

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

***Pleurotus ostreatus* PRODUZIDO EM RESÍDUOS DE
SISAL, DENDÊ E CACAU E A UTILIZAÇÃO DO
SUBSTRATO PÓS-CULTIVO NA AGRICULTURA**

CRISTIANO OLIVEIRA DO CARMO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
FEVEREIRO - 2021**

***Pleurotus ostreatus* PRODUZIDO EM RESÍDUOS DE SISAL,
DENDÊ E CACAU E A UTILIZAÇÃO DO SUBSTRATO PÓS-
CULTIVO NA AGRICULTURA**

CRISTIANO OLIVEIRA DO CARMO

Engenheiro Agrônomo
Universidade Federal da Bahia, 2013

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

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Coorientadora: Profa. Dra. Franceli da Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Caline Gomes Ferraz

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
FEVEREIRO - 2021**

FICHA CATALOGRÁFICA

C287p	Carmo, Cristiano Oliveira do. <i>Pleurotus ostreatus</i> produzido em resíduos de sisal, dendê e cacau e a utilização do substrato pós-cultivo na agricultura / Cristiano Oliveira do Carmo._ Cruz das Almas, Bahia, 2021. 158f. Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares. Coorientadora: Franceli da Silva. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias. 1.Cogumelos comestíveis – Cultura. 2.Cogumelos – Resíduos agrícolas – Uso. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Ferraz, Caline Gomes. III.Título. CDD: 635.82
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

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

***Pleurotus ostreatus* PRODUZIDO EM RESÍDUOS DE SISAL,
DENDÊ E CACAU E A UTILIZAÇÃO DO SUBSTRATO PÓS-
CULTIVO NA AGRICULTURA**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
CRISTIANO OLIVEIRA DO CARMO**

Profa. Dra. Ana Cristina Fermينو Soares

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Examinador Interno (Orientadora)

Profa. Dra. Karina Zanotti Fonseca

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Examinador Interno

Profa. Dra. Maria Catarina Megumi Kasuya

Universidade Federal de Viçosa - UFV

Examinador Externo

Profa. Dra. Maira Christina Marques Fonseca

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG

Examinador Externo

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias

Universidade Federal de Lavras - UFLA

Examinador Externo

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

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.

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.

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 Doutorado.

À CAPES, pela concessão da bolsa e apoio financeiro a pesquisa.

À Secretaria de Ciência, Tecnologia e Inovação da Bahia (SECTI), pelo apoio financeiro à pesquisa com o subproduto do sisal (Convênio SECTI-UFRB 001/2013).

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

À Prof. Dr Franceli da Silva pela coorientação e disponibilidade do Laboratório de Fitoquímica da UFRB para a realização das análises de antioxidante e extração de óleo essencial.

À Prof. Dr. Caline Gomes Ferraz e ao Prof. Dr. Paulo Roberto Ribeiro de Jesus, pelas análises de metabolômica e interpretação dos dados. Serei eternamente grato!

Aos amigos, Rafael, Marcos, Filipe, Tâmara, Fabrício, Sandila, Elizabeth, Adrieli, Geovani, Sara e Simone 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 para todas as horas!

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia e Bromatologia da UFRB: Zozilene Teles, Verônica e Silvane, pela amizade e por toda ajuda no desenvolvimento dos trabalhos.

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 em toda a minha formação acadêmica e para a realização deste trabalho.

Ninguém vence sozinho... OBRIGADO À TODOS!

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
REFERENCIAL TEÓRICO	8
ARTIGO 1	

PRODUCTION AND NUTRITIONAL QUALITY OF <i>Pleurotus ostreatus</i> USING SISAL AND COCOA AGROINDUSTRIAL RESIDUES	39
ARTIGO 2	
NUTRIÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE <i>Pleurotus ostreatus</i> PRODUZIDO EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE DENDÊ E CACAU	78
ARTIGO 3	
SUBSTRATO PÓS-CULTIVO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> AUMENTA A BIOMASSA E RENDIMENTO DE OLEO ESSENCIAL NO MANJERICÃO	128
CONSIDERAÇÕES FINAIS	151

***Pleurotus ostreatus* PRODUZIDO EM RESÍDUOS DE SISAL, DENDÊ E CACAU E A UTILIZAÇÃO DO SUBSTRATO PÓS-CULTIVO NA AGRICULTURA**

Autora: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO: A produção e o consumo de cogumelos comestíveis vêm crescendo no mundo, devido ao seu alto valor nutricional e medicinal. A espécie *Pleurotus ostreatus*, conhecida como cogumelo ostra, consegue colonizar e frutificar em diversos resíduos lignocelulósicos. Este fungo possui um complexo de enzimas hidrolíticas que atua na decomposição de substâncias presentes nesses substratos para a sua nutrição e crescimento. A Bahia é um estado com significativa produção agrícola, incluindo a produção de sisal, dendê e cacau. Essas culturas têm elevada importância econômica e social, por gerarem emprego em toda a cadeia produtiva, sendo importantes fontes de renda, em especial para os agricultores rurais do semiárido para o sisal e do sul da Bahia para o dendê e cacau. Entretanto, durante a produção e industrialização dessas culturas são gerados muitos resíduos, os quais, em sua grande maioria não são aproveitados. Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a produção e características nutricionais de *P. ostreatus* em substratos formulados com resíduos de sisal (RS) e dendê (RD), suplementados com o tegumento da amêndoa do fruto de cacau (TAC) ou com farelo de trigo (FT). Os substratos foram formulados com RS ou RD, suplementado com 20% de FT ou TAC e um tratamento sem suplementação. Foram avaliados dois isolados de *P. ostreatus*, Hiratake branco (HB) e Hiratake preto (HP). Os parâmetros determinados foram: colonização do substrato (CM), eficiência biológica (EB), rendimento, características químicas e físicas do substrato e dos cogumelos, atividade antioxidante e os compostos primários e secundários dos cogumelos. Também foi avaliado o potencial de utilização do substrato pós cultivo (SPC) do sisal na produção de biomassa, teor e rendimento de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). O SPC foi utilizado na adubação combinado com outras fontes de adubos orgânicos: composto orgânico (CO) e húmus de minhoca (HM). O menor tempo para formação dos primórdios (25 dias), maior EB (73,25 –

105,75%), rendimento (135,25 – 354,50 g kg⁻¹) e taxa de rendimento (0,48 – 12,75 g dia⁻¹) foram obtidos com o isolado HB, no substrato suplementado com TAC ou FT, independente do resíduo utilizado para a formulação do substrato. O aumento dos fenóis totais, acúmulo de macro (P e K) e micronutrientes (Zn, Fe, Na, Mg e Mn), redução da atividade do DPPH e ABTS e aumento da quantidade de metabólitos, com presença de todos os aminoácidos essenciais, foram observados nos corpos de frutificação deste isolado, em comparação com o HP, quando cultivado no substrato com RS. Entretanto, as maiores concentrações dos metabolitos foram observadas na linhagem HP produzida no substrato com RD, sem suplementação. O SPC e suas combinações proporcionaram aumento de área foliar e biomassa das plantas de manjerição. O tratamento com 75% de SPC + 25% de HM proporcionou o maior rendimento de óleo (4,96 kg ha⁻¹), com ganho de 324,8% em relação ao controle. O substrato com RS e RD, suplementado com TAC é eficiente e rentável para o cultivo de *P. ostreatus* e o SPC aumenta a biomassa e o rendimento de óleo essencial em plantas de manjerição, independente da combinação com adubos orgânicos.

Palavras-chave: cogumelo ostra; adubação orgânica; resíduo lignocelulósico; Plantas medicinais; manjerição.

***Pleurotus ostreatus* PRODUCED WITH SISAL, PALM OIL AND COCOA RESIDUES, AND THE USE OF SPENT SUBSTRATE IN AGRICULTURE**

Author: Cristiano Oliveira do Carmo

Adviser: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: The production and consumption of edible mushrooms have increased worldwide, because of their high nutritional and medicinal value. *Pleurotus ostreatus*, known as oyster mushrooms, can colonize and fructify in various lignocellulosic residues. This fungus has a complex of hydrolytic enzymes acts on the decomposition of substances present in these substrates, for its nutrition and growth. Bahia is a state with significant agricultural production, including the production of sisal, palm oil, and cocoa. These crops have high economic and social importance, as they generate employment throughout their production chains, being important sources of income for the population, especially for farmers in the semi-arid region for sisal and in the southern Bahia for palm oil and cocoa. However, during the production and industrialization of these crops, many wastes are generated, which, in the great majority, are not used. The aim of this study was to evaluate the production nutritional characteristics of *P. ostreatus* in substrates formulated with sisal (SR) and palm oil (POR) residue, supplemented with the cocoa almond peal (CAP) or wheat bran (WB). The substrates were formulated with SR or POR supplemented with 20% WB or CAP, or without supplementation. Two *P. ostreatus* isolates were evaluated: white Hiratake (WH) and black Hiratake (BH). The parameters determined were: substrate colonization (SC), biological efficiency (EB), yield, chemical and physical characteristics of the substrate and mushrooms, antioxidant activity, and the primary and secondary compounds of the mushrooms. The potential for agricultural use of the spent substrate (SS) of sisal waste was also evaluated for production of biomass, content, and yield of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). The SS was used for fertilization, combined with other sources of organic fertilizers: organic compost (OC) and earthworm humus (EH). The shortest time for primordia formation (25 days), the highest biological efficiency (73.25 - 105.75%), yield (135.25 - 354.50 g kg⁻¹), and productivity (0.48 - 12.75 g day⁻¹) were obtained with the isolate WH on substrate supplemented with CAP and WB, regardless of the residue used for its

formulation. The increase in total phenols, accumulation of macro (P and K) and micronutrients (Zn, Fe, Na, Mg, and Mn), reduced activity of DPPH and ABTS, and increased the number of metabolites, with the presence of all essential amino acids, were observed with this mushroom isolate, in comparison with BH, when cultivated in the substrate with SR. However, the highest concentrations of metabolites were observed in the mushrooms of BH produced on the substrate with POR without supplementation. The SS and its combinations provided an increase in leaf area and biomass of basil plants. Treatment with 75% SS + 25% EH provided the highest oil yield (4.96 kg ha^{-1}), with a gain of 324.8%, compared to the control. The substrate with SR and POR supplemented with CAP is efficient and cost-effective for the cultivation of *P. ostreatus* and the SS increases the biomass and the essential oil yield in basil plants, regardless of the combination with organic fertilizers.

Keywords: oyster mushroom, organic fertilization, lignocellulosic residue, medicinal plants, basil.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A busca pelo suprimento de alimentos para uma crescente população humana no mundo, faz da agricultura um dos setores que mais contribui para as emissões de gases de efeito estufa no planeta, com geração de uma grande quantidade de resíduos agrícolas (BARROS et al., 2020). Nesse sentido, as práticas que proporcionem a economia circular, através da utilização de biotecnologia fúngica podem ser vantajosas no uso e gerenciamento dos resíduos no setor agroindustrial, contribuindo para a redução das emissões de gases de efeito estufa com geração de renda (MEYER et al., 2020).

Os cogumelos são consumidos em todo o mundo e seu cultivo utiliza grande variedade de resíduos lignocelulósicos, sendo uma forma eficiente de reciclar resíduos agroindustriais e de produzir alimentos de alto valor nutricional e medicinal (PÉREZ-CHÁVEZ, MAYER & ALBERTÓ, 2019). São ricos em nutrientes, como proteínas, carboidratos e vitaminas (B, C e D), que são essenciais na vida humana (LIU et al., 2019). Possuem alto teor de fibras e minerais (ferro, cálcio, potássio) (CORRÊA et al., 2016), são ricos em proteínas, apresentando todos os aminoácidos essenciais para o ser humano adulto e baixo teor de lipídios (CARRASCO-GONZÁLEZ, SERNA-SALDÍVAR, GUTIÉRREZ-URIBE, 2017; GONZÁLEZ et al., 2020). São considerados alimento funcional, por ter propriedades comestíveis e medicinais (NAM et al., 2018; ATL et al., 2019), possuem propriedades antioxidantes que atuam na redução do dano oxidativo no corpo humano e promovem proteção contra doenças como câncer e doenças cardiovasculares (RASHIDI & Yang, 2016; CORRÊA et al., 2016).

As espécies do gênero *Pleurotus* spp. são amplamente cultivadas em todo o mundo. A produção de cogumelos do gênero *Pleurotus* representa cerca de 25% do total de cogumelos cultivados globalmente e ocupa a segunda posição em produção entre os cogumelos comercialmente cultivados (HOA & WANG, 2015; SARDAR, et al., 2017; RAMAN et al., 2020). O cultivo de *Pleurotus* em resíduos agrícolas apresenta-se como uma tecnologia de baixo custo e rentável, que proporciona uma produção consistente, com alta eficiência biológica e produção de cogumelos de boa qualidade (BELLETTINI et al., 2019; RAMAN et al., 2020). Esta espécie se desenvolve em madeira e ultimamente

seu cultivo tem se difundido em todo o mundo, através da utilização de uma ampla gama de resíduos lignocelulósicos (LETTI et al., 2018; PEREIRA et al., 2017, SARDAR et al., 2017; YAMAUCHI, et al., 2018).

A produção de *P. ostreatus* em resíduos lignocelulósicos normalmente requer suplementação com outros resíduos ricos em nitrogênio, para melhorar a eficiência de produção e a qualidade nutricional e medicinal dos cogumelos (JEZNABADI, et al., 2017). Resíduos orgânicos ricos em nitrogênio, como: farelo de soja, farelo de trigo, farelo de arroz, fubá de milho e cascas de amendoim têm sido recomendados para a suplementação (ADEBAYO, OMOLARA E TOYIN 2009; FANADZO et al. 2010; ZIED et al., 2019.). No entanto, fatores como a sazonalidade, demanda desses resíduos para a alimentação animal e humana e a disponibilidade dessas matérias primas na região ou mesmo no local de produção, podem dificultar ou encarecer o sistema de produção de cogumelos (JIM et al., 2018). Portanto, para reduzir o custo e melhorar a produtividade devem ser selecionados materiais disponíveis nas regiões produtoras e com potencial de utilização como suplemento para a formulação do substrato na produção de *P. ostreatus* (ZHAI & HAN, 2018).

No Estado da Bahia, culturas agrícolas como sisal, dendê e cacau produzem uma grande quantidade de resíduos em toda a sua cadeia produtiva (CANTALINO, TORRES & SILVA, 2015; BICALHO, BESSOU & PACCA, 2016; OKIYAMA, NAVARRO & RODRIGUES, 2017; ROJO-POVEDA et al., 2020). A maioria dos resíduos são subutilizados, sendo descartados por meio de queima, despejo ou deposição em aterro não planejado, podendo causar poluição ambiental e efeitos nocivos à saúde humana e animal (ARLORIO et al., 2005; NAN et al., 2018). Entretanto, a natureza lignocelulósica desses resíduos apresenta potencial para sua utilização na formulação de substratos para a produção de cogumelos comestíveis (SAIDU, SALIM & YUZIR, 2011; NAM et al., 2018).

Diante disso, a utilização dos resíduos da cultura do sisal, dendê e cacau como fontes de nutrientes para o crescimento de fungos do gênero *Pleurotus* spp. pode representar um enorme potencial de bioconversão dessa biomassa lignocelulósica em cogumelos, que são alimentos de alto valor nutricional e medicinal, reduzindo os impactos ao meio ambiente e contribuindo para a bioeconomia circular, através do gerenciamento desses resíduos e aumento da

eficiência biológica na produção do cogumelo *P. ostreatus* (CHANG & WASSER, 2017; SILVA et al., 2020; DO CARMO et al., 2021). Além disso, os metabólitos produzidos por esses cogumelos nesses resíduos e seus benefícios para a saúde, ainda não foram relatados.

Após a produção de cogumelos comestíveis é gerada uma grande quantidade de substratos pós-cultivo (SPC) (KAPU et al., 2012), o qual deve ser aproveitado. Os SPC são frequentemente considerados resíduos, os quais devem ser descartados em locais distantes da produção, para evitar a proliferação de moscas, insetos e doenças (MARQUES et al., 2014; LOPES et al., 2015). Contudo, esse procedimento quando realizado de forma inapropriada, pode causar a contaminação do meio ambiente, além do desperdício de recursos naturais.

A degradação fúngica causa alterações nas características físicas, químicas e biológicas dos substratos de cultivo de cogumelos (SHARMA; ARORA, 2015) e estes ainda apresentam potencial para serem utilizados como substratos de produção de mudas (LOPES et al., 2015), na biorremediação do solo (GARCÍA-DELGADO et al., 2013; ADENIPEKUN E LAWAL, 2012.), na alimentação animal (WANZENBÖCK et al., 2017), para a melhoria das características do solo (NAKATSUKA et al., 2016) e na adubação orgânica (PAULA et al., 2017). Entretanto, a utilização do SPC ainda é muito baixa e não tem solucionado os problemas com o acúmulo desses resíduos e quantidades significativas estão disponíveis para serem utilizadas na agricultura, com potencial econômico e ecológico aceitáveis (PAREDES et al., 2016). Tal uso permite a integração de sistemas de produção, para a completa utilização desses resíduos lignocelulósicos, com geração de emprego e renda, produção de alimentos e a consolidação de tecnologias limpas, sem deixar esses resíduos no ambiente, conforme os preceitos da economia circular (MEYER et al., 2020).

Os objetivos deste estudo foram: avaliar o potencial de utilização do tegumento da amêndoa do cacau (TAC) como suplemento em substratos de produção de *P. ostreatus* formulados com resíduos do dendê e do sisal, em substituição ao farelo de trigo; avaliar a atividade antioxidante dos corpos de frutificação produzidos, quantificar e identificar a composição nutricional e metabólica dos corpos de frutificações produzidos nos diferentes substratos formulados e avaliar o potencial de utilização do SPC, combinado com composto

orgânico e húmus de minhoca, na produção de biomassa, teor e rendimento de óleo essencial em plantas de manjerição (*O. basilicum* L.).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Cogumelos comestíveis

Os cogumelos são estruturas macroscópicas, corpos frutíferos de fungos do filo *Basidiomycota* e alguns do filo *Ascomycota*. São conhecidos e usados há mais de 3.000 anos pelos povos asiáticos (URBEN, 2017). Esses organismos podem ser encontrados em todo o mundo, em habitats diversificados, sendo encontrados em parques, jardins, pastagens, dunas de areia e até geleiras. Na maioria dos casos, estes fungos são encontrados na natureza ligados a suportes sólidos, como: solo, árvores (mortas ou vivas), serapilheira e até mesmo em carcaças de insetos (LETTI et al., 2018).

Os cogumelos comestíveis cultivados comercialmente 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 & AGUIAR, 2004). Essa ordem contém cogumelos comestíveis, medicinais, alucinógenos, micorrízicos e saprófitas, com grande interesse nos aspectos ecológicos, industriais, alimentícios e medicinais (ALEXOPOULOS et al., 1996). Aproximadamente, dentre as 140.000 espécies identificadas no mundo, apenas 2.000 são consideradas comestíveis e 700 apresentam propriedades farmacológicas comprovadas. Entretanto, apenas 25 espécies são cultivadas comercialmente (VALVERDE, HERNÁNDEZ-PÉREZ & PAREDES-LÉOPEZ, 2015; SAKAMOTO, 2018).

Os seres humanos pré-históricos usavam cogumelos coletados na natureza como alimento e possivelmente para fins medicinais. Os gregos, egípcios, romanos, chineses e mexicanos apreciavam os cogumelos como uma iguaria, principalmente devido ao seu valor terapêutico, sendo frequentemente usado em cerimônias religiosas (MILES & CHANG, 2004).

Embora seu uso tenha sido relatado por milhares de anos, foi somente nos últimos anos o consumo de cogumelos aumentou, principalmente devido à crescente conscientização e busca da população por uma dieta saudável e equilibrada, que exerce um papel fundamental no funcionamento normal do corpo e na manutenção da saúde (REIS et al., 2017). Os cogumelos sempre foram apreciados pelas suas características sensoriais, apresentando uma quantidade significativa de fibra alimentar, alta qualidade e quantidade de proteínas que incluem a maioria dos aminoácidos essenciais, baixo teor de gordura e calorias, ácidos graxos insaturados, substâncias minerais, esteroides, triterpenos e metabólitos secundários que podem auxiliar na proteção e cura de vários problemas de saúde, como imunodeficiência, câncer, inflamação, hipertensão, hiperlipidemia, hipercolesterolemia e obesidade (KALAČ, 2009; THATO & SINGDEVSACHAN, 2014; VALVERDE, HERNÁNDEZ-PÉREZ & PAREDES-LÉOPEZ, 2015; MA et al., 2018), além de promoverem a modulação do colesterol LDL no sangue e agirem como inibidores de apetite (KIM et al., 2011).

Há crescimento nas pesquisas e do conhecimento biotecnológico sobre a produção de cogumelos comestíveis, principalmente com a descoberta de novos compostos bioativos, como as lectinas, polissacarídeos, compostos fenólicos, polifenólicos, terpenóides, ergosterol e outros compostos orgânicos. Essas propriedades bioativas incluem imunomodulação, antitumoral, antibacteriana, antiinflamatórios, antiviral, antioxidante, controle colesterol, entre outras (WASSER, 2014; VALVERDE, HERNÁNDEZ-PÉREZ, & PAREDES-LÉOPEZ, 2015; CORRÊA et al., 2016; CARRASCO-GONZÁLEZ, SERNA-SALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017). Muitos estudos revelaram que diferentes espécies de cogumelos são benéficas para a prevenção e tratamento de várias doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e doenças neurodegenerativas (GUILLAMÓN et al., 2010; SABARATNAM et al., 2013; RONCERO-RAMOS & DELGADO-ANDRADE, 2017; KOTHARI, PATEL & KIM, 2018.), levando a um aumento significativo no consumo e consequentemente no cultivo de cogumelos comestíveis (ZHANG et al., 2013).

A produção e o consumo de cogumelos no Brasil ainda são muito pequenos, quando comparados aos países europeus e asiáticos. Estima-se que no ano de 2012 o Brasil produziu pouco mais de 12.000 toneladas “in natura” e

apresentou 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 *per capita* superior a 2 kg por ano (ANPC, 2018). Entretanto, esses valores vêm aumentando, devido a busca por hábitos alimentares mais saudáveis, maior conhecimento da população com relação ao seu alto valor nutricional e medicinal, apreciação do sabor e crescimento do veganismo e do vegetarianismo, já que os cogumelos são fontes de proteína para esse grupo de pessoas (GONZÁLEZ et al., 2020).

Em geral, os cogumelos são produzidos por vários métodos, podendo ser através da fermentação submersa ou fermentação no estado sólido. No cultivo de cogumelos através da fermentação no estado sólido, os corpos frutíferos são produzidos utilizando resíduos lignocelulósicos como substratos, enquanto a biomassa micelial pode ser produzida em meio líquido (fermentação submersa), em tanques de fermentação, para a produção de compostos bioativos ou para a nutrição animal (SÁNCHEZ, 2010; DUVNJAK et al., 2016).

A fermentação no estado sólido permite o uso de uma grande variedade de resíduos agroindustriais como substrato, proporcionando maiores rendimentos na produção, uma vez que simula o ambiente natural de desenvolvimento dos cogumelos com baixo consumo de energia (FAN et al., 2000; LIN et al., 2016). A bioconversão da biomassa lignocelulósica pela indústria de cogumelos desponta como uma alternativa para a gestão de resíduos agrícolas e industriais no Brasil (MILES & CHANG, 2004). Entretanto, explorar os cogumelos através de uma bioeconomia sustentável e com utilização de resíduos locais, operando de forma circular e com economia de recursos, ainda exige melhorias consideráveis em pesquisa e desenvolvimento científico e tecnológico (MEYER et al., 2020).

Portanto, a produção de cogumelos pode gerar vários benefícios ao homem e ao ambiente, com a produção de alimento de elevada qualidade nutricional, como fonte de biocompostos com propriedades medicinais, como processo de reciclagem e tratamento de resíduos sólidos, contribuindo para a conservação dos recursos naturais, gerando sustentabilidade ambiental, a um baixo custo de produção (LETTI et al., 2018). As principais espécies de cogumelos produzidas no mundo são: *Agaricus bisporus* (champignon de Paris),

Lentinula edodes (shiitake) e *Pleurotus* spp. (cogumelo ostra) (CORRÊA et al., 2016).

2.2. Gênero *Pleurotus*

O gênero *Pleurotus* (Fries) Kummer (Basidiomycota, Agaricales) foi identificado por Paul Kummer em 1871. São fungos cosmopolitas, podendo ser encontrados em diferentes regiões do mundo, principalmente em ambientes de floresta (ADEBAYO & MARTINEZ-CARRERA, 2015). Seus corpos de frutificação (cogumelos) possuem alto valor nutricional e propriedades terapêuticas, além de uma ampla gama de aplicações biotecnológicas e ambientais (KNOP, YARDEN, & HADAR, 2015). São decompositores primários capazes de usar uma enorme diversidade de materiais orgânicos como substratos, conhecidos como "fungos da podridão branca" (TSUJIYAMA & UENO, 2013).

O gênero *Pleurotus* é composto por mais de 200 espécies saprófitas distribuídas mundialmente em ambientes temperados e tropicais (CORRÊA et al., 2016; PATEL, NARAIAN & SINGH., 2012). As espécies *P. ostreatus* (cogumelo ostra), *P. eryngii* (cogumelo rei), *P. pulmonarius* (cogumelo fenix), *P. djamor* (cogumelo salmão), *P. sajor-caju* (ostra indiana), *P. cystidiosus* (ostra abalone), *P. citrinopieatus* (cogumelo ostra-dourado) e *P. cornucopiae* são as mais importantes e comercialmente cultivados do gênero *Pleurotus*, apresentando considerável valor econômico (PÉREZ-MARTÍNEZ et al., 2015; KNOP; YARDEN & HADAR, 2015; CORRÊA et al., 2016). No mundo, as espécies do gênero *Pleurotus* spp. já ocupam o segundo lugar em produção entre os cogumelos comercialmente cultivados, ficando atrás apenas do das espécies do gênero *Lentinula* (Shitake), constituindo cerca de um quarto da produção total de cogumelos (HOA & WANG, 2015; SARDAR, et al., 2017; ROYSE, BAARS & TAN, 2017). Essas espécies utilizam substratos lignocelulósicos para desenvolver seus corpos de frutificação. Apresentam proteínas contendo os nove aminoácidos essenciais para os seres humanos (KAKON et al., 2012), fibras, polissacarídeos (*b*-glucanas), vitaminas (incluindo tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, ergosterol e niacina), índices consideráveis de macro e micronutrientes, como por exemplo de fósforo, potássio, manganês,

cálcio e ferro, fonte de carboidratos e ainda com baixo teor de gordura (MAFTOUN et al., 2015). Apresentam constituintes químicos com atividade antioxidante, imunomoduladora, hipoglicêmica hipocolesterolemia, antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-hipertensivo, antitumoral e atividades prebióticas (CORRÊA et al., 2016; CARRASCO-GONZÁLEZ, SERNA-SALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017).

A espécie *P. ostreatus* cresce em madeira, sendo a mais cultivada entre os cogumelos do gênero *Pleurotus*. Seu cultivo é difundido em todo o mundo, em ampla gama de resíduos lignocelulósicos (LETTI et al., 2018). Celulose, hemicelulose e lignina são os principais constituintes desses resíduos e a lignina forma uma matriz rígida que dificulta o ataque microbiano e enzimático (KAN et al., 2017). A degradação desses polissacarídeos ocorre devido ao aparato enzimático presente principalmente nos fungos do gênero *Pleurotus*, que permite a conversão desses resíduos agroindustriais, de baixo valor econômico, em produtos alimentícios e medicinais. Estes fungos também atuam na liberação de substâncias húmicas, as quais agem na estruturação do solo ou como agentes quelantes (MEDINA et al., 2012).

A eficiência da espécie *P. ostreatus* em biodegradar lignina, celulose e hemicelulose nos resíduos lignocelulósicos ocorre através da produção de potentes enzimas lignocelulolíticas, como a lacase, lignina peroxidase, manganês peroxidase, endo- β -1,4-glucanase, exo- β -1,4-glucanase I e II, e β -glicosidase (ADEBAYO & MARTINEZ-CARRERA, 2015). Entretanto, o cultivo generalizado não é apenas por possuir um sistema enzimático que possibilita a degradação de resíduos lignocelulósicos, mas também porque seu rápido crescimento micelial possibilita que essa espécie não seja frequentemente atacada por microrganismos e pragas, com crescimento em ampla faixa de temperatura, requerendo pouco investimento em infraestrutura para a produção comercial (KOUTROTSIOS et al., 2014; SARDAR et al., 2017).

Nos últimos anos, diversos subprodutos agroindustriais de origem vegetal vêm sendo utilizados como substratos para a produção de *P. ostreatus*, tais como: substrato com palha de trigo (KOUTROTSIOS et al., 2017), palha de trigo e fibra de coco, combinados com resíduos de biodigestores (CHANAKYA et al., 2015), papel em branco e impresso, palha de aveia (FERNANDES et al., 2015),

resíduo de sisal (DO CARMO, 2021), resíduo de cacau e dendê (SILVA et al., 2020).

Entretanto, a sobrevivência e a multiplicação desse cogumelo estão relacionadas a vários fatores que podem agir individualmente ou ter efeitos interativos entre eles, como: composição química, relação carbono/nitrogênio, minerais, pH, umidade, tamanho de partícula e quantidade do inóculo (EIRA, 2005; BELLETTINI, et al., 2019; MAHARI et al., 2020). A temperatura, umidade, luminosidade, concentração de oxigênio e dióxido de carbono são os principais fatores ambientais (LETTI et al., 2018; BELLETTINI, et al., 2019; MAHARI et al., 2020). Esses parâmetros afetam diretamente a colonização, emissão de primórdios, frutificação e, conseqüentemente, a produção de *P. ostreatus*.

A fonte de nitrogênio no substrato é um fator importante (BELLETTINI, et al., 2019; MAHARI et al., 2020). O nitrogênio é essencial na síntese de proteínas, ácidos nucleicos, purinas, pirimidinas, polissacarídeos e parede celular dos fungos (ABDULLAH, LAU & ISMAIL, 2015) e pode ser adicionado ao substrato na forma de nitrato de amônio ou compostos orgânicos ricos em nitrogênio (MILES & CHANG, 2004). O equilíbrio da relação carbono/nitrogênio deve estar dentro da faixa aceitável para o cultivo de cogumelos (BELLETTINI, et al., 2019; MAHARI et al., 2020). De acordo com Urben (2017) e Bellettini et al. (2015), a relação C / N entre 28-30 é a mais recomendada para a produção de cogumelos. O baixo teor de nitrogênio no substrato reduz o crescimento do micélio. No entanto, quando o nitrogênio é fornecido em excesso, o micélio pode crescer exuberantemente, mas a produção de cogumelos é retardada (Miles e Chang, 2004; YANG, GUO & WAN, 2013). Quando o nitrogênio está em excesso, os subprodutos do metabolismo podem ser prejudiciais para o micélio e, em casos extremos, esse excesso é interpretado como falta de carbono disponível e sem esse componente principal, a vida dos fungos não é viável (LETTI et al., 2018).

Na produção comercial de cogumelos, recomenda-se a utilização de suplementos com compostos orgânicos ricos em nitrogênio (ULZIJARGAL et al., 2013; COGORNÍ et al., 2014). Além disso, a suplementação do substrato com farelo de cereais ou o uso de novas combinações pode promover o aumento da produtividade e eficiência biológica do fungo (SAMUEL & EUGENE, 2012; BELLETTINI, et al., 2019). Embora *P. ostreatus* seja cultivado basicamente em diversos resíduos agroindustriais, vários materiais podem ser utilizados como

suplementos para enriquecer e principalmente melhorar a relação C/N do substrato de produção. No entanto, fatores como eficiência da produção, qualidade, disponibilidade, distância da produção e custo desses materiais devem ser levados em consideração (JEZNABADI, et al., 2017; LI, et al., 2017). A utilização de resíduos agrícolas locais como substratos de produção de cogumelos deve ser considerada no planejamento em indústria de cogumelos, como fator de redução de custos e de valorização dos insumos locais. A maioria dos fungicultores ainda usa serragem e farelo de arroz ou de trigo como os principais ingredientes para o cultivo do cogumelo ostra. Portanto, o uso de outros resíduos agrícolas locais como substrato para o cultivo de cogumelos pode reduzir o custo de produção dos cogumelos, uma vez que estes apresentam baixo custo em comparação com outros substratos comerciais (MAHARI et al., 2020).

Assim, a utilização de resíduos de diferentes regiões da Bahia, como o resíduo do processamento da folha e fibra seca do sisal e da fibra do fruto do dendê, para a formulação de substrato de produção de *P. ostreatus* e o tegumento da amêndoa do fruto do cacau na sua suplementação, poderá aumentar e agregar valor à cadeia produtiva do sisal, dendê e cacau, gerando produtos alimentícios de alta qualidade nutritiva, além da oportunidade de aumento na geração de renda e melhoria na qualidade de vida dos produtores do sul e semiárido da Bahia. Adicionalmente, diminuirá o seu descarte no meio ambiente e, após a colheita dos cogumelos, o substrato pós cultivo ainda pode ser utilizado para outros fins, como por exemplo o uso como fertilizante agrícola, contribuindo para a economia circular.

2.3. Subproduto do sisal

Os recursos naturais, a economia e a sociedade são fatores chave para o desenvolvimento sustentável. A sustentabilidade não durará muito se algum destes for ignorado. A conservação de recursos naturais tem influências diretas e indiretas na economia e na saúde humana (KHATUN et al., 2017).

O Sisal (*Agave sisalana* Perrine) é uma monocotiledônea da família *Asparagaceae*, que tem origem nas regiões áridas e semiáridas do México (COLEMAN-DERR et al., 2015). É importante, principalmente em territórios áridos e semiáridos, devido à produção da fibra dura utilizada na produção de

artesanato, cordas de diversas utilidades, estofados, celulose e sua utilização na indústria automobilística (MISHRA et al., 2004; RAMZY et al., 2014). O Brasil é o maior produtor e exportador de fibra de sisal no mundo (FAOSTAT, 2020) e o Estado da Bahia, responde por 96,4% de toda a produção nacional. A produção no ano de 2017 foi de aproximadamente 78 mil toneladas de fibras, gerando divisas de R\$ 190,9 milhões (IBGE, 2018) e em 2018 foi de aproximadamente 80 mi, toneladas de fibra (FAO, 2020).

A produção de sisal no semiárido baiano desenvolve-se predominantemente através da agricultura familiar, com baixo nível tecnológico no processo produtivo (plantio, colheita, desfibramento e beneficiamento). Estima-se que o setor de sisal permite a geração de empregos diretos e indiretos para cerca de aproximadamente 850.000 pessoas no Brasil (CONAB, 2015). A restrição quanto à possibilidade de diversificação de cultivos, devido às condições climáticas torna essa cultura a principal alternativa de produção para essa região (DIAS et al., 2015).

O principal produto da cultura do sisal é a fibra dura extraída das folhas, que equivale de 4 a 5% do peso fresco da folha. O restante da polpa das folhas gera 16% de resíduo sólido e 80% de resíduo líquido, os quais são, em sua maioria, descartados nas áreas de produção, podendo se tornar um problema ambiental (MARAN & PRIYA, 2014). O resíduo é composto de água, tecido parenquimatoso, fibras curtas (bucha), polissacarídeo e compostos inorgânicos (SHARMA & VARSHNEY, 2012; ZHANG, LIU & LIN 2014). Entretanto, uma pequena parte está sendo utilizada como adubo orgânico nos plantios de sisal, na alimentação animal e na indústria farmacêutica e de cosméticos (DOS SANTOS. et al., 2013; RIBEIRO, BARRETO & COELHO, 2015; BARRETO et al., 2017). Diante disso, e considerando uma produção em 2018 de 80.043 mil toneladas de fibra de sisal (FAO, 2020), com o rendimento da fibra de 4%, estima-se que são gerados aproximadamente 1,9 milhões de toneladas de resíduos do processamento do sisal para obtenção da fibra, por ano.

2.4. Resíduo do Dendê

O dendê (*Elaeis guineenses* Jacq.) é uma palmeira de origem africana com elevado rendimento de óleo por área de cultivo. Recentemente, surgiu como

fonte potencial de energia renovável (CHIN et al., 2013; BICALHO, BESSOU & PACCA, 2016). O óleo do dendê é utilizado como gordura industrial para frituras, margarina, gordura vegetal, sorvete, creme não lácteo, molhos para salada, análogos de queijo, chocolates, suplementos e vitaminas. Seus constituintes químicos também podem ser usados na produção de produtos de higiene pessoal, cosméticos, agroquímicos, lubrificantes, sabonetes, limpeza industrial, tinta de impressão, biocombustíveis, combustíveis para aviação e biogás (KHATUN et al., 2017).

Em 2018, a produção mundial de frutos de dendê atingiu 403 milhões de toneladas em uma área plantada de 27,62 milhões de hectares, apresentando produção média de 14,9 t. ha⁻¹ (FAO, 2020). Entretanto, o crescimento da população mundial e da demanda por energias renováveis tem desencadeado o aumento da produção do dendezeiro. A produção global de óleo de palma tem dobrado a cada 10 anos nas últimas décadas (KHATUN et al., 2017).

