRÊA, R.C.G.; BRUGNARI, T.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M.; FERREIRA, I.C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*, v. 50, p. 103 - 117, 2016.
- DIAS, A.B.; CUNHA, A.L.; SILVA, A.O.; OLIVEIRA, I.F. Potencial De Indicação Geográfica Do Sisal Na Bahia. *Cadernos de Prospecção*, v. 8, n. 1, p. 174, 2015.
- DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Efeito da suplementação com farelos no crescimento in vitro de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante (*Pennisetum* spp.). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 73, n. 3, p. 303-309, 2006.
- EIRA, A.F. Fungos comestíveis. In: ESPÓSITO, E.; Azevedo, J.L. (Ed.). *Fungos uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: Educs, Cap.12, p.379-448. 2004
- ESTRADA, A.E.R.; JIMENEZ-GASCO, M.D.; ROYSE, D.J. Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var *eryngii* by substrate supplementation and use of a casing overlay. *Bioresour. Biotechnol.*, v. 100, p. 5270–5276, 2009.
- FANADZO, M.; ZIREVA, D.T.; DUBE, E.A; MASHINGAIDZE, B. Evaluation of various substrates and supplements for biological efficiency of *Pleurotus ostreatus sajour-caju* and *Pleurotus ostreatus*. *Afr. J. Biotechnol.*, v. 9, p. 2756–2761, 2010.
- FERNANDES, Â.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I.C. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. *Food chemistry*, v. 169, p. 396-400, 2015.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIRÓ, G.G.; GRACIOLLI, L.A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.
- FONSECA, T.R.B.; BARRONCAS, J.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da

- floresta amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 08, p. 1227-1236, 2014.
- GERN, R.M.M.; WISBECK, E.; RAMPINELLI, J.R.; NINOW, J.L.; FURLAN, S.A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. Bioresource Technology, v. 99, n. 1, p. 76-82, 2008.
- GOMES, D.; AKAMATSU, I.; SOUZA, E.; FIGUEIREDO, G. J. B. CENSO PAULISTA DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E MEDICINAIS. Pesquisa & Tecnologia. v. 13. n. 1. 2016.
- HOA, H.T.E; WANG, C.L. Effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). Mycobiology, v. 43, p. 14-23. 2015.
- IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro, v. 29, p. 1-83, 2015.
- INPA - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. <http://portal.inpa.gov.br/portal/index.php/ultimas-noticias/914-simposio-internacional-sobre-cogumelos-debate-meios-de-tecnologia-e-producao-para-viabilizar-a-comercializacao>. Acesso em: 20 de agosto de 2017
- KALAČ, P.A. review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 93, p. 209-218, 2013.
- KOUTROTSIOS, G.; KONSTANTINOS, C.M.; IORDANIS, C.; GEORGIOS, I.Z. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi- Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. Food chemistry, v. 161, p. 127-135, 2014.
- MANGAT, M.; KHANNA, P.; KAPOOR, S.; SOHAL, B.S. Biomass and extracellular lignocellulolytic enzyme production by *Calocybe indica* strains. Global J. Biotechnol. Biochem., v. 3, p. 98–104, 2008.
- MICHAEL, H.W.; BULTOSA, G.; PANT, L.M. Nutritional contents of three edible oyster mushrooms grown on two substrates at Haramaya, Ethiopia, and sensory properties of boiled mushroom and mushroom sauce. International Journal Food Science. Technology., v. 46 , p. 732–738., 2011.

- MORORÓ, R.C. Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau. III Congresso brasileiro do cacau “inovação tecnológica e sustentabilidade”. Ilhéus-BA, Novembro, 2012.
- OYETAYO, V.O.; ARIYO O.O. Micro and macronutrient properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Wood Substrates. Jordan Journal of Biological Sciences, v. 6, p. 223–226, 2013.
- PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 73, n. 2, p. 219-225, 2006.
- PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversion of agricultural lignocelullosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvaceae* and *Pleurotus* spp. World Journal of Microbiology & Biotechnology, Oxford, v.17, p.191-200, 2001.
- RAYMOND, P.; MSHANDETE, A.M.; KIVAISI, A.K. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* HK-37) on solid sisal waste fractions supplemented with cow dung manure. Journal of Biology and Life Science, v. 4, p. 273-286, 2013.
- REIS, M.F.; DUCCA, F.; FERDINANDI, D.M.; ZONETTI, P.C.; ROSADO, F.R. Análise se substrates alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida*. Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, v.3, n. 2, p. 79-91, 2010.
- RIBEIRO, B.D.; BARRETO, D.W.; COELHO, M.A.Z. Use of micellar extraction and cloud point preconcentration for valorization of saponins from sisal (*Agave sisalana*) waste. Food and Bioproducts Processing, v. 94, p. 601-609, 2015.
- ROYSE, J.D. Effect of fragmentation, supplementation and the addition of phase 2 compost to 2nd break compost on mushroom (*Agaricus bisporus*) yield Bioresour Technol, v. 10, p. 188–192, 2010.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. Biometrics, v. 30, p. 507-512, 1974.
- SILVA, R.B.; FONTES, C.M.A.; LIMA, P.R.L.; GOMES, O.F.M.; LIMA, L.G.L.M.; MOURA, R.C.A.; TOLEDO FILHO, R.D. Cinzas de biomassa geradas na

- agroindústria do cacau: caracterização e uso em substituição ao cimento. *Ambiente Construído*, Porto Alegre, v. 15, n. 4, p. 321-334, 2015.
- SHEN, Q.; ROYSE, D.J. Crop cycle time, yield and quality of maitake *Grifola frondosa* as influenced by nutrient supplements. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Sanchez et al. (Eds.), UAEM, 2002.
- SOFI, B.; AHMAD, M.; KHAN, M. Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. *African Journal Microbiology Research.*, v. 8, p. 1474-1479, 2014.
- SOUSA, M.F.; SILVA, M.N.B.; ALVES, I.; SILVA, J.C.A.; COSTA, L.B. Aproveitamento da mucilagem de sisal na alimentação animal. *Campina Grande: Embrapa Algodão, Documentos*, p. 27, 2008.
- URBEN, A. F. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004.
- VALVERDE, M.E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*, v. 1, p. 14, 2015.
- WANG, S.; XU, F.; LI, Z.; ZHAO, S.; SONG, S.; RONG, C.; LIU, Y. The spent mushroom substrates of *Hypsizygus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Scientia Horticulturae*, v. 186, p. 217-222, 2015.
- YILDIZ, S.; YILDIZ, U.C.; GEZER, E.D.; TEMIZ, A. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochem.*, v. 38, p. 301–106, 2002.
- ZHANG, Y.; VENKITASAMY, C./ PAN, Z.; WANG, W. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms—a review. *Trends in food science & technology*, v. 33, n. 2, p. 78-92, 2013.
- ZHANG, R.Y.; HU, D.D.; MA, X.T.; LI, S.G.; GU, J.G.; HU, Q.X. Adopting stick spawn reduced the spawn running time and improved mushroom yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. *Scientia Horticulturae*, v. 175, p. 156-159, 2014.

ARTIGO 2***Pleurotus ostreatus* PRODUZIDO EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE
DENDÊ E CACAU**

²Artigo submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Revista Caatinga, em versão na língua inglesa.

***Pleurotus ostreatus* produzido em resíduos agroindustriais de dendê e cacau**

Autores: Rafael Mota da Silva; Carlos Artur Silva dos Santos; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

RESUMO: O *Pleurotus ostreatus* ou cogumelo ostra é o segundo cogumelo mais cultivado no mundo, devido às características nutricionais, gastronômicas e medicinais. Este fungo coloniza bem diversos resíduos agrícolas e agroindustriais. A produção agroindustrial no Brasil gera uma grande quantidade de resíduos que, em sua maioria, são descartados de maneira inadequada. No sul da Bahia destacam-se as culturas do cacau e dendê para a produção de chocolate e azeite de dendê. Visando dar um destino e agregar valor a esses resíduos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento micelial e produção do *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos do mesocarpo do fruto de dendê (MFD) e com o tegumento da amêndoa do cacau (TAC). Os substratos avaliados foram formulados com o MFD e o TAC nas seguintes proporções: S1- 86.4/9.6; S2-76.8/19.2; S3 - 67.2/28.8; S4 - 57.6/38.4 e S5- 48/48 (%), respectivamente, acrescidos de 3% de carvão e 1% de carbonato de cálcio. Foram avaliados o crescimento micelial vertical em substrato e a produção de cogumelos, com a avaliação da eficiência biológica, o rendimento e a composição nutricional dos cogumelos. O crescimento micelial vertical foi superior nos substratos S1, S2, S3 e S4. O substrato S2 apresentou os melhores resultados para eficiência biológica (148.8%) e rendimento (560.5g kg⁻¹). Os cogumelos produzidos nos diferentes substratos apresentaram valores satisfatórios quanto à composição nutricional. A produção de *P. ostreatus* em substrato composto por MFD e TAC representa uma alternativa para a utilização desses resíduos, com a possibilidade de geração de renda e de um alimento com elevado valor nutricional.

Palavras chave: cogumelo ostra; resíduo de cacau; resíduo de dendê, tegumento

Production of *Pleurotus ostreatus* with agricultural residues from oil palm fruit processing and cocoa almond tegument

Authors: Rafael Mota da Silva; Carlos Artur Silva dos Santos; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

ABSTRACT: *Pleurotus ostreatus* or oyster mushroom is the second most cultivated mushroom in the world, due to its nutritional, gastronomic and medicinal characteristics. This fungus colonizes several agricultural and agroindustrial residues. Agroindustrial production in Brazil generates a large amount of residues or subproducts that are disposed of mostly in inappropriate ways. In the south of Bahia state, Brazil, cacao and oil palm trees are important crops for the production of chocolate and palm oil. The objective of this work was to evaluate mycelium growth and *P. ostreatus* production in substrates formulated with oil palm fruit mesocarp residues (MFD) and with the tegument of the cocoa almond (TAC). The evaluated substrates were formulated with MFD and TAC in the following proportions: S1 - 86.4 / 9.6; S2 - 76.8 / 19.2; S3 - 67.2 / 28.8; S4 - 57.6 / 38.4 and S5 - 48 / 48 (%), respectively, with the addition of 3% powdered charcoal and 1% calcium carbonate. The vertical mycelium growth in the substrates and mushroom production were evaluated, as well as the biological efficiency, yield and the nutritional composition of the mushrooms. For vertical mycelium growth, substrates S1, S2, S3 and S4 were superior. Substrate S2 presented the highest results for biological efficiency (148.8%) and yield (560.5g kg⁻¹). The mushrooms produced in the different substrates presented satisfactory values regarding the nutritional composition. The production of *P. ostreatus* in substrate composed of MFD and TAC represents a good alternative for generating a source of income and high nutritional value food.

Keywords: Oyster mushroom; Cocoa residue; palm oil residue, tegument

INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Pleurotus* dão origem a cogumelos comestíveis importantes na alimentação e culinária mundial. Dentre as principais espécies de *Pleurotus* cultivadas e comercializadas, destaca-se o *P. ostreatus*. Este fungo pertence à classe *Basidiomycetes*, ordem *Agaricales* família *Pleurotaceae*, e é o segundo cogumelo mais cultivado em todo mundo, sendo conhecido popularmente como cogumelo ostra ou fungo da podridão branca (Pérez-Martínez et al., 2015).

Estes cogumelos têm sido estudados intensivamente em diversas partes do mundo devido aos valores gastronômicos, nutricionais e medicinais e, também pela rusticidade do seu cultivo e capacidade de colonizar diversos resíduos lignocelulósicos (Sánchez, 2010; Valverde et al., 2015; Corrêa et al., 2016).

A demanda por alimentos de qualidade e a preocupação com a poluição ambiental e a reutilização de resíduos agroindustriais tem aumentado a cada ano, e gerado o incentivo para as pesquisas na área de produção de cogumelos, a exemplo do desenvolvimento de técnicas de cultivo de cogumelos comestíveis nesses resíduos ou subprodutos (Paz et al., 2013). De fato, a produção de cogumelos comestíveis usando resíduos lignocelulósicos da agroindústria como substrato de cultivo tem se apresentado como uma excelente opção para a produção de um alimento muito valorizado em termos nutricionais e medicinais, e também como uma estratégia de proteção ao meio ambiente e conservação dos recursos naturais (Fonseca et al., 2014; Sofi et al., 2014).

Atualmente, vários resíduos são utilizados para a produção de substratos de cultivo para *P. ostreatus*, tais como: resíduos da folha e do tronco de sisal, espigas de milho, fibra de coco, casca de café, bagaço de cana de açúcar, bagaço de uva, casca de eucalipto, suplementados com farelos de soja e trigo (Raymond et al., 2013; Bento et al., 2014; Koutrotsios et al., 2014; Condé et al., 2017).

Na região sul da Bahia, duas grandes culturas possuem importância econômica e social: o dendê (*Elaeis guineenses* Jacq.) e o cacau (*Theobroma cacao* L.). A cultura do dendezeiro contribui de maneira significativa na economia do Brasil e do mundo. A produção mundial de cachos de dendê foi de

300.252.193 toneladas e a produção nacional em torno 1.647.417 toneladas em 2016 (FAO, 2016). O processamento dos frutos do dendezeiro gera diversos resíduos como a torta de palmiste, engaços, fibras da prensagem do mesocarpo (torta de dendê) e cascas. A fibra da prensagem do mesocarpo do fruto do dendê (MFD) representa 12% do montante (Rosa et al., 2010).

O cacau também tem importância para o cenário mundial e Brasileiro. A produção mundial de amêndoas de cacau foi de 4.466.574 t, e a do Brasil foi de 213.843 t em 2016, estando na 6^o posição do ranking mundial de produção de cacau (FAO, 2016). Somente no estado da Bahia são produzidas aproximadamente 162.096 toneladas de amêndoas por ano (IBGE, 2017). O resíduo gerado em maior quantidade na cultura do cacau é a casca do fruto. Durante o processamento industrial para obtenção do líquido (matéria-prima do chocolate) é produzido um resíduo denominado de tegumento da amêndoa do cacau (TAC), que é a casca da semente do cacau. Uma tonelada de amêndoa com 7% de umidade pode gerar de 80 kg a 120 kg de TAC após o processamento (Silva et al., 2015). Com isso, calcula-se que na Bahia em 2014 foram gerados aproximadamente 16,2 mil toneladas de tegumento de amêndoa de cacau. A casca do fruto vem sendo analisada para a produção de *Pleurotus* sp.

Estes resíduos agroindustriais (MFD e TAC) podem ser aproveitados como substratos lignocelulósicos para a produção de *P. ostreatus*, um cogumelo com elevado teor proteico e valor comercial, podendo representar uma oportunidade de geração de renda e alimento nas regiões produtoras de cacau e dendê. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento micelial e a produção de *P. ostreatus* em substratos com diferentes proporções do MFD e TAC.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos resíduos agroindustriais

O resíduo agroindustrial da cultura do dendê foi coletado em um rodão (sistema artesanal de beneficiamento do dendê), no município de Taperoá, Bahia. O resíduo agroindustrial da cultura do cacau foi disponibilizado pela empresa Barry Callebaut no município de Ilhéus, Bahia, onde ocorre o beneficiamento da amêndoa do cacau.

Ativação e manutenção do isolado

Foi utilizado o isolado *P. ostreatus* (Plo 02) pertencente à coleção de fungos do Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa - UFV. Este foi armazenado em tubos contendo o meio de cultura ágar batata dextrose (BDA, Acumedia®) a 4°C e foi reativado semestralmente. Para reativação da cultura, um fragmento do micélio de *P. ostreatus* foi transferido para o centro de uma placa de Petri contendo BDA e incubado durante 7 dias em B.O.D a 25°C.

Preparo do inóculo semente (*spawn*) de *P. ostreatus*

Grãos de sorgo foram submersos durante 2 horas em água potável e transferidos para uma peneira de plástico para drenagem do excesso de água. Esses grãos foram colocados em frascos de vidro de 200 mL (100g de grãos por frasco), os quais foram fechados com tampa metálica e esterilizados em autoclave a 121°C por 55 minutos. Após o resfriamento, cada frasco com grãos esterilizados recebeu três discos de (0,5 mm) da cultura do *P. ostreatus* retirados de culturas crescidas em placas de Petri com BDA, durante 7 dias em B.O.D a 25 °C. Os frascos foram incubados a 25°C por um período de 20 dias, na ausência de luz.

