



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA

**CULTIVO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus* INPA 1467:
PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E MINERAL**

ANNE CAROLINE DANTAS TAVARES

Manaus - Amazonas

2015

ANNE CAROLINE DANTAS TAVARES

**CULTIVO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus* INPA 1467:
PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E MINERAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia - UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, área de concentração: Agroflorestal

ORIENTADORA: Dr.^a CECI SALES-CAMPOS – INPA
COORIENTADOR: Dr. EUSTÁQUIO SOUZA DIAS – UFLA

Manaus - Amazonas

2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Tavares, Anne Caroline Dantas

T231c Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* INPA 1467:

Produção, composição centesimal e mineral / Anne Caroline

Dantas Tavares. 2015

92 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Ceci Sales-Campos

Coorientador: Eustáquio Souza Dias

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Cogumelos ostra. 2. Aproveitamento de resíduos lignocelulósicos.
3. Fungos. 4. Basidiomicetos. 5. Macrofungos. I. Sales-Campos, Ceci II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

*A Deus,
pela esperança que renasce a cada amanhecer,
renovando as forças e a esperança*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, acima de tudo e de todos, por todo o cuidado e proteção, por estar sempre presente em minha vida, enchendo-me de forças para concluir este trabalho e continuar lutando em busca de novos conhecimentos e desafios;

Agradeço a toda minha família, mas principalmente, a minha mãe Orcineia, meu pai Almir, meu irmão Thiago Felipe, minha prima Júlia, meu padrasto Naldo e minhas outras mães: mãe Rosa, mãezinha (Luiza) e tia Orfélia. Apesar de sermos uma família nada convencional, vocês representam o meu “porto seguro”. Obrigada por me incentivarem a alcançar meus objetivos e por todo amor que recebo de vocês;

Agradeço ao meu noivo, Edí, por toda a ajuda, incentivo, paciência, amor e por sempre se fazer presente em cada etapa deste mestrado e da minha vida. Não foi fácil, mas graças a Deus esta etapa está chegando ao seu fim para dar início a outras futuras, e sei que você sempre estará ao meu lado;

Agradeço à minha orientadora Dra. Ceci Sales-Campos pela orientação, incentivo, confiança e paciência no desenvolvimento desta dissertação;

Agradeço ao Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias, pela orientação e acolhimento em seu laboratório, dando-me a oportunidade de desenvolver parte deste trabalho e conhecer melhor um mundo desconhecido para mim até então;

Ao grupo Biofungi-UFLA liderado pelo Prof. Eustáquio: Simone Cristina, Thiago, William, Pedro, Manuela, Lívia, Maiara, Carol Colela, Paulinho, Cibelli, Moysa, Jardany, Jéssica, Carol, Taisa, Thalles, Marcos e Carlos, além da Luciana, Ivanir, D. Luzia e Joel. Agradeço por toda a ajuda e por ter tido o grande prazer de conhecê-los;

Agradeço à Profa. Dra. Lidia Medina Araújo, pela paciência, generosidade, orientações, ensinamentos em momentos em que me senti insegura. Você me deu um norte. Muitíssimo obrigada!

Às Profas. Dras. Ana Lúcia Gomes e Ivone Lopes pela orientação e ensinamentos no estágio docente;

À Dra. Maria Aparecida pelo auxílio e logística com as linhagens de fungos envolvidas neste trabalho e grande ajuda com contatos em Lavras, que me deram ótimas dicas para estadia;

Ao PPGBIOTEC e UFAM, pela oportunidade de estudo e formação profissional. Agradeço ao coordenador Prof. Carlos Gustavo Nunes e a secretária Nubiane Freitas pela compreensão e auxílio nas questões burocráticas; e aos professores da pós-graduação pelos preciosos ensinamentos;

À UFLA, pela oportunidade de interação com esta instituição e boa vontade do pessoal técnico-administrativo, docentes e discentes;

À Capes, pelo financiamento da bolsa de estudos;

À turma do Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis-INPA: Alyne, Andréa e especialmente à Lorena Bentolila, pelas discussões construtivas, ajuda e companheirismo, além da revisão desta dissertação;

Ao Laboratório de Tecnologia do Pescado – UFAM, pela oportunidade de utilizar suas dependências/equipamentos para realizar algumas análises. Agradeço principalmente aos servidores Prof. Inhamuns e o técnico Fábio, bem como, as alunas, Ivana e Bia;

Ao Laboratório Temático de Solos e Plantas – INPA, especialmente a Carol e Edvaldo, pelo grande auxílio e sugestões na realização de análises;

Ao Laboratório de Bioquímica de Alimentos – INPA, em especial ao Jeron, por ser tão solícito no decorrer de análises;

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio pela compreensão e orientação e a suas orientandas Karen, Luciana, Tati, Nara, Fabi, Edilaine, Cassi e Mirna, companheiras de laboratório enquanto estive sob sua orientação;

Às minhas amigas de graduação e da vida, Karen Oliveira, Jeane Lima e Jéssica Souza. Mesmo que, em alguns momentos não possamos estar presentes, sei que torcemos e vibramos pelas conquistas umas das outras;

À amiga Tamiris Fonseca pelo auxílio na revisão desta dissertação e pela amizade;

E finalmente, reforço aqui, meus agradecimentos a TODOS que contribuíram para a realização deste projeto de alguma forma, por mais singela que fosse.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
OBJETIVO GERAL.....	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
CAPÍTULO 1. REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1 Cogumelos comestíveis.....	13
1.2 Composição nutricional de cogumelos comestíveis.....	13
1.3 O gênero <i>Pleurotus</i>	14
1.4 Cultivo de cogumelos comestíveis	16
1.4.1 Compostagem e pasteurização	17
1.4.2 Cultivo axênico.....	18
1.4.3 Imersão em solução alcalina.....	18
1.5 Resíduos agroindustriais no cultivo de cogumelos comestíveis.....	19
1.5.1 Palha de feijão	19
1.5.2 Bagaço de cana-de-açúcar	20
1.6 REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO 2 - Produção de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr) Kummer INPA 1467 em substratos à base palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar	
2.1 INTRODUÇÃO.....	31
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
2.4 CONCLUSÃO.....	50
2.5 REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO 3 – Composição mineral de <i>P. ostreatus</i> (Jacq. ex Fr) Kummer INPA 1467 e substratos de cultivo a base palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar	
3.1. INTRODUÇÃO.....	56
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.4 CONCLUSÃO.....	64
3.5 REFERÊNCIAS	65

CAPÍTULO 4 – Composição centesimal e análise físico-química do cogumelo *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer INPA 1467, matérias-primas e substratos de cultivo formulados à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

4.1 INTRODUÇÃO.....	68
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	69
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
4.4 CONCLUSÃO.....	86
4.5 REFERÊNCIAS	87

RESUMO

Muitos cogumelos possuem alto valor nutritivo e podem ser cultivados em uma ampla gama de substratos lignocelulósicos. *Pleurotus ostreatus* é um cogumelo comestível e pertence ao gênero que é o segundo mais consumido, atrás de *Agaricus bisporus* e *Lentinula edodes*. O macrofungo *P. ostreatus* é de ocorrência cosmopolita e a linhagem INPA 1467 estudada no presente trabalho foi isolada na Amazônia. As culturas de feijão e cana-de-açúcar ocorrem no estado do Amazonas, gerando resíduos com potencial aplicação no cultivo de cogumelos. Esta dissertação foi dividida em quatro capítulos. O primeiro trata da revisão sobre o cultivo de cogumelos, no segundo foi avaliada a produção de *P. ostreatus* cultivado em substratos a base de palha de feijão e cana de açúcar. No teste de corrida micelial foram selecionadas a formulação 3 (40% palha de feijão e 60% bagaço de cana) e formulação 100% palha de feijão. Foram elaborados substratos de cultivo a partir das duas formulações e foram tratados de três diferentes maneiras para controle de micro-organismos competidores: esterilização em autoclave, compostagem e imersão em solução de cal a 2%. Os substratos que apresentaram maior eficiência biológica foram os substratos compostados COMP-3 (83,30%) e COMP-100 (80,49%), porém a perda da matéria orgânica não esteve diretamente relacionada com o índice de produtividade. No terceiro capítulo, foi avaliado o teor de minerais dos cogumelos e dos diferentes substratos nos quais foram cultivados. Durante o cultivo de *P. ostreatus* observou-se a translocação dos macronutrientes (exc. para fósforo) e dos micronutrientes (exc. zinco) dos substratos de cultivo, disponibilizando maior quantidade de minerais para assimilação pelo fungo. O teor de minerais em *P. ostreatus* respeitou a seguinte ordem decrescente para macro elementos: $K > P > Mg > Ca$ e para micro elementos: $Fe > Zn > Na > Mn$. O microelemento Cu apresentou bastante variação. Estes minerais quando ingeridos atuam em diversos processos metabólicos no organismo, tornando-os seu consumo essencial. No quarto capítulo foi avaliada a composição centesimal e físico-química dos cogumelos *P. ostreatus* e dos substratos de cultivo. O teor de proteína variou de acordo com o substrato, apresentando maiores teores em COG-COMP-3 e COG-COMP-100 (9,11% e 9,83%, respectivamente). O valor de proteína obtido pelos cogumelos variou de 7,66 a 9,83. O teor de fibras variou de 23,4 a 44,03%, cinzas (fração mineral fixa) 6,72 a 10,91%. O teor de carboidratos disponíveis variou de 19,1 a 39,91%. Os teores de lipídios foram baixos (2,55 a 3,99%). O cogumelo *P. ostreatus* 1467 apresentou boas características nutricionais, podendo ser introduzido em uma alimentação diária e contribuindo para uma dieta balanceada. **Palavras-chave: Cogumelos ostra, aproveitamento de resíduos lignocelulósicos, fungos, basidiomicetos.**

ABSTRACT

Many mushrooms have high nutritional value and can be grown in a wide range of lignocellulosic substrates. *Pleurotus ostreatus* is an edible mushroom and belongs to the genre which is the third most consumed behind of *Agaricus bisporus* and *Lentinula edodes*. The macrofungus *P. ostreatus* presents cosmopolitan occurrence and INPA 1467 strain studied in this work was isolated in the Amazon. Bean crop and sugarcane occur in the Amazonas State, generating wastes with potential application in mushroom cultivation. This work was divided into four chapters. The first chapter is a review of mushroom cultivation. In the second chapter was evaluated the production of *P. ostreatus* grown on the bean straw and sugar cane-based substrate. Mycelial running test selected formulation 3 (40% bean straw and 60% sugarcane bagasse) and bean straw 100% formulation. Substrates of mushroom cultivation were prepared with the two formulations and processed in three different ways to control competing microorganisms: autoclaving, composting/pasteurization and immersion in a 2% lime solution. The substrates that presented higher biological efficiency were the composted substrates COMP-3 (83,30%) and COMP-100 (80,49%), but the loss of organic matter was not directly related to the productivity. In the third chapter, we evaluated the mineral content in mushrooms and in the different substrates in which it were grown. During cultivation of *P. ostreatus* it was observed mineralization of macronutrients (exc. for phosphorus) and micro (exc. zinc) of cultivation substrate, providing greater amounts of minerals for assimilation by the fungus. The mineral content in *P. ostreatus* respected the following descending order for macro elements: K> P> Mg> Ca and micro elements: Fe> Zn> In> Mn, Cu microelement presented variation. These minerals when ingested, acts in many matabolics processes of our organisms, demonstrating its consume essential. In the fourth chapter was evaluated the proximate and physico-chemical composition of mushroom *P. ostreatus* and substrates of cultivation. The protein content varied according to the media, with higher levels in COG-COMP-3 and COMP-COG-100 (9,11% and 9,83%, respectively). The protein value in mushrooms was 7,66 to 9,83%, fibers ranged from 23,4 to 44,03%, ash (mineral fraction fixed) 6,72 to 10,91%, available carbohydrates was 19,1 to 39,91%. Lipid levels were lower than the others components, ranging from 2,55 to 3,99%. The mushroom *P. ostreatus* 1467 showed good nutritional characteristics and can be entered in a daily food and contributing to a balanced diet.

Key words: oyster mushrooms, use of lignocellulosic waste, fungi, basidiomycetes.

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. <i>Pleurotus ostreatus</i> INPA 1467 cultivado em diferentes substratos	36
Figura 2. Avaliação de crescimento micelial das linhagens Pos 09/100 e INPA 1467 em diferentes tratamentos.	38
Figura 3. Elevação da temperatura por meio de compostagem curta para cultivo de <i>Pleurotus</i>	40
Figura 4. Eficiência biológica media dos diferentes substratos utilizados no cultivo de <i>P. ostreatus</i> INPA 1467.....	44
Figura 5. Perda da matéria orgânica dos diferentes substratos utilizados no cultivo de <i>P. ostreatus</i> INPA 1467	49

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1. Formulações de substratos de cultivo à base de palha de feijão e bagaço de cana 33
- Tabela 2. Avaliação biológica de *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em diferentes substratos 41

CAPÍTULO 3

- Tabela 3. Composição mineral das matérias-primas..... 59
- Tabela 4. Composição mineral de substratos pré-cultivo (iniciais).. 60
- Tabela 5. Composição mineral dos substratos pós-cultivo (exauridos).. 61
- Tabela 6. Composição mineral do cogumelo *P. ostreatus* INPA 1467, cultivado nos diferentes substratos 62

CAPÍTULO 4

- Tabela 7. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N das matérias primas para formulação de substrato de cultivo 74
- Tabela 8. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos substrato iniciais de cultivo (pré-cultivo).. 75
- Tabela 9. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos substrato residuais (pós-cultivo)..... 76
- Tabela 10. Composição centesimal das matérias-primas utilizadas na formulação dos substratos de cultivo.. 78
- Tabela 11. Composição centesimal dos substratos de cultivo iniciais (pré-cultivo) para cultivo de *P. ostreatus* INPA 1467..... 79
- Tabela 12. Composição centesimal dos substratos residuais de cultivo (pós-cultivo) de *P. ostreatus* INPA 1467 80
- Tabela 13. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos cogumelos *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em diferentes substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar..... 82
- Tabela 14. Análise centesimal de *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em diferentes substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar..... 83

INTRODUÇÃO GERAL

Segundo Bento e Casaril (2012), o Brasil é um País cuja economia é baseada em atividades agrícolas e, por conseguinte, torna-se um grande gerador de resíduos agroindustriais que necessitam de destinos adequados, pois, além de gerar potenciais problemas ambientais, representam perdas de matérias-primas e energia, exigindo investimentos em sistemas de tratamentos para controlar a poluição causada pelos resíduos, que em grandes quantidades deterioram o meio ambiente.

Dentro do contexto da região amazônica, encontram-se disponíveis diversos resíduos de natureza lignocelulósica nos setores agroindustrial, agrícola e florestal (SALES-CAMPOS; ANDRADE, 2011) ao passo que, apresenta biodiversidade inigualável despertando interesse mundial a cerca de seus recursos abióticos e bióticos. Destacam-se os micro-organismos, porque apresentam atuação comercial e na indústria, e em específico, os fungos, pois apresentam amplo potencial biotecnológico, comestível e medicinal (SALES-CAMPOS, 2008; TAVARES et al., 2012).

Segundo Ferreira-Leitão (2010) **apud** Bento e Casaril (2012), o cultivo e a utilização de cogumelos comestíveis vêm aumentando nas últimas décadas no Brasil, devido ao seu promissor valor nutricional, descobertas científicas que comprovam atividades medicinais e também pela disponibilidade de resíduos celulósicos com potencial uso no cultivo, consistindo numa fonte de renda para pequenos e médios produtores. Além disto, esta atividade não é apenas mais uma oportunidade de negócio, mas também uma iniciativa que pode fortalecer atividades tradicionais, como a agricultura, além de provocar um impacto positivo ao meio ambiente e contribuir na alimentação.

A utilização de resíduos lignocelulósicos na bioconversão de cogumelos comestíveis é uma ótima e inteligente solução, pois envolve a reciclagem de material de pouco ou nenhum valor na geração de alimentos com alto potencial alimentar e valor agregado, ricos em proteínas, vitaminas, fibras, carboidratos e não engordam porque possuem baixas taxas de lipídios (CHANG, 1980; CHANG; MILES, 1983; CHEUNG, 2008; SALES-CAMPOS, 2008; BENTO; CASARIL, 2012,).

O macrofungo *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer é um cogumelo comestível de ocorrência cosmopolita. Atualmente, seu gênero é o segundo maior grupo de cogumelos mais produzido e consumido mundialmente, atrás de *Agaricus bisporus* (champignon) e seguido por *Lentinula edodes* (shiitake). *P. ostreatus* detém características e propriedades biológicas bastante desejáveis, além de seu delicioso sabor e textura. Sua ocorrência na

Amazônia ainda é pouco estudada e apesar de já existirem esforços, são necessários mais estudos quanto a condições de cultivo utilizando resíduos da agroindústria, para que se estabeleça uma produção estável (SALES-CAMPOS, 2008).

O resíduo mais amplamente utilizado é o bagaço de cana-de-açúcar brasileira, podendo ser aplicado em diversos processos biotecnológicos (SILVA; COSTA; CLEMENTE, 2002) e é encontrado em todas as regiões do Brasil (CONAB, 2013). Outro resíduo é a palha de feijão, acessível em todo o território nacional (FREIRE-FILHO, 2011), tornando-se uma promissora fonte de substrato no cultivo de cogumelos. Estudos envolvendo o cultivo de espécies e linhagens de *Pleurotus* nos resíduos de palha de feijão e cana-de-açúcar de diferentes localidades apresentaram excelentes resultados de produção (DIAS et al., 2003; KIMENJU, 2009; GRACIOLLI; PASCHOALOTO, 2009; SIQUEIRA et al, 2012).

Dentro deste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a produção, características nutricionais e teor de minerais de *P. ostreatus* INPA 1467 (linhagem ocorrente da Amazônia) e Pos 09/100 (linhagem comercial) cultivados em substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de açúcar, resíduos disponíveis no contexto amazônico.

OBJETIVO GERAL

- Avaliar a produção e composição nutricional de *Pleurotus ostreatus* INPA 1467 cultivados em substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar aspectos de produção, Eficiência Biológica e Perda de Matéria Orgânica de *P. ostreatus* INPA 1467 quando cultivados em resíduos de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar;

- Determinar a composição centesimal de *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em resíduos de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar, e destas matérias-primas e substratos formulados;

- Determinar o teor de minerais presente em *P. ostreatus* INPA 1467 nas matérias-primas e substratos de cultivo à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

CAPÍTULO 1 – Revisão de literatura

1.1 Cogumelos comestíveis

Cogumelos são fungos que produzem corpo de frutificação visível ao olho nu, podendo possuir bulbo, estipe (talo), anel e píleo (chapéu), podendo apresentar diferentes formas e coloração, conforme a espécie do cogumelo. Na parte inferior do píleo estão localizadas as lamelas, onde são produzidos basídios e basidiósporos (ALEXOUPOULOS, MIMS; BLACKWELL 1996; PUTZKE, J; PUTZKE, M. T. L., 2002).

Segundo Eira (2010), os cogumelos pertencem ao reino Fungi. A maioria pertence ao filo Basidiomycota, mas também existem outros no filo Ascomycota. De acordo com Oei (2005), a grande maioria é de natureza sapróbia, porém existem parasitas e os que são simbioses micorrízicos.

Existem mais de 12.000 espécies de cogumelos. Além das espécies comestíveis, algumas são venenosas, outras alucinogênicas, e ainda existem as que possuem propriedades medicinais e até afrodisíacas. Mais de 200 espécies têm sido coletadas na natureza e utilizadas para diversos fins medicinais tradicionais, principalmente no Extremo Oriente. Cerca de 300 espécies de cogumelos são comestíveis, mas apenas 30 foram domesticados e dez cultivados comercialmente. No Brasil, as mais produzidas e comercializadas são apenas três espécies de cogumelos comestíveis: *Lentinula edodes* (shiitake), *Pleurotus* spp. (shimeji, hiratake ou houbitake) e *Agaricus bisporus* (champignon de Paris). Este último, o famoso champignon, foi o primeiro a ser cultivado no Brasil e é o mais cultivado e consumido no mundo (CHANG; MILES, 2004; CHEUNG, 2008; EIRA, 2010; SANCHÉZ, 2010).

1.2 Composição nutricional de cogumelos comestíveis

Cogumelos são apreciados pelo seu sabor incomparável. Além disto, apresentam ótimas características nutricionais: baixo teor de lipídios e alto conteúdo de proteína e vitaminas do grupo A, B6, B12, C e E, além de minerais, como magnésio, fósforo, zinco e cálcio (FURLANI; GODOY, 2007; SCHNEIDER et al., 2011; NAZ, 2014;). O consumo de cogumelos como parte de nossa dieta diária também pode facilmente fornecer até 25% das recomendações de fibras (CHEUNG, 2008). De acordo com Cardoso, Demenjour e Paz (2013), os cogumelos comestíveis possuem alto valor nutricional, além de inúmeras propriedades terapêuticas e aplicações biotecnológicas. São alimentos muito apreciados desde a idade antiga por se acreditar em seu elevado valor nutricional e em seu potencial medicinal.

A composição química dos cogumelos varia de acordo com a espécie, linhagem e estágio de desenvolvimento do basidioma e substrato em que o cogumelo é cultivado podendo alterar o teor de proteínas e minerais, além de influenciar o aroma e paladar. A técnica de colheita e processamento pós-colheita também podem influenciar na composição química (FURLANI; GODOY, 2005; OEI, 2005; SÁNCHEZ, 2010).

A comprovação do alto teor de componentes nutritivos, além de suas qualidades organolépticas e gastronômicas, tem colocado os cogumelos dentre os mais excelentes alimentos, e estimulado cada vez mais, o seu consumo pela população em geral (FURLANI; GODOY, 2005; CHEUNG, 2008).

Furlani e Godoy (2006) relatam que os cogumelos são considerados como alimentos nutracêuticos, estimulando os produtores brasileiros na busca de técnicas mais produtivas e na introdução de outras espécies promissoras. A evolução do cultivo dos cogumelos no Brasil vem crescendo, já que a cultura possibilita utilizar resíduos agrícolas e agroindustriais, com pouco ou nenhum custo, algo economicamente viável. Sob o ponto de vista nutricional, devido ao alto valor proteico, o cultivo dos cogumelos tem sido apontado como uma alternativa para acrescentar a oferta de proteínas aos países com alto índice de desnutrição. A utilização de certas espécies, em forma de chá ou cápsulas, como preventivo de algumas doenças, também despertou a importância na produção de cogumelos (SALES-CAMPOS, 2008).

Segundo Barros et al., (2008) um nutracêutico pode ser definido como uma substância que pode ser considerado um alimento ou parte de um alimento que fornece benefícios para a saúde, atuando na prevenção e tratamento de doenças. Nutracêuticos abrangem uma gama de nutrientes isolados e suplementos dietéticos, plantas medicinais e produtos processados, como cereais, sopas e bebidas. Alguns exemplos de nutracêuticos nutritivos são fibras dietéticas, proteínas, peptídeos, aminoácidos, minerais, vitaminas e antioxidantes.

Cogumelos têm sido valorizados como remédios naturais e manutenção da boa saúde por milhares de anos e em muitos países são extremamente populares. A ingestão desses alimentos pode ser introduzida em nossa dieta diária em prol de contribuir com organismo na prevenção e combate de infecções, usufruindo das vantagens dos efeitos dos aditivos e sinérgicos compostos bioativos. (NAZ, 2014; HELENO et al, 2015).

