

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

**PRODUÇÃO DE COGUMELO (*Pleurotus ostreatus*) EM
SUBSTRATO COM SUBPRODUTOS DE SISAL**

CRISTIANO OLIVEIRA DO CARMO

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
MARÇO – 2016**

**PRODUÇÃO DE COGUMELO (*Pleurotus ostreatus*) EM
SUBSTRATO COM SUBPRODUTOS DE SISAL**

CRISTIANO OLIVEIRA DO CARMO

Engenheiro Agrônomo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2016

C287p

Carmo, Cristiano Oliveira do.

Produção de cogumelo (*Pleurotus ostreatus*) em substrato com subprodutos de sisal / Cristiano Oliveira do Carmo. _ Cruz das Almas, BA, 2016.

76f.; il.

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares.

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

1.Cogumelos comestíveis – Cultivo. 2.Resíduos industriais – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 635.82



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
CRISTIANO OLIVEIRA DO CARMO

Membro Presidente: Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares
Instituição: UFRB

Membro Externo à Instituição: Prof. Dr. Vinícius Reis de Figueirêdo
Instituição: IFBAIANO

Membro Externo ao Programa: Profa. Dra. Rosani Valéria Marcelina Matoso Silva
Instituição: UFRB

Homologada em / / .

Aos meus pais Nelson (in memória) e Jaci que me deram a oportunidade de alcançar meus objetivos, à minha família que amo muito e à minha esposa Cathiene, pelo amor, amizade, paciência e apoio constante.

DEDICO

A Deus por ter me dado força e saúde para ir em busca dos meus sonhos.

A ti meu Senhor toda honra e glória seja dada a todo instante

AGRADEÇO

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Martin Luther King

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Ao melhor amigo de todos, Deus, que me proporcionou a oportunidade de realizar este feito. Graças a toda força que Ele me concedeu para que pudesse ultrapassar todas as barreiras que apareceram nesta caminhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

À Capes, pela concessão da bolsa e apoio financeiro a pesquisa e a Secretaria de Ciências, Tecnologia e Inovação (SECTI), pelo apoio financeiro a pesquisa com o subproduto do sisal.

À minha amada mãe e amiga Jaci, por todo o apoio, amor e exemplo de pessoa forte e perseverante, que me ensinou a nunca desistir. Por ter investido na minha educação e me possibilitar a realização de um sonho.

Ao meu pai Nelson (in memória), pelo seu carinho e por depositar em mim sua confiança.

A minha querida esposa, Cathiene, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada por ter feito o nosso sonho se realizar.

Aos meus irmãos Ana Angélica, Darcilúcia, Nilvandro, Márcia e Robson, pelo companheirismo e amizade que sempre me proporcionaram.

Aos meus sobrinhos e afilhado que, por meio do sorriso, fortalecem em mim a esperança e preenchem minha vida com ternura.

Aos demais familiares que torceram e acreditaram na realização de mais esta etapa.

À professora Ana Cristina Fermino Soares, pela orientação científica e exemplo de competência, responsabilidade, profissionalismo e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

A Professora Maria Catarina Kasuya por disponibilizar o isolado de *Pleurotus ostreatus* e incentivar a pesquisa com produção de cogumelos na UFRB.

A Prof. Dr. Fabiana Lana de Araujo, pelas análises feitas no laboratório de Bromatologia e ajuda nos momentos que mais precisei. Serei eternamente grato!

Aos amigos, Rafael, Marcos, Carlos Artur, Filipe, Sara, Fábio, Marcela, Maria, Zilda, Marcos Oliveira, pela ajuda na montagem e avaliações dos experimentos. Por estarem sempre com os braços livres para me erguer nas horas de sufoco. Pelos momentos compartilhados de alegrias, tristezas, brincadeiras e pelo apoio psicológico que me foi dado durante o período da pesquisa. Amigos pra todas as horas!

Aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia da UFRB: Carol Damasceno, Eliane Candeias (Lica), Josilda Damasceno, Cristiane Duarte, Lydice, Macelly, Vanessa, Flávia, Yasmim, Maria, Josy, Maria Luiza, Elizabeth, Thiago, Leonardo, Thais, Antônia, Elton, Jessica e Patrícia, pelo convívio diário

Aos técnicos do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da UFRB: Zozilene Teles e Carol Yamamoto, pela amizade e por toda ajuda no desenvolvimento dos trabalhos.

Aos discentes do Laboratório de Análise de Alimentos e Bromatologia e Fitoquímica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia:

Ao corpo docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, por contribuir para a construção do meu saber.

E a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Ninguém vence sozinho... OBRIGADO À TODOS!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	14
Capítulo 1	
PRODUÇÃO DE COGUMELO (<i>Pleurotus ostreatus</i>) EM SUBSTRATO COM SUBPRODUTOS DO SISAL (<i>Agave sisalana</i> Perrine ex Engelm).....	26
Capítulo 2	
SUBSTRATO PRÉ E PÓS CULTIVO DE COGUMELO (<i>Pleurotus ostreatus</i>) COM SUBPRODUTOS DE SISAL.....	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75

PRODUÇÃO DE COGUMELO (*Pleurotus ostreatus*) EM SUBSTRATO COM SUBPRODUTOS DE SISAL

Autor: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Ana Cristina F. Soares

RESUMO: A utilização de resíduos agroindustriais na produção de cogumelos pode ser uma excelente alternativa para a sua reciclagem, com retorno financeiro, ambiental e social. A espécie *Pleurotus ostreatus* possui um complexo de enzimas hidrolíticas, que permite a colonização de uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos. O sisal constitui a principal cultura e fonte de renda dos agricultores rurais do semiárido da Bahia e a extração da fibra gera uma grande quantidade de resíduos que podem ser considerados subprodutos com potencial para produção de cogumelos. O objetivo do trabalho foi avaliar a produção de *Pleurotus ostreatus* em substratos preparados com subprodutos do desfibramento das folhas de sisal e do processo de industrialização da sua fibra, além de determinar as características químicas dos corpos de frutificação e a composição bromatológica dos substratos pré e pós cultivo. Foram avaliadas diferentes proporções do subproduto seco do desfibramento da folha de sisal (CDS) e do processamento da fibra seca, conhecido como pó de batedeira (PBA), nas proporções de 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g, respectivamente, com 5 % de farelo de trigo e 3 % de carvão moído. Os substratos foram esterilizados em autoclave, inoculados com *P. ostreatus* e incubados em estufa de cogumelos, (estufa agrícola com plástico preto e controle de temperatura e umidade). Meios de cultura preparados com os substratos foram utilizados para avaliação do crescimento micelial in vitro. Foram avaliados: a corrida micelial no substrato, início da formação dos primórdios, rendimento e eficiência biológica (EB) e a análise centesimal dos corpos de frutificação e bromatológica dos substratos pré e pós cultivo de *P. ostreatus*. Foram observadas diferenças significativas entre os substratos com relação a eficiência biológica (EB), teor de proteína

bruta (PB) e de gordura. O substrato com 70 % de CDS e 30 % de PBA apresentou 80 % de EB, teor de PB de 29 % e gordura de 2,2 %, além do rendimento de 260,2 g de cogumelo fresco por quilo de substrato úmido. Foram observados aumentos significativos nos teores de cinzas, proteína bruta e carboidratos não fibrosos nos substratos pós cultivo de *Pleurotus*. Entretanto, reduções significativas foram observadas nos teores de matéria seca, FDN, FDA, lignina, hemicelulose, celulose e relação C/N no substrato pós-cultivo. O substrato composto por 70 % de CDS e 30 % de PBA é o mais indicado para a produção de *P. ostreatus*, proporcionando a maior produtividade, EB, teor de PB e menor teor de gordura. A produção de *P. ostreatus* em substrato com subprodutos do processamento do sisal, proporciona alterações nas propriedades físico-químicas dos principais componentes estruturais desses subprodutos.

Palavras-chave: *Agave sisalana*, cogumelo ostra, biodegradação, resíduos lignocelulosicos.

PRODUCTION OF *Pleurotus ostreatus* IN SUBSTRATES WITH SISAL BY-PRODUCTS

Author: Cristiano Oliveira do Carmo

Advisor: Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: The use of agro-industrial by-products for mushroom production can be an excellent alternative for recycling them, with financial return, as well as environmental and social benefits. *Pleurotus ostreatus* has a complex of hydrolytic enzymes that allows it to colonize a wide variety of lignocellulose residues. Sisal is the main crop and source of income of rural farmers in the semiarid region of Bahia, and the extraction of its fiber generates a large amount of residues that can be considered by-products with the potential for mushroom production. The aim of this study was to evaluate the production of *Pleurotus ostreatus* in substrates prepared with the by-products of the decortication process of sisal leaves for fiber extraction (CFE) and of the dry fiber manufacturing process (CMP), as well as to determine the chemical characteristics of the mushrooms and the chemical composition of the growth substrates before and after mushroom production. Different proportions of the CFE and CMP (90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g of CFE and CMP), with 5 % of wheat bran and 3% of powdered charcoal were used to prepare the substrate and were evaluated for mushroom production. The substrates were sterilized in an autoclave, inoculated with *P. ostreatus* and incubated in a mushroom growth (greenhouse type with a black plastic layer, with temperature and humidity control). Growth medium was prepared with the substrates and in vitro growth of *P. ostreatus* was evaluated. The following parameters were evaluated: mycelial running, primordium formation, fruiting body development and yield, and biological efficiency (BE). The chemical composition of the substrates before and after production of *P. ostreatus* was also analyzed. The substrates presented differences with respect to biological efficiency (BE),

crude protein (CP) and fat content. The substrate with 70 % of CFE and 30 % CMP showed 80 % of BE, crude protein content of 29 % and 2.2 % of fat, in addition to an yield of 260.2 g of fresh mushroom per kilogram of fresh substrate. Significant increases were observed in ash content, crude protein and non-fibrous carbohydrates of the substrates after the production of *P. ostreatus*. However, significant reductions were observed in the dry matter, NDF, ADF, lignin, hemicellulose, cellulose, and C/N ratio of the substrates also after *P. ostreatus* production. The substrate with 70 % CFE and 30 % CMP is the most suitable for the production of *P. ostreatus*, providing higher yields, BE, crude protein content and lower fat content. The production of *P. ostreatus* in substrates with by-products from sisal processing causes modifications in the physical and chemical properties of the major structural components in these by-products.

Keywords: *Agave sisalana*, mushroom oyster, biodegradation, lignocellulosic residues.

INTRODUÇÃO

Subproduto do sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm)

Os resíduos oriundos de atividades agrícolas e do processamento agroindustrial no mundo podem ser considerados fontes de matéria prima renovável (CASTRO e PEREIRA, 2010). Muitos desses resíduos são constituídos de biomassa de composição lignocelulósica, formada principalmente por três frações poliméricas (lignina, hemicelulose e celulose), que são unidas entre si por ligações covalentes, formando uma rede complexa e resistente ao ataque por microorganismos (JEFFRIES, 1990).

O cultivo do sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) para extração da fibra dura, apresenta-se como a principal fonte de renda da maioria das famílias rurais de vários municípios da região do semiárido do Estado da Bahia. O Brasil é o maior produtor e exportador de fibra de sisal no mundo e o Estado da Bahia, responde por 96,4% de toda a produção nacional (IBGE, 2015). A produção no ano de 2014 foi de aproximadamente 138 mil toneladas de fibras, com exportação de 66,2 mil toneladas, gerando divisas de US\$ 123,9 milhões (CONAB, 2015).

A região semiárida possui restrições quanto à possibilidade de diversificação de cultivos, devido às condições de solo e clima (DIAS et al., 2015). No semiárido baiano, a produção de sisal ocorre predominantemente na agricultura familiar, com baixo nível tecnológico no processo produtivo (plantio, colheita, desfibramento) e também no beneficiamento da fibra, proporcionando distribuição de renda e sustento de aproximadamente 700.000 pessoas, em 38 municípios do Estado da Bahia (CONAB, 2012).

O principal produto da cultura do sisal é a fibra extraída das folhas, que equivale a 4% do peso fresco da folha. Os 96% restantes, constituídos pela polpa das folhas, são considerados resíduos do beneficiamento, sendo uma pequena parte utilizada na adubação orgânica dos plantios, na alimentação animal e pela indústria farmacêutica (SOUSA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2015). Entretanto, a maior parte desses resíduos fica acumulada em pilhas nas propriedades rurais, sem qualquer tratamento ou utilização (ANDRADE et al., 2012). Com a produção média anual nos últimos oito anos de cerca de 100 mil

toneladas de fibra de sisal (CONAB, 2015) e o rendimento da fibra de apenas 4% da folha, estima-se que são gerados aproximadamente 2,8 milhões de toneladas por ano de resíduos do processamento do sisal para obtenção da fibra.

A utilização de resíduos agroindustriais para a produção de cogumelos comestíveis vem sendo explorada como uma alternativa para o aproveitamento destes, com retorno econômico, social e ambiental (BERNARDI *et al.*, 2008). O cultivo de cogumelos vem se apresentando como uma técnica biológica eficiente para a bioconversão e utilização de resíduos lignocelulósicos oriundos do setor agroindustrial (ZHANG *et al.*, 2002; KALMIS SARGIN, 2004; SUN *et al.*, 2013). Neste sentido, os resíduos gerados com o desfibramento das folhas de sisal podem ser considerados sub-produtos para a composição de substratos de produção de cogumelos.

Cogumelos comestíveis

Os cogumelos comestíveis são fungos que pertencem a ordem *Agaricales* e ao filo *Basidiomycota*. Estes são conhecidos como corpos de frutificação, carpóforos ou basidiocarpos e, recentemente, denominados de basidiomas, constituindo uma fase transitória no ciclo de vida destes fungos, com reprodução sexuada (SOUZA e AGUIAR, 2004). Essa ordem contém cogumelos comestíveis, medicinais, alucinógenos, micorrízicos, saprófitas, com grande interesse no aspecto ecológico, industrial e alimentício (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996).

Existem aproximadamente 140.000 espécies de cogumelos no mundo, com apenas 2.000 sendo consideradas comestíveis, e 700 com propriedades farmacológicas comprovadas. Entretanto, apenas 25 espécies são cultivadas comercialmente (VALVERDE *et al.*, 2015). Nas últimas décadas, houve um crescimento nas pesquisas e no conhecimento biotecnológico sobre a produção de cogumelos comestíveis (CORRÊA *et al.*, 2016), levando a um aumento significativo no cultivo de cogumelos comestíveis (ZHANG *et al.*, 2013). As principais espécies produzidas são: *Agaricus bisporus* (champignon de Paris), *Lentinula edodes* (shiitake) e *Pleurotus* spp. (cogumelo ostra) (CORRÊA *et al.*, 2016).

Os cogumelos fazem parte da alimentação humana há milhares de anos. Possuem características sensoriais e atributos culinários, sendo considerados como uma iguaria com alto valor nutricional e funcional (VALVERDE et al., 2015). Também são descritos como alimentos nutracêuticos, devido ao valor organoléptico e propriedades medicinais (CHANG e MILES, 2008).

Além do seu valor nutricional, sendo rico em proteínas e fibras e com baixo teor de gordura, esses fungos produzem uma série de metabólitos de interesse farmacêutico e medicinal, com atividades antioxidantes, antitumorais, imunostimulantes e antimicrobianos (ELMASTAS et al., 2007; MORADALI et al., 2007). Além disso, podem ser uma fonte alternativa de novos compostos antimicrobianos, principalmente metabólitos secundários, tais como terpenos, esteróides, derivados do ácido benzóico, e as quinolonas, mas também de alguns metabólitos primários, como o ácido oxálico, peptídeos e proteínas (VALVERDE et al., 2015).

A produção e o consumo de cogumelos no Brasil ainda é muito pequena, quando comparado aos europeus e asiáticos. Estima-se que o Brasil produza pouco mais de 12.000 toneladas “in natura” e apresente consumo per capita em torno de 160 gramas, considerado baixo, quando comparado com o consumo de alguns países europeus como a França, Itália e a Alemanha, que apresentam consumo superior a 2 kg por habitante (ANPC, 2013). Entretanto, esses valores vêm aumentando, devido ao maior conhecimento da população com relação ao seu alto valor nutricional e medicinal (KALAČ, 2009).