O dendezeiro é cultivado no Brasil desde o século XVII, sendo inicialmente, implantado no estado da Bahia e depois difundido para o Pará e a Amazônia. O Pará atualmente é o maior produtor de óleo de palma no Brasil, concentrando 80% da área plantada com dendezeiros. Esta região gera quase 90% da produção total brasileira (OLIVEIRA, et al., 2017). Na Bahia, a produção concentra-se na região do baixo sul, com cerca de 70% da produção do Estado. Nesta região, o fruto do dendê tem elevada importância econômica, gerando emprego em toda sua cadeia produtiva (HOFFMANN, 2016).

Entretanto, a produção de óleo de dendê gera uma elevada quantidade de resíduos. O processamento dos frutos do dendezeiro fornece em média os seguintes produtos e subprodutos: óleo de palma bruto 20%; óleo de palmiste 1,5%; torta de palmiste 3,5%; engaços 22%; fibras da prensagem do mesocarpo (torta de dendê) 12%; cascas 5%; e uma quantidade de efluentes líquidos (ROSA et al., 2011). Esses resíduos podem se apresentar como um problema para a indústria e, na maioria das vezes, são descartados no solo sem nenhum tratamento (CHENG et al., 2011), ou utilizados como adubo nas plantações e como fonte de energia em usinas ou para a manufatura de uma série de produtos para a agricultura ou outras indústrias (FURLAN JÚNIOR et al., 2006). Essa enorme biomassa vegetal subutilizada pode ser melhor aproveitada na geração de produtos de maior valor agregado, ao invés de serem descartados, gerando

gases de efeito estufa que contribuem para o aquecimento global (ALI et al., 2018). A busca por processos que promovam a utilização dos resíduos da indústria do dendê, como forma de valorizar a cadeia produtiva e evitar o seu descarte no meio ambiente é uma necessidade (OLIVEIRA et al., 2017).

2.5. Subproduto do cacau (*Theobroma cacao* L.)

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é conhecido mundialmente por suas sementes que são utilizadas como matéria prima na fabricação do chocolate e produção de produtos à base de cacau. Esta planta pertence à classe Magnoliopsida, ordem Malvales, família Malvaceae, gênero *Theobroma* e espécie cacao, sendo o cacau o principal fruto do gênero (SILVA NETO, 2001; ALEXANDRE et al., 2015; Kongor et al., 2016). Suas sementes são o principal produto com valor e importância econômica, normalmente chamadas de amêndoas ou grãos de cacau, as quais possuem uma casca externa, conhecida como tegumento, película ou testa, que envolve dois cotilédones e um pequeno embrião (Figura 1) (CALIGIANI, MARSEGLIA & PALLA, 2016; OKIYAMA, NAVARRO & RODRIGUES, 2017).

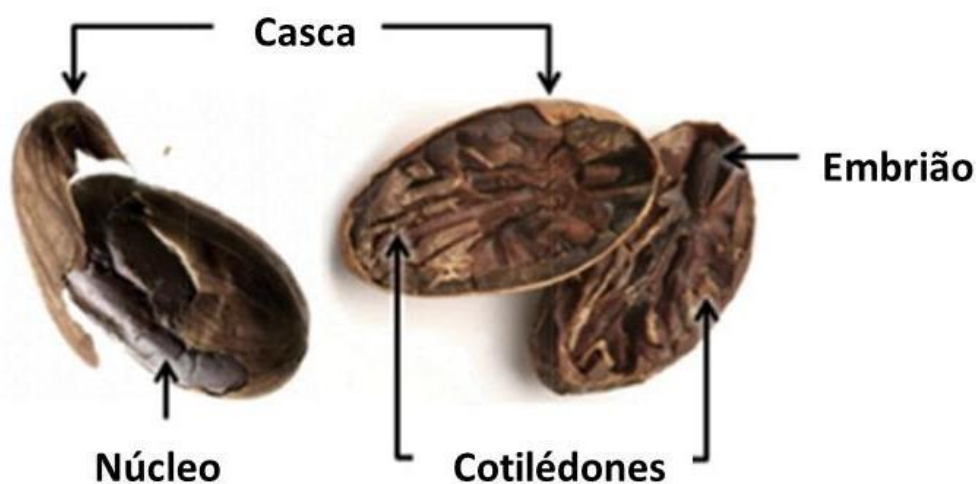


Figura 1, Partes da amêndoa do fruto do cacau. Adaptado de OKIYAMA, NAVARRO, RODRIGUES, 2017.

Os principais países produtores de cacau no mundo são a Costa do Marfim, Gana, Indonésia, Nigéria, Equador, Camarões e Brasil, contribuindo com quase 90% da produção mundial total de grãos de cacau (OKIYAMA, NAVARRO

& RODRIGUES, 2017). A produção mundial de grãos de cacau na safra 2018 foi de 5,5 milhões toneladas (FAO, 2020) e uma exportação de aproximadamente US \$ 47 bilhões de dólares (The International Cocoa Organization, 2018). No Brasil, a produção de cacau está presente em mais de 66 mil propriedades rurais. A elevada rentabilidade e as condições de solo e clima favoráveis ao seu cultivo impulsionaram a rápida expansão e a consolidação da agroindústria cacaueira, principalmente no sul da Bahia (BASTOS, et al., 2018).

O Estado da Bahia é um dos principais produtores de cacau no Brasil e em 2019, o país produziu 259.425 toneladas de cacau e, desse total, 40,54% foi frutificado no sul da Bahia, o que representa 105.000 toneladas (FAO, 2020). O principal produto do cacau é o chocolate (SANTOS, 2013), mas outros produtos como cosméticos, bebidas finas, sucos e sorvetes usam essa fruta como matéria prima (ROJO-POVEDA et al., 2020).

No processo de produção de chocolate, o tegumento da amêndoa do fruto do cacau (TAC) é removido juntamente com o embrião antes ou depois da torrefação e os fragmentos quebrados dos cotilédones, chamados de pontas, são utilizados na produção de chocolate (BECKETT, 2011). A retirada do TAC em produtos gerados a partir dos grãos de cacau é desejável, uma vez que afeta negativamente o processo e a qualidade do produto final. O teor de casca dos produtos de cacau vem sendo utilizado como um importante parâmetro de qualidade (OKIYAMA, NAVARRO, RODRIGUES, 2017).

Estima-se que a produção do TAC seja muito significativa, uma vez que representa 10-17% da semente de cacau (HASHIMOTO et al., 2018). Considerando a produção baiana de amêndoa de cacau na safra de 2019 de 105.000 toneladas, a geração desse resíduo pode ser calculada em aproximadamente 18 mil toneladas (FAOSTAT, 2020). No entanto, a quantidade desses resíduos de descarte pode ser ainda maior, se considerarmos a possibilidade de se ter partes das pontas presas a TAC e o embrião, sendo estas também descartadas (OKIYAMA, NAVARRO & RODRIGUES, 2017).

O TAC é considerado um subproduto industrial da produção de cacau que é geralmente subutilizado ou considerado como um resíduo, o qual é usado principalmente como combustível para caldeiras (ARLORIO et al., 2005). No entanto, nos últimos anos a TAC tem despertado o interesse comercial e industrial, principalmente devido às suas características nutricionais, sendo

economicamente atraente para a sua bioconversão em alimentos valiosos, em função de uma economia circular de base biológica (KOWALSKA et al., 2017; OKIYAMA, NAVARRO & RODRIGUES, 2017; VÁSQUEZ et al., 2019).

O TAC apresenta quantidades consideráveis de compostos bioativos, como por exemplo os polifenóis, além de fibras e baixo teor de gordura, que são conhecidos por serem responsáveis pelos diferentes benefícios relacionados à nutrição e à saúde, proporcionados pelos compostos do cacau (ARLORIO et al., 2005; BADRIE, et al., 2015.). Muitos pesquisadores estão propondo o uso desse subproduto como ingredientes alimentícios, em rações para animais, biocombustível ou outras aplicações de valor agregado (JAHURUL et al., 2013; YUSOF, et al, 2016; OKIYAMA, NAVARRO, RODRIGUES, 2017; PANAK BALENTIĆ, et al., 2018.). Entretanto, ainda não há registro da utilização desse resíduo na formulação de substrato para a produção de cogumelos comestíveis.

2.6. Substrato pós cultivo de *Pleurotus* spp.

As possibilidades de utilização e valorização dos resíduos ou subprodutos agroindustriais ainda são pouco exploradas, especialmente quando são utilizados na perspectiva de uma gestão de resíduos ecologicamente correta, com a geração de novos produtos de valor agregado. Uma alternativa é o tratamento biológico de resíduos através da inoculação com fungos basidiomicetos, que atuam na degradação de resíduos lignocelulósicos, sendo um processo ambientalmente seguro (SCHMIDT et al., 2003). Um exemplo do potencial de tratamento biológico desses resíduos é o seu uso no cultivo de cogumelos comestíveis, o qual se apresenta como processo biotecnológico de reciclagem de resíduos lignocelulósicos (OWAID, ABED & AL-SAEEDI., 2017). Este processo tem dois objetivos principais: a produção de alimento de alta qualidade nutricional e medicinal e a redução de poluentes ambientais (SANCHEZ, 2010). Entretanto, com a produção dos cogumelos são gerados grandes quantidade de substratos pós cultivo (SPC) (MARQUES et al., 2014). A maioria dos SPC são descartados por meio de práticas insustentáveis, como queima a céu aberto, aterramento e incineração, as quais resultam em efeitos ambientais adversos e elevados custos na sua gestão para a indústria (KAPU et al., 2012; GONG et al., 2019; MAHARI et al., 2020). Cerca de 5 kg de SPC são

gerados a partir de cada quilograma de cogumelos fresco produzido (PAREDES et al., 2009; CORRÊA et al., 2016).

A degradação fúngica causa alterações nas características físicas, químicas e biológicas dos SPC (SANTOS AZEVEDO et al., 2009; SHARMA & ARORA, 2015). Os SPC possuem enzimas lignocelulósicas extracelulares liberadas pelo micélio fúngico que possibilitam a liberação de compostos inorgânicos, elevados teores de matéria orgânica, nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), nitrato de amônio e outros nutrientes necessários para a fertilização do solo e crescimento de plantas (Paula et al., 2017; MAHARI et al., 2020). 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 (SALES-CAMPOS et al., 2010; BENTO et al., 2014; KOUTROTSIOS et al., 2014). Koutrotsios et al., (2014), avaliando diferentes resíduos agroindustriais e florestais, relataram redução nos teores de hemicelulose e celulose e aumento da 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* em substratos formulados com resíduos madeireiros e da agroindústria da Amazônia proporcionaram a melhoria da qualidade do substrato residual (incremento de proteína e de energia), devido à maior disponibilidade de nutrientes, em comparação com o substrato inicial.

Diferentes potenciais de aplicação do SPC têm sido discutidos atualmente. A aplicação do SPC na agricultura é um meio economicamente e ecologicamente aceitável (PAREDES et al., 2016) e pode contribuir principalmente para melhorar a qualidade do solo, adsorver quimicamente os poluentes orgânicos e inorgânicos, aumentar a população de microrganismos promotores de crescimento de plantas e apresentar eficiência no controle de fitopatógenos transmitidos no solo (OTHMAN et al., 2020). Os SPC apresentam diversos potenciais, como: substrato de produção de mudas (LOPES et al., 2015), biorremediação do solo e da água (GARCÍA-DELGADO et al., 2013; ADENIPEKUN & LAHAL, 2012.), alimentação animal (WANZENBÖCK et al., 2017), formulações de substratos de produção para novas culturas de cogumelos (CUNHA ZIED et al., 2020) e adubações orgânicas (PAULA et al., 2017).

2.7. O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

O interesse em produtos medicinais derivados de plantas (também conhecidos como fitoterápicos) aumentou significativamente no mundo. Esse interesse é especialmente observado em países desenvolvidos, principalmente em alguns países europeus e nos Estados Unidos (DUTRA, et al., 2016). Os compostos derivados de plantas medicinais são atualmente empregados na terapia moderna, além de desempenhar papel importante na síntese de algumas moléculas mais complexas (SÜNTAR, 2019). Estima-se que cerca de 30% dos medicamentos terapêuticos disponíveis são derivados de fontes naturais, principalmente de plantas e microrganismos (ANAND et al., 2019). Em algumas áreas terapêuticas como a oncologia, a quantidade de medicamentos derivados de plantas atinge 60% (MISHRA & TIWARI, 2011).

A espécie do gênero *Ocimum* apresentam grande variabilidade morfológica, química e genética (PUTIEVSKY & GALAMBOSI, 1999). São oriundas da Ásia, África, América do Sul e Central, e amplamente distribuídas em todo o mundo, adaptando-se bem à países de clima quente (PUTIEVSKY & GALAMBOSI, 1999; TRUTA & ZAMFIRACHE, 2013). Devido a sua importância econômica e medicinal, as espécies do gênero *Ocimum* mais cultivadas no mundo são *Ocimum basilicum* L., *O. africanum* Lour. (syn. *O. citriodorum* Vis.), *O. americanum* L. (syn. *O. canum* Sims.), *O. gratissimum* L., *O. minimum* L., and *O. tenuiflorum* L. (syn. *O. sanctum* L.) (CAROVIC-STANKO et al., 2010).

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), pertence à família *Lamiaceae*, é cosmopolita e cultivado principalmente para fins medicinais e culinários. Desde os tempos antigos, o manjeriço tem sido usado como medicinal ou como ingrediente em vários pratos e bebidas (BURDUCEA et al. 2018). Possui substâncias químicas incluindo monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, com atividade antioxidante e benefícios comprovados para a saúde humana (MAKRI & KINTZIOS, 2008; SZYMANOWSKA et al., 2015; ONOFREI et al., 2017). É tradicionalmente utilizada no tratamento de dores de cabeça, tosse, diarreia, constipação, verrugas, vermes e problemas renais. O óleo essencial de *O. basilicum* apresenta ampla gama de compostos aromáticos, com atividades citotóxica, inseticida, repelente de insetos, alelopática,

antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (PANDEY, SINGH & TRIPATHI, 2014; DHIFI et al., 2016).

A utilização de fertilizantes químicos e nutrientes inorgânicos para maximizar o rendimento da cultura é prática generalizada (YAZDANI et al., 2004). No entanto, a adubação orgânica é boa fonte de macro e micronutrientes e aumenta a capacidade de retenção de água e de troca de cátions do solo (PANDEY, PATEL & PATRA, 2016). Além disso, as práticas agrícolas orgânicas e sustentáveis estão sendo recomendadas, não apenas para obter altos rendimentos, mas também para produzir estabilidade a fim de satisfazer a necessidade de maior segurança alimentar e ambiental (ROUPHAEL et al., 2015).

O plantio de ervas medicinais utilizando o manejo integrado com fertilizantes orgânicos e inorgânicos é a melhor estratégia para melhorar o rendimento e os compostos ativos dessas plantas (MALIK et al., 2011). Segundo Pandey, Patel & Patra, (2016) altos rendimentos de biomassa de manjerição são obtidos utilizando a combinação de adubação orgânica e química sobre a produtividade da cultura, qualidade nutricional e atividade antioxidante. Portanto, combinar duas fontes de adubação orgânica com intuito de otimizar a produção de manjerição pode ser de grande valia na produção dessa espécie e o SPC pode constituir em uma excelente fonte orgânica de nutrientes para o cultivo desta planta medicinal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, Noorlidah; LAU, Ching-Ching; ISMAIL, Siti Marjiana. Potential use of *Lentinus squarrosulus* mushroom as fermenting agent and source of natural antioxidant additive in livestock feed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1459-1466, 2015.

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

ADENIPEKUN, C. O.; LAWAL, R. Uses of mushrooms in bioremediation: A review. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**, v. 7, n. 3, p. 62-68, 2012.

ALEXANDRE, Rodrigo S. et al. Caracterização de frutos de clones de cacaueiros na região litorânea de São Mateus, ES. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 19, n. 8, 2015.

ALEXOPOULOS, Constantine J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. 1996-Introductory mycology.

ALI, Noorhalieza et al. Cultivation of *Pleurotus Ostreatus* on *Oil palm* Fronds Mixed with Rubber Tree Sawdust. **Chemical Engineering Transactions**, v. 63, p. 547-552, 2018.

ANAND, Uttpal et al. Uma revisão abrangente sobre plantas medicinais como terapêutica antimicrobiana: Avenidas potenciais de descoberta de drogas biocompatíveis. **Metabolites**, v. 9, n. 11, pág. 258, 2019.

ANPC - Associação Nacional de produtores de cogumelos. Sobre os cogumelos. Disponível em: <http://www.anpc.org.br/index.php/cogumelos>. Acesso em 25 de Setembro de 2018.

ARLORIO, M. et al. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. **Food Research International**, v. 38, n. 8-9, p. 1009-1014, 2005.

BADRIE, Neela et al. Cocoa agronomy, quality, nutritional, and health aspects. **Critical reviews in Food Science and nutrition**, v. 55, n. 5, p. 620-659, 2015.

BARRETO, Stella Maria Andrade Gomes et al. Evaluation of in vitro and in vivo safety of the by-product of *Agave sisalana* as a new cosmetic raw material: Development and clinical evaluation of a nanoemulsion to improve skin moisturizing. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 470-479, 2017.

BARROS, Murillo Vetroni et al. Mapping of research lines on circular economy practices in agriculture: From waste to energy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 131, p. 109958, 2020.

BASTOS, Eduardo et al. Renascimento da cacauicultura. **Agroanalysis**, v. 37, n. 5, p. 37-41, 2018.

BECKETT, Steve T. (Ed.). **Industrial chocolate manufacture and use**. John Wiley & Sons, 2011.

BELLETTINI, Marcelo Barba et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2019.

BELLETTINI, M. B.; FIORDA, F. A.; BELLETTINI, S. Aspectos gerais do cultivo de cogumelo *Pleurotus ostreatus* e djamor pela técnica Jun–Cao. **Guarapuava, Apprehendere**, v. 92, 2015.

BENTO, Claudia Braga Pereira et al. Influence of white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 28, p. 2724-2732, 2014.

BICALHO, Tereza; BESSOU, Cécile; PACCA, Sergio A. Land use change within EU sustainability criteria for biofuels: The case of oil palm expansion in the Brazilian Amazon. **Renewable energy**, v. 89, p. 588-597, 2016.

BURDUCEA, Marian et al. Fertilization modifies the essential oil and physiology of basil varieties. **Industrial Crops and Products**, v. 121, p. 282-293, 2018.

CALIGIANI, A. Marseglia, A., PALLA, G. Cocoa: Production, Chemistry, and Use. Reference Module in Food Science. **Encyclopedia of Food and Health**, 185-190, 2016.

CAROVIĆ-STANKO, Klaudija et al. Genetic relations among basil taxa (*Ocimum* L.) based on molecular markers, nuclear DNA content, and chromosome number. **Plant Systematics and Evolution**, v. 285, n. 1-2, p. 13-22, 2010.

CARRASCO-GONZÁLEZ, Jorge Alberto; SERNA-SALDÍVAR, Sergio O.; GUTIÉRREZ-URIBE, Janet A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 58, p. 69-81, 2017.

CHANAKYA, H. N.; MALAYIL, Sreesha; VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues. **Energy for sustainable development**, v. 27, p. 84-92, 2015.

CHENG, S. F. et al. Microwave pretreatment: A clean and dry method for palm oil production. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 967-971, 2011.

CHIN, May Ji et al. Biogas from palm oil mill effluent (POME): Opportunities and challenges from Malaysia's perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 26, p. 717-726, 2013.

COGORNÍ, Paula Fernanda Bomfim Oliveira et al. The production of *Pleurotus sajor-caju* in peach palm leaves (*Bactris gasipaes*) and evaluation of its use to enrich wheat flour. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 267-274, 2014.

COLEMAN-DERR, Devin et al. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. **New Phytologist**, v. 209, n. 2, p. 798-811, 2016.

CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). (2015) Sisal 2015: Retrospectiva. Disponível
http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/sisal__conjuntura_especial__retrospectiva_2015-1.pdf. Acesso em 23 de agosto, 2018.

CORRÊA, Rúbia Carvalho Gomes et al. 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.

CUNHA ZIED, Diego et al. Use of Spent Mushroom Substrate in New Mushroom Crops to Promote the Transition towards A Circular Economy. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1239, 2020.

DHIFI, Wissal et al. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 25, 2016.

DIAS, Acácia Batista et al. Potencial de Indicação Geográfica do Sisal na Bahia. **Cadernos de Prospecção**, v. 8, n. 1, p. 174, 2015.

DO CARMO, Cristiano Oliveira et al. Bioconversion of sisal agro-industrial waste into high protein oyster mushrooms. **Bioresource Technology Reports**, p. 100657, 2021.

DOS SANTOS, R. D. et al. Coprodutos do desfibramento do sisal como alternativa na alimentação de ruminantes. **Embrapa Semiárido-Circular Técnica (INFOTECA-E)**. 2013.

DOS SANTOS, Ariane Teixeira et al. Análise sensorial de um biscoito funcional a base de cacau e aveia. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 3, 2015.

DUTRA, Rafael C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

DUVNJAK, Dunja et al. Advances in batch culture fermented *Coriolus versicolor* medicinal mushroom for the production of antibacterial compounds. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 34, p. 1-8, 2016.

EIRA, A. A.; BUENO, F. S. Cultivo de cogumelo Shimeji e Hiratake. **Viçosa: CPT**, 2005.

FAN, L. et al. Use of various coffee industry residues for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation. **Acta Biotechnologica**, v. 20, n. 1, p. 41-52, 2000.

FAOSTAT. Production. FAO Statistics Division 2019 | <
<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 05 de janeiro de 2020.

FERNANDES, Ângela et al. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. **Food chemistry**, v. 169, p. 396-400, 2015.

FURLAN JÚNIOR, J.; DE OLIVEIRA, R. F.; TEIXEIRA, L. B. Compostagem de engaços de dendê em processo de revolvimento mecanizado. **Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

GARCÍA-DELGADO, C. et al. Cadmium and lead bioavailability and their effects on polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation by spent mushroom substrate. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 12, p. 8690-8699, 2013.

GONG, Xiaoqiang et al. Spent mushroom substrate and cattle manure amendments enhance the transformation of garden waste into vermicomposts using the earthworm *Eisenia fetida*. **Journal of environmental management**, v. 248, p. 109263, 2019.

GONZÁLEZ, Abigail et al. Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. **Food & Function**, v. 11, n. 9, p. 7400-7414, 2020.

GUILLAMÓN, Eva et al. Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 715-723, 2010.

HASHIMOTO, Juliana C. et al., Quality control of commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) by near-infrared spectroscopy. **Food analytical methods**, v. 11, n. 5, p. 1510-1517, 2018.

HOA, Ha Thi; WANG, Chun-Li. The effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). **Mycobiology**, v. 43, n. 1, p. 14-23, 2015.

HOFFMANN, Simone. **Caracterização físico-química do caroço de dendê visando futuras aplicações**. 2016. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pampa

KAKON, A. J.; CHOUDHURY, Md Bazlul Karim; SAHA, Shusmita. Mushroom is an ideal food supplement. **Journal of Dhaka National Medical College & Hospital**, v. 18, n. 1, p. 58-62, 2012.

KAN, Xiang et al. Energy performance of an integrated bio-and-thermal hybrid system for lignocellulosic biomass waste treatment. **Bioresource technology**, v. 228, p. 77-88, 2017.

KALAČ, Pavel. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. **Food chemistry**, v. 113, n. 1, p. 9-16, 2009.

KAPU, N. U. S. et al. Surfactant-assisted pretreatment and enzymatic hydrolysis of spent mushroom compost for the production of sugars. **Bioresource technology**, v. 114, p. 399-405, 2012.

KHATUN, Rahima et al. Sustainable oil palm industry: The possibilities. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 608-619, 2017.

KIM, Kyoungju et al. Bioproduction of mushroom mycelium of *Agaricus bisporus* by commercial submerged fermentation for the production of meat analogue. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 9, p. 1561-1568, 2011.

KNOP, Doriv; YARDEN, Oded; HADAR, Yitzhak. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 3, p. 1025-1038, 2015.

KONGOR, John Edem et al. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - A review. **Food Research International**, v. 82, p. 44-52, 2016.

KOTHARI, Damini; PATEL, Seema; KIM, Soo-Ki. Anticancer and other therapeutic relevance of mushroom polysaccharides: A holistic appraisal. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 377-394, 2018.

KOUTROTSIOS, Georgios et al. Bioactive compounds and antioxidant activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 5, p. 98, 2017.

KOUTROTSIOS, Georgios et al. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi—Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. **Food chemistry**, v. 161, p. 127-135, 2014.

KOWALSKA, Hanna et al. What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 150-159, 2017.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola - Lavoura Permanente. 2018. Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/pesquisa/15/12040?tipo=grafico&indicador=12042>. Acesso em: 08 Novembro de 2018.

JAHURUL, M. H. A. et al. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 467-476, 2013.

JEZNABADI, Elahe Kazemi et al. Effects of various substrates and supplements on king oyster (*Pleurotus eryngii*). **Compost Science & Utilization**, v. 25, n. sup1, p. S1-S10, 2017.

LETTI, Luiz A. Junior et al. Solid-State Fermentation for the Production of Mushrooms. In: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. 2018. p. 285-318.

LI, Huizhen et al. Yield, size, nutritional value, and antioxidant activity of oyster mushrooms grown on perilla stalks. **Saudi journal of biological sciences**, v. 24, n. 2, p. 347-354, 2017.

LIN, Chiu-Yue et al. Biohydrogen Production from Mushroom Cultivation Waste by Anaerobic Solid-state Fermentation. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 63, n. 2, p. 199-204, 2016.

LIU, Dan et al. Nutrient properties and nuclear magnetic resonance-based metabonomic analysis of macrofungi. **Foods**, v. 8, n. 9, p. 397, 2019.

LOPES, Raul Xavier et al. 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, n. 3, p. 211-218, 2015.

MA, Gaoxing et al. A Critical Review on the Health Promoting Effects of Mushrooms Nutraceuticals. **Food Science and Human Wellness**, 2018.

MAFTOUN, Parisa et al. The edible mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and nutritional values. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 4, n. 2, p. 67-83, 2015.

MAHARI, Wan Adibah Wan et al. A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. **Journal of Hazardous Materials**, p. 123156, 2020.

MAKRI, Olga; KINTZIOS, Spiridon. *Ocimum* sp.(basil): Botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. **Journal of herbs, spices & medicinal plants**, v. 13, n. 3, p. 123-150, 2008.

MALIK, Afaq Ahmad; SURYAPANI, Sanghmitra; AHMAD, Javed. Chemical vs organic cultivation of medicinal and aromatic plants: the choice is clear. **Int J Med Arom Plants**, v. 1, n. 1, p. 5-13, 2011.

MARQUES, E. L. S. et al. Spent mushroom compost as a substrate for the production of lettuce seedlings. **Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 7, p. 138, 2014.

MARAN, J. Prakash; PRIYA, B. Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 732-738, 2014.

MEDINA, E. et al. Relationships between soil physico-chemical, chemical and biological properties in a soil amended with spent mushroom substrate. **Geoderma**, v. 173, p. 152-161, 2012.

MEYER, Vera et al. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. *Fungal Biology and Biotechnology*, v. 7, n. 1, 2020.

MILES, Philip G.; CHANG, Shu-Ting. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. CRC press, 2004.

MISHRA, Supriya et al. A review on pineapple leaf fibers, sisal fibers and their biocomposites. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 289, n. 11, p. 955-974, 2004.

MISHRA, Bhuwan B.; TIWARI, Vinod K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4769-4807, 2011.

NTIAMOAH, Augustine; AFRANE, George. Environmental impacts of cocoa production and processing in Ghana: life cycle assessment approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 16, n. 16, p. 1735-1740, 2008.

OLIVEIRA, Nayara Morgana Lima de et al. Reaproveitamento de resíduos da cadeia do biodiesel obtido a partir do óleo de palma (*Elaeis guineenses*). **Bioenergia em Revista: Diálogos (ISSN: 2236-9171)**, v. 7, n. 1, 2017.

OKIYAMA, Dayane CG; NAVARRO, Sandra LB; RODRIGUES, Christianne EC. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 103-112, 2017.

ONOFREI, Vasilica et al. Influence of organic foliar fertilization on antioxidant activity and content of polyphenols in *Ocimum basilicum* L. **Acta poloniae pharmaceutica**, v. 74, n. 2, p. 611-615, 2017.

OTHMAN, Nor Zalina et al. Spent Mushroom Substrate as Biofertilizer for Agriculture Application. In: **Valorisation of Agro-industrial Residues–Volume I: Biological Approaches**. Springer, Cham, 2020. p. 37-57.

OWAID, Mustafa Nadhim; ABED, Idham Ali; AL-SAEEDI, Sajid Salahuddin Saleem. Applicable properties of the bio-fertilizer spent mushroom substrate in organic systems as a byproduct from the cultivation of *Pleurotus* spp. **Information Processing in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 78-82, 2017.

PANDEY, Abhay Kumar; SINGH, Pooja; TRIPATHI, Nijendra Nath. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 9, p. 682-694, 2014.

PANAK BALENTIĆ, Jelena et al. Cocoa shell: A by-product with great potential for wide application. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1404, 2018.

PANDEY, Vineeta; PATEL, Anju; PATRA, D. D. Integrated nutrient regimes ameliorate crop productivity, nutritive value, antioxidant activity and volatiles in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 124-131, 2016.

PATEL, Yashvant; NARAIAN, Ram; SINGH, V. K. Medicinal properties of *Pleurotus* species (oyster mushroom): a review. **World Journal of Fungal and Plant Biology**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2012.

PAREDES, C. et al. Effects of spent mushroom substrates and inorganic fertilizer on the characteristics of a calcareous clayey-loam soil and lettuce production. **Soil Use and Management**, v. 32, n. 4, p. 487-494, 2016.

PAREDES, Concepcion et al. Characterization of the different organic matter fractions of spent mushroom substrate. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 40, n. 1-6, p. 150-161, 2009.

PAULA, Fabiana S. et al. Stabilisation of spent mushroom substrate for application as a plant growth-promoting organic amendment. **Journal of environmental management**, v. 196, p. 476-486, 2017.

PÉREZ-MARTÍNEZ, Ana S. et al. A perspective on the use of *Pleurotus* for the development of convenient fungi-made oral subunit vaccines. **Vaccine**, v. 33, n. 1, p. 25-33, 2015.

PUTIEVSKY, Eli et al. Production systems of sweet basil. **Basil: the genus *Ocimum***, v. 10, p. 39-65, 1999.

RAMZY, Amna et al. Developing a new generation of sisal composite fibres for use in industrial applications. **Composites Part B: Engineering**, v. 66, p. 287-298, 2014.

REIS, Filipa S. et al., Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 48-62, 2017.

RIBEIRO, Bernardo Dias; BARRETO, Daniel Weingart; COELHO, Maria Alice Zarur. 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.

RONCERO-RAMOS, Irene; DELGADO-ANDRADE, Cristina. The beneficial role of edible mushrooms in human health. **Current Opinion in Food Science**, v. 14, p. 122-128, 2017.

ROSA, M. F. et al. Valorização de resíduos da agroindústria. **II Simpósio internacional sobre gerenciamento de resíduos agropecuários e agroindustriais–II SIGERA**, v. 15, 2011.

ROUPHAEL, Youssef et al. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 91-108, 2015.

ROYSE, Daniel J.; BAARS, Johan; TAN, Qi. Current overview of mushroom production in the world. **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications**, p. 5-13, 2017.

SABARATNAM, Vikineswary et al. Neuronal health—can culinary and medicinal mushrooms help? **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 3, n. 1, p. 62-68, 2013.

SARDAR, Hasan et al. Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 327-334, 2017.

SAKAMOTO, Yuichi. Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. **Fungal Biology Reviews**, 2018.

SALES-CAMPOS, Ceci et al. Análise físico-química e composição nutricional da matéria prima e de substratos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. **Interciencia**, v. 35, n. 1, 2010.

SÁNCHEZ, Carmen. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1321-1337, 2010.

SANTOS, Carine Oliveira dos. Aproveitamento industrial de “mel” de cacau (*Theobroma cacao* L.) na produção de geleia sem adição de açúcar. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, p. 92f.

SAMUEL, Ajonina A.; EUGENE, Tatah L. Growth performance and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates composition in Buea South West Cameroon. **Science journal of biochemistry**, v. 2012, 2012.

SANTOS AZEVEDO, Raquel et al. 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, n. 2, 2009.

SCHMIDT, Patrick et al. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1866-1871, 2003.

SHARMA, Rakesh Kumar; ARORA, Daljit Singh. Fungal degradation of lignocellulosic residues: an aspect of improved nutritive quality. **Critical reviews in microbiology**, v. 41, n. 1, p. 52-60, 2015.

SHARMA, S.; VARSHNEY, V. K. Chemical analysis of *Agave sisalana* juice for its possible utilization. **Acta Chim. Pharm. Indica**, v. 2, p. 60-66, 2012.

SILVA NETO, P. J. da. **Sistema de produção de cacau para a Amazônia brasileira**. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Belém, PA (Brasil), 2001.

SILVA, Rafael Mota da et al. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated in agroindustrial wastes of palm oil fruits and cocoa almonds. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020.

SOUZA, Helenires Queiroz de; AGUIAR, Izonete de Jesus Araújo. Diversity of Agaricales (*Basidiomycota*) in the Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 43-51, 2004.

SÜNTAR, Ipek. Importance of ethno pharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. **Phytochemistry Reviews**, p. 1-11, 2019.

SZYMANOWSKA, Urszula et al. Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors. **Food chemistry**, v. 172, p. 71-77, 2015.

THATOI, Hrudayanath; SINGDEVSACHAN, Sameer Kumar. Diversity, nutritional composition and medicinal potential of Indian mushrooms: A review. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 4, 2014.

The International Cocoa Organization, 2018. ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLIV, No. 3, Cocoa year 2017/18

TRUTA, Elena; ZAMFIRACHE, Maria Magdalena. Preliminary cytogenetical investigation in two common basil varieties. **Analele Stiintifice ale Universitatii" Al. I. Cuza" Din Iasi. (Serie Noua). Sectiunea 2. a. Genetica si Biologie Moleculara**, v. 14, n. 2, p. 29, 2013.

TSUJIYAMA, Sho-ichi; UENO, Hitomi. Performance of wood-rotting fungi-based enzymes on enzymic saccharification of rice straw. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 11, p. 2841-2848, 2013.

URBEN, Arailde Fontes. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. **Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Desenvolvimento**, 2017.

ULZIJARGAL, Enkhjargal et al. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 70-76, 2013.

VALVERDE, María Elena; HERNÁNDEZ-PÉREZ, Talía; PAREDES-LÓPEZ, Octavio. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. **International journal of microbiology**, v. 2015, 2015.

VÁSQUEZ, Zulma S. et al. Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. **Waste Management**, v. 90, p. 72-83, 2019.

WANZENBÖCK, Elisa et al. Wheat bran biodegradation by edible *Pleurotus* fungi—A sustainable perspective for food and feed. **LWT-Food Science and Technology**, v. 86, p. 123-131, 2017.

WASSER, Solomon. Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. **Biomedical journal**, v. 37, n. 6, 2014.

YANG, WenJie; GUO, FengLing; WAN, ZhengJie. Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. **Saudi journal of biological sciences**, v. 20, n. 4, p. 333-338, 2013.

YAZDANI, D.; SHAHNAZI, S.; SEIFI, H. Cultivation of medicinal plants medicinal plant. 2004.

YUSOF, Faridah et al. Cocoa pod husk, a new source of hydrolase enzymes for preparation of cross-linked enzyme aggregate. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, p. 57, 2016.

ZHANG, Yin et al. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms—A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 33, n. 2, p. 78-92, 2013.

ZIED, Diego Cunha et al. Use of peanut waste for oyster mushroom substrate supplementation - oyster mushroom and peanut waste. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1021-1029, 2019.

Capítulo 1

PRODUCTION AND NUTRITIONAL QUALITY OF *Pleurotus ostreatus* USING SISAL AND COCOA AGROINDUSTRIAL RESIDUES

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

Produção e qualidade nutricional de *Pleurotus ostreatus* utilizando resíduos agroindustriais de sisal e cacau

Autora: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Resumo: O uso de resíduos agroindustriais para produção e melhoria da qualidade nutricional dos cogumelos tem sido recomendado e se tornou uma das principais prioridades de pesquisa no passado recente. Os objetivos do trabalho foram avaliar o potencial da suplementação do substrato de produção de *P. ostreatus*, composto por dois resíduos de sisal (RS), utilizando o tegumento da amêndoa do cacau (TAC), e avaliar a atividade antioxidante, composição nutricional e metabólica dos cogumelos. Foram avaliadas duas linhagens de *P. ostreatus*: Hiratake branco (HB) e Hiratake preto (SP), em substratos formulados com RS, suplementado com 20% de farelo de trigo (FT), 20% de TAC e um tratamento sem suplementação. O potencial da suplementação com TAC foi determinado através da avaliação do crescimento micelial, eficiência biológica (EB), rendimento, características nutricionais, atividade antioxidante e metabólitos dos corpos de frutificação das linhagens de *P. ostreatus*. A suplementação com FT e TAC favoreceu o crescimento micelial, independente da linhagem. Entretanto, o início da formação dos primórdios (25 dias), maior eficiência biológica (73,25 e 78,25 %) e maior rendimento (195,25 e 196,25 g kg⁻¹) foram obtidos no substrato inoculado com o HB. A linhagem HB em substrato com TAC apresentou maior atividade antioxidante pelo método DPPH (5,79 mg mL⁻¹) e maior quantidade de metabólitos, com presença de todos os aminoácidos essenciais, em comparação com o HP. O substrato com RS suplementado com TAC proporcionou aumento da produção, atividade antioxidante, propriedades centesimais e de metabólitos nos corpos de frutificação da linhagem HB de *P. ostreatus*, demonstrando o grande potencial da utilização dessa fonte orgânica na suplementação desses substratos para o cultivo de *P. ostreatus*.