Formulação dos substratos de cultivo

Para formulação dos substratos foram utilizados o resíduo do mesocarpo do fruto do dendê (MFD) e o resíduo do tegumento da amêndoa do cacau (TAC). À mistura desses resíduos (Tabela 1) foram adicionados 3% de carvão moído e 1% de carbonato de cálcio (CaCO₃).

Tabela 1. Substratos formulados com os subprodutos do processamento do fruto de dendê (mesocarpo do fruto de dendê - MFD) e do processamento da amêndoa do cacau (tegumento da amêndoa de cacau - TAC), com carvão vegetal e carbonato de cálcio (CaCO₃).

Substratos	MFD	TAC	Carvão	CaCO ₃
S1	86.4%	9.4%	3%	1%
S2	76.8%	19.2%	3%	1%
S3	67.2%	28.8%	3%	1%
S4	57.6%	38.4%	3%	1%
S5	48%	48%	3%	1%

Crescimento micelial vertical de *P. ostreatus* em substrato

Para avaliação do crescimento de *P. ostreatus* nos substratos (Tabela 1), estes foram colocados em tubos de ensaio de 20 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro, até 12 cm do comprimento do tubo. Os tubos contendo os substratos foram fechados com tampão de algodão e papel manteiga e esterilizados em autoclave a 121°C por 55 minutos. Após esterilização, procedeu-se à inoculação com a transferência de 1g do inoculo semente (*spawn*) para superfície do substrato de cada tubo. Os tubos foram fechados com tampão de algodão e papel manteiga e foram incubados a 25±1°C, na ausência de luz.

Fez-se a avaliação do crescimento micelial vertical do fungo ao longo do substrato, por visualização a olho nu e medições da colonização do substrato ao longo do tubo, com régua milimetrada, em dias alternados. A avaliação de todos os tratamentos foi interrompida quando se observou que a colonização fungica do substrato em um dos tratamentos atingiu os 12 cm de profundidade do substrato. Foi avaliado o vigor micelial, classificado de acordo com o critério subjetivo de notas (nota 1 – fracamente adensado; nota 2 – mediamente adensado e nota 3 – fortemente adensado (Pedra, 2006).

Produção de *P. ostreatus*

Para a avaliação da produção de cogumelos foram utilizados os substratos descritos na tabela 1, os quais foram transferidos para sacos sanfonados de polipropileno com capacidade de 1 Kg e com filtro de papel para as trocas gasosas. Os sacos com os substratos foram esterilizados em autoclave a 121°C

por 55 minutos. Após o arrefecimento dos substratos, fez-se a inoculação com a transferência de 20 g do inoculo semente (*spawn*) de *P. ostreatus* na superfície do substrato. Os sacos foram fechados e transferidos para a câmara de incubação, na temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, até total colonização.

Após completa colonização do substrato, os sacos foram transferidos para a câmara de crescimento na estufa de produção de cogumelos, com sistema de nebulização e controle de temperatura e humidade. Os substratos colonizados foram inicialmente submetidos a um choque térmico, com a redução da temperatura do ambiente para 20°C , por meio do acionamento do sistema de nebulização três vezes durante o período noturno por 3 minutos. Em seguida, foram feitos 12 furos equidistantes por saco, com uma lâmina de bisturi, para a emissão dos primórdios. A umidade relativa do ar foi mantida entre 85% e 90% e a temperatura a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ na estufa, durante todo o período de produção de cogumelos.

As colheitas foram realizadas duas vezes ao dia, quando os cogumelos apresentavam uma conformação do píleo quase plana, sendo este o ponto de colheita dos cogumelos. Esses foram pesados e quantificados quanto ao número de cachos, de basídiomas, tamanho médio da estipe e diâmetro médio do píleo. Posteriormente foram colocados na estufa de ventilação forçada a 45°C para secagem, até obtenção de peso constante.

Foram analisadas as seguintes variáveis: eficiência biológica (EB) e rendimento (R) (Carvalho et al. 2012).

A EB foi calculada com a equação: $EB = \frac{MFC}{MSS} * 100$, sendo EB = Eficiência biológica (%), MFC = Massa fresca do cogumelo (g) e MSS = Massa seca do substrato (g).

O rendimento foi calculado com a equação: $R = \frac{MFC}{MFS}$, sendo R= Rendimento (g Kg^{-1}), MFC= Massa fresca do cogumelo (g) e MFS= Massa fresca do substrato (Kg).

Análise bromatológica dos substratos e dos cogumelos

As amostras dos substratos foram avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra

em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, de acordo com os métodos analíticos definidos pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al., 2012). O teor de carbono (C) para posterior cálculo da relação C/N foi analisado de acordo com Carmo e Silva (2012). O teor de fibra bruta dos cogumelos foi determinado pelo método gravimétrico, seguindo os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). O teor de nitrogênio (N) foi determinado pelo método de Micro-kjeldahl, conforme metodologia AOAC (1996) e o teor de carboidratos totais foi calculado por diferença (100 g – Fibras totais, proteínas, gorduras e cinzas).

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 repetições. Os dados foram analisados por ANOVA e pelo agrupamento de medias Scott-Knott (1974) à 5% de probabilidade, com o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os teores de matéria mineral, proteína, hemicelulose, celulose, lignina, e relação C/N encontrados nos resíduos utilizados para a formulação dos substratos estão descritos na Tabela 2. Estes teores estão dentro dos valores encontrados em resíduos utilizados comumente na produção de cogumelos, sendo similares aos encontrado por Figueiró et al. (2011), em substrato composto por palha de arroz e palha de trigo.

Tabela 2. Teores de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), hemicelulose, celulose, lignina e relação C/N dos resíduos e do carvão vegetal utilizados na formulação do substrato para o cultivo de *P. ostreatus*.

Bromatologia	Constituintes dos substratos		
	MFD	TAC	Carvão
	(%)		
MM	6.3	11.4	10.7
PB	7.6	12.8	6.9
Hemicelulose	15.8	8.9	2.2
Celulose	30.1	15.4	7.6
Lignina	11.2	21.7	66.1
Relação C/N	42.5	13.5	45.2

MFD= Mesocarpo do fruto de dendê, TAC = tegumento da amêndoa do cacau.

Crescimento micelial vertical de *P. ostreatus*

O crescimento micelial vertical de *P. ostreatus* nos substratos formulados evidencia o potencial destes para o crescimento do fungo.

Os substratos S1, S2, S3 e S4 proporcionaram velocidades semelhantes de crescimento micelial (0.8 cm dia^{-1}), necessitando de 15 dias para total colonização dos 12 cm de substrato nos tubos. O substrato S5 proporcionou um crescimento diário de 0.73 cm dia^{-1} e colonizou 10.95 cm do substrato nos 15 dias de incubação (Figura 1).

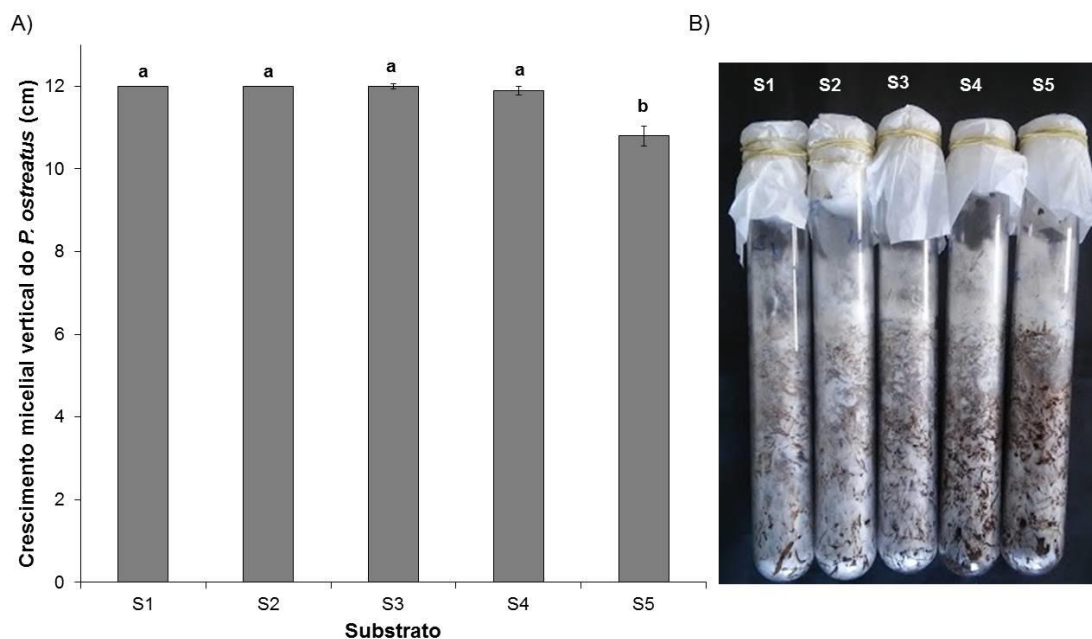


Figura 1: A) Crescimento micelial vertical de *P. ostreatus* nos substratos. (B) Visão geral do crescimento micelial vertical de *P. ostreatus* nos substratos. Os substratos foram formulados com diferentes concentrações de resíduo do mesocarpo do fruto do dendê (MFD) e tegumento da amêndoa de cacau (TAC). (S1) 86.4% de RFD e 9.6% de TAC; (S2) 76.8% de RFD e 19.2% de TAC; (S3) 67.2% de RFD e 28.8% de TAC; (S4) 57.6% de RFD e 48% de TAC e (S5) 48% de RFD e 48% de TAC, com 15 dias de incubação a 25°C.

A taxa de crescimento micelial de 1.08 cm dia⁻¹ foi relatada por Carvalho et al. (2013) com *P. ostreatus* em resíduos de bananeira. Marino (2008) observou valores de 0.63 e 0.67 cm dia⁻¹ no cultivo de diferentes isolados de *P. ostreatus* em serragem de casca de coco. O crescimento micelial é uma etapa inicial importante na produção de cogumelos, pois nessa etapa são verificadas se as condições de cultivo são adequadas ao crescimento. Pokhrel et al., (2013) indicam que o acompanhamento do crescimento micelial é uma fase vital para o sucesso no cultivo de cogumelos.

Após o 15º dia da inoculação foi avaliado e classificado o vigor micelial do *P. ostreatus* utilizando os seguintes critérios subjetivos de notas: nota 1 – fracamente adensado; nota 2 – mediamente adensado e nota 3 – fortemente adensado, conforme descrito por Pedra (2006). Os substratos S1, S2 e S3 foram classificados com nota 3 (fortemente adensado), diferentemente dos substratos

S4 e S5 que foram classificados como do tipo 2 (mediamente adensado) (Figura 1B).

Marino (2008) obteve um vigor micelial mediamente adensado de *P. ostreatus* em serragem de casca de coco. O autor ressalta que a produção de cogumelos depende tanto de uma rápida colonização como da formação de micélio vigoroso, o que foi evidenciado no presente trabalho para os substratos S1, S2 e S3 (Figura 1B). Jonathan et al. (2008) e Donini et al. (2005) ainda destacam que o rápido crescimento micelial é extremamente importante, uma vez que diminui a possibilidade de contaminação e o crescimento de outros organismos competidores.

A velocidade de crescimento micelial e a colonização do substrato estão diretamente relacionados com a composição nutricional e a granulometria do substrato, a concentração de O₂, a temperatura e o potencial genético do fungo (Minotto et al., 2014; Sofi et al., 2014; Hoa e Wang, 2015). Os diferentes substratos formulados com o resíduo composto pelo mesocarpo do fruto de dendê e com o tegumento de amêndoa de cacau apresentaram boa aeração devido a sua granulometria influenciando de forma positiva o crescimento micelial. Zhu et al. (2017) relatam que a porosidade do resíduo de dendê permite a translocação de nutrientes, água e a fácil colonização por fungos. Os trabalhos de Pedra, Marino (2006) e Donini et al. (2006) relatam que resíduos que dispõem de partículas de menores dimensões podem interferir nas trocas gasosas e comprometer a velocidade de colonização do substrato.

Produção de cogumelos

Todos os substratos apresentaram um rápido crescimento micelial de *P. ostreatus*, atingindo a completa colonização no 14º dia após a inoculação. Em substratos formulados com bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) enriquecidos com diferentes concentrações de Fe, o *P. ostreatus* colonizou completamente os substratos, 20 dias após a sua inoculação (Condé et al. (2017)). Para espécies do gênero *Pleurotus* adaptadas ao substrato de cultivo, a colonização total do substrato ocorre entre o 15º e 30º dias após a inoculação e a emissão dos primórdios entre o 5º e 10º dias após a colonização (Reis et al., 2010). A emissão dos primórdios ocorreu no 17º dia após a inoculação, o que é

considerado precoce, quando comparados com os valores relatados na literatura. A formação de corpos de frutificação de *Pleurotus* spp cultivados em palha de arroz e outros substratos ocorreu entre o 20º e 30º dias após a inoculação (Chanakya et al., 2015).

A eficiência biológica e o rendimento de *P. ostreatus* cultivado nos diferentes substratos foram elevados, variando entre 92.7% a 148.8% para eficiência biológica (EB) e 349.3 g kg⁻¹ a 560.5 g kg⁻¹ para o rendimento (Figura 2). Koutrotsios et al. (2014) encontraram valores inferiores de EB para *P. ostreatus* cultivado em substratos compostos por espigas de milho e por palha de trigo, com valores de EB de 52.82% e 66.93% e rendimentos de 119g kg⁻¹ e 165.7g kg⁻¹, respectivamente. Resíduos de folhas e troncos de sisal, suplementados com diferentes concentrações de esterco de vaca, apresentaram valores inferiores para eficiência biológica (62.9%) e rendimento (188.64g kg⁻¹) (Raymond et al., 2013).

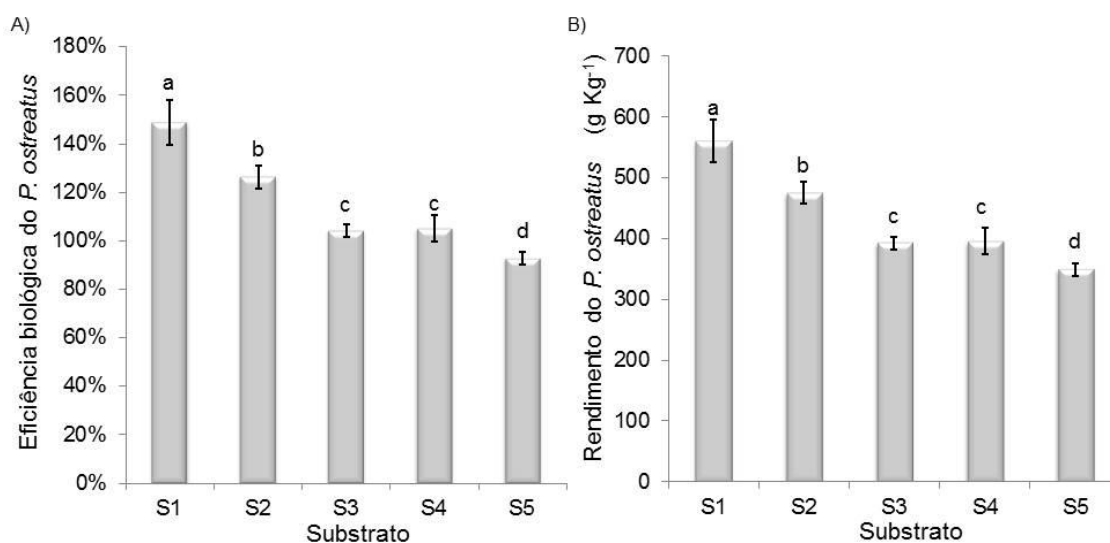


Figura 2. (A) Eficiência biológica e (B) Rendimento de *P. ostreatus* cultivado em diferentes concentrações de subproduto do mesocarpo do fruto do dendê e tegumento da amêndoa de cacau em 31 dias de colheita.

Segundo Aguilar-Rivera et al. (2012), as características nutricionais do substrato e as condições ambientais do processo de cultivo influenciam diretamente na eficiência biológica e rendimento. Os expressivos resultados

alcançados neste estudo, com relação à eficiência biológica e rendimento, indicam que todas as formulações testadas com RFD e o TAC são adequadas para o cultivo de *P. ostreatus*. O substrato S1, com a formulação contendo 86.4% de RFD e 9.6% de TAC apresentou os melhores resultados, sendo esta a indicada para a produção do cogumelo ostra (*P. ostreatus*).