A espécie *Pleurotus ostreatus*

O gênero *Pleurotus* é conhecido como cogumelo gigante ou cogumelo ostra, também denominado de Shimeji ou Hiratake pelos asiáticos. É um grupo de fungos cosmopolita, podendo ser encontrado em diferentes regiões do mundo, principalmente em ambientes de floresta (CARVALHO et al., 2010; ADEBAYO e MARTÍNEZ-CARRERA, 2015). Estes fungos apresentam elevado valor nutritivo e propriedades terapêuticas, com uma grande variedade de aplicações biotecnológicas e ambientais (KNOP et al., 2015). O gênero *Pleurotus* apresenta várias espécies importantes, como: *P. ostreatus*, *P. pulmonaris*, *P. sajor caju*, *P. cornucopiae* e *P. ostreatoroseus*. As espécies *P.*

ostreatus e *P. pulmonarius* são as mais cultivadas em grande escala (BAZZANELLA et al., 2013; ADEBAYO et al., 2012).

O *Pleurotus* vem ganhando destaque no cenário mundial devido as características sensoriais e excelente perfil nutricional (CORRÊA et al., 2016). As espécies desse gênero produzem corpos de frutificação com alto teor de proteínas, contendo os nove aminoácidos essenciais para os seres humanos (KAKON et al., 2012). Dentre as características nutricionais destacam-se: fonte de fibras dietéticas, conteúdo de vitaminas (incluindo tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, ergosterol, e niacina), índices consideráveis de macro e micro nutrientes a exemplo de fósforo, potássio, manganês, cálcio e ferro, fonte de carboidratos e ainda com baixo teor de gordura (MAFTOUN et al., 2015).

Nos últimos anos, vários trabalhos têm demonstrado as diferentes potencialidades medicinais das espécies do gênero *Pleurotus* spp., qualificando-os como cogumelos nutraceuticos, sendo adicionados ao grupo de alimentos funcionais (PATEL et al., 2012). O seu sabor é muito agradável e eles estão entre os cogumelos com maior produção em várias regiões do mundo (IBEKWE et al., 2008).

Vários compostos bioativos, tais como: polissacáridos, péptideos, glicoproteínas, lipídios, compostos fenólicos e enzimas hidrolíticas e oxidativas foram extraídos a partir de extratos brutos de micélios e copos de frutificação de espécies de *Pleurotus* (CORRÊA et al., 2016). Propriedades medicinais de extratos de corpos de frutificação e micélio de *Pleurotus* também foram relatados por Patel et al., (2012). Estes autores relataram atividade anti-hipercolesterolémico, anti-hipertensivos, anti-diabético, anti-obesidade, anti-envelhecimento, antimicrobiano, antioxidante e atividade hepatoprotectora. Khan et al., (2012) e também atividade anticancerígena.

Estes fungos possuem um complexo enzimático com capacidade de degradar a lignina presente nos vegetais, sendo esta a razão pela qual são conhecidos como fungos causadores da podridão branca da madeira (ABREU et al., 2007). Além das características nutricionais, o aparato enzimático da espécie *Pleurotus ostreatus* lhe possibilita colonizar uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos (SOFI et al., 2014; KOUTROTSIOS et al., 2014; FERNANDES et al., 2015), garantindo o seu desenvolvimento em condições rústicas de cultivo, requerendo menor tempo, quando comparados a outros

fungos comestíveis (BONATTI et al., 2004; GERN et al., 2008). Esse aparato enzimático permite a conversão de compostos agrícolas de baixo valor econômico, em produtos alimentícios com elevados teores de minerais, carboidratos, vitaminas e proteínas. Além da degradação da lignina, estes fungos possibilitam a liberação de substâncias húmicas, as quais agem na estruturação do solo ou como agentes quelantes (MEDINA et al., 2012).

Nos últimos anos, uma ampla gama de subprodutos agroindustriais de origem orgânica, vem sendo utilizados como substratos para a produção de *P. ostreatus*, tais como: serragem de madeira, bagaço de cana de açúcar e caule de pupunha (SALES-CAMPOS et al., 2010), palha de trigo e fibra de coco, combinados com resíduos de biodigestores (CHANAKYA et al., 2015) e substratos de papel em branco e impressos, em comparação com a palha de aveia (FERNANDES et al., 2015).

Substrato pós cultivo de *Pleurotus* spp.

A perspectiva de utilização e valorização dos resíduos ou subprodutos agroindustriais ainda é pouco explorada, especialmente quando são utilizados na perspectiva de uma gestão ecologicamente correta desses resíduos, com a geração de novos produtos de valor agregado. O tratamento biológico de resíduos consiste na inoculação com fungos basidiomicetos que atuam na degradação de resíduos lignocelulósicos, sendo um processo ambientalmente seguro, sem o uso de substâncias químicas sintéticas (Schmidt et al., 2003).

A produção de cogumelos, além da geração de um alimento com alto valor nutritivo, ao final do cultivo, ainda produz um substrato colonizado pelo fungo, com potencial para utilização na alimentação de ruminantes (BENTO et al., 2014) ou como fertilizante e condicionador do solo na produção agrícola (MEDINA et al., 2012). Em média, para cada quilo de *P. ostreatus* produzido, cinco quilos de substrato residual são gerados (CORRÊA et al., 2016).

A produção de *P. ostreatus*, utilizando diferentes resíduos lignocelulósicos proporciona a degradação e solubilização de carboidratos, lignina, celulose, hemicelulose, gerando um substrato residual com alta digestibilidade, rico em nutrientes e proteínas (BENTO et al., 2014; KOUTROTSIOS et al., 2014; SALES-CAMPOS et al., 2010). Kotrotsios et al.,

(2014) avaliando diferentes resíduos agroindustriais e florestais, relataram uma redução elevada nos teores de fibras e os conteúdos de hemicelulose e celulose e proteína bruta do substrato pós cultivo de *P. ostreatus*, em relação ao substrato inicial. Sales-Campos et al. (2010) concluíram que o cultivo de *P. ostreatus* utilizando substratos formulados a partir de resíduos madeireiros e da agroindústria da Amazônia proporcionou melhorias na qualidade do substrato residual (incremento de proteína e de energia) devido ao metabolismo do fungo durante cultivo, contribuindo para um substrato residual com maior disponibilidade de nutrientes do que o substrato inicial.

O avanço de tecnologias para o cultivo de cogumelos tem possibilitado a utilização de resíduos agropecuários e industriais, com redução nos custos de produção (EIRA, 2004; CARVALHO et al, 2013). O processo de conversão de resíduos agroindustriais por *P. ostreatus* vem se apresentando como uma forma eficiente de reciclagem desses materiais (ADEBAYO e MARTÍNEZ-CARRERA, 2015). Assim, a utilização dos subprodutos do processamento da fibra do sisal na composição de substratos para a produção de cogumelos comestíveis poderá agregar valor a cadeia produtiva do sisal, gerando produtos alimentares de alta qualidade nutritiva, com uma oportunidade de geração de renda e a consequente melhoria na qualidade de vida dos produtores do semiárido da Bahia. Adicionalmente, após a colheita dos cogumelos, o substrato pode ser utilizado para outros fins na agropecuária, como fertilizante orgânico ou para alimentação animal, evitando assim o descarte inadequado destes resíduos no meio ambiente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção e as características químicas do cogumelo *Pleurotus ostreatus* em substrato formado pelo subproduto do desfibramento das folhas de sisal e pelo subproduto do processo de industrialização da fibra seca de sisal, além de determinar a composição bromatológica dos substratos pré e pós cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.D.; MARINO, R.H.; MESQUITA, J.B.; RIBEIRO, G.T. Degradação da madeira de *Eucalyptus* sp. por basidiomicetos de podridão branca. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.74 (4), p.321-328, 2007.

ADEBAYO, E. A. e MARTÍNEZ-CARRERA, D. Oyster mushrooms (*Pleurotus*) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. African Journal of Biotechnology, v.14 (1), P. 52-67, 2015.

ADEBAYO, E.A.; OLOKE, J.K.; MAJOLAGBE, O.N.; AJANI, R.A.; BORA, T.C. Antimicrobial and anti-inflammatory potential of polysaccharide from *Pleurotus pulmonarius*. African Journal of Microbiology Research Vol. 6 (13), p. 3315-3323, 2012.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. Introductory Mycology. John Wiley & Sons, New York, USA. 869pp. 1996.

ANPC- Associação Nacional de produtores de cogumelos. Sobre os cogumelos. Disponível em: <http://www.anpc.org.br/index.php/cogumelos>. Acesso em 11 de abril de 2016.

ANDRADE, R., ORNELAS, J., & BRANDÃO, W. Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. Comunicação SEAGRI, v. 1, p. 14-19, 2012.

BAZANELLA, G. C. S., SOUZA, D. F., CASTOLDI, R., OLIVEIRA, R. F., BRACHT, A., & PERALTA, R. M. Production of laccase and manganese peroxidase by *Pleurotus pulmonarius* in solid-state cultures and application in dye decolorization. Folia Microbiologica, v. 58 (6), p. 641 - 647, 2013.

BENTO, C. A. B. P., DA SILVA, J. S., RODRIGUES, M. T., KASUYA, M. C. M., & MANTOVANI, H. A. C. Influence of white-rot fungi on chemical composition

and *in vitro* digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. Afr. J. Microbiol. Res, v. 8 (28), p. 2724-2732, 2014.

BERNARDI E, MINOTTO E, NASCIMENTO JS. Aproveitamento de resíduo de curtume como suplemento no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.75, n.2, p.243-246, 2008.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.M.; FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. Food Chemistry, vol. 88 (3), p. 425-428. 2004.

CARVALHO, C. S. M., AGUIAR, L. V. B., SALES-CAMPOS, C., MINHONI, M. T. A., ANDRADE, M. C. N., Cultivo *in vitro* de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira. Ambiência Guarapuava (PR) v.9 (3), p. 651 – 660, Dez. 2013.

CARVALHO, C. S. M.; SALES-CAMPOS, C.; DE ANDRADE, M. C. N. Mushrooms of the *Pleurotus* Genus: A review of cultivation techniques. Interciencia, v. 35, p. 177–182, 2010.

CASTRO, A. M. D., E PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. Química Nova, v. 33 (1), p. 181-188, 2010.

CHANAKYA, H. N., MALAYIL, S., & VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agroresidues. Energy for Sustainable Development, v. 27, p. 84-92, 2015.

CHANG, S.T.; MILES, P. G. *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2nd edition, 2008.

CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). (2015).: Sisal 2015 : Retrospectiva. Disponível em::http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/sisal__conjuntura_especial_retrospectiva_2015-1.pdf . Acesso em 18 de Fevereiro, 2016.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). (2012). Sisal – safra 2012/2013 : comercialização – proposta de ações. Available in: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_10_29_11_45_31_sisal2012.pdf. Acesso em 18 de Fevereiro, 2016.

CORRÊA, R. C. G., BRUGNARI, T., BRACHT, A., PERALTA, R. M., & FERREIRA, I. C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp.(Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. Trends in Food Science & Technology, v. 50, p. 103 -117, 2016.

DIAS, A. B., CUNHA, A. L., DA SILVA, A. O., & DE OLIVEIRA, I. F. Potencial De Indicação Geográfica Do Sisal Na Bahia. Cadernos de Prospecção. V. 8 (1), 174p, 2015.

Eira, A. F. (2004). Fungos comestíveis. In. Esposito, e Azevedo, JL (ed.) Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia, v.1, p. 15-46.

ELMASTAS M.; ISILDAK O.; TURKEKUL I.; TEMUR N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. Journal of Food Composition and Analysis, v. 20 (3). p. 337–34. 2007.

FERNANDES, Â.; BARROS, L.; MARTINS, A.; HERBERT, P.; FERREIRA, I.C.F.R. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate, Food Chemistry, Vol. 169, 15, p.396-400. Fer. 2015.

GERN, R. M. M.; WISBECK, E.; RAMPINELLI, J.R.; NINOW, J. L.; FURLAN, S. A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and

potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*, vol. 99 (1), p. 76-82, 2008.

IBEKWE, V.I.; AZUBUIKE, P.I.; EZEJI, E.U.; CHINAKWE, E.C. Effects of Nutrient Sources and Environmental Factors on the Cultivation and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Pak. J. Nutr.* Vol. 7 (2), 349-351. 2008.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística., . Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro. V. 29, p. 1-83, 2015.

JEFFRIES TW. Biodegradation of lignin carbohydrate complexes. *Biodegradation*. V. 1, p. 163-76, 1990.

KALÁČ, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food chemistry*, v. 113 (1), p. 9-16, 2009.

KALMIS, E, SARGIN E. Cultivation of two *Pleurotus* species on wheat straw substrates containing olive mill waste water. *Int Biodeterior Biodegrad*, v. 53 (1), p. 43–7, 2004.

KAKON, A. J., CHOUDHURY, M. B. K., & SAHA, S. Mushroom is an ideal food supplement. *Journal of Dhaka National Medical College e Hospital*, v. 18 (1), p. 58-62, 2012.

KHAN, MD A., & TANIA, M. Nutritional and medicinal importance of *Pleurotus* mushrooms: an overview. *Food Reviews International*, v. 28 (3), p. 313-329, 2012.

KNOP, D., YARDEN, O., & HADAR, Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 99 (3), p. 1025 - 1038, (2015).

KOUTROTSIOS G, KONSTANTINOS CM, IORDANIS C, GEORGIOS, I. Z. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and

Pleurotus ostreatus mushroom fungi- Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. Food Chem. V. 161, p. 127-135, 2014.

MAFTOUN, P., JOHARI, H., SOLTANI, M., MALIK, R., OTHMAN, N. Z., & EL ENSHASY, H. A. The Edible Mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and Nutritional Values. International Journal of Biotechnology for Wellness Industries, v. 4 (2), p. 67-83, 2015.

MEDINA, E., PAREDES, C., BUSTAMANTE, M. A., MORAL, R., & MORENO-CASELLES, J. Relationships between soil physico-chemical, chemical and biological properties in a soil amended with spent mushroom substrate. Geoderma, v. 173, 152-161, 2012.

MORADALI, M.F.; MOSTAFAVI, H.; GHODS, S.; HEDJAROUDE, G. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int. Immunopharmacol.* vol, 7 (6), p, 701-724. 2007.

PATEL, Y., NARAIAN, R., & SINGH, V. K. Medicinal properties of *Pleurotus* species (Oyster mushroom): a review. World Journal of Fungal and Plant Biology, v. 3 (1), p. 1-12, 2012.

RIBEIRO, B. D., BARRETO, D. W., COELHO, M. A. Z. Use of micellar extraction and cloud point preconcentration for valorization of saponins from sisal (*Agave sisalana*) waste. Food and Bioproducts Processing, v. 94, p. 601-609, 2015.

SALES-CAMPOS, C.; ARAUJO, L. M.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Análise físico química e composição nutricional da matéria prima e de substratos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Rev. Interciência, Vol. 35 (1), p. 70-76, 2010.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F. S.; NASCIMENTO, J. S.; V ARGAS JUNIOR, F. M. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.6, p.1866-1871, 2003.

SOFI, B.; AHMAD, M.; KHAN, M. Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. Vol. 8(14), p. 1474-1479, 2 Abr, 2014.

SOUSA, M. F.; SILVA, M. N. B.; ALVES, I.; SILVA, J. C. A; COSTA, L. B. Aproveitamento da mucilagem de sisal na alimentação animal. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 27 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 189).

SOUZA, H. Q. D., & AGUIAR, I. D. J. A. Diversity of Agaricales (Basidiomycota) in the Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brazil. Acta Amazonica, v. 34 (1), p. 43-51, 2004.

SUN, X., XU, H., LIANG, H., LI, P., QIAO, D., CAO, Y., & ZHANG, L. Chemical Composition of Spent *Pleurotus eryngii* Mushroom Substrate and Its Reuse for *Volvariella volvacea* Production. Asian Journal of Chemistry, v. 25 (18), p. 10504, 2013.

VALVERDE, M. E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. International Journal of Microbiology, Vol. 1, p. 14. 2015.