1.3 O gênero *Pleurotus*

Conhecidos como cogumelos-ostra, este grupo apresenta mais de 100 espécies de *Pleurotus* no mundo, das quais 25 espécies são cultivadas. No Brasil existem muitas espécies

nativas de *Pleurotus*, sendo a maioria ainda não estudada, que teriam potencial para serem utilizadas para o cultivo com a vantagem de serem adaptadas aos climas regionais brasileiros (MODA; HORII; SPOTO, 2003; UPADHYAY; SINGH, 2010).

Segundo Upadhyay e Singh (2010), nos últimos anos, 25 espécies vêm sendo cultivadas comercialmente em diferentes partes do mundo, entre as quais as mais importantes são: *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. flabellatus*, *P. sajor-caju*, *P. sapidus*, *P. eryngii*, *P. cystidiosus*, *P. fossulatus*, *P. opuntiae*, *P. tuber-regium*, *P. djamour* (*P. ostreaturoseus*), *P. platypus*, *P. australius*, *P. purpureo-olivaceus*, *P. populinus*, *P. levis*, *P. columbinus* e *P. membra-naceus*.

Atualmente, *Pleurotus* spp. estão em segunda posição na produção comercial de cogumelos no mundo, pois estão sendo considerados cada vez mais interessantes do ponto de vista comercial, pela fácil adaptação, manutenção e baixo custo de cultura (SÁNCHEZ, 2010), além de apresentarem atividades biológicas de caráter medicinal como: efeito antitumoral e antioxidante, previne o aumento da pressão sanguínea em casos de hipertensão e efeito hipocolesterolêmico e imunomodulatório. Também apresentam atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral (WASSER, 2002; AGUIAR; FERRAZ, 2011; AYODELE; IDOKO, 2011; ADEBAYO et al., 2012).

Seu papel ecológico é como decompositor primário da matéria vegetal, principalmente de madeiras e, portanto, é facilmente encontrado em troncos caídos nas florestas (DIAS, 2003). Juntamente com outros fungos, formam um grupo denominado de “fungos de podridão branca”, por crescerem em troncos de árvores ou madeira morta, produzirem um micélio branco e degradarem tanto a lignina, um polímero fenólico recalcitrante encontrado nos vegetais, como também a celulose e hemicelulose. Para tanto, possuem um complexo enzimático lignocelulolítico único com enzimas como celulase, ligninase, celobiase, lacase e hemicelulase que fazem com que estes fungos degradem uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos e resíduos orgânicos, o que faz esses fungos serem mais utilizados que os outros fungos decompositores na aplicação de processos biotecnológicos baseados em materiais lignocelulósicos (BONATTI et al., 2004; BENTO; CASARIL, 2012).

As espécies de *Pleurotus*, devido ao seu potencial enzimático, requerem menor tempo de crescimento comparado com outros cogumelos comestíveis, exigem pouco controle ambiental e podem ser cultivadas de maneira simples e barata (BONATTI et al., 2004; CHEUNG, 2008).

1.4 Cultivo de cogumelos comestíveis

Segundo Sánchez (2010), o cultivo de cogumelos envolve várias operações diferentes, as quais devem ser realizadas com cautela. A primeira fase envolve a obtenção de micélio puro da linhagem específica do cogumelo. O micélio pode ser obtido a partir de esporos, a partir de fragmento de cogumelo isolado ou a partir de coleções de culturas microbianas. Para obter inóculo, o micélio é cultivado em grão de cereal, por exemplo, trigo, centeio, ou milho, que normalmente é chamado de “semente”. A finalidade dos grãos colonizados por micélio é colonizar rapidamente o substrato.

O sucesso da produção de cogumelos depende, em grande parte, da qualidade da "semente", que deve ser elaborado sob condições estéreis para diminuir a contaminação do substrato. Por exemplo, a semente para o cultivo de *P. ostreatus* tem sido preparado de diferentes maneiras: em grãos, como o trigo, sorgo, arroz, ou em outros substratos desta natureza (OEI, 2005).

As etapas seguintes compreendem a preparação do substrato, formulado com materiais de origem lignocelulósica geralmente suplementados com fonte de nitrogênio, tratado com método de controle de micro-organismos competidores, geralmente pasteurização ou esterilização em autoclave; inoculação da semente no substrato em ambiente estéril; incubação, compreendendo período de escuro e claro; e colheita dos cogumelos.

A escolha da tecnologia de cultivo e o preparo do substrato de cultivo dependem de fatores importantes como: a espécie do cogumelo que se pretende cultivar; disponibilidade e custo dos resíduos agroindustriais e outros insumos, custo de produção e de mercado (EIRA, 2010).

Basicamente, o cultivo de cogumelos pode ser feito em condições naturais, sem grandes preocupações com assepsia sendo esta uma realidade mais comum aos pequenos produtores; ou em condições axênicas, onde todas as etapas do cultivo são realizadas em ambientes controlados e assépticos, uma condição mais acessível aos acadêmicos e pesquisadores em institutos de pesquisas e universidades, sendo que ambas as modalidades cultivo estão diretamente ligadas à reciclagem de resíduos agrícolas, florestais e agroindustriais e cada vez mais o desenvolvimento de tecnologias sofisticadas e diversificadas vêm se consolidando como estratégias visando o aumento da produtividade e qualidade do cogumelo (EIRA, 2000; DIAS, 2010; UPADHYAY; SINGH, 2010).

Evitar a contaminação do substrato é uma parte importante do cultivo de cogumelos comestíveis. Micro-organismos competidores, como bactérias e fungos, são indesejáveis no substrato, pois podem consumir os nutrientes, limitando o crescimento e frutificação do

cogumelo e reduzindo assim, a qualidade da produção. Diversos métodos de tratamento de substrato vêm sendo utilizados envolvendo o uso de produtos químicos (fungicidas, formaldeídos, cal, peróxido de hidrogênio, detergentes biodegradáveis), processos fermentativos, água quente, pasteurização, além de compostagem e esterilização em autoclave (HERNÁNDEZ, SÁNCHEZ; YAMASAKI, 2003; CHEUNG, 2008; BARNABÉ-GONZALES, T.; CAYETANO-CATARINO, 2009; UPADHYAY; SINGH, 2010; SARITHA; PANDEY, 2010; ZHARARE; KUBANDA; POKU, 2010; SIQUEIRA et al., 2012; AVEDAÑO-HERNÁNDEZ; SÁNCHEZ, 2013; MEJÍA; ALBERTÓ, 2013; KOUTROTSIOS et al, 2015). Apesar da maioria dos produtores comerciais utilizarem os métodos tradicionais de compostagem e pasteurização para a produção de *Pleurotus* spp., novos métodos vem sendo avaliados (EIRA, 2000; DIAS, 2010).

No presente trabalho, foram utilizados três diferentes métodos de tratamento para substratos de cultivo: Compostagem seguida de pasteurização, esterilização em autoclave e imersão em cal, cujas metodologias serão abordadas nos tópicos seguintes (1.4.1; 1.4.2; 1.4.3).

1.4.1 Compostagem e pasteurização

A compostagem é o processo de aceleração controlada de autoaquecimento aeróbico mediado por uma comunidade microbiana residente para decompor resíduos orgânicos buscando a estabilidade dos materiais. Ela apresenta uma sucessão de micro-organismos adaptando-se de forma contínua às mudanças de nutrientes e condições ambientais (ZHANG, 2014). É utilizada amplamente na agricultura visando a mineralização e humificação do solo para obtenção de fertilizantes orgânicos.

No cultivo de cogumelos, este processo é dividido em duas fases: A fase I envolve a montagem da pilha formada por resíduos lignocelulósicos geralmente suplementados com materiais ricos em nitrogênio, sendo umidificada a cada camada e de forma regular durante todo o período que dura esta fase, até atingir umidade em torno de 70%. Nesta fase, é perceptível odor forte, devido à liberação de amônia excretada pelos micro-organismos, bem como manchas esbranquiçadas em vários pontos da pilha, evidenciando o crescimento de actinobactérias. A fase I pode durar de semanas a meses, dependendo do tipo de resíduo e da espécie que se deseja cultivar. Na fase II, o composto (produto final da compostagem) é submetido à pasteurização com fonte de calor externa por horas ou dias em aproximadamente 75 °C , a fim de eliminar contaminantes que possam ter resistido à fase I (CHANG; MILES, 2004; EIRA, 2000).

Segundo Hernández, Sánchez e Yamasaki (2003), o processo de compostagem e a qualidade do produto obtido depende das características do material (composição química, pH, umidade e tamanho de partícula) e das condições ambientais em que o processo ocorre (quantidade de material, temperatura, recipiente, umidade ambiental, ventilação, luz ou a presença de qualquer micro-organismo).

De acordo com Chang e Miles (2004) e Zhang et al. (2014), a pasteurização à vapor e compostagem são procedimentos tradicionais mais adequados para produtores de cogumelos em pequena escala, uma vez que estes substratos são mais estáveis e menos suscetíveis à contaminação.

1.4.2 Cultivo axênico

Este método é de difícil acesso ao pequeno produtor, pois prevê maior custo de tecnologia sendo realizada em ambiente asséptico livre de contaminações. Geralmente este tipo de cultivo é disponível em institutos de pesquisa ou universidades (OEI, 2005; DIAS, 2010; SÁNCHEZ, 2010) assim como em escala industrial com alta tecnologia e controle de esterilização (SALES-CAMPOS, 2016), (comunicação pessoal).

Geralmente, neste modo de cultivo o substrato é umidificado a aproximadamente 65-70%, transferido para sacos de plástico de material resistente que permitam trocas gasosas e submetidos à esterilização em autoclave por 1-2 horas a 121 °C (SILVA; COSTA; CLEMENTE, 2002; CHANG; MILES, 2004; SILVA et al., 2007; SALES-CAMPOS, 2010; SIQUEIRA et al., 2012; YANG; GUO; WAN, 2013; ARGAW et al., 2015; FERNANDES et al, 2015).

1.4.3 Imersão em solução alcalina

A desinfecção de substrato de cultivo por meio de imersão em água alcalinizada é uma alternativa de viabilizar o cultivo de cogumelos em pequena escala. Para Contreras et al. (2004), é evidente que o custo de imersão em solução de cal é muito menor, porque não exige dispêndio de energia. Este fato tem um significado em comunidades rurais onde a tecnologia simples e flexível é necessária.

Este método de desinfecção por imersão alcalina é simples: o substrato é imerso por 12 a 48 horas em água alcalinizada, drenado até atingir 65-70% de umidade, distribuído em sacos para cultivo. Segue-se a fase de inoculação de semente-inóculo, corrida micelial e frutificação. A utilização desta técnica vem demonstrado resultados promissores (CONTRERAS et al, 2004; BARNABÉ-CONZÁLES; CAYETANO-CATARINO, 2009;

COLAVOLPE; AVENDAÑO-HERNANDEZ; SÁNCHEZ, 2013; MEJÍA; ALBERTÓ, 2014).

1.5 Resíduos agroindustriais no cultivo de cogumelos comestíveis

A biomassa lignocelulósica é constituída por três principais frações poliméricas: celulose, hemicelulose e lignina. Essas frações majoritárias são responsáveis por 97-99% de toda massa seca destes materiais (CASTRO; PEREIRA JR, 2010).

As matérias-primas lignocelulósicas são as fontes renováveis mais abundantes encontradas na natureza, sendo compreendidas em sua maioria pelos materiais agroindustriais e pelas madeiras de angiospermas e gimnospermas. Dentre essas, os materiais agroindustriais se destacam pelo caráter de resíduo, caracterizado por sua obtenção depois do processamento de matérias-primas que apresentam maior valor agregado. Tais resíduos podem ser convertidos em uma variedade de produtos, com pouco desperdício, trazendo novas oportunidades de ganho como, biomateriais, energia e alimentos, minimizando os aspectos ambientais negativos e melhorando a eficácia e sustentabilidade das cadeias agroindustriais. (AGUIAR; FERRAZ, 2011; ROSA et al., 2011).

O cultivo de cogumelos comestíveis é um processo biotecnológico que envolve a reciclagem de resíduos orgânicos lignocelulósicos. Esse pode ser o único processo da atualidade que combina a produção de alimentos ricos em proteínas com a redução da poluição ambiental (CHANG; MILES, 2004; CHEUNG, 2008; SÁNCHEZ, 2010).

Na literatura estão descritos diversos materiais oriundos de atividades agrícolas, industriais e urbanas que têm sido utilizados no cultivo de fungos. Os mais utilizados de forma tradicional são palha de trigo, palha e sabugo de milho, palha de arroz, bagaço de cana-de-açúcar, serragens, gramíneas. Entretanto, se utilizam outros substratos como folha de bananeira, polpa e borra de café, cascas de frutas, resíduos de papel (ZADRAZIL; PUNIYA, 1994; ZHANG; LI; FADEL, 2002; HÉRNANDEZ; SÁNCHEZ; YAMASAKI, 2003; DIAS et al., 2003; MODA; HORII; SPOTO, 2005; SALES-CAMPOS et al., 2010; FIGUEIRÓ; GRACIOLLI, 2011; FERNANDES et al., 2015). A escolha inicial da matéria-prima para cultivo mais indicada deve ter baixo ou nenhum custo de aquisição, bem como, ter disponibilidade acessível ao produtor, em prol da redução de custos de produção.

1.5.1. Palha de feijão

No Brasil são cultivadas várias espécies de feijão; entretanto, para efeito de regulamento técnico, somente as espécies *Phaseolus vulgaris* (L.) e *Vigna unguiculata* (L.)

Walp., feijão-comum e feijão-caupi, respectivamente, são consideradas como feijão pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Essas duas espécies são as mais importantes social e economicamente no País, atingindo anualmente cerca de 3,0 milhões de toneladas em média (FREIRE-FILHO et al., 2011).

De acordo com Vieira, Paulo Júnior e Borém (2006), o feijoeiro comum (*P. vulgaris*) é cultivado em todos os estados brasileiros, porém os de maior produção são os estados do Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Bahia, os quais respondem por mais de 65% da produção nacional.

O feijão-caupi (*V. unguiculata*) tem uma grande importância, tanto como alimento quanto gerador de emprego e renda e constitui um componente alimentar básico das populações rurais e urbanas das regiões Norte e Nordeste (FREIRE-FILHO, 2011). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, somente atrás da Nigéria e Niger.

A participação do feijão-caupi na região norte, na área cultivada e na produção, é modesta. No entanto, a produtividade é praticamente igual à média nacional (FREIRE-FILHO, 2011). No Estado do Amazonas, existe um incentivo criado por programa de apoio da Embrapa Amazônia Ocidental, no âmbito da introdução de linhagens adaptáveis aos solos amazônicos por meio de melhoramento genético quanto em avaliações de produção e promoção treinamento aos pequenos produtores, buscando o fortalecimento desta cultura, no Amazonas e outros estados da região norte (EMBRAPA; GONÇALVES, 2010).

1.5.2 Bagaço de cana-de-açúcar

A cana de açúcar vem sendo considerada como uma das matérias-primas mais importantes da atualidade, pela sua diversidade de materiais produzidos (etanol, açúcar, energia, cachaça, caldo-de-cana, rapadura), além de subprodutos. É o principal cultivo para produção de açúcar do mundo vegetal. A produção atual se encontra em torno de 1450 milhões de toneladas de cana, a partir de 22 milhões de hectares em todo o mundo (MENDES, 2010).

No Brasil, a área de cultivo está estimada em 8.799.150 mil hectares, produzindo cerca de 650 mil toneladas distribuídas em todos estados produtores, sendo considerado o maior produtor mundial (CONAB, 2013).

Um dos subprodutos gerado pelas usinas de açúcar e álcool é denominado bagaço, sendo que a cada tonelada (1 ton) de cana de açúcar se obtém 276 kg de bagaço e 165 kg de palha, um volume grande de subprodutos que podem ser aproveitados em diversos setores (SILVA; GARCIA; SILVA, 2010). Estima-se que a cada ano sejam produzidos de 5 a 12

milhões de toneladas de bagaço anualmente, correspondendo a cerca de 30% do total da cana moída (COSTA; BOCCHI, 2012).

Conforme dados do IDAM (2013), a região norte tem uma participação tímida se tratando do cultivo desta cultura, em relação ao resto do País. Quanto à produção, o terceiro Estado que mais se destaca é o Amazonas, com área de produção de 3,6 mil ha e produção de 266,5 mil toneladas. No Amazonas, a cana-de-açúcar é cultivada em quase todo o território, tendo como maiores produtores os municípios de Presidente Figueiredo, Eirunepé, Maués e Boca do Acre. A produção anual gira em torno de 312 mil toneladas de colmo de cana, envolvendo cerca de 1.000 agricultores familiares/produtores rurais. Em nível industrial destaca-se o município de Presidente Figueiredo, por meio da empresa Jayoro Agroindustrial, com uma área plantada de aproximadamente, 3,8 mil ha produzindo açúcar cristal e álcool anidro. Nos demais municípios a produção é completamente artesanal, sendo o açúcar mascavo o principal produto, comercializado principalmente para a empresa Recofarma.

O emprego do bagaço de cana em processos biotecnológicos é observado em diversos trabalhos envolvendo micro-organismos, incluindo leveduras, bactérias e fungos filamentosos. O cultivo de cogumelos em substrato de cana-de-açúcar ou como suplementação foi observado em trabalhos como de Ortega et al. (1992); Klibansky et al. (1993); Beux et al. (1997) e Moda et al. (2005); Sales-Campos (2008).

1.6 REFERÊNCIAS

- ADEBAYO, E. A.; OLOKE, J. K.; AYANDELE, A. A.; ADEGUNLOLA, C. O. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial assay of mushroom metabolite from *Pleurotus pulmonarius*–LAU 09 (JF736658). **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, n. 2, p. 366-374, 2012.
- AGUIAR, A., FERRAZ, A. Revisão: Mecanismos envolvidos na biodegradação de materiais lignocelulósicos e aplicações tecnológicas correlatas. **Quim. Nova**, n. 34, p.1729-1738, 2011.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1996. 865 p.
- ARGAW, A.; GIRMA, Y.; FIKRESILASSIE, F.; MEKASH, F. Cultivation of three *Pleurotus* spp., on khat (*Catha edulis*) leftover. **Biotechnology**. n. 14., v. 2. p. 65-71, 2015.
- AVENDAÑO-HERNANDEZ, R.; SÁNCHEZ, J. E. Self-pasteurised for growing oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). **Afr. J. Microbiol. Res.** v. 7, n. 3, p. 220-226, 2013.
- AYODELE, S. M.; IDOKO, M. E. Antimicrobial activities of four wild edible mushrooms in Nigeria. **International Journal of Science and Nature**, v. 2, n. 1, p. 55-58, 2011.
- BARNABÉ-GONZALES, T.; CAYETANO-CATARINO, M. Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero, Mexico. **Micol. Apl. Int.** v. 21, n.1, p. 19-23, 2009.
- BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Wild and comercial mushrooms as source of nutrientes and nutraceuticals. **Food and chemical toxicology**. v. 46, p. 2742-2747, 2008.
- BEAUX, M. R.; SOCCOL, C. R.; MARIN, B; TONIAL, T.; ROUSSOS, S. Cultivaion of *Lentinula edodes* on mixture of cassava bagasse and cane bagasse. **Advances in solid state fermentation**. Pp. 501-503, 1997.

BENTO, C. B. P.; CASARIL, K. B. P. B. Bioconversão de resíduos agroindustriais lignocelulósicos por fungos causadores da podridão branca: uma alternativa à produção de alimentos. **Faz Ciência**. v. 15, n. 20, pp. 151-180, 2012.

BONATTI, M., KARNOPP, P., SOARES, H.M., FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajorcaju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, p. 425-428, 2004.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. Feijão. 2 ed., Viçosa, UFV. 2006. 600p.

CARDOSO, J. C. P.; DEMENJOUR, P. L. M. M.; PAZ, M. F. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bacia e de cana-de-açúcar pela técnica juncao. **Evidência**, Joaçaba v. 13 n. 1, p. 31-40, 2013.

CARVALHO, C. S. M.; SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Mushrooms of the *Pleurotus* genus: a review of cultivation techniques. **Interciência**, Caracas, v. 35, n. 3, p. 177-182, 2010.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHANG, S. T. Mushroom as human food. **Bioscience**. v. 30, n. 6, pp. 399-401, 1980.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **A new look at cultivated mushrooms**. v. 34, n. 6, p. 358-362, 1983.

CHANG, S. T.; MILES, P. G.. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact**, 2004. 477 p.

CHEUNG, P. K. C. **Mushrooms as functional food**. John Wiley and Sons, 2008. 280 p.

CONTRERAS, E. P.; SOKOLOV, M.; MEJÍA, G.; SÁNCHEZ, J. E. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**. n. 79, v. 2., pp. 234-240, 2004.

COSTA, W.L.S.; BOCCHI, M. L. M. Aplicações do bagaço de cana-de-açúcar utilizadas na atualidade. **Revista ciência e tecnologia (Fatec-JB)**. v. 4, n. 1, p. 1-13, 2012.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2013** - Companhia Nacional de Abastecimento – Brasília: Conab, 2013.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecn**, v. 34, n. 4, p. 795-803, 2010.

DIAS, E. S. et al. 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. **Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente)**. In: Anais da III Reunião Intenarante de fitossanidade do Instituto Biológico. Mogi da Cruzes 17 a 19 de outubro, p. 83-95. 2000.

EIRA, A. F. **Fungos Comestíveis**. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. In: Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. 2 ed. Caxias do Sul: Educs, 2010. 638 p.

EMBRAPA. **Cultivo de feijão caupi em várzea: Cultivar BR-8 Caldeirão**. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/folderfeijaocaupi_000g19ng54m02wx5ok00gmbp4a36b1k5.pdf. Acessado em: Jan/2014

FERNANDES, A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Nutricional characterisation of *Pleurotus ostreatus* produced using paper scraps as substrate. **Food Chemistry**. v. 169, p. 396-400, 2015.

FERREIRA-LEITÃO, V., GOTTSCHALK, L. M. F., FERRARA, M. A., NEPOMUCENO, A. L., MOLINARI, H. B. C., BON, E. P. S. **Biomass Residues in Brazil: Availability and Potential Uses**. Waste Biomass Valor, n. 1, p. 65–76, 2010.

FIGUEIRÓ, G. G.; GRACIOLLI, L. A. Influência da composição química do substrato de cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciênc. Agrotec.** v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.

FREIRE-FILHO, F. R. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina : Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão **Rev Inst Adolfo Lutz**, n. 64, v. 2, p. 149-154, 2005.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** n. 27, v.1, p. 154-157, 2007.

GONÇALVES, J. R. P. Cultivo do feijão caupi. **Embrapa Informação Tecnológica**, 2010. 33p.

GRACIOLLI, L. A.; PASCHOALOTO, J. N. A. **Cultivo de *Pleurotus* em palha de feijão suplementada com farelo de mandioca e ureia**. Anais XII Congresso Brasileiro de Mandioca. v.1, pp. 363-368, 2009.