Palavras-chave: Cogumelo ostra, Agave sisalana, Resíduo de sisal, Atividade antioxidante, Metabólitos fúngicos.

Production and nutritional quality of *Pleurotus ostreatus* using sisal and cocoa agroindustrial residues

Author: Cristiano Oliveira do Carmo

Adviser: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Abstract: The use of agro-industrial residues for the production and improvement of the nutritional quality of mushrooms has been recommended and has become one of the main research priorities in the recent past. The objectives of this work were to evaluate the potential of supplementing the substrate for production of *P. ostreatus*, composed of two sisal residues (SR), using the cacao almond peel (CAP) residue, and to evaluate the antioxidant activity, nutritional and metabolic composition of the mushrooms. Two *P. ostreatus* strains were evaluated: white Hiratake (HB) and black Hiratake (BH), on substrates formulated with SR, supplemented with 20% wheat bran (WB), 20% CAP, and a treatment without supplementation. The potential of TAC supplementation was determined through the evaluation of mycelial growth, biological efficiency (BE), yield, nutritional characteristics, antioxidant activity and metabolites of the fruiting bodies of the *P. ostreatus* strains. Supplementation with WB and CAP favored mycelial growth, regardless of the lineage. However, the beginning of primordium formation (25 days), greater biological efficiency (73.25 and 78.25%) and yield (195.25 and 196.25 g kg⁻¹) were obtained from the substrate inoculated with HB. The HB strain on substrate with CAP showed greater antioxidant activity by the DPPH method (5.79 mg mL⁻¹) and greater quantities of metabolites, with the presence of all essential amino acids, compared to BH. The substrate with SR supplemented with CAP provided increased production, antioxidant activity, proximate and metabolite properties in the fruiting bodies of the HB lineage of *P. ostreatus*, demonstrating the great potential of using this organic source to supplement these substrates for the cultivation of *P. ostreatus*.

Keywords: Oyster mushroom, Agave sisalana, Sisal residue, Antioxidant activity, Fungal metabolites.

1. INTRODUCTION

Mushrooms are edible fungi widely consumed and appreciated worldwide, for their nutritional and medicinal value, and also because of their unique flavor (Valverde, Hernández-Pérez & Paredes-López, 2015; Sun et al., 2020). They are rich in proteins, with essential and non-essential amino-acids, fiber, carbohydrates, and vitamins, which are important for human life (Liu et al., 2019; Corrêa et al., 2016; Carrasco-González, Serna-Saldívar & Gutiérrez-Urbe, 2017). Moreover, mushrooms are considered as functional food with nutritional and medicinal properties (Nam et al., 2018; Atli, Yamaç, Yıldız & Şölener, 2019), with antioxidant properties that promote reduction in oxidative damage in humans and protection against types of cancer and cardiovascular diseases (Rashidi & Yang, 2016; Corrêa, Brugnari, Bracht, Peralta & Ferreira, 2016). Mushrooms contain many bioactive substances such as lectins and nucleotides, which can improve human metabolism and the immune system (KHATUN et al., 2015). These characteristics have made them a preferred product for consumers concerned with their health (Valverde, Hernández-Pérez & Paredes-López, 2015), as food, dietary supplement, or ingredient for processing functional foods (Carrasco-González, Serna-Saldívar, Gutiérrez-Urbe, 2017).

Amongst the cultivated edible mushrooms, *Pleurotus ostreatus* is the second most cultivated worldwide (Hoa, Wang & Wang, 2015; Sardar, et al., 2017). Besides all the nutritional and medicinal value, its growth in agro-industrial wastes involves a relatively low-cost technology that can generate income with the recycling of several wastes through the efficient bioconversion of several wastes into nutritious food (Bellettini et al., 2019; Raman et al., 2020). *P. ostreatus*, known as Oyster mushroom, can grow in woods and its cultivation has been spread throughout the world with the utilization of a wide range of lignocellulosic wastes (Letti et al., 2018; Pereira et al., 2017, Sardar et al., 2017; Yamauchi, et al., 2018).

Sisal (Agave *sisalana* Perrine) has been cultivated for many decades in several countries for fiber extraction (FAO, 2020). During the leaf decortication process for fiber extraction, great quantities of a solid and liquid waste, basically composed of leaf pulp and some fibers, is produced and is mainly left in the sisal fields without any use. A very small proportion of this waste is used for animal

feedstock, or for soil fertilization in sisal fields (Cantalino, Torres, & Silva, 2015). However, this lignocellulosic waste has the potential for being used as substrate for mushroom growth, especially for *P. ostreatus* growth (Muthangya, Mshandete, Amana, Hashim, & Kivaisi, 2014; Raymond, Mshandete & Kivaisi, 2015). Brazil is the world's largest sisal fiber producer and exporter (FAO, 2020), and the state of Bahia produces approximately 95% of all Brazil's sisal fiber (IBGE, 2019). In 2018, approximately 78 thousand tons of sisal fiber were produced in Brazil, out of 300 thousand tons produced worldwide (FAO, 2020). However, the fiber represents only 4 to 5 % of the leaf fresh weight, and the other 96 % of the shredded leaf contains 16 % of a solid waste and 80 % of a liquid waste, which is mostly left in the sisal fields without any treatment or use (MARAN & PRIYA, 2014). Therefore, the formulation of mushroom substrates with this lignocellulosic waste for *P. ostreatus* production can prevent its accumulation in the sisal fields and the environment, while generating a highly nutritious food and a source of income for the population of those sisal producing regions, which is composed mainly of very poor family-based farmers that live in the semiarid region of Bahia state, with very few opportunities for income generation.

The supplementation of lignocellulosic wastes for production of *P. ostreatus* is a common practice for improving the biological efficiency in converting them into edible products (Jeznabadi, Jafarpour, Eghbalsaied & Pessarakli 2017). Organic wastes rich in nitrogen such as: soybean bran, wheat bran, rice bran, corn cob, peanut shells, cocoa almond peels and wood saw dust have been recommended for the supplementation of substrates for mushroom growth, such as *P. ostreatus* (Adebayo, Omolara & Toyin 2009; Fanadzo, Zireva, Dube, & Mashingaidze 2010; Zied, Prado, Dias, Pardo, & Pardo-Gimenez, 2019; Silva et al., 2020). However, factors such as seasonality, competition of animal and human feed, and availability of these materials in the mushroom growth region can be a problem for this technology (Jin, Li, Ren & Qin, 2018). For cost reduction and yield improvement, it is necessary to select organic materials of low cost and availability, that have the potential to be used as substrate supplements for production of *P. ostreatus* (Zhai & Han, 2018).

The state of Bahia, in Brazil, is also the highest cocoa (*Theobroma cacao* L.) producer, for the chocolate industries. In 2018/2019, Brazil produced 255 tons of cocoa, and 68.9 % was from the Southern region of Bahia, representing 175.69

tons (IBGE 2019). During the cocoa seed processing, the seed peel is removed from the cocoa almond (Rojo-Poveda, Barbosa-Pereira, Zeppa, & Stévigny, 2020), and it is estimated that the production of cocoa almond peel (CAP) is very high, representing 10 to 17 % of the cocoa seeds (Okiyama, Navarro, Rodrigues, 2017). Considering the production of cocoa almonds in Bahia, in the years 2018/2019, cocoa almond peels can be estimated in approximately 18 thousand tons (FAOSTAT, 2020). Generally, this cocoa waste is used in part as fuel for industrial boilers (Arlorio et al., 2005), although there are uses for animal feed and in formulations of organic soil fertilizers (Ntiamoah & Afrane, 2008).

This work aimed to evaluate: i) the potential of using CAP as a supplement for growth substrates of two strains of *P. ostreatus* composed of two sisal residues, as a possible substitute for wheat bran; ii) to evaluate the antioxidant activity of the produced mushrooms, and iii) to quantify and identify the fruiting body nutritional and metabolites composition, for the different substrates used.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Microorganisms and growth conditions

Two strains of *P. ostreatus*, codified as WH (White Hiratake) and BH (black Hiratake) were used. Strain WH was obtained from the fungal collection of the Laboratory for Mycorrhizal Associations of the Department of Microbiology from the Federal University of Viçosa, in Minas Gerais, Brazil. The BH strain was donated by the Nayumi Cogumelos company, located in São Paulo, Brazil. For inoculum preparation, mycelium agar plugs preserved in glass vials with sterile water were transferred to Petri plates with potato dextrose agar (PDA) medium (Bononi et al., 1999). The cultures were incubated at 25° C, without photoperiod, for seven days, and they were then preserved at 4°C for future use.

2.2 Production of inoculum (*spawn*)

Sorghum (*Sorghum bicolor*) grains were used for growth of both strains of *P. ostreatus*. The grains were washed in tap water and soaked in water for 2 hours (2:1 water: sorghum seeds, volume: weight). Excess water was removed through sieving with a household plastic sieve and the grains were transferred to glass bottles, with 100 g of seeds per bottle. They were then sterilized in an autoclave at 121 °C for 55 min. After sterilization, each bottle was inoculated with three agar plugs (5 mm diameter) of *P. ostreatus* strain grown on PDA, and they were incubated at 25 °C, in the dark, for 20 days. The grains colonized by the fungus are denominated *spawn*.

2.3. Agro-industrial wastes and substrate formulations

The solid waste from the sisal leaf decortication process for fiber extraction (sisal residue - SR) was collected in a sisal field, at the moment of the fiber extraction process, in the municipality of Valente, state of Bahia, Brazil, and it was spread in a concreted floor, and sun-dried for 48 hs. The waste from industrial processing of sisal dry fiber, known as an industrial sisal powder (ISP) was collected at a sisal dry fiber industry in the municipality of Conceição do Coité, state of Bahia, Brazil. The cocoa almond peel (CAP) waste was collected in the Southern region of Bahia, in a cocoa industry. Wheat bran (WB) was purchased in a local store for agricultural and animal products.

The ISP and SR were separately soaked in water for 4 hr, and this process was repeated three times for thorough washing. These wastes were then soaked in a solution of 0,5 % lime (CaCO_3) for 12 hr. After these treatments, a mixture of SR and ISP was prepared with the proportion of 70/30 (gram: gram) of each respectively. The substrates were formulated with this mixture of sisal wastes and were supplemented with 20 % of CAP or 20 % of WB, and the control treatment was formed by the mixture of sisal wastes without supplementation. All substrate formulations received 3 % of triturated charcoal. The 70/30 proportion of the sisal wastes was based on previous studies (Do Carmo, 2021).

2.4. Production of *P. ostreatus* in mushroom growth chamber

To evaluate production of *P. ostreatus* the water content of the different formulated substrates was adjusted to 70 % with the addition of tap water. The substrates were transferred to polyethylene bags with a filter for gas exchange, with 2 kg (fresh weight) per bag, and they were sterilized in the autoclave at 121 °C for 55 mins. After cooling, the substrates were inoculated with 40 g of spawn per bag (2 % of the substrate weight), and they were incubated at $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, with air humidity at 75 to 80 %. After complete colonization, the bags were transferred to a mushroom growth chamber and received a temperature shock through the reduction of the temperature to $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, with an automated nebulization system with fans for ventilation, which was programmed to stay on for 3 minutes, five times during the day. A total of 12 holes were made at equidistant points on the bags surface, with a stain less steel scalp, for emission of the mushrooms. The growth chamber was kept at a temperature of 25°C and air humidity between 80 to 90 %, with the automated nebulization and ventilation system throughout the production period.

Fruiting body were harvested two times a day, when they presented an almost flat pileo. After harvest, they were weighed and counted for the number of bunches and basidioms. Afterwards, they were dried at 45°C in an air circulating oven.

2.5. Fruiting body growth parameters

The growth parameters measured were the following: time for growth cycle completion (colonization, primordia formation, fruiting body production), and precocity defined as the time between the inoculation date and the formation of primordia.

2.5.1 Biological Efficiency (BE)

Biological efficiency, that is, the capacity of bioconversion of substrate into *P. ostreatus* mushrooms, was calculated with the following equation: $\text{BE}\% = (\text{fruiting body fresh weight} / \text{substrate initial dry weight}) \times 100$ (Royse et al., 2004).

2.5.2. Yield

The yield was expressed as the production of fresh mushrooms per fresh substrate.

2.5.3. Productivity rate

The Productivity was expressed as production of mushrooms per day.

2.6. Antioxidant activity and phenolic compounds

2.6.1. Fruiting body extract preparation

For preparation of the extracts, mushrooms of both strains of *P. ostreatus* were dried at 45 °C and triturated in a Willey type mill. The extraction was conducted as described by Mau et al. (2002) with modifications. Ten grams of dried and triturated mushrooms were mixed with 100 mL of ethanol and this mixture was incubated at 25 °C in a rotative shaker at 115 rpm for 24 hours. This extraction process was repeated three times with the removal of the ethanol through decantation, and addition of 100 mL fresh ethanol. The ethanol from all extractions was combined and the solvent was removed in a rotative evaporator at 40° C. The dried extracts were maintained at 4 °C in the dark.

2.6.2. Antioxidant activity

Antioxidant activity of the mushrooms was measured with the ethanol extract, with two methods: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), with the ethanol extracts at the concentrations varying from 2.5 to 12.5 mg mL⁻¹. Trolox, at concentrations varying from 0.0025 to 0.25 mg mL⁻¹, was used as a standard for both methods.

The capacity to DPPH radical scavenging was conducted according to the method described by Hatano et al. (1988) with modifications. The extract (0.3mL) was mixed with 2.7mL of a solution of methanol with radicals' DPPH (6×10^{-5} mol L⁻¹). This mixture was shaken in an orbital shaker and left to stand for 60 minutes at room temperature in the dark (until it reached stable absorbance values). The reduction of the radical DPPH was measured through continuous monitoring of reduction of absorption at 517 nm in a spectrophotometer (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation). The effect of DPPH elimination was calculated as

the percentage of discoloration of DPPH, with the following equation: $[(A_{\text{DPPH}} - A_s) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$, where: A_s is the absorbance of the solution when the sample extract was added, and A_{DPPH} is the absorbance of the DPPH solution. The concentration of the sample methanolic extract which promoted 50% inhibition (EC_{50}) was determined based on the graph of the capture effect percentage against the extract concentration in the solution.

The determination by the method ABTS described by Sánchez et al. (2007), with absorbance measured at 734 nm in a spectrophotometer (Genesysm 10UV, Thermo Electron Corporation).

2.6.3. Detection of different groups of phenolic compounds

The total phenols derived from the acid hydroxycinnamic and contents of flavonols were determined, in triplicates, with the methanol extract in the concentrations of 2.5 and 12.5 mg mL⁻¹, according to the method described by Boulanouar et al. (2013). The data were expressed as equivalents: gallic acid (GAE) g⁻¹ extract for total phenols, caffeic acid (CAE) g⁻¹ extract for hydroxycinnamic acid derivatives and Quercetin (QE) g⁻¹ extract for flavonols.

2.7. Metabolic analysis

2.7.1. Sample preparation and spectrum acquisition

An aliquot of 10 mg each methanol extract was dissolved in 0.6 mL of phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4) prepared with D₂O and 0.5 mM TMSP-d₄. The samples were added to a 5 mm NMR tube for immediate acquisition. The spectra were acquired using an Agilent DD2 500 MHz or Varian / Agilent Inova® 600 MHz spectrometer (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) equipped with a cold triple resonance probe at 25°C. The acquisition of ¹H-NMR spectra was performed with 256 collected scans and 32 K data points in a spectral width of 8,000 Hz. A relaxation delay of 1.5 s was incorporated between the scans, during which a field of continuous water pre-saturation radio frequency (RF) was applied to eliminate the residual water signal. The ¹³C NMR spectra were acquired with

30,000 scans collected with 65 K data points over a spectral width of 31250 Hz and a relaxation delay of 3.0 s.

2D NMR spectra ^1H - ^1H -COSY were acquired using a spectral width of 8,000 Hz and 256 increments with 24 complex 2k point transients for each free induction decay. 2D NMR spectra of ^1H - ^{13}C HSQC were recorded with a spectral width of 8,000 Hz x 25133 Hz. 512 increments were acquired with 24 complex 2k point transients. In both 2D NMR spectra, such as ^1H NMR spectra, a relaxation delay of 1.5 s was incorporated between the water pre-saturation radio frequency scans to eliminate the water signal.

2.7.2. Quantification of metabolites

NMR spectral data were processed using NMR Suite software version 8.1 (Chenomx Inc TM, Edmonton, AB, Canada). The processor module of this software was used to adjust the spectral phase and the baseline corrections. A 0.5 Hz line magnification function was used to reduce signal noise and facilitate adjustment of the metabolite signals at spectral peaks. The water signal was suppressed and the spectra were calibrated using the TMSP-d4 reference signal as 0.5 mM. The spectra were transferred individually to the Profiling module of this software to determine the metabolic profile of each group. Thereafter, the metabolites were identified and their concentrations were measured. The metabolite concentration data was exported to Excel® (Microsoft Office TM 365) and normalized. The ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, and ^1H - ^{13}C HSQC spectra were used to confirm the identity of the metabolites.

2.8. Determination of mineral elements

The dried and triturated mushrooms were weighed and 0.100 ± 0.001 g of each sample was digested with concentrated nitric acid (65 % nitric acid, Merck) and hydrogen peroxide (29% hydrogen peroxide, Synth). The samples were filtered through filter paper (125 mm) and diluted with distilled water to a final volume of 50.0 mL (Silva et al., 2009). Each treatment was processed with five replications. Nitrogen (N) content was determined by the Micro-kjeldahl method,

as described in AOAC (2000). For macro and micro elements, a micro-wave induced plasma atomic emission spectrophotometer with a robust nitrogen plasma (Agilent, model MP-AES 4200) was used.

2.9. Statistical analysis

The data referring to the production of *P. ostreatus* were compared by analysis of variance (ANOVA) or compared by the Tukey test at the level of 5% probability. The metabolomics data were normalized and loaded into the computer program MetaboAnalyst 5.0, an analytical channel for metabolomics studies (www.metaboanalyst.ca) (XIA; WISHART, 2011). The data were submitted to multivariate statistical analysis, which included Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), Variable importance in projection (VIP) scores, Hierarchical Cluster Analysis (HCA), and correlation analysis.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Parameters of *P. ostreatus* cultivation

The in vitro growth of *P. ostreatus* in the formulated substrates showed variations between the strains (WH, PLO 04, and BH). Strains BH and WH presented greater development and vigor, and were selected for the following studies for mushroom production in the different substrates. Production parameters, nutritional characteristics, antioxidant activities, and bioactive compounds were studied in the *P. ostreatus* mushrooms.

There were no significant differences between the sources of supplementation and the different *P. ostreatus* strains, for spawn run and substrate colonization, which varied between 16 and 18 days. However, for primordial formation, biological efficiency and yield, only the WS strain showed superior results. The substrates with sisal wastes (SW) supplemented with CAP (treatment SRCAP) and WB (treatment SRWB) showed the best results for initial primordial formation (IPF) (25 days), biological efficiency (BE) (78.25 and 73.25 %), and yield (196.25 and 195.25 g kg⁻¹) for SRCAPWH and

SRWBWH, respectively, in comparison to substrate without supplementation (treatment SRWH), in which the primordial formation initiated after 32 days of substrate inoculation, and BE was 59.5 %. However, the greatest productivity was obtained in the treatment with SRWBWH (0.48 g day⁻¹), with values greater than those observed for SRCAPWH (0.37 g day⁻¹) and SRWH (0.17 g day⁻¹) (Table 1).

Table 1. Spawn run, initial primordia formation (IPF), biological efficiency (BE), yield and productivity of different strains of *P. ostreatus* (White Hiratake - WH and Black Hiratake - BH), in substrates with sisal residues (SR) supplemented with cocoa almond peels (CAP), or wheat bran (WB) or without supplementation (NS).

Parameters*	Strains	Supplementation			CV
		CAP	WB	NS	
Spawn run (days)	WH	18.00bA	16.25bA	20.00aA	4,64
	BH	17.75bA	16.75bA	20.20aA	
IPF (days)	WH	25.60bB	25.60bB	32.20aA	10,96
	BH	ND**	35.20bA	45.90aA	
BE (%)	WH	78.25aA	73.25aA	59.50bA	12,58
	BH	ND*	5.25aB	9.25aB	
Yield (g kg ⁻¹)	WH	196.25aA	195.25aA	163.75bA	11,67
	BH	ND*	14.75aB	25.00aB	
Productivity (g day ⁻¹)	WH	0.37bA	0.48aA	0.17cA	21,77
	BH	ND*	0.23aB	0.08bB	

Means followed by the same small letters in lines, and capital letters in columns do not differ statistically by the Tukey teste, at 95% probability. **ND – Not determined

For strain BH (*Pleurotus ostreatus* - Hiratake black) there was no formation of primordia and mushrooms in the substrate supplemented with CAP (treatment SRCAPBH). Supplementation with WB (SRWBBH treatment) had no difference for BE, yield, and productivity of mushrooms, in comparison with the production of mushrooms in the substrate without supplementation.

The lowest period for IPF, and greater BE, yield, and productivity were obtained with strain WH, independent of the source of substrate supplementation (Table 1).

In this work, substrate colonization was greater in the substrates with supplementation, regardless of the source of supplementation and *P. ostreatus* strain, when compared to the substrate without supplementation

(Table 1). Substrate colonization is affected by the chemical composition and structure of the growth substrate (Koutrotsios, Mountzouris, Chatzipavlidis & Zervakis 2014), as well as fungal genetic factors (Koutrotsios, Kalogeropoulos, Stathopoulos, Kaliora & Zervakis 2017) which are important for mycelium growth and formation of mushrooms (Tripathy & Sahoo, 2010).

Wheat bran is a very common organic supplement used with lignocellulosic substrates for growth of *P. ostreatus* (Wang, Sakoda & Suzuki, 2001; Tesfay, Godifey, Mesfin & Kalayu, 2020). Nevertheless, SR supplemented with CAP promoted good production of *P. ostreatus* mushrooms for strain WH, which shows its potential as a good supplementation, that can substitute WB for cultivation of this strain of *P. ostreatus* (Oster mushroom). However, for strain BH, supplementation with CAP was not effective in promoting the formation and growth of mushrooms, and is therefore not recommended, while WB promoted the formation of mushrooms, but with very low BE, either with or without WB supplementation, which makes it inappropriate for production of this *P. ostreatus* strain (Table 1). For the WH strain, the nutritional requirements of the substrate and new temperature conditions for growth and fruiting need further investigation.

The partial least square discriminant analysis (PLS-DA) between the nutritional characteristics of sisal residue, the supplementations (CAP and WB) and their combinations indicated that the variables explained 68.1 % of the variations observed within components 1 (59.7%) and 2 (8.4%) (Figure 1). All substrate components and their combinations were grouped separately, indicating good reproducibility of the results. The PLS-DA model shows that the supplementations and sisal waste groups are separated within the first and second components, indicating significant differences in the bromatology and nutritional characteristics amongst these groups. However, the treatments with supplementation did not present significant differences.

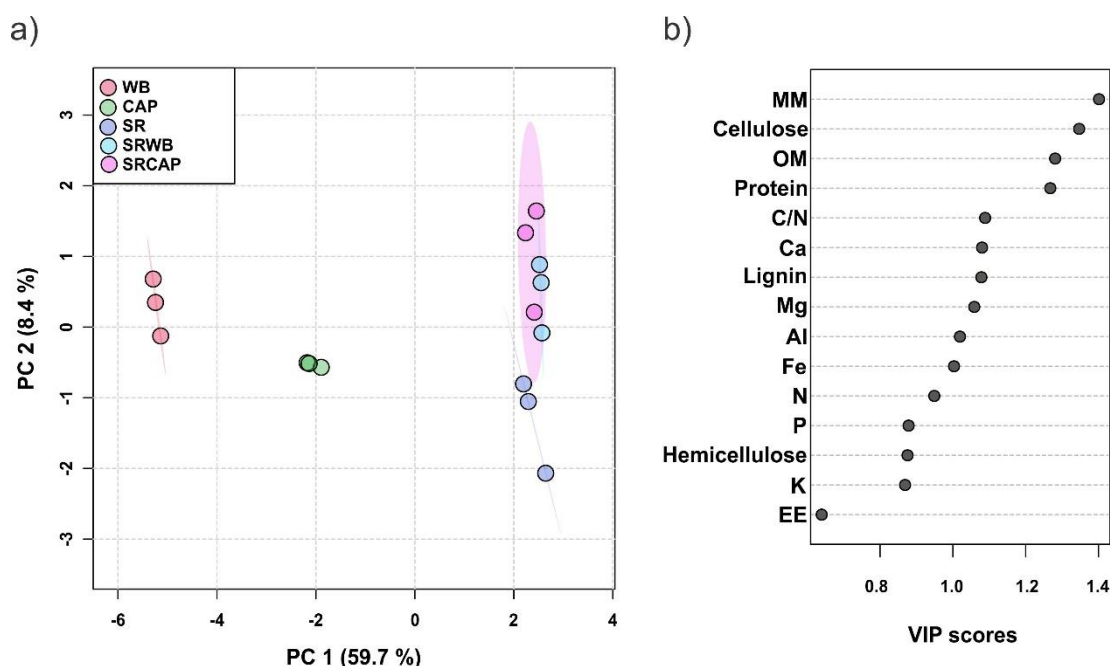


Figure 1. Important features identified by Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA) (Graph A) and Variable Importance in Projection (VIP) scores (Graph B). A VIP score is a measure of a variable's importance in the PLS-DA model. It summarizes the fifteen most important nutritional characteristics of CAP, WB, and RS and their combinations identified by PLS-DA, and the contribution those variables make to a model. The colored boxes indicate the concentrations of each variable in the substrate. VIP is the pondered sum of the squared correlations between the PLS-DA components and the amount of variable Y explained in each dimension. * MM = Mineral matter; MO = Organic matter; EE = Ether extract; C/N = Carbon/Nitrogen ratio.

According to VIP values from PLS-DA (Figure 1), mineral matter, cellulose, organic matter, and protein content are the four most important characteristics, and these with C/N ratio, Ca, lignin, Mg, Al, Fe, N, P, hemicellulose, K, and ether extract (fat) are the fifteen most important characteristics of SW, CAP, WB, and their combinations as substrates for mushroom growth. Wheat bran (WB), cocoa almond peels (CAP), and sisal residue (SR) have very distinct characteristics, but SR supplemented with either one (CAP or WB) formed the same group. These substrates with supplementation gave higher BE and yield of isolate BH because of the higher contents of cellulose, protein, mineral matter, organic matter and mineral nutrients. These characteristics are essential for enzyme activity and energy supply for mycelium growth, primordia formation and production of mushrooms, allowing for early completion of the production cycle (Zhang et al., 2014; Bellettini et al., 2019; Mahari et al., 2020).

Most supplements used for mushroom production are based on compounds rich in N, because lignocellulosic substrates have low levels of

protein (Carrasco et al., 2018). The sisal residue has a high C / N ratio and mineral content (figure 1), which are factors that affect the production of the fruiting body, as it is related to the availability of nutrients for the fungus, which in turn affects mycelium growth and substrate colonization (Bellettini et al., 2019; Ritota & Manzi, 2019).

The substrate levels of cellulose, hemicellulose and lignin also affect BE and production of *P. ostreatus* (Chukwurah et al., 2013; Owaid, Abed & Nassar, 2015). However, lignin is not a source of energy for the primary metabolism of fungi. Its decomposition results in the release of cellulose and hemicellulose, which are compounds rich in energy (Guerriero, Hausman, Strauss, Ertan & Siddiqui, 2016). Cellulose and mineral nutrients were increased and C/N ratio was lowered with the supplementation with WB or CAP (Supplementary figure S1), which according to Miles & Chang (2004), stimulates growth and fruiting body production of *P. ostreatus*. In fact, the greatest values of BE were observed for the treatments SRCAPWH (78.25 %) and SRWBWH (73.25 %). Muthangya, Mshandete, Amana, Hashim, & Kivaisi, (2014) reported EB of 62,9 % for *Pleurotus* sp. in waste from sisal leaves and stems supplemented with cow manure. Other authors have described for *Pleurotus* spp. CM (31 to 38 days) and EB (35.47 to 71.56 %) (Sardar et al., 2017), CM (39 to 48 days) and EB (45.1 to 137.6 %) (Zahid et al., 2020), CM (30 to 55 days) and EB (66.08%) (Hoa, Wang & Wang, 2015), demonstrating variations in production parameters as a function of strains of *Pleurotus ostreatus* and substrate characteristics.

3.2. *P. ostreatus* mushrooms and their metabolites

The nutritional characteristics and the presence of metabolites in the produced mushrooms, which promote several health benefits for consumers, are desirable properties which make several mushrooms appreciated as functional foods. In the present work, nutrient contents as well as primary metabolites of both strains of *P. ostreatus* mushrooms were studied in order to gain knowledge on the effects of substrate supplementation with CAP and WB. However, strain BH of *P. ostreatus* did not produce mushrooms in the substrate with CAP. The partial least square discriminant analysis shows clear differences between the *P. ostreatus* strains and substrate supplementation (Figure 2). For strain WS, the

characteristics of the mushrooms were very distinct according to each growth substrate, and the parameters responded for 84.4 % of the variations observed, being 34.4 % for component 1 and 50 % for component B (Figure 2A). For strain WH, again there was a clear distinction in the mushroom's characteristics, depending on the growth substrates, with component 1 responding for 80.5 % of the variations, and component 2 responding for 3.4 % of the variation, with a total of 83.9 % of the evaluated parameters responding for mushrooms nutritional and metabolite composition (Figure 2C). When both strains were compared with regard to fruiting body characteristics for those produced in substrates without supplementation and with WB, there was also a clear distinction depending on the growth substrate and the strain, with 62.8 % of the variations being explained by the variables, with 38.7 % for component 1 and 24.1 % by component 2 (Figure 2E).

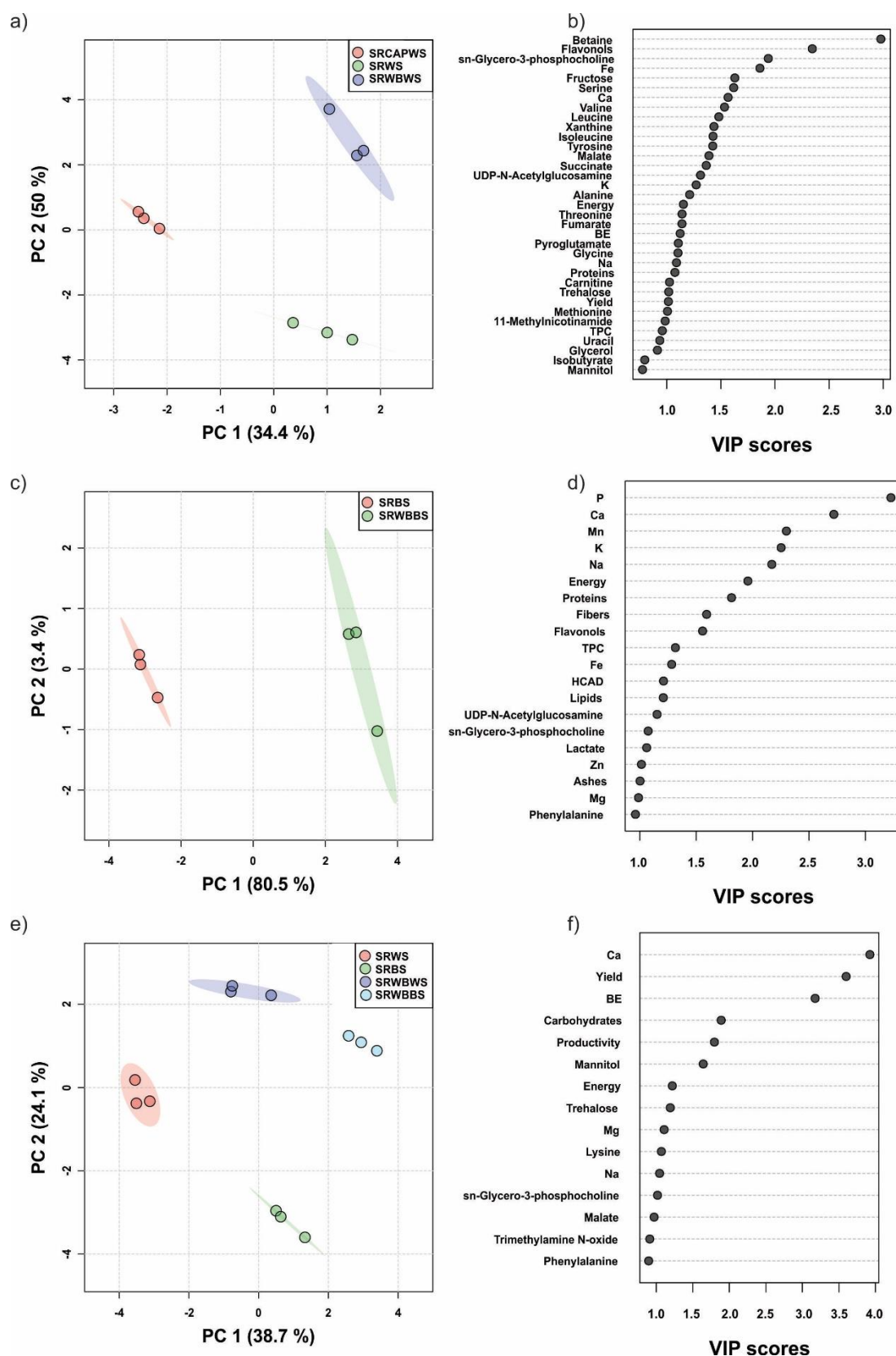


Figure 2. Discriminant Analysis by Partial Least Squares (PLS-DA) for production variables, nutritional characteristics and metabolites of the white lineage of *P. ostreatus* (WH) mushrooms produced on a substrate composed of sisal residues (SRWH treatment) supplemented with peels cocoa almond (SRCAPWH Treatment) and wheat bran (SRWBWH), and black strain (BH) produced in sisal residue (SRBH) and sisal residue supplemented with wheat bran (SRWBH).

The Variable Importance in Projection (VIP) values show clear differences in the composition of the mushrooms produced in the substrates and for the different fungal strains. The VIP analysis indicates a total of 35 characteristics, amongst the metabolites and mineral nutrients, as well as biological efficiency and yield, as the most important ones that determine the composition of *P. ostreatus* mushrooms for strain WH: betaine, methionine, glycine, threonine, alanine, tyrosine, isoleucine, xanthine, leucine, valine, serine, uracil, isobutyrate, glycerol, fumarate, carnitine, 1-methylnicoti, trehalose, mannitol, fructose, UDP-N-acetylgl, succinate, malate, pyroglutamate, sn-Glycero-3-p, flavonols, total phenolic compounds (TPC), proteins, biological efficiency, yield, energy, Na (mg/g), K (mg/g), Ca (mg/g), Fe (mg/g) (Figure 2B). For strain BH the following characteristics were identified as being the most important: phenylalanine, ashes, lactate, sn-Glycero-3-p, UDP-N-Acetylgl, lipids, HCAD, Fe (mg/g), TPC, flavonols, fibers, proteins, energy, P (mg/g), K (mg/g), Mn (mg/g), Ca (mg/g), Mg (mg/g), Zn (mg/g) e Na (mg/g) (Figure 2D). On the other hand, for the comparison between the *P. ostreatus* strains, 15 characteristics were the most important: phenylalanine, lysine, trimethylamine, malate, sn-Glycero-3-p, trehalose, mannitol, Na (mg/g), Ca (mg/g), Mg (mg/g), energy, carbohydrates, Productivity, biological efficiency, and yield (Figure 2F). All these characteristics are related to yield, bromatology, mineral nutrients, amino-acids, purines, organic compounds, vitamins, and other compounds involved in the metabolism of the fungus (Figure 2).

3.2.1. Metabolites and correlation with biological efficiency for *P. ostreatus*

A correlation analysis was performed between BE and the 25 main possible associations of data from production parameters and the analyzed compounds in *P. ostreatus* mushrooms. The heat map shows significant differences for most metabolites amongst the different group treatments, especially for the amino-acids and the nutritional composition (Figure 3). Positive correlations were observed between the production of mushrooms of the two

strains of *P. ostreatus* in the different substrates and the compounds present in the mushrooms.