ZHANG R, LI X, FADEL JG. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. Bioresour Technol, v. 82 (3), p. 84-277, 2002.

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

CAPÍTULO 1

PRODUÇÃO DE COGUMELO (*Pleurotus ostreatus*) EM SUBSTRATO COM SUBPRODUTOS DO SISAL (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm)

¹. Artigo a ser submetido na revista Scientia Horticulturae

PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* EM SUBSTRATO COM SUBPRODUTOS DO SISAL (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm)

Autor: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientador: Ana Cristina F. Soares

RESUMO: A produção e consumo de cogumelos comestíveis vem crescendo anualmente, devido ao seu alto valor nutricional e medicinal. A espécie *Pleurotus ostreatus* possui um complexo de enzimas hidrolíticas, permitindo colonizar uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos. A cadeia produtiva do sisal gera diversos subprodutos com potencial para serem aproveitados na produção de cogumelos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de *P. ostreatus* em substrato formado por diferentes combinações de subprodutos do processamento do sisal. Foram avaliadas diferentes proporções do sub-produto seco do desfibramento das folhas de sisal (RS) e do sub-produto do processamento da fibra seca (PBA), nas proporções de 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g, respectivamente, com 5 % de farelo de trigo e 3 % de carvão moído. Os substratos foram esterilizados em autoclave, inoculados com *P. ostreatus* e incubados em estufa agrícola climatizada, com plástico preto e controle de temperatura e umidade. Meios de cultura preparados com os substratos foram utilizados para avaliação do crescimento micelial in vitro. Foram avaliados: a corrida micelial no substrato in vitro e, na estufa, o início da formação dos primórdios, rendimento e eficiência biológica (EB) e a análise centesimal dos corpos de frutificação. Foram observadas diferenças significativas entre as diferentes combinações com relação à eficiência biológica (EB), teor de proteína bruta (PB) e de gordura. O substrato com 70 % de RS e 30 % de PBA apresentou 79,9 % de EB, teor de PB de 29,0 % e gordura de 2,2 %, além do rendimento de 260,2 g de cogumelo fresco por quilo de substrato úmido. Este substrato é o mais indicado para a produção de *P. ostreatus*, proporcionando a maior produtividade, EB, teor de PB e menor teor de gordura.

Palavras-chave: Cogumelo comestível, Cogumelo ostra, Biodegradação de substrato, eficiência biológica.

PRODUCTION OF *Pleurotus ostreatus* IN SUBSTRATE WITH SISAL (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) BY-PRODUCTS

Author: Cristiano Oliveira do Carmo

Advisor: Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: The use of agro-industrial by-products for mushroom production is a recycling alternative, with financial return, environmental and social benefits. *Pleurotus ostreatus* has a complex of hydrolytic enzymes that allows it to colonize a wide variety of lignocellulose residues. Sisal is the main crop and source of income of rural farmers in the semiarid region of Bahia, and the extraction of its fiber generates a large amount of by-products. Therefore, the aim of this study was to evaluate the production of *Pleurotus ostreatus* in substrates prepared with the by-product of the decortication process of sisal leaves for fiber extraction (CFE) and of the dry fiber manufacturing process (CMP), as well as to determine the chemical characteristics of the mushrooms and the chemical composition of the growth substrates before and after mushroom production. Different proportions of the CFE and CMP (90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g of CFE and CMP), with 5 % of wheat bran and 3% of powdered charcoal were used to prepare the substrate and were evaluated for mushroom production. The substrates were sterilized in an autoclave, inoculated with *P. ostreatus* and incubated in a mushroom chamber (greenhouse type with black plastic and with temperature and humidity control. Growth medium was prepared with the substrates and in vitro growth of *P. ostreatus* was evaluated. The following parameters were evaluated: in vitro substrate mycelial running, and in the mushroom growth chamber, primordium formation, fruiting body development and yield, and biological efficiency (BE). The substrate with 70 % CFE and 30 % CMP is the most suitable for the production of *P. ostreatus*, providing higher yields, BE, crude protein content and lower fat content.

Keywords: Edible Mushroom, Oyster Mushroom, substrate degradation, biological efficiency.

INTRODUÇÃO

A produção e consumo de cogumelos comestíveis vem crescendo em escala industrial no mundo, devido ao seu alto valor nutricional e medicinal, como fonte de vitaminas, minerais e proteínas (Bonatti et al., 2004; Chang e Miles, 2004). A busca por tecnologias capazes de reduzir os custos de produção, com a utilização de diferentes resíduos agropecuários e industriais, tem contribuído para o aumento de produção de cogumelos, com preços mais acessíveis ao consumidor, tendo como consequência um aumento no seu consumo (Sales-Campos et al., 2010; Sánchez, 2010; Cardoso et al., 2013).

O *Pleurotus ostreatus* é o terceiro cogumelo comestível mais cultivado no mundo, sendo produzido em grande e pequena escala em muitos países (Carvalho et al., 2012; Adebayo et al., 2012). Este fungo macroscópico possui um complexo de enzimas hidrolíticas que possibilita a colonização e frutificação rápida em uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos (Bonatti et al., 2004; Gern et al., 2008). Estas características garantem o seu desenvolvimento em condições rústicas de cultivo, requerendo menor tempo de cultivo e com menor risco de contaminações, quando comparado a outros cogumelos comestíveis (Pokhrel et al., 2013). O *Pleurotus* também se destaca pelas suas características nutricionais e funcionais, sendo cada vez mais popular do ponto de vista comercial (Fernandes et al., 2015).

O cultivo de cogumelos comestíveis em resíduos sólidos pode ser visto como um meio eficaz de utilização de resíduos agroindustriais para a segurança alimentar e, simultaneamente, como uma estratégia de proteção do ambiente (Sofi et al., 2014). Entretanto, devido à grande quantidade e variedade de resíduos agrícolas e industriais descartados no meio ambiente é necessário estudar a viabilidade do uso desses resíduos na preparação dos substratos para o cultivo de cogumelos de interesse alimentar (Vieira et al., 2013).

Substratos para o cultivo de cogumelos devem possibilitar o rápido crescimento e desenvolvimento micelial, assim como a precocidade e alta produção, além da viabilidade econômica e sua disponibilidade ao longo do ano (Assan e Mpofo, 2014). O desenvolvimento de tecnologias com as condições ótimas para o crescimento vegetativo do cogumelo *P. ostreatus*,

também conhecido como cogumelo ostra, faz-se necessário devido a variação nas características físicas e químicas dos substratos e o impacto dessas características no cultivo (Albuquerque et al., 2013). Estes conhecimentos são pré-requisitos importantes para o cultivo comercial de cogumelos.

O Brasil é o maior produtor de fibra de sisal do mundo, com uma produção no ano de 2014 de aproximadamente 138 mil toneladas de fibras. O Estado da Bahia responde por 96,4 % de toda a produção nacional (IBGE, 2015). Porém, apenas as fibras duras que representam de 3 a 5 % do peso total das folhas são comercializadas, na forma de fibra longa. No processo de desfibramento das folhas de sisal, 95 a 97 % destas é descartado na forma de resíduos líquidos e sólidos, oriundos da polpa das folhas (Murali e Morchhale, 2014). Outro subproduto gerado na cadeia produtiva do sisal é o pó gerado na industrialização da fibra seca, conhecido como pó de batedeira (figura 1). Estes subprodutos podem ser utilizados como adubo orgânico, processados para alimentação animal, bioinsecticida e/ou como intermediários para a síntese de drogas para a indústria farmacêutica (Ribeiro et al., 2015). Jesus et al., (2015) e Damasceno et al., (2014) relatam o potencial destes resíduos para o desenvolvimento de nematicidas agrícolas.

Entretanto, a maior parte destes resíduos é deixada em pilhas nos campos de sisal sem qualquer utilidade ou valor comercial (Andrade et al., 2012), mas estes devem ser considerados subprodutos com potencial para geração de renda com a sua reciclagem. A utilização destes subprodutos para a produção de cogumelos poderá diminuir ou eliminar o seu descarte no meio ambiente e, ainda, gerando um alimento de elevado valor nutritivo e fonte de renda, com o melhor aproveitamento da planta de sisal. Esta representa uma forma de manejar os subprodutos do sisal de forma ambientalmente e economicamente sustentável, apresentando-se como uma alternativa na cadeia produtiva do sisal, para o aproveitamento destes subprodutos na região sisaleira da Bahia. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção do cogumelo *Pleurotus ostreatus* em substrato composto por subprodutos de sisal e determinar as características químicas dos corpos de frutificação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Microrganismo e condições de cultivo

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

Para o preparo do inóculo, fragmentos de micélio do fungo preservados pelo método Castellani, foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo meio batata, dextrose e agar (BDA) (Bononi et al., 1999). As placas foram incubadas em incubadora do tipo BOD, a 25°C, durante sete dias. Após este período, as culturas foram mantidas a 4°C para interrupção do crescimento micelial, até sua utilização.

Produção de inóculo (*spawn*)

Sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*) foram utilizadas como substrato para o crescimento do fungo. Os grãos inteiros foram lavados e imersos em água por um período de 90 minutos na razão de 2:1 (água:sorgo, volume: massa). O excesso de água foi removido com uma peneira de plástico de uso doméstico e os grãos foram envasados, colocando-se 100 g de sorgo em cada frasco de vidro. Os frascos contendo o sorgo foram fechados com tampa metálica e esterilizados em autoclave a 121°C por 55 minutos. Após a esterilização, cada frasco foi inoculado com 3 discos (5 mm de diâmetro) da cultura do fungo em meio BDA e incubado a 25°C em BOD, durante 20 dias. Os grãos colonizados pelo fungo são denominados de semente (*spawn*).

Formulação do substrato

Foram preparados substratos com diferentes proporções do subproduto do desfibramento da folha de sisal, após seco ao sol e do subproduto do processamento da fibra seca, denominado de pó de bateadeira (figura 1), nas proporções de 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g, respectivamente. O pó da

batedeira e o subproduto do desfibramento do sisal foram separadamente imersos em água por um período de 4 h, sendo esse procedimento repetido por três vezes. Em seguida, estes resíduos foram tratados com uma solução de 0,5 % de cal hidratado, por imersão por um período de 12 h. Após esses tratamentos dos subprodutos, foram preparadas as misturas nas diferentes combinações e foram adicionados a cada substrato, 5 % de farelo de trigo e 3 % de carvão moido.



Figura 1: Subprodutos do desfibramento da folha do sisal e do processamento da fibra seca do sisal. A = Desfibramento da folha do sisal. B = Mucilagem da folha do sisal. C = Indústria de processamento da fibra seca do sisal, conhecida como batedeira. D = subproduto do processamento da fibra seca do sisal (pó de batedeira) no chão e armazenado em sacos.

Avaliação *in vitro* do crescimento micelial radial

Para a determinação do crescimento micelial, foram utilizadas as combinações dos subprodutos de sisal, conforme descritas anteriormente, para preparo do meio ágar substrato. O tratamento controle foi composto pelo meio

BDA sem adição dos subprodutos. Para preparo do meio de cultura, 200 g do substrato (subprodutos combinados nas diferentes proporções) foram fervidos em 1 L de água destilada por 20 minutos. Em seguida, a mistura foi filtrada em filtro de papel para café e o volume da suspensão líquida foi completado para 1 L. Foram adicionadas 15 g de ágar e o pH foi ajustado para 6,0. O meio foi esterilizado em autoclave por 20 min a 121°C e vertido em placas de Petri esterilizadas. Discos (5 mm de diâmetro) de micélio de *P. ostreatus* foram transferidos para o centro das placas de Petri com meio ágar substrato e estas foram incubadas a 25±1°C. O crescimento micelial radial foi medido com régua milimetrada, a cada 48 horas, em duas direções ortogonais. A avaliação foi finalizada quando o micélio de um dos tratamentos atingiu a borda da placa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições.

Avaliação do crescimento micelial vertical

Para determinação do crescimento micelial vertical, foram utilizados tubos de ensaio com 22 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro. Os substratos foram colocados no tubo até atingir os primeiros 10 cm do comprimento do tubo e estes foram autoclavados a 121°C, durante 30 minutos. Foi adicionado na superfície do substrato 1 g de sementes da cultura de *P. ostreatus* e o tubo foi fechado com tampão de algodão e papel manteiga. Os tubos foram incubados a temperatura ambiente (25±2°C), na ausência de luz. Foi avaliado o crescimento micelial do fungo ao longo do substrato, por medição com régua (mm), a cada 24 horas. A avaliação de todos os tratamentos foi finalizada quando, em um dos tratamentos, o micélio atingiu todo o substrato no seu comprimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições.

Produção de *Pleurotus ostreatus* em estufa agrícola

Os substratos com os diferentes subprodutos de sisal foram preparados conforme descrito anteriormente, nas mesmas proporções. Estes foram colocados em sacos de ráfia, imersos em uma solução de 0,5 % de cal hidratada, por um período de 12 horas e, em seguida colocados à sombra para

a drenagem do excesso de umidade, até que os mesmos atingissem 65 % a 70 % de umidade. Após esse tratamento foram adicionados a cada substrato, 5 % de farelo de trigo e 3 % de carvão moído e os substratos foram transferidos (2 kg de substrato úmido por saco) para sacos sanfonados de polietileno com filtro de troca gasosa. Os sacos contendo os substratos foram fechados e esterilizados em autoclave a 121°C, por um período de uma hora. Após os substratos arrefecerem, procedeu-se à inoculação, em condições assépticas, com 40 g de *spawn* por saco (2 % do peso do substrato) e estes foram incubados em estufa agrícola climatizada, com controle de temperatura e umidade, por um período de 18 dias. A incubação foi conduzida a temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e a umidade relativa em torno de 75-80 %, até a emissão dos primórdios, quando a temperatura da estufa foi reduzida para $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e a umidade relativa alterada para 80-90%. Foram feitos pequenos orifícios na lateral dos sacos, para permitir a saída dos corpos de frutificações. Os cogumelos foram colhidos antes que as bordas estivessem no mesmo plano da superfície do píleo e, imediatamente pesados para obtenção do peso da massa fresca. Foram utilizadas 10 repetições por tratamento.

Avaliação dos parâmetros de cultivo

Para definição da melhor combinação dos subprodutos de sisal para a composição do substrato de produção do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, os parâmetros avaliados foram: duração do ciclo de cultivo (colonização, formação dos primórdios e produção de cogumelos), precocidade definida como o tempo decorrido entre o dia da inoculação e o dia de aparecimento dos primórdios; eficiência biológica (BE) calculada como a razão do peso da massa fresca de cogumelos sobre o peso da massa seca do respectivo substrato multiplicado por 100; taxa de rendimento expressa como a razão entre o valor total de produção de cogumelos frescos sobre o período total de produção em dias. O rendimento foi calculado tomando-se por base a massa da matéria fresca dos cogumelos em relação à massa do substrato úmido.

Análise química dos substratos e dos cogumelos

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

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

Delineamento experimental e análise estatística

Para avaliação da produção de cogumelos, o experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, com 10 repetições. Para análise química, foram analisadas cinco amostras e todos os ensaios foram realizados em duplicata. Os resultados foram expressos como valores médios \pm desvio padrão (SD). Os dados referentes as características dos substratos foram comparados pela análise de variância (ANOVA) e agrupados pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011). As correlações de Pearson entre os parâmetros foram estimadas pelo procedimento CORR (SAS, 2009).

RESULTADOS

Determinação das taxas de crescimento micelial

Nos ensaios conduzidos in vitro, em meio agar-substrato, não houve diferença no crescimento micelial do *P. ostreatus* para os substratos compostos

por diferentes proporções dos subprodutos do desfibramento do sisal (CDS) e resíduo do processamento da fibra seca (pó de bateadeira - PBA). A média do crescimento micelial nas diferentes combinações foi de 0,28 cm dia⁻¹. No tratamento controle, com meio batata dextrose ágar, o crescimento micelial foi significativamente superior ao dos substratos, com taxa de crescimento de 0,75 cm dia⁻¹, atingindo a extremidade da placa em 12 dias.