HELENO, S. A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; MORALES, P.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; GLAMOCLJA, J.; SOKOVIC, M.; FERREIRA, I. C. F. R. Nutritional value, bioactive compounds, antimicrobial activity and bioaccessibility studies with wild edible mushrooms. **LWT – Food Science and Technology**. v. 63, pp. 799 – 803, 2015.

HERNÁNDEZ, D.; SÁNCHEZ, J. E.; YAMASAKI, K. Composting, a simple procedure for preparing substrate for cultivation *Pleurotus ostreatus*. **Biosource Technology**. n. 90, v. 2., 2003.

IDAM. Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. **Plano Operativo do IDAM – 2013**. Manaus: 2013, 48 p.

KLIBANSKY, M. M.; MANSUR, M.; GUTIERREZ, I.; GONZÁLEZ, R. Production of *Pleurotus ostreatus* mushrooms on sugar cane agrowastes. **Acta Biotechnologica**. v.13, n.1, p. 71-78, 1993.

KOUTROTSIOS, G.; MOUNTZOURIS, K.; 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**. n. 161, p. 127-135, 2015.

MENDES, R. F.; MENDES, L. M.; ALMEIDA, N. F. **Associação de eucalipto e pinus na produção de painéis aglomerados de bagaço de cana**. In: Encontro brasileiro em madeiras e em estruturas de madeira. Anais do Encontro brasileiro em madeiras e em estruturas de madeira, Lavras – MG, p.12, 2010.

MEJÍA, S. J.; ALBERTÓ, E. Heat treatment of wheat straw by immersion in hot water decreases mushroom yield in *Pleurotus ostreatus*. **Rev. Iberoam. Micol.** v. 30, n. 2, 2013.

MODA, E. M. HORII, J.; SPOTO, M. H. F. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugar cane bagasse. **Scientia Agrícola**, v. 62, n. 2, p. 127-132, 2005.

NAZ, S. A review: Health benefits of mushrooms. **Online International Interdisciplinary Research Journal**. v. 4, p. 285-29, 2014.

OEI, P. **Small scale mushroom cultivation**. Agromisa foundation, 2005. 86 p.

ORTEGA, G. M.; MARTINEZ, E. O.; BETANCOURT, D.; GONZÁLEZ, A. E.; OTERO, M. A. Bioconversion of sugar cane crop residues with rot fungi *Pleurotus* spp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. n.8, pp. 402-405, 1992.

PANDEY, A., SOCCOL, C R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane Bagasse. **Bioresource Technology** 74; 69-80, 2000.

PELIZER, L. H; PORTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **J. Technol. Manag. Innov.** v. 2, n. 1, 2007.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. Volume 2. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 2002. 829 p.

ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M S. M.; FIGUEIREDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; SANTAELLA, S.T.; LEITÃO, R.C. **Valorização de resíduos da agroindústria**. II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – II SIGERA. 15 a 17 de março. Foz do Iguaçu, PR, 2011.

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica** - Manaus: UFAM, 2008. 182 p.

SALES-CAMPOS, C; MINHONI, M. T. A; ANDRADE, M. C. N. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. **Interciencia**. v. 35, n. 3. p 198-201, 2010

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 41, p. 1-8, 2011.

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

SARITHA, B; PANDEY, M. Evaluation of alternate substrate pasteurization techniques for culinary-medicinal white oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* var. *florida* (Agarycomycetidae) cultivation. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, n. 12, v.3, p.309-316, 2010.

SCHNEIDER, I; KRESSELA, G.; MEYERB, A; KRINGSB, U.; BERGERB, R. G.; HAHNA, A.. Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans. **Journal of functional foods**. n. 3, p. 17–24, 2011.

SILVA, E. G.; DIAS, E. S.; SIQUEIRA, E. G.; SCHWAN, R. F. Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajour-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v. 27, n.1, p. 72-75, 2007.

SILVA, S. O; COSTA, S. M. G.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 45, n. 4, p. 531-535, 2002.

SILVA, V.S.; GARCIA, C. A.; SILVA, C. M. Um destino do bagaço de cana-de-açúcar: Um estudo a partir das agroindústrias sucroalcooleiras do Paraná. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**. v. 3, n. 1, p. 59-76, 2010.

SIQUEIRA, F. G.; MACIEL, W. P.; MARTOS, E. T.; DUARTE, G. C.; MILLER, R. N. G.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. **Afr. J. Biotechnol.** v. 11, n. 53, p. 11630 – 11635, 2012.

TAVARES, A. C. D.; FONSECA, J. S.; FONSECA, T. R . B.; SOUZA, R. A. T.; BARRONCAS, J. F.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Enzimas extracelulares de fungos anamórficos isolados de *Morinda cirifolia* L. **Biochemistry and Biotechnology** v.1, n.2., 2012.

UPADHYAY, R. C. e SINGH M. **Production of edible mushroom**. In: ESSER, K. The mycota. p. 79-100. 2a Ed. Springer. 2010.

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **Appl Microbiol Biotechnol** v. 60, p. 258–274, 2002.

YANG, W.; GUO, F. L; WAN, Z. J. Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 20, p. 333-338, 2003.

ZADRAZIL, F.; PUNIYA, A. K. Influence of carbon dioxide on lignin degradation and digestibility of lignocellulosics treated with *Pleurotus sajor-caju*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v.33, n.3, p.237-244, 1994.

ZHANG, R.; LI, X.; FADEL, J. G. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Biosource Technology** v. 82, pp. 277-284, 2002.

ZHANG, X.; ZHONG, Y.; YANG, S.; ZHANG, W.; XU, M.; MA, A.; ZHUANG, G.; CHEN, G.; LIU, W. Diversity and dynamics of the microbial community on decomposing wheat straw during mushroom compost production. **Biosource Technology**. n. 179. p. 183-195, 2014.

ZHARARE, G. E.; KUBANDA, S. M.; POKU, J. Z. Effects of temperature and hydrogen peroxide on mycelial growth of eight *Pleurotus* strains. **Scientia Horticulturae**. v. 125, p. 95-102, 2010.

CAPÍTULO 2 - Produção de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer INPA 1467 em substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

2.1 INTRODUÇÃO

Os materiais lignocelulósicos são os mais abundantes resíduos no mundo advindos de atividades na agricultura, florestais e urbanas. O crescente aumento da população mundial contribui para o proporcional aumento da produção de refugos oriundos do beneficiamento e processamento de alimentos, causando poluição e muitas vezes são queimados, culminando em um desperdício de matéria-prima rica em lignina e celulose com potencial utilização na produção de energia e outros fins (PANDEY et al, 2000; PELIZER; PORNIERI; MORAES, 2007; BENTO; CASARIL, 2012).

Os macrofungos ou cogumelos geralmente são de natureza sapróbia, e possuem potencial de degradação de resíduos celulósicos mortos. Na natureza, são encontrados colonizando troncos de árvores caídas e para isto, possuem um incrível metabolismo enzimático capaz de degradar materiais recalcitrantes (EIRA, 2004; CHEUNG, 2008; DIAS, 2010).

Os cogumelos comestíveis têm tradição em diversas culturas milenares com aplicação medicinal e religiosa. Em países orientais, o cultivo tradicional de cogumelos para alimentação era realizado em troncos de árvores, porém esta maneira era muito dispendiosa, morosa e com produção limitada (CHANG; MILES, 2004; CARVALHO; CAMPOS; ANDRADE, 2010).

A pesquisa sobre a produção de cogumelos tem sido focada no desenvolvimento de tecnologias capazes de reduzir preços de produção, almejando menores preços para o consumidor, e assim estimulando o consumo (CARDOSO; DEMENJOUR; PAZ, 2013).

P. ostreatus é um cogumelo comestível de ocorrência cosmopolita conhecido com cogumelo ostra, hiratake ou shimeji. Apresenta baixa exigência nutricional - quando comparado a *A. bisporus* e *L. edodes*, cogumelos mais cultivados mundialmente e no Brasil – Possui alta adaptabilidade em diversos tipos de substratos ricos em carbono. Na literatura especializada estão descritos dados de produtividade considerados de bons a excelentes a respeito do cultivo desta espécie em diferentes resíduos no mundo todo (BONATTI et al, 2003; VETAYASUPORN; CHUTICHUDET; CHO-RUK, 2006; KIMENJU et al, 2009; BUAH et al, 2010; SALES-CAMPOS et al., 2010; SALES-CAMPOS et al., 2011; CARVALHO et al, 2012; AVENDAÑO-HERNANDEZ; SÁNCHEZ, 2013; MAMIRO; MAMIRO; MWATAWALA, 2014; KOUTROTSIOS et al, 2015).

De acordo com Madan, Vasudevan, Sharma (1987), dentre vários processos microbiológicos que utilizam refugos celulósicos, o cultivo de cogumelos possibilita utilizar resíduos de pouco ou nenhum valor, aplicados na bioconversão em alimentos de altamente apreciados por seu sabor e de elevado valor nutricional, tornado-se economicamente promissor.

As linhagens de fungo, *P. ostreatus* INPA 1467 e *P. ostreatus* 09/100, inicialmente propostas para este trabalho, são fungos comestíveis e decompositores de madeira, causando podridão branca. A linhagem *P. ostreatus* INPA 1467 trata-se de um cogumelo isolado da Amazônia depositado na Coleção de Culturas de Interesse Agrossilvicultural - INPA, enquanto *P. ostreatus* 09/100 é uma linhagem comercial, cedida pela Universidade Estadual de São Paulo - campus Botucatu (Módulo Cogumelos), para o Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis - INPA.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade de aproveitamento de resíduos de palha de feijão e bagaço de cana na formulação de substratos para cultivo de duas linhagens de cogumelos comestíveis: *Pleurotus ostreatus* INPA 1467 e Pos 09/100, a fim de contribuir para a introdução e estabelecimento da fungicultura no estado do Amazonas.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Local de realização do trabalho

O presente trabalho foi realizado inicialmente no Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis da Coordenação de Tecnologia e Inovação do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e posteriormente nas dependências do Laboratório de Cogumelos Comestíveis, do Departamento de Biologia, UFLA.

2.2.2. Reativação de culturas

As duas linhagens de *Pleurotus*: INPA 1467 e POS 09/100, foram reativadas por meio de cultivo em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) em placas de Petri e mantidas a 25 °C em estufa BOD até a colonização completa da superfície do meio.

2.2.3 Produção de sementes-inóculo

Para a produção das sementes-inóculo de cogumelos, foi utilizado arroz com casca (9 kg) cozido por 30 minutos. Após drenagem do excesso de água, o arroz foi enriquecido com uma mistura de farelo de trigo previamente autoclavado (1 kg), calcário (200g) e gesso (200g). Todos os ingredientes foram misturados manualmente. Este substrato

foi transferido para potes de vidro com capacidade para 500 ml, ocupando cerca de 2/3 dos mesmos. A esterilização foi feita em autoclave a 121 °C, 1 atm por 2h, sendo este procedimento repetido por duas vezes em intervalo de 24h (SIQUEIRA et al., 2011).

Foram inoculados na superfície dos substratos contidos nos potes, cinco inóculos de aproximadamente 5 cm² já colonizados pelos fungos (INPA 1476 e Pos 09/100), crescido em em BDA. Os potes foram mantidos em estufa BOD a 25°C até a completa colonização do substrato.

2.2.4 Resíduos utilizados

Inicialmente foram propostas seis formulações de substratos a base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar (Tabela 1):

Tabela 1. Formulações de substratos de cultivo à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

Tratamentos						
	1	2	3	4	5	6
Resíduos	%					
PF	50	40	60	80	20	40
BC	50	60	40	20	80	40
MF	-	-	-	-	-	20

PF: Palha de feijão; BC: Bagaço de cana; MF: Mistura de farelos

2.2.5 Seleção de substratos por meio de teste de corrida micelial

Os resíduos foram umidificados a 65-70% por meio de imersão em água por cerca de 30 minutos e escorridos, por igual período. Em sacos de polipropileno com capacidade para 1 kg foram armazenados 500g de substrato úmido de cada formulação (Tabela 1). Na abertura de cada saco foi acoplado um “tampão” de algodão para permitir trocas gasosas entre o ambiente interno e externo ao saco, criando melhores condições fisiológicas ao fungo. Os sacos de cultivo foram esterilizados em autoclave por 1 hora a 121 °C, 1 atm.

Após esfriamento dos sacos, foram inoculados na superfície dos substratos, cinco quadrados de meio BDA colonizados pelas linhagens de *P. ostreatus* INPA 1467 e Pos 09/100, de aproximadamente 5 cm².

A velocidade de colonização dos fungos nas diferentes formulações foi avaliada por meio da medição do crescimento do micélio (em mm) com o auxílio de régua milimetrada, considerando o topo do substrato como ponto 0. Em cada parcela (saco de cultivo), foram realizados três pontos de medição (PEDRA; MARINO, 2006).

Neste experimento, não foi levado em consideração a velocidade de crescimento micelial de cada linhagem e sim, das médias de crescimento (cm/dia) entre as duas linhagens em função de cada substrato.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 6 x 6, correspondente a 2 linhagens fúngicas, 6 tratamentos (formulações de substratos) e 6 repetições por cada tratamento, totalizando 72 parcelas representadas por cada saco de cultivo. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott nível de probabilidade a 5% pelo programa SISVAR 4.2 - UFLA, Lavras, MG.

2.2.6 Preparo de substratos com diferentes tratamentos

Após a seleção das melhores formulações de substrato selecionadas por velocidade de crescimento micelial, estas foram submetidas a três diferentes modos de cultivo: cultivo em composto pasteurizado; cultivo axênico e cultivo em substrato imerso em solução de cal a 2%. De cada tratamento realizado, três repetições foram destinadas a análises físico-químicas e composição centesimal dos substratos e dos cogumelos, sendo isto tratado no capítulo 4.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 x 3 x 8, correspondente a 2 linhagens fúngicas, 2 formulações de substratos, 3 modos de cultivo e 8 repetições por cada tratamento, totalizando 96 parcelas representadas por cada saco de cultivo. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott nível de probabilidade a 5% pelo programa SISVAR 4.2 - UFLA, Lavras, MG.

2.2.6.1 Cultivo axênico

Os resíduos foram umidificados a 65-70% por meio de imersão em água por cerca de 30 minutos e drenados. Em sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) com filtros, com capacidade para 2 kg foram armazenados 1,5 kg de substrato úmido de cada formulação. Os

sacos de cultivo foram selados e esterilizados em autoclave por 2 horas a 121 °C, por duas vezes com intervalo de 24 horas.

2.2.6.2 Cultivo em composto pasteurizado

Os resíduos foram pesados de acordo com as formulações selecionadas e dispensados pouco a pouco, no interior de uma cerca montada por estrados, sendo homogeneizados e umidificados a cada camada, formando uma pilha de compostagem. Para este trabalho foi realizada uma compostagem curta 7 a 8 dias, bastante aplicada no cultivo de algumas linhagens de *Pleurotus* spp. (SIQUEIRA et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2012).

A temperatura do interior das pilhas era medida a cada dois dias e em seguida eram feitas as reviradas. Este processo é importante para gerar a aeração do interior da pilha e homogeneização da mistura, propiciando melhores condições fisiológicas aos microorganismos termófilos, responsáveis pela degradação inicial dos materiais lignocelulósicos.

Os substratos compostados foram acondicionados em caixas e pasteurizados em túnel a 67-70°C por 12 horas. Após o esfriamento, 1,5 kg dos compostos pasteurizados foram ensacados em sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) e selados.

2.2.6.3 Cultivo em substrato imerso em cal a 2%

Os refugos foram pesados de acordo com as proporções pré-definidas e imersos por completo em solução de cal a 2%. Assim, permaneceram por 6 horas até drenagem por 14 horas a fim de alcançar umidade em torno de 65-70%.

Os substratos foram transferidos (1,5 kg) para sacos de PEAD, com capacidade para 2 kg e finalmente selados.

2.2.7 Inoculação e condicionamento

Após a submissão dos substratos aos diferentes tratamentos, em ambiente estéril, foram inoculados 2% de semente nos sacos de cultivo (item 2.2.3) e os mesmos foram vedados com seladora. Estes foram acondicionados de forma totalmente randomizada em prateleiras, em sala de cultivo previamente higienizada e umidificada. Foi utilizado umidificador de ar para manter a umidade da sala a aproximadamente 70% e não houve controle de temperatura, mas foi verificado que durante todo o experimento ela se manteve em 22 ± 2 °C. Os sacos foram mantidos em ausência de luz, de modo a propiciar uma boa colonização até a formação dos primórdios. O período total de cultivo durou 65 dias.

2.2.8 Indução de frutificação e colheita

Após a colonização total ou parcial dos substratos foi necessário apenas abrir os sacos de cultivo, sempre verificando a boa umidificação da sala de cultivo.

Os cogumelos foram colhidos para posteriores análises físico-químicas e da composição centesimal, além da análise da composição mineral (constantes nos Capítulos 3 e 4).



Figura 1. *Pleurotus ostreatus* INPA 1467 cultivado nos diferentes substratos

2.2.9 Determinação do conteúdo de umidade e massa seca

O conteúdo de umidade (U) das amostras de substratos foi feito pelo método de dessecação em estufa a 65°C, até massa constante. A fórmula usualmente utilizada para a determinação do conteúdo de umidade do substrato:

$$U\% = \frac{\text{Massa inicial da amostra} - \text{Massa final da amostra}}{\text{Massa inicial da amostra}}$$

A massa seca (MS%) foi calculada como:

$$MS\% = 100 - U$$

2.2.10 Parâmetros de avaliação de produção e comportamento do fungo

Durante o período de cultivo, foram analisados parâmetros de produção dos fungos em função do substrato de cultivo, como: Eficiência biológica e Perda da matéria orgânica. Também foram avaliados dados da biologia dos fungos como: tempo de colonização do substrato, período de emissão de primórdios, tempo de formação dos basidiomas, altura do estipe e diâmetro do píleo.

Foi realizado o cálculo de eficiência biológica (EB) para expressar a produção da biomassa fúngica, caracterizada pela conversão dos resíduos lignocelulósicos em basidiomas (cogumelos). Este parâmetro é o mais utilizado pelos pesquisadores da área (CHANG; MILES, 2004), o que facilita a comparação dos resultados com dados da literatura:

$$EB (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)}}{\text{Massa seca de substrato (g)}} \times 100$$

A perda de matéria orgânica (PMO) é o índice que avalia a decomposição do substrato pelo fungo. Tal índice é baseado na diferença entre a massa seca do substrato inicial e a massa seca do substrato residual fracionado pela massa seca do substrato inicial (STURION, 1994). O resultado é expresso em porcentagem:

$$PMO (\%) = \frac{\text{Massa seca do substrato inicial} - \text{massa seca do substrato residual (g)}}{\text{Massa seca do substrato inicial (g)}} \times 100$$

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Seleção de substratos

O crescimento micelial das linhagens fúngicas INPA 1467 e Pos 09/100 em diferentes tratamentos pode ser demonstrado na figura 2.

No que tange a linhagem Pos 09/100, foi possível observar que as formulações 3 e 4, apresentaram maior velocidade de crescimento, $11,55 \pm 1,33$ e $11,37 \pm 0,43$ mm.dia⁻¹ respectivamente, diferindo-se estatisticamente dentre as demais. Nas demais formulações (1, 2, 5 e 6) de substratos, o crescimento micelial observado foi de $10,25 \pm 0,68$; $10,12 \pm 0,93$; $10,70 \pm 0,57$ e $9,85 \pm 0,68$ mm.dia⁻¹, respectivamente.

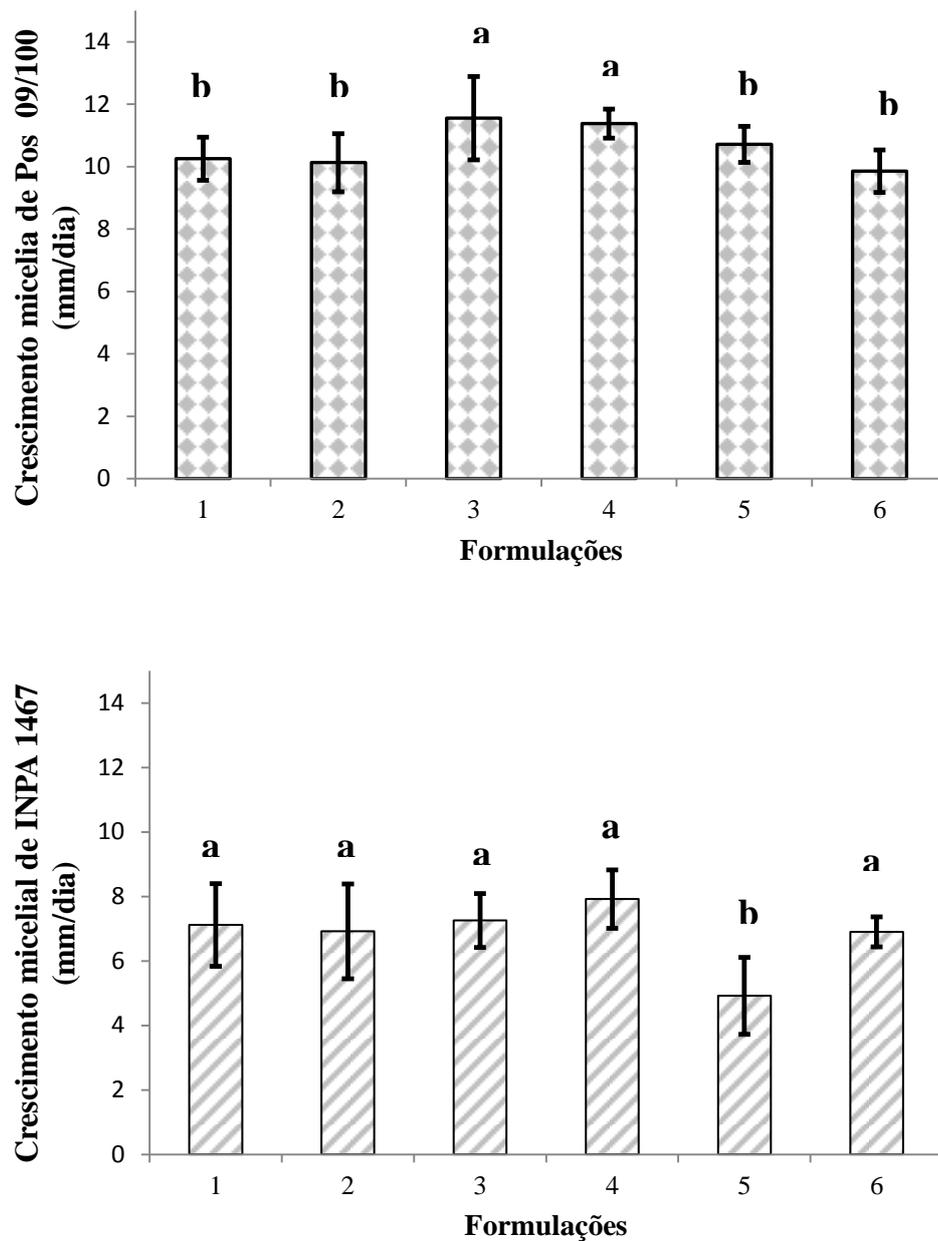


Figura 2. Avaliação de crescimento micelial das linhagens Pos 09/100 e INPA 1467 em diferentes formulações de substrato. Médias em letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, 1%. CV: 7.75 e CV: 15.72, respectivamente. BC: Bagaço-de-cana; PF: Palha de feijão; MF: Mistura de farelos. Formulação 1- 50% BC: 50% PF; Formulação 2- 60% BC: 40% PF; Formulação 3- 40% BC: 60% PF; Formulação 4- 20% BC: 80% PF; Formulação 5- 80% BC: 20% PF; Formulação 6- 40% BC: 40% PF: 20% MF

Para a linhagem INPA 1467, foi observado que a formulação 5 se diferiu estatisticamente das demais formulações, apresentando crescimento micelial inferior quando comparado com as demais. Para a referida formulação, o crescimento micelial observado foi

de $4,91 \pm 1,19$ mm.dia⁻¹; enquanto que as demais possibilitaram crescimento micelial de $7,91 \pm 0,90$; $7,25 \pm 0,83$; $7,11 \pm 1,27$; $6,91 \pm 1,47$; $6,90 \pm 0,46$ mm.dia⁻¹ observado nas linhagens 4, 3, 1, 2 e 6, respectivamente, em ordem decrescente, apresentando semelhança estatística entre si.