The correlation analysis for BE of strain WS produced in the substrates with the supplementations showed a strong positive correlation for protein content, energy, fibers. Carbohydrates, lipids, minerals (Ca, P, and Mg), antioxidant activity (ABTS), amino-acids (tryptophan and aspartate), vitamin B5 (Pantothenate) and the following metabolites: nicotinurate, carnitine, succinate, trimethylamine N-o, UDP-N-Acetylglucosamine, trehalose (Figure 3A), which are metabolites involved in the energy metabolism (Barros, Venturini, Baptista, Estevinho, & Ferreira, 2008). A negative correlation was observed for the following metabolites: formate, malate, S-Adenosylhomocysteine, and flavonols. On the other hand, strain BH showed positive correlation with the following metabolites: uracil, valine, and hypoxanthine, and a negative correlation for carbohydrates. A total of 18 amino-acids were detected in the mushrooms produced in the different supplemented substrates (Figure in the supplementary data S2)

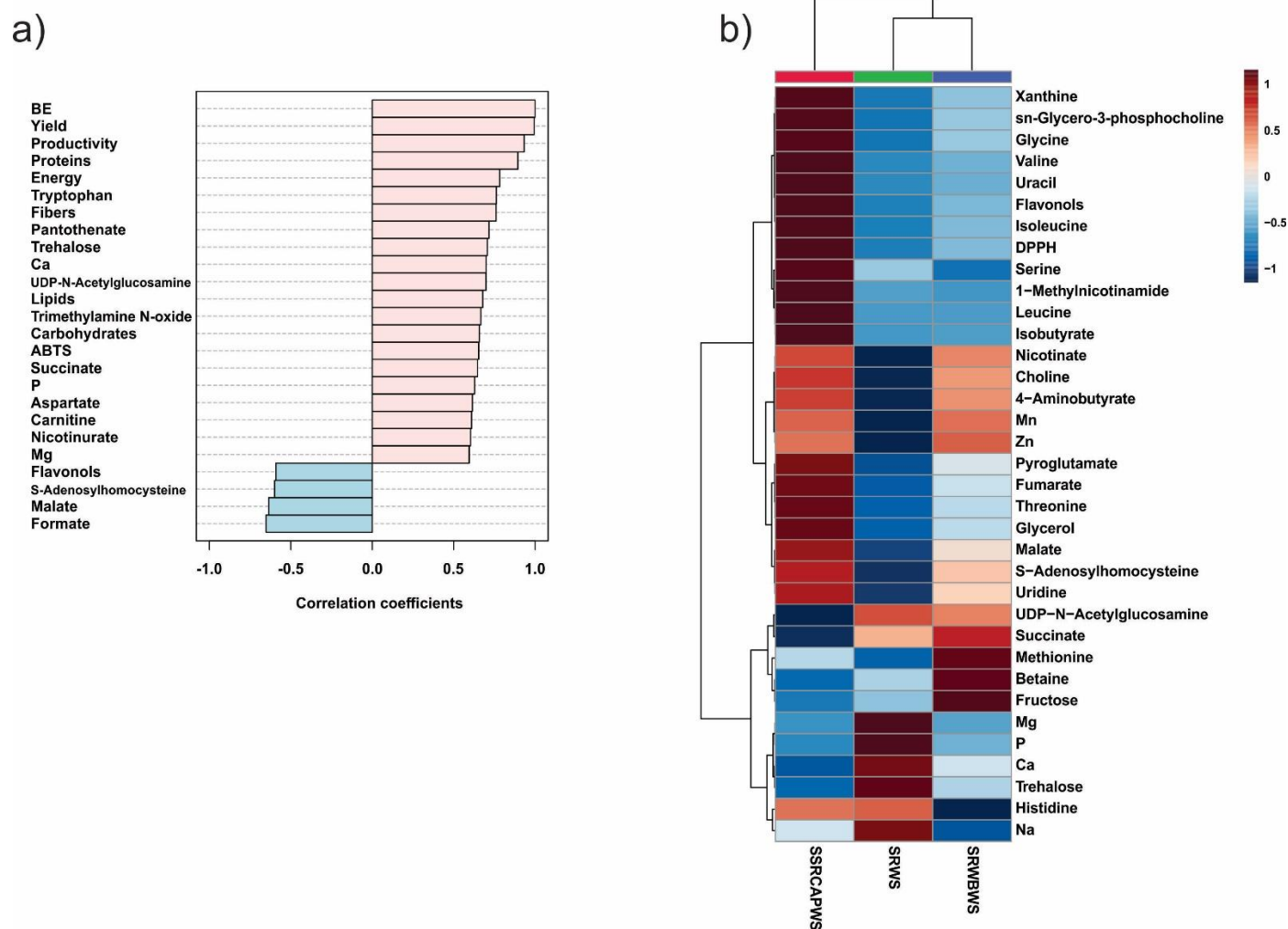
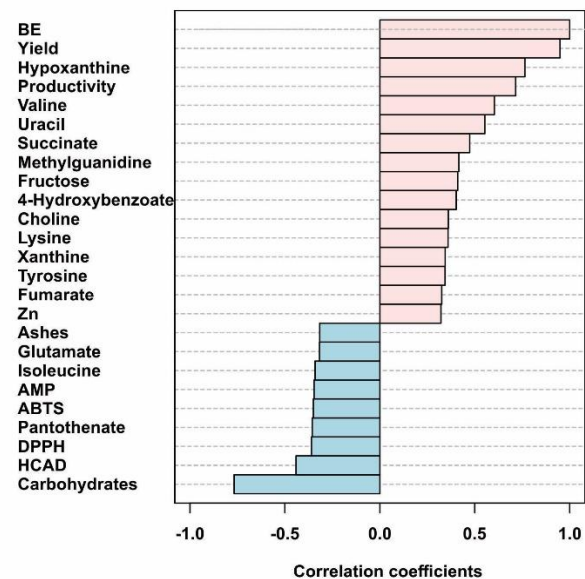


Figure 3. Correlation analysis between biological efficiency and the 25 main identified characteristics. Heat map with the 35 main characteristics of the mushrooms of *Pleurotus ostreatus* WH strain produced in substrates formulated with sisal wastes and supplementation with cocoa almond peels (CAP), and wheat bran (WB) and non-supplemented substrate (SS).

a)



b)

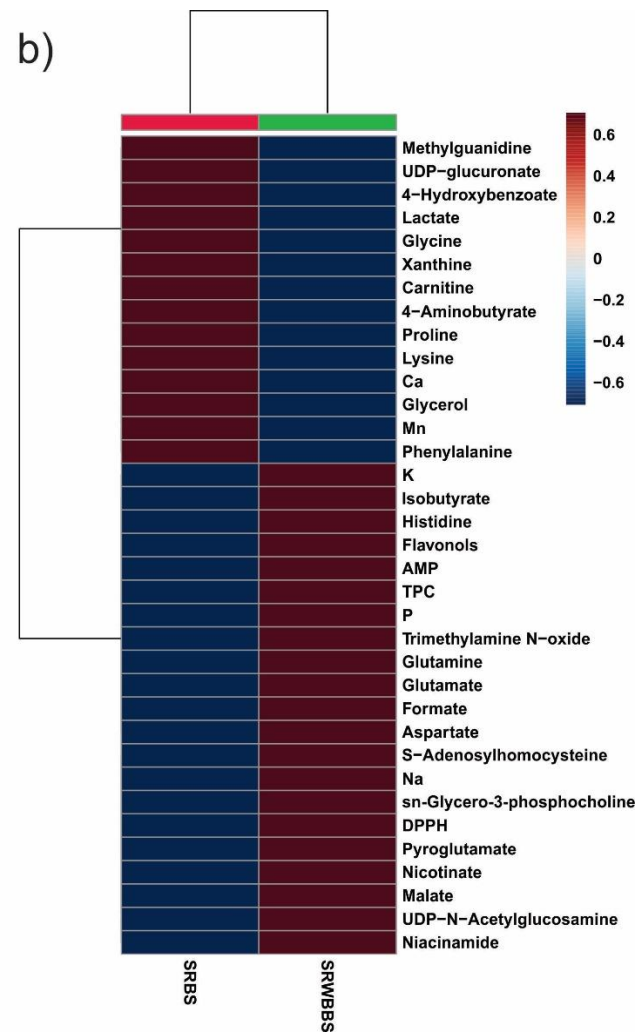


Figure 4. Correlation analysis between biological efficiency and the 25 main characteristics determined in the mushrooms. Heat map of the 35 main characteristics determined in the mushrooms of *Pleurotus ostreatus* strain BH, produced in substrate formulated with sisal residues and supplemented with wheat bran (WB) and non-supplemented (SR)

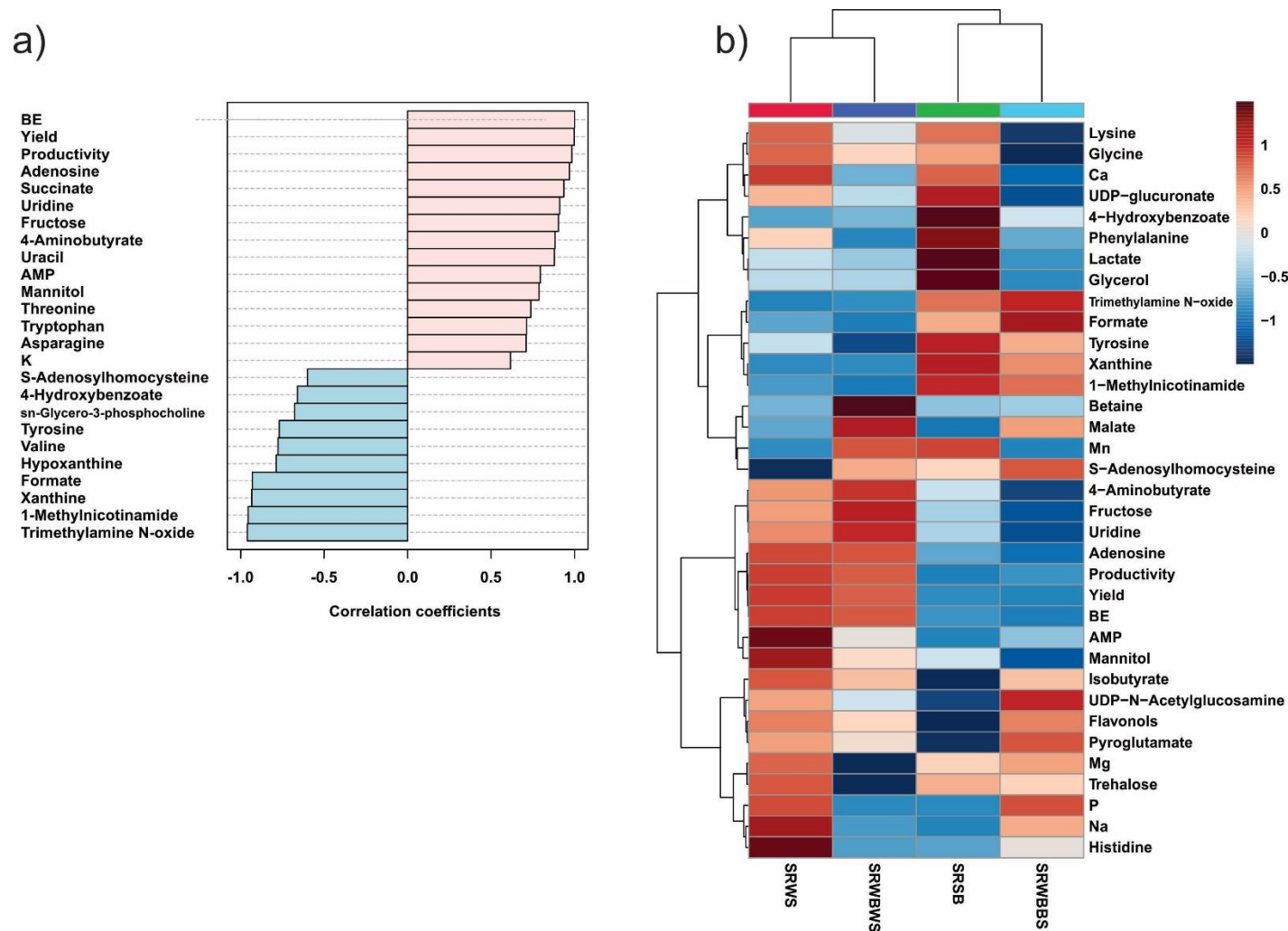


Figure 5. Correlation analysis between biological efficiency and the 25 main characteristics determined for the mushrooms of two *Pleurotus ostreatus* strains (WH and BS). Heat map of the 35 main characteristics of mushrooms of *Pleurotus ostreatus*, strains WH and BH, produced in substrate formulated with sisal wastes supplemented with wheat bran (WB) and not supplemented substrate (SR).

A comparison of the mushrooms produced by the two *P. ostreatus* strains in the substrate with and without supplementation with wheat bran, given by the PLS-DA, VIP analysis (figure 2) and the heat map (Figures 3, 4, and 5), showed significant variations in the concentrations and the number of metabolites present in the mushrooms of the two strains, for the different substrates. Strain WH, independent of the supplementation, presented a greater number of metabolites in comparison to strain BH.

Primary metabolites, especially amino-acids, polysaccharides, lipids and other metabolites, can affect the biosynthesis of materials necessary for fungal growth and development (Liu et al., 2019). All essential amino-acids (methionine, threonine, leucine, isoleucine, valine, leucine, phenylalanine, lysine, tryptophan, and histidine), and some non-essential ones (glycine, alanine, tyrosine, xanthine, proline, serine, glutamine, aspartate, and betaine), plus sugars (fructose, trehalose, and mannitol), and other metabolites (succinate, malate, Isobutyrate, glycerol, uracil, 1-methylnicoti, carnitine, pyroglutamate, and fumarate) were detected in BH strain. However, the mineral elements (Mg, Zn, Fe, P, Ca, K, Na, and Mn) were predominant in the BH strain, as compared to the WH strain (Fe, Ca, K e Na). In addition, the mushrooms of strain BH produced in the substrate with CAP presented greater concentrations of the amino-acids Serine, Alanine, Xanthine, Isoleucine, Threonine, Leucine, Glycine and Valine, as compared to the treatments with WB and without supplementation, indicating that supplementation with CAP promoted an increase in protein synthesis, even though CAP presented only 8,97 % of protein, compared to WB with 15,39 % of protein.

The metabolites of *P. ostreatus* grown on different sisal wastes, supplemented with WB and CAP, contained sugars, such as fructose, mannitol and trehalose among the constituents of the tested mushrooms, which coincided with previous studies (Zhou, Ma, Zhang, & Zhang, 2016; Liu et al., 2019). Sugars have great effects, not only in the metabolism of cellular energy, but also in the formation of structural polysaccharides and protection of cells from environmental stress. (Yang et al., 2019). Studies have shown that mushroom polysaccharides have a variety of biological activities, such as: anti-tumor, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycemic, hypolipidemic, liver protection, immune system enhancement (Gong, Wang, Liu, Chen, Yang, Chang & Chen, 2020). *Pleurotus*

sp. cultivated in residues of *Agave sisalana* produced mushrooms with high content of phenolic compounds, β -carotenes, essential minerals, and had antioxidante activity ((Muthangya, Mshandete, Amana, Hashim, & Kivaisi, 2014). CAP has high levels of fiber and polyphenols which are compounds with biofunctional properties. The protein content of CAP varies between 7.30 % and 27.40 % of its dry weight, and it is considered as a source of highly soluble proteins (Rojo-Poveda, Barbosa-Pereira, Zeppa & Stévigny, 2020). These variation in the fruiting body composition were expected since they are directly affected by the materials used for the formulation of the substrates, as well as by the fungus genetics, stage of fungal development, as well as the treatments before and after harvest (Koutrotsios, Kalogeropoulos, Stathopoulos, Kaliora & Zervakis, 2017; Tagkouli et al., 2020).

Functional foods are a source of nutrients and have positive effects on human health (Krakowska et al., 2020), and *P. ostreatus* mushrooms accumulate several compounds with health promoting properties, and can be used to supplement human diet (Poniedziałek et al., 2017). The different functions of these mushrooms can be closely associated with their nutritional composition (proteins, fats, carbohydrates, vitamins, minerals and amino acids). These data are a desirable choice to analyze the functions of mushrooms (Liu et al., 2019).

The amino-acids present in *P. ostreatus* mushrooms, especially the essential ones, are important for human nutrition, since they are involved in several biochemical pathways that affect physiological activities, such as growth, metabolism, regulation of pH, signal transduction and stress responses that can act in repairing human metabolic functions essential for health (Murakami et al., 2012; Häusler, Ludewig & Krueger, 2014.). The amino-acids give *P. ostreatus* its flavor (Ming, Li, Huo, Wei, & Chen, 2014) and this mushroom is a source of essential amino-acids for human diet (Carrasco-González, Serna-Saldívar, Gutiérrez-Urbe, 2017) These mushrooms as considered as functional foods, and are used as raw material for the development of functional food (Zhang, Venkitasamy, Pan & Wang, 2013). Several studies have reported the presence of essential amino-acids in mushrooms (Liu et al., 2016; Jin, Li, Ren & Qin, 2018). Segundo, Carrasco-González, Serna-Saldívar & Gutiérrez-Urbe, (2017), and the content of these amino-acids in *P. ostreatus* meet the nutritional requirements for human adults. These authors pointed out that the use of substrates with bioactive

compounds or mineral supplementation are some strategies to increase the nutraceutical value of *P. ostreatus* mushrooms.

Yamauchi et al., (2019), reported greater contents of amino-acids in *P. ostreatus* cultivated in substrate formulated with bamboo straw, in comparison to the use of wood straw. The increase in the contents of amino-acids in *P. ostreatus* mushrooms was also shown by Li, Zhang, Li, Li & Sun, (2017), with substrates formulated with stems from medicinal plants.

A greater content of mineral elements was detected in BH strain in substrate supplemented with WB, in comparison with substrate non supplemented and to the WH strain. The highest concentration of mineral elements in the mushrooms was for K, followed by P> Mg>Ca>Mg>Na>Mn>Zn>Fe in a decrescent order of concentration. According to do Kalac, (2013) mushrooms tend to have high quantities of K. Genetic factors of the fungus, but mainly substrate composition, are the main factors that respond for the variation in the mineral elements in the mushrooms (Koutrotsios, Kalogeropoulos, Stathopoulos, Kaliora & Zervakis, 2017; Krakowska et al., 2020). Both supplements (WB and CAP) have high contents of K, P, and Mg, and RS has a high content of Ca (Supplementary figure S1), which are elements that can be absorbed from the substrate by the fungal hyphae (Bellettini et al., 2019).

The mineral composition of different species of *Pleurotus* varied between 4 to 10 % of its dry weight matter (Deepalakshmi & Mirunalini, 2014). These contents of mineral elements in mushrooms of different strains of mushrooms produced in china and Polonia were also reported by Mleczek et al., (2016), and by Sardar et al. (2017) for the minerals P, K, Ca, Mg, Zn, in the king oyster (*Pleurotus eryngii*) mushroom. SINGH et al., (2020) also described high levels of minerals such as K, Zn, Fe, Cu, and Se in mushrooms of *P. ostreatus*.

The macroelements reported in this work are also similar or greater than those reported by Jinet al., (2018) that described K (19,496 –20,388 mg kg⁻¹)> Mg (1271–1754 19,496 –20,388 mg kg⁻¹)> Na (615–1093 19,496 –20,388 mg kg⁻¹)> Ca (391–821 19,496 –20,388 mg kg⁻¹) in *P. ostreatus* produced in wastes of corn cobs supplemented with medicinal plant wastes.

Metabolites Isobutyrate, Glycerol, Uracil, 1-Methylnicoti, Pyroglutamate, UDP-N-Acetylgl, Succinate, sn-Glycero-3-p and carnitine were present in the mushrooms of *P. ostreatus*. Carnitine promotes weight loss in humans, because

of its activity as a transporter of long chain fatty acids to mitochondria and its consequent oxidation, being directly related to fat metabolism (Novakova et al. 2016). The oyster mushroom grown in medium with wheat bran showed higher levels of L-carnitine than mushroom grown in normal medium (Lee et al., 2018).

The presence of essential amino-acids and mineral elements in *P. ostreatus* mushrooms indicates that sisal residues and supplementation with CAP can be a good alternative for mushroom production with the recycling of wastes that are disposed in the environment and the development of food with important nutritious and nutraceutical values.

4. CONCLUSIONS

Mycelial growth and mushrooms production of *Pleurotus ostreatus* responded well to the chemical composition of the growth substrate, with different behavior between both strains. The substrate with sisal residues supplemented with wheat bran or cocoa almond peel waste promoted better growth, with precocity, better biological efficiency, yield, and productivity, antioxidant activity, chemical properties and production of primary metabolites for white Hiratake strain of *P. ostreatus*.

Mushrooms of white Hiratake produced in substrate with sisal residues and cocoa almond peel residue presented all essential amino-acids. This cocoa residue can be used for the supplementation of *P. ostreatus* growth substrates formulated with sisal residues.

The substrate with sisal residues, with or without supplementation, in the formulations tested in this work, is not recommended for production of black Hiratake because of the very low biological efficiency and yield of mushrooms. Studies with different formulations of these residues and supplements should be carried out for the production of black Hiratake.

5. REFERENCES

- Adebayo, G. J., Omolara, B. N., & Toyin, A. E. (2009). Evaluation of yield of oyster mushroom (*Pleurotus pulmonarius*) grown on cotton waste and cassava peel. *African Journal of Biotechnology*, 8(2).
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: W. Horwitz (Ed.). Gaithersburg, MD, USA.
- Arlorio, M., Coïsson, J. D., Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., & Martelli, A. (2005). Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. *Food research international*, 38(8-9), 1009-1014. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.03.012>
- Atli, B., Yamaç, M., Yıldız, Z., & Şölene, M. (2019). Solid State Fermentation Optimization of *Pleurotus Ostreatus* for Lovastatin Production. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53(9), 858-864. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-02090-0>
- Barros, L., Venturini, B. A., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. (2008). Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: a comprehensive study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(10), 3856-3862. doi.org/10.1021/jf8003114
- Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633-646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Bononi, V. L., Capelari, M., Maziero, R., & Trufem, S. F. B. (1995). *Cultivo de cogumelos comestíveis*. Ícone.

Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.020>

Cantalino, A., Torres, E. A., & Silva, M. S. (2015). Sustainability of sisal cultivation in Brazil using co-products and wastes. *Journal of Agricultural Science*, 7(7), 64. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v7n7p64>

Carrasco-González, J. A., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 69-81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>

Carrasco, J., Zied, D. C., Pardo, J. E., Preston, G. M., & Pardo-Giménez, A. (2018). Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. *AMB Express*, 8(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0678-0>

Chukwurah, N. F., Eze, S. C., Chiejina, N. V., Onyeonagu, C. C., Okezie, C. E. A., Ugwuoke, K. I., & Nkwonta, C. G. (2013). Correlation of stipe length, pileus width and stipe girth of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) grown in different farm substrates. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 5(3), 54-60. <https://doi.org/10.5897/JABSD2013.0197>

Corrêa, R. C. G., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R. M., & Ferreira, I. C. (2016). 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*, 50, 103-117. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012>

Deepalakshmi, K., & Sankaran, M. (2014). *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *Journal of Biochemical Technology*, 5(2), 718-726.

Do Carmo, C. O., da Silva, R. M., de Souza Rodrigues, M., & Soares, A. C. F. (2021). Bioconversion of sisal agro-industrial waste into high protein oyster mushrooms. *Bioresource Technology Reports*, 100657.

FAOSTAT. Production. FAO Statistics Division 2019 | <
<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 05 de janeiro de 2020.

Fanadzo, M., Zireva, D. T., Dube, E., & Mashingaidze, A. B. (2010). Evaluation of various substrates and supplements for biological efficiency of *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatus*. *African Journal of Biotechnology*, 9(19), 2756-2761.

Gong, P., Wang, S., Liu, M., Chen, F., Yang, W., Chang, X., & Chen, X. (2020). Extraction methods, chemical characterizations and biological activities of mushroom polysaccharides: A mini-review. *Carbohydrate Research*, 494, 108037.

Gromski, P. S., Muhamadali, H., Ellis, D. I., Xu, Y., Correa, E., Turner, M. L., & Goodacre, R. (2015). A tutorial review: Metabolomics and partial least squares-discriminant analysis—a marriage of convenience or a shotgun wedding. *Analytica chimica acta*, 879, 10-23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.012>

Guerriero, G., Hausman, J. F., Strauss, J., Ertan, H., & Siddiqui, K. S. (2016). Lignocellulosic biomass: biosynthesis, degradation, and industrial utilization. *Engineering in life sciences*, 16(1), 1-16. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400196>

Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 36(6), 2090-2097. <https://doi.org/10.1248/cpb.36.2090>

Häusler, R. E., Ludewig, F., & Krueger, S. (2014). Amino acids—a life between metabolism and signaling. *Plant Science*, 229, 225-237. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.09.011>

Hoa, H. T., Wang, C. L., & Wang, C. H. (2015). The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, 43(4), 423-434. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.4.423>

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(2), 209-218. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5960>

Krakowska, A., Zięba, P., Włodarczyk, A., Kała, K., Sułkowska-Ziaja, K., Bernaś, E., & Muszyńska, B. (2020). Selected edible medicinal mushrooms from *Pleurotus* genus as an answer for human civilization diseases. *Food Chemistry*, 127084. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127084>

Khatun, S., Islam, A., Cakilcioglu, U., Guler, P., & Chatterjee, N. C. (2015). Nutritional qualities and antioxidant activity of three edible oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 72, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2012.03.003>

Khatun, S., Islam, A., Cakilcioglu, U., Guler, P., & Chatterjee, N. C. (2015). Nutritional qualities and antioxidant activity of three edible oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 72, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2012.03.003>

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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>

Koutrotsios, G., Kalogeropoulos, N., Stathopoulos, P., Kaliora, A. C., & Zervakis, G. I. (2017). Bioactive compounds and antioxidant activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(5), 98. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2262-1>

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - Estatística da Produção Agrícola. Rio de Janeiro. p. 1-95, 2019.

Jeznabadi, E. K., Jafarpour, M., Eghbalsaied, S., & Pessarakli, M. (2017). Effects of various substrates and supplements on king oyster (*Pleurotus eryngii*). *Compost Science & Utilization*, 25(sup1), S1-S10. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2016.1238787>

Jin, Z., Li, Y., Ren, J., & Qin, N. (2018). Yield, nutritional content, and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* on corncobs supplemented with herb residues. *Mycobiology*, 46(1), 24-32. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454014>

Lee, T. K., Nguyen, T. T. H., Park, N., Kwak, S. H., Kim, J., Jin, S., & Kim, D. (2018). The use of fermented buckwheat to produce L-carnitine enriched oyster mushroom. *AMB Express*, 8(1), 138. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0664-6>

Letti, L. A. J., Vítola, F. M. D., de Melo Pereira, G. V., Karp, S. G., Medeiros, A. B. P., da Costa, E. S. F., ... & Soccol, C. R. (2018). Solid-State Fermentation for the Production of Mushrooms. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 285-318). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63990-5.00014-1>

Li, H., Zhang, Z., Li, M., Li, X., & Sun, Z. (2017). Yield, size, nutritional value, and antioxidant activity of oyster mushrooms grown on perilla stalks. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(2), 347-354. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.001>

Liu, D., Chen, Y. Q., Xiao, X. W., Zhong, R. T., Yang, C. F., Liu, B., & Zhao, C. (2019). Nutrient properties and nuclear magnetic resonance-based metabonomic analysis of macrofungi. *Foods*, 8(9), 397. <https://doi.org/10.3390/foods8090397>

Liu, Y., Chen, D., You, Y., Zeng, S., Li, Y., Tang, Q., & Chen, D. (2016). Nutritional composition of boletus mushrooms from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 211, 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.032>

Nam, W. L., Phang, X. Y., Su, M. H., Liew, R. K., Ma, N. L., Rosli, M. H. N. B., & Lam, S. S. (2018). Production of bio-fertilizer from microwave vacuum pyrolysis of palm kernel shell for cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Science of the total environment*, 624, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.108>

Novakova, K., Kummer, O., Bouitbir, J., Stoffel, S. D., Hoerler-Koerner, U., Bodmer, M., & Krähenbühl, S. (2016). Effect of l-carnitine supplementation on the body carnitine pool, skeletal muscle energy metabolism and physical performance in male vegetarians. *European journal of nutrition*, 55(1), 207-217. Doi: 10.1007/s00394-015-0838-9

Ntiamoah, A., & Afrane, G. (2008). Environmental impacts of cocoa production and processing in Ghana: life cycle assessment approach. *Journal of Cleaner Production*, 16(16), 1735-1740. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2007.11.004>

Mahari, W. A. W., Peng, W., Nam, W. L., Yang, H., Lee, X. Y., Lee, Y. K., & Lam, S. S. (2020). A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. *Journal of Hazardous Materials*, 123156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123156>

Maran, J. P., & Priya, B. (2015). Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, 115, 732-738. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.058>

Mau, J. L., Lin, H. C., & Chen, C. C. (2002). Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 6072-6077. <https://doi.org/10.1021/jf0201273>

Miles, P. G., & Chang, S. T. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press.

Ming, T., Li, J., Huo, P., Wei, Y., & Chen, X. (2014). Analysis of free amino acids in *Russula griseocarnosa* harvested at different stages of maturity using iTRAQ®-LC-MS/MS. *Food analytical methods*, 7(9), 1816-1823. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9817-7>

Mleczek, M., Niedzielski, P., Siwulski, M., Rzymiski, P., Gąsecka, M., Goliński, P., & Kozubik, T. (2016). Importance of low substrate arsenic content in mushroom cultivation and safety of final food product. *European Food Research and Technology*, 242(3), 355-362.

Mohd Rashidi, A. N., & Yang, T. A. (2016). Nutritional and antioxidant values of oyster mushroom (*P. sajor-caju*) cultivated on rubber sawdust. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 6(2), 161-164.

Muthangya, M., Mshandete, A. M., Amana, M. J., Hashim, S. O., & Kivaisi, A. (2014). Nutritional and antioxidant analysis of *Pleurotus* HK 37 grown on *Agave sisalana* saline solid waste. *International Journal of Research in Biochemistry and Biophysics*. 4(2): 5-12

Murakami, H., Shimbo, K., Inoue, Y., Takino, Y., & Kobayashi, H. (2012). Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice. *Amino Acids*, 42(6), 2481-2489. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1059-z>

Okiyama, D. C., Navarro, S. L., & Rodrigues, C. E. (2017). Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 63, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.007>

Owaid, MN, Abed, AM, & Nassar, BM (2015). Reciclagem de resíduos de papelão para produzir o cogumelo-ostra azul *Pleurotus ostreatus* no Iraque. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 537-541.

Pereira, G. S., Cipriani, M., Wisbeck, E., Souza, O., Strapazzon, J. O., & Gern, R. M. (2017). Onion juice waste for production of *Pleurotus sajor-caju* and pectinases. *Food and Bioproducts Processing*, 106, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.08.006>

Poniedziałek, B., Mleczek, M., Niedzielski, P., Siwulski, M., Gąsecka, M., Kozak, L., & Rzymiski, P. (2017). Bio-enriched *Pleurotus* mushrooms for deficiency control and improved antioxidative protection of human platelets?. *European Food Research and Technology*, 243(12), 2187-2198. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2921-3>

Raman, J., Jang, K. Y., Oh, Y. L., Oh, M., Im, J. H., Lakshmanan, H., & Sabaratnam, V. (2020). Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* Spp.: An Overview. *Mycobiology*, 1-14. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1835142>

Raymond, P., Mshandete, A. M., & Kivaisi, A. K. (2015). Enzyme profiles of *Pleurotus* HK-37 during mycelia vegetative growth and fruiting on solid sisal waste fractions supplemented with cow manure. *Adv. Biochem.*, 3, 57-65. doi: 10.11648/j.ab.20150305.12

Ritota, M., & Manzi, P. (2019). *Pleurotus* spp. Cultivation on Different Agri-Food By-Products: Example of Biotechnological Application. *Sustainability*, 11(18), 5049. <https://doi.org/10.3390/su11185049>

Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Zeppa, G., & Stévigny, C. (2020). Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. *Nutrients*, 12(4), 1123. <https://doi.org/10.3390/nu12041123>

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(1), 85-91. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00151-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00151-2)

Sardar, H., Ali, M. A., Anjum, M. A., Nawaz, F., Hussain, S., Naz, S., & Karimi, S. M. (2017). Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Scientia Horticulturae*, 225, 327-334. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.010>

Sánchez, C. S., González, A. T., García-Parrilla, M. C., Granados, J. Q., De La Serrana, H. L. G., & Martínez, M. L. (2007). Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica chimica acta*, 593(1), 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.04.037>

Silva, F. C. D. S. (Ed.). (2009). *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes* (Vol. 627). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos.

Silva, R. M. D., Carmo, C. O. D., Oliveira, T. A. S. D., Figueirêdo, V. R. D., Duarte, E. A. A., & Soares, A. C. F. (2020). Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated in agroindustrial wastes of palm oil fruits and cocoa almonds. *Arquivos do Instituto Biológico*, 87.

Singh, G., Tiwari, A., Rathore, H., Prasad, S., Hariprasad, P., & Sharma, S. (2020). Valorization of Paddy Straw Using De-oiled Cakes for *P. ostreatus* Cultivation and Utilization of Spent Mushroom Substrate for Biopesticide Development. *Waste and Biomass Valorization*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-00957-y>

Sun, L. B., Zhang, Z. Y., Xin, G., Sun, B. X., Bao, X. J., Wei, Y. Y., & Xu, H. R. (2020). Advances in umami taste and aroma of edible mushrooms. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 176-187.

Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K., & Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. *Metabolomics*, 8(1), 3-16. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0330-3>

Tagkouli, D., Kaliora, A., Bekiaris, G., Koutrotsios, G., Christea, M., Zervakis, G. I., & Kalogeropoulos, N. (2020). Free Amino Acids in Three *Pleurotus* Species Cultivated on Agricultural and Agro-Industrial By-Products. *Molecules*, 25(17), 4015. <https://doi.org/10.3390/molecules25174015>

Tesfay, T., Godifey, T., Mesfin, R., & Kalayu, G. (2020). Evaluation of waste paper for cultivation of oyster mushroom (*m*) with some added supplementary materials. *AMB Express*, 10(1), 1-8.

Tripathy, A., & Sahoo, T. K. (2010). Yield evaluation of paddy straw mushrooms (*Volvariella* spp.) on various lignocellulosic wastes. *Int J Appl Agric Res*, 5(3), 317-326.

Valverde, M. E., Hernández-Pérez, T., & Paredes-López, O. (2015). Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *International journal of microbiology*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/376387>

Wang, D., Sakoda, A., & Suzuki, M. (2001). Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresource Technology*, 78(3), 293-300. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00002-5)

Yang, C. F., Lai, S. S., Chen, Y. H., Liu, D., Liu, B., Ai, C., & Zhao, C. (2019). Anti-diabetic effect of oligosaccharides from seaweed *Sargassum confusum* via JNK-IRS1/PI3K signalling pathways and regulation of gut microbiota. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110562. doi.org/10.1016/j.fct.2019.110562

Yamauchi, M., Sakamoto, M., Yamada, M., Hara, H., Taib, S. M., Rezania, S., & Hanafi, F. H. M. (2019). Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on fermented moso bamboo sawdust. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 490-494. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.021>

Xia, J., & Wishart, D. S. (2011). Metabolomic data processing, analysis, and interpretation using MetaboAnalyst. *Current protocols in bioinformatics*, 34(1), 14-10. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1410s34>

Zahid, A., Ramzan, M., Bashir, M. A., Khatana, M. A., Akram, M. T., Nadeem, S., & Yassin, M. T. (2020). Effect of humic acid enriched cotton waste on growth, nutritional and chemical composition of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Lentinus sajor-caju*). *Journal of King Saud University-Science*, 32(8), 3249-3257. doi.org/10.1016/j.jksus.2020.08.016

Zhai, F. H., & Han, J. R. (2018). Decomposition of asparagus old stalks by *Pleurotus* spp. under mushroom-growing conditions. *Scientia Horticulturae*, 231, 11-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.017>

Zhang, Y., Venkitasamy, C., Pan, Z., & Wang, W. (2013). Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms—A review. *Trends in food science & technology*, 33(2), 78-92. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.002>

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. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.05.028>

Zhou, S., Ma, F., Zhang, X., & Zhang, J. (2016). Carbohydrate changes during growth and fruiting in *Pleurotus ostreatus*. *Fungal biology*, 120(6-7), 852-861. doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.007.

Zied, D. C., Prado, E. P., Dias, E. S., Pardo, J. E., & Pardo-Gimenez, A. (2019). Use of peanut waste for oyster mushroom substrate supplementation—oyster mushroom and peanut waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(4), 1021-1029. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00130-1>

Capítulo 2

NUTRIÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Pleurotus ostreatus* PRODUZIDO EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE DENDÊ E CACAU¹

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

Nutrição e atividade antioxidante de *Pleurotus ostreatus* produzido em resíduos agroindustriais de dendê e cacau

Autora: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Resumo: A geração de grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos e seu descarte são problemas enfrentados no setor agroindustrial no Brasil e ao nível mundial. A produção de *Pleurotus ostreatus* permite a bioconversão de resíduos agrícolas em cogumelos com elevado valor nutricional e propriedades nutraceuticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o resíduo do dendê (RD), suplementado com tegumento da amêndoa do cacau (TAC), no crescimento, produção, atividade antioxidante, composição nutricional e metabólica dos corpos de frutificação de *P. ostreatus*. Foram avaliadas duas linhagens de *P. ostreatus*: Hiratake branco (HB) e Hiratake preto (HP), em substrato formulado com RD e suplementado com 20% de farelo de trigo (FT) ou 20% de TAC e um tratamento sem suplementação. Foram avaliados o crescimento micelial (CM), eficiência biológica (EB), rendimento (REND), características nutricionais, atividade antioxidante e metabolitos presentes nos corpos de frutificação de *P. ostreatus*. A suplementação não teve efeito no CM de ambas as linhagens de *P. ostreatus*. Entretanto, a maior EB (105,75 e 82,25%) e REND (354,50 e 313,00 g kg⁻¹) foram obtidos nos substratos com suplementação de FT e TAC, inoculados com a linhagem HB. Os melhores valores de EC50 pelo método DPPH foram obtidos nos cogumelos produzidos no substrato com RD e TAC, independente do isolado avaliado (5,30 a 7,09 mg mL⁻¹). O conteúdo de proteína (28,01%), carboidratos (38,01%), fibras (24,41%), minerais (7,07%), energia (294,80 Kcal) e aminoácidos (lisina, treonina, valina, triptofano, tirosina) foram maiores nos cogumelos da linhagem HP, independente do tipo de suplementação. Contudo, as maiores concentrações dos metabolitos, principalmente xantina e carnitina, foram determinadas na linhagem HP produzida no substrato sem suplementação. Os substratos com RD, suplementado com FT e TAC, proporcionam aumento da produção da linhagem HB e atividade antioxidante e teores dos minerais P, K, Mn, Fe e Zn das duas linhagens de *P. ostreatus*, mas não favoreceram a concentração de metabolitos nos corpos de frutificação das diferentes linhagens.