No ensaio conduzido com os substratos esterilizados, em tubos de ensaio com diâmetro de 3 cm e comprimento de 25 cm, a avaliação do crescimento micelial de *P. ostreatus* no substrato transcorreu no período de 18 dias. Os substratos C1 e C2 promoveram maior capacidade de colonização e velocidade de crescimento micelial pelo *P. ostreatus*. Não houve diferença entre os substratos C3 e C4. O substrato C5 proporcionou a menor colonização pelo fungo, com menor crescimento micelial (Figura 2).

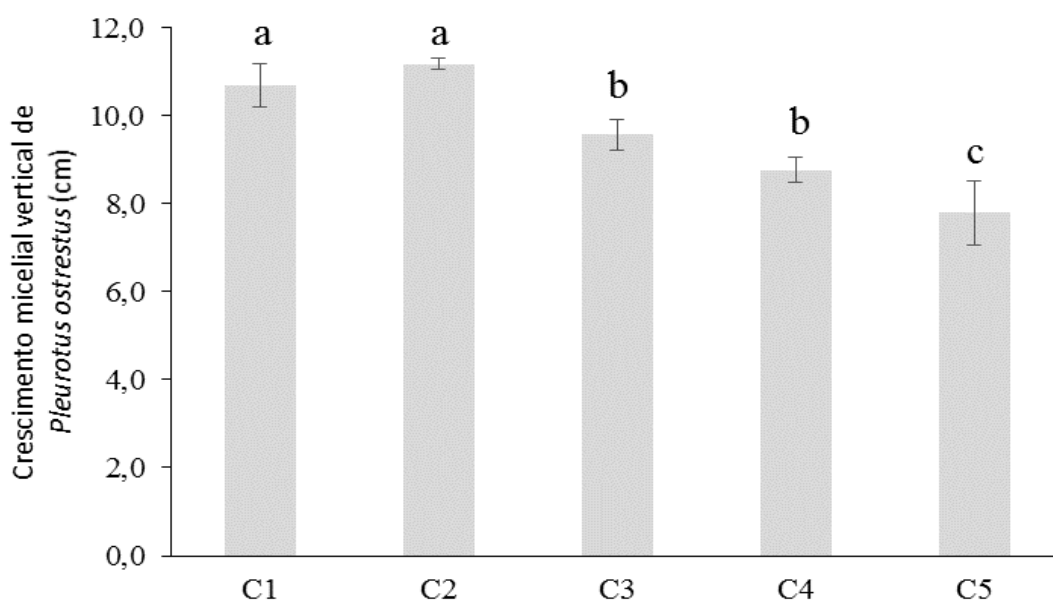


Figura 2: Crescimento micelial vertical *in vitro* de *Pleurotus ostreatus* cultivado em substratos com diferentes combinações do subproduto do desfibramento do sisal (CDS) e pó de bateadeira (PBA), enriquecido com farelo de trigo e carvão, tratado com solução a 0,5% de cal hidratado e esterilizado em autoclave. Composição dos substratos: C1 = 90% de CDS e 10% de PBA; C2=80% de CDS e 20% de PBA; C3= 70% de CDS e 30% de PBA; C4= 60% de CDS e 40% de PBA; C5= 50% de CDS e 50% de PBA.

Parâmetros de avaliação da produção

Não foram observadas diferenças entre os substratos com relação a corrida micelial, início da formação dos primórdios e formação dos corpos de frutificação (cogumelos) de *P. ostreatus*. O substrato foi totalmente colonizado entre 16^o e o 18^o dia e a formação dos primórdios teve início entre o 20^o e 21^o dia após a inoculação (Tabela 2). O ciclo completo de produção de *P. ostreatus* transcorreu no prazo médio de 55 dias, em todos os substratos.

O substrato C3 com eficiência biológica de 79,7 % e o C5 com eficiência biológica de 76,7 % apresentaram os maiores valores, diferindo dos valores obtidos para os substratos C1 (65,7 %), C2 (67,4 %) e C4 (70,7 %). Não foram observadas diferenças com relação a produção e taxa de rendimento do cogumelo (Tabela 1).

Tabela 1.

Corrida micelial (CM), início da formação dos primórdios (IFP), eficiência biológica (EB), rendimento e taxa de rendimento (TR) na produção de *P. ostreatus* em substratos compostos por diferentes proporções de subprodutos de sisal.

Substratos	CM (dias)	IFP(dias)	EB (%)	Rendimento (g kg ⁻¹)	TR (g dias ⁻¹)
C1	16,8±1,03 a	20,6±1,34 a	65.7±6,00 b	226.0±20,6 a	8,80±0,79 a
C2	17,1±1,44 a	20,5±1,50 a	67.4±8,46 b	241.0±49,9 a	9,00±1,11 a
C3	17,5±0,82 a	20,7±0,82 a	79.7±8,82 a	260.2±26,8 a	10,20±1,11 a
C4	17,6±1,07 a	20,7±1,25 a	70.7±6,37 b	233.0±21,0 a	9,50±0,84 a
C5	17,9±0,56 a	20,8±0,63 a	76.7±8,27 a	242.3±26,1 a	9,40±1,02 a
CV	5,96	5,62	10,61	12,84	11,02

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

C1 = 90 % de subproduto do desfibramento do sisal (CDS) e 10 % de pó de batadeira (PBA); C2 = 80 % de CDS e 20 % de PBA; C3 = 70 % de CDS e 30 % de PBA; C4 = 60 % de CDS e 40 % de PBA; C5 = 50 % de CDS e 50 % de PBA

Os estudos de correlação entre a composição química dos diferentes substratos indicaram correlação negativa ($p > 0,05\%$) entre a eficiência biológica e o teor de proteína e correlação positiva ($p > 0,05\%$) entre a eficiência biológica e o teor de celulose e também com a relação C/N. Não foi observada uma correlação entre os demais parâmetros de produção e as variáveis avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2.

Correlação de Pearson (R) entre os parâmetros de produção (eficiência biológica (EB), rendimento e taxa de rendimento (TR), corrida micelial (CM) e início da formação dos primórdios (IFP)) e os teores de proteína, lignina, hemicelulose, celulose e relação C/N dos substratos utilizados no cultivo de *P. ostreatus*.

Parâmetros	Proteína	Lignina	Hemicelulose	Celulose	Relação C/N
EB	(-0.527*)	(-0,356 ^{ns})	(-0.378 ^{ns})	(+0.509*)	(+0.495*)
Rendimento	(-0.218 ^{ns})	(-0,230 ^{ns})	(-0.378 ^{ns})	(+0.316 ^{ns})	(+0.246 ^{ns})
TR	(-0.182 ^{ns})	(+0,022 ^{ns})	(-0.279 ^{ns})	(+0.147 ^{ns})	(+0,125 ^{ns})
CM	(-0.222 ^{ns})	(-0,315 ^{ns})	(-0.085 ^{ns})	(+0.226 ^{ns})	(+0.294 ^{ns})
IFP	(-0.111 ^{ns})	(-0,157 ^{ns})	(+0.111 ^{ns})	(+0.118 ^{ns})	(+0.219 ^{ns})

ns- Não significativo e * Significativo pelo teste t a 5 % de probabilidade; + Correlação positiva, - Correlação negativa; EB = eficiência biológica; CM = corrida micelial; IFP= início da formação dos primórdios

Análise centesimal do substrato

A avaliação centesimal do substrato apontou diferenças em relação a matéria seca. Os substratos C1 (31,1 %) e C2 (31,1%) diferiram do C3 (29,3 %), C4 (29,1 %) e C5 (28,0 %). Com relação a matéria mineral, a combinação C5 (30,1 %) apresentou diferença com relação as demais. Não houve diferença entre os teores de gordura dos substratos com as diferentes combinações dos subprodutos de sisal. Em relação ao teor de proteína, os substratos C3 (5,2 %), C4 (5,5 %) e C5 (5,0 %) não diferiram entre si, apresentando os menores teores de proteína bruta (PB) em relação aos demais substratos.

Para o teor de carboidrato, os substratos C1 (13,6 %), C2 (12,6 %) e C3 (13,4 %) apresentaram valores semelhantes entre si, mas foram superiores aos valores observados para C4 (9,7 %) e C5 (9,9 %). Foram observadas variações nos diferentes substratos, com relação aos teores dos componentes individuais da fibra (Tabela 3). Os maiores teores de celulose foram encontrados nos substratos C3 (28,2 %), C4 (28,8 %) e C5 (29,6 %). Com relação aos teores de hemicelulose, os substratos C2 (16,7 %) e C4 (15,8 %) apresentaram valores maiores que C1 (13,8 %), C3 (12,7 %) e C5 (14,2 %) (Tabela 3). Houve uma redução nos teores de lignina, proporcional ao incremento na proporção do pó de batedeira nos substratos. O substrato C5, com a maior proporção de pó de batedeira, apresentou o menor teor de lignina (9,69 %) (Tabela 3). Entretanto, foi observado um aumento proporcional da relação C/N com o aumento da proporção de pó de batedeira. Os substratos C3, C4 e C5 apresentaram os

maiores valores para a relação C/N com 36,8; 37 e 39,3, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3.

Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), gordura, proteína bruta (PB), carboidratos, celulose, hemicelulose, lignina e relação C/N dos substratos formados por diferentes combinações do subproduto do desfibramento da folha de sisal e do processamento da fibra seca de sisal, para o cultivo de *P. ostreatus* (g em 100 g de matéria seca, média \pm desvio padrão, n = 5).

Constituintes	Substratos					CV
	C1	C2	C3	C4	C5	
MS	31,1 \pm 0,19a	31,1 \pm 0,28a	29,3 \pm 0,98b	29,1 \pm 2,12b	28,0 \pm 0,40b	0,30
MM	26,4 \pm 1,17b	25,5 \pm 0,97b	26,4 \pm 0,58b	27,8 \pm 0,49b	30,1 \pm 0,48a	2,91
PB	6,1 \pm 0,10a	5,6 \pm 0,19a	5,2 \pm 1,04b	5,5 \pm 0,21b	5,0 \pm 0,07b	20,40
Gordura	1,3 \pm 0,37a	1,1 \pm 0,31a	1,3 \pm 0,18a	1,2 \pm 0,37a	1,3 \pm 0,21a	8,80
Carboidrato	13,6 \pm 2,14a	12,6 \pm 2,23a	13,4 \pm 1,99a	9,7 \pm 2,13b	9,9 \pm 1,50b	13,60
Hemicelulose	13,8 \pm 3,21b	15,8 \pm 1,57a	12,7 \pm 1,01b	16,7 \pm 0,98a	14,2 \pm 0,24b	4,76
Celulose	25,6 \pm 2,72b	27,1 \pm 0,50b	28,2 \pm 0,49a	28,8 \pm 0,89a	29,6 \pm 0,72a	2,24
Lignina	12,5 \pm 0,60a	12,4 \pm 0,71a	11,7 \pm 1,36a	11,4 \pm 0,57a	9,7 \pm 0,33b	5,12
Relação C/N	33,7 \pm 1,10b	35,1 \pm 1,42b	36,8 \pm 2,06a	37,0 \pm 1,69a	39,3 \pm 0,76a	4,06

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

C1 = 90 % de subproduto do desfibramento do sisal (CDS) e 10 % de pó de batadeira (PBA); C2 = 80 % de CDS e 20 % de PBA; C3 = 70 % de CDS e 30 % de PBA; C4 = 60 % de CDS e 40 % de PBA; C5 = 50 % de CDS e 50 % de PBA

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

As principais propriedades físico-químicas dos corpos de frutificação (cogumelos) de *P. ostreatus* são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4.

Teores de Umidade (UM), Matéria Mineral (MM), Gordura, Proteína bruta (PB), Fibra e carboidratos dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos em substratos com diferentes combinações de subprodutos do processamento de sisal (g em 100 g de matéria seca, média \pm DP, n = 5).

Substratos	UM	MM	Gordura	PB	Fibra	Carboidrato
C1	89,8 \pm 1,43a	7,2 \pm 0,36a	2,6 \pm 0,24a	24,6 \pm 2,88b	24,2 \pm 1,52a	41,6 \pm 3,69a
C2	90,0 \pm 0,96a	6,6 \pm 0,90a	3,0 \pm 0,27a	28,0 \pm 2,09a	24,2 \pm 1,20a	38,6 \pm 1,58a
C3	90,0 \pm 0,57a	7,2 \pm 0,25a	2,2 \pm 0,20b	29,0 \pm 1,59a	22,2 \pm 0,70a	39,4 \pm 2,41a
C4	89,8 \pm 0,74a	7,2 \pm 0,46a	2,0 \pm 0,18b	28,8 \pm 1,92a	23,0 \pm 1,08a	39,0 \pm 1,76a
C5	89,8 \pm 0,48a	7,0 \pm 0,21a	2,6 \pm 0,43a	25,6 \pm 1,82b	23,6 \pm 1,53a	41,6 \pm 1,71a
CV	0,80	7,52	16,13	7,59	5,36	5,77

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

C1 = 90 % de subproduto do desfibramento do sisal (CDS) e 10 % de pó de batadeira (PBA); C2 = 80 % de CDS e 20 % de PBA; C3 = 70 % de CDS e 30 % de PBA; C4 = 60 % de CDS e 40 % de PBA; C5 = 50 % de CDS e 50 % de PBA

Destaca-se os conteúdos de proteína bruta e de gordura dos corpos de frutificação do *P. ostreatus* que variaram em função dos substratos. Os maiores teores de proteína bruta foram encontrados nos cogumelos produzidos nos substratos C2 (28,0 %), C3 (29,0 %) e C4 (28,8 %). Com relação aos teores de gordura, os cogumelos produzidos nos substratos C1 (2,6 %), C2 (3,0 %) e C5 (2,6 %) foram superiores aos demais. Não houve diferença nos teores de umidade (UM), matéria mineral (MM), fibra bruta e carboidratos dos cogumelos produzidos nos diferentes substratos.

DISCUSSÃO

O crescimento micelial quantitativo de *P. ostreatus* é afetado por fatores nutricionais do substrato de cultivo. A avaliação do crescimento micelial radial *in vitro* em meio de cultivo ágar-substrato não indicou diferenças entre os substratos avaliados para a produção de *P. ostreatus*. A variação no crescimento ocorreu apenas quando comparados ao meio de cultura batata dextrose agar, que é um meio rico em dextrose, o que foi também observado por Phillipoussis et al., (2001). O melhor crescimento do fungo no meio BDA está relacionado à disponibilidade de fontes de energia prontamente disponíveis, principalmente o monossacarídeo dextrose. Segundo Donini et al., (2005) a suplementação do meio de cultura com dextrose proporciona um aumento na velocidade de crescimento e a massa micelial das linhagens de *Pleurotus* spp.

Entretanto, o ensaio com os substratos em tubos avaliando-se o crescimento vertical de *P. ostreatus* (Figura 2) indicou diferenças no comportamento do fungo em relação aos substratos. Neste caso, o aumento da proporção do pó de bateadeira causou uma diminuição na velocidade de crescimento micelial de *P. ostreatus*. Vários fatores podem interferir no crescimento micelial no cultivo de cogumelos, tais como: temperatura, granulometria, fonte de carbono e nitrogênio, disponibilidade de nutrientes e potencial genético (Hoa e Wang, 2015). A diminuição do crescimento micelial de *P. ostreatus* pode estar relacionada com a redução na concentração de oxigênio (O₂) no substrato, devido a menor granulometria do pó de bateadeira.

A concentração de O₂ no substrato é uns dos principais fatores ambientais no crescimento do fungo, desempenhando papel importante no metabolismo e respiração dos cogumelos (Sofi et al., 2014). Estes autores relatam que substratos com área de superfície específica e poros maiores são responsáveis pela maior taxa de crescimento micelial de *P. ostreatus*. De acordo com Rossi et al., (2001) a dimensão das partículas do substrato pode dificultar trocas gasosas, implicando de forma direta na velocidade de crescimento micelial.

A relação C:N apresenta-se também como um dos principais fatores que interferem na atividade metabólica deste fungo. Sendo assim, estes resultados provavelmente estão relacionados com a relação C:N dos substratos. O pó de batedeira possui uma relação C:N superior ao subproduto do desfibramento da folha de sisal (Tabela 5) e, conseqüentemente, à medida que aumenta a proporção do pó de batedeira ocorre uma elevação da relação C:N do substrato (Tabela 3), afetando o crescimento de *P. ostreatus* (Figura 1).