Para a seleção de substratos, levou-se em consideração a velocidade de crescimento das linhagens nos diferentes substratos. Em um primeiro momento, foram destacadas as formulações 3 e 4, pois para a linhagem Pos 09/100 foram consideradas as melhores em termos de velocidade de crescimento micelial; enquanto que para a linhagem INPA 1467, as formulações 3 e 4, foram umas das formulações que de forma semelhante, proporcionaram os melhores desempenhos quanto a velocidade de crescimento.

Neste estudo, as formulações 3 e 4 foram as formulações que apresentaram as maiores quantidades de palha de feijão em suas formulações (respectivos, 60 e 80%). Portanto, a formulação 3 foi mantida, e uma nova formulação foi proposta, contendo apenas palha de feijão em sua composição (100% PF), para avaliar em especial, a influência deste componente no crescimento das linhagens estudadas.

2.3.2 Análise da temperatura em compostagem curta para cultivo de *Pleurotus*

A temperatura do interior da pilha de compostagem foi verificada a cada revirada. A primeira revirada do composto ocorreu após três dias (72h) da montagem; a segunda, após seis dias (144h) e a terceira e última, após oito dias (192). Completando assim, oito dias de compostagem, resultando na obtenção dos compostos.

Na figura 3, observou-se que após 72h de compostagem, o composto Formulação 3 atingiu 54 °C, enquanto Formulação 100, alcançou 58 °C. Às 144h, o composto Formulação 3 apresentou temperatura de 61 °C e Formulação 100, 63 °C. E finalmente, decorridas 192h de compostagem, Formulação 3 e Formulação 100, atingiram 67 e 64 °C, respectivamente.

O processo de elevação da temperatura só foi possível devido a atuação de microorganismos mesófilos e termófilos que atuam na degradação inicial dos substratos lignocelulósicos, quebrando carboidratos complexos em açúcares mais simples de rápida assimilação (CHANG; MILES, 2004; ZHANG, 2014).

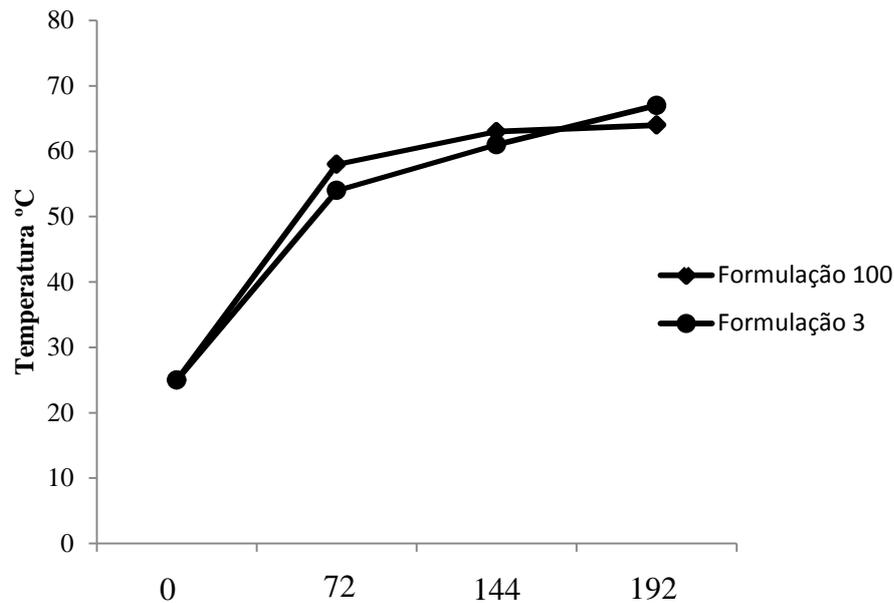


Figura 3. Elevação da temperatura por meio de compostagem curta para cultivo de *Pleurotus*. Formulação 3: 60% PF (palha de de feijão) e 40% BC (bagaço de cana-de-açúcar); Formulação 100: 100% PF

Hernández, Sánchez e Yamasaki (2003) utilizaram compostagem curta por cinco dias para evitar a contaminação por micro-organismos competidores no cultivo de *P. ostreatus*. A temperatura final (120 horas) observada no interior dos diferentes compostos foi de 50-55 °C, mantendo-os livre de contaminação por fungos e bactérias, semelhante ao presente estudo, onde não foram observadas grandes contaminações durante o cultivo das linhagens de *P. ostreatus* INPA 1467 e Pos 09/100.

O trabalho de Avedaño-Hernández e Sánchez (2013) evidenciou que a temperatura de 60 °C ou maior por 15 horas, impediu o crescimento de micro-organismos competidores no cultivo de algumas linhagens *Pleurotus* spp., fato confirmado por Overtijns (1981) 6 horas a 60 °C é suficiente para eliminar bolores verdes. No presente trabalho, a mesma temperatura foi atingida pelos dois diferentes compostos às 144 horas decorridas de compostagem, garantindo um bom controle sobre contaminantes.

2.3.3 Avaliação biológica de *P. ostreatus* INPA 1467 em diferentes substratos

A temperatura na sala de cultivo variou de 21 a 23°C. Foi utilizado aparelho umidificador de água para manter a umidade no interior da sala de cultivo.

Durante o decorrer do período de incubação dos sacos de cultivo (65 dias), não foi possível observar o desenvolvimento de basidiomas da linhagem *P. ostreatus* POS 09/100,

apenas colonização micelial. Somente *P. ostreatus* INPA 1467 demonstrou melhor adaptação às condições de cultivo no período de cultivo.

Muitos fatores podem influenciar no cultivo e desenvolvimento de cogumelos como: temperatura, umidade, pH, relação C:N, luminosidade, aeração. Fatores como a espécie e linhagem que se almeja cultivar, também podem ser determinantes para o sucesso ou fracasso do cultivo (EIRA, 2004; OEI, 2005; SÁNCHEZ, 2010).

Tabela 2. Avaliação biológica de *P. ostreatus* INPA 1467 cultivados nos diferentes substratos.

Unidade experimental por substrato	Período (dias)						
	Incubação até colonização	Primórdio	Frutificação	Duração do cultivo	Nº de fluxos	Dimensão do pileo (cm)	Altura do estipe (cm)
COMP-3 1	18	16	21	65	3	3,5 a 7,3	0 a 0,5
COMP-3 2	15	16	19	65	2	2,4 a 8,9	0 a 1
COMP-3 3	21	20	23	65	3	2 a 4,2	0 a 1
COMP-3 4	19	18	21	65	2	6,5 a 9,5	0 a 1,5
COMP-3 5	17	17	19	65	3	6,4 a 7,8	0 a 2
COMP-3 6	20	19	24	65	2	5,7 a 8,7	0 a 0,7
COMP-3 7	19	19	23	65	3	4,5 a 5,3	0 a 0,5
COMP-3 8	21	18	23	65	3	6,8 a 7,4	0 a 1
Média	18,757	17,875	21,625	65	2,625	-	-
DP	2,052	1,457	1,922	0	0,517	-	-
COMP-100 1	16	14	17	65	3	2,7 a 10,9	0 a 1
COMP-100 2	20	16	21	65	5	2,8 a 4,9	0 a 1
COMP-100 3	15	13	17	65	2	4,7 a 7,7	0 a 1,2
COMP-100 4	20	14	20	65	2	7,2 a 6,8	0 a 0,5
COMP-100 5	15	15	18	65	4	8,3 a 15,1	0 a 0,5
COMP-100 6	18	19	21	65	3	6 a 6,5	0 a 0,5
COMP-100 7	17	15	19	65	5	2,3 a 5,9	0 a 1,5
COMP-100 8	21	17	23	65	2	3,4 a 10,2	0 a 1
Média	17,75	15,375	19,5	65	3,25	-	-
DP	2,375	1,922	2,138	0	1,281	-	-
AX-3 1	21	19	23	65	1	3,2 a 8,1	0 a 0,5
AX-3 2	19	22	29	65	2	4 a 6,3	0 a 1
AX-3 3	não colonizou total	25	29	65	2	6 a 7,9	0 a 1
AX-3 4	27	24	27	65	1	6,2 a 7,5	0 a 1,3
AX-3 5	22	22	24	65	1	4,3 a 5,1	0 a 2
AX-3 6	23	21	25	65	1	4 a 4,7	0 a 1,5
AX-3 7	não colonizou	20	23	65	3	2,3 a 5,9	0 a 0,5

	total						
AX-3 8	23	22	26	65	3	3,4 a 9,4	0 a 1
Média	22,5	21,875	25,75	65	1,75	-	-
DP	2,432	1,959	2,434	0	0,886	-	-
AX-100 1	22	20	21	65	2	4,8 a 8,3	0 a 0,5
AX-100 2	20	17	22	65	1	4,5 a 5,2	0 a 1
AX-100 3	25	24	26	65	1	7,2 a 6,8	0 a 1
AX-100 4	19	19	23	65	2	8,3 a 15,1	0 a 1,3
AX-100 5	22	20	24	65	1	2,7 a 10,9	0 a 0,5
AX-100 6	23	21	27	65	1	2,8 a 4,9	0 a 0,7
AX-100 7	19	20	25	65	3	4,7 a 7,7	0 a 0,5
AX-100 8	21	19	26	65	2	5,8 a 8,1	0 a 1
Média	21,375	20	24,25	65	1,625	-	-
DP	2,065	2	2,121	0	0,744	-	-
CAL-3 1	29	31	34	65	3	2,5 a 8,9	0 a 0,5
	não colonizou						
CAL-3 2	total	34	36	65	2	2,8 a 4,9	0 a 2
CAL-3 3	33	31	35	65	1	2,3 a 5,3	0 a 1,3
CAL-3 4	30	30	33	65	1	4,7 a 7,2	0 a 2
	não colonizou						
CAL-3 5	total	35	38	65	1	3,2 a 6,8	0 a 0,5
CAL-3 6	26	28	32	65	3	4,8 a 7,0	0 a 1,5
CAL-3 7	30	32	36	65	1	3,6 a 8,2	0 a 0,5
CAL-3 8	30	34	38	65	1	3,1 a 5,2	0 a 1
Média	29,666	31,875	35,25	65	1,625	-	-
DP	2,250	2,356	2,187	0	0,916	-	-
CAL-100 1	27	28	30	65	1	2,5 a 6,3	0 a 0,5
	não colonizou						
CAL-100 2	total	32	36	65	2	2,9 a 8,1	0 a 2,2
	não colonizou						
CAL-100 3	total	26	31	65	1	3,5 a 7,1	0 a 1
CAL-100 4	27	29	32	65	2	2,9 a 5,6	0 a 1,3
CAL-100 5	29	28	31	65	1	10,3 a 12,4	0 a 2
CAL-100 6	25	27	30	65	1	3,9 a 5,4	0 a 0,7
CAL-100 7	27	30	32	65	1	2,5 a 7,4	0 a 0,5
CAL-100 8	28	28	31	65	2	3,4 a 5,8	0 a 1
Média	27,166	28,5	31,625	65	1,375	-	-
DP	1,329	1,032	0,894	0	0,516	-	-

COMP-3: Substrato compostado formulação 3 - 60% palha de feijão (PF) e 40% bagaço de cana (BC); COMP -100: Substrato compostado com 100% PF; AX-3: Substrato formulação 3 esterilizado de forma axênica (autoclave); AX-100: Substrato formulação 100% PF esterilizado de forma axênica; CAL-3: Substrato formulação 3 tratado com solução de cal 2%; CAL-100: Substrato formulação 100% PF tratado com solução de cal 2%.

Observando a Tabela 2, os dados de avaliação biológica de *P. ostreatus* INPA 1467, mostram que o menor tempo de colonização de substrato ocorreu em COMP-100 (15 a 21 dias), ocorrendo em $17,15 \pm 2,37$ dias, em média; seguido de COMP-3 (15 a 21 dias), que apresentou colonização em $18,75 \pm 2,0$, em média.

O aparecimento de primórdios, em alguns sacos de cultivo, iniciou antes da completa colonização do substrato. Este fato, possivelmente se deve a má homogeneização do substrato, impedimento de trocas gasosas em áreas específicas do substrato e/ou formação de gotas de água em excesso no interior dos sacos, inibindo a colonização do fungo.

O menor tempo formação de primórdios foi possível observar em COMP-100 em $15,37 \pm 1,92$, variando de 13 a 19 dias; o segundo menor tempo, foi observado em COMP-3 no qual a emissão de primórdios foi iniciada com 17 ± 87 dias de cultivo, variando de 16 a 20. Estes substratos também foram os que apresentaram maior eficiência biológica quando cultivados em *P. ostreatus* INPA 1467 (Figura 3). O período médio para o início da frutificação em COMP-100, COMP-3, AX-100, AX-3, CAL-100 e CAL-3 foi de $19,5 \pm 2,13$; $21,62 \pm 1,99$; $24,25 \pm 2,12$; $25,75 \pm 2,43$; $31,62 \pm 0,89$ e $35,25 \pm 2,18$, respectivamente.

O número de fluxos produzidos em COMP-3, COMP-100, AX-3, AX-100, CAL-3 e CAL-100 foi de 2-3 ($2,62 \pm 0,51$); 2-5 ($3,25 \pm 1,28$); 1-3 ($1,75 \pm 0,88$); 1-3 ($1,62 \pm 0,74$); 1-3 ($1,62 \pm 1,91$); 1-2 ($1,37 \pm 0,51$). Quanto às características morfológicas dos cogumelos, o diâmetro variou de 2 a 11,5 em COMP-3; 2,3 a 15,11 em COMP-100; 2,3 a 9,4 em AX-3; 2,7 a 15,1 em AX-100; 2,3 a 8,9 em CAL-3; 2,5 a 8,1 em CAL-100. A altura do estipe variou de 0,5 a 2,2, de maneira geral.

2.3.4 Avaliação da Eficiência Biológica Média (EBM) no cultivo de *P. ostreatus* 1467 nos diferentes substratos à base de palha de feijão e cana-de-açúcar

Para a comparação com a literatura e discussão, foram analisados dados de produção de *P. ostreatus* e outras espécies do mesmo gênero por geralmente apresentarem similaridade fisiológica.

Como observado na figura 4, os índices de EBM alcançados no presente trabalho foi, em ordem decrescente para COMP-100, COMP-3, AX-100, CAL-100, AX-3 e CAL-3, foram: $83,30 \pm 7,19$; $80,49 \pm 9,98$; $64,08 \pm 11,31$; $61,21 \pm 8,94$; $52,74 \pm 7,17$; $50,48 \pm 7,19$. O substrato COMP-100 apresentou variação de EB de 67,52 a 90,65%, seguido de COMP-3 (52,70 a 80,23%); AX-100 (68,39 a 92,24%); CAL-100 (44,39 a 76,50%); AX-3 (40,49 a 66,69%) e CAL-3 (41,44 a 60,93%).

As maiores médias em termo de eficiência biológica evidenciadas nos substratos COMP-100 ($83,30 \pm 7,19$) e COMP-3 ($80,49 \pm 9,98$), que se destacaram em termos estatísticos, ocorreram possivelmente devido a maior disponibilidade de material de mais rápida assimilação, como açúcares mais simples. Os referidos substratos de cultivo são frutos do processo de compostagem. Tal processo permite a decomposição da matéria orgânica de forma acelerada por intermédio de micro-organismos mesófilos e termófilos, resultando em moléculas de carboidrato mais simples e de maior rapidez de assimilação pelo fungo em questão, em relação aos demais substratos tratados em solução de cal a 2% e de forma axênica.

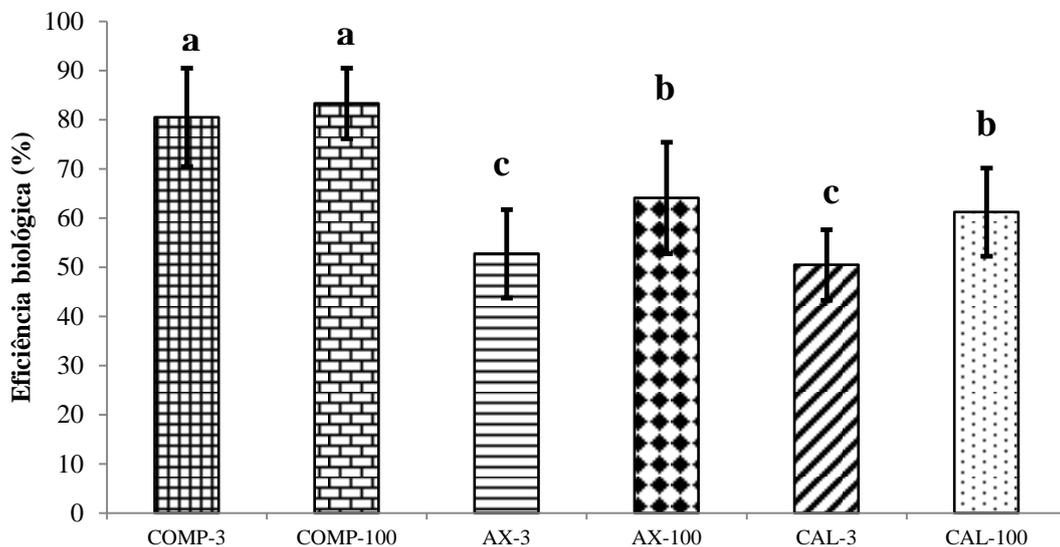


Figura 4. Eficiência biológica média dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus* INPA 1467. COMP-3: Substrato compostado formulação 3 - 60% palha de feijão (PF) e 40% bagaço de cana (BC); COMP-100: Substrato compostado com 100% PF; AX-3: Substrato formulação 3 esterilizado de forma axênica (autoclave); AX-100: Substrato formulação 100% PF esterilizado de forma axênica; CAL-3: Substrato formulação 3 tratado com solução de cal 2%; CAL-100: Substrato formulação 100% PF tratado com solução de cal 2%. Médias em letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, 1%. CV (%) = 14,09.

O melhor resultado alcançado no presente estudo, foi obtido com o composto de feijão puro como substrato de cultivo para *P. ostreatus* que obteve 83,30% de eficiência biológica, resultado semelhante ao de Dias et al. (2003). Em estudo realizado por estes autores, utilizando resíduos de palha de milho, palha de feijão e casca de café, puros ou enriquecidos

com gesso, calcário, farelos de trigo demonstraram que o que melhor se destacou foi o substrato de palha de feijão pura. Este tratamento evidenciou melhor eficiência biológica (85,7%) no cultivo de *Pleurotus sajor-caju*, seguido de palha de milho enriquecida (83,3%); palha de feijão enriquecida (81,4%) e palha de milho pura (51,1%).

No Quênia, Kimenju et al. (2009) avaliaram fibra de banana, serragem de eucalipto, fibra de coco, resíduo de milho, palha de feijão, palha de arroz e palha de trigo para cultivo de *P. ostreatus*. Os maiores valores de eficiência biológica foram observados em palha de arroz (92%) e palha de feijão (106%), superiores aos avaliados no presente trabalho.

Pesquisadores que utilizaram a imersão em água alcalinizada como modo de desinfecção de substratos de cultivo para *P. ostreatus* (CONTRERAS et al, 2004) reportaram eficiência biológica de 126% quando cultivado em grama (*Digitaria decumbens*), sendo o maior valor observado em seu trabalho, diferindo-se dos demais tratamentos, seguida de substrato compostado de grama + borra de café (tratamento controle) evidenciando eficiência biológica de 90%. Estatisticamente semelhantes ao controle, resultados da eficiência biológica de espiga de milho + borra de café, grama + borra de café e palha de milho, foram 87,2; 84; e 82,9%, respectivamente. O substrato de menor eficiência biológica, 60,9%, foi evidenciado no cultivo de *P. ostreatus* em substrato de espiga de milho, resultado semelhante ao observado no estudo presente, onde CAL-100 apresentou eficiência biológica variando de 44,39 a 76,50% (61,21% em média) e CAL-3, variando de 41,44 a 60,93%, em média 50,48%.

Em 2009, Barnabé-González e Cayetano-Catarino avaliaram a eficiência biológica de *P. pulmonarius* cultivado em resíduos de folha de bananeira e de “palmareca”, uma pequena palmeira ornamental, quando submetidos a tratamento em água quente a 80 °C por 1h ou imersos em solução de cal a 2% por 24 h. Não houve diferença significativa entre os tratamentos envolvendo “palmareca” como substrato, tanto o imerso em cal 2%, quanto o submetido à água quente, apresentando eficiência biológica de 41,47 e 44,95%, respectivamente. A maior eficiência biológica obtida nesse trabalho foi no cultivo de folha de bananeira tratado em água alcalinizada (120,13%), seguido de cultivo do mesmo resíduo submetido à água quente (81,24%). O período de cultivo durou de 58 a 68 dias, em média. Os autores concluem que os substratos e tratamentos estudados são adequados pelo baixo custo para produção em pequena escala de cogumelos do gênero *Pleurotus*.

No trabalho de Hernández, Sánchez e Yamasaki (2003), para avaliar o cultivo de *P. ostreatus*, foi utilizada a mesma formulação de substrato (70% capim + 20% borra de café) que foi submetido à compostagem por cinco dias. Os tratamentos foram diferidos apenas pela ausência ou presença de reviradas diárias, e pela ausência ou presença de tampa com chaminé

no tampa dos cercos onde as pilhas de compostagem foram alocadas. Os valores de eficiência biológica entre os tratamentos variaram de 59,7 e 93,8%, apresentando semelhanças com o presente estudo onde COMP-100 e COMP-3 apresentaram eficiência biológica de 83,30 (variando de 67,52 a 90,65%) e 80,49% (69,39 a 92,24%), respectivamente.

Siqueira et al. (2012) avaliaram o cultivo de *P. pulmonarius* em duas diferentes formulações de substrato, sendo a primeira constituída por feno “coast-cross”, palha de soja, espiga de milho, bagaço de cana-de-açúcar e a segunda, espiga de milho, palha de feijão e capim Bahia, ambos submetidos a compostagem curta por sete dias e pasteurizados em túnel a 60-70 °C por 12h. Nesta avaliação obteve-se 60,5% de eficiência biológica na formulação 2 e 54,5%, na formulação 1, não diferindo-se entre si. Aplicando esta metodologia no presente trabalho, com resíduo de palha de feijão (COMP-100) e palha de feijão+bagaço de cana (COMP-3), foram alcançados 83,30±7,19 e 80,49±9,98% de eficiência biológica, respectivamente.