Palavras chaves: *Elaeis guineenses*; Cogumelo ostra; resíduo lignocelulósico; *Theobroma cacao* e bioconvenção.

Nutrition and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* produced in agro-industrial residues of palm oil and cocoa

Author: Cristiano Oliveira do Carmo

Adviser: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Abstract: The generation of large quantities of lignocellulosic waste and its disposal are problems faced in the agro-industrial sector in Brazil and worldwide. The production of *Pleurotus ostreatus* allows the bioconversion of agricultural residues in mushrooms with high nutritional value and nutraceutical properties. The objective of this work was to evaluate the palm oil residue (PR), supplemented with cocoa almond peel (CAP), in growth, production, antioxidant activity, nutritional and metabolic composition of the fruiting bodies of *P. ostreatus*. Two strains of *P. ostreatus* were evaluated: white Hiratake (WH) and black Hiratake (BH), on substrate formulated with PR and supplemented with 20% wheat bran (WB) or 20% CAP and a treatment without supplementation. Mycelial growth (MG), biological efficiency (BE), yield, nutritional characteristics, antioxidant activity and metabolites present in the fruiting bodies of *P. ostreatus* were evaluated. Supplementation had no effect on the MG of both strains of *P. ostreatus*. However, the highest BE (105.75 and 82.25%) and yield (354.50 and 313.00 g kg⁻¹) were obtained with the substrates supplemented with WB and CAP, inoculated with the WH strain. The best EC₅₀ values by the DPPH method were obtained in mushrooms produced on the substrate with PR and CAP, regardless of the isolate evaluated (5.30 to 7.09 mg mL⁻¹). The content of protein (28.01%), carbohydrates (38.01%), fiber (24.41%), minerals (7.07%), energy (294.80 Kcal) and amino acids (lysine, threonine, valine, tryptophan, tyrosine) were higher in mushrooms of the BH strain, regardless of the type of supplementation. However, the highest concentrations of metabolites, mainly xanthine and carnitine, were determined in the BH line produced on the substrate without supplementation. The substrates with PR, supplemented with WB and CAP, provide increased production of the WH line and antioxidant activity and levels of the minerals P, K, Mn, Fe and Zn of the two lines of *P. ostreatus*, but do not favor the concentration of metabolites in the fruiting bodies of the different strains.

Key words: *Elaeis guineensis*, Oyster mushroom, lignocellulosic residue, *Theobroma cacao* and bioconversion

1. INTRODUÇÃO

A geração de grandes volumes de resíduos orgânicos, atualmente rotulados como biomassa residual, vem sendo um dos principais problemas enfrentados pela agroindústria. Os resíduos da produção agroindustrial mais abundantes e de difícil utilização são os de natureza lignocelulósica (VÁSQUEZ et al., 2019).

O Estado da Bahia é produtor das culturas do dendê (*Elaeis guineenses* Jacq.) que é uma palmeira com elevado rendimento de óleo por área de cultivo, constituindo-se como uma fonte potencial de energia renovável (CHIN et al., 2013; BICALHO, BESSOU & PACCA, 2016) e o cacau (*Theobroma cacao* L.), conhecido mundialmente por suas sementes que são a matéria prima para a fabricação do chocolate (KONGOR et al., 2016). Os principais produtos com valor econômico dessas culturas são os óleos extraídos no fruto e sementes do dendezeiro (BICALHO, BESSOU & PACCA, 2016) e as sementes do fruto do cacau, normalmente chamadas de amêndoas ou grãos de cacau (OKIYAMA, NAVARRO & RODRIGUES, 2017). Entretanto o beneficiamento dessas culturas gera uma grande quantidade de resíduos lignocelulósicos. Na cultura do dendê, para cada tonelada de cacho beneficiado são gerados cachos de frutos vazios (23%), fibras do mesocarpo (15%) e casca das sementes, oriundo da extração do óleo de palmiste (6%) (ANYAOHA et al., 2018). Na cultura do cacau, além do resíduo oriundo da extração das sementes do fruto, no processo de beneficiamento das amêndoas é gerado o tegumento da amêndoa do cacau (TAC) juntamente com o embrião, antes ou depois da torrefação (ROJO-POVEDA et al., 2020).

Esses resíduos são pouco utilizados para fins produtivos, acumulando nas unidades de processamento, causando sérios problemas com o descarte, riscos de incêndio e contaminação do solo e das águas subterrâneas, devido à liberação de compostos fenólicos (ARLORIO et al., 2005; NAN et al., 2018). Entretanto, a característica lignocelulósica desses resíduos tem despertado o interesse para a sua utilização na produção de cogumelos comestíveis (SAIDU, SALIM & YUZIR, 2011; NAM et al., 2018).

Os cogumelos comestíveis têm sido tradicionalmente usados como alimentos nutracêuticos em muitos países (BOONSONG et al. 2016; MA et al., 2018) e têm atraído a atenção por apresentarem uma importante fonte de componentes naturais responsáveis pelo gosto umami (SUN et al., 2020). O alto conteúdo de aminoácidos, minerais, vitaminas, fibras e baixo teor de gordura saturada, combinados com a alta digestibilidade da proteína fúngica, tornam este alimento saudável (FINNIGAN et al., 2019). Além disso, possuem várias propriedades bioativas, como atividades: antitumoral, antiparasitária, antidiabética, antimicrobianas (CORRÊA et al., 2016; CARRASCO-GONZÁLEZ, SERNA-SALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017; LIU et al. 2017), antioxidante (KHATUN et al. 2015; KANDASAMY et al., 2019) e anti-inflamatória (TAOFIQ et al. 2016).

No Brasil, a produção e consumo de cogumelos está aumentando rapidamente devido aos benefícios nutricionais e seu potencial na geração de fonte de renda para pequenos e médios produtores (ZIED et al., 2019). Os cogumelos do gênero *Pleurotus* tem se destacado, pois são eficientes na degradação de substâncias como a lignina, celulose e hemicelulose, devido à produção de várias enzimas (lacases, peroxidases de lignina, peroxidases de manganês, xilanase, celulasas ou celobiose desidrogenase) por esses fungos, que são responsáveis pela degradação de diversos resíduos lignocelulósicos (SÁNCHEZ, 2009). Estes fungos apresentam rápido crescimento e a sua produção exige baixo investimento de capital e habilidade técnica dos produtores em diferentes regiões do mundo (LAVELLI et al., 2018). Nesse sentido, os cogumelos pertencentes ao gênero *Pleurotus* podem ter uma contribuição valiosa para o meio ambiente, através da transformação de resíduos agrícolas em alimentos comestíveis com alto valor nutricional.

Tem-se dado uma atenção especial aos cogumelos, devido ao grande número de substâncias biologicamente ativas que podem ser utilizadas como matéria-prima para a produção de produtos funcionais, especialmente aqueles com efeitos antioxidantes (CARRASCO-GONZÁLEZ, SERNA-SALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017; LU et al., 2018). Os cogumelos ostra são promissores nesse aspecto, pois seus corpos frutíferos são ricos em antioxidantes naturais (SAŁATA, LEMIESZEK & PARZYMIES, 2018).

Considerando as características dos fungos do gênero *Pleurotus*, em termos de condições de crescimento e valor nutricional, medicinal, gastronômico e na indústria alimentícia e de suplementos nutricionais, de seus corpos de frutificação, o uso de resíduo do processamento do fruto do dendê como fontes de nutrientes para o crescimento deste fungo pode se tornar um processo biotecnológico importante para a bioconversão da biomassa lignocelulósica da agroindústria do dendê em um alimento com elevado valor nutricional e econômico. Este processo ainda contribui com a redução dos impactos que esses resíduos causam ao meio ambiente, com inserção na bioeconomia circular, através do reaproveitamento desses resíduos, com a geração de um produto alimentício com valor econômico (CHANG & WASSER, 2017; SILVA et al., 2020).

A prática agronômica de suplementar nutricionalmente os substratos de cultivo de cogumelos é rentável por melhorar o rendimento e a qualidade dos corpos de frutificação (CARRASCO et al., 2018). A maioria dos suplementos utilizados na produção de *Pleurotus* spp. são ricos em minerais, proteínas e aminoácidos, o que auxilia no seu crescimento e frutificação, reduzindo o tempo de colonização do substrato e frutificação (BELLETTINI et al., 2019; RAMAN et al., 2020). A substituição de suplementos comerciais por resíduos locais como o tegumento da amêndoa do cacau (TAC) na suplementação do substrato formulado com resíduo de dendê para produção de cogumelos apresenta-se como uma estratégia promissora para converter esses resíduos locais em alimento altamente valorizado (TESFAW, TADESSE & KIROS, 2015; SILVA et al., 2020).

Nessa perspectiva, o objetivo do trabalho foi avaliar: i) o potencial de utilização do TAC como suplemento ao substrato de crescimento de duas linhagens *P. ostreatus* composto por resíduos do dendê, em substituição ao farelo de trigo; ii) avaliar a atividade antioxidante dos corpos de frutificação produzidos, e iii) quantificar e identificar a composição nutricional e metabólica do corpo de frutificação, para os diferentes substratos de crescimento utilizados.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Microrganismo e condições de cultivo

Para a avaliação do crescimento micelial inicialmente foram utilizados três isolados de *P. ostreatus*, codificados como Hiratake Branco (HB), PLO 04 e Hiratake Preto (SP). Os isolados HB e PLO 04 foram obtidos da coleção de fungos do Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa – UFV e o isolado denominado de Hiratake preto foi cedido pela empresa Nayumi Cogumelos de Mogi das Cruzes - SP. Para o preparo do inóculo, fragmentos de micélio dos isolados fungicos preservados pelo método Castellani, foram transferidos para placas de Petri com meio batata, dextrose e ágar (BDA) (BONONI et al., 1999). As placas foram incubadas a temperatura de 25°C, durante sete dias. Após este período, as culturas foram mantidas a 4°C até sua utilização.

2.2. Produção de inóculo (*spawn*)

Sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*) foram utilizadas como substrato para o crescimento dos fungos. 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 tampas metálicas 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 de cada um dos isolados do fungo em meio BDA e incubado a 25°C, durante 20 dias. Os grãos colonizados pelo fungo são denominados de inóculo semente (*spawn*).

2.3. Obtenção, tratamento dos resíduos agrícolas e formulação dos substratos

Os resíduos oriundos da extração do óleo de dendê (fibra do mesocarpo) foram coletados em indústrias de processamento do fruto do dendê no município

de Valença, Bahia, ensacados e imediatamente transportados para a unidade de processamento de cogumelos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). O tegumento da amêndoa de cacau (TAC) foi coletado na região Sul da Bahia, em agroindústria de processamento da amêndoa de cacau. O farelo de trigo (FT) foi adquirido em uma casa de comercialização de materiais agropecuários.

O resíduo de dendê (RD) foi tratado por imersão em uma solução de 0,5 % de cal hidratado, por 12 h. O substrato foi formulado com o RD e 20% de TAC ou 20% FT e o controle sem suplementação (100% resíduo de dendê), todos com 3 % de carvão vegetal moído.

2.4. Avaliação do crescimento micelial vertical em substrato

Para avaliação do crescimento micelial vertical foram utilizados tubos de ensaio de vidro com 22 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro. Os substratos como descrito anteriormente foram colocados nos tubos até atingir os primeiros 12 cm do comprimento, correspondendo a 28,5 g de substrato úmido, e foram esterilizados em autoclave a 121°C, durante 30 minutos. Cada tubo foi inoculado na superfície do substrato com 1g de inóculo da cultura semente dos diferentes isolados de *P. ostreatus* (Hiratake Branco, PLO 04, Hiratake preto). Os tubos foram fechados com tampão de algodão e papel manteiga e incubados a temperatura ambiente (25±2°C) na ausência de luz. A avaliação do crescimento micelial vertical foi realizada por medição com uma régua (mm), a cada 24 horas e foi finalizada quando o micélio fúngico colonizou todo o comprimento do substrato, em um dos seus tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições.

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

Para avaliar a produção de *P. ostreatus* nos diferentes substratos, a umidade de todos os substratos foi ajustada para 70% com a adição de água potável. Os substratos foram transferidos para sacos de polietileno com filtro de troca gasosa, contendo 2 kg de substrato (peso úmido) em cada saco e estes foram esterilizados em autoclave a 121°C, por 55 minutos. A inoculação dos

substratos procedeu-se com adição de 40 g de semente- inoculo por saco (2% do peso do substrato) e estes foram transferidos para uma em sala de incubação, com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 75 a 80%. Após a total completa colonização do substrato, os sacos foram transferidos para a sala de frutificação e submetidos a um choque térmico, por meio da redução da temperatura do ambiente para $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com o uso de sistema de nebulização e ventiladores, programados em sistema automatizado para serem ligados cinco vezes durante o dia, com a duração de 3 minutos cada nebulização e ventilação conjunta. Em seguida, foram feitos furos equidistantes nos sacos (21 furos por saco), com um bisturi de aço inoxidável, para a emissão dos corpos de frutificação. A temperatura foi mantida a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e a umidade entre 80 e 90% na sala de frutificação até o fim da produção.

As colheitas foram realizadas duas vezes ao dia, quando os cogumelos apresentavam uma conformação do píleo quase plana, sendo este considerado o ponto de colheita dos cogumelos. Após a colheita os cogumelos foram pesados em balança analítica e em seguida foram secos em estufa de ventilação forçada, modelo SL-102, na temperatura de 45°C , até atingirem peso constante.

2.6. Avaliação dos parâmetros de cultivo

Os parâmetros avaliados foram: duração do ciclo de cultivo (colonização, formação dos primórdios e produção de cogumelos), a precocidade definida como o tempo decorrido entre o dia da inoculação e o dia de aparecimento dos primórdios, eficiência biológica (EB), rendimento e taxa de rendimento (TR) de cogumelos.

2.6.1. Eficiência biológica (EB)

A eficiência biológica, ou seja, a capacidade de bioconversão pelo fungo do substrato seco em cogumelos frescos foi calculada com a seguinte equação: $\text{EB (\%)} = \frac{\text{massa fresca de cogumelo}}{\text{peso seco inicial de substrato}} \times 100$ (Royse et al., 2004).

2.6.2. Rendimento (R)

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

2.6.3. Taxa de Rendimento (R)

Taxa de rendimento foi expressa como a razão entre o peso total de cogumelos frescos e o período de produção total em dias

2.7. Preparação do extrato metanólico dos corpos frutificação de *P. ostreatus* para determinação da Atividade antioxidante, compostos fenólicos e análise metabolômica

Para a preparação dos extratos dos corpos de frutificação dos isolado HB e SP, amostras secas e trituradas em moinho de faca tipo Willey foram preparadas e a extração realizada de acordo com o método de Mau et al. (2002), com modificações. Foram utilizados 10 g de cogumelos triturados e a extração foi realizada com a adição de 100 mL de metanol, com agitação em um agitador rotativo a 115 rpm e a temperatura de 25°C , por 72 horas e este processo foi repetido três vezes por meio de decantação, remoção e armazenamento da parte líquida e a adição de 100 mL de etanol., e Os extratos das três repetições do processo de extração foram misturados e o solvente foi removido utilizando um evaporador rotativo a 40°C . Os extratos secos foram armazenados no escuro à 4°C até a utilização nas análises.

2.7.1. Atividade antioxidante

O potencial antioxidante dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* foi avaliado por duas metodologias, usando o extrato metanólico. Os extratos foram diluídos em metanol e utilizados para a avaliação usando os métodos DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) e ABTS (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), nas concentrações variando de 2,5 a 12,5 mg mL⁻¹. O Trolox foi utilizado como

referência para os dois métodos em concentrações que variaram de 0,0025 a 0,25 mg mL⁻¹.

2.7.2. Eliminação de radicais DPPH

A capacidade de sequestrar o radical livre de DPPH foi avaliada de acordo com o método de Hatano et al. (1988), com modificações. A solução do extrato (0,3 mL) foi misturada com 2,7mL de uma solução de metanol contendo radicais DPPH (6×10^{-5} mol.L⁻¹). A mistura foi agitada em agitador orbital e deixada em repouso durante 60 minutos, a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) no escuro (até que foram obtidos valores de absorbância estáveis). A redução do radical DPPH foi medida por monitorização da absorção a 517 nm (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation). O efeito de eliminação do DPPH foi calculado como a percentagem de descoloração do DPPH, utilizando a seguinte fórmula: $[(A_{\text{DPPH}} - A_s) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$, em que A_s foi a absorbância da solução quando o extrato da amostra foi adicionado a um determinado nível, e A_{DPPH} foi a absorbância da solução DPPH. A concentração do extrato metanólico proporcionando 50% de inibição (EC₅₀) foi calculada a partir do gráfico do efeito de captura de percentagem contra a concentração do extrato na solução.

2.7.3. Efeito da redução de radicais ABTS

O método ABTS foi realizado conforme descrito por Sánchez et al. (2007), com base na capacidade de uma amostra inibir o radical ABTS. O efeito de eliminação do ABTS foi calculado como a percentagem de descoloração do ABTS, usando a mesma fórmula do método DPPH. O radical ABTS foi gerado por reação química com persulfato de potássio (K₂S₂O₈). Foram adicionados 25 mL de ABTS (7 mmol L⁻¹) e 440 µL de K₂S₂O₈ (140 mmol L⁻¹), sendo a solução mantida no escuro durante 12–16 h à temperatura ambiente, para formar o radical. Um volume preciso dessa solução foi diluído em etanol absoluto até uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm (Genesysm 10UV, Thermo Electron Corporation). Uma vez formado o radical, 2 mL da solução do radical ABTS foram

misturados com 100 μL de cada extrato metanólico e a absorbância medida a 734 nm. O efeito de eliminação de ABTS e os valores de EC_{50} foram calculados de acordo com a metodologia citada anteriormente para o método DPPH.

2.7.4. Determinação de diferentes grupos de compostos fenólicos

Os fenóis totais, derivados do ácido hidroxicinâmico e teor de flavonóis foram determinados em triplicata de acordo com o método descrito por Boulanouar et al. (2013). Em 1 mL do extrato metanólico (2,5 e 12,5 mg mL^{-1}) foi acrescentado 1 mL de etanol aquoso (95% v/v) contendo ácido clorídrico a 0,1% e 8 mL de ácido clorídrico a 2%. A absorbância foi medida a 280 nm para determinar fenóis totais, 320 nm para derivados do ácido hidroxicinâmico e 360 nm para o teor de flavonóis (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation). Os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico (GAE) g^{-1} de extrato para fenóis totais, equivalentes de ácido cafeico (CAE) g^{-1} de extrato para derivados de ácido hidroxicinâmico e quercetina (QE) g^{-1} de extrato para flavonóis. As curvas de calibração seguiram a mesma metodologia aplicada aos extratos metanólicos, com concentrações variando de 0,001 e 1 mM para ácidos gálico e cafeico e concentrações de 0,001 a 0,5 mM para a quercetina.

2.8. Análise metabolômica

2.8.1. Preparação de amostra e aquisição de espectros

Uma alíquota de 10 mg de cada extrato de metanol foi dissolvida em 0,6 mL de tampão fosfato (0,1 M, pH 7,4) preparado com D_2O e TMS- d_4 0,5 mM. As amostras foram adicionadas a um tubo de RMN de 5 mm para aquisição imediata. Os espectros foram adquiridos usando um espectrômetro Agilent DD2 500 MHz ou Varian / Agilent Inova® 600 MHz (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA) equipado com uma sonda de ressonância tripla fria a 25°C. A aquisição de espectros de ^1H -NMR foi realizada com 256 varreduras coletadas e 32 K pontos de dados em uma largura espectral de 8.000 Hz. Um atraso de relaxamento de 1,5 s foi incorporado entre as varreduras, durante o qual um

campo de radiofrequência (RF) de pré-saturação de água contínua foi aplicado para eliminar o sinal de água residual. Os espectros de ^{13}C NMR foram adquiridos com 30.000 varreduras coletadas com 65 K pontos de dados ao longo de uma largura espectral de 31250 Hz e um retardo de relaxamento de 3,0 s.

Os espectros de RMN 2D ^1H - ^1H -COSY foram adquiridos usando uma largura espectral de 8.000 Hz e 256 incrementos com 24 transientes de pontos complexos de 2k para cada decaimento de indução livre. Os espectros de RMN 2D de ^1H - ^{13}C HSQC foram registrados com uma largura espectral de 8.000 Hz x 25133 Hz. 512 incrementos foram adquiridos com 24 transientes de pontos complexos de 2k. Em ambos os espectros de RMN 2D, como os espectros de RMN de ^1H , um atraso de relaxamento de 1,5 s foi incorporado entre as varreduras de radiofrequência de pré-saturação de água para eliminar o sinal de água.

2.8.2. Quantificação de metabólitos

Os dados espectrais de NMR foram processados usando software NMR Suíte versão 8.1 (Chenomx Inc TM, Edmonton, AB, Canadá). O módulo processador deste software foi usado para ajustar a fase espectral e as correções de linha de base. Uma função de ampliação de linha de 0,5 Hz foi usada para reduzir o ruído do sinal e facilitar o ajuste dos sinais dos metabólitos nos picos espectrais. O sinal de água foi suprimido e os espectros foram calibrados usando o sinal de referência TMSP- d_4 como 0,5 mM. Os espectros foram transferidos individualmente para o módulo Profiling deste *software* para determinar o perfil metabólico de cada grupo. Posteriormente, os metabólitos foram identificados e suas concentrações medidas. Os dados de concentração do metabólito foram exportados para Excel® (Microsoft Office TM 365) e normalizados. Os espectros de ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY e ^1H - ^{13}C HSQC foram usados para confirmar a identidade dos metabólitos.

2.9. Determinação dos elementos

As amostras dos cogumelos foram secas a $45 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 72 h em estufa de circulação a 45°C forçada e moídas em moinho de facas. Em seguida, $0,100 \pm 0,001$ g de cada amostra seca foram digeridos com ácido nítrico concentrado (65% de ácido nítrico, Merck, Darmstadt, Alemanha) e peróxido de hidrogênio. As amostras foram filtradas em papel filtros de $\varnothing$ 7,0 cm e diluídas com água deionizada até um volume final de 50,0 mL (SILVA et al., 2009). Cada tratamento foi processado em 3 réplicas. Para a determinação de macro e microelementos utilizou-se o espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas com base em um plasma de nitrogênio robusto da Agilent, modelo MP-AES 4200. O teor de nitrogênio (N) foi determinado pelo método de Micro-kjeldahl, conforme metodologia AOAC (2000).

2.10. Análise estatísticas

Os dados referentes à produção de *P. ostreatus* foram comparados por análise de variância (ANOVA) e agrupados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados metabolômicos foram normalizados e carregados no programa de computador MetaboAnalyst 5.0, um canal analítico para estudos metabolômicos (www.metaboanalyst.ca) (XIA; WISHART, 2011). Os dados foram submetidos à análise estatística multivariada, que incluiu análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA), escores de importância das variáveis na projeção (VIP), análise hierárquica de agrupamento (HCA) e análise de correlação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Crescimento micelial de *P. ostreatus*

O experimento inicial de crescimento micelial *in vitro* o maior crescimento micelial ocorreu com os isolados HB e SP inoculados nos substratos com RD, suplementado com TAC e FT. A taxa média de crescimento micelial linear diária

apresentado com TAC foi de 0,80 e 0,81 cm dia⁻¹, respectivamente. No isolado PLO 04 apresentou o menor crescimento, independente do tipo de suplementação do substrato, com uma taxa média de crescimento linear diária de 0,54 cm dia⁻¹ (Figura 1).

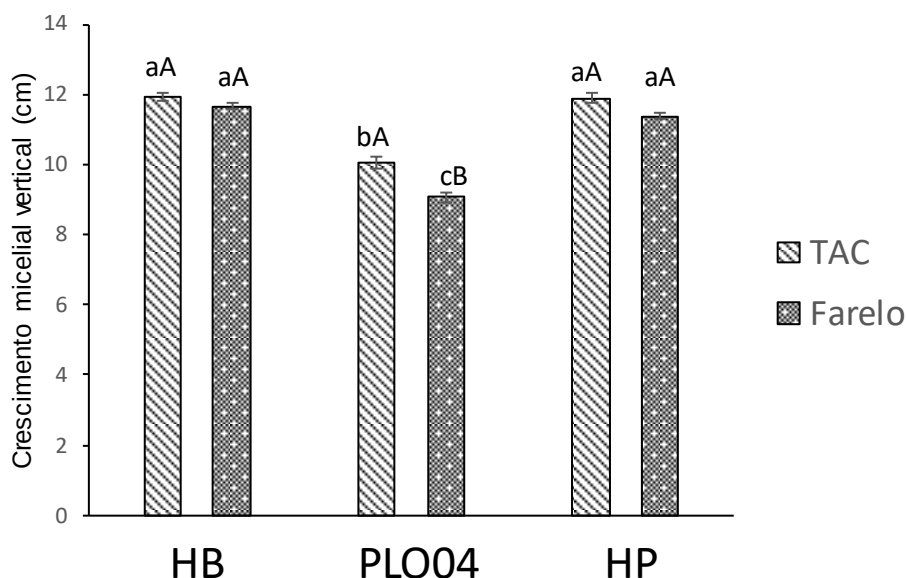


Figura 1. Crescimento micelial vertical *in vitro* de isolados de *P. ostreatus* (HB, PLO 04 e HP) cultivados em substratos formulados com resíduo da cultura do dendê e suplementação com tegumento da amêndoa do cacau (TAC) ou farelo de trigo (FT), 16 dias após inoculação. Os valores são expressos como média $\pm$ erro padrão. Letras diferentes minúsculas indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ entre as suplementações e maiúscula entre os isolados.

Neste estudo, o crescimento mais rápido do micélio observado nos tratamentos com os isolados HB e HP no substrato serviram de base para o desenvolvimento dos trabalhos de produção, visto que, o crescimento do micélio é um fator vital no cultivo de cogumelos (POKHREL, YADAV & OHGA, 2009; TESFAYI et al., 2020). A variação no crescimento micelial entre os diferentes isolados de *P. ostreatus* pode ser devido às variações no teor de nutrientes, na composição de lignina, celulose e hemicelulose, na capacidade de retenção de umidade do substrato, além dos fatores genéticos dos isolados fúngicos (KOUTROTSIOS et al., 2017; LETTI et al., 2018).

3.2. Efeitos da suplementação na produção de *Pleurotus ostreatus*

A produção de corpos de frutificação de *P. ostreatus* no substrato de RD com suplementação de TAC ou FT foi avaliada através da determinação do crescimento micelial (CM), início de formação dos primórdios (IFP), eficiência biológica (EB), rendimento (REND) e taxa de rendimento (TR) de dois isolados de *P. ostreatus* (HB e HP). Houve diferenças significativas entre as diferentes fontes de suplementação e os isolados nos parâmetros de produção avaliados (Tabela 1). O CM no substrato suplementado e sem suplementação ocorreram entre 14º a 18º dias após a incubação, sendo a duração de 14 dias no substrato suplementado com FT, 16 dias no substrato com TAC e 18 dias no substrato sem suplementação não sendo observadas diferenças significativas entre as fontes de suplementação e os isolados. Esses valores foram semelhantes aos apresentados por Silva et al., 2020 (15 dias), trabalhando com diferentes combinações com TAC e RD e inferiores aos relatados por Li et al. (2017) (26-29 dias) avaliando cascas de semente de algodão, suplementado com resíduos de perilla e Jin et al., 2018 (31 a 42 dias) avaliando o crescimento de *P. ostreatus* em substrato com sabugo de milho suplementadas com resíduos de ervas.

O IFP foi observado entre o 25º e o 60º dia após a completa colonização e incubação do substrato na sala de frutificação. Entretanto, os substratos suplementados com FT ou TAC, ambos proporcionaram o rápido IFP (25º dia) para o isolado HB, em relação ao substrato sem suplementação (32º dia), não observando diferença estatística entre as fontes de suplementações. O isolado HP apresentou o IFP mais tardio (entre o 35º e 60º dia) em relação ao isolado HB. Esses resultados sugerem que a adição de TAC em substituição ao FT no substrato com resíduo de dendê pode promover a rápida colonização micelial e diminuir o ciclo de cultivo do isolado HB. Para o HP, apesar da rápida CM, o IFP foi tardio (35º dia). A precocidade das espécies de *P. ostreatus* também é afetada pela natureza do substrato (KOUTROTSIOS et al. 2014) e pelos fatores genéticos da espécie e isolado de *Pleurotus* (KOUTROTSIOS et al., 2017).

A eficiência biológica (EB) dos substratos reflete a capacidade de uma linhagem específica do fungo de crescer em determinado substrato e juntamente com REND e TR são os principais parâmetros de produção observados pelos produtores de cogumelos (JIM et al., 2018). O substrato suplementado com FT

e incubado com o HB foi o que apresentou a maior porcentagem de EB (105,75%), sendo superior aos demais tratamentos que variaram entre 9,34 a 82,25% (tabela 1). Entretanto, variações foram observadas com relação ao REND (24,11 a 354,50 g kg⁻¹) e TR (0,87 a 12,75 g dia⁻¹), não sendo observadas diferenças significativas para as fontes de suplementação do substrato para a linhagem HB, mas para HP a EB com a suplementação com TAC (34,25%) foi superior ao FT (14,75%).

Tabela 1. Corrida micelial (CM), início da formação dos primórdios (IFP), eficiência biológica (EB), rendimento (R) e taxa de rendimento (TR) na produção de diferentes isolados de *P. ostreatus* (Hiratake branco (HB) e Hirateke preto (HP)) em substrato com resíduo de dendê, suplementado com e sem película de cacau (TAC) e farelo de trigo (FT).

	Isolado	Suplementação			CV
		TAC	FT	Sem	
CM (dias)	HB	16,25bA	14,00bA	18,00aA	5,38
	HP	16,25bA	14,00bA	18,00aA	
IFP (dias)	HB	25,60aB	25,60aB	32,20bB	13,93
	HP	53,90bA	35,20cA	60,90aA	
EB (%)	HB	82,25bA	105,75aA	59,25cA	23,96
	HP	34,25aB	14,75bB	9,34bB	
REND (g kg ⁻¹)	HB	313,00aA	354,50aA	229,25bA	18,35
	HP	49,25aB	80,25aB	24,11bB	
TR (g dias ⁻¹)	HB	12,25aA	12,75aA	8,25bA	21,77
	HP	3,50aB	2,25aB	0,87bB	

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

Os principais parâmetros de produtividade na produção de cogumelos envolvem a combinação da duração do período de cultivo com a eficiência biológica, permitindo a avaliação do processo de cultivo. Esses resultados demonstram o potencial do resíduo de dendê para a produção de *P. ostreatus* e da substituição do FT pela TAC como suplementação do substrato, pois a EB no substrato com suplementação do TAC foi inferior à observada no substrato com FT para o isolado HB, mas o REND não foi significativamente diferente. A EB e o REND foram relativamente altos para a linhagem HB, quando comparados aos

valores obtidos com outros substratos lignocelulósicos (JIM et al., 2018; LI et al., 2017) e assemelham-se aos resultados encontrados por Koutrotsios et al., 2017 avaliando diferentes linhagens de *P. ostreatus* em resíduo com palha de trigo. Esses autores demonstraram que as linhagens de *P. ostreatus* tiveram variação no REND de 161 a 361 g kg⁻¹ de substrato fresco e EB entre 44 e 107%.

Nossos resultados de EB também foram superiores aos encontrados por Sulistiany, Sudirman & Dharmaputra, 2016 (64,47% e 88,86%), trabalhando com a produção de uma linhagem de *P. ostreatus* selvagem em três substratos formulados com resíduo dos cachos do dendê e inferiores aos relatados por Silva et al., 2020 (92,7 a 148,8%) avaliando diferentes concentrações da TAC no substrato formulado com RD na produção de *P. ostreatus*. Estes resultados reforçam os relatados na literatura que a composição do substrato e o genótipo do fungo afetam a eficiência biológica de *P. ostreatus*. A suplementação com TAC e FT no substrato com dendê para a produção do HB apresentam superioridade, com TR de 12,25 e 12,75 g dia⁻¹, respectivamente, o que representa 35% de aumento no rendimento e 43% na EB na produção de *P. ostreatus*, em comparação com o substrato sem suplementação.

Fontes orgânicas na suplementação de substrato de produção de *P. ostreatus* têm demonstrado comportamento semelhante aos aditivos comerciais (CARRASCO et al., 2018). Resíduos de farelo de pistache desengordurado e farelo de amêndoa desengordurado mostraram ser bons substitutos de suplementos comerciais na avaliação da produção de *P. ostreatus* (PARDO-GIMÉNEZ et al. 2016, 2018). Resíduos de amendoim também foram utilizados como suplemento de substrato de produção de *P. ostreatus* com aumento na EB de 61% em relação substrato comercial (ZIED et al., 2019). A suplementação de palha de arroz com torta de sementes sem óleo melhorou significativamente o REND (1014,64 g kg⁻¹) e a EB (101,46%) dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* com aumento de 18,14% em relação ao tratamento de controle (palha de arroz) (SINGH et al., 2020).

A análise discriminante parcial por mínimos quadrados (PLS-DA) entre as características nutricionais do RD, as suplementações (TAC e FT) e suas combinações indicou que as variáveis explicaram 68,1% das respostas obtidas nos componentes 1 (58,5%) e 2 (20,5%) (Figura 2A). Todos os componentes do substrato e suas combinações foram agrupados separadamente, indicando boa

reprodutibilidade dos resultados. O modelo PLS-DA indica que as suplementações e o grupo RD são separados no primeiro e no segundo componentes, indicando diferenças significativas nas características bromatológicas e nutricionais entre esses grupos. Porém, os tratamentos com suplementação não apresentaram diferenças significativas. As fontes orgânicas (TAC e FT) apresentaram diferente composição nutricional, como apresentado no mapa de calor na figura 2B. Celulose, hemicelulose e nitrogênio são os principais fatores relacionados ao crescimento e produção de *P. ostreatus* (BELLETTINI et al., 2019). O bom desempenho do substrato com TAC pode estar relacionado à baixa relação C/N (28,8 %), alto teor de fibras, a composição de celulose, hemicelulose e lignina, com média de 16% de proteínas e 6,55% de lipídios.

Os macronutrientes também são necessários para o crescimento e frutificação do fungo, especialmente o N, P e K (MILES & CHANG, 2004), que foram significativamente maiores nas fontes de suplementação (TAC e FT) em comparação com o RD. Estes nutrientes podem explicar o maior rendimento dos cogumelos no substrato com a suplementação.

Substratos com diferentes fontes de nitrogênio apresentam potencial de suplementação de resíduos lignocelulósicos para produção de cogumelos ostra, facilitando a absorção das moléculas nitrogenadas, o que permite que os fungos tenham mais energia para o crescimento micelial e frutificação (NUNES et al., 2012). Apesar de o TAC apresentar teores de proteína bruta menores que o FT e conseqüentemente relação C/N maior (figura 2), os resultados demonstraram alto rendimento e EB com esses tratamentos, o que é consistente com resultados encontrados por diversos autores (LI et al., 2017; JIN et al., 2018; ZIED et al., 2019; SILVA et al., 2020), mostrando que a suplementação, independentemente da fonte agroindustrial, aumenta o EB de *P. ostreatus*. A relação C/N das misturas RD + TAC promovem a bioconversão do substrato, confirmando que a TAC se apresenta como um suplemento adequado e alternativo para a substituição do FT no cultivo de cogumelos ostra.