Tabela 5.

Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), hemicelulose, celulose, lignina e relação C/N dos componentes utilizados para formulação do substrato para o cultivo de *P. ostreatus*.

Constituintes	CDS	Farelo de trigo		
		Pó de batedeira		
		Carvão		
		CDS		
		Farelo de trigo (%)		
		Pó de batedeira (%)		
		Carvão (%)		
MS	92,8	93,8	92,7	95,8
MM	16,2	4,9	35,7	10,7
MO	83,8	95,1	64,4	89,3
PB	6,5	14,9	3,7	6,9
EE	1,0	2,3	0,8	0,4
Hemicelulose	15,8	26,3	19,4	2,2
Celulose	25,8	8,5	31,8	7,6
Lignina	14,3	3,2	3,5	66,1
Relação C/N	43,1	21,6	58,2	45,2

CDS= subproduto do desfibramento da folha de sisal

A composição química do substrato, especialmente a concentração de nitrogênio, atua no controle e regulação fisiológica do metabolismo dos microrganismos (Sanchez e Demain, 2008). O nitrogênio é um elemento essencial para os fungos, sendo este responsável pela síntese de compostos nitrogenados, tais como as purinas, pirimidinas, proteínas e a quitina, principal componente da parede celular dos fungos (Miles e Chang, 1997). A baixa quantidade de nitrogênio disponível no substrato lignocelulósico é, na maioria

das vezes, considerado como uma limitação na sua utilização como substrato para crescimento e produção de cogumelos (Oseni et al., 2012). Segundo Philippoussis et al., (2001) há uma correlação positiva entre o crescimento micelial e baixos valores da relação C/N dos substratos utilizados para o cultivo de *Pleurotus* spp.. Além disso, a atividade metabólica de *P. ostreatus* durante as primeiras fases de colonização micelial está intimamente relacionada com o conteúdo e disponibilidade dos nutrientes no substrato (Salmones et al., 2005).

Parâmetros de avaliação da produção

A corrida micelial, início da formação dos primórdios e a frutificação são três fases importantes no cultivo de cogumelos. Nestas fases, estes fungos (os cogumelos) exigem substratos, nutrientes e condições de crescimento específicas em relação a umidade e temperatura. Fatores como forma de inoculação, tipo de substrato e suplementos utilizados, teor de nutrientes dos substratos, condições de cultivo, afetam significativamente a colonização, crescimento, precocidade e produtividade dos cogumelos (Tshinyangu e Hennebert, 1995; Royse et al., 2004; Rodriguez Estrada et al., 2009; Zhang et al., 2014).

O crescimento micelial é uma fase preliminar importante na produção de cogumelos, a qual indica se as condições internas estão adequadas para a frutificação. Desta forma, a constatação do crescimento micelial é um fator vital para o cultivo de cogumelos (Pokhrel et al., 2013).

No presente trabalho, a total colonização do substrato ocorreu entre o 17º e 18º dias e o início da formação dos primórdios entre 20º e o 21º dias. Esses resultados estão de acordo aos encontrados na literatura científica. Trabalhos avaliando diferentes espécies do gênero *Pleurotus* em diferentes substratos, como palha de arroz, fibra de coco (Chanakya et al., 2015), palha de milho, sabugo de milho (Liang et al., 2009), palha de feijão, palha de trigo (Kalmis e Sargin, 2004; Figueiró et al., 2011) entre outros, vem relatando que a total colonização do substrato ocorre no período de 15 a 24 dias, e a formação de primórdios no período de 20 a 30 dias. Da Fonseca et al., (2015) estudaram a viabilidade de produção de *Pleurotus ostreatoroseus* (DPUA 1720) em substrato a base de exocarpo de cupuaçu, sementes de açaí e serragem,

suplementado com farelo de arroz e resíduos de abacaxi, e relataram a colonização total e formação dos primórdios entre 15,2 e 19,4 dias após a inoculação. Valores superiores a 26,7 dias para formação dos primórdios foram encontrados por Koutrotsios et al., (2014) na avaliação de nove subprodutos agroindustriais e florestais na produção de *Agrocybe cylindracea* e *Pleurotus ostreatus*.

A maior eficiência biológica (EB) nos substratos C3 e C5 (Tabela 1) pode estar relacionada com a diminuição no teor de lignina e PB, além da elevação dos teores de celulose e da relação C/N (Tabela 3). Esses resultados também podem ser explicados pela correlação positiva observada entre a EB, os teores de celulose e a relação C/N e pela correlação negativa para PB (Tabela 2).

De acordo com Allison et al., (2009) níveis baixos de nitrogênio nos substratos lignocelulósicos estimulam a degradação dos polissacarídeos estruturais por fungos da podridão branca.

A quebra da lignina é um dos fatores que interferem na degradação da celulose e hemicelulose (Rajarithnam et al., 1987). Além disso, a lignina com a hemicelulose envolvem a celulose, formando uma barreira física que dificulta a atividade das enzimas celulolíticas, restringindo a acessibilidade dos polissacarídeos ricos em energia (Rajarithnam et al., 1998). De acordo com Figueiró e Gracioli, (2011) teores elevados de lignina no substrato de cultivo de cogumelos dificulta o seu desenvolvimento, uma vez que, ocorre um maior gasto de energia para estes fungos se desenvolverem em materiais ricos em este componente. Contudo, não se pode isolar e considerar apenas um fator químico como sendo responsável pelos melhores resultados de produção e eficiência biológica de cogumelos.

A eficiência biológica (EB) depende principalmente das características do substrato e as condições ambientais do processo de crescimento (Aguilar-Rivera et al., 2012), bem como do número de colheitas e da produtividade alcançadas. Os maiores valores de EB obtidos nas três colheitas do presente experimento, foram 79,7 % e 76,7 % para os substratos C3 e C5 (Tabela 1). Patil et al., (2010) obtiveram EB máxima de 85,2 % e mínima de 71,8 %, avaliando três colheitas em diferentes substratos (compostos de palha de soja, palha de arroz, palha de trigo) individuais ou em combinação. Sofi et al., (2014)

avaliando diferentes substratos na produção de *P. ostreatus* alcançaram EB de 78 %, utilizando sobras de madeira e palha de trigo. Entretanto, os valores de EB encontrados no presente trabalho, foram superiores aos relatados por Raymond et al., (2013) com *Pleurotus* sp. em resíduo da folha e troncos de sisal, suplementado com diferentes concentrações de esterco de vaca, com a maior EB de 62,9 %. A utilização de resíduos do processamento do sisal, suplementados com esterco de galinha, também foi mencionado por Mwita et al., (2011) no cultivo do cogumelo comestível *Coprinus cinereus*. Neste trabalho estes autores alcançaram EB de 119 %.

A alta EB obtida no presente trabalho indica que os substratos compostos por subprodutos do sisal são adequados para o cultivo da espécie de cogumelo *P. ostreatus*. Quanto maior a EB, maior a adequação do substrato para o cultivo de determinada espécie de cogumelo. Diante disso, a produção de cogumelos em substratos com estes subprodutos nas combinações C3 e C5 garante a geração de um produto alimentício de elevada qualidade nutritiva, com a oportunidade de aumento de fonte de renda para os produtores de sisal da região semiárida da Bahia e, evitando o seu descarte como resíduo no meio ambiente.

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

Observou-se que os substratos com diferentes combinações de subprodutos de sisal não interferiram nos teores de UM, MM, fibra bruta e carboidratos, porém houve influência sobre os teores de proteína e gordura dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* (Tabela 5). Os valores da composição centesimal encontrados neste trabalho estão em conformidade com a literatura. Segundo Kalač, (2013) os teores de umidade de cogumelos selvagens e cultivados são muito altos, geralmente variando entre 86 a 92%, sendo o alto teor de água um dos fatores responsáveis pela curta vida de prateleira dos cogumelos. Bonatti et al., (2004) obtiveram teores de humidade em corpos de frutificação de *P. ostreatus* de 88,06 e 85,04 g, cultivados em palha de banana e palha de arroz, respectivamente. Entretanto, estes mesmos autores relataram valores inferiores de fibra bruta, entre 9,41 e 9,86 g e de proteína entre 16,9 e 13,1 g. Estes autores também encontraram valores superiores de carboidratos,

variando de 47,0 a 47,6 g e de gordura variando de 5,97 a 6,32 g, comparados aos encontrados neste trabalho. Wang et al., (2015) avaliaram a viabilidade da produção de *P. ostreatus* em substrato composto por diferentes proporções de substratos residuais da produção do cogumelo *Hypsizygus marmoreus*, e obtiveram valores superiores de fibra bruta (30,2 - 35,3 g) e proteína (27,8 - 34,9 g) e inferiores de carboidratos (20,7 - 27,3 g). Os valores de matéria mineral (5,5 - 6,6 g) e de gordura (1,9 - 2,3 g) foram similares aos valores encontrado no nosso trabalho. Fernandes et al., (2015) avaliando a composição química de corpos de frutificação de *P. ostreatus* cultivadas em substratos de papel em branco e impresso obtiveram teores inferiores de proteína (9,7- 9,3 g) e de gordura (1,2 - 1,7 g), superiores de carboidratos (73,2 - 78,9 g) e mineral (15,9 - 10,5 g) e similares de umidade (90,3 - 91,0 g). Esta variação nos valores encontrados na literatura pode ser explicada pelas diferenças na composição dos substratos, cepas e condições de cultivo utilizadas por estes autores. De acordo com Wang et al., (2015) o valor nutricional dos cogumelos pode ser fortemente afetado pelos genótipos das linhagens dos fungos, origem dos substratos e as condições atmosféricas de cultivo.

Neste trabalho e na literatura científica, os teores de proteína dos substratos utilizados na produção de *P. ostreatus* e os teores dos corpos de frutificação são bastante variáveis. Não apenas o teor de proteínas do substrato, mas também a natureza da proteína influencia o teor de proteína dos corpos de frutificação (Wang et al., 2001).

CONCLUSÃO

A utilização de substratos compostos por diferentes combinações de subprodutos do desfibramento e processamento da fibra de sisal proporciona boa eficiência biológica e produtividade de *P. ostreatus*, demonstrando a adequação deste substrato para o cultivo desta espécie de cogumelo.

O substrato com 70% do subproduto do desfibramento de folhas de sisal e 30% do subproduto do processamento da fibra seca (pó de batedeira) é o mais indicado para a produção de *P. ostreatus*, proporcionando a maior eficiência

biológica e produtividade de cogumelos com alto teor de proteína e baixo teor de gordura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adebayo, E. A.; Oloke, J.K.; Majolagbe, O.N.; Ajani, T.A.; Bora, T.C., 2012. Antimicrobial and anti-inflammatory potential of polysaccharide from *Pleurotus pulmonarius*. *African Journal of Microbiology Research*. 13, 3315-3323.

Aguilar-Rivera, N., Moran, A. C., Lagunes, A. D. R., & Gonzalez, J. M. (2012). Production of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) grown on sugar cane biomass (trash, bagasse and pith). *Mushrooms: Types, Properties and Nutrition*, Nova Science Publishers, Inc. 77-103.

Albuquerque, M. P., Peil, R. M. N., Nascimento, J. S. (2013). Capacidade De Colonização micelial De *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Lentinus Sajor-Caju* em diferentes substratos. *Caderno de Pesquisa*. 24, 40-54.

Allison SD, Lebauer DS, Ofrecio MR, Reyes R, Ta AM, Tran, TM. (2009). Low levels of nitrogen addition stimulate decomposition by boreal forest fungi. *Soil Biology and Biochemistry*. 4, 293-302.

Andrade, R., Ornelas, J., & Brandão, W. (2012). Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. *Comunicação SEAGRI*. 14-19.

Assan, N., & Mpofu, T. (2014). The influence of substrate on mushroom productivity. *Scientific Journal of Crop Science*. 3, 86-91.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: W. Horwitz (Ed.). Gaithersburg, MD, USA.

Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. M., & Furlan, S. A. (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*. 88, 425-428.

Bononi, V.L.; Capelari, M.; Mazieiro, R.; Trufem, S.F.B., 1999. Cultivo de Cogumelos Comestíveis. Ícone. São Paulo, Brazil., 206 p.

Cardoso, J.C.P.; Demenjour, P.L.M.M.; Paz, M.F., 2013. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bociuva e de cana-de-açúcar pela técnica jun-caó. *Evidência*, Joaçaba .13, 31-40.

Carmo, D. L., e Silva, C. A., 2012. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 36, 1211-1220.

Carvalho, C.S.M., Aguiar, L.V., Sales-Campos, C., Almeida Minhoni, M.T., Andrade, M.C., 2012. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. *Braz. J. Microbiol.*, 819–826.

Chanakya, H.N.; Malayil, S.; Vijayalakshmi, C., 2015. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues. *Energy for Sustainable Development*. 27, 84-92.

Chang, S. T. e Miles, P. G., 2004. *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. (second ed) CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Damasceno, J. C. A., Soares, A. C. F., de Jesus, F. N., & Sant'ana, R. S. (2015) Resíduo líquido de sisal (*Agave sisalana* Perrine) no controle do nematóide das galhas no tomateiro. *Horticultura Brasileira*, 33(2).

Detmann, E.; Souza, M.A.; Valadares Filho, S.C., 2012. Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: Universidade Federal de Viçosa, 214p.

DONINI, L.P.; Bernardi, E.; Minotto, E.; Nascimento, J.S. Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 72, n. 3, p. 331-338, 2005

Da Fonseca, T. R. B., Amorim Silva, T., Alecrim, M. M., Cruz Filho, R. F., Teixeira, M. F. S. (2015). Cultivation and nutritional studies of an edible mushroom from North Brazil. *African Journal of Microbiology Research*; 30, 1814-1822.

Fernandes, Â., Barros, L., Martins, A., Herbert, P., Ferreira, I. C. (2015). Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. *Food chemistry*. 169, 396-400.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. V. 35, p. 1039-1042, 2011.

Figueiró, G. G., & Graciolli, L. A. (2011). Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 35(5), 924-930

Gern, R. M. M.; Wisbeck, E.; Rampinelli, J.R.; ninow, J. L.; furlan, s. A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*, vol. 99: p. 76-82. 2008

Hoa H.T.e Wang C.L., (2015). Effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology* 43: 14-23.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística., .2015. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro. 29,1-83.

Jesus, F. N., Damasceno, J. C., Barbosa, D. H., Malheiro, R., Pereira, J. A., & Soares, A. C. (2015). Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 783-791.

Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 209-218.

Kalmis E; Sargin S., 2004. Cultivation of two *Pleurotus* species on wheat straw substrates containing olive mill waste water. *Int Biodeter Biodegr*; 53, 43–47.

Koutrotsios, G; Mountzouris, K. C; chatzipavlidis, I; Zervakis, G. I., (2014). 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*, 161, 127-135.

Liang, Z. C., Wu, C. Y., Shieh, Z. L., & Cheng, S. L., (2009). Utilization of grass plants for cultivation of *Pleurotus citrinopileatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 63, 509-514.

Miles PG, Chang ST., (1997). *Mushroom biology: concise basics and current developments*. Singapore: World Scientific. p. 40-4.

Murali, S., e Morchhale, R. K. (2014). Sisal (*Agave sisalana*) Fibre Extraction for Sustainable Employment Generation in India. *Technologies for Sustainable Rural Development: Having Potential of Socio-Economic Upliftment (TSRD–2014)*, 1, p. 184.

Mwita, L. N., Lyantagaye, S. L., & Mshandete, A. M., (2011). Cultivation of Tanzanian *Coprinus cinereus* (sisal compost mushroom) on three non-composted sisal waste substrates supplemented with chicken manure at various rates. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 5, 968-978.

Oseni, T. O., Dube, S. S., Wahome, P. K., Masarirambi, M. T., & Earnshaw, D. M. (2012). Effect of wheat bran supplement on growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) on fermented pine sawdust substrate. *Experimental Agriculture & Horticulture*. 30-40.