Figueiredo e Dias (2014) relatam que a capacidade do fungo crescer e produzir basidiomas em substratos lignocelulósicos está diretamente relacionada com o vigor micelial, o que foi confirmado no presente trabalho.

A relação C/N do resíduo utilizado para o cultivo de espécies de *Pleurotus* é de extrema importância, por interferir diretamente na colonização do substrato e na produção dos corpos de frutificações (Philippoussis et al., 2001). Para o cultivo axênico, a relação C/N ideal varia entre 20 a 50/1 (Eira, 2004). A relação C/N dos resíduos RFD (42.5/1) e TAC (12.5/1) utilizados para a formulação dos substratos foram adequadas para o sucesso da produção de *P. ostreatus*, por se enquadrarem entre a faixa ideal citada por Eira (2004).

Análise centesimal dos cogumelos

A composição nutricional dos basidiomas de *P. ostreatus* não variou em função dos diferentes substratos, para os teores de umidade (92.36%), matéria mineral (8.19%), lipídios (1.24%), fibra (13.4%) e carboidrato (51.64%). Os teores de proteína foram influenciados pelas diferentes concentrações de resíduo do fruto de dendê e tegumento de amêndoa de cacau, variando entre 27.5% e 22.4% (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de umidade (UM), matéria mineral (MM), lipídeo, proteína bruta (PB), fibra e carboidratos (g em 100 g de matéria seca, média \pm DP, n = 5) dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos em substratos com diferentes concentrações de subproduto do mesocarpo do fruto do dendê e do tegumento da amêndoa do cacau.

Substratos	UM	MM	Lipídios	PB	Fibra	Carboidrato
S1	92.6 \pm 0.45a	7.58 \pm 1.61a	1.23 \pm 0.10a	25.2 \pm 0.11c	12.4 \pm 1.02a	53.5 \pm 1.57a
S2	92.5 \pm 0.66a	8.55 \pm 0.02a	1.30 \pm 0.09a	27.5 \pm 0.56a	13.3 \pm 0.74a	49.2 \pm 2.37a
S3	92.4 \pm 0.99a	8.36 \pm 0.28a	1.01 \pm 0.01a	26.6 \pm 0.10b	12.9 \pm 0.45a	51.0 \pm 1.42a
S4	92.6 \pm 0.39a	8.36 \pm 0.18a	1.21 \pm 0,00a	25.0 \pm 0.02c	13.1 \pm 0.62a	52.1 \pm 0.83a
S5	91.7 \pm 0.80a	8.12 \pm 0.20a	1.47 \pm 0.01a	22.4 \pm 0.24d	15.4 \pm 0.65a	52.4 \pm 0.75a
CV (%)	1.32	4.41	9.57	2.03	9.22	2.66

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Skott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

A composição nutricional dos basidiomas de *P. ostreatus* produzidos no presente estudo está dentro dos valores encontrados por Aguilar-Rivera et al. (2012), Oyetayo e Ariyo (2013), Koutrotsios et al. (2014) e Fernandes et al. (2015) para o cultivo de *P. ostreatus* em diversos resíduos agrícolas e agroindustriais.

Alguns fatores influenciam diretamente a composição nutricional dos cogumelos, tais como: linhagem do fungo, composição nutricional e origem do substrato, condições ambientais de cultivo e estágio de desenvolvimento do cogumelo (Bernardi e Nascimento, 2011; Wang et al., 2015). Neste estudo foi avaliado apenas um isolado de *P. ostreatus* e as condições de cultivo foram as mesmas, variando-se apenas a formulação do substrato. O substrato S1 proporcionou a melhor eficiência biológica e o melhor rendimento. Entretanto, o substrato S2 proporcionou o melhor teor de proteína bruta. Com relação a estes resultados, a formulação mais eficiente foi a S1, pois em termos de produção, obteve-se uma diferença de 22,7% na eficiência biológica, em comparação com o substrato S2. Considerando uma produção de grande escala, isso representa aproximadamente 220 Kg a mais de produção para cada tonelada de substrato seco. O substrato S2, mesmo apresentando um teor de proteína superior, não apresenta viabilidade quando comparado ao substrato S1.

CONCLUSÃO

Os substratos S1, S2 e S3 proporcionaram um bom crescimento micelial vertical e um vigor fortemente adensado do *P. ostreatus*. Os substratos formulados com resíduos do processamento de frutos de dendê e do processamento da amêndoa do cacau podem ser explorados para a produção do cogumelo ostra (*P. ostreatus*). O substrato mais indicado possui a formulação de 86.4% do resíduo composto pelo mesocarpo do fruto do dendê e 9.4% do resíduo composto pelo tegumento da amêndoa do cacau por ser o mais produtivo, com produção de cogumelos nutritivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR-RIVERA, N.; MORAN, A.C.; LAGUNES, A.D.R.; GONZALEZ, J.M. Production of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) grown on sugar cane biomass (trash, bagasse and pith). *Mushrooms: Types, Properties and Nutrition*, Nova Science Publishers, Inc., p. 77-103, 2012.
- BENTO, C. B.P.; SILVA, J. S.; RODRIGUES, M.T.; KASUYA, M. C. M.; H. C. MANTOVANI. Influence of white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. *African Journal of Agricultural Research*. V. 8(28). p. 2724-2732. 2014.
- BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos pasteurizados. *Arq. Inst. Biol*, v. 78, p. 217-223, 2011.
- CARVALHO, C.S.M.; AGUIAR, L.V.B.; SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M.T.A; ANDRADE, M.C.N. Cultivo in vitro de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira. *Ambiência*, v. 9, p. 651-660, 2013.
- CARVALHO, C.S.M.; AGUIAR, L.V.; SALES-CAMPOS, C.; ALMEIDA MINHONI, M.T.; ANDRADE, M.C. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. *Braz. J. Microbiol*, v. 43, p. 819–826, 2012.
- CHANAKYA, H.N; MALAYIL, S.; VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues. *Energy for Sustainable Development*, v. 27, p. 84-92, 2015.

- CONDÉ, V. F.; OLIVEIRA, J. E. Z.; OLIVEIRA, D.M. F. Farinha de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (cogumelo Hiratake) enriquecido em ferro. *Ciência e Natura*. v.39. p. 01 – 06. 2017.
- CORRÊA, R.C.G.; BRUGNARI, T., BRACHT, A.; PERALTA, R.M., FERREIRA, I.C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*, v. 50, p. 103 -117, 2016.
- DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, p. 331-338, 2005.
- DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Efeito da suplementação com farelos no crescimento *in vitro* de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante (*Pennisetum* spp.). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 73, n.3, p. 303- 309, 2006.
- EIRA, A.F., 2004. Fungos comestíveis. In: ESPÓSITO, E.; Azevedo, J.L. (Ed.). *Fungos uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: Educs, v. 12, p. 379-448, 2004.
- FAO- (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Disponível em:<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em 02 de fevereiro, 2018.
- FERNANDES, Â.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I.C. Nutritional characterization of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. *Food chemistry*, v. 169, p. 396-400, 2015.
- FIGUEIREDO, V.R.; DIAS, E.S. Cultivo do champignon em função da temperatura. *Ciência Rural*, v. 44, p. 241-246, 2014.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIRÓ, G.G.; GRACIOLLI, L.A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, p. 924-930, 2011.

- FONSECA, T.R.B.; BARRONCAS, J.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta amazônica. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 08, p. 1227-1236, 2014.
- HOA, H.T; WANG, C.L.The Effects of Temperature and Nutritional Conditions on Mycelium Growth of Two Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, v. 43, p. 14-23, 2015.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em:(www.sidra.ibge.gov.br/bda). Acesso em 10/05/2017.
- JONATHAN, S.G.; FASIDI, I.O.; AJAYI, A.O.; ADEGEYE, O. Biodegradation of Nigerian wood wastes by *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 807-811, 2008.
- KOUTROTSIOS, G.; KONSTANTINOS, C.M.; IORDANIS, C.; GEORGIOS, I.Z. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi- Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food Chem*, v. 161, p. 127-135, 2014.
- MARINO, R.H.; ABREL, L.D.; MESQUITA, J.B; RIBEIRO, G.T. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (jacq.: fr.) kummer em serragem da casca de coco. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 75, p. 29-36, 2008.
- MINOTTO, E.; BERNARDI, E.; WILLE, C.N.; NASCIMENTO, J.S. Crescimento micelial de *Agaricus bisporus* em meios de cultivo e substratos alternativos. *Rev. Fac. Agron, Argentina*, v. 113, n. 66-72, 2014.
- OYETAYO, V.O.; ARIYO, O.O. Micro and macronutrient properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Wood Substrates. *Jordan Journal of Biological Sciences*, v. 6, n. 223–226, 2013.
- PAZ, M.F.; DEMENJOUR, P.L.M.M.; CARDOSO, J.C.P.; LEITE, R.S.R. Cultivation of edible mushroom Hiboukitake in caja bagasse by in Jun-Cao technique. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 4, p.146-152, 2013.
- PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz

- e/ou de trigo. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 73, n. 219-225, 2006.
- PÉREZ-MARTÍNEZ, A.S.; ACEVEDO-PADILLA, S.A.; BIBBINS-MARTÍNEZ, M.; GALVÁN-ALONSO, J.; ROSALES-MENDOZA, S. A perspective on the use of *Pleurotus* for the development of convenient fungi-made oral subunit vaccines *Vaccine*, v. 33, p. 25–33, 2015.
- PHILIPPOUSSIS, A.; ZERVAKIS, G.; DIAMANTOPOULOU, P. Bioconversion of agricultural lignocelulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvaceae* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 17, p. 191-200, 2001.
- POKHREL, C.P.; KALYAN, N.; BUDATHOKI, U.; YADAV, R.K.P. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* using different agricultural residues. *International Journal of Agricultural Policy and Research*, v. 1, p. 019 – 023, 2013.
- RAYMOND, P.; MSHANDETE, A.M.; KIVAISI, A.K. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* HK-37) on solid sisal waste fractions supplemented with cow dung manure. *Journal of Biology and Life Science*, v. 4, p. 273-286, 2013.
- REIS, M.F.; DUCCA, F.; FERDINANDI, D.M.; ZONETTI, P.C.; ROSADO, F.R. Análise se substrates alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida*. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.3, p. 79-91, 2010.
- ROSA, M.F.; MEDEIROS, E.S.; MALMONGE, J.A.; GREGORSKI, K.S.; WOOD, D.F.; MATTOSO, L.H.C.; GLENN, G.; ORTS, W.J.; IMAM, S.H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, v. 81, p. 83-92, 2010.
- SÁNCHEZ, C. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* e outros cogumelos comestíveis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 85, p. 1321-1337, 2010.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v. 30, p. 507-512, 1974.
- SILVA, R.B.; FONTES, C.M.A.; LIMA, P.R.L.; GOMES, O.F.M.; LIMA, L.G.L.M.; MOURA, R.C.A.; TOLEDO FILHO, R.D. Cinzas de biomassa geradas na agroindústria do cacau: caracterização e uso em substituição ao cimento. *Ambiente Construído*, v. 15, p. 321-334, 2015.

- SOFI, B.; AHMAD, M.; KHAN, M. Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production., v. 8, p. 1474-1479, 2014.
- VALVERDE, M.E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. International Journal of Microbiology, v. 1, p. 14, 2015.
- WANG, S.; XU, F.; LI, Z.; ZHAO, S.; SONG, S.; RONG, C.; LIU, Y. The spent mushroom substrates of *Hypsizigus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. Scientia Horticulturae, v. 186, p. 217-222, 2015.
- YANG, D.; LIANG, J.; WANG, Y.; SUN, F.; TAO, H.; XU, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, Z.; HO, C.; WAN, Xi. Tea waste: an effective and economic substrate for oyster mushroom cultivation. J Sci Food Agric. V. 96. p. 680–684. 2016.
- ZHU, X., CHEN, B., ZHU, L., XING, B. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: a review. Environ. Pollut., v. 227, p. 98–115, 2017.

ARTIGO 3**SUBPRODUTOS DA AGROINDÚSTRIA CACAUEIRA NO CULTIVO DE
*Pleurotus ostreatus***

³Artigo submetido ao Comitê Editorial da Revista Scientia Agraria em versão na língua portuguesa.

Resíduos da agroindústria cacauera no cultivo de *Pleurotus ostreatus*

Autores: Rafael Mota da Silva; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

RESUMO: O *Pleurotus ostreatus*, conhecido popularmente como cogumelo ostra, se destaca pela rusticidade na sua produção e é amplamente apreciado devido ao valor nutricional e gastronômico. A agroindústria do cacau gera um volume significativo de resíduos que, em sua grande maioria, são descartados inapropriadamente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos da agroindústria do cacau. Os substratos foram formulados com subprodutos da casca do fruto de cacau e tegumento da amêndoa de cacau, nas proporções de 86,4/9,6; 76,8/19,2; 67,2/28,8; 57,6/38,4; 48/48 (%/%), enriquecidos com 3% de carvão moído e 1% de carbonato de cálcio (CaCO₃). Os substratos foram formulados, umedecidos, esterilizados em autoclave, inoculados com *P. ostreatus* e incubados em estufa agrícola climatizada, com controle de temperatura e umidade. Avaliou-se o crescimento micelial radial em meio de cultura, a corrida micelial no substrato *in vitro* e, o início da formação dos primórdios, rendimento e eficiência biológica e a análise centesimal dos cogumelos produzidos. A média do crescimento micelial radial nos diferentes substratos foi de 1,42 cm dia⁻¹. Na avaliação do crescimento micelial vertical, os substratos S1 e S3 atingiram 12 cm no 15º dia após a inoculação. Os substratos S3 e S4 apresentaram os melhores resultados em termos de eficiência biológica e rendimento com 35,6%; 130,7 g kg⁻¹ e 29%; 103 g kg⁻¹. Os substratos S3 e S4 são as formulações mais indicadas para o cultivo de *P. ostreatus*, proporcionando resultados satisfatórios para eficiência biológica e rendimento, com a produção de cogumelos com baixo teor de gordura e elevado teor proteico.

Palavras-chaves: cogumelo ostra; eficiência biológica; *Theobroma cacao*; resíduos agroindustriais

Residues from the cocoa agroindustry for *Pleurotus ostreatus* production

Authors: Rafael Mota da Silva; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

ABSTRACT: *Pleurotus ostreatus* commonly known as oyster mushroom is produced with rusticity and is widely appreciated due to the nutritional and gastronomic value. The cocoa agro-industry generates a significant volume of residues that is mainly disposed of inappropriately. The objective of this work was to evaluate the production of *P. ostreatus* in substrates formulated with residues of the cocoa fruit peel and the tegument of the cocoa almond. The substrates were formulated with residues of the cocoa fruit peel and with the tegument of the cocoa almond (TAC), in the proportions of 86,4/9,6; 76,8/19,2; 67,2/28,8; 57,6/38,4; 48/48 (%/%), enriched with 3% ground charcoal and 1% calcium carbonate (CaCO_3). The substrates were formulated, moistened, sterilized in an autoclave, inoculated with *P. ostreatus* and incubated in a growth chamber with controlled temperature and humidity. The radial mycelium growth in culture medium, mycelium race in the substrates under in vitro conditions, primordia formation, biological efficiency, mushroom yield and centesimal analysis were evaluated. The mean radial mycelial growth in the different substrates was 1.42 cm day^{-1} . For mycelium growth, substrates S1 and S3 reached 12 cm on the 15th day after inoculation. Substrates S3 and S4 presented the best results in terms of biological efficiency and yield with 35.6% and 130.7 g kg^{-1} for S3 and 29% and 103 g kg^{-1} for S4. These were the most suitable formulations for production of *P. ostreatus*, with the greater biological efficiency and mushroom yield, with production of mushrooms with low fat and high protein content.

Keywords: Oyster mushroom; biological efficiency; *Theobroma cacao*; agroindustrial residues.