A segunda avaliação realizada por Siqueira et al. (2012) no mesmo trabalho, objetivou comparar a produção de *Pleurotus* spp. quando cultivados em palha de feijão de maneira axênica ou por meio de pasteurização seguida de compostagem curta. *P. eryngii* foi o único que se diferenciou dos demais tratamentos, apresentando a menor eficiência biológica constatada, de 53,7%, quando submetido à esterilização em autoclave. Das três espécies avaliadas nesse experimento, *P. eryngii* foi o único que apresentou baixo desenvolvimento em substrato compostado/pasteurizado não sendo possível obter dados de produtividade. Os valores de eficiência biológica de *P. ostreatus* e *P. pulmonarius* cultivados das duas formas, não apresentaram diferença estatística entre si. A eficiência relatada em *P. pulmonarius* e *P. ostreatus* submetido à compostagem/pasteurização foi de 68,8 e 61,75%, respectivamente e quando submetidos à esterilização em autoclave foi de 62,7 e 59,52%, respectivamente. Os substratos autoclavados avaliados no presente estudo para o cultivo de *P. ostreatus* INPA 1467, uma linhagem isolada na Amazônia, apresentaram eficiência biológica de 64,08% (variando de 52,70 a 80,23%) em substrato de palha de feijão (AX-100) e 52,74% (variando de 40,49 a 66,69%) em substrato de palha de feijão + bagaço de cana (AX-3).

Em estudo conduzido por Sales-Campos et al. (2010), foi avaliada a produtividade da mesma linhagem de *P. ostreatus* do presente estudo (INPA 1467), cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da Amazônia, suplementados com farelos. O resíduo que obteve maior eficiência biológica, diferindo-se dentre os demais, foi estipe de pupunheira (125,6%). Substratos a base de cana-de-açúcar e serragem de marupá não se diferiram entre si e

apresentaram eficiência biológica de 99,8 e 94%, respectivamente. A menor eficiência biológica observada foi relatada em serragem de pau de balsa (64,6%).

Bánfi et al. (2015) cultivaram *P. ostreatus* em substrato compostado e pasteurizado de palha de trigo suplementado com ureia. A colonização e frutificação pelo fungo levou de 30 a 36 dias, no primeiro fluxo. Neste trabalho, obteve-se uma eficiência biológica de 44,1 e 4,7%, no primeiro e segundo fluxo, respectivamente. Os substratos compostados no presente trabalho apresentaram eficiência biológica superiores a 80%.

A pesquisa de Koutrotsios et al. (2015) envolveu o estudo sobre doze resíduos de origem agrícola, florestal, agroindustrial, os quais foram utilizados de forma isolada ou misturados para cultivo dos cogumelos *Agrocybe cylindracea* e *P. ostreatus*. Os valores de eficiência biológica atingidos por *P. ostreatus* variou de 18,8 a 137,2%, nos substratos de extrato de torta de oliveira prensada e bagaço de uva + resíduo de algodão, respectivamente. A segunda maior eficiência biológica de *P. ostreatus* alcançada nesse experimento, ocorreu no substrato bagaço de oliva (71,6%), seguida de palha de trigo (52,6%) apresentando similaridade aos valores obtidos em substratos que receberam tratamento axênico no presente trabalho apresentaram eficiência biológica de 64,08% (AX-100) e 52,74% (AX-3).

No México, foram estudados três espécies de *Pleurotus*, distribuídas em 10 linhagens. O substrato de cultivo utilizado foi exclusivamente capim variedade Pangola (*Digitaria decumbens*) tratados de duas formas distintas: imersão em cal 2% por 12 horas ou pasteurização por autoaquecimento por 3 dias (compostagem curta). A eficiência biológica observada nesse experimento variou de 75,3 a 111,8% no cultivo de *Pleurotus* spp. em substrato pasteurizado, enquanto em substrato imerso em solução alcalina foi de 57,6 a 62,8% (AVEDAÑO-HERNANDEZ; SÁNCHEZ, 2013). Fato semelhante ao observado no presente trabalho, onde a eficiência biológica em substratos pasteurizados variou de 80,3 a 83,4% diferenciando-se estatisticamente dos substratos imersos em solução alcalina 50,48 a 61,21.

Mejía e Albertó (2013) utilizaram palha de trigo como substrato de cultivo para *P. ostreatus* e a submetteram a quatro diferentes tratamentos: imersão em água quente, químico, esterilização em autoclave e sem tratamento. O tratamento que melhor se destacou foi o químico promovendo uma eficiência biológica de 106,93%, seguido do tratamento no qual o substrato não foi submetido a nenhuma intervenção química ou física para controle de competidores, o qual apresentou eficiência biológica de 104%. O substrato tratado de forma axênica evidenciou uma eficiência biológica de 94,91%, resultado superior ao evidenciado no presente trabalho (53 a 65%, em média). O tratamento com água quente foi o único que se

diferenciou dentre os demais, resultando na menor eficiência biológica (75,83%), pelo menos 20% de diferença em relação aos demais tratamentos.

No presente trabalho, os valores de eficiência biológica variaram de 50,48 a 83,30%. Nos trabalhos de Pedra e Marino (2006), Sales-Campos et al. (2010), Kulshreshta et al. (2013), Argaw et al (2015), discutiu-se que a utilização de suplementos nitrogenados pode influenciar positivamente substratos com maiores quantidades de carbono e pobres em nitrogênio, melhorando a eficiência biológica. Outros diversos fatores como: pH, temperatura, umidade, relação C/N, aeração podem influenciar na colonização do fungo e produção dos cogumelos (CHANG, MILLES, 2004; CHEUNG, 2008).

Em 2006, Pedra e Marino, avaliaram o efeito da suplementação de substrato a base de casca de coco (*Cocos nucifera*) com farelo de trigo ou de arroz no cultivo de *Pleurotus* spp., em condições axênicas. *P. ostreatus* apresentou a maior eficiência biológica (21,08%) quando cultivado em substrato a base de farelo de coco enriquecido com 40% de farelo de trigo ou arroz, sendo a eficiência biológica reduzida à medida que as concentrações de suplemento foram menores, evidenciando a importância da suplementação de N em substratos ricos em C, buscando a melhor adequação nessa relação. Enquanto Kulshreshta et al. (2013), utilizaram resíduos de papel suplementados com palha de trigo (50%) ou não, no cultivo de *P. citrinopileatus*. Os resíduos de papel apresentaram as baixas eficiências biológicas (3,3 - 5,2%) observadas, porém quando suplementados com 50% de palha de trigo, apresentaram elevação da eficiência biológica variando de 88,9 a 94,5%). No substrato de cultivo controle, a eficiência biológica foi de 58,2%. Argaw et al. (2015) por sua vez, sugeriram a suplementação com N no cultivo de três espécies de *Pleurotus* cultivadas em resíduo de *Catha edulis* autoclavado, ao observar os índices de eficiência biológica (22,12 a 42,34%), objetivando a elevação deste índice.

2.3.5 Avaliação da Perda da Matéria Orgânica (PMO) no cultivo de *P. ostreatus* 1467 nos diferentes substratos à base de palha de feijão e cana-de-açúcar

A Perda da Matéria Orgânica é um parâmetro utilizado para avaliar a ação decompositora do fungo durante o seu cultivo (Zadrazil, 1978).

Na figura 5, é possível observar que houve diferença significativa entre CAL-100 e COMP-3, os quais apresentaram maior ($43,52\% \pm 7,64$) e menor ($30,36\% \pm 2,44$) PMO, em média. Os demais não diferiram entre si, apresentando PMO, em ordem decrescente de, COMP-100 ($39,01 \pm 4,79$), AX-3 ($34,88 \pm 6,78$), CAL-3 ($34,23 \pm 5,97$) e AX-100 ($33,46 \pm 3,68$).

Se observarmos a Figura 4, evidenciando a EB, observamos que os substratos de maiores índices de EB (COMP-100 e COMP-3) não foram os de maior PMO, como foi possível observar de semelhante forma nos estudos de Sales-Campos et al. (2010), também foi observado que o índice de produtividade não teve relação diretamente proporcional com a PMO em seus substratos avaliados.

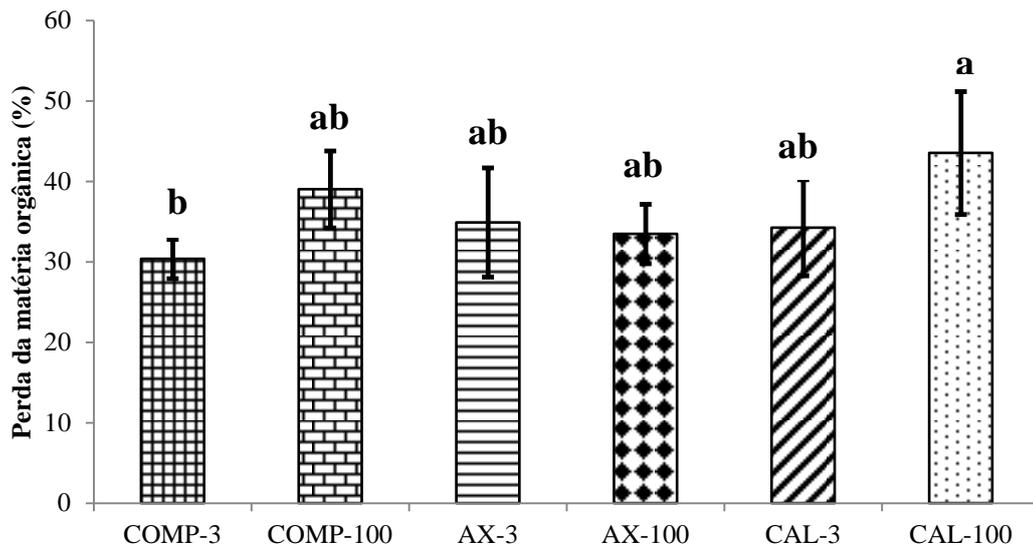


Figura 5. Perda da matéria orgânica dos diferentes substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus* INPA 1467. COMP-3: Substrato compostado formulação 3 - 60% palha de feijão (PF) e 40% bagaço de cana (BC); COMP-100: Substrato compostado com 100% PF; AX-3: Substrato formulação 3 esterilizado de forma axênica (autoclave); AX-100: Substrato formulação 100% PF esterilizado de forma axênica; CAL-3: Substrato formulação 3 tratado com solução de cal 2%; CAL-100: Substrato formulação 100% PF tratado com solução de cal 2%. Médias em letras iguais não diferem entre si pelo teste T, 1%. CV (%) = 16,50.

Carvalho et al. (2012) também constataram esta não-correlação em sua pesquisa, envolvendo substratos à base de resíduos de diferentes cultivares bananeira para cultivo de *P. ostreatus*. Os autores ainda afirmam que a PMO não pode ser um parâmetro indicativo de produtividade, pois nem sempre há consonância entre valores de BE e PMO, relatados em seu trabalho e na literatura.

Também não foi observada a relação de PMO com EB no trabalho de Kohari (2000), onde o maior índice de EB (26,70%) não foi o que apresentou maior PMO (37,71%). Nesse estudo, maiores índices de PMO foram observados em substratos responsáveis pelos percentuais de 38,01 (EB: 19,05); 38,11 (EB: 22,14) e 40,75 (EB: 21,11%).

Sturion e Oetterer (1995) apud Sales-Campos (2008), quando cultivaram *Pleurotus* spp. em diferentes substratos, não observaram relação da PMO com a produtividade (EB). Também observaram que além do período de incubação, a variação da PMO esteve relacionada com a composição química e física diferenciada dos substratos que puderam disponibilizar substâncias de maior ou menor facilidade de degradação pelos micro-organismos estudados.

Segundo Zadrazil (1978), a perda da matéria orgânica dos substratos não ocorre somente pela decomposição de material para o desenvolvimento do fungo para formação dos corpos de frutificação. A perda de CO₂ e H₂O durante o metabolismo do micro-organismo também pode contribuir para isto.

2.4 CONCLUSÃO

- Os substratos compostados, COMP-3 e COMP-100, apresentaram maior eficiência biológica 83,3 e 80,49%. Entretanto, os demais substratos apresentaram índices variando de 50,48 a 64,08%;

- O substrato formulado a base de palha de feijão (FORM 100% PF) apresentou maior produtividade em relação ao substrato formulação a base 40% bagaço de cana + 60% palha de feijão (FORM 3) quando submetido ao mesmo tratamento de desinfestação/esterilização;

- A perda de matéria orgânica (PMO) não esteve relacionada com o índice de eficiência biológica (EB), variando com o tipo de substrato utilizado.

2.5 REFERÊNCIAS

- ARGAW, A.; GIRMA, Y.; FIKRESILASSIE, F.; MEKASH, F. Cultivation of three *Pleurotus* spp., on khat (*Catha edulis*) leftover. **Biotechnology**. n. 14., v. 2. p. 65-71, 2015.
- AVENDAÑO-HERNANDEZ, R.; SÁNCHEZ, J. E. Self-pasteurised for growing oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). **Afr. J. Microbiol. Res.** v. 7, n. 3, p. 220-226, 2013.
- BÁNFI, R.; POHNER, Z.; KOVÁCS, J.; LUZICS, S.; NAGY, A.; DUDÁS, M.; TANOS, P.; MÁRIALIGETI, K.; VAJNA, B. Characterisation of the large-scale production process of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with the analysis of succession and spatial heterogeneity of lignocellulolytic enzyme activities. **Fungal Biology**. xxx. p. 1-10, 2015.
- BARNABÉ-GONZALES, T.; CAYETANO-CATARINO, M. Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero, Mexico. **Micol. Apl. Int.** v. 21, n.1, p. 19-23, 2009.
- BENTO, C. B. P; CASARIL, K. B. P. B. Bioconversão de resíduos agroindustriais lignocelulósicos por fungos causadores da podridão branca: uma alternativa à produção de alimentos. **Faz Ciência**. v. 15, n. 20, pp. 151-180, 2012.
- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Estudo da composição de cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira. **Health and Environmental Journal**. v.4, n.1, p. 31-35, 2003.
- BUAH, J. N.; VAN DER PUIJE, G. C.; PEDIAKO, E. A.; ABOLE, E. A.; SHOWEMIMO, F. The growth and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates. **Biothecnology**. v. 9, n.3, p. 338-342, 2010.
- CARDOSO, J. C. P.; DEMENJOUR, P. L. M. M.; PAZ, M. F. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bociuva e de cana-de-açúcar pela técnica juncao. **Evidência**. v. 13 n. 1, p. 31-40, 2013.

CARVALHO, C. S.M.; AGUIAR, L. V. B.; SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Determinação bromatológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de diferentes cultivares de bananeira. **Interciência**. n. 8, v. 30, p. 621-626, 2012.

CARVALHO, C. S. M.; SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Mushrooms of the *Pleurotus* genus: a review of cultivation techniques. **Interciência**, Caracas, v. 35, n. 3, p. 177-182, 2010

CHANG, S. T.; MILLES, P. G.. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact**, 2004. 477 p.

CHEN, G.; LIU, W. Diversity and dynamics of the microbial community on decomposing wheat straw during mushroom compost production. **Biosource Technology**. v. 170. p. 183-195, 2014.

CHEUNG, P. K. C. **Mushrooms as functional food**. John Willey and Sons, 2008. 280 p.

CONTRERAS, E. P.; SOCOLOV, M.; MEJÍA, G. SÁNCHEZ, J. E. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **J. Hort. Scien. Biotechnol.** v. 79, n. 2. p. 234-240, 2004.

DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, É. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelos *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciênc. agrotec.** V. 27, n. 6, p. 1363-1369, 2003.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecn**, v. 34, n. 4, p. 795-803, 2010

HÉRNANDEZ, D.; SÁNCHEZ, J. E.; YAMASAKI, K. A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. **Biosource Technology**. v. 90, p. 145-150, 2003.

KIMENJU, J. W.; ODERO, G. O .M.; MUTITU, E. W.; WACHIRA, P. M.; NARLA, R. D.; MUIRU, W. M. Suitability of locally substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation in Kenya. **Asian J. Plant Sci.** v.8, n. 7, pp. 510-514, 2009.

KOHARI, E. K. **Produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em resíduos lignocelulósicos e avaliação das características do substrato exaurido visando sua utilização como fertilizante orgânico.** Dissertação (Mestrado em Agronomia). Curitiba: UFPR, 2008. 118 p.

KOUTROTSIOS, G.; MOUNTZOURIS, K.; 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**. n. 161, p. 127-135, 2015.

KULSHRESHTA, S.; MATHUR, N.; BHATNAGAR, P.; KULSHRESHTA, S. Cultivation of *Pleurotus citrinopileatus* on handmade paper and cardboard industrial wastes. **Industrial crops and products**. n. 41, 340-346, 2013.

KIMENJU, J. W.; ODERO, G. O. M.; MUTITU, E. W.; WACHIRA, P.M.; NARLA, R. D.; MUIRU, W. M. Suitability of locally available substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation on Kenya. **Asian J. Plant Sci**. v.8, n.7, p. 510-514, 2009.

MADAN, M.; VASUDEVAN, P.; SHARMA, S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on different wastes. **Biological Wastes**. v. 22, p. 241-250, 1987.

MAMIRO, D. P.; MAMIRO, P. S.; MWATAWALA, M. W. Oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) cultivation technique using re-usable substrate containers and comparison of mineral contents with common leafy vegetables. **J. Appl. Biosci**. v. 80, p. 7060-7070, 2014.

MEJÍA, S. J.; ALBERTÓ, E. Heat treatment of wheat straw by immersion in hot water decreases mushroom yield in *Pleurotus ostreatus*. **Rev. Iberoam. Micol**. v. 30, n. 2, 2013.

OEI, P. **Small scale mushroom cultivation**. Agromisa foundation, 2005. 86 p.

OVERTJNS, A. The conventional Phase II in trays and shelves. **Mush. J**. v. 584. pp. 15-21, 1981.

PANDEY, A., SOCCOL, C R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: Sugarcane bagasse. **Bioresource Technology** 74; 69-80, 2000

PEDRA, W. N.; MARINO, R. H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem da casca de n. 73. p. 219-225, 2006.

PELIZER, L. H; PORTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **J. Technol. Manag. Innov.** v. 2, n. 1, 2007

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica** - Manaus: UFAM, 2008. 182 p.

SALES-CAMPOS, C; MINHONI, M. T. A; ANDRADE, M. C. N. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. **Interciencia.** v. 35, n. 3. p 198-201, 2010.

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 41, p. 1-8, 2011.

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

SIQUEIRA, F. G.; MACIEL, W. P.; MARTOS, E. T.; DUARTE, G. C.; MILLER, R. N. G.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. **Afr. J. Biotechnol.** v. 11, n. 53, p. 11630 – 11635, 2012.

SIQUEIRA, F. G.; MARTOS, E. T.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on banana stalk and Bahia grass based substrates. **Hort. Bras.** v. 29, n. 2, p. 199-204, 2011.

STURION, G. L. **Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de

Alimentos). Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – USP, 1994. 147p

STURION, G. L.; OETTERER, M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados em diferentes substratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V. 15, n. 2, p. 189-193, 1995.

VETAYASUPORN; CHUTICHUDET; CHO-RUK. Bagasse as a possible substrate for *Pleurotus ostreatus*. **Pak. J. Biol. Sci.** v. 9, n. 13, p. 2512-2515, 2006.

ZADRAZIL, F. **Cultivation of *Pleurotus***. In: CHANG, S. T; HAYES, W. A. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic Press. p. 521-557, 1978.

ZHANG, X.; ZHONG, Y.; YANG, S.; ZHANG, W.; XU, M.; MA, A.; ZHUANG, G.; CHEN, G.; LIU, W. Diversity and dynamics of the microbial community on decomposing wheat straw during mushroom compost production. **Biosource Technology**. v. 170, p. 183-195, 2014.

CAPÍTULO 3 – Composição mineral de *P. ostreatus* INPA 1467 e substratos de cultivo a base palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

3.1 INTRODUÇÃO

Segundo Cheung (2008), o número crescente de cogumelos comestíveis cultivados sendo introduzidos no mercado levou a uma maior atenção das ciências de alimentos e nutrição, a serem comprovados quanto aos seus potenciais benefícios na saúde dos seres humanos.

Conforme Furlani e Godoy (2005) é notória a crescente preocupação de consumidores com as informações nutricionais e qualidade em relação aos alimentos, gerando a busca de alimentos comprovadamente mais saudáveis e que proporcionem maior qualidade de vida. Os cogumelos apresentam características nutricionais desejáveis (fonte de proteínas, minerais e vitaminas), além de seu potencial medicinal, resultando em maior procura por esses alimentos pela população.

Segundo Putzke e Putzke (2002) e Chang e Miles (2004), tal como as plantas, em geral, os fungos também têm duas classificações de nutrientes de acordo com a quantidade necessária em suas dietas: os macronutrientes e os micronutrientes, com maior e menor exigência, respectivamente. Os macronutrientes são carbono, hidrogênio, oxigênio, potássio, nitrogênio, enxofre e magnésio, dos quais o primeiro é o mais exigido por ser um nutriente estrutural, associado ao hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. O cálcio é aceito por vários autores como outro macronutriente por estar envolvido em diversos processos bioquímicos, na influência do crescimento e no desenvolvimento de fungos. Entre micronutrientes são citados o ferro, cobre, manganês, zinco, sódio e molibdênio.

Os cogumelos comestíveis, frescos, cozidos ou processados, são nutricionalmente excelentes, além de serem fontes de alimento de bom gosto para a maioria das pessoas e pode ser um componente significativo da dieta para vegetarianos. A baixa concentração de sódio e a presença de uma grande quantidade de potássio sugere a utilização dos cogumelos em uma dieta anti-hipertensiva. São uma ótima fonte de minerais (macroelementos como cálcio, magnésio, potássio e fósforo e microelementos como cobre, ferro, manganês, sódio e zinco), além de serem fontes de vitaminas do complexo B, vitaminas C e D). Alguns cogumelos comestíveis comuns, incluindo *P. ostreatus*, *Lentinula edodes* e *Agaricus bisporus* são ricos em potássio, boa fonte de fósforo, magnésio, zinco e cobre. (FURLANI; GODOY, 2007; ; GENÇCELEP et al., 2008; CHEUNG, 2008; SALES-CAMPOS, 2008; MICHAEL; BULTOSA; PLANT, 2011; KHAN et al., 2012).

Dentro de uma única espécie de cogumelo, o teor de nutrientes varia muito, dependendo do habitat, o meio de cultivo, a manipulação e procedimentos subsequentes à colheita, reforçando que os diferentes substratos utilizados e avaliados em cultivo de cogumelos têm efeito sobre as propriedades nutricionais, organolépticas e químicas sobre os cogumelos (ZAHID; BARUA; HAQUE, 2010; OYETAYO; ARIYO, 2013).

O presente estudo teve como objetivo analisar a composição mineral das matérias-primas, substratos iniciais e residuais de cultivo formulados à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar, bem como os minerais constituintes do fungo *P. ostreatus* INPA 1467, em relação a tais substratos de cultivo, agregando conhecimento nutricional sobre esse cogumelo quando cultivado nos citados substratos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local de realização do trabalho

O presente trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis do Instituto Nacionais de Pesquisas da Amazônia (INPA) e Laboratório Temático de Análise de Solos e Plantas da mesma instituição.