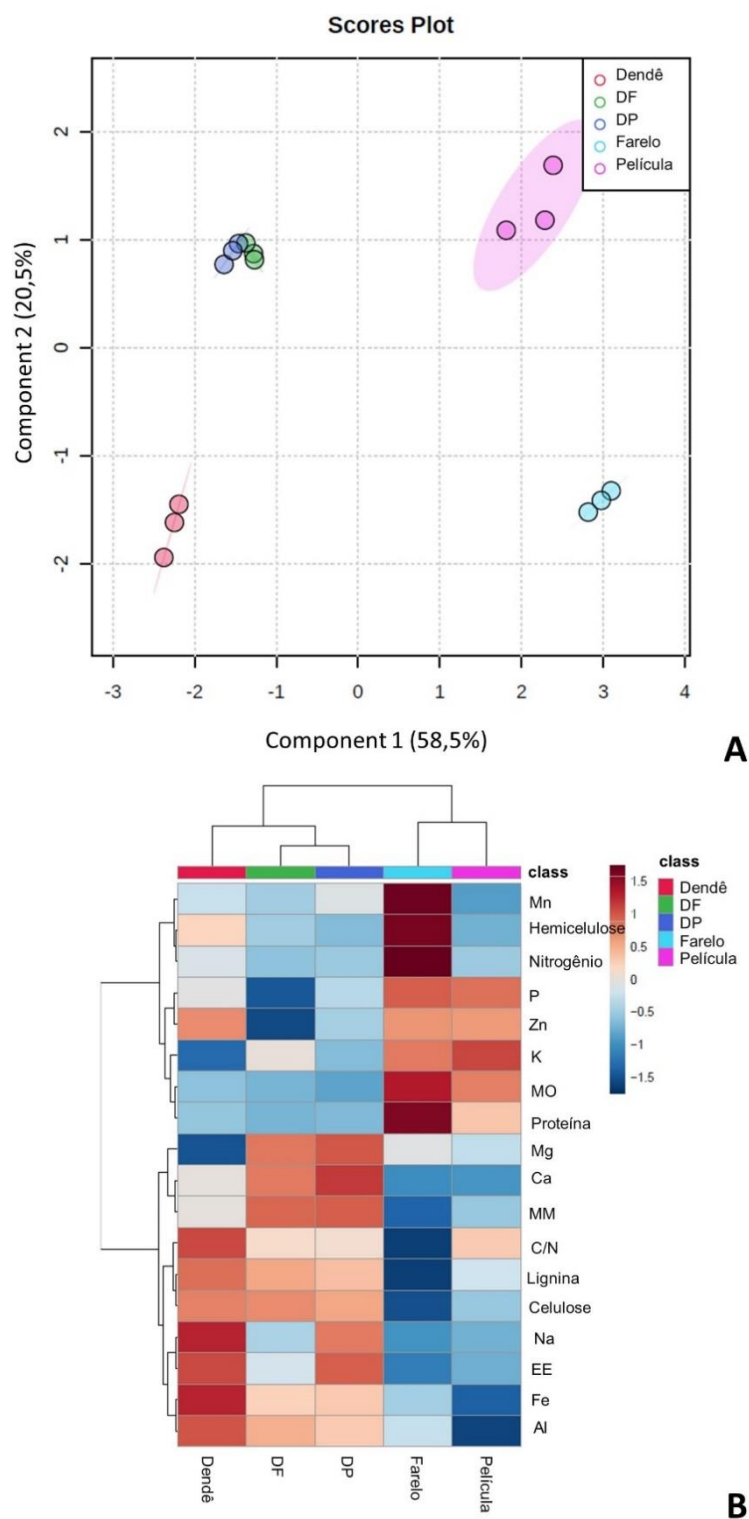


Figura 2. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) e variável importância em projeção (VIP) das características nutricionais mais importantes do tegumento da amêndoa do cacau (TAC), farelo de trigo (FT) e resíduo de dendê (RD) e suas combinações identificadas por PLS-DA, e a contribuição dessas variáveis para um modelo. As caixas coloridas indicam as concentrações de cada variável no substrato. VIP é a soma ponderada das correlações quadradas entre os componentes do PLS-DA e a quantidade da variável Y explicada em cada dimensão. * MM = Matéria mineral; MO = matéria orgânica; EE = extrato de etéreo; C / N = relação carbono / nitrogênio.

3.3. Atividade antioxidante

A eliminação de radicais livres é um dos mecanismos envolvidos na inibição da oxidação lipídica e é comumente usada para estimar a atividade antioxidante (JIM et al., 2018). A eliminação de radicais livres pelos métodos DPPH e ABTS são amplamente utilizados para avaliar a atividade antioxidante por serem simples, requerem curto período de tempo e apresentarem elevada sensibilidade (DEBNATH et al. 2017; SÁNCHEZ, 2017). No presente trabalho, a atividade antioxidante dos extratos de *P. ostreatus* foram avaliadas pela determinação dos valores de EC50 dos radicais DPPH e ABTS (Figura 3). Valores mais baixos de EC50 representam maior atividade antioxidante (BOLIGON; MACHADO & ATHAYDE, 2014). A porcentagem de atividade de eliminação de radicais DPPH variou entre 22,86% (2,5 mg mL⁻¹ de extrato) e 85,22% (12,5 mg mL⁻¹ de extratos metanólicos de *P. ostreatus*) entre os diferentes tratamentos. Os melhores valores de EC50 pelo método DPPH foram obtidos nos substratos com resíduo de dendê e TAC, independente do isolado avaliado (5,30 a 7,09 mg mL⁻¹), sendo superior estatisticamente aos valores observados nos corpos de frutificação obtidos no substrato com FT e no substrato sem suplementação. Os menores valores de EC50 para o isolado HB avaliado, pelo método ABTS (5,10 e 5,77 mg mL⁻¹), foram observados nos tratamentos com as diferentes fontes de suplementação TAC e FT, sendo superior estatisticamente do substrato sem suplementação. Entretanto, o tratamento com suplementação de TAC proporcionou o menor valor de EC50 (5,85 mg mL⁻¹) para os corpos de frutificação do isolado HP.

Os valores da atividade antioxidante dos corpos de frutificação de *P. ostreatus*, relatados na literatura apresentam uma enorme variação, estando relacionados a fatores como: matéria prima para a formulação dos substratos de produção, formas e tipos de suplementação do substrato de cultivo, estágio de colheita, condições de armazenamento e tipos de solvente usados no processo de extração (SMOLSKAITĖ, VENSKUTONIS & TALOU, 2015; KOUTROTSIOS et al., 2017; LI et al., 2017).

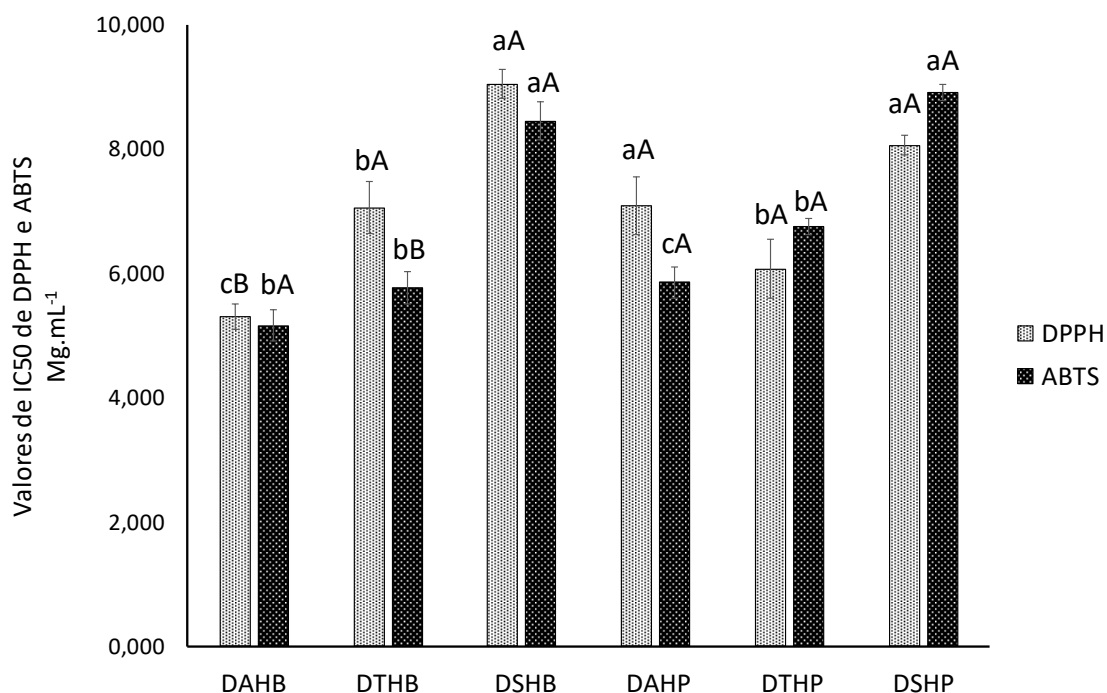


Figura 3. Valores de IC 50 para extratos metanólicos de *Pleurotus ostreatus* (isolados HB e HP), produzidos em substratos com resíduo de dendê, suplementado com película da amêndoa do cacau ou farelo de trigo, submetidos aos métodos DPPH e ABTS. * IC 50 (mg mL^{-1}) - concentração na qual 50% dos radicais DPPH e ABTS são capturados; DAHB= Resíduo de dendê (RD) + Tegumento da amêndoa do Cacau (TAC), inoculado com Hiratake branco (HB); DTHB= RD + Farelo de trigo (FT) + HB; DSHB= RD = sem suplementação (S) + HB; DAHP= RD+TAC, inoculado com Hiratake Preto (HP); DTHP = RS+FT+HP; DSHP = RD + S + HP.

Os resultados demonstram que a suplementação do substrato de produção de *P. ostreatus* tem grande efeito na atividade antioxidante e trabalhos têm demonstrado que a suplementação aumenta a atividade antioxidante dos cogumelos (CARRASCO-GONZALEZ, SERNA-SALDIVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017). A alta atividade antioxidante do extrato de *P. ostreatus* cultivado em RD, suplementado com TAC ou FT, em relação aos tratamentos sem suplementação, podem estar relacionados com o alto teor de compostos fenólicos, flavonoides e ácido hidroxicinâmico apresentados na Tabela 2.

Os principais componentes encontrados nas espécies de *Pleurotus* spp. são os compostos fenólicos (VIEIRA et al., 2013; GAŁECKA et al., 2016; EL-ENSHASY et al., 2018). Segundo, Singh et al., 2020, há uma forte correlação positiva entre o conteúdo de compostos fenólicos do extrato e sua atividade antioxidante. Os compostos fenólicos são agentes antioxidantes resultantes do metabolismo secundário dos cogumelos, que auxiliam no sequestro e inibição dos radicais livres (GAŁECKA et al., 2016). Esse grupo de compostos apresenta

uma diversidade de metabólitos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides, diterpenos fenólicos e óleos voláteis, possuindo na estrutura um ou mais anéis aromáticos com grupos hidroxila (SÁNCHEZ, 2017; HELENO et al., 2015).

O conteúdo de fenóis totais nos corpos de frutificação do isolado HB de *P. ostreatus*, produzido em substrato com RD suplementado com TAC (9,38 mg GAE g⁻¹) foi superior aos valores observados nos tratamentos com FT e sem suplementação (5,03 e 4,52 mg GAE g⁻¹) e no tratamento com TAC, para o isolado HP (5,08 mg GAE g⁻¹) (Tabela 2). Nossos valores de conteúdo fenólico total para o substrato de dendê, independentemente do tipo da suplementação, expressos em mg de ácido gálico g⁻¹, foram superiores aos dados relatados por PERAZA et al., 2019 (0,65 a 0,93 mg de ácido gálico g⁻¹), comparando a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico total entre diversas espécies de cogumelos pertencentes ao gênero *Pleurotus*. Outros estudos com extrato metanólico de *P. ostreatus* também apresentaram valores inferiores, como os apresentados por Vieira et al., (2013) (3,45 - 3,71 mg GAE g⁻¹), Jim et al., 2018 (1,18–2,27 mg GAE g⁻¹) e Li et al., 2017 (3,45–3,71 mg GAE g⁻¹) em extratos aquosos.

A suplementação com TAC e FT promoveu aumentos no conteúdo de derivados do ácido hidroxicinâmico (DAH) no isolado HB (2,42 e 1,90 mg CAE g⁻¹). O conteúdo relativamente mais alto de flavonoides no isolado HB foi observado para os cogumelos produzidos nos substratos suplementados com TAC e FT (3,64 e 3,07 mg QE g⁻¹), em relação aos apresentados no tratamento sem suplementação (2,20 mg QE g⁻¹) e para o isolado HP, a suplementação com FT (3,53 mg QE g⁻¹) foi mais eficiente (tabela 2). Valores semelhantes de flavonoides foram encontrados por Islam, Yu & Xu, 2016 (0,05 - 5,95 mg QE g⁻¹), avaliando 40 espécies diferentes de cogumelos comestíveis.

Tabela 2. Fenóis totais (mg GAE g⁻¹), derivados do ácido hidroxicinâmico (DAH) (mg CAE g⁻¹) e flavonóis (mg QE g⁻¹) nos extratos metanólicos de *Pleurotus ostreatus* produzidos em substrato de dendê, suplementado com película da amêndoa do cacau e farelo de trigo (média ± desvio padrão).

	Isolado	Suplementação		
		TAC	FT	SEM
Fenóis totais (mg GAE g ⁻¹)	HB	9,38±0,91aA	5,15±0,31bA	4,52±0,23bA
	HP	5,08±0,20aB	5,03±0,19aA	4,27±0,22aA
DAH (mg CAE g ⁻¹)	HB	2,42±0,25aA	1,90±0,66aA	1,35±0,27bA
	HP	1,92±0,12aA	1,82±0,08aA	1,21±0,18aA
Flavonóis (mg QE g ⁻¹)	HB	3,64±0,43aA	3,07±0,14aA	2,20±0,10bA
	HP	2,14±0,11bA	3,53±0,87aA	1,98±0,03bA

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

Nesse sentido, os corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos em substrato com resíduo de dendê e suplementado com TAC apresentaram aumento no conteúdo de fenóis totais, DAH e flavonóis, promovendo significativa atividade antioxidante contra os radicais DPPH, sugerindo que a atividade antioxidante de *P. ostreatus* está associado à qualidade do substrato de produção. Os compostos fenólicos totais, DAH e flavonóis são conhecidos por terem fortes propriedades antioxidantes na prevenção da peroxidação lipídica e eliminação de radicais livres (EL-ENSHASY et al., 2018). Compostos fenólicos como: protocatecuico, p-hidroxibenzóico, sinápico, ácidos hidroxicinâmicos, ferúlico (MUSZYŃSKA et al. 2013) gálico, homogentísico e clorogênico também foram relatados em corpos de frutificação de *P. ostreatus* (KIM et al. 2008).

Provavelmente o aumento dos compostos fenólicos nos corpos de frutificação de *P. ostreatus* está diretamente relacionado à suplementação do substrato com TAC. Principalmente se considerarmos que a presença de compostos bioativos em TAC foi extensivamente avaliada e a atividade antioxidante foi confirmada e atribuída à presença de diferentes compostos fenólicos (catequina, epicatequina e procianidina B2) (LECUMBERRI et al., 2007; MARTÍNEZ et al., 2012).

3.4. Características nutricionais e metabólitos de *P. ostreatus*

A composição nutricional dos cogumelos, seu conteúdo de metabólitos e compostos bioativos são diferenciados quantitativa e qualitativamente dependendo da cepa, condições de cultivo e substratos usados (KOUTROTSIOS et al., 2019). A Figura 4 apresenta as análises de discriminante parcial de mínimos quadrados (PLS-DA) e os valores de variável importância em projeção (VIP) que mostram que houve diferenças na composição e produção dos corpos de frutificação produzidos nos substratos com RD, independente da fonte de suplementação (TAC e FT) e das linhagens de *P. ostreatus* inoculadas (HB e HP). Os dados foram analisados em conjunto e os isolados individuais dentro de cada fonte de suplementação. Os parâmetros apresentados pela análise de discriminante parcial de mínimos quadrados (PLS-DA) do agrupamento total dos dados responderam por 71,2% das variações observadas, sendo 55% para o componente 1 e 16,2% para o componente 2. Para a cepa HP, as características dos corpos de frutificação foram muito distintas entre cada substrato avaliado, enquanto que para o HB houve uma pequena variação (Figura 4A).

A análise de VIP com todos os grupos de tratamentos apresentou 35 características principais, que determinam a produção e composição dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* (HB e HP), estando presentes metabólitos, aminoácidos, minerais, e os dados de produção, como: eficiência biológica (EB), rendimento, taxa de rendimento, tirosina, Isoleucina, treonina, lisina, valina, betaína, lactato, uridina, uracil, nicotinato, fibras, 4-Hidroxibenzo, trimetilamina, glicerol, flavonóis, fenóis totais, ABTS, succinato, fumarato, carnitina, energia, carboidratos, trehalose, 4-aminobutirato, colina, malato, sn-Glicero-3-p, piroglutamato, Mn, Mg, Na e P (Figura 4B).

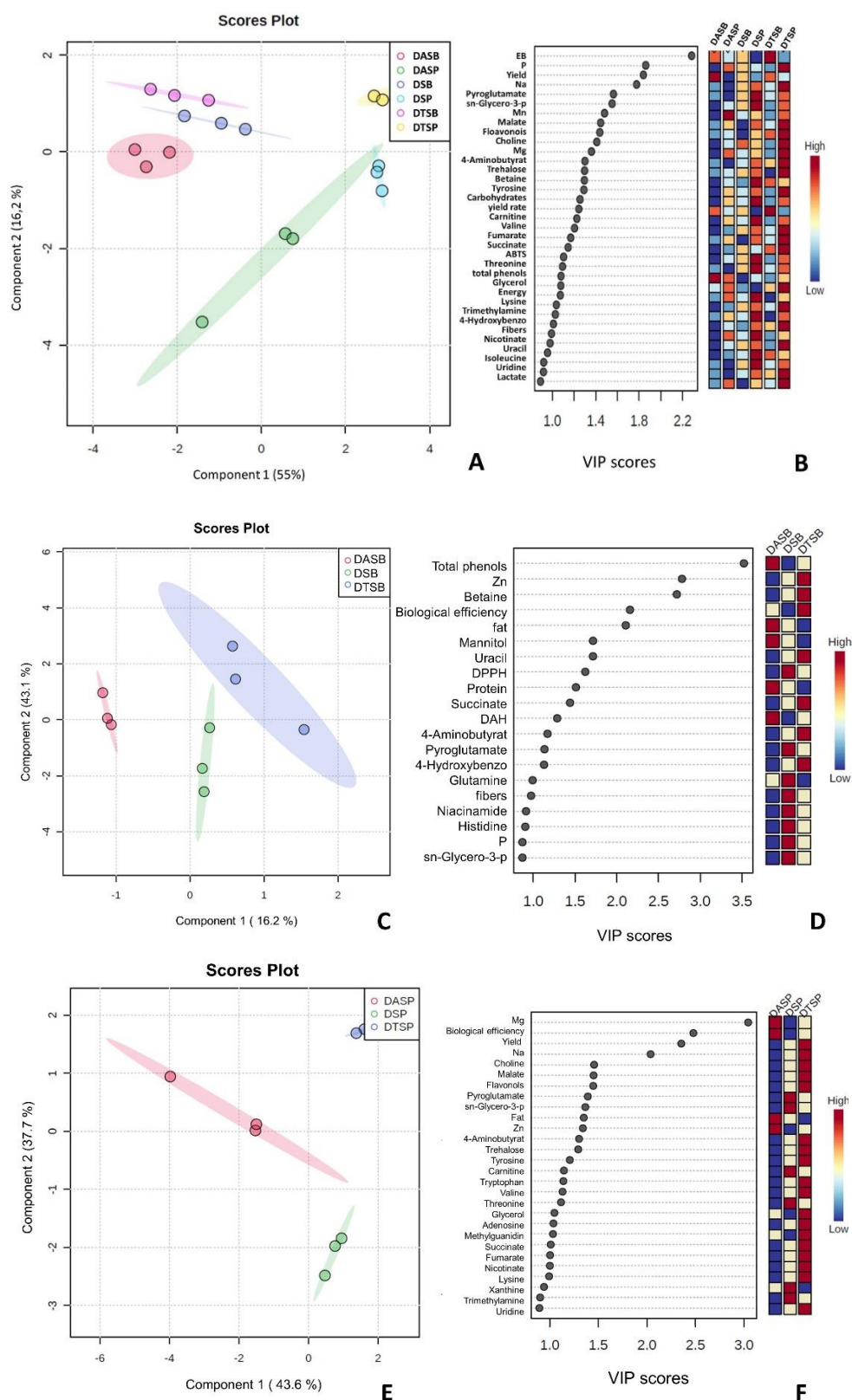


Figura 4. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) e variável importância em projeção (VIP) para as variáveis de produção, características nutricionais e metabólitos dos corpos de frutificação das linhagens de Hiratake branco (HB) e Hiratake preto (HB) de *P. ostreatus* produzidos em substrato composto de resíduo de dendê (DHB e DHP), suplementado com tegumento da amêndoa de cacau (DAH e DAP) e farelo de trigo (DTHB e DTHP).

Quando os isolados foram avaliados individualmente dentro de cada fonte de suplementação, diferenças também foram observadas nos gráficos PLS-DA (Figura 4 C e E). Entretanto, foi evidenciada uma grande variação nos metabolitos através da análise de VIP. O isolado HP apresentou a maior quantidade de variáveis (28 variáveis) em relação ao isolado HB (20 variáveis), com predominância dos aminoácidos, como: lisina, treonina, valina, triptofano, tirosina para o HP (Figura 4F) e betaína, glutamina histidina para o HB (Figura 4D).

Os cogumelos *P. ostreatus* contêm vários nutrientes, proteínas, aminoácidos, carboidratos, gorduras e vitaminas, que são essenciais à vida humana, com valores nutricionais abrangentes (LIU et al., 2019). Composições centesimais, atividade antioxidante, metabólitos e minerais das duas linhagens de *P. ostreatus* produzidos em substrato com RD, sem e com suplementação de FT e TAC foram determinados e correlacionados com a EB (Figura 5, 6 e 7). A análise de correlação foi realizada entre a EB e as 25 principais variáveis avaliadas nos corpos de frutificação de *P. ostreatus* com o conjunto total de dados e comparando as linhagens dentro de cada suplementação. Correlações positivas foram observadas apenas entre os dados da produção (rendimento e taxa de rendimento) dos corpos de frutificação das duas linhagens de *P. ostreatus* (HB e HP) nos diferentes substratos e correlações negativas foram observadas entre a EB e as variáveis Mg, trehalose, proteína, glutamine, leucine, pyroglutamate, nicotinate, lysine, isoleucine, glutamate, proline, nicotinurate, fibras, mannitol, formate, valine, energia, carboidratos, carnitine, ABTS, 1-methylnicotinami e trimethylamine N-o (figura 5A).

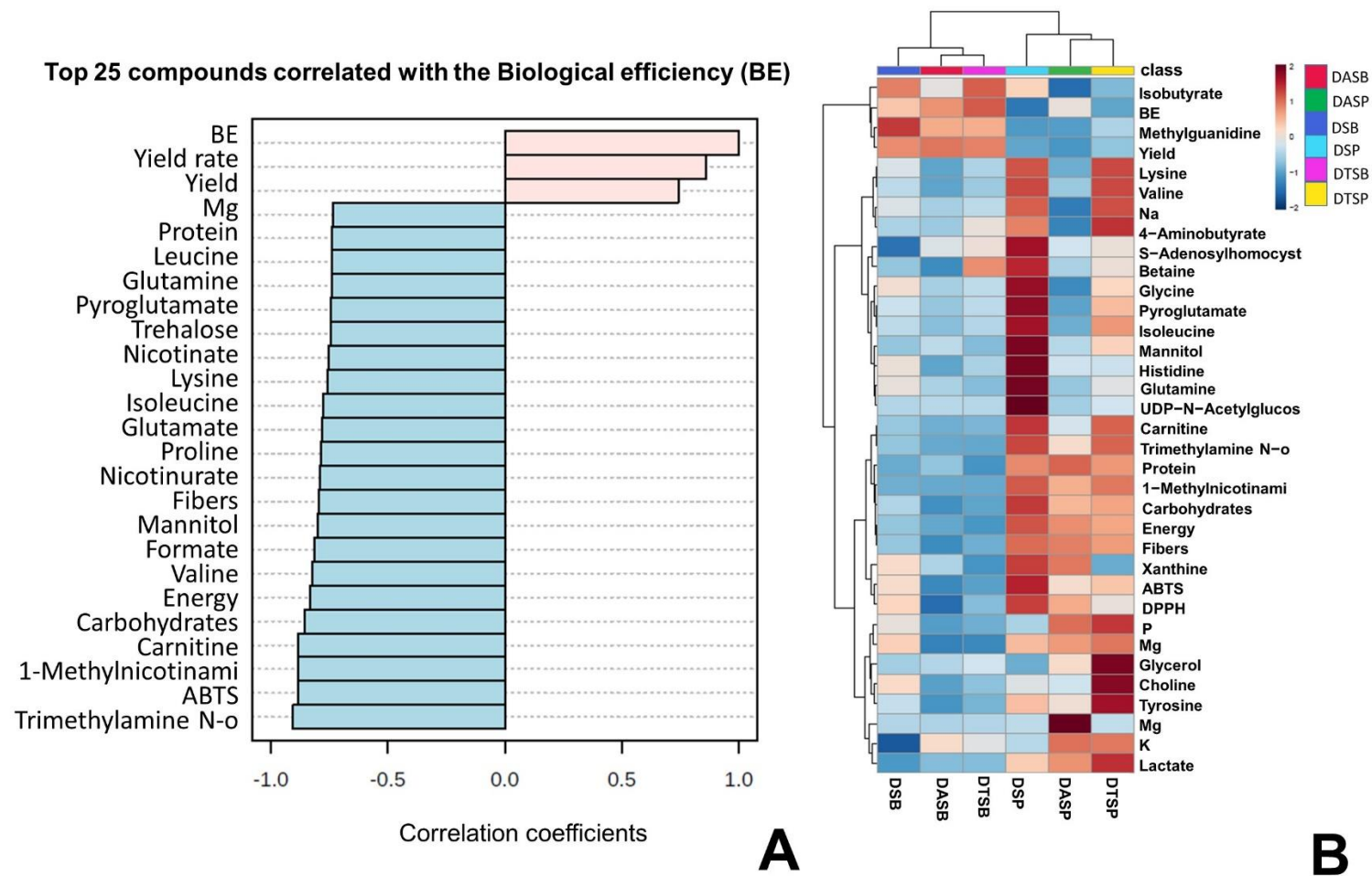


Figura 5: Mapa de calor com as 35 principais características dos corpos de frutificação de *Pleurotus ostreatus* (linhagens Hiratake Branco (HB) e Hiratake preto (HP)) produzidas em substratos formulados com resíduos de dendê (DHB e DHP) e suplementado com tegumento da amêndoa do cacau (DAHB DAHP)), e farelo de trigo (DTHB e DTHP).

O mapa de calor apresenta as diferenças significativas para os 35 principais metabólitos e variáveis avaliadas nos corpos de frutificação das duas linhagens de *P. ostreatus* entre os diferentes grupos hierárquicos de substratos avaliados. Através dos códigos de cores é possível observar uma grande variação entre os isolados HB e HP, com uma maior produção dos corpos de frutificação (EB e Rendimento) no isolado HB produzido no substrato com suplementação (DTHB e DAHB), enquanto a maior concentração de metabólitos foi apresentada pelo isolado HP com predominância no substrato sem suplementação (DHP) (Figura 5B).

O conteúdo de proteína (24,8 - 28,0%), carboidratos (38,1 – 43,3%), fibras (22,3 – 24,4%), minerais (6,1 – 7,3%) e energia (292,4 – 298,7 Kcal) foram maiores nos corpos de frutificação da linhagem HP em relação a linhagem HB, independente da suplementação avaliada. Quando as linhagens foram avaliadas individualmente, dentro de cada substrato, variações foram observadas. A análise de correlação da EB da linhagem HB produzida nos substratos com as suplementações, mostrou uma forte correlação positiva para taxa de rendimento, Zn, S-adenosylhomocyst, 4-aminobutyrate, fumarato, hipoxantina, flavonóis, AMP, K, malato, Fe, uracil, lactato, glicerol e negativa para Mg, P, trimetilamina N-o, metilguanidina, trehalose, ABTS, triptofano, serina, glutamina e xantina (Figura 6A). Com relação a linhagem HP, foi observado correlação positiva para derivados de ácidos hidroxicinâmico (DAH), Zn, fenóis totais e Mn, e negativa para carboidratos, manitol, 1-methylnicotinami, 4-aminobutyrate, betaina, valina, uridina, glutamina, uracil, lisina, ABTS, serina, carnitina, isobutyrate, glicina, isoleucina, asparagina, Na, threonina, pyroglutamato (figura 7A).

Os dados apresentados nos mapas de calor da figura 6B e 7B, demonstram diferenças significativas entre as fontes de suplementação e a maioria dos metabólitos e variáveis avaliadas nos corpos de frutificação das linhagens HB e HP. Através dos códigos de cores é possível observar que os corpos de frutificação produzidos no substrato sem suplementação (DHB e DHP) apresentaram uma maior concentração de metabólitos, como: glutamina, triptofano, serina, asparagina, fenilalanina, lisina, valina, histidina, tirosina, glicina, xantina, trealose, trimetilamina N-o, metilguanidina, niacinamida, DPPH, ABTS, sn-Glicero-3-colina, nicotinato, colina, Mg e P para o HB (Figura 6B) e asparagina, uracila, piroglutamato, glicina, carnitina, isoleucina, treonina,

xantina, DPPH, energia, histidina, UDP-N-acetilglucos, glutamina, ABTS, carboidratos, betaína, manitol, isobutirato e serina para SP (Figura 7B). Contudo, os corpos de frutificação do isolado HB produzidos no substrato com FT (DTHB) apresentaram a maior concentração de hipoxantina, Zn, uracila, 4-aminobutirato, betaína e succinato (Figura 6B) e para o isolado HP (DTHP) apresentaram maior concentração de metilguanidina, colina, UDP – glucuronato, glicerol, Mg, 4-aminobutirato e adenosina (Figura 6B). No substrato com TAC os corpos de frutificação do HB (DAHB) apresentaram maior concentração de fenóis totais e do HP (SAHP) apresentaram maior eficiência biológica, Zn e DAH (Figura 7B).

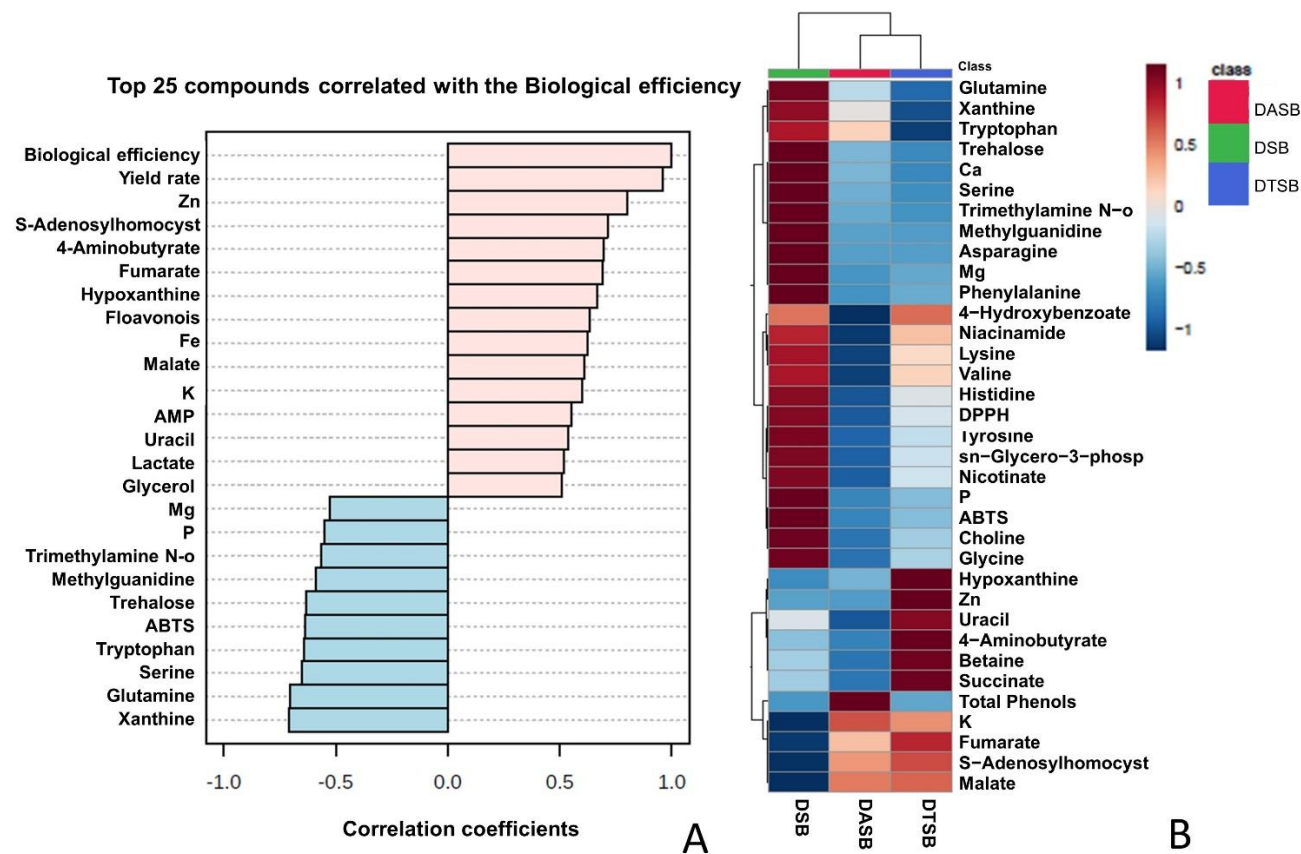


Figura 6: Análise de correlação entre a eficiência biológica e as 25 principais características identificadas (A) e mapa de calor com as principais características dos corpos de frutificação de *Pleurotus ostreatus* (Hiratake Branco (HB)) produzidas em substratos formulados com resíduos de dendê (DHB) e suplementado com tegumento da amêndoa do cacau (DAHb), e farelo de trigo (DTHB) (B).

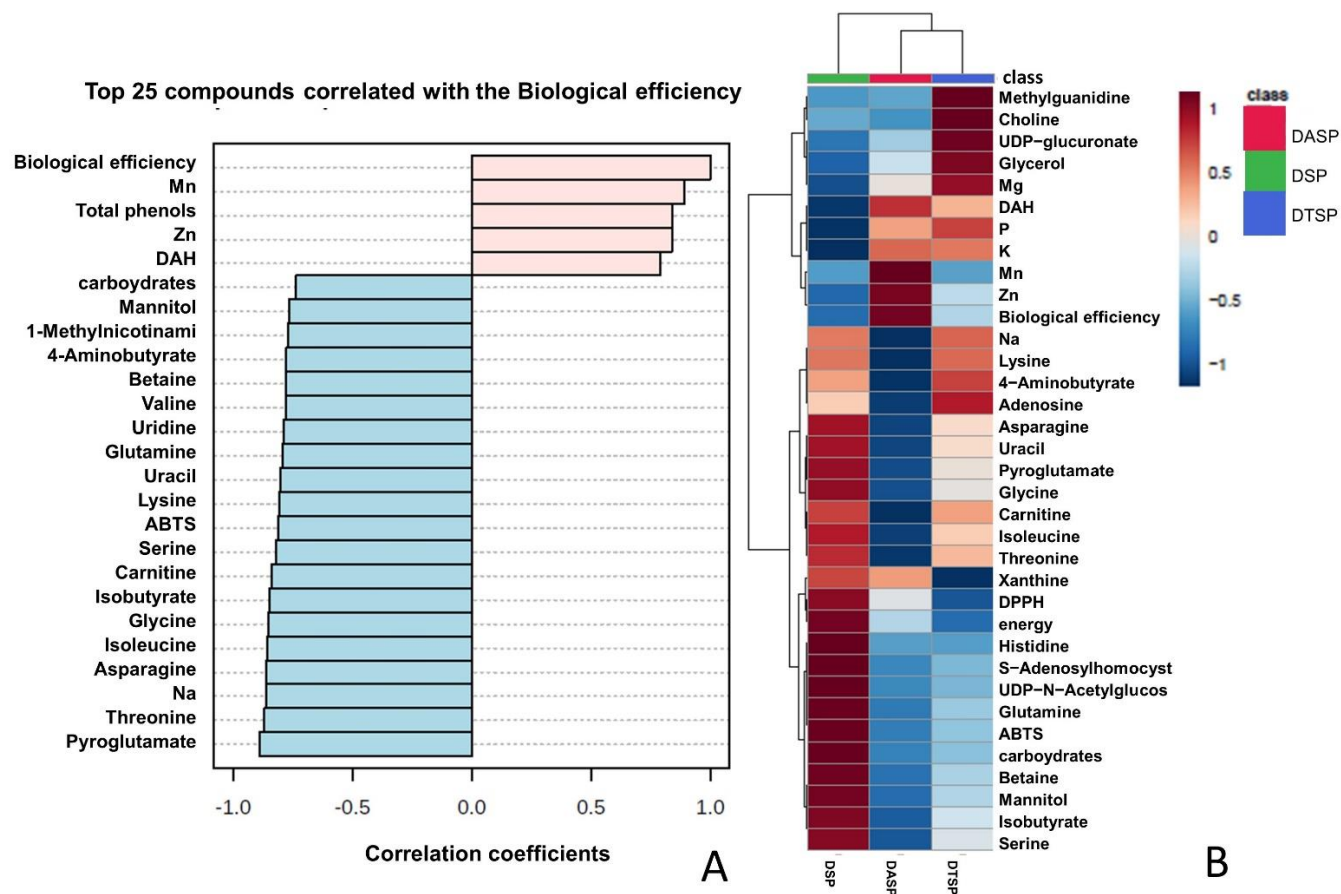


Figura 7: Análise de correlação entre a eficiência biológica e as 25 principais características identificadas (A) e mapa de calor com as principais características dos corpos de frutificação de *Pleurotus ostreatus* (Hiratake Preto (HP)) produzidas em substratos formulados com resíduos de dendê (DHP) e suplementado com tegumento da amêndoa do cacau (DAH), e farelo de trigo (DTHP) (B).

Os cogumelos são considerados um alimento de alto valor nutricional e funcional, sendo também aceitos como alimentos nutraceuticos (BARROS et al., 2008; REIS et al., 2017). Eles são uma boa fonte de fibra alimentar, proteínas, aminoácidos, minerais, vitaminas, potássio, carboidratos e são pobres em lipídios e sódio (VALVERDE, HERNÁNDEZ-PÉREZ, PAREDES-LÓPEZ, 2015; KALAČ, 2016). As espécies do gênero *Pleurotus* pertencem à família das *Pleurotaceae* e distinguem-se pela sua cor e habitat (RAMAN et al., 2020). Avaliamos duas linhagens de *P. ostreatus* (HB e HP) com características físicas e químicas e habitat diferentes. Diferenças entre as linhagens produzidas nos diferentes substratos já eram esperadas, pois a composição das espécies de *Pleurotus* são afetadas pela diversidade genética e a composição do substrato de crescimento e frutificação (MAFTOUN et al., 2015; KOUTROTSIOS et al., 2017).