INTRODUÇÃO

Entre os principais produtores mundiais de cacau (*Theobroma cacao* L.), o Brasil ocupa a sexta colocação no ranking (FAO, 2016) e o estado da Bahia é o maior produtor do país (IBGE, 2016). A produção brasileira em 2016 atingiu 213.843 toneladas em 775 mil hectares cultivados, com produtividade de 303 kg/ha (IBGE, 2017). Entretanto, a agroindústria cacauceira produz uma quantidade significativa de resíduos vegetais e a casca dos frutos representa 80% desses resíduos (Mororó, 2006). Estima-se que, para produzir uma tonelada de amêndoas secas, são geradas aproximadamente 7 toneladas de casca fresca de cacau (Sodré et al., 2012) e calcula-se que em 2016 foram gerados cerca de 1,5 milhões de toneladas de resíduo da casca do fruto.

Além da casca do fruto, tem-se o tegumento da amêndoa do cacau (TAC), ou seja, a casca da semente do cacau, retirada no processo industrial de torrefação e limpeza para a moagem da semente para obtenção da matéria-prima do chocolate. Uma tonelada de amêndoa com 7% de umidade pode gerar de 80 kg a 120 kg de TAC após o processamento e, na região sul do estado da Bahia, são gerados por ano aproximadamente 10.000 t de TAC (Silva et al., 2015).

Na maioria das vezes, esses resíduos não são utilizados, sendo deixados nos plantios de cacau em forma de “casqueiros”, tornando-se uma fonte de inóculo para fitopatógenos da cultura (Mororó, 2006). Contudo, a casca do fruto do cacau pode ser utilizada na alimentação animal e de peixes; na produção de biogás e biofertilizante; na produção de álcool; na extração de pectina e na obtenção de proteína microbiana (Silva Neto et al., 2001) e o tegumento da amêndoa do cacau normalmente é descartado pela indústria ou utilizado nas caldeiras (Mororó, 2012).

Uma excelente alternativa de agregação de valor a resíduos lignocelulósicos oriundos da produção agrícola é a sua utilização na produção de proteína fúngica, pois o cultivo de cogumelos comestíveis já é um negócio consolidado e lucrativo em vários países (Fonseca et al., 2014). A produção de cogumelos comestíveis apresenta-se como uma alternativa de renda para produtores rurais que desfrutam de grandes mercados próximos a sua produção (Condé et al., 2017). Dentre os cogumelos mais cultivados e consumidos do

mundo destaca-se o *Pleurotus ostreatus* (Jacq.exFr.) P. Kumm. popularmente conhecido como cogumelo ostra (Valverde et al., 2015; Corrêa et al., 2016).

Estes fungos do gênero *Pleurotus*, também conhecidos como fungos da podridão branca, possuem um complexo de enzimas que lhes garante a capacidade de colonizar uma diversidade de resíduos lignocelulósicos e crescer em condições rústicas de cultivo (Koutrotsios et al., 2014; Fernandes et al., 2015). O cultivo de *P. ostreatus* tem sido avaliado em diversos resíduos agrícolas e agroindustriais tais como palha de arroz, fibra de coco, bagaço de cana de açúcar, casca de café, resíduo de chá, resíduo de cacau, sobras de madeira e resíduo de biodigestor (Bento et al., 2014; Mudakir et al., 2014; Sofi et al., 2014; Chanakya et al., 2015; Yang et al., 2015; Girmay et al., 2016).

Girmay et al. (2016) obtiveram eficiência biológica de 35,88%; 34,22% e 9,73% para o cultivo de *P. ostreatus* em substratos compostos por palha de trigo, resíduo de papel e serragem, respectivamente. Mudakir et al. (2014) utilizando serragem com diferentes concentrações de resíduo de cacau obtiveram uma eficiência biológica média de 62,7%.

Considerando a disponibilidade dos resíduos oriundos da agroindústria da amêndoa do cacau e o potencial de produção de *P. ostreatus* em diversos resíduos agrícolas, aliado com a possibilidade de utilização desses resíduos para a produção de um alimento rico em proteínas e minerais, e com isso poder viabilizar uma fonte de renda para os produtores da região cacauzeira da Bahia, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de produção de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos da agroindústria da amêndoa de cacau.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e condições de cultivo

Foi utilizado o isolado de *P. ostreatus* Plo 02, pertencente à coleção de fungos do Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Para o preparo do inóculo, fragmentos de micélio do fungo preservados em tubos de ensaio com água esterilizada e vedados, foram transferidos para o

centro de placas de Petri, contendo meio batata, dextrose e agar (BDA). As placas foram incubadas em BOD, a 25 °C, durante sete dias. Após este período, as culturas foram mantidas a 4 °C até sua utilização.

Produção de inóculo (*spawn*)

Sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*) foram utilizadas como substrato para o crescimento do fungo. Os grãos foram lavados e imersos em água por um período de 1 h e 30 min. O excesso de água foi removido com uma peneira e os grãos foram transferidos para frascos de vidro, com 100 g por frasco, e estes foram fechados com tampa metálica e esterilizados em autoclave a 121 °C por 55 min. Após a esterilização, cada frasco foi inoculado com 3 discos (5 mm de diâmetro) da cultura do fungo, após o seu cultivo em meio BDA conforme descrito acima, e estes foram incubados a 25 °C, na ausência de luz por 20 dias. Os grãos colonizados pelo fungo são denominados de semente (*spawn*).

Tratamento dos resíduos agrícolas e formulação do substrato

O resíduo da casca do cacau (RCC) foi coletado no campo após a abertura do fruto para retirada da polpa, ensacado e transportado para a unidade de processamento de cogumelos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Este resíduo foi espalhado em uma área cimentada para secagem ao sol por seis dias. O tegumento da amêndoa de cacau (TAC) foi coletado na região Sul da Bahia, em agroindústrias de processamento da amêndoa de cacau. Estes resíduos foram tratados por imersão em uma solução de 0,5% de cal hidratada por um período de 12 h, posteriormente quando atingiram o estado de friabilidade foram utilizados para a formulação dos substratos (Tabela 1).

Tabela 1. Formulação dos diferentes substratos com os resíduos da casca do cacau (RCC) e com o tegumento da amêndoa de cacau (TAC), acrescidos de carvão moído e carbonato de cálcio (CaCO₃).

Substrato	RCC	TAC	Carvão	CaCO ₃
S1	86,4%	9,6%	3%	1%
S2	76,8%	19,2%	3%	1%
S3	67,2%	28,8%	3%	1%
S4	57,6%	38,4%	3%	1%
S5	48%	48%	3%	1%

Avaliação *in vitro* do crescimento micelial radial

Para a determinação do crescimento micelial foram utilizadas as formulações (Tabela1) para o preparo do meio substrato ágar. O tratamento controle foi composto pelo meio BDA sem adição dos substratos. Para preparo do meio de cultura, 200 g de cada substrato foram fervidos em 1 L de água destilada por 20 min. Em seguida, a mistura foi filtrada em filtro de papel descartável comercializado para café e o volume da suspensão líquida foi completado para 950 mL com água destilada. Foram adicionados 15 g de ágar, o pH foi ajustado para 6,0 e completou-se com água destilada até atingir o volume final de 1 L. O meio substrato ágar foi esterilizado em autoclave por 20 min a 121 °C e vertido em placas de Petri esterilizadas. Discos (5 mm de diâmetro) de micélio de *P. ostreatus* foram transferidos para o centro das placas de Petri com meio substrato ágar e estas foram incubadas a 25±2°C, na ausência de luz. O crescimento micelial radial foi medido com régua milimetrada, a cada 24 h, em duas direções ortogonais. A avaliação foi finalizada quando o micélio de um dos tratamentos atingiu a borda da placa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições.

Avaliação do crescimento micelial vertical em substrato

Para avaliação do crescimento micelial vertical foram utilizados tubos de ensaio com 22 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro. Os substratos foram colocados nos tubos até atingir os primeiros 12 cm do comprimento do tubo, estes foram vedados com tampão de algodão e papel manteiga e foram esterilizados em autoclave a 121 °C, durante 30 min. Adicionou-se na superfície do substrato

de cada tubo 1 g de sementes da cultura de *P. ostreatus*, preparada conforme descrito acima. Os tubos foram fechados com tampão de algodão e papel manteiga e incubados a temperatura de 25 ± 2 °C, na ausência de luz. A avaliação do crescimento micelial vertical foi realizada por medição com régua milimetrada do crescimento do micélio fúngico a cada 24 horas. A avaliação foi finalizada quando o micélio fúngico colonizou todo o comprimento do substrato em um dos seus tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições.

Produção de *P. ostreatus* em estufa

Para avaliação da produção de *P. ostreatus* nos diferentes substratos formulados (Tabela 1), a umidade de todos os substratos foi ajustada para 70% com a adição de água potável e os substratos foram transferidos para sacos sanfonados de polipropileno com filtro de troca gasosa, deixando-se 2 kg de substrato (peso úmido) em cada saco. Os sacos com os substratos foram fechados com fita de autoclave e esterilizados em autoclave a 121 °C, por um período de 1 h. Após os substratos arrefecerem, procedeu-se à inoculação com 40 g de semente por saco (equivalente a 2% do peso do saco) e estes foram levados para a câmara de incubação com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa em torno de 75-80% e ausência de luz.

Após a total colonização do substrato, os sacos foram transferidos para a câmara de crescimento na estufa de produção de cogumelos, com controle de temperatura e umidade, e foram submetidos a um choque térmico, por meio da redução da temperatura do ambiente para 20 °C, com o uso de sistema de nebulização programado para ativar três vezes durante a noite com a duração da nebulização por 3 min. Em seguida foram feitos 12 cortes laterais equidistantes por saco, com uma lâmina de bisturi, para a emissão dos corpos de frutificação. A temperatura foi mantida a 25 ± 2 °C e a umidade entre 80 e 90% na estufa de produção de cogumelos, até o fim da produção.

As colheitas foram realizadas duas vezes ao dia, quando os cogumelos apresentavam uma conformação do píleo quase plana, sendo este o ponto de colheita dos cogumelos. Após a colheita, os cogumelos foram pesados e desidratados em estufa de ventilação forçada a 45 °C, até atingirem peso

constante.

Avaliação dos parâmetros de cultivo, Eficiência biológica (EB) e Rendimento (R)

Para definição da melhor formulação do substrato foram avaliados os parâmetros: duração do ciclo de cultivo (colonização, formação dos primórdios e produção de cogumelos) e a precocidade definida como o tempo decorrido entre o dia da inoculação do substrato e o dia de aparecimento dos primórdios. A eficiência biológica foi calculada pela seguinte equação (Carvalho et al., 2012):
$$EB = (\text{Massa fresca do cogumelo} / \text{Peso seco inicial do substrato}) \times 100$$

O rendimento expressa a capacidade de produção de cogumelos a partir do substrato de cultivo, sendo calculado em gramas de cogumelo produzido em um quilo de substrato seco.

Análise química dos substratos e dos cogumelos

As amostras dos substratos foram avaliadas quanto aos teores de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, de acordo com os métodos analíticos definidos pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al., 2012). O teor de carbono (C) para posterior cálculo da relação C/N foi analisado de acordo com Carmo e Silva (2012).

O teor de fibra bruta dos cogumelos foi determinado pelo método gravimétrico, seguindo os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). O teor de nitrogênio (N) foi determinado pelo método de Microkjeldahl, conforme metodologia AOAC (1996) e o teor de carboidratos totais foi calculado por diferença (100 g – Fibras totais, proteínas, gorduras e cinzas).

Delineamento experimental e análise estatística

Para avaliação da produção de cogumelos, o experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, com 10 repetições. Para análise química, foram analisadas três amostras, sendo que cada amostra foi composta por duas repetições. Os resultados foram expressos como valores médios \pm desvio padrão (SD).

Os dados referentes às características dos substratos foram comparados pela análise de variância (ANOVA) e agrupados pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento micelial radial e vertical *in vitro*

Não houve diferença significativa no crescimento micelial do *P. ostreatus* no meio substrato ágar, para os substratos formulados com proporções distintas de resíduo da casca do cacau e resíduo do tegumento da amêndoa do cacau. A média do crescimento micelial radial nos diferentes substratos foi de 1,42 cm dia⁻¹. No tratamento controle, com meio batata dextrose ágar (BDA), o crescimento micelial foi significativamente inferior ao do meio substrato ágar, com taxa de crescimento de 0,97 cm dia⁻¹ em seis dias de incubação (Figura 1).

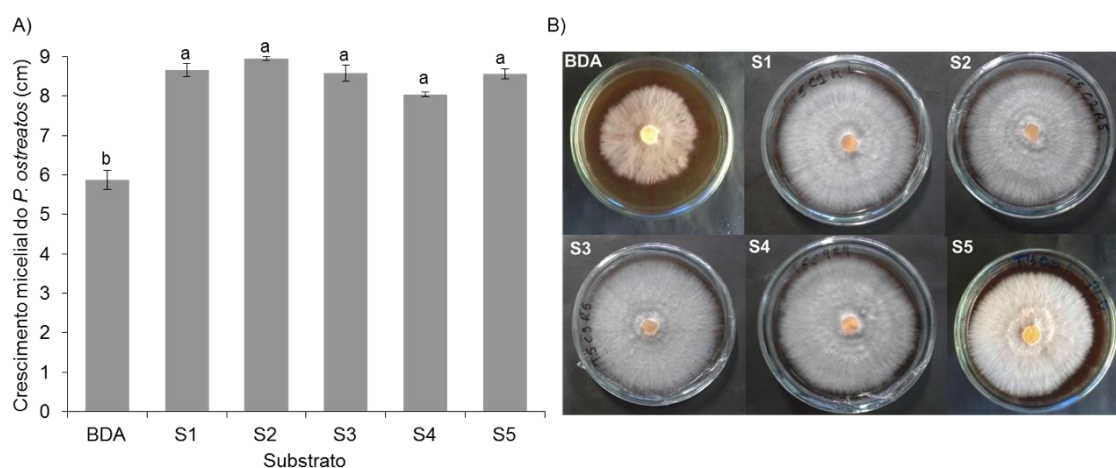


Figura 1. Crescimento micelial radial *in vitro* de *P. ostreatus* em diferentes substratos formulados com resíduos da casca de cacau (RCC) e tegumento da amêndoa do cacau (TAC). (A) Crescimento micelial radial de *P. ostreatus* em (cm); (B) Diâmetro da colônia de *P. ostreatus* em meio de cultura: (BDA) Controle, S1 = 86,4/9,6; S2 = 76,8/19,2; S3 = 67,2/28,8; S4 = 57,6/ 38,4; S5 = 48/48 (%/% de RCC e TAC. Medições após 6 dias de incubação.

Os substratos formulados com os resíduos de cacau favorecem o crescimento micelial de *P. ostreatus* (Figura 1), sugerindo que o maior crescimento do fungo no meio substrato ágar pode estar associado à capacidade que o fungo apresenta em metabolizar os nutrientes disponibilizados pelo

substrato. O crescimento micelial é influenciado diretamente pelos fatores nutricionais disponibilizados pelo substrato de cultivo (Pedra e Marino, 2006).

Wisbeck et al. (2016) avaliando o crescimento de *P. ostreatus* em PPLDA (água de imersão de folhas de palmeira e pessegueiro, dextrose e ágar) e WDA (extrato de trigo, dextrose e ágar), obtiveram valores de crescimento diário de $0,66 \text{ cm dia}^{-1}$ e $0,88 \text{ cm dia}^{-1}$ respectivamente. Carvalho et al. (2013) encontraram valores variando de 1,2 a $1,3 \text{ cm dia}^{-1}$ para o crescimento micelial de *P. ostreatus* em meios de cultura contendo 80% folhas de diferentes cultivares de banana suplementadas com 20% de farelo de trigo.

Nos substratos esterilizados em tubos de ensaio, *P. ostreatus* atingiu os 12 cm do substrato no tubo de ensaio no 15º dia após a inoculação para o S1 e S3, apresentando os melhores resultados em termos de crescimento vertical, com maior capacidade de colonização e velocidade de crescimento micelial. Os substratos S2 e S5 não apresentaram diferença significativa entre si, com o fungo atingindo um valor médio de 11 cm de colonização ao longo do substrato no tubo de ensaio, no 15º dia após a inoculação. O substrato S4 promoveu a menor colonização pelo fungo com 10,2 cm em 15 dias de incubação (Figura 2).