3.2.2 Amostras analisadas

As amostras foram divididas em 4 grupos: Matéria prima; Substratos pré-cultivo e pós-cultivo e cogumelos, conforme previsto no Capítulo 2 no item 2.2.6.

- 1) Matéria-prima (MP): Palha de feijão (PF) e bagaço de cana-de-açúcar (BC);
- 2) Substratos iniciais ou pré-cultivo (PRE): Estes foram subdivididos de acordo com a formulação e tratamento do substrato. PRE-COMP-FORM-3; PRE-COMP-FORM-100; PRE-AX-FORM-3; PRE-AX-FORM-100; PRE-CAL-FORM-3; PRE-CAL-FORM-100;
- 3) Substratos exauridos ou pós-cultivo (PÓS): Substratos de cultivo (item 2) após o exaurir os nutrientes pelos fungos (POS-COMP-FORM3; POS-COMP-FORM-100; POS-AX-FORM3; POS-AX-FORM-100; POS-CAL-FORM-3; POS-CAL-FORM-100);
- 4) Cogumelos (COG): Basidiomas resultantes dos cultivos - COG-COMP-FORM-3; COG-COMP-FORM-100; COG-AX-FORM-3; COG-AX-FORM-100; COG-COG-FORM-3; COG-CAL-FORM-100.

Todas as amostras foram secas em estufa com ventilação forçada a 65 °C, trituradas em moinho tipo Willey (matérias-primas e substratos) ou mini-processador (cogumelos) e armazenados em potes de plástico com capacidade para 500 ml, hermeticamente vedados.

3.2.3 Determinação de macro e microminerais

Foi realizada a análise dos macronutrientes: fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), e dos micronutrientes: sódio (Na), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu).

As vidrarias foram desmineralizadas com uma solução de ácido nítrico a 5%, durante 24h, com objetivo de remover os minerais contaminantes. Em seguida, as amostras foram pesadas (0,5g), digeridas com ácido nítrico-peridrol e solubilizadas. A análise de todas as amostras foi realizada em triplicata (AOAC, 1997; SALES-CAMPOS et al, 2009; SILVA, 2009).

O conteúdo de cálcio, potássio, magnésio, sódio, ferro, cobre, manganês, zinco e sódio foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. O fósforo foi determinado por espectrofotometria (colorimetria). Os valores dos macronutrientes (Ca, P, Mg, K e Na) foram calculados em g kg⁻¹ e dos micros (Fe, Cu, Mn e Zn) em mg kg⁻¹.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de macro e microminerais presente nas matérias-primas utilizadas na formulação dos substratos de cultivo é possível de ser observado na Tabela 3.

Nas matérias-primas estudadas neste trabalho foi possível observar a presença de todos esses elementos, exceto zinco em bagaço de cana-de-açúcar. A impossibilidade de detecção desse elemento deve-se a sua possível baixa concentração.

Tabela 3. Composição mineral das matérias-primas.

Matéria-prima	Macronutrientes				Micronutrientes				
	P	Ca	Mg	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
	g/kg				mg/kg				
	(0,03)	(0,94)	(0,3)	(1,17)	(0,42)	(5,65)	(0,01)	(1,15)	(1,15)
PF	1,23	7,33	2,67	14,85	28,64	180,7	25,33	63,3	8,7
	(0,02)	(0,69)	(0,11)	(0,52)	(2,12)	(3,05)		(1,41)	(1,41)
BC	0,44	1,2	0,47	5,59	27,24	171,3	ND	35,3	1,1

PF: Palha de feijão; BC: Bagaço de cana-de-açúcar. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Na Tabela 4, encontram-se os dados de composição mineral dos substratos iniciais, antes do cultivo do fungo, os quais foram selecionados em duas diferentes formulações e submetidos a três diferentes tipos de tratamento para controle de possíveis contaminantes durante o cultivo: compostagem, tratamento axênico (esterilização em autoclave) e imersão em cal a 2% (Capítulo 2).

Os minerais presentes nos substratos pré-cultivo também foram observados nas matérias-primas, exceto em COMP-3, onde não foi possível a detecção de micronutriente Zn, provavelmente devido à baixíssima concentração desse elemento, tornando inviável sua leitura pelo espectrômetro de absorção atômica.

É possível observar nos substratos iniciais de cultivo, que macronutrientes são observados em ordem decrescente: $K > Ca > Mg > P$, exceto nos substratos tratados com imersão em cal a 2%, onde os macronutrientes observados, se encontram na seguinte ordem decrescente: $Ca > K > Mg > P$. Este comportamento era esperado, pois cal virgem (óxido de cálcio), contém altas concentrações de óxido de cálcio. Enquanto que, os microelementos observados nos substratos pré-cultivo, respeitaram a seguinte ordem: $Fe > Mn > Na > Cu > Zn$.

Observou-se também que PRÉ-COMP-3 e PRÉ-COMP-100, responsáveis pelas maiores taxas de eficiência biológica neste trabalho (Capítulo 2), apresentaram teores elevados em relação aos minerais estudados (exceto para Ca em PRÉ-CAL-3 e PRÉ-CAL-100, substratos tratados com solução de alcalina a 2%, utilizando CaO – cal comercial). Porém, este fato não está relacionado unicamente à concentração de minerais, apesar de serem

essenciais para a formação de basidiomas (VETTER, 1994; SILVA; COSTA; CLEMENTE, 2002; PUTZKE; PUTZKE, 2002; CHANG, MILES, 2004).

Tabela 4. Composição mineral de substratos pré-cultivo (iniciais).

Substratos Pré-cultivo	Macronutrientes				Micronutrientes				
	P	Ca	Mg	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
	g/kg				mg/kg				
PRÉ-COMP-3	(0,06) 1,18	(1,13) 6,87	(0,61) 3,47	(8,57) 16,45	(1,69) 31,58	(2,3) 770,5	(1,41) ND	(1,15) 54,7	(1,15) 8,7
PRÉ-COMP-100	(0,08) 1,64	(0,8) 9,27	(0,3) 4,33	(2,4) 13,90	(1,69) 33,24	(2,5) 705,3	(0) 4	(0) 63,3	(0) 12
PRÉ-AX-3	(0,03) 0,84	(0,11) 4,27	(0,11) 2,27	(0,11) 9,25	(3) 30,31	(5,8) 146	(2,3) 1,3	(1,15) 44,7	(0) 4
PRÉ-AX-100	(0,09) 1,22	(0,46) 6,73	(0,23) 3,27	(0,3) 10,65	(0,57) 30,11	(3,2) 184,3	(0) 6,4	(0) 47,3	(0) 6
PRÉ-CAL-3	(0,05) 0,85	(3,7) 34,80	(0,34) 3,40	(0,46) 5,12	(0) 30,44	(8,45) 130	(1,41) 2	(2,8) 40,7	(1,15) 5,3
PRÉ-CAL-100	(0,02) 0,89	(0,28) 24,19	(0,83) 4,33	(0,3) 10,93	(0) 31,18	(7,02) 241,3	(1,41) 2	(1,41) 107	(0) 12

PRÉ-COMP-3: Substrato pré-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); PRÉ-COMP-100: Substrato pré-cultivo compostado de formulação 100% PF; PRÉ-AX-3: Substrato pré-cultivo autoclavado formulação 3; PRÉ-AX-100: Substrato pré-cultivo autoclavado formulação 100% PF; PRÉ-CAL-3: Substrato pré-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; PRÉ-CAL-100: Substrato pré-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Na Tabela 5, é possível observar a composição de minerais nos substratos pós-cultivo. Os quais respeitaram a seguinte ordem decrescente para macro: $K > Ca > Mg > P$, exceto para os substratos tratados por imersão em solução alcalina a 2%, cuja ordem decrescente foi: $Ca > Mg > K > P$. Para microminerais, a seguinte ordem decrescente foi observada: Fe, Mn, Na, Cu, Zn.

Tabela 5. Composição mineral dos substratos pós-cultivo (exauridos).

Substratos	Macronutrientes				Micronutrientes				
	P	Ca	Mg	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
Pós-cultivo	g/kg				mg/kg				
PÓS-COMP-3	(0,009) 0,91	(0,9) 11,93	(0,41) 5,33	(2,227) 27,25	(1,15) 34,24	(106,9) 2106,7	(1,15) ND	(0) 108,7	(0) 12
PÓS-COMP-100	(0,46) 1,49	(3,02) 15,6	(0,11) 7,47	(6,95) 35,52	(1,44) 34,84	(41,01) 1395	(1,4) 4	(0) 112	(0) 16
PÓS-AX-3	(0,02) 0,67	(0,23) 7,13	(0,11) 3,27	(0,4) 12,79	(1,27) 31,51	(7,07) 290	(0) ND	(0) 63,3	(0) 6
PÓS -AX-100	(0,02) 0,76	(1,4) 10,73	(0,46) 5,13	(1,1) 13,65	(2,2) 33,04	(5) 172,7	(1,15) ND	(0) 75,3	(0) 6
PÓS-CAL-3	(0,04) 0,83	(2,19) 69,73	(0,11) 4,33	(0,11) 3,72	(0,61) 32,04	(141,4) 1754	(0,3) 1,3	(0) 92	(0) 8
PÓS-CAL-100	(0,01) 0,88	(5,97) 71,13	(0,52) 5,4	(0,41) 4,72	(3,82) 32,24	(79,2) 2276	(0) 1	(2) 72	(0) 6

PÓS-COMP-3: Substrato pós-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); PÓS COMP-100: Substrato pós-cultivo compostado de formulação 100% PF; PÓS-AX-3: Substrato pós-cultivo autoclavado formulação 3; PÓS-AX-100: Substrato pós-cultivo autoclavado formulação 100% PF; PÓS-CAL-3: Substrato pós-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; PÓS-CAL-100: Substrato pós-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Ao observar a mesma tabela, foi notável a alteração de macro e microelementos quando comparada a Tabela 4, onde é possível analisar os minerais antes do cultivo do fungo (pré-cultivo). A quantidade da maioria dos minerais aumentou nos substratos residuais, em relação aos iniciais, exceto para K, nos substratos POS-CAL-3 e POS-CAL-100, onde observou-se a diminuição de sua concentração, bem como para micromineral P, o qual igualmente teve sua concentração reduzida em todos os substratos, exceto em POS-COMP-3, onde foi observado um leve aumento deste mineral. O micromineral Cu presente em POS-CAL-100 também foi reduzido em relação ao substrato inicial, PRE-COMP-100.

Na Tabela 6, é possível observar as concentrações de minerais presentes no *cogumelo P. ostreatus* INPA 1467, cultivado nos diferentes substratos formulados (Capítulo 2).

Os teor de macrominerais respeitam a ordem decrescente $K > P > Mg > Ca$, semelhante ao analisado por Vetter (1994). Para microminerais, a ordem decrescente observado foi $Fe > Zn > Na > Mn$, o microelemento Cu apresentou variação.

Tabela 6. Composição mineral do cogumelo *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado nos diferentes substratos pré-cultivo (iniciais).

Cogumelos	Macronutrientes					Micronutrientes			
	P	Ca	Mg	K	Na	Fe	Zn	Mn	Cu
	g/kg					mg/kg			
	(0,24)	(0,11)	(0,2)	(2,43)	(0,4)	(7,21)	(1,41)	(1,15)	(2)
COG-COMP-3	8,78	1,07	2,2	30,79	25,38	120	46,7	19,3	30
	(0,25)	(0)	(0)	(0,46)	(0,23)	(1,15)	(1,15)	(1,15)	(0)
COG-COMP-100	8,21	1,2	2	31,25	27,31	102	42,7	18,66	18
	(0,96)	(0,4)	(0,46)	(1,44)	(0,41)	(4)	(1,15)	(1,15)	(1,41)
COG-AX-3	7,31	1,83	2,27	32,59	27,04	142	60,7	20,7	105,3
	(0,48)	(0,23)	(0,11)	(1,41)	(1)	(1,15)	(1,15)	(0)	(8,08)
COG-AX-100	9,04	1,33	1,47	30,05	25,84	130,7	56,7	20	43,3
	(0,37)	(0,11)	(0,34)	(2,13)	(0,41)	(4,19)	(1,14)	(0)	(4,24)
COG-CAL-3	7,25	1,73	2	28,25	28,24	166,7	93	24	148,7
	(0,33)	(0,11)	(0,11)	(1,17)	(0,5)	(5,6)	(1,14)	(0)	(4)
COG-CAL-100	9,3	1,87	1,93	27,52	27,11	151,3	69	24	290

COG-COMP-3: Cogumelo cultivado em substrato pré-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); COG-COMP-100: Cogumelo cultivado em substrato pré-cultivo compostado de formulação 100% PF; COG AX-3: Cogumelo cultivado em substrato pré-cultivo autoclavado formulação 3; COG-AX-100: Cogumelo cultivado em substrato pré-cultivo autoclavado formulação 100% PF; COG-CAL-3: Cogumelo cultivado em substrato pré-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; COG-CAL-100: Cogumelo cultivado em substrato pré-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Segundo Chang e Miles (2004), K é o elemento de maior abundância encontrado nos mais diversos cogumelos. A ingestão elementos de alimentos ricos em K traz benefícios para saúde como o controle da pressão arterial, sendo indicado seu consumo regular principalmente às pessoas que apresentam fator de risco para doenças cardiovasculares (ANAVI, 2013).

Valores de Fe e Zn obtidos neste estudo são maiores que os de Adebayo et al. (2014) no cultivo de *Pleurotus*, enquanto Na foi menor observado em seus estudos.

Os teores de Mg (de 0,6 a 2,07 g.kg⁻¹), no trabalho de Obodai et al (2014) envolvendo diferentes espécies e linhagens de *Pleurotus*, apresentaram semelhanças com o presente estudo. Porém, os teores de Fe (349 a 1374 mg.kg⁻¹) e Zn (189 a 411 mg.kg⁻¹) foram superiores, enquanto Ca (0,02 a 0,41 g.kg⁻¹), Mn (10,7 a 48,3 mg.kg⁻¹), Cu (15,3 a 23,7 g.kg⁻¹) foram inferiores, em relação ao presente.

Michael, Bultosa e Plant (2011) observaram concentrações de P em *Pleurotus* spp. (12,97 a 14,67 g.kg⁻¹) superiores ao encontrado no presente estudo, enquanto que os teores Zn (59,29 a 60,29 mg.kg⁻¹) foram semelhantes aos encontrados em *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em PRÉ-AX-3 e PRÉ-AX-100; foram inferiores em PRÉ-COMP-3 e PRÉ-COMP-100 e superiores em PRÉ-CAL-3 e PRÉ-CAL-100.

No estudo de Sales-Campos et al. (2009) onde *P. ostreatus* foi cultivado em diferentes resíduos de origem agroflorestal, observou-se que os macronutrientes presentes no cogumelo, respeitavam a ordem decrescente K > P > Mg > Ca com valores semelhantes aos observados no presente trabalho, bem como, no trabalho de Vetter (1994). Entretanto, a ordem para microminerais foi distinta: Na > Fe > Zn > Mn > Cu, apesar de os valores de Fe e Mn se assemelharem aos do presente trabalho.

Sturion e Ranzani (2000) avaliaram as concentrações de macro e microminerais presentes em *Pleurotus* spp comercializados no Brasil. Observou-se que os valores de Fe (106,66-188,66 mg.kg⁻¹) assemelharam-se a este trabalho. No entanto, Zn e Na apresentaram valores maiores (91-195 e 52-183 mg.kg⁻¹) e Cu e Mn (18-27,29 e 11-15 mg.kg⁻¹), apresentaram valores menores, em relação ao presente. Os valores de macrominerais respeitaram a seguinte ordem decrescente: K > P > S > Mg > Ca, assemelhando-se a este (com exceção de S).

Gençelep et al. (2009) observaram que K era o mineral presente em maior quantidade presente em todos os trinta cogumelos comestíveis selvagens de diferentes espécies, seguido de P (na grande maioria dos cogumelos) e Mg. O cogumelo *P. ostreatus* INPA 1467 apresentou maiores concentrações dos macrominerais (exceto Ca, que apresentou resultados semelhantes) e menores concentrações de microminerais (exceto Cu, cuja concentração foi bastante variada) quando comparado a *P. ostreatus* avaliado pelos autores desse trabalho.

O processo de translocação de P, Zn e Cu (Tabela 5) pareceu ser bem eficiente, pois quanto maior seus teores nos cogumelos, menores nos substratos pós-cultivo (Tabela 6).

Segundo Chang e Miles (1989) os minerais de que estão presentes nos cogumelos são retirados por meio das hifas e micélio do fungo, em sua fase vegetativa, e utilizados no processo de formação do basidiocarpo.

3.4 CONCLUSÃO

- De modo geral, houve translocação da maioria dos macro e micronutrientes presentes nos substratos durante o cultivo de *P. ostreatus*;
- Potássio foi o mineral mais abundante em *P. ostreatus* INPA 1467 em todos os tratamentos;
- O cogumelo *P. ostreatus*, independentemente do tratamento ao qual foi submetido o substrato inicial de cultivo, apresentou teores de minerais na seguinte ordem decrescente: $K > P > Mg > Ca > Fe > Zn > Na > Mn$. O microelemento Cu apresentou variação;
- Os diferentes substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus* 1467, produziram cogumelos ricos em potássio, fósforo, magnésio e ferro, fundamentais para a manutenção da saúde.

3.5 REFERÊNCIAS

- ANAVI, S. Nutrição e saúde: A importância do potássio. **Internacional Potash Institute**. v.1, 2013.
- AOAC – Association of official analytical chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC**. Ed. 3,v. 3, 1997.
- ADEBAYO, E. A.; OLOKE, J. K.; AYANDELE, A. A.; ADEGUNLOLA, C. O. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial assay of mushroom metabolite from *Pleurotus pulmonarius*–LAU 09 (JF736658). **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, n. 2, p. 366-374, 2012.
- CHANG, S. T.; MILLES, P. G.. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact**, 2004. 477 p.
- CHANG, S. T.; MILLES, P; G. **Edible mushrooms and their cultivation**. CRC Press, 1989. 345 p.
- CHEUNG, P. K. C. **Mushrooms as functional food**. John Willey and Sons, 2008. 280 p.
- FURLANI, R. P. Z; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: Uma revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz**. v. 64, n.2, p. 149-154, 2005.
- FURLANI, R. P. Z; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. n. 27, v.1, p. 154-157, 2007.
- GENÇCELEP, H.;USUN, Y.; TUNÇTÜRK, Y.; DEMIREL, K. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. **Food Chemistry**. n. 113, pp.1033-1036, 2009.
- KHAN, N. A.; KHALIQ, N.; HAQ, I ; JAVED, N. GONDAL, A. S. Impact of carbohydrates and mineral contents of different indigenous strains of oyster mushroom cultivated on different agricultural wastes. **Journal of Plant Pathology**. v. 1, p. 56-61, 2012.

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. **Int. J. Food Techno.** n. 46, p. 732-738, 2011.

OBODAI, M; OWUSU, E.; SCHIWENGER, G. O.; ASANTE, I. K.; DZOMEKU, M. Phytochemical and mineral analysis of 12 cultivated o oyster mushrooms (*Pleurotus* species). **Advances in life science and technology.** v. 26, p. 35-42, 2014.

OYETAYO, V. O.; ARIYO, O. O. Micro and macronutrient properties of *Pleurotus ostreatus* cultivated of different wood substrates. **Jordan Journal of Biological Sciences.** v. 6, n.3, p. 223-226, 2013

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos.** Volume 2. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 2002. 829 p.

SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAÚJO, L.M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica. **Ciên. Technol. Alim.** V. 29, n. 4, p. 868-879, 2009.

SILVA, F. C. **Manual de análises química de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SILVA, S. O.; COSTA, S. M. G.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology.** v. 45, n. 4, p. 531-535, 2002.

STURION, G. L; RANZANI, M. R. T. C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil (*Pleurotus* spp. e outras espécies desidratadas). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición.** v. 50, n.1, p. 102-108, 2000.

VETTER, J. Minerals elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. **Food Chemistry.** n. 50, p. 277-279, 1994

ZAHID, M. K.; BARUA, S.; HAQUE, M. I. Proximate composition and mineral content of selected edible mushroom varieties on Bangladesh. **Bangladesh J. Nutr.** v. 22-23, p. 61-68, 2010.

CAPÍTULO 4 – Composição centesimal e análise físico-química do cogumelo *Pleurotus ostreatus* INPA 1467, matérias-primas e substratos de cultivo formulados à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

4.1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos estão presentes na cultura de civilizações milenares e são considerados uma boa fonte nutricional, bem como medicinal (FURLANI; GODOY, 2005; ORSINE et al., 2012; KHATUN et al, 2014; ARANGO; NIETO, 2013).

Atualmente, há uma maior preocupação da população em relação à saúde e em melhorar seus hábitos alimentares, procurando por alimentos mais saudáveis e que garantam uma boa nutrição, reforçando a imunidade. A ingestão de proteínas, fibras, evitando gorduras é cada vez mais preconizada em nossa sociedade (ROUPAS et al., 2012; KHATUN et al, 2014; MUKHOPADHYAY; GUHA, 2015).

A procura e consumo de cogumelos vem aumentando de modo significativo no Brasil, apesar de não haver dados oficiais, devido à divulgação e reconhecimento de seus bons valores nutricionais e a valorização de seu “status” atualmente reconhecido como um alimento “gourmet”, além da utilização de cogumelos em forma de cápsulas, como preventivo de doenças (FURLANI; GODOY, 2005; LEMOS, 2009).

Dentre os cogumelos cultivados *Agaricus bisporus*, *Pleurotus* spp. e *Lentinula edodes* são os mais comercializados e consumidos mundialmente e provavelmente no Brasil (CHANG, MILES, 2004; SALES-CAMPOS, 2008; DIAS, 2010; SÁNCHEZ, 2010; SIQUEIRA, 2011).

Pleurotus ocupa a segunda posição mundial em produção de cogumelos (SÁNCHEZ, 2010). São encontrados em florestas tropicais e subtropicais em todo o mundo e podem ser cultivados de modo artificial devido a sua capacidade de degradar celulose, hemicelulose e lignina. Não possuem alta exigência nutricional, tornando-se um grupo promissor no cultivo de cogumelos (BONATTI, 2004; DIAS, 2010)

Não existem dados oficiais a respeito da produção de cogumelos no Brasil, porém diferentes espécies de *Pleurotus* vêm sendo cultivadas e o *P. ostreatus* é o mais importante cogumelo-ostra produzido em nosso País (SIQUEIRA et al., 2011). Este cogumelo é conhecido como cogumelo-ostra, hiratake ou shimeji, dependendo de seu estágio de maturação. Quanto as suas características nutricionais, são muito variáveis em função da linhagem, do substrato, condições ambientais e pós-colheita (EIRA, 2004)

Na literatura estão descritas as diferentes concentrações de nutrientes reforçando que *P. ostreatus* pode ser uma ótima fonte de proteína, fibras, minerais, carboidratos, vitaminas contendo baixíssimos teores de gordura (YILDIZ; KARAKAPLAN; AYDIN, 1998; BONATTI, 2003; BONATTI et al, 2004; SALES-CAMPOS, 2008; ZAHID; BARUA; HACK, 2010; CARVALHO et al, 2012; NAZ, 2014; FERNANDES et al, 2015; KOUTROTSIOS et al, 2015).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a natureza físico-química e a composição centesimal de *P. ostreatus* INPA 1467 e das matérias-primas e substratos de cultivo formulados a partir de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar, resíduos lignocelulósicos que são presentes nas atividades agroindustriais no cenário amazônico.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Local de realização do trabalho

O presente trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis do Instituto Nacionais de Pesquisas da Amazônia (CPPF-INPA), Laboratório de Tecnologia do Pescado (UFAM) e Laboratório de Bioquímica de Alimentos (CSAS-INPA).