Foram realizadas análises centesimal, atividade antioxidante e análise metabolômica para identificação dos metabólitos relacionados com a produção. Os dados apresentados na figura 4 com as análises de PLS-DA e VIP indicam variações significativas nos dados de produção, análise centesimal e nas concentrações dos metabólitos de *P. ostreatus* produzidos no substrato com RD, suplementado com FT, TAC e sem suplementação. A análise de VIP demonstrou que a linhagem HP, apresentou maior concentração de metabólitos em comparação à linhagem HB, apesar da menor produção de corpos de frutificação. Além disso, quando a linhagem HP foi comparada entre as suplementações, foi observado que o tratamento DHP proporcionou a maior concentração dos metabólitos xantina, S – adenosilhomocisteína, UDP– N-acetylglucosamine, trimetilamina N – o, sn-glicerol-3-fosp, piroglutamato, nicotinurato, uridina, isobutirato, niacinamida, 4-aminobutirato, formato, UMP, 4-hidroxibenzo, manitol, carnitina e glutamato. Os principais aminoácidos encontrados foram: serina, asparagina, treonina, isoleucina, glutamina, histidina, prolina, betaína, glicina, leucina, alanina, valina e lisina. Também apresentaram maiores teores de fibras, carboidratos, energia, cinzas, Fe, Na, Ca e de vitamina B5 (Pantotenato).

A análise de correlação apresentadas nas figuras 6A e 7A demonstraram que a maior EB apresentada na linhagem HB correlacionou positivamente com Zn, S-Adenosylhomocyst, 4-Aminobutyrate, Fumarate, Hypoxanthine,

Floavonois, Fe, Malate, K, AMP, uracil, lactate e glycerol, substâncias relacionadas com o metabolismo do fungo, entretando correlações negativas foram observadas para os demais metabolitos, principalmente os aminoácidos. Correlações negativas também foram observados entre a produção de corpos de frutificação da linhagem HP e os metabolitos determinados. Esses resultados demonstram que a suplementação aumenta a produção de *P. ostreatus*, mas não favorece o acúmulo de metabolitos nos corpos de frutificação nessas linhagens produzidas e substrato com RD.

A maior EB no tratamento com suplementação com FT (DTHB = 105,75%), seguido pela TAC (DAHB = 82,25%) estão relacionadas com alterações nos teores de nutrientes nesses substratos através da suplementação. Segundo Bellettini et al., (2019) & Raman et al., (2020), a utilização de fontes orgânicas (FT e TAC) ricas em minerais e proteínas (Figura 2), auxilia no crescimento dos cogumelos, ajudando a reduzir o tempo de desenvolvimento micelial no cultivo, rápida formação de primórdios e maior produção de corpos de frutificação (Tabela 1). A maior quantidade de metabólitos no tratamento DHP (figura 4B) pode estar relacionada a fatores genéticos, composição do substrato e produção de enzimas dessa linhagem, proporcionando maior acúmulo desses metabólitos. Fatores intrínsecos das espécies de *P. ostreatus* exercem influência significativa na composição dos cogumelos ostra (KOUTROTSIOS et al., 2017).

A composição do substrato (Figura 2), com maior predominância de lignina no tratamento sem suplementação (DHB e DHP) tem interferência na produção e, conseqüentemente, no acúmulo de metabolitos. Embora *P. ostreatus* seja capaz de crescer em resíduos ricos em lignina, sua presença limita o acesso das enzimas celulotíticas à celulose, o que pode influenciar na eficiência da hidrólise enzimática da celulose e hemicelulose, principais fontes de carbono para o crescimento desse fungo (KUMAR et al., 2012), diminuindo a produção. Segundo Xiao et al., (2017), substratos com baixo teor de lignina, aumenta significativamente a capacidade de *P. ostreatus* em transformar açúcares por diferentes vias metabólicas, e melhora a adaptabilidade de *P. ostreatus* ao meio ambiente. Entretando, a resposta de *P. ostreatus* em substratos ricos em lignina, aumenta a produção de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo dessa

substancia nos substratos, com consequência na redução do crescimento e produção, porém com maior acúmulo de metabolitos pelo fungo.

As espécies de *Pleurotus* são consideradas uma boa fonte de proteínas (RAMAN et al., 2020; GONZÁLEZ et al., 2020). Na análise dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* produzidos no substrato com RD, suplementado com FT, TAC e sem suplementação revelou a presença de 18 aminoácidos, especificamente fenilalanina, histidina, glutamina, prolina, lisina, leucina, valina, alanina, triptofano, asparagina, serina, isoleucina, glicina, treonina, betaína, tirosina, metionina, aspartato e o neurotransmissor ácido 4-aminobutírico (GABA). De acordo com a análise de VIP, os aminoácidos mais abundantes foram isoleucina, treonina, valine, betaína, lisina, tirosina, glutamina, triptofano e ácido 4-aminobutírico (Figura 4B) com maior predominância nos tratamentos DHP e DHB (figura 6B e 7B). A maior ocorrência de leucina, valina, isoleucina, treonina e lisina também foi observada para os aminoácidos essenciais mais abundantes em três espécies de *Pleurotus* cultivadas em substrato com palha de trigo (WS), isoladamente ou em mistura com bagaço de uva, e nos subprodutos da olivicultura (TAGKOULI et al. 2020).

A composição total dos aminoácidos nos alimentos, principalmente os essenciais é um indicador confiável de qualidade e são importantes para a nutrição humana, pois estão envolvidos em várias vias bioquímicas que afetam as atividades fisiológicas no metabolismo humano (MURAKAMI et al., 2012; HÄUSLER, LUDEWIG, KRUEGER, 2014.) Sabe-se também que alguns aminoácidos contribuem para melhorar o sabor dos cogumelos (MING, LI, HUO, WEI, & CHEN, 2014).

Nossos resultados indicam a presença de todos os aminoácidos essenciais nos corpos de frutificação de *P. ostreatus*, principalmente os do grupo BCAAs (valina, leucina e isoleucina) que são necessários para a síntese de proteínas e, conseqüentemente, para a produção de imunoglobulinas, citocinas e seus receptores (PAPADA et al., 2019). Os maiores teores de valina, leucina e isoleucina foram obtidos com os tratamentos DHP e DTHP. Estudos tem apontado a presença de aminoácidos essenciais em cogumelos do gênero *Pleurotus*, com grandes variações, como os apresentados neste estudo (KIM et al., 2008; LIU et al., 2016; JIN et al., 2018; TAGKOULI et al. 2020). Essas flutuações não são surpreendentes e são influenciadas por fatores genéticos

(espécies e linhagens), aparato enzimático do fungo, estágio de desenvolvimento, a natureza dos tratamentos pré e pós-colheita e o tipo de substrato de crescimento (MANZI et al., 1999; KOUTROTSIOS et al., 2017).

Segundo Carrasco-González et al., (2017), o conteúdo dos aminoácidos em *P. ostreatus* atende às necessidades nutricionais de humanos adultos, apresentando aminoácidos essenciais com baixa concentrações nos cereais, como a lisina e a metionina nos legumes (SÁ, MORENO, CARCIOFI, 2020). As linhagens de *P. ostreatus* produzidas nos diferentes substratos também apresentaram grandes quantidades de ácido 4-aminobutírico (GABA). O GABA é um aminoácido não essencial necessário para o bom funcionamento da atividade do cérebro (LAVELLI et al., 2018).

Apesar da suplementação com FT e TAC nos substratos com RD não terem apresentado efeito nos teores de aminoácidos e metabolitos, foi evidenciada uma correlação positiva entre a EB e os teores dos minerais P, K, Mn, Fe e Zn entre as duas linhagens de *P. ostreatus* (Figura 6A e 7A), com maior predominância nos corpos de frutificação produzidos nos tratamentos com suplementação (Figura 6B e 7B). Esses elementos, em particular, são essenciais para uma infinidade de funções metabólicas dos fungos, incluindo aquelas relacionadas à produção de enzimas e degradação de lignocelulose, estando correlacionada com a concentração de minerais do substrato (KOUTROTSIOS et al., 2020), como observado nos teores de P, K, Mn, Fe e Zn da TAC e FT (Figura 2B).

O aumento significativo de minerais nos corpos de frutificação produzidos em substratos suplementados tem sido relado. Segundo Singh et al., 2020, a capacidade de ligação e absorção de minerais variam de acordo com os suplementos e espécies de cogumelos usados no cultivo e a suplementação do substrato a base de palha de arroz com bolos desengordurados de soja, mostarda, amendoim indicou aumento significativo de minerais (Se, K, Zn, Fe, Cu, Ca, P) nos corpos de frutificação de *P. ostreatus*. Mleczek et al., 2020 também relatam que a eficiência de acumulação do elemento depende da sua concentração no substrato, mas também depende da espécie de cogumelo. Bentil, Dzogbefia & Alemawor, (2015), mostraram que a fermentação em estado sólido da TAC com espécies de *P. ostreatus* e *Aspergillus niger* aumentou significativamente as concentrações de Ca, P e K.

Embora alguns metabolitos não tenham apresentado correlação positiva com a EB, foram identificados a presença de carnitine, xanthine, colina e glutamate que desempenham papéis cruciais no metabolismo energético do fungo e do ser humano (Figura 6B e 7B).

A carnitine apresentou maior teor nos corpos de frutificação dos tratamentos DHP e DTHP e trata-se de uma substância produzida naturalmente no organismo pela metabolização de dois aminoácidos, a lisina e a metionina e tem sido associada a função no auxílio da perda de peso, atividade antioxidante e na promoção do desempenho físico (CAO et al., 2011; FIELDING et al., 2018), atuando como uma molécula de transporte de ácidos graxos de cadeia longa para subsequente β -oxidação (FRANKEN et al., 2015). A ingestão da carnitina é de fundamental importância para melhorias nos processos de geração de energia para o funcionamento de todo o organismo. Trabalhos com suplementação de substratos de produção tem relatado maiores teores de carnitina em *P. ostreatus*, como os relatados por Lee et al., (2018) cultivando em farelo de trigo fermentado. A suplementação com FT também favoreceu a produção de colina na linhagem HP em relação aos demais tratamentos (Figura 5B). Segundo López-Sobaler et al., (2018), a colina é um nutriente crítico para o desenvolvimento cognitivo, o metabolismo e a função hepática e a regulação do metabolismo da homocisteína e deve ser obtido na dieta, pois a síntese endógena é insuficiente para atender às necessidades do organismo.

A xantina teve maior predominância nos DHP e DAHP e desempenha um papel fundamental no catabolismo de nucleotídeos e ácidos nucléicos (Aziz & Jamil, 2020) e seus derivados (teobromina, teofilina e cafeína) são utilizados como estimulantes cerebrais ou psicomotores, além de atuar como precursor do ácido úrico (SINGH et al., 2018). Provavelmente a suplementação com a TAC promoveu a absorção dessa substância nos corpos de frutificação, principalmente por a TAC ser rica em teobromina e cafeína (ROJO-POVEDA et al., 2020).

4. CONCLUSÕES

O substrato formulado com RD proporciona rápida colonização de *Pleurotus ostreatus*, independente da linhagem avaliada e da suplementação. Entretanto, a linhagem HB apresenta alta EB, rendimento, taxa de rendimento, atividade antioxidante e propriedades centesimais no substrato de dendê, independente da suplementação com farelo de trigo (FT) ou tegumento de amêndoa de cacau (TAC).

As linhagens HB e HP apresentam maior atividade antioxidante, quando produzidas no substrato suplementado com TAC, o que demonstra o potencial da utilização da TAC na suplementação de substrato para a produção de *P. ostreatus*.

Os corpos de frutificação das linhagens de *P. ostreatus* produzidas em substrato com RD e suplementado com FT ou TAC apresentam todos os aminoácidos essenciais.

A linhagem HP apresenta elevados teores de proteína, carboidratos, fibras, minerais e energia, quando produzida no substrato sem suplementação (DHP). A alta produção do HB no substrato formulado com resíduo de dendê, suplementado com TAC demonstra o grande potencial na bioconversão desses resíduos locais, da região sul da Bahia, em um alimento de alto valor nutricional. Este processo biotecnológico pode gerar emprego e renda para as populações das regiões produtoras de dendê e cacau, além de contribuir para a reciclagem destes resíduos. Novos estudos devem ser encorajados para a produção de outras espécies do gênero *Pleurotus* utilizando estes resíduos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ARLORIO, M. et al. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. **Food Research International**, v. 38, n. 8-9, p. 1009-1014, 2005.

ANYAOHA, Kelechi E. et al., Critical evaluation of oil palm fresh fruit bunch solid wastes as soil amendments: Prospects and challenges. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 136, p. 399-409, 2018.

Aziz, N., & Jamil, R. T. (2020). Biochemistry, Xanthine Oxidase. StatPearls [Internet].

BARROS, Lillian et al. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 8, p. 2742-2747, 2008. doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030

BELLETTINI, Marcelo Barba et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 633-646, 2019. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005

BENTIL, J. A; DZOGBEFIA, V. P. & ALEMAWOR, F. Enhancement of the nutritive value of cocoa (*Theobroma cacao*) bean shells for use as feed for animals through a two-stage solid state fermentation with *Pleurotus ostreatus* and *Aspergillus niger*. **Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.** V. 3 p. 20-30, 2015

BICALHO, Tereza; BESSOU, Cécile; PACCA, Sergio A. Land use change within EU sustainability criteria for biofuels: The case of oil palm expansion in the Brazilian Amazon. **Renewable energy**, v. 89, p. 588-597, 2016.

BOONSONG, Suphaphit; KLAYPRADIT, Wanwimol; WILAI PUN, Pongtep. Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. **Agriculture and Natural Resources**, v. 50, n. 2, p. 89-97, 2016. doi.org/10.1016/j.anres.2015.07.002

BOLIGON, Aline Augusti; MACHADO, Michel Mansur; ATHAYDE, Margareth Linde. Technical evaluation of antioxidant activity. **Med chem**, v. 4, n. 7, p. 517-522, 2014.

BONONI, V. L., CAPELARI, M., MAZIERO, R., & TRUFEM, S. F. B. (1995). *Cultivo de cogumelos comestíveis*. Ícone.

BOULANOUAR, B., ABDELAZIZ, G., AAZZA, S., GAGO, C., & MIGUEL, M. G. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. **Industrial Crops and Products**, V. 46, 85-96, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.020>

CAO, Yu, et al. "Single dose administration of L-carnitine improves antioxidant activities in healthy subjects." **The Tohoku Journal of Experimental Medicine** 224.3 (2011): 209-213. <https://doi.org/10.1620/tjem.224.209>

CHANG, Shu Ting; WASSER, Solomon P. The cultivation and environmental impact of mushrooms. In: **Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science**. 2017.

CARRASCO-GONZALEZ, J.A., SERNA-SALDIVAR, S.O., GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.: Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: potential use as food ingredient. **J. Food Compos. Anal.** 58, 69–81 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>.

CARRASCO, Jaime et al. Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018. doi.org/10.1186/s13568-018-0678-0

CORRÊA, Rúbia Carvalho Gomes et al. 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.

CHIN, May Ji et al. Biogas from palm oil mill effluent (POME): Opportunities and challenges from Malaysia's perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 26, p. 717-726, 2013.

DEBNATH, S. et al. Antioxidant activities of methanolic extracts from ten *Pleurotus* species. **Int Res J Pharm**, v. 8, n. 3, p. 44-49, 2017.

EL-ENSHASY, Hesham Ali et al. Antioxidant Compounds of the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus*. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2018.

FIELDING, Roger, et al. "L-carnitine supplementation in recovery after exercise." **Nutrients** 10.3 (2018): 349. <https://doi.org/10.3390/nu10030349>

FINNIGAN, Tim JA et al. Mycoprotein: The future of nutritious non meat protein, a symposium review. **Current Developments in Nutrition**, v. 3, n. 6, p. nzz021, 2019. doi.org/10.1093/cdn/nzz021

FRANKEN, Jaco et al. Reconstruction of the carnitine biosynthesis pathway from *Neurospora crassa* in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 15, p. 6377-6389, 2015. DOI 10.1007/s00253-015-6561-x

GAŹECKA, Monika et al. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 5, p. 723-732, 2016. Doi: 10.1007/s00217-015-2580-1.

GAŹECKA, Monika et al. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 5, p. 723-732, 2016.

GONZÁLEZ, Abigail et al. Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from *Pleurotus ostreatus* mushroom. **Food Chemistry**, p. 128884, 2020.

GROMSKI, Piotr S. et al. A tutorial review: Metabolomics and partial least squares-discriminant analysis—a marriage of convenience or a shotgun wedding. **Analytica chimica acta**, v. 879, p. 10-23, 2015.. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.012>

HATANO, T., KAGAWA, H., YASUHARA, T., & OKUDA, T. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 36(6), 2090-2097, 1988. <https://doi.org/10.1248/cpb.36.2090>

HÄUSLER, Rainer E.; LUDEWIG, Frank; KRUEGER, Stephan. Amino acids—a life between metabolism and signaling. **Plant Science**, v. 229, p. 225-237, 2014.

HELENO, Sandrina A. et al. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513, 2015. doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057.

ISLAM, Tahidul; YU, Xiaoming; XU, Baojun. Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China. **LWT-Food Science and Technology**, v. 72, p. 423-431, 2016. doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.005.

JIN, Zhiqiang et al. Yield, nutritional content, and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* on corncobs supplemented with herb residues. **Mycobiology**, v. 46, n. 1, p. 24-32, 2018.

KALÁČ, Pavel. Edible mushrooms: chemical composition and nutritional value. Academic Press, 2016.

KANDASAMY, Selvam et al. Assessment of Antioxidant, Antibacterial Activities and Bioactive Compounds of the Wild Edible Mushroom *Pleurotus sajor-caju*. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, p. 1-7, 2019.

KHATUN, Rahima et al. Sustainable oil palm industry: The possibilities. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 608-619, 2017.

KIM, Min-Young et al. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 16, p. 7265-7270, 2008.

KONGOR, John Edem et al. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - A review. **Food Research International**, v. 82, p. 44-52, 2016

KOUTROTSIOS, Georgios et al. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi—Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. **Food Chemistry**, v. 161, p. 127-135, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>

KOUTROTSIOS, Georgios et al. Bioactive compounds and antioxidant activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 5, p. 98, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2262-1>

KOUTROTSIOS, Georgios et al. Elemental Content in *Pleurotus ostreatus* and *Cyclocybe cylindracea* Mushrooms: Correlations with Concentrations in Cultivation Substrates and Effects on the Production Process. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2179, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25092179>

KOUTROTSIOS, Georgios et al. Valorization of olive by-products as substrates for the cultivation of *Ganoderma lucidum* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms with enhanced functional and prebiotic properties. **Catalysts**, v. 9, n. 6, p. 537, 2019. doi.org/10.3390/catal9060537

KUMAR, Linoj et al. The lignin present in steam pretreated softwood binds enzymes and limits cellulose accessibility. **Bioresource Technology**, v. 103, n. 1, p. 201-208, 2012. doi: 10.1186/1754-6834-6-134

LAVELLI, Vera et al. Circular reuse of bio-resources: the role of *Pleurotus* spp. in the development of functional foods. **Food & Function**, v. 9, n. 3, p. 1353-1372, 2018.

LECUMBERRI, Elena et al. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 948-954, 2007.

LEE, Tae-kyung et al. The use of fermented buckwheat to produce L-carnitine enriched oyster mushroom. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 138, 2018.
<https://doi.org/10.1186/s13568-018-0664-6>

LETTI, Luiz A. Junior et al. Solid-State Fermentation for the Production of Mushrooms. In: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, 2018. p. 285-318.

LI, Huizhen et al. Yield, size, nutritional value, and antioxidant activity of oyster mushrooms grown on perilla stalks. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 2, p. 347-354, 2017.

LIU, Yuntao et al. Nutritional composition of boletus mushrooms from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 211, p. 83-91, 2016. doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.032

LIU, Dan et al. Nutrient properties and nuclear magnetic resonance-based metabonomic analysis of macrofungi. **Foods**, v. 8, n. 9, p. 397, 2019.

LIU, Kun et al. Polyphenolic composition and antioxidant, antiproliferative, and antimicrobial activities of mushroom *Inonotus sanghuang*. **LWT- Food Science and Technology**, v. 82, p. 154-161, 2017.

LÓPEZ-SOBALER, Ana M. et al. Importancia de la colina en la función cognitiva. **Nutrición Hospitalaria**, v. 37, n. SPE2, p. 18-23, 2020.

LU, Xikun et al. Addition of mushroom powder to pasta enhances the antioxidant content and modulates the predictive glycaemic response of pasta. **Food Chemistry**, v. 264, p. 199-209, 2018.

MA, Gaoxing et al. A Critical Review on the Health Promoting Effects of Mushrooms Nutraceuticals. **Food Science and Human Wellness**, 2018.

MANZI, Pamela et al. Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. **Food Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 477-482, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00212-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00212-X)

MAFTOUN, Parisa et al. The edible mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and nutritional values. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, v. 4, n. 2, p. 67-83, 2015.

MARTÍNEZ, Ruth et al. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1520-1526, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.005>

MAU, J. L., LIN, H. C., & CHEN, C. C. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(21), 6072-6077, 2002. <https://doi.org/10.1021/jf0201273>

MILES, Philip G.; CHANG, Shu-Ting. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC press, 2004.

MING, T., LI, J., HUO, P., WEI, Y., & CHEN, X. Analysis of free amino acids in *Russula griseocarnosa* harvested at different stages of maturity using iTRAQ®-

LC-MS/MS. **Food Analytical Methods**, 7(9), 1816-1823, 2014. DOI 10.1007/s12161-014-9817-7

MLECZEK, Mirosław et al. Changes in mineral composition of six strains of *Pleurotus* after substrate modifications with different share of nitrogen forms. **European Food Research and Technology**, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03622-9>

MURAKAMI, Hitoshi et al. Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice. **Amino Acids**, v. 42, n. 6, p. 2481-2489, 2012.

MUSZYŃSKA, Bożena; SUŁKOWSKA-ZIAJA, Katarzyna; EKIERT, Halina. Phenolic acids in selected edible basidiomycota species: *Armillaria mellea*, *Boletus badius*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* and *Pleurotus ostreatus*. **Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus**, v. 12, n. 4, 2013.

NAM, Wai Lun et al. Production of bio-fertilizer from microwave vacuum pyrolysis of palm kernel shell for cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **Science of The Total Environment**, v. 624, p. 9-16, 2018. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.108

NUNES, Mateus Dias et al. Nitrogen supplementation on the productivity and the chemical composition of oyster mushroom. **Journal of Food Research**, v. 1, n. 2, p. 113, 2012.

OKIYAMA, Dayane CG; NAVARRO, Sandra LB; RODRIGUES, Christianne EC. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 103-112, 2017.

PAPADA, Efsthia et al. Plasma free amino acid profile in quiescent Inflammatory Bowel Disease patients orally administered with Mastiha (*Pistacia*

lentiscus); a randomised clinical trial. **Phytomedicine**, v. 56, p. 40-47, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.08.008>

PARDO-GIMÉNEZ, Arturo et al. Effect of supplementing crop substrate with defatted pistachio meal on *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 11, p. 3838-3845, 2016.

PARDO-GIMÉNEZ, Arturo et al. Recycling of the biomass waste defatted almond meal as a novel nutritional supplementation for cultivated edible mushrooms. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 40, 2018.

PERAZA, J. G. et al. Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in *Pleurotus* Spp. Grown on Commercial and Wild Substrates. **J Food Nutri: IJFN**-116, 2019.

POKHREL, C. P.; YADAV, R. K. P. & OHGA, S. Effects of physical factors and synthetic media on mycelial growth of *Lyophyllum decastes*. **Journal of Ecobiotechnology**, 2009.

RAMAN, Jegadeesh et al. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* Spp.: An Overview. **Mycobiology**, p. 1-14, 2020.

REIS, Filipa S. et al., Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 48-62, 2017.
doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.010

ROJO-POVEDA, Olga et al. Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1123, 2020. doi: 10.3390/nu12041123.

SÁ, Amanda Gomes Almeida; MORENO, Yara Maria Franco; CARCIOFI, Bruno Augusto Mattar. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 170-184, 2020.

SAIDU, Mohammed; SALIM, Mohd Razman; YUZIR, Muhamad Ali Mohamed. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) on palm oil mesocarp fibre. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 71, p. 15973-15976, 2011. DOI: 10.5897 / AJB11.1942

SAŁATA, Andrzej; LEMIESZEK, Marta; PARZYMIES, Marzena. The nutritional and health properties of an oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr) P. Kumm.). **Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus**, v. 17, p. 185-197, 2018.

SÁNCHEZ, C. S., GONZÁLEZ, A. T., GARCÍA-PARRILLA, M. C., GRANADOS, J. Q., DE LA SERRANA, H. L. G., & MARTÍNEZ, M. L. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. **Analytica Chimica Acta**, 593(1), 103-107, (2007). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.04.037>

SÁNCHEZ, Carmen. Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. **Synthetic and Systems Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2017.

SÁNCHEZ, Carmen. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 2, p. 185-194, 2009.

SILVA, Rafael Mota da et al. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated in agroindustrial wastes of palm oil fruits and cocoa almonds. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020. doi.org/10.1590/1808-1657000852018.

SILVA, FABIO CESAR DA SILVA et al. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.

SINGH, Nivedita et al. Xanthine scaffold: scope and potential in drug development. **Heliyon**, v. 4, n. 10, p. e00829, 2018.

SINGH, Garima et al. Valorization of Paddy Straw Using De-oiled Cakes for *P. ostreatus* Cultivation and Utilization of Spent Mushroom Substrate for Biopesticide Development. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-14, 2020.

SMOLSKAITĖ, Lina; VENSKUTONIS, Petras Rimantas; TALOU, Thierry. Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species. **LWT-Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 462-471, 2015.

SULISTIANY, Henny; SUDIRMAN, Lisdar Idwan; DHARMAPUTRA, Okky Setyawati. Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild *Pleurotus*. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 23, n. 4, p. 191-195, 2016.

SUN, Li-bin et al. Advances in umami taste and aroma of edible mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 96, p. 176-187, 2020.

SZYMAŃSKA, Ewa et al. Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. **Metabolomics**, v. 8, n. 1, p. 3-16, 2012. DOI 10.1007/s11306-011-0330-3

TAGKOULI, Dimitra et al. Free Amino Acids in Three *Pleurotus* Species Cultivated on Agricultural and Agro-Industrial By-Products. **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 4015, 2020.

TAOFIQ, Oludemi et al. Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1372, 2016.

TESFAY, Teklemichael et al. Evaluation of waste paper for cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with some added supplementary materials. **AMB Express**, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2020.

TESFAW, Asmamaw; TADESSE, Abebe; KIROS, Gebre. Optimization of oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushroom cultivation using locally available substrates and materials in Debre Berhan, Ethiopia. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 15-20, 2015.

VALVERDE, María Elena; HERNÁNDEZ-PÉREZ, Talía; PAREDES-LÓPEZ, Octavio. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. **International Journal of Microbiology**, v. 2015, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/376387>

VÁSQUEZ, Zulma S. et al. Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. **Waste Management**, v. 90, p. 72-83, 2019.

VIEIRA, Patrícia A. Fontes et al. Antioxidant activities, total phenolics and metal contents in *Pleurotus ostreatus* mushrooms enriched with iron, zinc or lithium. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 421-425, 2013.

XIA, J., & WISHART, D. S. Metabolomic data processing, analysis, and interpretation using MetaboAnalyst. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 34, n. 1, 14-10, 2011. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1410s34>

XIAO, Qiuyun et al. Differential Proteomic Profiles of *Pleurotus ostreatus* in Response to Lignocellulosic Components Provide Insights into Divergent Adaptive Mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, e.480, 2017.

ZIED, Diego Cunha et al. Use of peanut waste for oyster mushroom substrate supplementation—oyster mushroom and peanut waste. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1021-1029, 2019.

Capítulo 3

SUBSTRATO PÓS-CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* Kummer AUMENTA A BIOMASSA E RENDIMENTO DE OLEO ESSENCIAL NO MANJERICÃO

¹Artigo aceito pelo Comitê Editorial da Revista Caatinga

SUBSTRATO PÓS-CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* AUMENTA A BIOMASSA E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL NO MANJERICÃO

Autora: Cristiano Oliveira do Carmo

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

RESUMO: Resíduos lignocelulósicos são usados na produção de cogumelos, mas geram grandes quantidades de substrato pós cultivo de cogumelo (SPC). Neste estudo avaliou-se o SPC de *Pleurotus ostreatus*, aliado a adubação orgânica na produção de biomassa e rendimento de óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum* L.). As formulações das adubações foram preparadas com o SPC, composto orgânico (CO) e húmus de minhoca (HM) e suas combinações, todos com aplicação de 35 g no solo, equivalente a 20 t ha⁻¹. Os tratamentos foram: CO = 100 %; HM = 100 %; SPC = 100 %; C1 = 75 % SPC + 25 % CO; C2 = 75 % SPC + 25 % HM; C3 = 50 % SPC + 50 % CO; C4 = 50 % SPC + 50 % HM; C5 = 50 % SPC + 25 % CO + 25 % HM e CT = sem adubação. O comprimento médio e a área foliar foi superior nas plantas cultivadas no solo contendo o SPC, individualmente ou combinado com as fontes orgânicas, com 55,6 a 62,2 cm de comprimento e 696,5 a 836,4 cm² de área foliar por planta. O tratamento C3 proporcionou plantas com maior acumulo de matéria seca (10,9 g planta⁻¹) e o C2 proporcionou maior rendimento de óleo (5,0 kg ha⁻¹), com ganho de 324,8 % no rendimento, em relação ao controle. O SPC promove um aumento significativo na biomassa e no rendimento de óleo essencial em plantas de manjerição (*Ocimum basilicum*).

Palavras-chave: *Ocimum basilicum* L. Resíduo de sisal. Adubação orgânica. Plantas medicinais.

POST-GROWING SUBSTRATE OF *Pleurotus ostreatus* INCREASES BIOMASS AND ESSENTIAL OIL YIELD IN BASIL

Author: Cristiano Oliveira do Carmo

Advisor: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

ABSTRACT: Lignocellulosic residues are used to produce mushrooms, but large amounts of spent mushroom substrate (SMS) are generated. This study aimed to evaluate the SMS of *Pleurotus ostreatus*, combined with organic fertilization in the biomass production and essential oil yield of basil (*Ocimum basilicum* L.). The fertilizer formulations were made using SMS, organic compost (OC) and earthworm humus (EH), and combinations of these organic amendments. All soil organic treatments received 35 g of the formulations, which corresponds to soil application of 20 t ha⁻¹. The treatments were: OC =100 %; EH =100 %; SMS = 100 %; C1 = 75 % SMS + 25 % OC; C2 = 75 % SMS + 25 % EH; C3 = 50 % SMS + 50 % OC; C4 = 50 % SMS + 50 % EH; C5 = 50 % SMS + 25 % OC + 25 % EH, and CT = no fertilization. The average plant height and leaf area were higher amongst plants cultivated in soil amended with SMS, either individually or combined with OC and EH, with 55.6 to 62.2 cm of height, and 696.5 to 836.4 cm² of leaf area per plant. Treatment C3 provided plants with higher dry weight (10.9 g plant⁻¹), and C2 provided the highest oil yield (5.0 kg ha⁻¹), with gains of 324.8 % in yield, when compared to the control. The SMS increases the biomass and essential oil yield of basil (*Ocimum basilicum*) plants.

Keywords: *Ocimum basilicum*. Sisal residue. Organic fertilization. Medicinal plants.

INTRODUÇÃO

A produção agroindustrial, de modo geral, gera grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos, cuja maior parte é descartada, devido ao alto custo operacional para o seu aproveitamento (DO NASCIMENTO FILHO e FRANCO, 2015). Tecnologias para a utilização desses resíduos são necessárias para evitar a poluição ambiental (BARH et al., 2018) e para a conservação dos recursos naturais.

Os fungos do gênero *Pleurotus* colonizam diversos resíduos lignocelulolíticos e produzem cogumelos que são muito apreciados pelo sabor, valor nutricional e propriedades medicinais (CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ-URIBE, 2017). Os cogumelos do gênero *Pleurotus* ocupam a segunda posição em termos de produção comercial de cogumelos comestíveis no mundo (RAMAN et al., 2020). Estes cogumelos, destacando-se o *Pleurotus ostreatus*, conhecido como cogumelo ostra, podem ser produzidos em diversos resíduos, a exemplo de: casca de café (NUNES et al., 2012), sementes de algodão (GIRMAY et al., 2016), serragem (VIEIRA; ANDRADE, 2016), bagaço de cana de açúcar e de milho, palha de trigo e de arroz (SARDAR et al., 2016), palha de trigo (KOUTROTSIOS, et al., 2017), bagaço de dendê (SILVA et al., 2020), resíduo de desfibramento e do processamento da fibra de sisal (DO CARMO et al., 2021), dentre outros. Entretanto, após a produção de cogumelos, é gerada uma grande quantidade de substratos pós-cultivo (SPC) (KAPU et al., 2012). Cerca de 5 kg de SPC são gerados para cada quilograma de cogumelos frescos produzidos (PAREDES et al., 2016; CORRÊA et al., 2016) e estes são frequentemente descartados em locais distantes do local de produção, para evitar a proliferação de moscas, insetos e doenças (MARQUES et al., 2014; LOPES et al., 2015). Entretanto, esse procedimento pode causar a contaminação do meio ambiente, além do desperdício de recursos naturais.

A degradação fúngica, que ocorre durante o cultivo de cogumelos, causa alterações nas características físicas, químicas e biológicas dos resíduos lignocelulósicos (SHARMA; ARORA, 2015) e estes, após a produção de cogumelos, podem ser utilizados na produção de mudas, na adubação orgânica (LOPES et al., 2015; NAKATSUKA et al., 2016; PAULA et al., 2017), na biorremediação do solo (GARCÍA-DELGADO et al., 2013; ADENIPEKUN E

LAWAL, 2012) e na alimentação animal (WANZENBÖCK et al., 2017). Contudo, o potencial de utilização do SPC ainda é pouco explorado e não tem solucionado os problemas com o acúmulo desses resíduos (PAREDES et al., 2016).

A viabilidade da aplicação do SPC na horticultura, isoladamente ou com outros fertilizantes orgânicos ou minerais, vem sendo estudada (LOU et al., 2017; NAKATSUKA et al., 2016; HANAFI et al., 2018). Dentre as opções na horticultura, o cultivo de plantas medicinais, a exemplo do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), pode se beneficiar com o uso de biofertilizantes formulados com SPC e outras fontes orgânicas de nutrientes (HANAFI et al., 2018). O manjeriço é uma planta medicinal que produz um óleo essencial com vários constituintes biologicamente ativos e também é usada na culinária e em bebidas (WANNISSORN, et al., 2005; BURDUCEA et al., 2018).

A bioconversão de resíduos agroindustriais em cogumelos, combinada com o uso do SPC na produção agrícola, permite o desenvolvimento de sistemas de produção agroindustrial sem o acúmulo de resíduos, e com a geração de produtos de valor comercial, atendendo ao conceito de bioeconomia (CUNHA ZIED et al., 2020). Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de avaliar o SPC de *P. ostreatus*, combinado com composto orgânico e húmus de minhoca, na produção de manjeriço e do óleo essencial.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das mudas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

O experimento foi realizado em casa de vegetação (Latitude: - 12°39'33.7"S e Longitude 39°05'05.9"W), na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), campus de Cruz das Almas, Bahia, no período de abril a julho de 2018. Nesse período, a média das temperaturas mínima e máxima variou entre 24,0 e 25,3°C (abril), 22,5 e 23,5°C (maio) e 21, 7 e 22,7°C (junho), e a média da umidade relativa do ar, mínima e máxima, variou entre 78,5 e 84,9% (abril), 85,7 e 90,5% (maio) e 87,0 e 91,6% (junho), no ambiente externo à casa de vegetação. Para a produção das mudas de manjeriço, sementes da var. Alfavaca Verde foram semeadas em bandejas plásticas de produção de mudas,

de 53 x 27 cm de comprimento e largura, e 128 células. A germinação e o crescimento inicial do manjeriço ocorreram no substrato de fibra de coco, em casa de vegetação (marca Van der Hoeven, com cobertura plástica e tela de 50 % de sombreamento nas laterais), com irrigação diária por aspersão, durante 30 dias.

Preparo e formulação dos substratos

O substrato pós cultivo (SPC) foi gerado a partir da produção de *Pleurotus ostreatus* em substrato composto por resíduos sólidos oriundos do desfibramento de folhas de plantas de sisal (*Agave sisalana* Perrine) e do beneficiamento industrial das fibras secas do sisal, popularmente conhecido como pó de batedeira, conforme descrito por Do Carmo et al., (2021). Para o preparo das formulações para a adubação do manjeriço, o SPC foi seco na temperatura de 45°C, em estufa de circulação forçada (Solab, modelo SL-102), até atingir peso constante. O composto orgânico (CO) e húmus de minhoca (HM) foram produzidos de materiais oriundos de podas na fazenda experimental do campus de Cruz das Almas da UFRB e, para o HM, foram utilizadas minhocas californianas, da espécie *Eisenia andrei* Bouché. Os tratamentos estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos constituídos pelas formulações do biofertilizante com substrato pós cultivo (SPC) do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, composto orgânico (CO) e húmus de minhoca (HM), de forma combinada e isolada.