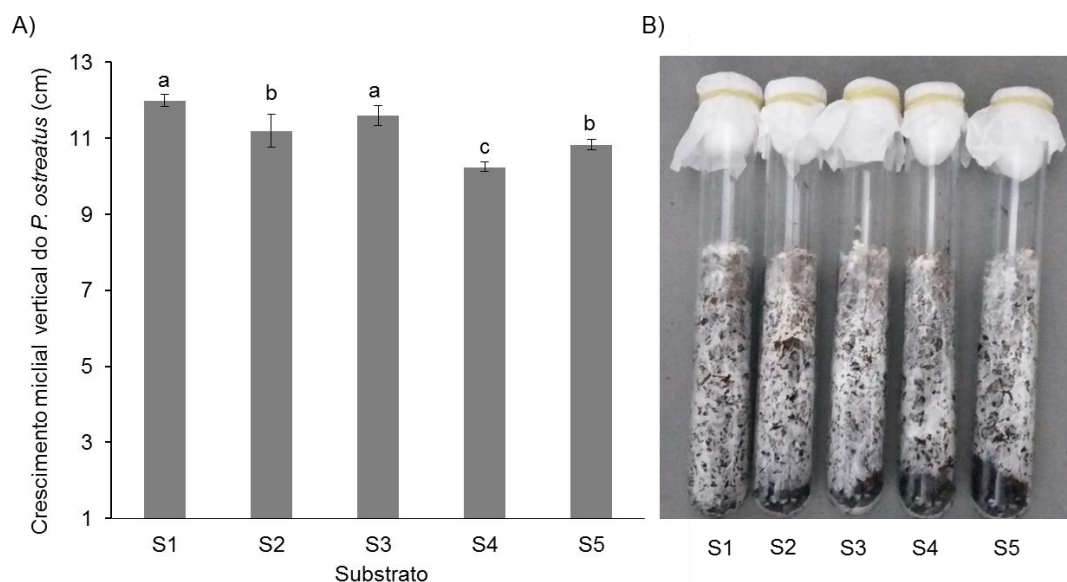


Figura 2. Crescimento micelial vertical *in vitro* de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos da casca de cacau (RCC) e do tegumento da amêndoa do cacau (TAC): S1 = 86,4/9,6; S2 = 76,8/19,2; S3 = 67,2/28,8; S4 = 57,6/ 38,4; S5 = 48/48 (%/% de RCC e TAC. Medições após 6 dias de incubação.

Em substrato formulado com grãos de trigo e folhas de palmeiras e pessegueiro, o crescimento micelial vertical do *P. ostreatus* foi de 10,5 cm e 9,3 cm no 15º dia após a inoculação, respectivamente (Wisbeck et al., 2016). Em cascas de cupuaçu suplementadas com 10% de farelo de arroz, observou-se 4,7 cm de crescimento micelial linear de *P. ostreatus*, após 15 dias de incubação (Palheta et al., 2011).

Conforme observado no crescimento micelial radial *in vitro* no meio ágar substrato, os subprodutos de cacau favorecem bem o crescimento de *P. ostreatus*, sendo os substratos S1 e S3 os que apresentaram os melhores resultados para o crescimento fungico, indicando o seu potencial para a produção de *P. ostreatus*. De acordo com Pokhrel et al. (2013), o crescimento micelial é uma fase preliminar importante na produção de cogumelos, a qual indica se as condições estão adequadas para a frutificação.

Produção de basidiocarpos (cogumelos)

Os substratos formulados com os resíduos da casca de cacau e do tegumento da amêndoa de cacau foram totalmente colonizados pelo *P. ostreatus* entre o 15º e 17º dia após a inoculação e a formação dos primórdios teve início entre o 23º e 25º dia após a inoculação. O ciclo completo de produção de *P. ostreatus* foi em média de 45 dias para todos os substratos avaliados. O número de cachos e de basidiocarpos por cacho não apresentaram diferença significativa para os diferentes substratos de cultivo.

Na avaliação de resíduos agroindustriais e florestais na produção de *Pleurotus ostreatus*, Koutrotsios et al. (2014) visualizaram a formação de primórdios a partir do 26º dia após a inoculação. Chanakya et al. (2015) e Figueiró et al. (2011) avaliando diferentes espécies do gênero *Pleurotus* em substratos a base de palha de arroz, trigo e fibra de coco, obtiveram a completa colonização do substrato entre 15º a 24º e o início da formação de primórdios entre o 20º e 30º dia após inoculação. De acordo com Reis et al. (2010), as espécies do gênero *Pleurotus* adaptadas ao substrato de cultivo necessitam em média de 15 a 30 dias para colonização e 5 a 10 dias para emissão dos primórdios.

Os substratos formulados com resíduos de casca de cacau e do tegumento de amêndoa de cacau permitiram uma rápida colonização e formação de

primórdios e estas são fases essenciais para uma boa produção de cogumelos. A seleção de substratos que favorecem o rápido crescimento e desenvolvimento micelial é uma das etapas mais importantes para a produção de cogumelos (Albuquerque et al., 2012), o que foi observado no presente estudo, nas avaliações *in vitro* do crescimento micelial do *P. ostreatus* (Tabelas 1 e 2) e na colonização do substrato e formação dos primórdios no processo de produção de cogumelos em estufa de crescimento.

Dentre inúmeros fatores que influenciam significativamente a colonização do fungo, Zhang et al. (2014) e Hoa e Wang (2015) destacam os seguintes: teor de nutriente, suplementação, granulometria, umidade do substrato, umidade, temperatura e teor de CO₂ do ambiente, forma de inoculação e potencial genético do fungo.

Na avaliação da eficiência biológica e do rendimento de *P. ostreatus* os substratos S3 e S4 apresentaram os maiores valores de eficiência biológica com 35,6% e 29% e rendimento com 130,7 g kg⁻¹ e 103 g kg⁻¹, respectivamente. Os substratos S1, S2 e S5 não apresentaram diferença significativa para eficiência biológica e rendimento apresentando uma média de 20,4% e 66,6 g kg⁻¹, respectivamente (Figura 3 A, B).

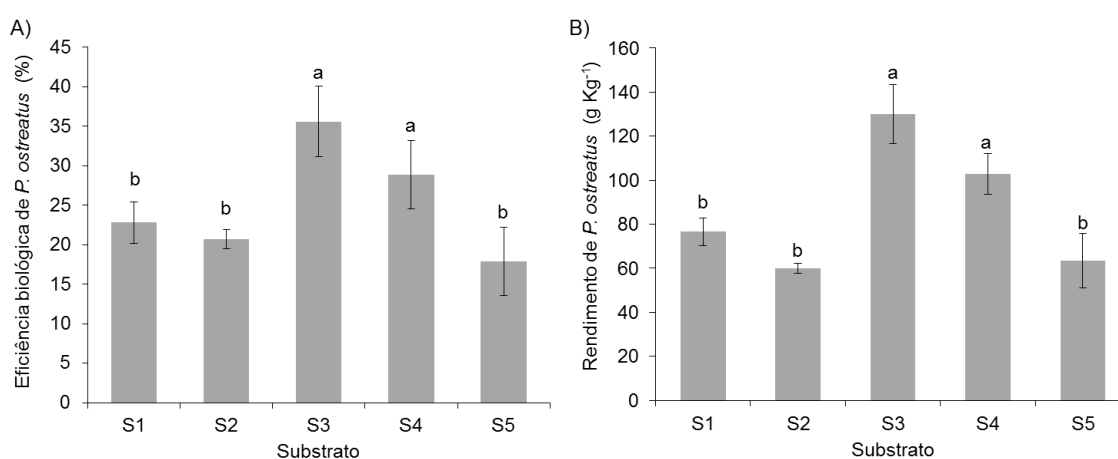


Figura 3. Avaliação da produção do *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos da casca de cacau (RCC) e do tegumento da amêndoa do cacau (TAC): S1 = 86,4/9,6; S2 = 76,8/19,2; S3 = 67,2/28,8%; S4 = 57,6/ 38,4%; S5 = 48% de RCC/48% de TAC. (A) Eficiência biológica e (B) Rendimento.

Os valores referentes a produção obtidos no presente trabalho foram satisfatórios quando comparados aos valores encontrados na literatura. Girmay et al. (2016) obtiveram uma eficiência biológica de 35,8%; 34,2% e 9,7% utilizando respectivamente os substratos de palha de trigo, resíduo de papel e serragem. A eficiência biológica de substratos formulados com grãos de trigo e folhas de palmeiras e pessegueiro inoculados com grãos de trigo foi de 3,8% e 2,6%, respectivamente (Wisbeck et al. 2016). Bernardi et al. (2013) obtiveram uma eficiência biológica de 24,6% no cultivo de *Pleurotus* sp. em substrato formulados com capim elefante. Os mesmos autores cultivando *Pleurotus* sp. em substratos com capim elefante e bagaço de cana de açúcar na proporção de 1/1 obtiveram 21,9% de eficiência biológica. Mudakir et al. (2014) avaliando diferentes concentrações de resíduo de cacau e serragem, verificaram que a melhor formulação foi a 70% de serragem e 30% de resíduo de cacau, com eficiência biológica de 63,5%.

Dentre os critérios utilizados para avaliação e seleção de resíduos agroindustriais para o cultivo de cogumelos estão a eficiência biológica, que indica a produção de cogumelos frescos por quilo de substrato seco, e o rendimento que fornece o valor da produção de cogumelos fresco por quilo de substrato fresco. A eficiência biológica está intrinsicamente ligada às características físicas e químicas do substrato e às condições ambientais adequadas (Aguilar-Rivera et al., 2012).

Os resultados de eficiência biológica e rendimento estão correlacionados com a relação C/N dos substratos de cultivo. Os teores de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), hemicelulose, celulose, lignina e relação C/N dos componentes utilizados para formulação do substrato estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Teores de matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), hemicelulose, celulose, lignina e relação C/N dos componentes utilizados para formulação do substrato para o cultivo de *P. ostreatus*.

Bromatologia	Constituintes dos substratos (%)		
	RCC	TAC	Carvão
MM	12,7	11,4	10,7
PB	7,2	12,8	6,9
Hemicelulose	9,7	8,9	2,2
Celulose	30,1	15,4	7,6
Lignina	25	21,7	66,1
Relação C/N	38	13,5	45,2

RCC= Resíduo da casca de cacau, TAC = tegumento da amêndoa do cacau.

Figueiró e Graciolli (2011) afirmam que a relação C/N do resíduo utilizado para o cultivo de espécies do gênero *Pleurotus* interfere diretamente na colonização do substrato e na produção dos cogumelos. Eira (2004) relata que no cultivo axênico, a relação C/N ideal varia entre 20 a 50/1. A relação C/N dos resíduos utilizados para formulação dos substratos do presente estudo apresentaram valores dentro da faixa ideal citada por Eira (2004). Além disso, outros fatores influenciam na produção como granulometria, capacidade retenção de água e substâncias químicas existentes no vegetal de origem do substrato.

Análises Centesimal dos corpos de frutificação de *P. ostreatus*

As principais propriedades físico-químicas dos corpos de frutificação do *P. ostreatus* produzidos nos substratos formulados com resíduos da casca de cacau e tegumento da amêndoa de cacau estão apresentadas na Tabela 3. A característica nutricional dos cogumelos produzidos em resíduos lignocelulósicos é de extrema importância, considerando a grande diversidade resíduos e sua influência no valor nutricional dos basidiomas.

Tabela 3. Teores de Umidade (UM), Matéria Mineral (MM), Lipídios, Proteína bruta (PB), Fibra e carboidratos (g em 100 g de matéria seca, média \pm DP, n = 5) dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos em substratos formulados com resíduo da casca de cacau e tegumento da amêndoa do cacau.

Substratos	UM	MM	Lipídios	PB	Fibra	Carboidrato
S1	89,8 \pm 0,15 a	7,8 \pm 1,40 c	1,01 \pm 0,02 a	25,5 \pm 0,26 a	1,55 \pm 0,10 a	64,1 \pm 1,23 b
S2	89,7 \pm 0,10 a	8,0 \pm 0,17 c	0,77 \pm 0,05 a	25,1 \pm 0,24 a	1,58 \pm 0,2 a	64,6 \pm 0,24 a
S3	91,5 \pm 0,12 a	9,6 \pm 0,44 a	1,04 \pm 0,01 a	25,2 \pm 0,75 a	1,60 \pm 0,13 a	62,6 \pm 1,01 b
S4	90,2 \pm 0,17 a	8,7 \pm 0,37 b	1,02 \pm 0,06 a	25,7 \pm 0,35 a	1,41 \pm 0,10 a	63,2 \pm 0,77 b
S5	89,0 \pm 0,08 a	9,3 \pm 1,08 a	1,00 \pm 0,05 a	24,9 \pm 0,62 a	1,59 \pm 0,08 a	63,3 \pm 1,73 b
CV (%)	0,79	11,3	9,0	1,28	5,2	1,26

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

As diferentes combinações da casca do fruto de cacau e o tegumento da amêndoa de cacau não influenciaram nos teores de umidade, lipídeos, proteína e fibra dos cogumelos. Apenas os teores de matéria mineral foram diferentes e o teor de carboidrato foi superior nos cogumelos produzidos no substrato S2 (Tabela 3). O valor nutricional dos cogumelos é influenciado pelo substrato e as condições ambientais de cultivo (Wang et al., 2015).

Fernandes et al. (2015) relataram teores superiores para umidade (90,3 a 91,0%), carboidratos (73,2 a 78,9%), matéria mineral (15,9 a 10,5%) e lipídeos (1,2 a 1,7 g) e inferiores para proteína (9,7 a 9,3%) para basidiomas de *P. ostreatus* produzido em substratos de papel em branco e impresso. A composição nutricional de *P. ostreatus* produzido em substratos residuais da produção do cogumelo *Hypsizygus marmoreus* foi superior para proteína (27,8 a 34,9%), lipídeos (1,9 a 2,3%) e fibra bruta (30,2 a 35,3%) e inferiores de carboidratos (20,7 a 27,3%) e matéria mineral (5,5 a 6,6%) (Wang et al. 2015).

Espécies do gênero *Pleurotus* normalmente apresentam baixos teores de lipídeos (Akindahunsi e Oyetayo, 2006). Entre as espécies do gênero *Pleurotus*, o maior teor de proteína foi observado na espécie *P. sapidus* (38,5%), um valor médio para o *P. ostreatus* (23,0%) e o menor conteúdo proteico foi observado em *P. tuber regium* (10,8%) (Day, 2013). De acordo com Michael et al. (2011), os teores de proteína e de outros nutrientes dos corpos de frutificação podem variar de acordo com o resíduo utilizado para seu cultivo. Fernandes et al. (2015)

ressaltam que o teor de proteína do substrato influencia de forma significativa na concentração final do corpo de frutificação. O teor de proteína bruta está dentro dos valores encontrados para *P. ostreatus* e os teores de lipídeos também são baixos, conforme encontrado para *Pleurotus*. O substrato de resíduos de cacau favorece a produção de *Pleurotus ostreatus*, com basidiocarpos (cogumelos) com bom teor proteico e baixo teor de lipídios.

CONCLUSÃO

Os substratos formulados com resíduos da casca do fruto de cacau e tegumento da amêndoa de cacau apresentam potencial para o cultivo de *P. ostreatus*, com rápida colonização, boa eficiência biológica e bom rendimento.

O substrato S3 com 67,2% de casca de fruto de cacau (RCC) e 28,8% do tegumento da amêndoa de cacau e o substrato S4 com 57,6% (RCC) e 38,4% (TAC) são as formulações mais indicadas para o cultivo de *P. ostreatus*, proporcionando resultados satisfatórios para eficiência biológica e rendimento, com produção de cogumelos com baixo teor de lipídeos e elevado teor proteico.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-RIVERA, N.; MORAN, A.C.; LAGUNES, A.D.R.; GONZALEZ, J.M. Production of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) grown on sugar cane biomass (trash, bagasse and pith). *Mushrooms: Types, Properties and Nutrition*, Nova Science Publishers, Inc., p. 77-103, 2012.
- AKINDAHUNSI, A.A.; OYETAYO, F.L. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotustuber-regium* (fries) singer. *LWT Food Sci Tech.*, v. 39, p. 548 – 553, 2006.
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: W. Horwitz (Ed.). Gaithersburg, MD, USA.
- BENTO, C. B.P.; SILVA, J. S.; RODRIGUES, M.T.; KASUYA, M. C. M.; H. C. MANTOVANI. Influence of white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. *African Journal of Agricultural Research*. V. 8(28). p. 2724-2732. 2014.

- BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Evaluation of growth and production of *Pleurotus* sp. In sterilized substrates. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.80, n.3, p. 318-324, 2013.
- CARMO, D.L.; SILVA, C.A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 36, p. 1211-1220, 2012.
- CARVALHO, C.S.M.; AGUIAR, L.V.; SALES-CAMPOS, C.; ALMEIDA MINHONI, M.T.; ANDRADE, M.C. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. Braz. J. Microbiol., p. 819–826, 2012.
- CARVALHO, C.S.M.; DE AGUIAR, L.V.B.; SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. Cultivo in vitro de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira. Ambiente, v.9, n.3, 651-660, 2013.
- CHANAKYA, H.N.; MALAYIL, S.; VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agroresidues. Energy for Sustainable Development, v. 27, p. 84-92, 2015.
- CONDÉ, V. F.; OLIVEIRA, J. E. Z.; OLIVEIRA, D.M. F. Farinha de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (cogumelo Hiratake) enriquecido em ferro. Ciência e Natura. v.39. p. 01 – 06. 2017.
- CORRÊA, R.C.G.; BRUGNARI, T.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M.; FERREIRA, I.C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. Trends in Food Science & Technology, v. 50, p. 103 - 117, 2016.
- DAY, L. Proteins from land plants–Potential resources for human nutrition and food security. Trends in Food Science and Technology, 32, 25-42, 2013.
- EIRA, A.F. Fungos comestíveis. In: ESPÓSITO, E.; Azevedo, J.L. (Ed.). Fungos uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: Educs, Cap.12, p.379-448, 2004.
- FAO- (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Disponível em:<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em 18 de Julho, 2017.

- FERNANDES, Â.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I.C. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. Food chemistry, v. 169, p. 396-400, 2015.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIRÓ, G.G.; GRACIOLLI, L.A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.
- FONSECA, T.R.B.; BARRONCAS, J.F.; TEIXEIRA, M.F.S. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta amazônica. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 08, p. 1227-1236, 2014.
- GIRMAY, Z.; GOREMS, W.; BIRHANU, G.; ZEWDIE, S. Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. AMB Expr, v. 6, n. 87, 2016.
- HOA, H.T.E; WANG, C.L. Effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). Mycobiology, v. 43, n. 14-23, 2015.
- IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro, v. 29, p. 1-83, 2017.
- KOUTROTSIOS, G.; KONSTANTINOS, C.M.; IORDANIS, C.; Georgios, I.Z. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi- Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. Food chemistry, v. 161, p. 127-135, 2014.
- MICHAEL, H.W.; BULTOSA, G.; PANT, L.M. Nutritional contents of three edible oyster mushrooms grown on two substrates at Haramaya, Ethiopia, and sensory properties of boiled mushroom and mushroom sauce. International Journal Food Science. Technology., v. 46, p. 732–738. 2011.
- MORORÓ, R.C. Aproveitamento dos Derivados do cacau, Subprodutos e Resíduos do Cacau. In: Raul René Valle. (Org.). Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacaueiro. 1ed.Itabuna, v. 1, p. 204-260. 2006.

- MORORÓ, R.C. Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau. III Congresso brasileiro do cacau “inovação tecnológica e sustentabilidade”. Ilhéus-BA, Novembro, 2012.
- MUDAKIR, I.; SRI HASTUTI, U.; ROHMAN, F.; GOFUR, A. The Effect of Cocoa Pods Waste as a Growing Media Supplement on Productivity and Nutrient Content of Brown Oyster Mushroom (*Pleurotus cystidiosus*). *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. v.4, n, 26. pp. 134-140, 2014.
- PALHETA, R.A.; VIEIRA, J.N.; NEVES, K.C.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Crescimento micelial vertical de duas espécies de *Pleurotus* em resíduo agroindustrial da Amazônia utilizando planejamento fatorial. *Caderno de Pesquisa, Série Biologia*, v.23, n.3, p.52-60, 2011.
- PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.73, n.2, p.219-225, 2006.
- POKHREL, C.P., KALYAN, N., BUDATHOKI, U., YADAV, R.K.P. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* using different agricultural residues. *IJAPR.*, v.1, p. 19–23, 2013.
- REIS, M.F.; DUCCA, F.; FERDINANDI, D.M.; ZONETTI, P.C.; ROSADO, F.R. Análise se substrates alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida*. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.3, n .2, p. 79-91. 2010.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v. 30, p. 507-512,1974.
- SILVA NETO, P. J. et al. Sistema de produção de cacau para a Amazônia brasileira. Belém, CEPLAC, p.125, 2001
- SILVA, R.B.; FONTES, C.M.A.; LIMA, P.R.L.; GOMES, O.F.M.; LIMA, L.G.L.M.; MOURA, R.C.A.; TOLEDO FILHO, R.D. Cinzas de biomassa geradas na agroindústria do cacau: caracterização e uso em substituição ao cimento. *Ambiente Construído*, v.15, p 321-334, 2015.
- SODRÉ, G. A.; VENTURINI, M. T.; RIBEIRO, D. O.; MARROCOS, P. C. L. Extrato da casca do fruto do cacaueiro como fertilizante potássico no crescimento de mudas de cacaueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 3, p. 881-887, 2012.

- SOFI, B.; AHMAD, M.; KHAN, M. Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. African Journal of Microbiology Research, v. 8, 14, p. 1474 – 1479, 2014.
- VALVERDE, M.E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. International Journal of Microbiology, v. 1, p. 14, 2015.
- WANG, S.; XU, F.; LI, Z.; ZHAO, S.; SONG, S.; RONG, C.; LIU, Y. The spent mushroom substrates of *Hypsizigus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. Scientia Horticulturae, v. 186, p. 217-222, 2015.
- WISBECK, E.; ALVES, E.P.; LIMA, S.G.D.; GERN, R.M.M.; SILVEIRA, M.L.L.; FURLAN, S.A. Maintenance culture medium and inoculum based on peach palm leaves for *Pleurotus* spp. production. Arquivos do Instituto Biológico, v. 83, 2016.
- YANG, D.; LIANG, J.; WANG, Y.; SUN, F.; TAO, H.; XU, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, Z.; HO, C.; WAN, Xi. Tea waste: an effective and economic substrate for oyster mushroom cultivation. J Sci Food Agric. V. 96. p. 680–684. 2016.
- ZHANG, R.Y.; HU, D.D.; MA, X.T.; LI, S.G.; GU, J.G.; HU, Q.X. Adopting stick spawn reduced the spawn running time and improved mushroom yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. Scientia Horticulturae, v.175, p. 156-159, 2014.

ARTIGO 4

DIFERENTES TIPOS DE INÓCULO (SEMENTE OU *SPAWN*) NA COLONIZAÇÃO E PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Bioscience Journal, em versão na língua inglesa.

Diferentes tipos de inóculo (*spawn*) na colonização e produção de *Pleurotus ostreatus*

Autores: Rafael Mota da Silva; Filipe Costa Lima; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

RESUMO: A produção de cogumelos inclui etapas importantes que vão desde a inoculação e colonização do substrato até a emissão de primórdios e a colheita. O menor período de colonização influencia na morfologia dos corpos de frutificação, no menor nível de contaminação e conseqüentemente, em uma melhor produtividade de cogumelos. O objetivo foi avaliar a colonização e a produção do cogumelo *Pleurotus ostreatus* mediante o uso de diferentes tipos de inóculo (semente ou *spawn*). O inóculo denominado de semente ou *spawn* foi produzido com estacas de flecha de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm), de eucálio (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden) e de gliricídia (*Gliricidea sepium* Jacq. Walp.), em sementes de sorgo e no substrato de produção. O substrato foi formulado com resíduos da extração e processamento da fibra de sisal e do tegumento da amêndoa de cacau. As sementes produzidas em estacas apresentaram os melhores resultados para o tempo de colonização do substrato, proporcionando uma redução de 37.5% e 20.83% no período de colonização total do substrato de produção de cogumelos, quando comparados com a semente produzida no substrato de cultivo e em sementes de sorgo, respectivamente. A eficiência biológica, produtividade e rendimento dos tratamentos com estacas aumentaram em média 26.2 a 35%; 7.06 a 9.36%, e 70.5 a 93.9 g kg⁻¹ de substrato, quando comparados respectivamente aos tratamentos inoculados com semente de sorgo e com substratos colonizados. A análise centesimal dos cogumelos evidenciou que os teores de proteínas, gordura, fibra e carboidrato não sofreram alterações, em função dos diferentes tipos de semente. Portanto, a utilização de estaca semente é uma alternativa viável e eficaz para a produção de cogumelos comestíveis da espécie *P. ostreatus*.

Palavras – chave: cogumelos comestíveis; estaca semente; eficiência biológica.

Different types of spawn in the colonization and production of *Pleurotus ostreatus*

Autores: Rafael Mota da Silva; Filipe Costa Lima; Cristiano Oliveira do Carmo; Elizabeth Amélia Alves Duarte; Ana Cristina Fermino Soares.

ABSTRACT: Mushroom production includes important steps ranging from inoculation and colonization of the substrate to the emission of primordia and harvesting. The lower colonization period influences the morphology of fruiting bodies, the lower level of contamination and, consequently, the better productivity of mushrooms. Considering that the colonization and production of the mushroom *Pleurotus ostreatus* was evaluated by the use of different types of inoculum (seed or spawn). The so-called seed or spawn inoculum was produced with sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm), eucalyptus (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden) and gliricidia (*Gliricidea sepium* Jacq. Walp.) Seedlings in sorghum seeds and the production substrate. The substrate was formulated with residues from the extraction and processing of sisal fiber and cocoa nut integument. The seeds produced in cuttings presented the best results for the time of colonization of the substrate, providing a reduction of 37.5% and 20.83% in the period for total colonization of the substrate in the production of mushrooms, when compared to the seed produced in the substrate and seeds of sorghum, respectively. The biological efficiency, productivity and yield of cutting treatments increased by an average of 26.2 - 35%; 7.06 - 9.36%, and 70.5 - 93.9 g kg⁻¹ substrate, when compared to treatments inoculated with sorghum seed and with colonized substrates. The centesimal analysis of the mushrooms showed that the protein, fat, fiber and carbohydrate contents did not change due to the different types of seeds. Therefore the use of seed cutting is a viable and effective alternative for the production of edible mushrooms of the *P. ostreatus* species.

Keywords: edible mushrooms; seed stakes; biological efficiency.

INTRODUÇÃO

Os cogumelos são largamente consumidos em virtude dos seus atributos culinários, alto valor nutricional, características nutracêuticas, valor organoléptico e propriedades medicinais (Chang e Miles, 2008; Valverde et al., 2015). Milhões de toneladas de cogumelos são consumidos anualmente em todo mundo e a comercialização mundial de cogumelos comestíveis, medicinais e selvagens movimenta cerca de 45 bilhões de dólares americanos, com 30 bilhões correspondendo a comercialização de cogumelos comestíveis (INPA, 2016).

Existem aproximadamente 140.000 espécies de cogumelos descritas, com 2.000 dessas consideradas comestíveis e 700 com propriedades farmacológicas elucidadas. No entanto, apenas 25 espécies são cultivadas comercialmente (Valverde et al., 2015). Dessas espécies o *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Emil J. Imbach. conhecido como champignon de Paris, *Lentinula edodes* (Berk.) conhecido como shiitake e o *Pleurotus ostreatus* (Jacq.exFr.) P.Kumm. conhecido como cogumelo ostra são os mais produzidos e consumidos a nível mundial (Corrêa et al., 2016).

O maior produtor de cogumelos comestíveis e trufas do mundo é a china com 7.786.368 de toneladas produzidas no ano de 2016 (FAO, 2016). No Brasil, a produção de cogumelos ainda é muito pequena, quando comparada aos países europeus e asiáticos, chegando aproximadamente 12.744 toneladas por ano. Entretanto, essa produção vem crescendo em diversos estados do país como São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco, Brasília e Rio Grande do Sul (INPA, 2016; Gomes et al., 2016).

A colonização e produção dos cogumelos comestíveis em escala comercial são influenciadas diretamente por alguns fatores como condições ambientais, características genéticas do fungo e fatores físicos, químicos, nutricionais e microbiológicos do substrato (Pardo et al., 2002). Além desses, alguns autores incluem também a suplementação, a granulometria, forma de inoculação e tipo de inóculo como fatores preponderantes na produção (Wang, 2015; e Zhang et al., 2014).

A escolha do material mais adequado para a produção do inóculo semente ou *spawn* é essencial na produção de cogumelos comestíveis (Sagir e Yildiz,

2004). A produção de semente *spawn* tem sido uma das principais preocupações no cultivo de cogumelos em condições de ambiente controlado (Sofi et al., 2014).

Diversos materiais lignocelulósicos podem ser utilizados para o preparo de inóculo de cogumelos e substratos para o cultivo de cogumelos, a exemplo de palha de arroz, serragem, capim elefante, folhas de bananeira e polpa de café (Obodai et al., 2003; Hernández et al., 2003). O *spawn* sólido é produzido com diversos grãos (centeio, milho, sorgo, arroz) ou materiais lignocelulósicos como serragem e resíduos agrícolas (Zhang et al., 2014).

Na maioria dos casos, o grão esterilizado é a matriz de suporte mais utilizada devido às suas propriedades bioquímicas e por ser mais prático em relação aos demais (Siddhant et al., 2013). No entanto, a crescente demanda por grãos na alimentação humana reduz a disponibilidade para esse fim. Uma nova alternativa na produção de *spawn* sólido é a utilização de estacas vegetais. A adoção desse tipo de *spawn* (*stick spawn*) por Zhang et al. (2014) permitiu redução no tempo de colonização e aumento do rendimento de basidiocarpos, bem como a melhoria na eficiência de produção de *Pleurotus eryngii* em ambiente controlado.

Portanto a utilização de materiais sólidos para a produção de *spawn* é uma alternativa que visa reduzir a dependência da utilização de grãos além de possibilitar a redução de custos na produção do inóculo. Face ao exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os diferentes tipos de inóculos (semente ou *spawn*) na colonização e produção de *P. ostreatus* e suas características nutricionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolado de *Pleurotus ostreatus*

Foi utilizado o isolado de *P. ostreatus* (Plo 02), pertencente à coleção de fungos do Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa - UFV. Este isolado foi conservado pelo método de Castellani a 4°C e é reativado semestralmente. Para reativação da cultura, um fragmento da colônia de *P. ostreatus* foi transferido para o centro de uma placa de Petri contendo BDA a qual foi incubada durante sete

dias em B.O.D. a 25°C.

Preparo do substrato de cultivo

Para o preparo do substrato foram utilizados o resíduo sólido resultante do desfibramento de folhas de sisal e o resíduo do beneficiamento das fibras secas (popularmente chamado de pó de bateadeira). Fez-se a mistura dos resíduos na proporção de 70% de resíduo da folha com 30 % de resíduo em pó da fibra. A essa mistura de (76%) foram acrescentados 1% (p/p) de CaCO₃, 3% de carvão mineral, 20% de resíduo de película da amêndoa do cacau. O conteúdo de água no substrato foi ajustado para 70%. O substrato homogeneizado foi colocado em sacos de polietileno com filtro microbiológico e esterilizado em autoclave por 55 minutos a 121°C a 1 atm.

Preparo das sementes (*spawn*)

Para o preparo do inóculo foram utilizados diferentes tipos de materiais sólidos: sementes de sorgo; substrato de cultivo (proporção de 70/30 de resíduo de folhas de sisal e pó de bateadeira, 3% de carvão e 2% de cal); estaca da flecha de sisal, estaca de gliricídia e estaca de eucalipto. A escolha dos materiais para utilização na fabricação das estacas foi em virtude da disponibilidade e proximidade com os possíveis polos de produção.

As sementes de sorgo foram submersas em água durante 2 horas e em seguida coadas em peneira para drenar o excesso de água. Os grãos de sorgo foram envasados frascos de vidro (100 g de grãos de sorgo por frasco).

Para a produção de estacas foram utilizadas estacas de flechas de sisal, gliricídia e eucalipto com 15 cm de comprimento e diâmetro médio de 0.8 cm. As estacas foram submersas durante 12 horas em água, drenadas e em seguida colocadas separadamente em sacos de polietileno, com filtro microbiológico (cada saco contendo 20 estacas de uma espécie vegetal). Fez-se a pulverização do substrato de produção de cogumelos, entre as estacas no saco, para auxiliar na colonização inicial das mesmas (Zhang et al., 2014).