4.2.2 Amostras analisadas

As amostras foram divididas em 4 grupos: Matéria prima; Substratos pré-cultivo e pós-cultivo e cogumelos.

- 1) Matéria-prima (MP): Palha de feijão (PF) e bagaço de cana-de-açúcar (BC);
- 2) Substratos iniciais ou pré-cultivo (PRE): Estes foram subdivididos de acordo com a formulação e tratamento do substrato. PRE-COMP-FORM-3; PRE-COMP-FORM-100; PRE-AX-FORM-3; PRE-AX-FORM-100; PRE-CAL-FORM-3; PRE-CAL-FORM-100;
- 3) Substratos exauridos ou pós-cultivo (PÓS): Substratos de cultivo (item 2) após exaurir nutrientes pelos fungos (POS-COMP-FORM-3; POS-COMP-FORM-100; POS-AX-FORM-3; POS-AX-FORM-100; POS-CAL-FORM-3; POS-CAL-FORM-100;)
- 4) Cogumelos (COG): Basidiomas resultantes dos cultivos (COG-COMP-FORM-3; COG-COMP-FORM-100; COG-AX-FORM-3; COG-AX-FORM-100; COG-COG-FORM-3; COG-CAL-FORM-100.

Todas as amostras foram dessecadas em estufa de ventilação forçada a 65 °C até peso constante. Foram trituradas em moinho de facas tipo Willey (matéria-prima e substratos) ou em miniprocessador (cogumelos) e armazenados em potes devidamente vedados.

4.2.3 Análise físico-química da matéria-prima, substratos e cogumelo

4.2.3.1 Determinação do teor de carbono orgânico

O carbono orgânico foi determinado pelo método Walkley-Black, conforme Mendonça e Matos (2005). Pesou-se com 0,01g da amostra em vez de 0,5g devido à grande quantidade de carbono presente na amostra, conforme Sales-Campos (2008). A determinação da quantidade de carbono deu-se pela oxidação do mesmo por via úmida (dicromato de potássio + ácido sulfúrico) e a maximização da oxidação por aquecimento externo. Os resultados foram obtidos por duas fórmulas complementares:

$$A = \frac{[Vba - Vbn] (Vbn - Vba)}{Vbn} + (Vba - Vam)$$

onde:

Vba: volume gasto na titulação do branco controle com aquecimento,

Vbn: volume gasto na titulação do branco controle sem aquecimento

Vam: volume gasto na titulação da amostra.

$$\%C = \frac{A (\text{molaridade do sulfato ferroso})(3)}{\text{Massa da amostra (mg)}} \times 100$$

Onde:

3: resultado da relação entre o número de mols de dicromato que reage com o ferro, multiplicado pelo número de mols de dicromato que reage com o carbono, multiplicado pela massa atômica do carbono (12).

4.2.3.2 Determinação do nitrogênio e proteína

A análise do nitrogênio foi realizada pelo método de Kjeldahl, envolvendo três etapas: digestão, destilação e titulação. As amostras foram digeridas com ácido sulfúrico até conversão em sulfato de amônia: $[(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4]$. Após este processo, o sulfato de amônia foi destilado em destilador de nitrogênio em meio básico (NaOH 60%), liberando gás amônia (NH_3), o qual foi recolhido em ácido bórico formando borato de amônia ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$). O borato de amônio foi titulado com ácido clorídrico 0,02 N e os resultados foram expressos em porcentagem de nitrogênio (N%) e, conseqüentemente, a quantidade de proteína que a mesma contém (MALAVOLTA et al. 1989; A.O.A.C., 1997; SALES-CAMPOS, 2010), utilizando-se a fórmula:

$$\text{Nitrogênio \%} = \frac{(V - V_b \times F_c (\text{HCl}) \times 0,0014}{M}$$

Onde:

V = Volume de HCl gasto na titulação da amostra, mL

V_b = Volume de HCl gasto na titulação do branco da amostra, mL

F_c (HCl) = Fator de correção da solução de HCl 0,02 N

M = Massa da amostra (g)

A determinação do conteúdo de proteína bruta presente nos basidiomas foi feita multiplicando o valor do nitrogênio total pelo fator de conversão que converte o nitrogênio total em proteína. Esse fator varia de acordo com a amostra analisada, pois para a matéria prima em geral (de origem animal ou vegetal), utiliza-se o fator de conversão 6,25. Já para amostras de basidiomas, utiliza-se o fator de conversão 4,38. Este fator de correção para o cálculo de proteína é devido ao nitrogênio não-proteico contido na parede celular dos fungos na forma da molécula quitina, o qual é digerido e analisado pelo método de Kjeldahl (MILES; CHANG, 1997). Desta maneira, evita-se uma superestimação dos valores proteicos analisados.

$$\%P = N \times 6,25$$

$$\text{ou} \quad \%P = N \times 4,38$$

(Para matéria-prima de origem animal ou vegetal)

(Para cogumelos)

4.2.3.3 Determinação do pH

Pesou-se 5g de amostra e dilui-se em 50ml, para determinação de pH.

O pH foi determinado utilizando-se um potenciômetro, previamente calibrado com tampão 7 e 4, obedecendo a metodologia recomendada pela A.O.A.C. (1997).

4.2.3.4 Determinação de sólidos solúveis

Pesou-se 4g de amostra e dilui-se no mínimo de água possível (1 ml), para determinação de pH e °Brix Com a ajuda de uma pipeta, gotejou-se 2 gotas (partículas foram desprezadas) no prisma do refratômetro. Foi possível determinar o °Brix de cada amostra, por meio visual.

4.2.4 Análise da composição centesimal da matéria-prima, substratos e cogumelos

4.2.4.1 Determinação da umidade e massa seca

O conteúdo de umidade (U) das amostras citadas foram feitas pelo método de dessecação em estufa a 105°C, até massa constante. Fórmula usualmente utilizada para a determinação do conteúdo de umidade do substrato (A.O.A.C, 1997).

$$U\% = \frac{\text{Massa inicial da amostra} - \text{Massa final da amostra}}{\text{Massa inicial da amostra}}$$

A massa seca (MS%) foi calculada como:

$$MS\% = 100 - U$$

4.2.4.2 Determinação do extrato etéreo

As amostras dessecadas foram submetidas à extração com misturas de solventes a frio, pelo método Bligh and Dyer em triplicatas. Nesta técnica os solventes utilizados foram o clorofórmio, metanol e água. Neste processo, a amostra é misturada aos solventes e a fase de clorofórmio contém os lipídeos. Esta fase é separada após a evaporação do clorofórmio. A quantidade de lipídeos é obtida por pesagem e os resultados são expressos em gramas por 100g de amostra (A.O.A.C., 1997).

4.2.4.3 Fibra total

Fibra alimentar compreende os polissacarídeos e a lignina de vegetais que não são digeridos pelas enzimas digestivas do homem e são classificadas, quanto à sua solubilidade em água, como fibras solúveis e insolúveis sendo compostas por celulose, hemiceluloses, gomas, pectinas e mucilagens. Devido aos efeitos fisiológicos das fibras alimentares alguns autores se dedicaram a quantificar a fibra alimentar em cogumelos (FURLANI; GODOY, 2005).

O conteúdo de fibra total foi determinado pelo método Weende (A.O.A.C., 1997) em determinador de fibras (VELP). A técnica fundamenta-se de uma digestão em meio ácido (ácido sulfúrico 1,25%), seguida de uma digestão em meio alcalino (NaOH 1,25%). As amostras foram desengorduradas, pesadas em torno de 2g em triplicatas, e submetidas à digestão ácida. Numa segunda etapa, as amostras foram submetidas à digestão alcalina, em meio de uma solução de NaOH 1,25%. Os resultados foram expressos em gramas de fibra total por 100 gramas de amostras (A.O.A.C., 1997).

4.2.4.4 Cinzas

O teor de cinzas de uma amostra corresponde ao resíduo mineral fixo obtido após a decomposição de todos os componentes orgânicos. A análise consistiu em dessecação dos basidiomas, pesagem em torno de 1g em triplicata, carbonização e calcinação em mufla a 350°C. O resultado foi expresso em porcentagem (%) (A.O.A.C, 1997).

4.2.4.5 Carboidratos totais

Foram calculados pela diferença:

Carboidrato total (%) = 100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios e cinzas), inclui a fração fibra.

O resultado é dado em termos percentuais (NEPA, 2006).

4.2.4.6 Carboidratos disponíveis

São carboidratos metabolizáveis, os quais foram calculados por diferença onde se exclui a fração fibra.

Carboidrato disponível = 100 – gramas totais de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra (NEPA, 2006).

4.2.4.7 Energia

A energia total metabolizável é expressa em kilocalorias (kcal/100g). Foi calculada considerando-se os fatores de conversão de Atwater: (4 x g proteína)+ (4 x g carboidratos [total carboidratos – fibra alimentar]) + (9 x g total lipídios), preconizados pelo LATINFOODS (2002) e NEPA (2006).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análise físico-química das matérias-primas e dos substratos (inicial e residual)

Na Tabela 7, observam-se os resultados da análise físico-química das matérias-primas utilizadas nas formulações dos substratos, onde o valor de C% para o resíduos de palha de feijão (PF) foi de 32,26±0,93 e para N% foi de 0,57±0,04, compondo uma relação C:N de 57:1, em média. Enquanto que para o bagaço de cana-de-açúcar (BC) o valor de C% foi de 48,17±1,69% e N% foi observado em 0,27±0,19%, resultando em uma relação C:N de 178:1, em média. O °Brix observado em PF e BC foi 1 e 1,6, respectivamente. O pH constatado em PF era de natureza neutra (7,25), enquanto que o de BC, relativamente ácida (3,58).

Tabela 7. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N das matérias primas para formulação de substrato de cultivo

Matérias-primas	C	N	C:N	Sólidos solúveis	pH
	(%)	(%)		(°Brix)	
PF	32,26 (0,93)	0,57 (0,04)	57:1	1	7,25
BC	48,17 (1,69)	0,27 (0,19)	178:1	1,6	3,58

PF: Palha de feijão; BC: Bagaço de cana-de-açúcar. Número em negrito: média de três repetições por análise. Números entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Na Tabela 8, onde constam os resultados da análise físico-química dos substratos pré-cultivo, os valores de C% observados nos diferentes substratos formulados a partir de bagaço de cana e palha de feijão variaram de 18,1 a 34,01, enquanto que os valores de N% variaram de 0,30 a 0,85. O maior relação C:N foi observada em PRE-AX-3 (113:1) e a menor em PRE-COMP-100 (33:1). A umidade dos substratos oscilou de 70,93 a 75,22% e o pH variou de

8,15 a 9,32, com exceção para substratos autoclavados, onde foram observados valores próximos a 5-6.

De modo geral Eira (2010) recomendou no cultivo de *Pleurotus* spp. a utilização de substratos com relação C/N inicial de 70-80:1, que após a compostagem e pasteurização, se estreitassem para aproximadamente 40:1, e para substratos axênicos, uma relação C/N entre 15 e 25/1.

Figueiró e Graciolli (2011) observaram relação C/N de 46 em resíduo de palha de feijão, atingindo eficiência biológica de 89,2% no cultivo de *P. florida*. No mesmo experimento, obteve-se eficiência biológica superior, de 90,4% em palha de arroz com relação C/N inferior, 44:1.

Tabela 8. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos substratos iniciais de cultivo (pré-cultivo)

Substratos Pré-cultivo	Sólidos				
	C	N	C:N	solúveis	pH
	(%)	(%)	(%)	°Brix	
PRÉ-COMP-3	32,23 (1,65)	0,57 (0,03)	56:1	0,8	8,7
PRÉ-COMP-100	28,2 (1,34)	0,85 (0,04)	33:1	1	9,32
PRÉ-AX-3	33,92 (1,04)	0,3 (0,002)	113:1	1	5,23
PRÉ-AX-100	34,1 (0,12)	0,39 (0,04)	87:1	2	5,89
PRÉ-CAL-3	30,6 (1,57)	0,37 (0,005)	83:1	0,1	8,15
PRÉ-CAL-100	18,1 (1,84)	0,37 (0,006)	49:1	0,1	8,46

PRÉ-COMP-3: Substrato pré-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); PRÉ-COMP-100: Substrato pré-cultivo compostado de formulação 100% PF; PRÉ-AX-3: Substrato pré-cultivo autoclavado formulação 3; PRÉ-AX-100: Substrato pré-cultivo autoclavado formulação 100% PF; PRÉ-CAL-3: Substrato pré-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; PRÉ-CAL-100: Substrato pré-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Kurt e Buyukalaca (2010), ao avaliarem *P. ostreatus* e *P. sajor-caju*, observaram que os maiores índices de eficiência biológica (102,7 e 100,2%, respectivamente) foram obtidos

em substrato com relação C/N 32,6, relação esta, semelhante à observada no presente trabalho utilizando-se o substrato PRÉ-COMP-100. Enquanto, as menores eficiências biológicas (59,6 e 48,2% respectivamente) foram observadas em substrato com relação C/N mais larga (102,1). Entretanto, Bernardi et al. (2009) obtiveram eficiência biológica entre 88,92 a 112,46% de *Pleurotus* spp. cultivados em substrato de relação larga (162:1), sendo o de maior produtividade o da espécie *P. ostreatus*.

Ao comparar os resultados da Tabela 8 (pré-cultivo) e os da Tabela 9 (pós-cultivo), observou-se a diminuição do percentual de C em todos os substratos, concomitantemente ao aumento de N (exceto em POS-COMP-100, onde foi observada diminuição de N). Isto se deve ao fato de que o fungo necessita de maior quantidade de material lignocelulósico (compostos de C) para seu crescimento, enquanto o aumento de N é explicado pela presença do micélio, rico em quitina em sua parede celular, presente nos substratos residuais, gerando o consequente estreitamento da relação C/N.

Tabela 9. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos substratos residuais (pós-cultivo)

Substratos Pós-cultivo	Sólidos				
	C	N	C:N	solúveis	pH
	(%)	(%)	(%)	°Brix	
PÓS-COMP-3	23,61 (1,87)	0,59 (0,008)	40:1 (1,34)	2	5,58
PÓS-COMP-100	21,04 (1,62)	0,52 (0,006)	40:1	1	5
PÓS-AX3	25,65 (0,41)	0,39 (0,04)	66:1	1	4,97
PÓS-AX-100	21,44 (0,11)	0,4 (0,04)	54:1	1,2	5,34
PÓS-CAL-3	6,04 (1,07)	0,44 (0,07)	14:1	1	5,35
PÓS-CAL-100	8,64 (1,0)	0,39 (0,04)	22:1	0,9	5,44

PÓS-COMP-3: Substrato pós-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); PÓS COMP-100: Substrato pós -cultivo compostado de formulação 100% PF; PÓS-AX-3: Substrato pós-cultivo autoclavado formulação 3; PÓS-AX-100: Substrato pós-cultivo autoclavado formulação 100% PF; PÓS-CAL-3: Substrato pós-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; PÓS-CAL-100: Substrato pós-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Observou-se a diminuição severa nos valores de pH nos substratos PÓS-COMP e PÓS-CAL, em virtude da atividade catalítica com liberação de ácidos orgânicos para degradar o substrato inicial, enquanto o pH de POS-AX apresentou uma diminuição mais singela. O valor do pH nos substratos finais de cultivo oscilou na faixa de 5, de natureza ácida (Tabela 9) (GALVAGNO; FORCHIASSIN, 2010).

Foi evidenciado também, que o tratamento com *P. ostreatus* sobre resíduos lignocelulósicos avaliados, reduziu o teor de fibras e carbono, e elevou o material proteico e a degradabilidade do material, apresentando potencial para ser posteriormente utilizado como alimento animal (CASTRO et al, 2007). Outras alternativas de aplicação do substrato pós-cultivo é a utilização como fertilizante orgânico para cultivo de hortaliças e outros vegetais (AHLAWAT; SAGAR, 2007).

Resultados semelhantes foram observados por Sales-Campos (2008), onde observou-se que houve aumento concentração de N em todos os substratos residuais no cultivo de *P. ostreatus*, com dados de eficiência biológica 64,60 a 125,60% e teor de proteína nos cogumelos na base de 11,96 a 21,16%.

Koutrotsios et al. (2015), observaram nove diferentes substratos formulados a partir de diversos resíduos. Foi notado que os valores de N não obedeciam a um padrão de perda ou ganho de N durante o período de cultivo, quando cultivados com *P. ostreatus*, gerando ao final do cultivo substratos com maior ou menor valor de N, em relação ao substrato inicial.

4.3.2 Composição centesimal das matérias-primas, substratos pré-cultivo e pós-cultivo

Ao observar a Tabela 10, o conteúdo de proteína observado em palha-de-feijão (PF) foi de 3,56%, enquanto que bagaço de cana (BC) foi 1,71%. A palha de feijão tem 50,69% de fibras, enquanto que BC revelou 40,71% em sua composição. O teor de lipídios pareceu ser bem similar para os dois resíduos, enquanto que para o conteúdo de cinzas houve variação: PF apresentou 4,97% de cinzas, enquanto que BC demonstrou 1,18%, demonstrando maior teor de minerais em PF (Tabela 3, Capítulo3)

O bagaço de cana tem maior quantidade de carboidrato total e disponível (87,19 e 46,48%, respectivamente), bem como a energia total disponível (194,38 kcal/100g), enquanto palha de feijão apresentou 83,56% de carboidrato total, 32,87% de carboidrato disponível e 147,52 kcal/100g.

Tabela 10. Composição centesimal das matérias-primas utilizadas na formulação dos substratos de cultivo

Matéria- prima	Proteína (%)	Lipídio (%)	Fibra total (%)	Cinzas (%)	Umidade (%)	Massa seca (%)	Carboidrato total (%)	Carboidrato disponível (%)	Energia total metabolizável kcal (100g)
	(0,29)	(0,02)	(0,39)	(0,23)	(0,53)	(0,53)			
PF	3,56	0,2	50,69	4,97	7,71	92,28	83,56	32,87	147,52
	(0,52)	(0,04)	(0,16)	(0,29)	(0,12)	(0,12)			
BC	1,71	0,18	40,71	1,18	9,74	90,25	87,19	46,48	194,38

PF: Palha de feijão; BC: Bagaço de cana-de-açúcar. Números em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Na Tabela 11, nos substratos pré-cultivo, foi possível observar que o teor de proteína variou de 1,88 a 5,31%, ressaltando os substratos compostados que apresentaram os maiores conteúdos (3,6 e 5,31, para PRE-COMP-3 e PRE-COMP-100, respectivamente). O teor de lipídios não apresentou grande variação (0,1 a 0,25%). A quantidade de cinzas foi maior em substratos submetidos à compostagem e tratados com imersão em cal.

Segundo Dores-Silva, Landgraf e Rezende (2013), o processo de compostagem é responsável pela mineralização de substratos, transformando o material inicial em CO₂, H₂O e sais inorgânicos, como observado nos tratamentos submetidos a compostagem (PRÉ-COMP-3 e 100), observados na Tabela 11. Ao passo que, o elevado teor de cinza em CAL-3 e CAL-100 pôde ser explicado devido ao cálcio contido na solução alcalina a 2%, formulada a partir de cal viva (CaO), onde observou-se 34 e 24 g/kg de Ca nos substratos, respectivamente (Tabela 4, Capítulo 3).

O valor de carboidratos totais observado foi de 54,66 a 69,53%, enquanto que a quantidade de kcal/100g variou de 37,63 a 96,73.

Tabela 11. Composição centesimal dos substratos de cultivo iniciais (pré-cultivo) para cultivo de *P. ostreatus* INPA 1467

Substratos Pré-cultivo	Fibra		total	Cinzas	Umidade	Massa seca	Carboidrato total	Carboidrato disponível	Energia total metabolizável kcal (100g)
	Proteína	Lipídio							
	(%)	(%)							
PRÉ-COMP-3	3,6	0,22	54,13	7,68	72,42	27,57	60,51	6,38	41,9
PRÉ-COMP-100	5,31	0,19	50,99	11,17	71,73	28,26	54,66	3,67	37,63
PRÉ-AX-3	1,88	0,25	47,79	3,56	71,33	28,67	65,73	17,91	80,87
PRÉ-AX-100	2,49	0,24	49,45	4,58	72,87	27,12	66,57	17,12	80,6
PRÉ-CAL-3	2,33	0,12	51,17	10,18	71,93	28,06	59,75	8,58	44,72
PRÉ-CAL-100	2,34	0,1	50,43	11,17	69,50	30,49	57,32	6,89	37,82

PRÉ-COMP-3: Substrato pré-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); PRÉ-COMP-100: Substrato pré-cultivo compostado de formulação 100% PF; PRÉ-AX-3: Substrato pré-cultivo autoclavado formulação 3; PRÉ-AX-100: Substrato pré-cultivo autoclavado formulação 100% PF; PRÉ-CAL-3: Substrato pré-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; PRÉ-CAL-100: Substrato pré-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Na Tabela 12, está descrita a composição centesimal dos substratos pós-cultivo. De um modo geral, foi possível observar a diminuição dos valores de lipídios, fibras e carboidrato total nos substratos exauridos, enquanto o percentual de proteína e cinzas aumentou como descrito por Sales-Campos, 2008.

O conteúdo de proteína está intimamente relacionado ao de N. Durante o cultivo a rede de hifas - o micélio - envolveu todo o substrato para maximizar sua decomposição por meio de enzimas e ácidos orgânicos. A parede celular do micélio de fungos é rica em quitina, contendo nitrogênio não proteico, detectado na análise química do substrato, elevando o percentual de N quando comparado o substrato inicial (Tabela 11). Foi observado o aumento de N em 0,13; 0,61; 0,02; 0,47 e 0,15% nos substratos POS-COMP-3, POS-AX-3, POS-AX-100, POS-CAL.3 e POS-CAL-100, respectivamente. Em POS-COMP-100, foi observada a redução de proteína, assim como igualmente foi observada a redução de N descrita na Tabela 9.