Patil, S. S., Ahmed, S. A., Telang, S. M., & Baig, M. M. V., (2010). The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (jacq.:fr.) kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 7, 66–76.

Philippoussis A, Zervakis G, Diamantopoulou P (2001) Bioconversion of lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus spp.* *World J Microbiol Biotechnol* 17:523–530

Pokhrel, C. P., Kalyan, N., Budathoki, U., & Yadav, R. K. P. (2013). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* using different agricultural residues. *International Journal of Agricultural Policy and Research*, 1, 019–023.

Rajarathnam, S.; Wankhede, D.B.; Bano., 1987 Z. Degradation of rice straw by *Pleurotus flabellatus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Oxford. 37, 203-214,

Rajarathnam, S.; Shanshirkha, M. N.; Bano, Z., 1998. Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies. *Critical Reviews in Biotechnology*, Boca Raton. 18, 233-361.

Raymond, P., Mshandete, A. M., & Kivaisi, A. K. (2013). Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus HK-37*) on solid sisal waste fractions supplemented with cow dung manure. *Journal of Biology and Life Science*. 4, 273-286.

Ribeiro, B. D., Barreto, D. W., & Coelho, M. A. Z., 2015. Use of micellar extraction and cloud point preconcentration for valorization of saponins from sisal (*Agave sisalana*) waste. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 601-609.

Rodriguez Estrada, A.E., Jimenez-Gasco Mdel, M., Royse, D.J., (2009). Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* by substrate supplementation and use of casing overlay. *Bioresour. Technol.* 100, 5270–5276.

Rossi, I. H.; Monteiro, A. C.; Machado, J. O., (2001). Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*.36, 887-891

Royse, D. J., Rhodes, T. W., Ohga, S., & Sanchez, J. E. (2004). Yield, mushroom size and time to production of *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) grown on switch grass substrate spawned and supplemented at various rates. *Bioresource Technology*. 91, 85-91.

Salmones, D.; Mata, G.; Waliszewski, K.N., (2005). Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: Biomass production and substrate biodegradation. *Bioresour. Technol.* 96, 537–544.

Sales-Campos, C.; Araujo, I. M.; Minihoni, M. T. A.; Andrade, M. C. N., 2010. Análise físico química e composição nutricional da matéria prima e de substratos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Interciência*. 35, 70-76.

Sánchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied microbiology and biotechnology*, 85, 1321-1337.

Sanchez, S. e Demain, A. L. (2008). Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. *Microbial Biotechnology*, 1, 283-319.

Sofi, B., Ahmad, M., & Khan, M. (2014). Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. *Afr J Microbiol Res.* 8, 1474-1479.

SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM., 2009. User's guide. Version 9.2 ed. Cary: SAS Institute, USA.

Tshinyangu, K. K., & Hennebert, G. L. (1995). Effects of synthetic nutrient carriers on the fruiting of *Pleurotus ostreatus* var. columbinus. *Bioresource technology*, 54, 249-254.

Vieira, P. A. F., Gontijo, D. C., Vieira, B. C., Fontes, E. A., de Assunção, L. S., Leite, J. P. V., Kasuya, M. C. M., (2013). Antioxidant activities, total phenolics and metal contents in *Pleurotus ostreatus* mushrooms enriched with iron, zinc or lithium. *LWT-Food Science and Technology*, 54, 421-425.

Wang, D., Sakoda, A., & Suzuki, M. (2001). Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beet grain. *Bioresources Technology*, 78, 293-300.

Wang, S., Xu, F., Li, Z., Zhao, S., Song, S., Rong, C., ... & Liu, Y. (2015). The spent mushroom substrates of *Hypsizigus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Scientia Horticulturae*, 186, 217-222.

Zhang, R. Y., Hu, D. D., Ma, X. T., Li, S. G., Gu, J. G., & Hu, Q. X. (2014). Adopting stick spawn reduced the spawn running time and improved mushroom yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. *Scientia Horticulturae*, 175, 156-159.

CAPÍTULO 2

SUBSTRATO PRÉ E PÓS CULTIVO DE COGUMELO (*Pleurotus ostreatus*) COM SUBPRODUTOS DE SISAL

¹. Artigo a ser submetido na revista African Journal of Microbiology Research

SUBSTRATO PRÉ E PÓS PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* COM SUBPRODUTOS DE SISAL

Autor: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Ana Cristina F. Soares

RESUMO: O Brasil é o país que mais produz e exporta a fibra de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) no mundo. A fibra extraída do sisal equivale a apenas 4 % da massa fresca das folhas e os 96 % restantes são considerados subprodutos do beneficiamento e, na sua maioria, são amontoados nas propriedades rurais, sem qualquer tratamento ou uso. Estes subprodutos e outros do processamento industrial da fibra seca podem ser utilizados na composição de substratos para a produção de cogumelos, a exemplo do *Pleurotus ostreatus*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição nutricional de substratos compostos por subprodutos de sisal, nas fases pré e pós cultivo de *P. ostreatus*, no sentido de definir o potencial de utilização desses subprodutos. Foram avaliadas diferentes substratos compostos pelos subprodutos do desfibramento da folha de sisal e do processamento da fibra seca (pó de batedeira), nas proporções de 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g, respectivamente, com 5 % de farelo de trigo e 3 % de carvão. Foram determinados os teores de matéria seca, cinzas, extrato etéreo, proteína bruta, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), carboidrato, celulose, hemicelulose, lignina e relação C/N dos substratos pré e pós cultivo de *P. ostreatus*. Foram observados aumentos significativos nos teores de cinzas, proteína bruta e carboidratos não fibrosos nos substratos pós cultivo de *P. ostreatus*. Entretanto, reduções significativas foram observadas nos teores de matéria seca, FDN, FDA, lignina, hemicelulose, celulose e relação C/N. A produção de *P. ostreatus* em substrato com diferentes combinações de subprodutos de sisal proporcionou alterações nas propriedades físico-químicas dos principais componentes estruturais contidos nesses subprodutos lignocelulósicos de sisal.

Palavras-chave: *Agave sisalana* Perrine, Biodegradação, Cogumelo Ostra, cogumelo comestível

SUBSTRATE PRE AND POST *Pleurotus ostreatus* PRODUCTION WITH SISAL BY-PRODUCTS

Autores: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Ana Cristina F. Soares

ABSTRACT: Brazil is one of the largest producer and exporter of sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) fiber in the world. The fiber extracted from sisal represents only 4 % of the leaf fresh weight and the remaining 96 % is considered sisals processing by-products, which are mainly piled in the rural areas, without any treatment or use. These by-products and others from the dry fiber industrial processing can be used for the composition of substrates for mushroom growth, as for example for *Pleurotus ostreatus*. This study aimed to determine the nutritional composition of the substrates composed of sisal by-products in the phase's pre and post cultivation of *P. ostreatus*, and evaluate the potential use of these sub-products. Different substrates composed of the sub-products from sisal leaf decortication process and from the dry fiber processing industry (industry sisal powder) in the proportions of 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g respectively, with 5 % wheat bran and 3 % powdered charcoal were evaluated. The contents of dry matter, ash, ether extract, crude protein, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), carbohydrates, cellulose, hemicellulose, lignin and C/N ratio of the substrates pre and post cultivation of *P. ostreatus* were determined. Significant increases were observed in ash content, crude protein and not fibrous carbohydrates in the substrate post cultivation of *P. ostreatus*. However, significant reductions were observed in the dry matter, NDF, ADF, lignin, hemicellulose, and cellulose contents, and in the C/N ratio. Production of *P. ostreatus* in substrate with different proportions of sisal sub-products promoted changes in the physical-chemical properties of the main structural components contained in this lignocellulose sisal sub-products.

Keywords: *Agave sisalana*, Biodegradation, Oyster Mushroom, Edible Mushroom.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país extenso, com extensa produção agrícola. Entretanto, estima-se que ocorram perdas consideráveis de produtos agrícolas nas diferentes etapas da cadeia produtiva, desde a produção até o momento de seu consumo, gerando resíduos no processamento agroindustrial (Do Nascimento Filho e Franco, 2015). Reduzir o volume de resíduos agropecuários e aumentar o valor agregado de subprodutos na agricultura tem sido o objetivo de diversas pesquisas que buscam, além da preservação ambiental, o aproveitamento desses resíduos no âmbito econômico e social.

O sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) teve sua origem no México, na região de Yucatan, e adaptou-se bem a região semiárida da Bahia, sendo a principal fonte de renda da maioria das famílias rurais nesta região. O Brasil é o país que mais produz e exporta fibra de sisal no mundo. A produção no ano de 2014 foi de aproximadamente 138 mil toneladas de fibras, sendo que o Estado da Bahia responde por 96,4 % de toda a produção nacional (IBGE, 2015). A sua produção ocorre predominantemente na agricultura familiar, com baixo nível tecnológico no processo produtivo (plantio, colheita, desfibramento e beneficiamento), e com a necessidade de extensa mão de obra. A cadeia produtiva do sisal proporciona distribuição de renda à população dessas áreas que possui restrições quanto à possibilidade de diversificação de cultivos, devido às condições de solo e clima (Dias et al., 2015).

O principal produto da cultura do sisal é a fibra dura, contida em suas folhas, o que equivale a 4 % do peso da massa fresca das folhas. Os 96 % restantes são considerados subprodutos do beneficiamento (Murali e Morchhale, 2014) e têm outras finalidades, como a utilização como adubo orgânico, na ração animal e na indústria farmacêutica (Sousa et al., 2008; Ribeiro et al., 2015). Entretanto, estes subprodutos ainda são muito pouco explorados comercialmente e, grande parte fica acumulada em pilhas nas propriedades rurais sem qualquer tratamento ou utilização (Andrade et al., 2012).

O descarte inadequado de resíduos lignocelulósicos tem sido frequentemente relacionado com a degradação do meio ambiente, mas

também a perda de material potencialmente valioso, que pode ser usado na fabricação de papel, produção de combustíveis, compostagem, alimentação humana (produção de cogumelos comestíveis) e animal, entre outros (Sánchez, 2009).

O cultivo de cogumelos é atualmente a maior indústria de fermentação de resíduos lignocelulósicos em estado sólido do mundo, apresentando-se como um bom processo de bioconversão e utilização de uma vasta gama de resíduos do setor agroindustrial (Sun et al., 2013). A utilização de resíduo lignocelulósicos como fontes de energia de baixo custo para o cultivo de cogumelos comestíveis proporciona inúmeros produtos de valor agregado, tais como: basidiocarpos, ração animal (substratos residuais), enzimas e outros materiais úteis (Salmones et al., 2005; Koutrotsios et al., 2014; Adebayo e Martínez-Carrera, 2015). Essa alternativa de uso desses resíduos vem sendo considerada como uma das possibilidades biológicas mais eficientes para a sua reciclagem (Zhang et al, 2002; Kalm Sargin, 2004).

O *Pleurotus* spp., conhecido comumente como cogumelo ostra, é o terceiro cogumelo comestível mais produzido no mundo, ficando atrás das espécies *Agaricus bisporus* e *Lentinula edodes*. Compreende várias espécies comestíveis com aplicações médicas, biotecnológicas e ambientais (Cohen et al., 2002; Adebayo e Martínez-Carrera, 2015).

A espécie *Pleurotus ostreatus* produz na sua fase de frutificação estruturas macroscópicas comestíveis de alto valor nutricional e com propriedades medicinais (Donini et al., 2005). Esta espécie possui um complexo de enzimas hidrolíticas capaz de degradar a lignina de forma eficiente, o que o possibilita colonizar uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos (Adebayo et al., 2012). Este fungo desenvolve-se bem em condições rústicas de cultivo e requer menor tempo de cultivo, quando comparado a outros fungos comestíveis (Bonatti et al., 2004; GERN et al., 2008).

Após a produção e colheita dos cogumelos, os substratos são descartados em locais distantes do local de produção, para evitar a contaminação do ambiente, além da proliferação de moscas, insetos e doenças (Marques et al., 2014). Entretanto, a degradação fúngica causa alterações nas

características físicas, químicas e biológicas dos substratos (Azevedo et al., 2009; Sharma e Arora, 2015).

Após o crescimento e a colheita dos cogumelos, o substrato exaurido pode ainda ser utilizado para outros fins na agropecuária, como fertilizante orgânico ou para alimentação animal (Sanchez, 2004; Azevedo et al., 2009; Lopes et al., 2015). Segundo Koutrotsios et al., (2014) ocorre uma redução de ambas as fibras e dos teores de lignina, além de um aumento no teor de proteína bruta do substrato residual em comparação ao substrato inicial de *P. ostreatus*.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição nutricional de substratos compostos por subprodutos de sisal, pré e pós cultivo de *P. ostreatus*, visando o seu aproveitamento. Para isso, fez-se a caracterização bromatológica e química desses substratos antes e após o cultivo de *P. ostreatus*.

MATERIAIS E MÉTODO

Microorganismo utilizado e condições de cultivo

Foi utilizado o isolado de *Pleurotus ostreatus* Plo 02, pertencente à coleção de fungos do Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa - UFV. Para preparo do inóculo fez-se a transferência de pequenos fragmentos de micélio do fungo (preservado em água esterilizada em tubos vedados) para placas de Petri contendo meio batata, dextrose e agar (BDA) (Bononi et al., 1999). As placas foram incubadas em incubadora do tipo BOD, a 25°C, durante sete dias. Após este período, as culturas foram preservadas a 4°C, até sua utilização.

Produção das sementes (*Spawn*)

Sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*) foram utilizadas como substrato para o crescimento do fungo. Os grãos inteiros foram lavados em água corrente e levados à cocção por 90 minutos, em água na razão de 2:1 (sorgo:água, massa:volume). Os grãos cozidos de sorgo foram envasados (100

g de sorgo em cada frasco de vidro), fechados e esterilizados em autoclave a 121°C por 55 minutos. Após a esterilização, cada frasco foi inoculado com três discos de meio BDA com micélio de *P. ostreatus* e incubado a 25°C em incubadora do tipo BOD, durante 20 dias. Estes grãos colonizados são denominados de semente ou *spawn*.

Formulação do substrato

Foram avaliadas diferentes proporções dos subprodutos do desfibramento das folhas de sisal e do processamento da fibra seca (conhecido como pó de bateadeira), nas proporções de 90/10; 80/20; 70/30; 60/40; 50/50 g:g, respectivamente. O subproduto do desfibramento da folha foi obtido de uma propriedade rural no município de Valente (Latitude: 11° 24' 41" Sul e Longitude: 39° 27' 48" Oeste.), Bahia. Este sub-produto foi retirado da máquina de desfibramento e seco ao sol por três dias, em área com piso de cimento. Após a secagem, este foi ensacado e transportado para o campus de Cruz das Almas da UFRB. O pó da bateadeira foi obtido da varredura dos galpões da indústria de beneficiamento da fibra do sisal. Estes subprodutos foram lavados por imersão em água corrente por um período de 4 h e esse procedimento foi repetido por três vezes para remoção das impurezas. Em seguida, os subprodutos foram tratados com uma solução de 0,5 % de cal hidratado, por imersão por um período de 12 h. Após feitas as misturas, nas proporções acima descritas, foram acrescentados 5 % de farelo de trigo e 3 % de carvão em cada mistura, compondo assim os substratos para o cultivo de *P. ostreatus*.

Determinação da composição centesimal do substrato inicial e residuais

Foram retiradas amostras de cada matéria-prima utilizada na formulação dos substratos (subproduto do desfibramento da folha de sisal, pó de bateadeira, farelo de trigo e carvão), bem como dos substratos pré-cultivo (depois de umedecidos e tratados com uma solução de 0,5% de cal hidratada, por imersão por um período de 12 horas) e dos substratos pós-cultivo (após o cultivo de *P. ostreatus* por 53 dias), para realização das análises da composição centesimal. As amostras foram secas a 55°C em estufa de circulação forçada até a

obtenção de peso constante. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de faca tipo Willey, provido de peneira com crivos de 1mm.