Os frascos de vidro contendo os grãos de sorgo e os sacos com estacas foram fechados e esterilizados em autoclave por 55 minutos a 121°C. Após o

resfriamento, os mesmos foram inoculados com três discos da cultura de *P. ostreatus* crescida em placas de Petri com meio BDA por sete dias, à temperatura de 25°C. Os sacos e frascos de vidro com os inóculos foram incubados a 25°C durante 15 e 20 dias, respectivamente, em local com ausência de luz.

Para a produção de inoculo em substrato foi utilizado o próprio substrato de cultivo, nos sacos sanfonados e com filtro biológico. Após o processo de esterilização e resfriamento, o substrato foi inoculado com três discos da cultura de *P. ostreatus* retirados das colônias crescidas em placas de Petri com meio BDA por sete dias a temperatura de 25°C. Os sacos foram incubados a 25±2°C durante 20 dias em local com ausência de luz.

Produção (inoculação, colonização e frutificação)

Os sacos contendo o substrato de crescimento foram inoculados com os diferentes tipos de inóculos (*spawn*): semente de sorgo (15 g/saco), substrato (15 g/saco), estaca de flecha de sisal (1 estaca/saco), estaca de gliricídia (1 estaca/saco) e estaca de eucalipto (1 estaca/saco). Após a inoculação, os sacos foram transferidos para a sala de colonização a 25±2°C na ausência de luz, até completa colonização do substrato.

Após a colonização do substrato, os sacos foram transferidos para a sala de frutificação e submetidos a um choque térmico, por meio da diminuição da temperatura ambiente para 20°C com o uso do sistema de nebulização. Foram feitos 12 cortes laterais equidistantes por saco, com um bisturi, para a emissão dos corpos de frutificação. A temperatura foi mantida a 25±2°C e a umidade entre 90 - 95%, na sala de frutificação até o fim da produção.

As colheitas foram realizadas duas vezes ao dia, quando os basidiocarpos apresentavam uma conformação do píleo quase plana, sendo este o ponto de colheita. Posteriormente foi quantificado quanto ao peso, número de cachos, número de basidiocarpo, tamanho médio do estipe e diâmetro médio do píleo.

Parâmetros avaliados

Tempo de colonização e Crescimento diário (CD)

O tempo de colonização foi expresso em quantidade de dias necessários para total colonização do substrato.

O crescimento diário é definido pela capacidade de colonização do substrato pelo microrganismo. Dessa forma, o crescimento diário foi calculado dividindo-se a altura do substrato colonizado pela quantidade de dias requerida para total colonização.

Vigor micelial

O vigor micelial foi avaliado conforme descrito por Palheta et al. (2011), a partir da análise qualitativa do adensamento do micélio fúngico, sendo o micélio fúngico definido como fracamente adensado, mediamente adensado e fortemente adensado.

Eficiência biológica (EB) e Rendimento (R)

A eficiência biológica (EB) é determinado pela capacidade do fungo em bioconverte o substrato seco em massa de cogumelo fresco e foi calculada pela seguinte equação: Eficiência biológica EB (%) = (Peso de cogumelo / Peso de substrato seco) × 100 (Kurt e Buyukalaca, 2010).

O rendimento expressa a capacidade de produção de cogumelos a partir do substrato de cultivo, sendo calculado em gramas de cogumelo produzido em um quilo de substrato. $R = (\text{Peso do cogumelo fresco em (g)} / \text{peso do substrato úmido})$.

Taxa de produtividade (TP) e Percentagem de produtividade (P)

Expressa a capacidade de produção de cogumelos por dia. A taxa de produtividade foi calculada conforme Oliveira (2007), dividindo a eficiência biológica pela quantidade de dias de colheita dos corpos de frutificação, conforme a seguinte equação: $TP = (\text{Eficiência biológica} / \text{número de dias de colheita})$.

A percentagem de produtividade é expressa pela capacidade de produção

de cogumelo fresco a partir do substrato fresco segundo Oliveira (2007). $P (\%) = (\text{Peso fresco do cogumelo} / \text{peso do substrato úmido}) \times 100$.

Composição centesimal dos basidiomas

Os basidiomas foram desidratados em estufa de ventilação forçada a 45°C até atingirem peso constante e em seguidas triturados em moinho de faca para realizar as análises nutricionais.

As análises de teores de umidade (UM), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e teor de fibra bruta foi realizada de acordo com as metodologias descritas pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (1997). A proteína foi determinada pelo Método de Kjeldahl, utilizando o fator de correção 4,38 (Furlani e Godoy, 2005). Já o teor de carboidratos totais foi calculado por diferença (100 g – Fibras totais, proteínas, gorduras e cinzas).

Análise estatística

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 10 repetições para os dados de colonização e produção de basidiocarpo. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA e pelo agrupamento de médias de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade, no programa estatístico SISVAR (Ferreira 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tempo de colonização

Foi possível observar que o crescimento micelial no substrato durante o período de colonização foi influenciado pelos diferentes tipos de inóculo (*spawn*). Os inóculos produzidos com estaca foram mais eficientes que os inóculos produzidos com semente de sorgo e substrato. Não houve diferença significativa entre inóculos produzidos com estaca de flecha de sisal, de eucalipto e de gliricídia. No entanto, os mesmos diferiram dos tratamentos inoculados com sementes de sorgo e substrato. O inóculo produzido com semente de sorgo foi superior ao inóculo produzido com substrato (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação do tempo de colonização (TC) e crescimento diário (CD) no crescimento micelial de *P. ostreatus* inoculado com diferentes tipos inóculos (*spawn*).

Inóculos (<i>spawn</i>)	TC (dias)	CD (cm)
Estaca de flecha de sisal	15 a	1.2 a
Estaca de eucalipto	15 a	1.2 a
Estaca de gliricídia	15 a	1.2 a
Semente sorgo	20 b	0.9 b
Substrato	24 c	0.75 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade.

Com relação ao tempo de colonização verificou-se uma redução de 37.5% e 25% no tempo de colonização entre os tratamentos que utilizaram inóculos de estaca (flecha de sisal, eucalipto e gliricídia) e os inoculados respectivamente com inóculo de substrato e de grãos de sorgo (Tabela 1). O período de colonização do substrato foi em média de 15 dias para os tratamentos com inóculo estacas.

Em bagaço de bocaiuva e de cana-de-açúcar a completa colonização dos substratos por *P. ostreatus* ocorreu 52 dias após a inoculação (Cardoso et al., 2013). A colonização de substrato de palha de trigo inoculado com *spawn* de semente de trigo levou de 21 a 28 dias (Koutrotsios et al., 2014). Zhang et al. (2014) avaliaram os efeitos da utilização da semente estaca na redução do tempo de colonização de *Pleurotus eryngii* e obtiveram uma redução de 43.8% no tempo de colonização quando comparado à utilização de *spawn* produzido com substrato. Dias et al. (2003) relataram que a rápida colonização é uma característica vantajosa, pois reduz a perda de substrato por contaminantes e favorece o encurtamento nos períodos de incubação e frutificação.

No substrato inoculado com o *spawn* produzido em estacas foi observado um maior crescimento micelial diário em relação aos demais tratamentos seguidos do inóculo produzido com grãos de sorgo (Tabela 1), resultando na diminuição da quantidade de dias requeridos para a total colonização do substrato.

No período de colonização do substrato por *P. ostreatus* inoculado com diferentes tipos inóculos (*spawn*) foi possível visualizar diferenças no padrão de colonização dos diferentes tratamentos, principalmente para os tratamentos inoculados com estaca, em relação aos de grãos de sorgo e substrato. Com a

utilização do inóculo de estacas o micélio do fungo se desenvolveu de maneira mais uniforme e em todas as direções, pois este coloniza do centro para as extremidades do substrato.

Entretanto, no substrato inoculado com o *spawn* produzido com semente de sorgo e substrato, o crescimento e desenvolvimento do micélio ocorre de uma outra maneira, como o inóculo é colocado na parte superior do substrato, o micélio se desenvolve verticalmente até atingir o fundo do saco, completando assim a colonização. Dessa forma, o crescimento micelial é heterogêneo e no final do processo, a parte superior do substrato apresenta micélio mais desenvolvido do que na parte inferior do substrato (Figura 2). Observa-se que inóculo com estaca de glirícidia possibilitou a colonização completa do substrato, mas não muito densa (Figura 2).

A redução do tempo de colonização nos tratamentos com inóculo estaca é devida a homogeneidade do crescimento do micélio no substrato. Quando se utiliza esse tipo de *spawn* a área de contato do micélio com o substrato é maior e mais uniforme.

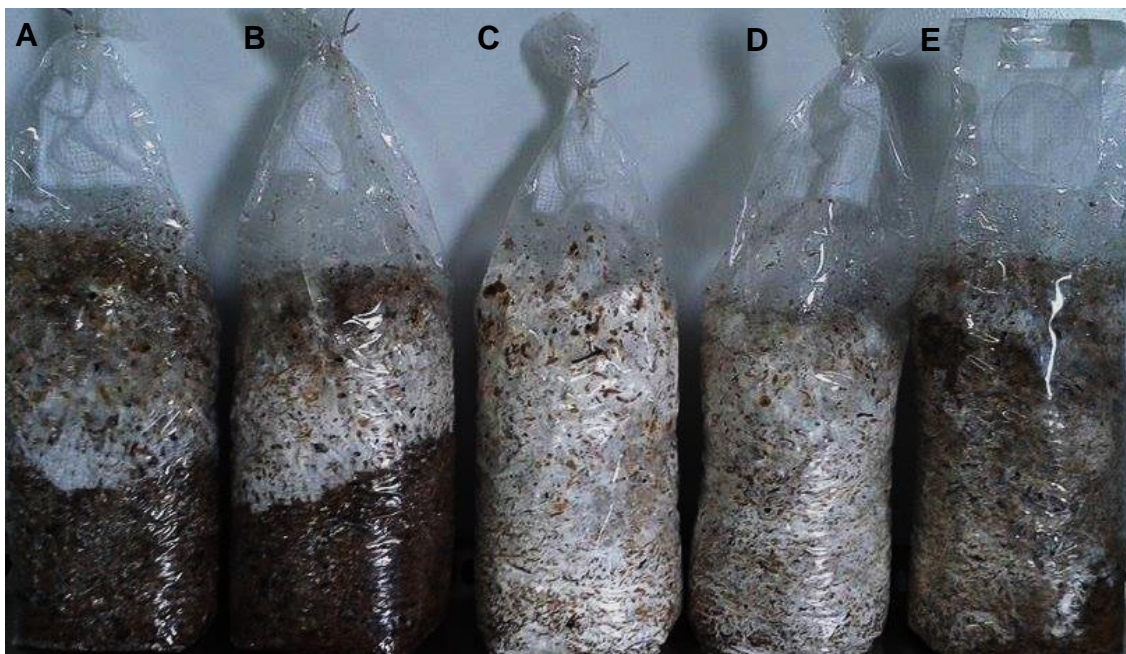


Figura 2: Colonização micelial do *P. ostreatus* em substrato inoculado com diferentes tipos de inóculo semente (*spawn*), (A) substrato, (B) semente de sorgo, (C) estaca de Flecha de sisal, (D) estaca de eucalipto e (E) estaca de glirícidia, respectivamente da esquerda para direita. Colonização referente ao 15º dia após a inoculação.

Vigor micelial

O vigor micelial foi avaliado a partir de uma análise qualitativa, observando o adensamento do micélio no substrato colonizado. Esta avaliação do vigor foi realizada ao 7º e 15º dias após inoculação dos substratos, permitindo a visualização da diferença entre os tipos de inóculos (*spawn*). Na segunda avaliação, realizada ao 15º dia após inoculação, foi possível observar um micélio fortemente adensado para os tratamentos inoculados com estaca de flecha de sisal e eucalipto (Figura 2).

O tratamento inoculado com as estacas de gliricídia proporcionou um micélio pouco adensado. Os substratos inoculados grão de sorgo e de substrato de cultivo não foram completamente colonizados, embora apresentaram um micélio fortemente adensado (Figura 2).

A utilização de inóculo do tipo semente estaca permite além da redução do tempo de colonização dos substratos, maior homogeneidade micelial em termos de crescimento como observado por Zhang et al., (2014). Esse crescimento micelial, precoce e homogêneo influencia na indução dos primórdios e produção dos basidiomas (Palheta et al., 2011). Estes autores observaram um vigor micelial expressivo de *P. ostreatus* com a utilização de substratos obtidos a partir de resíduos florestais mais farelo de cereal como suplemento. Marino et al., (2008) cultivaram diferentes isolados de *P. ostreatus* em substrato produzido com serragem da casca de coco suplementado com diferentes porcentagens de farelo de trigo e arroz e obtiveram um desenvolvimento micelial medianamente adensado.

Eficiência biológica

A eficiência biológica de *P. ostreatus* cultivado em substrato inoculado com semente de estaca de flecha de sisal e eucalipto foi de 103.6% e 106.2%, respectivamente. Tais tratamentos diferiram significativamente quando comparados aos de semente de estaca de gliricídia, grão de sorgo e substrato de resíduo de sisal, os quais apresentaram respectivamente as seguintes médias de eficiência biológica 92.9%, 74.7% e 65.7%. (Figura 3).

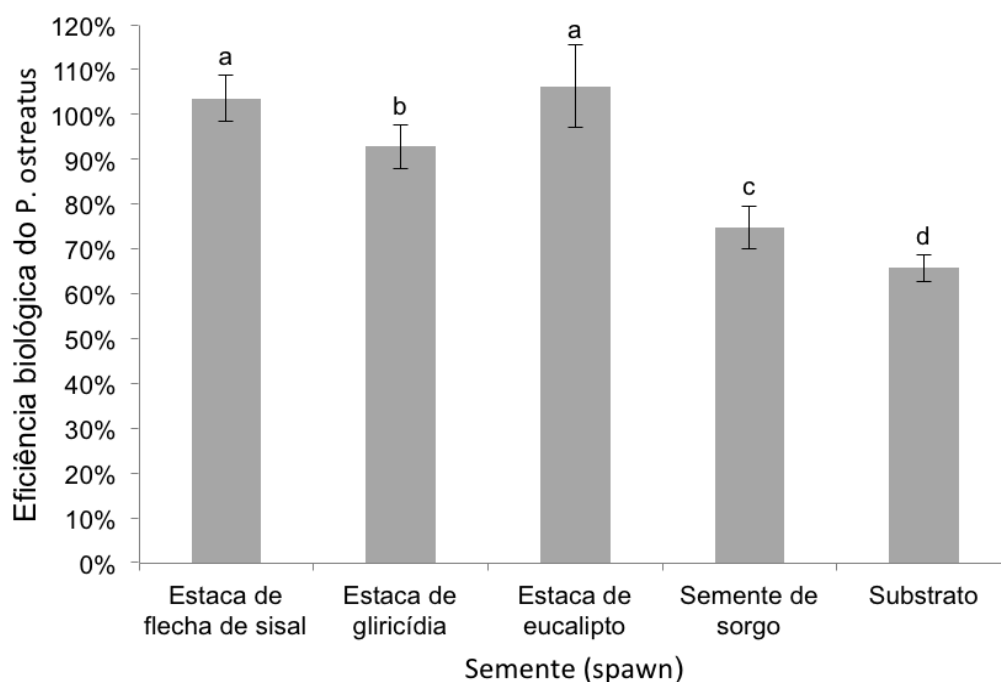


Figura 3. Eficiência biológica do *P. ostreatus* inoculado com diferentes tipos de sementes (*spawn*).

Pesquisas desenvolvidas por Sofi et al. (2014) avaliaram a eficiência biológica do *P. ostreatus* em substratos de resíduo de papel, palha de trigo e sobras de madeira com palha trigo, obtendo 78% de eficiência biológica utilizando *spawn* produzido em semente de trigo. Raymond et al. (2013) obtiveram uma eficiência biológica de 62.9% na produção de *Pleurotus* sp. em substrato com resíduo da folha e troncos de sisal, suplementado com diferentes concentrações de esterco de vaca, utilizando *spawn* produzido em semente de sorgo. No entanto Gambato et al. (2016) trabalhando com resíduo de pinho e maçã inoculado com disco de micélio obteve uma eficiência biológica máxima de 70.4 % de *P. albidus*.

Os tratamentos com semente estaca foram superiores, possibilitando um acréscimo médio na eficiência biológica de 26.2% e 35% quando comparado aos tratamentos inoculados com semente de sorgo e substrato. A maioria dos estudos sobre a produção de *Pleurotus* avalia a eficiência biológica em relação ao tipo de substrato de cultivo. Entretanto, o presente estudo evidencia a importância e influência do tipo de semente na eficiência biológica e na produtividade.