Tabela 12. Composição centesimal dos substratos finais de cultivo (pós-cultivo) de *P. ostreatus* INPA1467

Substratos Pós-cultivo	Fibra				Umidade (%)	Massa seca (%)	Carboidrato total (%)	Carboidrato disponível (%)	Energia total metabolizável Kcal (100g)
	Proteína	Lipídio	total	Cinzas					
	(%)	(%)	(%)	(%)					
	0,05	0,05	0,9	0,17	(2,45)	2,45			
PÓS-COMP-3	3,73	0,1	36,16	11,65	70,96	29,03	57,43	21,27	100,9
	0,03	0,04	0,45	0,3	0,83	0,83			
PÓS-COMP-100	3,27	0,15	35,64	15,52	71,82	28,17	55,2	19,56	92,67
	0,29	0,003	0,4	0,02	0,88	0,88			
PÓS-AX3	2,49	0,08	45,63	4,55	70,83	29,16	64,04	18,41	84,32
	0,26	0,007	0,52	0,06	0,89	0,89			
PÓS-AX-100	2,51	0,07	45,21	5,59	72,25	27,74	65,91	20,7	93,47
	0,47	0,01	0,04	0,25	0,98	0,98			
PÓS-CAL-3	2,8	0,07	22,85	22,24	70,07	29,92	50,69	27,84	123,19
	0,28	0,008	0,56	0,08	3,08	3,08			
PÓS-CAL-100	2,49	0,06	27,37	17,82	69,29	30,70	56,98	29,61	128,94

PÓS-COMP-3: Substrato pós-cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); PÓS COMP-100: Substrato pós -cultivo compostado de formulação 100% PF; PÓS-AX-3: Substrato pós-cultivo autoclavado formulação 3; PÓS-AX-100: Substrato pós -cultivo autoclavado formulação 100% PF; PÓS-CAL-3: Substrato pós-cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; PÓS-CAL-100: Substrato pós-cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Segundo Kohari (2000), o substrato de cultivo residual de cultivo de cogumelos pode ser utilizado como fertilizantes orgânicos, na alimentação animal além de apresentar potencial de aplicação no cultivo de outros cogumelos. Levanon et al (1993) utilizou substrato residual de *Pleurotus* para cultivo de *Lentinula edodes* (shiitake).

O aumento do teor de cinza nos substratos residuais pós-cultivo foi de 3,97; 4,35; 0,99; 1,01; 12,06; 6,65% para POS-COMP-3, POS-COMP-100, POS-AX-3, POS-AX-100, POS-CAL.3 e POS-CAL-100, respectivamente, quando comparamos a Tabela 11 e Tabela 12. Também foi perceptível a redução do teor de carboidrato total nos substratos pós-cultivo, devido ao consumo pelo fungo, mas principalmente devido ao aumento da proteína e da cinza, os quais se mostraram superiores nos substratos residuais e estes são descontados na fórmula para obtenção cálculo de carboidrato total (item 4.2.4.5). Por outro lado, o conteúdo de carboidrato disponível aumentou nos substratos residuais em função redução do teor de fibra

entre os substratos residuais, ocorrida devido à degradação do fungo durante o período do cultivo, e que neste caso ao obter menor conteúdo de fibra a ser descontado, aumentou conseqüentemente o percentual de carboidrato disponível. A elevação da energia total metabolizável (em kcal) se deu em função do aumento de carboidrato disponível, que por sua vez, foi aumentado devido à redução do teor de fibra do substrato residual, a qual foi degradada pelo fungo durante o seu desenvolvimento.

Sales-Campos (2008), obteve dados semelhantes em decorrência do consumo de fibras totais por *P. ostreatus*.

4.3.3 Análise físico-química do cogumelo *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em diferentes substratos a base de palha de feijão e bagaço de cana

Como podemos observar na Tabela 13, constam os valores resultantes na análise físico-química de *P. ostreatus* INPA 1467 cultivados nos diferentes substratos. Foi possível observar que os valores de C variaram de 36,60 a 36,99%, enquanto os de N variaram de 1,75 a 2,25%. Conseqüentemente, as relações C:N observadas foram estreitas (16 - 21/1). Os valores de pH apresentaram pouca variação (6,20 a 6,44).

Segundo Sales-Campos (2008), os sólidos solúveis são correspondentes a uma gama de compostos solúveis em água como açúcares, vitaminas e ácidos orgânicos. No presente estudo foram observados os seguintes teores de sólidos solúveis (em °Brix) para COG-COMP-3, COG-COMP-100, COG-AX-3, COG-AX-100, COG-CAL-3, COG-CAL-100: 3; 4; 3; 2,1; 3,1 e 3, com o maior conteúdo observado em COG-COMP-100 (4 °Brix).

Além dos açúcares solúveis, *P. ostreatus* INPA 1467 pode ter um conteúdo de vitaminas e ácidos orgânicos, detectado por meio da refratometria empregada na avaliação dos sólidos solúveis totais.

Para Breene (1990), **apud** Furlani e Godoy (2007), os cogumelos podem ser uma boa fonte de vitaminas B1 (tiamina), B2 (riboflavina) e vitamina C (ácido ascórbico). Em dados compilados por Cheung (2008), o teor de vitamina B2 é maior ao que geralmente é observado em vegetais e algumas variedades de *A. bisporus* até apresentam um nível de vitamina B2 tão alta quanto ovo e queijo. O conteúdo de vitamina B2 para outros cogumelos comestíveis é seguinte: *P. ostreatus* (2,27-8,97 mg/100g), *A. bisporus*, (3,70-5,10 mg/100g) e *L. edodes* (0,90-1,80 mg/100g). Além da vitamina B2, a vitamina B1 e ácido fólico, os cogumelos

cultivados também contêm pequenas quantidades de vitamina C, vitamina B3, vitamina B12 e vitamina D2.

Tabela 13. Resultados das análises físico-químicas (°Brix e pH), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C:N dos cogumelos *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em diferentes substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

Cogumelos	C		C:N	Sólidos	
	(%)	(%)		solúveis	pH
	(0,22)	(0,03)		°Brix	
COG-COMP-3	36,90	2,08	18:1	3	6,38
	(0,78)	(0,1)			
COG-COMP-100	36,99	2,25	16:1	4	6,27
	(0,85)	(0,1)			
COG-AX3	36,60	1,77	20:1	3	6,2
	(0,37)	(0,04)			
COG-AX-100	36,92	1,75	21:1	2,1	6,28
	(0,94)	(0,05)			
COG-CAL-3	36,70	1,97	19:1	3,1	6,44
	(0,54)	(0,01)			
COG-CAL-100	36,90	1,9	19:1	3	6,43

COG-COMP-3: Cogumelo cultivado em substrato compostado oriundo da formulação 3 (40% PF: 60% BC); COG-COMP-100: Cogumelo cultivado em substrato-compostado, formulação 100% PF; COG AX-3: Cogumelo cultivado em substrato oriundo da formulação 3 e autoclavado; COG-AX-100: Cogumelo cultivado em substrato proveniente da formulação 100% PF e autoclavado; COG-CAL-3: Cogumelo cultivado em substrato, formulação 3, imerso em solução de cal a 2%; COG-CAL-100: Cogumelo cultivado em substrato 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

4.3.4 Composição centesimal do cogumelo *P. ostreatus* cultivado em diferentes substratos a base de palha de feijão e bagaço de cana

Como consta na Tabela 14, a maior quantidade de proteína observada foi em *P. ostreatus* COG-COMP-100 (9,83%) e seguida, em COG-COMP-3 (9,11). *P. ostreatus* cultivado em CAL-3 e CAL-100 apresentaram 8,66 e 8,34% de proteína, enquanto que AX-3 e AX-100 revelaram 7,76 e 7,66%.

Os valores de proteínas foram considerados inferiores quando comparados aos valores mais amplamente citados na literatura, possivelmente devido à falta de suplementação com fontes de N.

Tabela 14. Análise centesimal de *P. ostreatus* INPA 1467 cultivado em diferentes substratos à base de palha de feijão e bagaço de cana-de-açúcar

Cogumelos	Proteína	Lipídio	Fibra total	Cinzas	Umidade	Massa seca	Carboidrato total	Carboidrato disponível	Energia total metabolizável
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	Kcal (100g)
COG-COMP-3	9,11	3,6	27,36	6,72	86,72	13,3	67,27	39,91	228,48
COG-COMP-100	9,83	2,55	23,4	8,32	81,28	18,72	60,58	37,18	210,99
COG-AX-3	7,76	3,99	42,1	7,6	86,13	13,86	66,79	24,69	165,71
COG-AX-100	7,66	2,83	44,03	10,84	84,45	15,54	63,13	19,1	132,51
COG-CAL-3	8,66	3,48	37,36	9,89	87,23	12,76	65,21	27,85	177,36
COG-CAL-100	8,34	2,57	37,31	10,91	84,87	15,12	63,06	25,75	159,49

COG-COMP-3: Cogumelo cultivado em substrato cultivo compostado de formulação 3 (40% PF: 60% BC); COG-COMP-100: Cogumelo cultivado em substrato de cultivo compostado de formulação 100% PF; COG AX-3: Cogumelo cultivado em substrato cultivo autoclavado formulação 3; COG-AX-100: Cogumelo cultivado em substrato cultivo autoclavado formulação 100% PF; COG-CAL-3: Cogumelo cultivado em substrato cultivo formulação 3, imerso solução de cal a 2%; COG-CAL-100: Cogumelo cultivado em substrato cultivo 100% PF, imerso solução de cal a 2%. Número em negrito: média de três repetições por substrato, em relação a cada mineral. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Silva et al. (2007), avaliaram o cultivo de *P. sajor-caju* com suplementação de N em níveis crescentes: 0,65; 0,85; 1,30; 1,75 e 2,20%. Os dois tratamentos de maior concentração foram letais para o fungo, entretanto o tratamento que resultou em cogumelos de maior concentração de proteína foi o que recebeu maior suplementação dentre as demais (1,30%). A eficiência biológica nos três tratamentos, não se diferiram entre si, sendo de 34 a 35,9%.

Fernandes et al. (2015), observaram teores de proteína de até 9,71% em *P. ostreatus* quando cultivado em resíduos de papel. No tratamento controle (aveia), o percentual de

proteína alcançou 14,7%. Os resultados nesse estudo apresentaram semelhança com os do presente trabalho, observados em COMP-3 e COMP-100.

Kulshreshtha et al. (2013) também avaliaram resíduos de papel para cultivar *P. citrinopileatus* e obtiveram 14,48 de proteína (g/100g) em substrato resíduo de papelão suplementado em 50% com palha de trigo.

Ao avaliar diferentes concentrações de N nos substratos de cultivo para *P. sajor-caju*, Silva et al. (2007), observaram que a maior quantidade de proteína total no cogumelo (28,0%) foi inerente ao substrato de maior teor de N (1,30%). Em substratos com valores de N superiores a 1,30%, não houve colonização pelo fungo.

Os teores de lipídios foram os de menor expressão na constituição centesimal dos cogumelos (2,55 a 3,99%), sendo o menor valor atribuído a COG-COMP-100. Também se observou que os valores de lipídios foram menores em substratos formulados a base de palha de feijão puro, independentemente dos tratamentos aos quais foram submetidos (COG-COMP-100; COG-AX-100 e COG-CAL-100).

O constituinte lipídico nos cogumelos é usualmente baixo, variando de 1,0 a 8,3% (WHANG et al, 2014). Compilando estudos realizados com *Pleurotus* spp, observou-se teor de lipídio variando de 0,2 a 6,32% (FERNANDES et al., 2015; KOUTROTSIOS et al, 2015; ADEBAYO et al, 2012; BONATTI et al. 2004; SILVA; COSTA; CLEMENTE, 2002).

Em relação ao teor de cinzas, se observou algo similar ao comportamento em lipídios: Os valores de cinzas analisados em substratos de palha de feijão foram maiores do que em substratos oriundos da formulação 3 (60% PF: 40% BC), independentemente dos tratamentos aos quais foram submetidos e variaram de 6,72 a 10,91%.

Os maiores teores de fibras foram observados em *P. ostreatus* cultivado em sistema axênico, seguido pelo cogumelo cultivado em substratos tratados por solução de cal a 2%. O cogumelo *P. ostreatus* apresentou menor teor de fibras quando cultivado em substratos compostados, variando de 23,04 a 44,03%, semelhantes aos dados observados (28,40 a 49,02%) em Silva, Costa e Clemente (2002).

Os valores de carboidrato para COG-COMP-3, COG-COMP-100, COG-AX-3, COG-AX-100, COG-CAL-3, COG-CAL-100 foram 67,27; 60,58; 66,79; 63,13; 65,12; 63,03, respectivamente. Foi observado que cogumelos cultivados em substratos com a formulação 3 (40% BC+60%PF) apresentaram maior percentual de carboidratos (COG-COMP-3 = 67,27; COG-AX-3 = 66,79; COG-CAL-3 = 63,03) quando comparados aos cultivados em formulação 100% PF (COG-COMP-100= 60,58; COG-AX-3 = 63,13; COG-CAL-3 = 63,03),

devido a maior presença de fibra total nesses substratos, a qual está inclusa do cálculo para obtenção do carboidrato total.

O teor de carboidrato disponível (se exclui o valor de fibras) foi de 39,91; 37,18; 24,69; 19,1; 27,85 e 25,75 para COG-COMP-3, COG-COMP-100, COG-AX-3, COG-AX-100, COG-CAL-3, COG-CAL-100. Neste caso, os maiores valores observados ocorreram em COG-COMP-3 e COG-COMP-100 (39,91 e 37,18%), devido aos valores de fibras não tão altos, que foram descontados do cálculo.

A energia total metabolizável dos cogumelos é proporcional ao valor de carboidrato disponível e de proteína de modo majoritário e neste trabalho variou de 132,51 a 228,48 kcal/100g. Os maiores valores observados ocorreram em COG-COMP-3 e COG-COMP-100 com 228,48 e 210,99 kcal, respectivamente.

Sales-Campos et al. (2011) apresentaram resultados semelhantes em *P. ostreatus* cultivados em substrato de serragens (aprox. 250 kcal/100g). Fernandes et al. (2015) observaram valores mais elevados de energia metabolizável em *P. ostreatus* cultivados em resíduos de papel, quando comparado ao presente trabalho. Em seu trabalho os valores variaram de 342,5 a 385,0 kcal. Enquanto Wang, Sakoda e Suzuki (2001) observaram de 325,6 a 341,8 kcal/100g em *P. ostreatus* em grão de cerveja.

De um modo geral, observou-se a variação na composição nutricional: proteínas, lipídios, fibras, cinzas, carboidrato total, carboidrato disponível e energia metabolizável de *P. ostreatus* cultivado nos diferentes substratos de cultivo, apresentando conformidade com diversos dados da literatura (YILDIZ, KARAKAPLAN; AYDIN, 1998; BONATTI, 2003; BONATTI et al, 2004; SALES-CAMPOS, 2008; ZAHID; BARUA; HACK, 2010; CARVALHO et al, 2012; FERNANDES et al, 2015; KOUTROTSIOS et al, 2015).

O cogumelo *P. ostreatus* INPA 1467 possui um grande valor nutricional possuindo altos valores de fibras (23,4 - 44,03), moderado valor de proteína (7,66 – 9,83%), carboidratos totais (60,58 – 67,27%), carboidratos disponíveis (19,1 a 39,91), sais minerais (6,72 – 10,91%) e energia total metabolizável (132,52 – 228,48 kcal/100g), além de conter baixo percentual de lipídios (2,55 a 3,99%). Pode-se considerá-lo um bom alimento com qualidades nutricionais interessantes, contribuindo para uma alimentação balanceada.

4.4 CONCLUSÃO

- O cogumelo *P. ostreatus* INPA 1467, pode ser considerado um bom alimento contribuindo para a alimentação humana, devido às suas características nutricionais, com bons valores de fibras e baixa porcentagem de lipídeos, além de regulares teores de proteína;

- Todos os substratos elaborados foram capazes de produzir cogumelos com bom nível de eficiência biológica, porém os substratos compostados foram os de maior produtividade e maior teor proteico;

- Os substratos residuais foram enriquecidos com proteína proveniente principalmente do micélio fungo e seus valores energéticos também foram elevados, agregando valor a este substrato residual com potencial para utilização na ração animal, adubo orgânico ou no cultivo de outros cogumelos.

4.5 REFERÊNCIAS

- AOAC – Association of official analytical chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC**. Ed. 3,v. 3, 1997
- AHLAWAT, O. P.; SAGAR, M. P. **Management of spent mushroom substrate**. National Research for Mushroom. 2007, 56 p.
- ADEBAYO, E. A.; OLOKE, J. K.; AYANDELE, A. A.; ADEGUNLOLA, C. O. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial assay of mushroom metabolite from *Pleurotus pulmonarius*–LAU 09 (JF736658). **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, n. 2, p. 366-374, 2012.
- ARANGO, C. S.; NIETO, I. J. Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: Uma alternativa em obtención de nutracéuticos. **Rev. Iberoam. Micol.**, v.30, n.1, p. 1-8, 2013.
- BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Cultivo e características nutricionais de *Pleurotus* em substrato pasteurizado. **Bragantia**, v. 68, n.4, p. 901-907, 2009.
- BREENE, W. N. Nutritional and medicinal value of speciality mushrooms. **Journal of Food Protection**. v. 57, n.10, p. 883-894, 1990.
- BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Estudo da composição de cogumelos das espécie *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira. **Health and Environmental Journal**. v.4, n.1, p. 31-35, 2003.
- BONATTI, M., KARNOPP, P., SOARES, H.M., FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteridtics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, p. 425-428, 2004
- CARVALHO, C. S.M.; AGUIAR, L. V. B.; SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Determinação bromatológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de diferentes cultivares de bananeira. **Interciência**. n. 8, v. 30, p. 621-626, 2012.

CASTRO, A. L. A.; PAIVA, P. C. A.; BANYAS, V. L. DIAS, E. S.; SANTOS, J. Avaliação da produção de *Pleurotus sajor-caju* utilizando resíduo do beneficiamento têxtil do algodão como substrato. **Ciênc. Agrotec.** v. 31, n. 5., p. 1286-1290, 2007.

CHANG, S. T.; MILES, P. G.. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact**, 2004. 477 p.

CHEUNG, P. K. C. **Mushrooms as functional food**. John Willey and Sons, 2008. 280 p.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecn**, v. 34, n. 4, p. 795-803, 2010

DORES-SILVA, P. R.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Processo de estabilização de resíduos orgânicos: vermicompostagem versus compostagem. **Quim. Nova**. V.36, n.5, p. 640-645, 2013.

EIRA, A. F. **Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente)**. In: Anais da III Reunião Intenarante de fitossanidade do Instituto Biológico. Mogi da Cruzes 17 a 19 de outubro, p. 83-95. 2000.

EIRA, A. F. **Fungos Comestíveis**. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. In: Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. 2 ed. Caxias do Sul: Educs, 2010. 638 p.

FERNANDES, A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Nutricional characterisation of *Pleurotus ostreatus* produced using paper scraps as substrate. **Food Chemistry**. v. 169, p. 396-400, 2015.

FIGUEIRÓ, G. G.; GRACIOLLI, L. A. Influência da composição química do substrato de cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciênc. Agrotec.** v. 35, n. 5, p. 924-930, 2011.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão **Rev Inst Adolfo Lutz**, n. 64, v. 2, p. 149-154, 2005.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** n. 27, v.1, p. 154-157, 2007

GALVAGNO, M. A.; FORCHIASSIN, F. **Fisiologia dos fungos: Nutrição e metabolismo.** In: Fungos: Uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. pp. 125-172, 2010.

KHATUN, S.; ISLAM, A.; CAKILCIOGLU, U.; GULER, P.; CHATTERJEE, N. C. Nutritional qualities and antioxidant activity of three edible mushrooms (*Pleurotus* spp. **NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences.** v. xxx, p. xx-xx, 2014.

KOHARI, E. K. **Produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em resíduos lignocelulósicos e avaliação das características do substrato exaurido visando sua utilização como fertilizante orgânico.** Dissertação (Mestrado em Agronomia). Curitiba: UFPR, 2008. 118 p.

KOUTROTSIOS, G.; MOUNTZOURIS, K.; CHATZIPAVLIDIS, I; ZERVAKIS, G. I. Bioconversion of lignocellulosic residue by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi – Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. **Food Chemistry.** n. 161, p. 127-135, 2015.

KULSHRESHTHA, S.; MATHUR, N.; BHATNAGAR, P.; KULSHRESHTHA, S. Cultivation of *Pleurotus citrinopileatus* on handmade paper and cardboard industrial wastes. **Industrial crops and products.** v. 41, p. 340-346, 2013.

KURT, S; BUTUKALACA, S. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*Pleurotus ostreatus* e *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. **Biosource Technoly.** v.101, n. 3164-3169, 2007.

LATINFOODS, 2002. Tabla de Composicion de Alimentos de América Latina. LATINFOOS website. Disponível em <<http://www.fao.org/LAmerica/grupo.htm>>. Acesso em: 13 de fevereiro de 2014.

LEMOS, F. M. R. **Elaboração e caracterização de produto análogo a hambúrguer de cogumelo *Agaricus brasiliensis*** (Dissertação de mestrado). Curitiba – PR, 2009. 167 p.

LEVANON, D., ROTHSCHILD, N., DANAI, O.; MASAAPHY, S. Bulk treatment of substrate for cultivation of shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) on straw. **Bioresource Technology**, v. 45, p.63–64, 1993.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação no estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potassa e Fosfato, 201 p, 1989.

MUKNOPADHYAY, R.; GUHA, A. K. Comprehensive analysis of the nutritional quality of edible of mushroom *Pleurotus sajor-caju* grown in deproteinized whey medium. **LWT – Food Science and Technology**. v. 61, p. 339-345, 2015.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria orgânica dos solos: Métodos de análises**. Viçosa: UFV, 2005. 107 p.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Biología de las setas: fundamentos básicos y acontecimientos actuales**. Hong Kong: World Scientific, 1997. 133 p

NAZ, S. A review: Health benefits of mushrooms. **Online International Interdisciplinary Research Journal**. v. 4, p. 285-29, 2014.

NEPA. Núcleo de Pesquisas de Pesquisas em Alimentação. **Tabela de Composição de Alimentos (NEPA)**, Unicamp, Campinas, São Paulo, 2006. 105 p.

ORSINE, J. V. C.; BRITO, L. N.; NOVAES, M. R. C. Cogumelos comestíveis: Uso, conservação, características nutricionais e farmacológicas. **Revista HCPA**. v. 32, n. 4, p. 452-460, 2012

ROUPAS, P.; KEOGH, J.; NOAKES, M.; MARGETTS, C.; TAYLOR, P. The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence. **Journal of Functional Foods**. v. 4, p. 687-709, 2012.

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica**. (Tese de doutorado em Biotecnologia). Manaus: UFAM, 2008. 182 p.

SALES-CAMPOS, C.; ARAUJO, L.M.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Physicochemical analysis and centesimal composition of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown in residues from the Amazon. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.31, n.2, p. 456-461, 2011.

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

SILVA, E. G.; DIAS, E. S.; SIQUEIRA, E. G.; SCHWAN, R. F. Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 27, n.1, p. 72-75, 2007.

SILVA, S. O.; COSTA, S. M. G.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology.** v. 45, n. 4, p. 531-535, 2002

SIQUEIRA, F. G.; MARTOS, E. T.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on banana stalk and Bahia grass based substrates. **Hort. Bras.** v. 29, n. 2, p. 199-204, 2011.

WHANG, X.; ZHANG, J.; WU, L.; ZHAO, Y; LI, T.; LI, J.; WANG, Y; LIU; H. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China. **Food Chemistry.** v.151, p. 279-285, 2014.

WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Biosource Technology.** v. 78, p. 293-300, 2001.

YILDIZ, A; KARAKAPLAN, M.; AYDIN, F. Studies on *Pleurotus ostreatus*: Cultivation, proximate composition, organic and mineral composition. **Food Chemistry.** v.61, n.2, p.127-130, 1998.

ZAHID, M. K.; BARUA, S.; HAQUE, M. I. Proximate composition and mineral content of selected edible mushroom varieties on Bangladesh. **Bangladesh J. Nutr.** v. 22-23, p. 61-68, 2010.