Para a análise centesimal foram utilizadas três repetições de cada substrato e as análises foram realizadas em duplicata. Foram determinados os teores de matéria seca (MS) (INCT – CA G-003/1), cinzas (INCT – CA M-001/1), extrato etéreo (EE) (INCT – CA G- 004/1), proteína bruta (PB) (INCT – CA N-001/1), teores de fibra em detergente ácido (FDA) (INCT-CA F-004/1) e lignina (INCT-CA F-005/1). Para análise da concentração de fibra em detergente neutro (FDN) (INCT – CA F- 002/1), as amostras foram tratadas com alfa amilase termo estável sem uso de sulfito de sódio, conforme descritos por Detmann et al. (2012). Os teores de celulose foram estimados a partir da subtração entre o FDA e a lignina. Os teores de hemicelulose foram calculados pela subtração da FDN pela FDA.

A determinação do teor de carbono orgânico foi realizada pelo método descrito por Carmo e Silva, (2012). As amostras foram colocadas em cadinhos de cerâmica e secas em estufa a 105°C, por um período de 24 h. Após esse período, os cadinhos de cerâmica com as amostras foram colocados em forno do tipo mufla e incinerados a uma temperatura de 550°C, por 3 h. Posteriormente, o conjunto (cadinho+resíduos) foi colocado num dessecador e foi pesado. O teor de matéria orgânica foi determinado em razão da perda de massa do resíduo incinerado, considerando-se o material perdido pela queima no intervalo de temperatura de 105°C a 550°C, conforme a seguinte equação: $MO (\%) = (P - (T - C) \times 100)/P$, em que P = peso da amostra (g) depois de aquecida a 105 °C; C = tara do cadinho (g); e T = peso da cinza + cadinho (g). Foi utilizada a seguinte equação para determinação do carbono total: $CT = 0,463 \times MO - 0,550$, sendo CT = carbono total e MO = matéria orgânica.

Os carboidratos totais dos substratos disponíveis correspondem aos carboidratos metabolizáveis, sendo calculados por diferença (100 - proteína, lipídios, cinzas e fibra) (NEPA, 2006).

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), hemicelulose, celulose, lignina e relação C/N dos componentes utilizados para formulação do substrato para o cultivo de *P. ostreatus*.

Constituintes	CDS	Farelo de trigo	Pó de bateadeira	Carvão
	(%)			
MS	92,83	93,76	92,71	95,81
MM	16,21	4,91	35,65	10,71
MO	83,79	95,09	64,35	89,29
PB	6,54	14,94	3,72	6,85
EE	0,96	2,29	0,84	0,38
Hemicelulose	15,81	26,30	19,37	2,22
Celulose	25,79	8,46	31,81	7,63
Lignina	14,31	3,25	3,52	66,06
Relação C/N	43,13	21,63	58,16	45,24

CDS= subproduto do desfibramento da folha do sisal

Análise Estatística

Para a análise centesimal, foram analisadas três amostras e todos os ensaios foram realizados em duplicata. Os resultados são expressos como valores médios \pm desvio padrão (SD). Fez-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011).

RESULTADOS

Os valores médios e os desvios padrões da análise bromatológica dos substratos pré-cultivo, formulados com diferentes combinações dos subprodutos do desfibramento e do processamento da fibra do sisal e substrato pós-cultivo, obtidos após 53 dias de cultivo do *P. ostreatus*, estão apresentados na tabela 2. Foram observadas diferenças significativas com relação aos teores de matéria seca (MS) nos diferentes substratos. Os substratos C1 e C2, ambos com 31,1 %, foram superiores aos demais substratos. Houve redução variando de 21,4 a 27,3 % nos teores de MS dos substratos pós-cultivo em relação aos substratos pré-cultivo.

O substrato C5 apresentou o maior teor de cinzas ou matéria mineral (30,1 %), diferindo das demais combinações do substrato pré cultivo. O teor de

cinzas no substrato pós-cultivo foi superior ao substrato pré-cultivo. O maior valor de cinzas foi encontrado no substrato C5 (39 %), diferindo das demais combinações dos resíduos, com um aumento de 28,9 % em relação ao substrato pré-cultivo (Tabela 2).

Não houve diferença significativa entre os substratos e nem entre as fases pré e pós-cultivo para os teores de extrato etéreo (Tabela 2). Com relação aos teores de proteína bruta (PB) no substrato pré-cultivo, os substratos C3 (5,2 %), C4 (5,5 %) e C5 (5,0 %) apresentaram os menores valores, não diferindo entre si, mas diferindo do C1 (6,1 %) e do C2 (6,0 %). Os maiores valores de PB para o substrato pós-cultivo foram encontrados nos substratos C3 (7,6 %), C4 (7,7 %) e C5 (7,7 %). O substrato C5 apresentou o maior incremento de PB (55 %) em relação ao substrato pré-cultivo.

Não foram observadas diferenças significativas entre os substratos pré-cultivo quanto aos teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). Contudo, foram observadas diferenças para FDN e FDA nos substratos pós-cultivo, com os substratos C4 e C5 apresentando os menores teores de FDN e FDA. Com relação ao período de cultivo, houve uma redução significativa para FDN e FDA em todos os substratos pós-cultivo. O cultivo de *P. ostreatus* proporcionou reduções variando entre 26 % e 43 % nos teores de FDN e de 36 % a 50 % nos teores de FDA nos substratos pós-cultivo (Tabela 2).

Foram observadas diferenças significativas para os teores de lignina e celulose entre os substratos pré-cultivo. Em relação aos períodos pré e pós-cultivo foram observadas diferenças significativas para todos os substratos, ocorrendo uma variação na diminuição dos teores de lignina entre 16,2 % e 37 %, e nos teores de celulose variando de 43,4 % a 61,8 % nos substratos pós-cultivo (Tabela 2).

Com relação aos teores de hemicelulose, houve diferença significativa entre o pré e pós-cultivo, com uma diminuição significativa nos teores de hemicelulose nas combinações C1 (26,2 %), C2 (22,7 %) e C4 (33,3 %) do substrato pós-cultivo (tabela 2).

Tabela 2. Composição química dos substratos compostos por subprodutos do desfibramento do sisal, nos períodos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Os substratos foram compostos por diferentes combinações dos subprodutos do desfibramento do sisal: C1 = 90 % de subproduto do desfibramento da folha do sisal (CDS) e 10 % de pó de bateadeira (PB); C2 = 80% de CDS e 20 % de PB; C3 = 70 % de CDS e 30 % de PB; C4 = 60 % de CDS e 40 % de PB; C5 = 50 % de CDS e 50 % de PB.

Propriedades	Substrato	Substratos de cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>				
		C1	C2	C3	C4	C5
Matéria seca	Pré	31,09 ± 0,19aA	31,06 ± 0,28aA	29,30 ± 0,98bA	29,10 ± 2,12bA	28,00 ± 0,40bA
	Pós	23,00 ± 0,44aB	22,58 ± 1,58aB	23,01 ± 0,51aB	21,66 ± 0,58bB	21,09 ± 0,63aB
Cinzas	Pré	26,46 ± 1,17bB	25,51 ± 0,97bB	26,42 ± 0,58bB	27,82 ± 0,49bB	30,14 ± 0,48aB
	Pós	32,97 ± 2,62cA	35,79 ± 1,28bA	33,87 ± 1,50cA	36,16 ± 2,13bA	38,84 ± 0,78aA
Extrato Etéreo	Pré	1,36 ± 0,37aA	1,16 ± 0,31aA	1,30 ± 0,18aA	1,26 ± 0,37aA	1,35 ± 0,21aA
	Pós	1,38 ± 0,36aA	0,98 ± 0,13aA	1,34 ± 0,43aA	1,39 ± 0,33aA	1,27 ± 0,36aA
Proteína Bruta	Pré	6,13 ± 0,10aA	5,95 ± 0,19aA	5,19 ± 1,04bB	5,46 ± 0,21bB	4,97 ± 0,07bB
	Pós	6,17 ± 1,04bA	6,38 ± 0,34bA	7,64 ± 0,17aA	7,65 ± 0,55aA	7,70 ± 0,18aA/
Carboidrato não fibroso	Pré	13,68 ± 2,14aB	12,65 ± 2,23aB	12,34 ± 1,99aB	9,71 ± 2,13bB	9,96 ± 1,50bB
	Pós	24,62 ± 0,87aA	20,99 ± 1,27aA	20,02 ± 0,85aA	23,00 ± 4,65aA	18,97 ± 1,38aA
FDN	Pré	52,38 ± 2,16aA	54,72 ± 2,26aA	53,72 ± 1,11aA	55,72 ± 2,03aA	53,57 ± 0,82aA
	Pós	34,84 ± 1,65aB	35,84 ± 0,42aB	35,10 ± 1,74aB	31,78 ± 2,20bB	33,21 ± 0,88bB
FDA	Pré	38,21 ± 2,97aA	39,57 ± 0,72aA	40,61 ± 0,90aA	40,68 ± 1,14aA	39,32 ± 0,58aA
	Pós	24,41 ± 1,63aB	23,95 ± 0,87aB	23,76 ± 1,68aB	21,96 ± 0,95bB	19,71 ± 1,01bB
Lignina	Pré	12,59 ± 0,60aA	12,42 ± 0,71aA	12,39 ± 1,36aA	11,81 ± 0,57aA	9,69 ± 0,33bA
	Pós	9,94 ± 0,35aB	10,41 ± 0,08aB	9,79 ± 1,15aB	7,32 ± 1,20bB	7,37 ± 1,40bB
Hemicelulose	Pré	14,17 ± 3,21aA	15,15 ± 1,57aA	13,11 ± 1,01aA	15,03 ± 0,97aA	14,24 ± 0,24aA
	Pós	10,42 ± 0,26aB	11,88 ± 2,19aB	11,34 ± 0,49aA	9,81 ± 2,78aB	13,49 ± 0,42aA
Celulose	Pré	25,62 ± 2,72bA	27,15 ± 0,50bA	28,22 ± 0,49aA	28,87 ± 0,89aA	29,62 ± 0,71aA
	Pós	14,48 ± 1,94aB	13,54 ± 0,96aB	13,97 ± 0,97aB	14,64 ± 1,78aB	12,34 ± 0,51aB
Relação C/N	Pré	40,72 ± 2,57bA	41,49 ± 1,65bA	42,89 ± 2,29bA	43,24 ± 1,96bA	45,97 ± 1,01aA
	Pós	35,66 ± 3,08aB	35,57 ± 2,38aB	31,68 ± 0,12bB	28,75 ± 0,98cB	27,65 ± 0,64cB

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

FDN = Fibra em Detergente Neutro, FDA = Fibra em Detergente Ácido, Pré = Substrato pré cultivo, Pós = Substrato pós cultivo.

Quanto aos teores de carboidratos no substrato pré-cultivo, o C4 e o C5 diferiram dos demais, com os menores valores (9,7 %) em ambos. No substrato pós-cultivo, o C5 apresentou 18 %, diferindo dos outros substratos. Houve um aumento significativo nos teores de carboidratos em todos os substratos pós-cultivo, em relação aos valores dos substratos pré-cultivo, variando de 58,6 % a 138,1 %.

Houve diferença significativa na relação C/N dos diferentes substratos pré-cultivo. A combinação C5 diferiu das demais apresentando a maior relação C/N (46,3). Houve redução significativa nos valores da relação C/N nos substratos pós-cultivo em relação aos substratos pré-cultivo, variando entre 12,4 % e 39,4 % de redução (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O aumento do teor de cinzas no substrato pós cultivo pode estar relacionado com a atividade metabólica e a maior mineralização da matéria orgânica por *P. ostreatus*. Os fungos causadores da podridão branca são microorganismos eficientes na quebra dos polímeros de substratos lignocelulósicos e na mineralização dos polissacarídeos presentes nos substratos (celulose, lignina e hemicelulose) (Elisashvili et al., 2008;. Sánchez, 2009).

O aumento no teor de cinzas foi observado por Carvalho et al., (2014) na composição nutricional de substratos pré e pós-cultivo, compostos por diferentes combinações de resíduos de diferentes tecidos de cultivares de bananeira. Bento et al., (2014) também constataram o aumento no teor de cinzas em diferentes resíduos agroindustriais após a produção de *P. ostreatus*.

A elevação dos teores de proteína e carboidratos e a maior percentagem de redução nos teores de FDN, FDA, celulose, lignina e relação C/N nos substratos C3, C4 e C5 podem estar relacionados com o aumento da proporção do subproduto do processamento da fibra seca de sisal, conhecido como pó de bateadeira. O aumento da proporção desse subproduto na composição do substrato ocasionou o aumento nos teores de celulose e redução nos teores de lignina (Tabela 1), que pode estar associado ao melhor crescimento de *P. ostreatus* nesses substratos e o aumento na formação de

corpos de frutificação, que resulta na maior produção de cogumelos. Reduções nos teores de celulose, lignina e na relação C/N foram observadas nos substratos com maior eficiência biológica (EB) para o *P. ostreatus* (C3, C4 e C5), ocorrendo correlação positiva significativa entre a EB e os teores de celulose e a relação C/N, e negativa para os teores de proteína bruta (resultados apresentados no capítulo 1). Este fungo, conhecido como fungo causador da podridão branca da madeira, degrada a lignina e a hemicelulose durante o crescimento vegetativo e degrada a celulose principalmente durante a fase de produção dos corpos de frutificação (Van Kuijk et al., 2015). Além disso, também ocorre uma diminuição no teor de nitrogênio nesses substratos pré cultivo. Segundo Allison et al., (2009) níveis baixos de nitrogênio nos substratos lignocelulósicos estimulam a degradação dos polissacarídeos estruturais por fungos da podridão branca.

Vários trabalhos vêm demonstrando reduções elevadas nos teores de celulose e hemicelulose, com diminuição do teor de lignina, sendo seus teores consideravelmente inferiores nos substratos pós-cultivo com *Pleurotus ostreatus*. Koutrotsios et al., (2014) avaliando nove resíduos agroindustrial e florestal, submetidos à fermentação em estado sólido por *Agrocybe cylindracea* e *Pleurotus ostreatus*, concluíram que após a produção dos cogumelos, os substratos apresentaram reduções elevadas nos teores de celulose e hemiceluloses, com diminuição inferior de lignina, principalmente no substrato com cultivo de *P. ostreatus*.

Díaz-Godínez e Sánchez (2002) constataram que o substrato composto por palha de milho, após a produção de cogumelos comestíveis (*Pleurotus ostreatus*), apresentava menor teor de FDN, com aumentos nos teores de cinza, proteína e carboidratos, favorecendo a melhor digestibilidade *in situ*. A redução dos teores de FDA, FDN, hemicelulose, lignina e celulose em palha de trigo foi de 35,0; 38,9; 45,0; 37,5 e 37,9 %, respectivamente e a elevação no teor de proteína bruta foi de 50.7 %, após o tratamento com *P. ostreatus* por 30 dias (Shrivastava et al., 2011). O aumento do teor de proteína do substrato pós-cultivo, em conjunto com os valores relativamente baixos de lignina e alta concentração de nitrogênio e minerais, indicam que este substrato pós-cultivo tem o potencial para ser explorado para ração animal.

Os subprodutos gerados no processo de extração da fibra das folhas de sisal são utilizados nos períodos de estiagem como alimento volumoso ou energético para os animais, na forma de silagem, feno ou mesmo sem qualquer tratamento prévio (Brandão et al., 2011; Silva et al., 2014). No entanto, Silva e Beltrão (1999) ressaltam o baixo valor nutricional deste subproduto, apresentando um alto teor de lignina e baixo percentual de proteína bruta.

Vários trabalhos de pesquisa vêm sendo realizados na busca do enriquecimento proteico desses subprodutos, de maneira que possa ser viável sua utilização na alimentação animal. Brandão et al., (2011) avaliando o valor nutricional dos componentes e dos subprodutos da planta do sisal para alimentação de ruminantes, concluíram que a amonização com 5 % de ureia eleva os teores de PB e reduz os teores de carboidratos não fibrosos do resíduo de sisal. A amonização com diferentes combinações de ureia também foi avaliada por Faria et al., (2008) em relação à composição bromatológica dos subprodutos do processamento de sisal em diferentes tempos de estocagens. Estes autores concluíram que o uso da ureia durante o processo de estocagem desses subprodutos aumenta o seu teor proteico. Entretanto, o uso de produtos químicos apresenta-se não só como uma técnica onerosa, mas também com o risco de poluição do ambiente (Dashtban et al., 2009).