Neste trabalho, essa diferença na eficiência biológica entre os tratamentos com semente estaca e os demais tipos de inóculo pode ser explicada a partir da

colonização do substrato observada nos tratamentos com a semente estaca (*stick spawn*), a qual foi mais rápida e homogênea em relação aos demais tipos de inóculo. Essa homogeneidade na colonização influencia o vigor micelial, que por sua vez influencia a emissão dos primórdios e a produção de basidiomas o que representa boa eficiência biológica. Segundo Bernardi et al., (2009) a busca dessa eficiência é indispensável para à obtenção de sucesso na produção de cogumelos.

Produtividade

Na avaliação da produtividade ficou evidente a eficiência do *spawn* produzido com estacas em comparação ao produzido com grãos de sorgo e substrato de cultivo (Figura 4). Os tratamentos com semente estaca de flecha de sisal e de eucalipto não diferiram entre si, mas ambos diferiram dos tratamentos com semente de estaca de gliricídia, grãos de sorgo e substrato de cultivo (Figura 3).

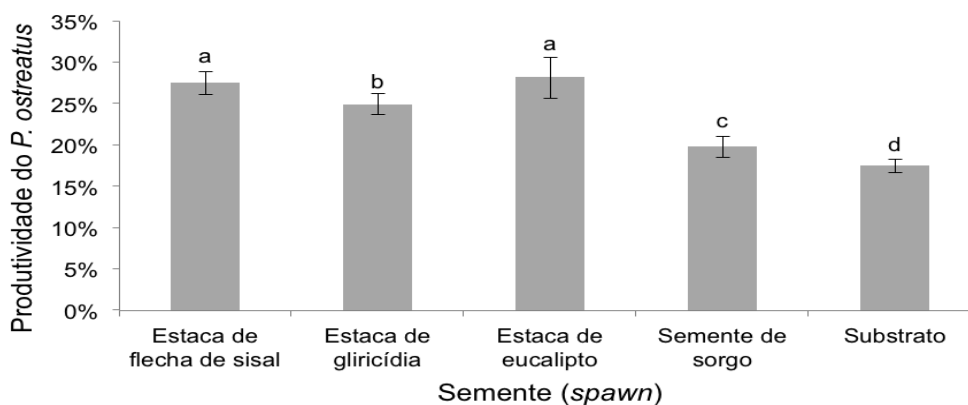


Figura 4. Produtividade do *P. ostreatus* inoculado com diferentes tipos de sementes (*spawn*).

Neste trabalho, a utilização das sementes estacas de flecha de sisal, eucalipto e gliricídia proporcionaram 27.5%; 28.2% e 24.9% de produtividade, respectivamente, enquanto que os tratamentos com inóculo semente produzidos com sementes de sorgo e com o substrato de produção de *Pleurotus* proporcionaram 19.8% e 17.5% de produtividade, respectivamente. Bernardi et al.

(2009) obtiveram uma produtividade de 28.1% para *P. ostreatus* com a utilização de substrato produzido com capim-elefante e *spawn* inoculado com grãos de sorgo.

A produtividade é um fator importante na produção de cogumelos comestíveis sendo bastante influenciada pelas características químicas e físicas do substrato, ambiente de cultivo e potencial genético do microrganismo (Cardoso et al., 2013; Hoa e Wang, 2015). A escolha do substrato de produção e da espécie do fungo para a produção comercial é de fundamental importância para a otimização da produção de cogumelos (Sofi et al., 2014). Entretanto, ficou demonstrado no presente estudo que o tipo de inóculo, com destaque para o inóculo produzido em estaca, também deve ser considerado por influenciar significativamente a produção. O tipo de inóculo é um fator que deve ser levado em consideração num processo de otimização da produção de *Pleurotus* e possivelmente também para outros gêneros e espécies de cogumelos.

A produção de massa fresca em gramas para cada quilo de substrato úmido indicou que os substratos inoculados com "semente" de estaca e *spawn* produzido em grãos de sorgo proporcionaram resultados superiores dos substratos inoculados com "semente" produzido com mesmo substrato usado no cultivo de cogumelo Tabela 2.

Tabela 2. Avaliação do rendimento (R) e taxa de produtividade (TP) na produção de *P. ostreatus* inoculados com diferentes tipos de semente (*spawn*).

Inóculo (<i>Spawn</i>)	R (g kg ⁻¹)	TP (g dia ⁻¹)
Estaca de flecha de sisal	275.3 a	3.9 a
Estaca de eucalipto	282.1 a	4.1 a
Estaca de gliricídia	249.4 b	3.6 b
Semente sorgo	198.4 c	2.8 c
Substrato	174.5 d	2.4 c
CV %	18.18	21.28

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere entre si pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade.

Bernardi (2009) avaliando o cultivo de *P. ostreatus* em capim elefante inoculado com semente de sorgo obteve um rendimento de 281.1 g kg⁻¹. Koutrotsios et al. (2014) encontraram um rendimento de 112 e 119 g kg⁻¹ para o *P.*

ostreatus cultivado em substrato de sabugo de milho e palha de trigo respectivamente, inoculados com *spawn* de semente de trigo.

Na avaliação do rendimento foi evidenciado que os substratos inoculados com "semente" estacas apresentaram um acréscimo médio de 70.5 e 93.9 g kg⁻¹ quando comparado ao substrato inoculados com "semente" de grãos sorgo e de substrato. O substrato preparado com resíduo de sisal e de cacau, utilizando a semente estaca como inóculo proporcionou rendimento superior aos valores relatados na literatura.

O total de dias para a colheita de basidiomas foi de 30 dias para os tratamentos inoculados com "semente" estaca, 25 dias para *spawn* em grãos de sorgo e de 22 dias para *spawn* em substrato. A colheita foi maior nos tratamentos com semente estaca.

Análises Centesimal dos corpos de frutificação de *P. ostreatus*

A tabela 3 apresenta os valores das principais propriedades físico-químicas dos basidiomas de *P. ostreatus* produzidos com diferentes tipos de semente. Os conteúdos de umidade, matéria mineral, proteína bruta, gordura, fibra e carboidrato dos corpos de frutificação do *P. ostreatus* não diferiram em função dos tipos de inóculos semente *spawn* (Tabela 3). Os teores matéria mineral oscilaram entre 7.69% a 8.17%. Com relação aos teores de proteína bruta encontrados no presente trabalho estes variaram entre 22.2% a 24.8%. Os teores de gordura foram de 1.38% a 1.57%. Na avaliação da fibra, foram encontrados valores entre 12.5% e 14.5%. Os teores de carboidrato dos cogumelos variaram entre 52.5% e 55.4% (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de Umidade (UM), Matéria Mineral (MM), Gordura, Proteína bruta (PB), Fibra e carboidratos dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos em substratos a base de resíduos do processamento do sisal e tegumento da amêndoa do inoculados com diferentes tipos de semente (*spawn*): Estaca de flecha de sisal (EFS), Estaca de eucalipto (EEU), Estaca de gliricídia (EGL), Semente sorgo (SSO) e Substrato (SUB) (g em 100 g de matéria seca, média \pm DP, n = 5).

Inóculo (<i>spawn</i>)	UM	MM	Lipídios	PB	Fibra	Carboidrato
EFS	91.8 \pm 0.94a	8.17 \pm 0.69a	1.38 \pm 0.09a	23.2 \pm 1.54a	14.5 \pm 0.11a	52.6 \pm 1.16a
EEU	92.3 \pm 0.96a	7.69 \pm 0.69a	1.57 \pm 0.11a	24.8 \pm 1.81a	13.4 \pm 0.47a	54.5 \pm 1.32a
EGL	92.3 \pm 1.35a	7.70 \pm 1.04a	1.56 \pm 0.01a	23.6 \pm 1.47a	12.5 \pm 0.87a	54.6 \pm 1.12a
SSO	92.2 \pm 0.94a	7.81 \pm 0.41a	1.45 \pm 0.02a	22.2 \pm 1.31a	13.0 \pm 0.62a	55.4 \pm 1.58a
SUB	92.0 \pm 0.43a	8.17 \pm 0.34a	1.54 \pm 0.04a	23.8 \pm 1.61a	14.0 \pm 0.49a	52.5 \pm 1.09a
CV	1.06	13.17	7.01	3.66	6.68	3.18

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Skott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

Ficou evidenciado que os diferentes tipos de inóculo semente não influenciaram nos teores de lipídios, proteína, fibra e carboidrato. No entanto, houve interferência sobre os teores de umidade e matéria mineral dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* (Tabela 3). A composição química de corpos de frutificação de *P. ostreatus* cultivado em substratos de papel em branco e impresso inoculados com grãos de sorgo variou entre 9.7 a 9.3% para proteína; 1.2 a 1.7% para lipídios; 73.2 a 78.9% para carboidratos e 15.9 e 10.5 % para matéria mineral (Fernandes et al., 2015). Oyetayo e Ariyo (2013) encontraram teores de proteína entre 20.03% e 20.11%, carboidrato entre 41.8% e 45.75%, lipídios entre 2.3% e 3.09% e fibra com uma media de 17% em basidioma de *P. ostreatus* cultivado em substrato composto de diferentes resíduos de madeiras.

As características nutricionais encontradas no presente trabalho estão de acordo com a literatura ou mais altas, indicando o potencial da produção de *P. ostreatus* com estes resíduos e com estes tipos de semente. Wang et al. (2015) relataram que o valor nutricional dos cogumelos é diretamente influenciado pela linhagem dos fungos, características dos substratos e as condições ambientais de cultivo. No presente trabalho, a formulação do substrato e o isolado não foram

alterados variando apenas o tipo de inóculo semente *spawn* usado, com resultados significativos na produtividade, sem afetar as características químicas dos basidiomas.

CONCLUSÃO

A utilização de *spawn* produzido em estacas de flecha de sisal, eucalipto e gliricídia (semente estaca) reduziu o período de colonização dos substratos por *P. ostreatus*;

A semente estaca é mais eficiente por promover maior eficiência biológica, produtividade e rendimento de *P. ostreatus* e não altera os teores de gorduras, fibra bruta e proteínas em relação aos outros tipos de *spawn*.

Recomenda-se a utilização da semente estaca no processo de inoculação para produção de *P. ostreatus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: W. Horwitz (Ed.). Gaithersburg, MD, USA.
- BERNARDI, E.; DONINI, L.P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Cultivo e características nutricionais de *Pleurotus* em substrato pasteurizado. FITOTECNIA. Bragantia, v. 4, p. 901-907, 2009.
- CARDOSO, J.C.P.; DEMENJOUR, P.L.M.M.; PAZ, M.F. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bociuiva e de cana-de-açúcar pela técnica jun-caó. Evidência, v. 13, p. 31– 40, 2013.
- CHANG, S.T.; MILES, P.G. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2nd edition, 2008.
- CORRÊA, R.C.G.; BRUGNARI, T., BRACHT, A.; PERALTA, R.M., FERREIRA, I.C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. Trends in Food Science & Technology, v. 50, p. 103-117, 2016.

- DIAS, E.S.; KOSHIKUMO, E.M.S.; SCHWAN, R.F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 27, p. 1363-1369, 2003.
- INPA - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. <http://portal.inpa.gov.br/portal/index.php/ultimas-noticias/914-simposio-internacional-sobre-cogumelos-debate-meios-de-tecnologia-e-producao-para-viabilizar-a-comercializacao>. Acesso em: 20 de agosto de 2017
- FAO Statistics Division 2013 | <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/F>> Acesso em: 02 de fevereiro de 2018.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FERNANDES, Â.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I. C. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm produced using paper scraps as substrate. *Food chemistry*, v. 169, p. 396-400, 2015.
- FURLANI, R.P.; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. *Ciência Tecnologia Alimento*, v. 27, p. 154-7, 2007.
- GAMBATO, G.; TODESCATO, K.; PAVÃO, E.M.; Scortegagna, A.; Fontana, R.C.; Salvador, M.; Camassola, M. Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid-state cultivated macrofungi *Pleurotus albidus* and *Pycnoporus sanguineus*, *Bioresource Technology*, v. 207, p. 46 – 51, 2016.
- GOMES, D.; AKAMATSU, I.; SOUZA, E.; FIGUEIREDO, G. J. B. CENSO PAULISTA DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS E MEDICINAIS. *Pesquisa & Tecnologia*. v. 13. n. 1. 2016.
- HERNÁNDEZ, D.; SANCHEZ, J.E.; YAMASAKI, K. A. Simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Bioresource Technology*, v. 90, p. 145-150, 2003.
- HOA, H.T.E; WANG, C.L. Effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, v. 43, p. 14-23, 2015.
- KOUTROTSIOS, G; MOUNTZOURIS, K.C; CHATZIPAVLIDIS, I; ZERVAKIS, G.I. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi–Assessment of their effect on the final

- product and spent substrate properties. Food chemistry, v. 161, p. 127-135, 2014.
- KURT, S., BUYUKALACA, S. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. Bioresour. Technol., v. 101, p. 3164–3169, 2010.
- MARINO, R.H.; ABREU, L.D.; MESQUITA, J.B.; RIBEIRO, G.T. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer em serragem da casca de coco. Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, p. 29-36, 2008.
- OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K.A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, v. 30, p. 146-149, 2003.
- OLIVEIRA, M.A.; DONEGA, M.A.; PERALTA, R.M.; SOUZA, C.G.M. Produção de inoculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet – CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, p. 84-87, 2007.
- OYETAYO, V.O.; ARIYO O.O. Micro and macronutrient properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Wood Substrates. J. Biol. Sci., v. 6, p. 223–226, 2013.
- PALHETA, R.A.; VIEIRA, J.N.; NEVES, K.C. S.; TEIXEIRA, M.F.S. Crescimento micelial vertical de duas espécies de *Pleurotus* em resíduo agroindustrial da Amazônia utilizando planejamento fatorial. Caderno de Pesquisa, Série Biologia, v. 23, p. 52-60, 2011.
- PARDO, G.J.E.; VALERO, J.A.J.; GIMÉNEZ, A.P. Factores que influyen en la iniciación de la fructificación del champiñón cultivado. I. Factores físicos y ambientales. Factores químicos y nutritivos. ITEA, v. 98, p. 33-43, 2002.
- RAYMOND, P.; MSHANDETE, A.M.; KIVAISI, A.K. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* HK-37) on solid sisal waste fractions supplemented with cow dung manure. Journal of Biology and Life Science, v. 4, p. 273-286, 2013.

- SAGIR, A.; YILDIZ, A. Growth of mycelium of *Pleurotus* spp. on different grains and determination of their competition with some contaminant fungi. *Acta Alimentaria*, Budapest., v. 33, p. 249-257, 2004.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, v. 30, p. 507-512, 1974.
- SOFI, B.; AHMAD, M.; KHAN, M. Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Production, v. 8, p. 1474-1479, 2014.
- VALVERDE, M.E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*, v. 1, p. 14, 2015.
- Wang, S.; Xu, F.; Li, Z.; Zhao, S.; Song, S.; Rong, C.; Liu, Y. The spent mushroom substrates of *Hypsizigus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Scientia Horticulturae*, v. 186, p. 217-222, 2015.
- ZHANG, R.Y.; HU, D.D.; MA, X.T.; LI, S.G.; GU, J.G.; HU, Q.X. Adopting stick spawn reduced the spawn running time and improved mushroom yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. *Sci. Hortic.*, v. 175, p. 156–159, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresenta informações relevantes sobre o potencial de utilização de resíduos agroindustriais de sisal, dendê e cacau para o cultivo do cogumelo comestível *P. ostreatus*. A tecnologia para produção de *P. ostreatus* com estes resíduos está descrita neste trabalho, com informações sobre o ciclo do cultivo, eficiência biológica, rendimento e dados das análises centésimais dos cogumelos produzidos. A produção de *P. ostreatus* em substratos compostos por estes resíduos, além de evitar o seu acúmulo no meio ambiente, poderá gerar uma alternativa de produção de um alimento altamente nutritivo e proporcionar geração de renda e melhoria nas condições de vida dos produtores rurais. Portanto o cultivo de cogumelos ostra em resíduos agrícolas da região sul e do semiárido da Bahia poderá promover mudanças em diversos setores da sociedade como o econômico, social e ambiental.