O nível mínimo de 7% de proteína bruta na dieta de ruminantes, com base na matéria seca, se faz necessário para que os microrganismos ruminais apresentem capacidade de utilização de forragem de baixa qualidade (Sampaio et al., 2009). As exigências de compostos nitrogenados pelos microrganismos ruminais deixam de ser atendidas em níveis dietéticos de PB inferiores a esse valor, comprometendo a utilização dos substratos energéticos disponíveis (Van Soest, 1994). De acordo com Köster et al., (1996) o consumo de proteína degradável pode ser considerado como primeiro componente limitante na utilização de dietas a base de forragens de baixa qualidade.

Diante disso, o teor de proteína dos subprodutos do desfibramento das folhas de sisal (6,5 %) e do processamento da fibra seca, o pó de bateadeira, (3,7 %) (Tabela 1) e das diferentes combinações dos substratos pré cultivo (5 % e 6 %) utilizados nestes experimentos apresentam-se abaixo do necessário para o consumo direto dos animais. No entanto, a produção do cogumelo *P. ostreatus* em substratos com estes subprodutos proporcionou um aumento de

54,9 % no teor de proteína, elevando de 5 % no substrato pré-cultivo para 7,7 % no substrato pós-cultivo, além de reduzir os teores de lignina em 37 % e de FDN em 38 %, no substrato C5 pós-cultivo.

Durante o crescimento de fungos, o nitrogênio presente na biomassa lignocelulósica é incorporado nas proteínas fúngicas, como resultado da degradação de outros nutrientes, ocasionando o enriquecimento de PB no substrato ao final da produção (Van Kuijk et al., 2015). Adicionalmente, a diminuição dos teores de lignina no substrato pós-cultivo, chegando a 37 % pode melhorar a digestibilidade do resíduo do sisal. Alguns autores vêm correlacionando negativamente a concentração de lignina do substrato com a digestibilidade da matéria seca (Van Soest, 1994; Arora e Sharma, 2009; Van Kuijk et al., 2015).

Além da utilização do substrato pós-cultivo de *P. ostreatus* na alimentação animal, a sua eficácia como fertilizante e condicionador do solo (Medina et al., 2012; Oda et al., 2014), bioremediador de solos agrícolas (Mauricio-Gutiérrez et al., 2015) e como substrato para produção de mudas (Silva et al., 2015) vem sendo avaliada positivamente. Segundo Nakatsuka et al., (2016) a adição de substrato pós-cultivo fresco promove a atividade biológica do solo e do subsolo. Estes autores recomendaram a adição de substrato pós-cultivo de cogumelos como uma prática para a melhoria da estrutura do solo em regiões subtropicais.

A utilização de resíduos lignocelulósicos para a produção de cogumelos pode ser vantajosa para reduzir o impacto ambiental destes resíduos, agregar valor econômico com a produção de alimento (cogumelos) de alto valor nutricional para os seres humanos e ainda permitir a utilização de tais resíduos em ração para a alimentação animal (Bento et al., 2014) ou como fertilizantes. Diante disso, a utilização dos subprodutos da extração da fibra das folhas de sisal e do processamento da fibra seca nas indústrias de cordoaria, como substrato para a produção de cogumelos comestíveis e os substratos pós-cultivo para a alimentação animal apresenta-se como uma alternativa viável, tanto do ponto de vista econômico, como ambiental e social.

CONCLUSÕES

O cultivo de *Pleurotus ostreatus* visando a produção de corpos de frutificação (cogumelos) para consumo humano, em substratos compostos por diferentes combinações dos subprodutos do desfibramento das folhas de sisal e do processamento industrial da fibra seca de sisal, causa alterações nas propriedades físico-químicas desses subprodutos lignocelulósicos.

O substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* apresenta maiores concentrações de cinzas, proteína bruta e carboidratos não fibrosos e menores teores de FDN, FDA, lignina, celulose, hemicelulose e relação C/N.

Novos estudos devem ser realizados para a incorporação do substrato residual como ingrediente em rações para animais ou para a sua utilização como fertilizantes orgânicos na agricultura.

REFERÊNCIAS

Adebayo, E A e Martínez-Carrera, D. (2015). Oyster mushrooms (*Pleurotus*) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. African Journal of Biotechnology, V.14 (1), P. 52-67.

Adebayo EA, Oloke JK, Achana Y, Bora TC (2012). Improvement of Laccase Production in *Pleurotus pulmonarius*-LAU 09 by Mutation. J. Microbiol. Res. V. 2 (13) p. 11-17.

Allison SD, Lebauer DS, Ofrecio MR, Reyes R, Ta AM, Tran, TM. (2009). Low levels of nitrogen addition stimulate decomposition by boreal forest fungi. Soil Biology and Biochemistry. V. 41 (2). p. 293-302.

Andrade R, Ornelas J, Brandão W. (2012). Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. Comunicação SEAGRI. V. 1, p. 14-19.

Arora DS e Sharma RK. (2009). Enhancement in in vitro digestibility of wheat straw obtained from different geographical regions during solid state fermentation by white rot fungi. *BioResources*, v. 4 (3), p. 909-920.

Azevedo RS, Ávila CLS, Dias ES, Bertechini AG, Schwan RF. (2009). Utilização do composto exaurido de *Pleurotus sajor caju* em rações de frangos de corte e seus efeitos no desempenho dessas aves. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. V. 31 (2), p.139-144.

Bento CABP, Da Silva JS, Rodrigues MT, Kasuya MCM, Mantovani H A C. (2014). Influence of white-rot fungi on chemical composition and *in vitro* digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. *Afr. J. Microbiol. Res.* V. 8 (28), p. 2724-2732.

Bonatti, M, Karnopp, P, Soares, H M, Furlan, S A. (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, vol. 88 (3), p. 425-428.

Bononi VL, Capelari M, Mazieiro R, Trufem SFB. (1999). Cultivo de Cogumelos Comestíveis. Ícone. São Paulo, Brazil., 206 p.

Brandão LG, Pereira LG, Azevêdo JA, Santos RD, Aragão AS, Voltolini TV, Brandão WN. (2011). Valor nutricional de componentes da planta e dos subprodutos da Agave sisalana para alimentação de ruminantes. *Arq. bras. med. vet. Zootec.* v. 63 (6), p. 1493-1501.

Carmo DL e Silva CA. (2012). Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36 (4), p. 1211-1220.

Carvalho CSM, De Aguiar LVB, Sales-Campos C, De Andrade MCN. (2014). Análise bromatológica e química de substratos à base de resíduos de bananeira antes e após o cultivo de *Pleurotus*. *Ambiência*, v. 10 (3), p. 755-768.

Cohen R, Persky L, Hadar Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, v. 58 (5), p. 582-594.

Dashtban M, Schraft H, Qin WS. (2009). Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities and perspectives. *International Journal of Biological Sciences*, v. 5 (6), p. 578–595.

Detmann E; Souza MA; Valadares Filho SC. (2012). Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: Universidade Federal de Viçosa, 214p.

Dias AB, Cunha AL, Silva, AO, Oliveira, IF. (2015). Potencial De Indicação Geográfica Do Sisal Na Bahia. *Cadernos de Prospecção*, v. 8 (1), 174p.

Díaz-Godínez C. e Sánchez, G. (2002). In situ digestibility and nutritive value of maize straw generated after *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Canadian journal of animal Science*, v. 82 (4), p. 617-619.

Do Nascimento Filho, W. B.e Franco, C. R. (2015) Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil. *Revista Virtual de Química*. v.7 (6), p. 1968-1987.

Donini, L P, Bernardi, E, Minotto, E, Nascimento, J. D. (2005). Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. *Arquivos do Instituto Biológico*. v. 72 (3), p. 331-338.

Elisashvili V, Penninckx M, Kachlishvili E, Tsiklauri N, Metreveli E, Kharziani T, Kvesitadze G. (2008). *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solidstate fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. *Bioresouce Technology*. v. 99 (3). p, 457-462.

Faria MMS, Jaeger SMPL, Carneiro GJ, Oliveira RLO, Silva Ledo CA, Santana FS. (2008). Composição bromatológica do subproduto do desfibramento do sisal tratado com uréia. R. Bras. Zootec, v. 37 (3), p, 377-382.

Ferreira DF. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, v. 35 (6), p. 1039-1042.

Gern RMM, Wisbeck E, Rampinelli, JR, Ninow JL, Furlan SA. (2008). Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*, v. 99(1), 76-82.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2015). Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro, v. 29, p. 1-83.

Kalmış, E., & Sargin, S. (2004). Cultivation of two *Pleurotus* species on wheat straw substrates containing olive mill waste water. *International biodeterioration & biodegradation*, v. 53(1), 43-47.

Koutrotsios, G., Mountzouris, K. C., Chatzipavlidis, I., & Zervakis, G. I. (2014). Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi—Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food chemistry*, v. 161, 127-135.

Köster, H. H., Cochran, R. C., Titgemeyer, E. C., Vanzant, E. S., Abdelgadir, I., & St-Jean, G. (1996). Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef cows. *Journal of Animal Science*, v, 74(10), 2473-2481.

Lopes RX, Zied DC, Martos ET, Souza RJ, Silva R, Dias ES. (2015). Application of spent *Agaricus subrufescens* compost in integrated production of seedlings and plants of tomato. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, v. 4 (3), p. 211-218.

Nakatsuka H, Oda M, Hayashi Y, Tamura K. (2016) Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil. *Geoderma*. v. 269, p. 54-60.

NEPA (2006) Tabela de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. UNICAMP. Campinas, Brasil. 105 p.

Marques ELS, Martos ET, Souza RJ, Silva R, Zied DC, Dias, ES. (2014). Spent mushroom compost as a substrate for the production of lettuce seedlings. *Journal of Agricultural Science*, v. 6 (7), p. 138.

Mauricio-Gutiérrez A, Jiménez-Salgado T, Tapia-Hernández A, Cavazos-Arroyo J, Pérez-Armendáriz, B. (2015). Biodegradation of hydrocarbons exploiting spent substrate from *Pleurotus ostreatus* in agricultural soils. *African Journal of Biotechnology*, v. 13 (33), p. 3385-3393.

Medina E, Paredes C, Bustamante MA, Moral R Moreno-Caselles J. (2012). Relationships between soil physico-chemical, chemical and biological properties in a soil amended with spent mushroom substrate. *Geoderma*, v. 173 (174), 152-161.

Murali, S., e Morchhale, R. K. (2014). Sisal (*Agave sisalana*) Fibre Extraction for Sustainable Employment Generation in India. *Technologies for Sustainable Rural Development: Having Potential of Socio-Economic Upliftment (TSRD-2014)*, v. 1, p. 184.

Oda M, Tamura K, Nakatsuka H, Nakata M, Hayashi Y. (2014). Application of high carbon:nitrogen material enhanced the formation of the soil a horizon and nitrogen fixation in a tropical agricultural field. *Agric. Sci*, v. 5 (2), p. 1172–1181.

Ribeiro, BD, Barreto, DW, Coelho, MAZ., (2015). Use of micellar extraction and cloud point preconcentration for valorization of saponins from sisal (*Agave sisalana*) waste. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 601-609.

Salmones D, Mata G, Waliszewski KN. (2005). Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. *Bioresource technology*, v. 96 (5), p. 537-544.

Sánchez C. (2009). Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology advances*, v. 27 (2), p. 185-194.

Sanchez C. (2004). Modern aspects of mushroom culture technology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, (6), p. 756-762.

Sampaio CB, Detmann E, Lazzarini I, Souza MAD, Paulino MF, Valadares Filho SDC. (2009). Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38 (3), p. 560-569.

Sharma RK e Arora DS. (2015). Fungal degradation of lignocellulosic residues: An aspect of improved nutritive quality. *Critical reviews in microbiology*, v. 41 (1), p. 52-60.

Shrivastava B, Thakur, S, Khasa, YP, Gupte, A, Puniya, AK, Kuhad, RC. (2011). White-rot fungal conversion of wheat straw to energy rich cattle feed. *Biodegradation*, v. 22 (4), p. 823-831.

Silva AM, Oliveira RL, Ribeiro, OL, Bagaldo AR, Bezerra LR, Carvalho ST, Leão AG. (2014). Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação animal. *Comunicata Scientiae*, v. 5 (4), p. 370-379.

Silva MJR, Santos NT, Rios ÉS, Oliveira AC, Souza DA. (2015). Resíduo de sisal incorporado à substrato comercial na formação de mudas de jiló e brócolis. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 10 (4), p. 12-16.

Silva ORR e Beltrão, NEM. (1999). O agronegócio do sisal no Brasil. Brasília: Embrapa – SPI, Campina Grande - CNPA, 205p.

Sousa, M. F.; Silva, M. N. B.; Alves, I.; Silva, J. C. A; Costa, L. (2008). Aproveitamento da mucilagem de sisal na alimentação animal. Campina Grande: Embrapa Algodão, 27 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 189).

Sun, X, Xu, H, Liang, H, Li, P, Qiao, D, Cao, Y, Zhang, L. (2013). Chemical Composition of Spent *Pleurotus eryngii* Mushroom Substrate and Its Reuse for *Volvariella volvacea* Production. Asian Journal of Chemistry, v. 25 (18), p. 10504.

Van Kuijk SJ, Sonnenberg AS, Baars JJ, Hendriks, WH, Cone JW. (2015). Fungal treatment of lignocellulosic biomass: Importance of fungal species, colonization and time on chemical composition and in vitro rumen degradability. Animal Feed Science and Technology, v. 209, p. 40-50.

Van Soest PJ. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. 2^a ed. Ithaca: Cornell University Press. 476p.

Zhang R, Li X, Fadel JG. (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. Bioresour Technol, v. 82 (3), p. 84-277.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os subprodutos da extração da fibra das folhas de sisal e do processamento industrial da fibra seca de sisal apresentam potencial para utilização na composição de substratos para a produção do cogumelo comestíveis *Pleurotus ostreatus*. A utilização do substrato composto por 70 % do subproduto do desfibramento da folha do sisal e 30% do subproduto do processamento da fibra seca (pó de bateadeira) proporcionou alto rendimento (260,2 g kg⁻¹) e eficiência biológica (79,7 %) de *P. ostreatus*. O cogumelo produzido (corpos de frutificação de *P. ostreatus*) contém alto teor de proteína bruta e baixo teor de gordura (capítulo 1)

Além da produção de um alimento com alto teor de proteína e baixo teor de gordura, a produção de *P. ostreatus* proporcionou alterações nas propriedades físico-químicas dos substratos avaliados, apresentando após o cultivo, maiores concentrações de cinzas, proteína bruta e carboidratos não fibrosos e menores teores de FDN, FDA, lignina, celulose, hemicelulose e relação C/N (capítulo 2).

Entretanto, pesquisas deverão ser realizadas para determinar a composição mineral destes cogumelos e testes de toxicidade também devem ser realizados para definir o potencial destes para a alimentação humana.

Estudos também devem ser realizados para avaliar a digestibilidade deste substrato para a alimentação animal e o enriquecimento proteico em diferentes fases de crescimento do *P. ostreatus* no substrato, considerando que, ao longo do cultivo ocorre maior degradação da lignina e posterior degradação da celulose com acúmulo de proteínas, favorecendo o substrato para a ração animal. Este substrato pós-cultivo também apresenta potencial para ser utilizado como fertilizante orgânico.

A produção do cogumelo *P. ostreatus* em substrato composto por subprodutos do desfibramento do sisal e processamento da fibra seca de sisal diminuirá o descarte direto desses subprodutos para o meio ambiente, agregando valor a cadeia produtiva do sisal, com melhor aproveitamento da planta. Esta tecnologia permitirá a geração de um alimento de alta qualidade nutricional, com potencial de aumento das alternativas de geração de renda para o produtor rural, podendo contribuir para a melhoria da qualidade de vida

do produtor de sisal na região semi-árida da Bahia. Além disso, após o crescimento e a colheita dos cogumelos, o substrato pós-cultivo pode ser utilizado para outros fins na agropecuária, como fertilizante orgânico ou para a alimentação animal.