Tratamentos	CO (%)	HM (%)	SPC (%)
CO	100	0	0
HM	0	100	0
SPC	0	0	100
C1	25	0	75
C2	0	25	75
C3	50	0	50
C4	0	50	50
C5	25	25	50
CT	0	0	0

A aplicação no solo foi na dosagem de 35g do biofertilizante por vaso com 3,5 litros de solo, que equivale a 20 t ha⁻¹, com base nas recomendações normalmente utilizadas para o cultivo de plantas medicinais (LAMEIRA; PINTO,

2008). Utilizou-se um solo de área de pastagem, coletado no campus de Cruz das Almas da UFRB, o qual foi peneirado em peneira de construção civil, com aro de madeira e tela de arame galvanizado, malha 8 (abertura 2,79 mm). O solo foi misturado com as formulações de SPC, CO e HM (Tabela 1) e colocado em vasos de plástico, com dimensões de 22 cm de diâmetro e 18,1 cm de comprimento e capacidade para 3,6 litros. As mudas de manjerição com 15 cm de comprimento foram transplantadas para os vasos contendo solo e os adubos incorporados, conforme os tratamentos já descritos, e foram mantidas para crescimento em casa de vegetação, com irrigação por aspersão, automatizada. As características químicas do CO, HM e SPC estão descritas na tabela 2.

Tabela 2. Características químicas do substrato pós cultivo (SPC) de cogumelos (*Pleurotus ostreatus*), composto orgânico (CO) e húmus de minhoca (HM) usados na adubação de *Ocimum basilicum* L.

Características	CO	HM	SPC
pH	7,5	7,8	6,60
Matéria Orgânica (%)	21,98	36,46	61,17
Carbono Orgânico (%)	10,79	18,88	32,61
Nitrogênio Total (%)	1,98	2,29	1,72
Fósforo (%)	0,59	1,09	0,77
Potássio (%)	1,00	1,10	0,23
Cálcio (%)	3,04	1,56	10,44
Magnésio (%)	0,71	0,73	0,51
Enxofre (%)	0,12	0,03	0,20
Relação C/N	5	8	19

Parâmetros avaliados

As avaliações biométricas das plantas foram realizadas quinzenalmente, durante 60 dias. Foram realizadas avaliações destrutivas, a cada quinze dias, utilizando-se duas plantas por tratamento, selecionadas de forma aleatória em cada parcela experimental. Aos 60 dias, correspondendo ao término do experimento, foram avaliadas seis plantas. O crescimento das plantas foi avaliado por meio de medições do comprimento da parte aérea (COMP), aferido com régua milimétrica (30 cm), diâmetro do caule (DC), aferido com paquímetro e área foliar (AF) determinada pelo programa Imagem J (MARTIN et al., 2013).

A cada quinze dias, duas plantas foram removidas dos vasos, cortadas separando-se as folhas, caules e raiz e determinou-se a AF. Em seguida, foram colocadas em estufa com circulação forçada (Solab, modelo SL-102) à 45°C, até atingirem peso constante, para obtenção da massa seca da folha (MSF), do caule (MSC), da raiz (MSR) e total (MST), por pesagem em balança semi-analítica (marca Bel, com três casas decimais). A avaliação da MST foi calculada com base no acúmulo total da raiz, caule e folha da planta de manjerição e o índice de colheita (IC) foi calculado pela relação matéria seca da folha e matéria seca total.

Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação, com quatro repetições, no Laboratório de Fitoquímica da UFRB. Trinta gramas das amostras de folhas secas, das plantas coletadas 60 dias após o transplante das mudas e secas a 45°C em estufa de ventilação forçada (Solab, modelo SL-102), foram colocadas em um balão de vidro de 2 L contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal, para o processo de hidrodestilação. Foi utilizado o aparelho Clevenger graduado, acoplado no balão de vidro. O processo de extração foi conduzido durante 2 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do Clevenger. O óleo essencial foi retirado da coluna do aparelho Clevenger, com uma pipeta de vidro graduada, com capacidade para 5 mL, e foi armazenado em frascos de vidro cobertos com folha de alumínio, em geladeira a 4°C.

O teor do óleo essencial foi calculado (Equação 1) a partir da base livre de umidade (BLU), que corresponde ao volume (mL) de óleo essencial em relação a massa seca.

Equação 1:

TO = Teor de óleo (%)

VO = volume de óleo extraído

Bm = Biomassa das folhas

BmxU = Quantidade de umidade presente na biomassa

Bm-(BmxU) = Quantidade de biomassa seca

O rendimento de óleo essencial foi obtido a partir do cálculo de multiplicação do teor de óleo e a massa seca das folhas da planta.

Análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente ao caso, com nove tratamentos e quatro repetições, e cada parcela experimental foi constituída por doze plantas (uma planta por vaso) com um total de 432 vasos. Os dados foram comparados pela análise de variância (ANOVA) e agrupados pelo teste Scott-Knott, a 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de biomassa de plantas de manjerição, ao longo do tempo, em função da adubação com SPC individual ou combinado com CO e HM, está apresentada na tabela 3. O crescimento das plantas de manjerição variou entre os tratamentos e no decorrer do tempo. Na primeira avaliação, 15 dias após o transplante das mudas, não foram observadas diferenças nos tratamentos, para COMP, AF e MST das plantas de manjerição. Com relação ao DC, apenas os tratamentos C5 e CT tiveram desempenho inferior (Tabela 3).

Com 30 e 45 dias após o transplante das mudas, os tratamentos com SPC isolado ou combinado com CO e HM proporcionaram os melhores resultados, seguido dos tratamentos com CO e HM. Ambos, CO e HM, quando combinados com SPC, proporcionaram respostas semelhantes para COMP, AF e MST em plantas de manjerição (Tabela 3). Entretanto, aos 30 dias após o transplante, as plantas dos tratamentos com CO e HM, não combinados com SPC, começaram a apresentar sintomas de deficiência nutricional (folhas amarelas e crescimento lento), enquanto nos tratamentos com SPC e suas combinações, as plantas demonstravam maior crescimento e vigor.

Aos 60 dias não houve diferença ($p>0,05$) entre a utilização do SPC e as diferentes combinações de CO e HM com o SPC, para as variáveis COMP e AF das plantas de *O. basilicum* L, com valores superiores aos tratamentos com 100% de CO e HM e o controle. As plantas sem adubação (CT) tiveram os menores valores para DC. Relacionado ao ganho de MST, a formulação com 50

% SPC e 50 % CO foi superior estatisticamente aos demais tratamentos, com valor médio de 10,9 g, proporcionando um incremento de biomassa de 600 %, quando comparado às plantas do tratamento controle.

Tabela 3. Avaliação do comprimento, diâmetro do caule, área foliar e matéria seca total de plantas de manjerição (*Ocimum basilicum* L.), aos 15, 30, 45 e 60 dias após o transplante de mudas com 15 cm de comprimento, para vasos com 3,5 litros de solo, adubado com 35 g de substrato pós-cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus* (SPC), composto orgânico (CO), húmus de minhoca (HM) e as formulações envolvendo combinações destas três fontes de nutrientes*.

Tratamentos*	Comprimento (cm)				Diâmetro do caule (mm)			
	15	30	45	60	15	30	45	60
CO	10,35 a	29,08 b	40,13 c	48,48 b	2,95 a	4,88 a	5,38 a	6,50 a
HM	9,04 a	27,13 b	40,89 c	50,44 b	3,08 a	5,13 a	5,50 a	6,50 a
SPC	8,75 a	20,91 c	46,68 b	62,24 a	3,13 a	5,00 a	5,75 a	6,50 a
C1	10,50 a	26,10 b	51,34 a	57,09 a	3,25 a	5,00 a	6,00 a	6,13 a
C2	11,56 a	26,11 b	54,85 a	59,70 a	3,31 a	5,25 a	5,75 a	6,00 a
C3	9,81 a	30,53 a	49,53 a	60,88 a	3,06 a	4,50 a	5,75 a	5,75 a
C4	12,48 a	33,61 a	51,08 a	61,50 a	3,00 a	4,06 a	5,50 a	6,06 a
C5	10,85 a	32,05 a	46,33 b	55,58 a	2,81 b	3,69 b	5,50 a	6,19 a
CT	7,29 a	12,54 d	24,08 d	24,44 c	2,63 c	3,13 c	3,28 b	3,33 b
CV	22,6	10,50	9,37	12,6	7,08	10,61	12,36	10,40

Tratamentos*	Área foliar (cm ²)				Matéria seca total da planta (g)			
	15	30	45	60	15	30	45	60
CO	92,35 a	281,69 a	405,66 b	528,74 b	0,41 a	2,71 a	5,54 b	8,86 b
HM	83,87 a	308,10 a	468,13 b	522,37 b	0,40 a	2,76 a	5,42 b	6,84 c
SPC	70,56 a	118,27 c	485,72 b	706,43 a	0,40 a	1,08 c	4,95 b	9,74 b
C1	87,19 a	247,21 a	616,61 a	836,49 a	0,45 a	2,08 b	6,93 a	9,18 b
C2	81,72 a	189,88 b	652,68 a	742,56 a	0,44 a	1,96 b	7,03 a	9,94 b
C3	90,29 a	333,73 a	671,82 a	774,00 a	0,48 a	2,64 a	7,24 a	10,93 a
C4	101,44 a	336,89 a	612,36 a	696,49 a	0,53 a	3,00 a	7,32 a	9,99 b
C5	96,48 a	346,10 a	689,68 a	722,54 a	0,48 a	2,89 a	8,08 a	9,68 b
CT	50,00 a	70,31 c	155,61 c	143,01 c	0,29 a	0,84 c	1,60 c	1,82 d
CV	17,84	19,52	14,82	11,39	19,77	16,26	16,94	7,40

*CO= 100% composto orgânico, HM= 100% húmus de minhoca; SPC= 100% substrato pós cultivo do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, e as combinações dessas três fontes de nutrientes: C1= 75 % SPC+ 25 % CO; C2= 75 % SPC + 25 % HM; C3= 50 % SPC + 50 % CO; C4= 50 % SPC + 50 % HM; C5= 50 % SPC + 25 % CO + 25 % HM. CT= solo sem adubação.

A adubação orgânica promove o aumento da produtividade e melhoria da qualidade dos produtos agrícolas. A adição de CO e HM melhora as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, diminuindo a densidade, promovendo o desenvolvimento radicular, aumentando a capacidade de

retenção de água e liberação de nutrientes para as plantas (NARDI et al., 2004). Além dos efeitos na estrutura e propriedades biológicas do solo, a adubação orgânica está associada ao aumento da biomassa e atividade microbiana (MASMOUDI et al., 2020).

Os menores valores de COMP (20,9 cm), DC (3,1 mm), AF (118,2 cm²) e MST (1,1 g), trinta dias após transplante das mudas de manjerição, foram observados nos tratamentos com SPC, o que pode estar relacionado com a liberação mais lenta de nutrientes. Sabe-se que o SPC é um substrato rico em nutrientes, como apresentado na tabela 1, mas muitos deles não estão em formas disponíveis para as plantas, sendo mineralizados lentamente. É particularmente o caso do nitrogênio (N), fósforo (P) e Potássio (K) (HACKETT, 2015; LOU et al., 2015). Perdas de nutrientes por lixiviação foram maiores com a utilização de esterco de galinha do que com SPC (HOLBECK et al., 2013). Esses autores relataram que o baixo conteúdo de ácidos húmicos no SPC atrasou a nitrificação do NH₄⁺. Esse fenômeno pode levar à ocorrência da mineralização lenta e sustentável de nutrientes para as plantas, reduzindo as perdas de N. As plantas medicinais e aromáticas, assim como outras culturas, dependem do fornecimento adequado de nutrientes para uma boa produtividade (CORRÊA et al., 2010). As plantas de manjerição são muito exigentes em N, sendo este o elemento com as maiores variações nas doses estimadas (LIMA et al., 2020).

A incorporação de SPC ao solo e suas combinações com CO e HM promoveu o aumento no teor de matéria orgânica (MO) (21,43), melhoria na capacidade de troca catiônica (CTC) (75,4%) e soma de bases trocáveis (SB) (123 %), em relação ao solo sem adubação (Tabela 4). Esses fatores têm grande influência na sustentabilidade, estabilidade, disponibilidade de nutrientes, pH e a reação do solo e, o aumento na fertilidade do solo reflete na produção agrícola (MADEJÓN et al., 2016). O aumento na MO e melhorias na CTC e SB, também foram relatados por Masmoudi et al. (2020), ao avaliarem os efeitos da taxa de aplicação de adubo e níveis de CO nas características químicas e físicas em diferentes camadas do solo e no crescimento de plantas de manjerição. Segundo esses autores, a adubação orgânica melhorou a capacidade de absorção de elementos minerais do solo.

Tabela 4. Características químicas e físicas do solo não adubado no início (CT1) e no final (CT2) do cultivo do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e do solo como as adubações orgânicas*, baseadas nas formulações com substrato pós cultivo de cogumelos (*Pleurotus ostreatus*) (SPC), composto orgânico (CO) e húmus de minhoca (HM), após o cultivo do manjeriço.

TRAT*	pH CaCl ₂	MO g.dm ⁻³	P mg.dm ⁻³	K ----- Mmolc.dm ⁻³	Ca	Mg	H+Al ----- Mmolc.dm ⁻³	SB	CTC	V %
CT1	5,6	14	7	<0,9	14	7	14	22,3	32,9	46,8
CT2	5,7	14	5	<0,9	14	7	12	21,7	33,7	64
CO	5,6	16	12	1,4	13	9	13	23,4	36,4	64
HM	5,4	17	18	1,5	12	14	13	27,5	40,5	68
SPC	6,2	15	17	<0,9	36	12	9	48,6	57,6	84
C1	6,6	16	19	<0,9	39	10	8	49,7	57,7	86
C2	6,5	16	18	<0,9	30	10	9	40,6	49,6	82
C3	6,5	15	16	0,9	26	10	10	36,9	46,9	79
C4	6,3	15	17	0,9	24	10	10	34,9	44,9	78
C5	6,2	15	16	1,1	27	10	10	38,1	48,1	79

*CO= 100 % composto orgânico; HM= 100 % húmus de minhoca; SPC= 100 % substrato pós cultivo de cogumelos (*Pleurotus ostreatus*) e as combinações dessas três fontes de nutrientes: C1= 75 % SPC + 25 % CO; C2= 75 % SPC + 25 % HM; C3= 50 % SPC + 50 % CO; C4= 50 % SPC + 50 % HM e C5= 50 % SPC + 25 % CO + 25 % de HM. O manjeriço foi cultivado por 60 dias em condições de casa de vegetação, com irrigação por aspersão, após o transplante de mudas com 15 cm de comprimento, para vasos com 3,5 litros de solo adubado com 35 g do adubo orgânico, de acordo com os tratamentos.

De acordo com Do Carmo et al. (2019), alterações positivas foram observadas nas características químicas, físicas e biológicas do solo, com diferentes rendimentos em plantas de manjeriço cultivadas em solo com compostos orgânicos enriquecidos com actinobactérias. A fertilização orgânica em variedades de manjeriço promove efeitos positivos no desenvolvimento da planta e teor de óleos essenciais (BURDUCEA et al., 2018). Segundo Li et al. (2014), a aplicação de CO e HM é uma maneira eficiente de adicionar matéria orgânica estável ao solo, sendo importante na liberação de N para o solo e sua absorção pelas plantas. No entanto, o CO e HM são fontes orgânicas que passaram por processo de compostagem, e por esse motivo, apesar da liberação de nutrientes para as plantas ser lenta, o processo de mineralização é mais rápido, quando comparado ao SPC, principalmente para o nitrogênio, o que pode explicar os sintomas de deficiência de N observados nas plantas produzidas em solo com CO e HM, após algumas semanas de cultivo. A disponibilidade mais lenta de nutrientes do SPC para as plantas pode ter resultado nos valores inferiores de COMP, DC, AF e MST das plantas cultivadas no solo que recebeu apenas o SPC, em comparação com aqueles obtidos nas plantas produzidas no solo adubado com os biofertilizantes formulados com o SPC combinado com CO

e HM, até 45 dias de transplante das mudas de manjeriço. Porém, aos 60 dias após o transplante, não houve diferença estatística entre os tratamentos com SPC e com as formulações deste com CO e HM, com os melhores resultados obtidos com a formulação C3, composta por 50 % SPC e 50 % CO.

O potencial do SPC como fertilizante e sua utilização em combinação com adubos de origem orgânica ou mineral tem sido associado com o aumento significativo do N mineral no solo (Lou et al., 2017). A aplicação mista do SPC com fertilizantes químicos promoveu alterações nas características do solo, favorecendo a imobilização do nitrogênio e reduzindo a lixiviação deste nutriente (LOU et al., 2015). O SPC também foi avaliado na fertilização de alface (*Lactuca sativa* L.) por Ribas (2009), o qual concluiu que, além de apresentar potencial para a biorremediação de solos, a maioria dos nutrientes do SPC é mineralizada lentamente pelos microrganismos, sendo liberada de forma lenta para o solo. Resultados semelhantes foram encontrados por Roy et al. (2015), avaliando o potencial do SPC como biofertilizante para o crescimento e melhoria das características de frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.).

A adição de N no solo aumenta as concentrações de N foliar, que promovem maiores taxas fotossintéticas (KHAN et al., 2018). O nitrogênio é um fator chave que regula as respostas fotossintéticas, por ser um componente importante da rubisco e de outras enzimas e estruturas fotossintéticas (SUN et al., 2016; ZHONG et al., 2017). A adição de SPC também pode ser uma importante fonte de microrganismos benéficos à produção vegetal, com potencial para induzir resistência contra doenças (LOPES et al., 2015).

Assim, pode-se considerar o SPC como uma fonte promissora de adubo orgânico para a agricultura, principalmente na produção de plantas medicinais, com vantagens na melhoria da fertilidade do solo e com menor perda de nutrientes por lixiviação. A composição química dos adubos orgânicos e do solo após a incorporação destes (Tabelas 2 e 4), contribui para a compreensão do comportamento das plantas de manjeriço, em função dos tratamentos com as formulações de adubos orgânicos, no decorrer do ciclo de cultivo desta planta medicinal (Tabela 3), e demonstra o potencial do substrato SPC para a produção dessa cultura.

O P também é um macronutriente essencial para o crescimento das plantas, mas este é um elemento de baixa mobilidade no solo e, na maioria dos

solos, encontra-se imobilizado. A disponibilidade de P também foi observada nas amostras de solo que receberam a aplicação do SPC (Tabela 4). O SPC pode atuar como biofertilizante, fornecendo P para as plantas (LOU et al., 2015), além de atuar como um condicionador, melhorando a estrutura do solo (NAKATSUKA et al., 2016). Meng et al. (2018) demonstraram que a adição ao solo de esterco de suínos combinado com SPC pode aumentar os teores de N, P e K, o que confirma o potencial deste substrato como fertilizante agrícola.

A distribuição dos assimilados na cultura do manjeriço, ao final do experimento, está apresentada na figura 1. As folhas do manjeriço representam o principal produto de comercialização dessa cultura, expressando o maior teor de óleo essencial e, sendo consumidas in natura e processadas nas indústrias de alimentos e medicamentos, em comparação com as outras partes da planta (TAHAMI et al., 2017).

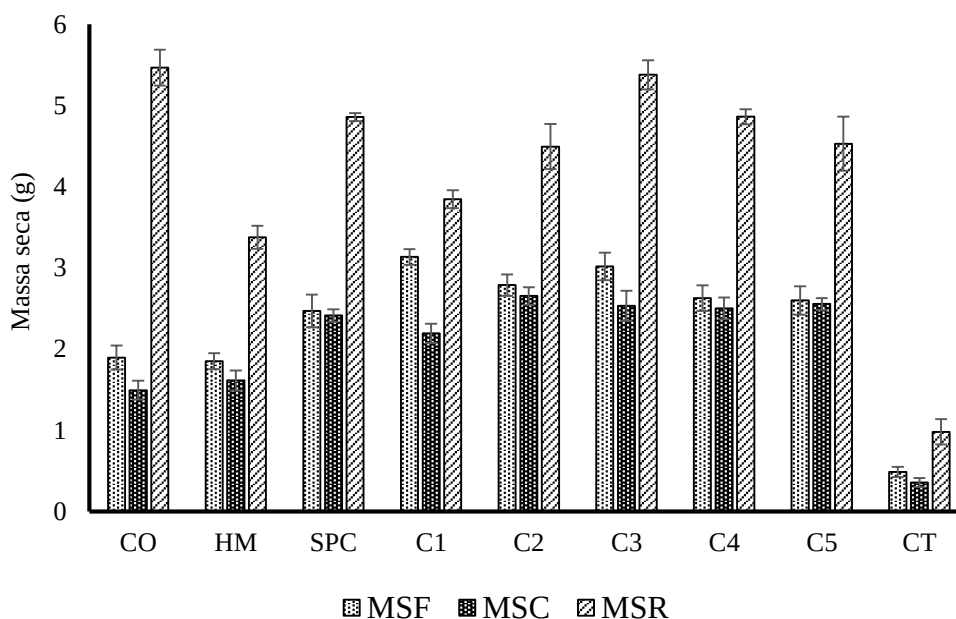


Figura 1. Alocação da matéria seca em folha (MSF), caule (MSC) e raiz (MSR) de plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), 60 dias após o transplante das mudas para vasos com 3,5 litros de solo, e adubação com 35 g de substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus*, composto orgânico, húmus de minhoca e combinações destes adubos orgânicos. CO = composto orgânico; HM = húmus de minhoca; SPC = substrato pós cultivo de *P. ostreatus* e as combinações das três fontes de nutrientes: C1= 75 % SPC + 25 % CO; C2= 75 % SPC + 25 % HM; C3= 50 % SPC + 50 % CO; C4= 50 % SPC + 50% HM; C5= 50 % SPC + 25 % CO + 25 % de HM. CT= solo sem adubação.

No final do experimento, 60 dias após o transplante das mudas, o maior acúmulo de matéria seca foi observado nas raízes das plantas de manjeriço.

Isso acontece em consequência do início do amadurecimento foliar, senescência da planta, aumento do sistema radicular em decorrência da redução do teor de nutrientes e redução da fotossíntese, aumentando a respiração (PEIXOTO et al., 2011). A maior produção de matéria seca nas folhas foi observada nos tratamentos com as formulações C1 (3,13 g) e C4 (3,01 g), sem diferenças significativas entre estes tratamentos. Esses resultados solidificam o elevado potencial da utilização do SPC em combinação com CO, como já observado em relação à produção de MST (Tabela 3).

Não foram encontrados estudos relacionando com a alocação da matéria seca em plantas de manjeriço. Entretanto, Ferreira et al. (2004) avaliaram o crescimento e alocação na planta medicinal *Catharanthus roseus* L., em função da adubação com esterco orgânico e a época de colheita. Estes autores relataram que as doses de adubação orgânica influenciaram no acúmulo de matéria seca nas ramificações, folhas, caules e raízes.

Teor e rendimento de óleo essencial

O teor de óleo essencial de *O. basilicum* variou entre 1,24 a 1,84 % e não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos e o controle. Contudo, em relação ao rendimento do óleo essencial, este foi maior nas plantas adubadas com SPC (4,41 kg ha⁻¹) e com as formulações envolvendo as combinações do SPC com HM e CO, com rendimento de óleo essencial variando entre 3,93 a 4,97 kg ha⁻¹, não havendo diferenças significativas entre as mesmas. Esses rendimentos foram superiores aos observados nas plantas cultivadas em solo com as formulações contendo 100 % de HM e de CO. O rendimento de óleo essencial nos tratamentos com SPC e suas combinações com HM e CO, comparado com o tratamento controle, teve incrementos significativos, chegando a 324,8 % (Figura 2).

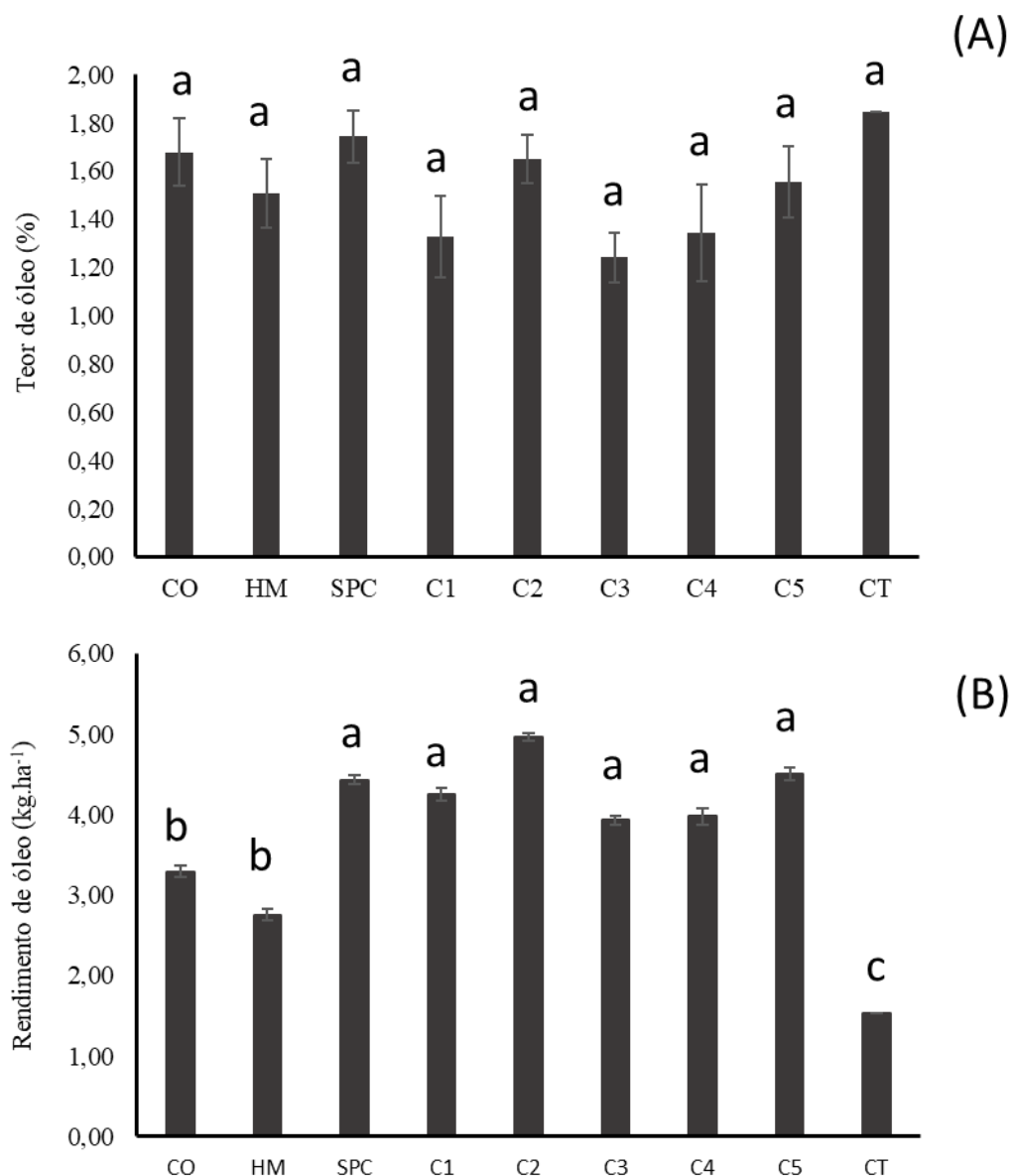


Figura 2. Teor (A) e rendimento de óleo essencial (B) de plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivadas em casa de vegetação, em vasos com 3,5 litros de solo e adubação com 35 g de substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* (SPC), composto orgânico (CO), húmus de minhoca (HM) e as combinações dessas três fontes de nutrientes: C1= 75% SPC + 25% CO; C2= 75 % SPC + 25 % HM; C3= 50 % SPC + 50 % CO; C4= 50 % SPC + 50 % HM; C5= 50 % SPC + 25 % CO + 25 % HM. CT= solo sem adubação.

Segundo Bufalo et al. (2015), a adubação orgânica pode ser utilizada sem comprometer o perfil do óleo essencial de *O. basilicum*, preservando os compostos bioativos e as propriedades do óleo essencial do manjeriço, apenas alterando o acúmulo de massa fresca e seca e de nutrientes na planta. Variações no teor de óleo essencial de 0,91 a 1,30 % e aumentos no rendimento de 21 a 30 %, em comparação com o controle, também foram observados por Burducea

et al. (2018), com fertilizantes orgânicos e convencionais, no crescimento e produção de óleo essencial de duas cultivares de manjerição.

A adubação integrada com diferentes fontes de nutrientes foi avaliada por Pandey, Patel e Patra (2016). Esses autores avaliaram o efeito de fertilizantes orgânicos e químicos sobre a biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais, nutrição mineral e atividade antioxidante de plantas de *O. basilicum*, em condições de campo, e obtiveram rendimentos entre 7,12 a 13,35 kg ha⁻¹, concluindo que a adubação orgânica, química e a combinação destas tem efeito positivo sobre o rendimento de óleo essencial do manjerição.

Este estudo comprova o potencial de utilização do SPC na adubação de plantas de manjerição, aumentando a produção de biomassa (Tabela 3) e o rendimento de óleo essencial, principalmente com a formulação contendo 50 % SPC e 50 % CO (Tabela 3). Segundo Pandey, Patel e Patra (2016), o aumento da biomassa de plantas de manjerição como resultado de adubação orgânica é um dos fatores que geram o maior rendimento de óleo essencial por unidade de área, consequência direta da absorção de nitrogênio pelas plantas de manjerição.

CONCLUSÃO

O substrato pós-cultivo de *P. ostreatus* tem potencial para ser utilizado na adubação de plantas de manjerição, com efeito significativo na produção de biomassa e rendimento de óleo essencial. A formulação do substrato pós-cultivo de *P. ostreatus* com composto orgânico, nas proporções de 75:25 e 50:50 (volume: volume), aumenta a produção de biomassa em plantas de manjerição. A adubação individual ou combinada do substrato pós-cultivo de *P. ostreatus* com composto orgânico e húmus de minhoca aumenta o rendimento de óleo essencial de plantas de manjerição.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve o financiamento da CAPES (bolsa de doutorado do primeiro autor), CNPq (bolsa de produtividade em pesquisa do autor

correspondente processo nº 308771/2017-6), da FAPESB (editais de apoio a pós-graduação) e da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Inovação da Bahia (SECTI) (convênio SECTI-UFRB nº 001/2013). Os financiadores não tiveram nenhuma influência no desenho do estudo, coleta e análise dos dados, decisão de publicação ou preparação do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENIPEKUN, C. O.; LAWAL, R. Uses of mushrooms in bioremediation: A review. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**, v. 7, n. 3, p. 62-68, 2012.

BARH, A. et al. Mushroom crop in agricultural waste cleanup. In: **Microbial Biotechnology in Environmental Monitoring and Cleanup**. IGI Global, 2018. p. 252-266.

BUFALO, J. et al. Organic versus conventional fertilization effects on sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) growth in a greenhouse system. **Industrial Crops and Products**, v.74, p. 249–254, 2015.

BURDUCEA, M. et al. Fertilization modifies the essential oil and physiology of basil varieties. **Industrial Crops and Products**, v. 121, p. 282-293, 2018.

CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, México. v.58, p. 69-81, 2017.

CORRÊA, R. M. et al. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, v.12, n.1, p. 80-89, 2010.

CORRÊA, R. C. G. et al. 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.

CUNHA ZIED, Diego et al. Use of Spent Mushroom Substrate in New Mushroom Crops to Promote the Transition towards A Circular Economy. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1239, 2020.

DO CARMO, C. O. et al. Bioconversion of sisal agro-industrial waste into high protein oyster mushrooms. **Bioresource Technology Reports**, e. 100657, 2021.

DO CARMO, C. O. et al. Utilização de compostos orgânicos inoculados com actinobactéria na adubação de manjerição (*Ocimum basilicum* L.). **Magistra**, v. 30, p. 18-27, 2019.

DO NASCIMENTO FILHO, W. B.; FRANCO, C. R. Avaliação do potencial dos resíduos produzidos através do processamento agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1968-1987, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, M. M., et al. Crescimento e alocação de biomassa de plantas de vinca (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) em função da adubação orgânica e época de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, v.6, n. 2, p. 72-6, 2004.

GARCÍA-DELGADO, C. et al. Cadmium and lead bioavailability and their effects on polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation by spent mushroom substrate. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 12, p. 8690-8699, 2013.

GIRMAY, Zenebe et al. Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. **Amb Express**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2016.

HACKETT, Richie. Spent mushroom compost as a nitrogen source for spring barley. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 102, n. 2, p. 253-263, 2015.

HANAFI, F. H. M. et al. Environmentally sustainable applications of agro-based spent mushroom substrate (SMS): an overview. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 20, n. 3, p. 1383-1396, 2018.

HOLBECK, B. et al. Recoveries of 15N-labelled fertilizers (chicken manure, mushroom compost and potassium nitrate) in arable topsoil after autumn application to winter cover crops. **Soil and Tillage Research**, v. 130, p. 120-127, 2013.

LAMEIRA, O. A.; PINTO, J. E. B. P. **Plantas medicinais: do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 264 p. 2008.

LI, S. et al. Soil organic nitrogen and its contribution to crop production. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n.10, p. 2061-2080, 2014.

LIMA, J. C. et al. Macronutrient fertilizers on basil growth and yield. **Comunicata Scientiae**, v. 11, p. e3200-e3200, 2020.

LOPES, R. X. et al. Application of spent *Agaricus subrufescens* compost in integrated production of seedlings and plants of tomato. **International Journal of Recycling Organic Waste in Agriculture**. v.4, n.3 p.211–218, 2015.

LOU, Z. et al. Release characteristics and control of nitrogen, phosphate, organic matter from spent mushroom compost amended soil in a column experiment. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 98, p. 417-423, 2015.

LOU, Z. et al. Composition variability of spent mushroom substrates during continuous cultivation, composting process, and their effects on mineral nitrogen transformation in soil. **Geoderma**, v. 307, p.30–37, 2017.

KAPU, N. U. S. et al. Surfactant-assisted pretreatment and enzymatic hydrolysis of spent mushroom compost for the production of sugars. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 399-405, 2012.

KHAN, S. et al. Alteration in yield and oil quality traits of winter rapeseed by lodging at different planting density and nitrogen rates. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 634, 2018.

KOUTROTSIOS, G. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 5, p. 98, 2017.

NAKATSUKA, H. et al. Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil. **Geoderma**, v. 269, p. 54-60, 2016.

NARDI, S. et al. Soil organic matter properties after 40 years of different use of organic and mineral fertilizers. **European Journal of Agronomy**, v. 21, n. 3, p. 357-367, 2004.

NUNES, Mateus Dias et al. Nitrogen supplementation on the productivity and the chemical composition of oyster mushroom. **Journal of Food Research**, v. 1, n. 2, p. 113, 2012.

MADEJÓN, P. et al. Three-year study of fast-growing trees in degraded soils amended with composts: Effects on soil fertility and productivity. **Journal of Environmental Management**, v. 169, p. 18-26, 2016.

MARQUES, E. L. S. et al. Spent mushroom compost as a substrate for the production of lettuce seedlings. **Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 7, p. 138, 2014.

MARTIN, Thomas Newton et al. Uso do software ImageJ na estimativa de área foliar para a cultura do feijão. **Interciência**, v. 38, n. 12, p. 843-848, 2013.

MASMOUDI, S. et al. Effects of compost and manure application rate on the soil physico-chemical layers properties and plant productivity. **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, p. 1883–1894, 2020.

MENG, X. et al. Effect of pig manure on the chemical composition and microbial diversity during co-composting with spent mushroom substrate and rice husks. **Bioresource Technology**, v. 251, p. 22-30, 2018.

PAREDES, C. et al. Effects of spent mushroom substrates and inorganic fertilizer on the characteristics of a calcareous clayey-loam soil and lettuce production. **Soil Use and Management**, v. 32, n. 4, p. 487-494, 2016.

PAULA, F. S. et al. Stabilization of spent mushroom substrate for application as a plant growth-promoting organic amendment. **Journal of Environmental Management**, v.196, p.476-486, 2017.

PEIXOTO, C. P.; CRUZ, T. V.; PEIXOTO, M. F. S. Análise quantitativa do crescimento de plantas: conceitos e prática. **Enciclopédia biosfera**. Goiânia, v. 7, n. 13, p. 51-76, 2011.

RAMAN, Jegadeesh et al. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* Spp.: An Overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 1-14, 2020.

RIBAS, L. C. C. et al. Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*)

cultivation: growth promotion and soil bioremediation. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 20, p. 4750-4757, 2009.

ROY, S. et al. Evaluation of spent mushroom substrate as biofertilizer for growth improvement of *Capsicum annuum* L. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v.3, n.03, p. 022-027, 2015.

SARDAR, Hasan et al. impact of various agro-industrial wastes on yield and quality of *Pleurotus sajor-caju*. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v. 28, n. 1, p. 87-92, 2016.

SHARMA, R. K.; ARORA, D. S. Fungal degradation of lignocellulosic residues: an aspect of improved nutritive quality. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 52-60, 2015.

SILVA, Rafael Mota da et al. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated in agro-industrial wastes of palm oil fruits and cocoa almonds. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020.

SUN, J. et al. Nitrogen can improve the rapid response of photosynthesis to changing irradiance in rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Scientific Reports**, e 6:31305, 2016.

TAHAMI, M. K. et al. Plant growth promoting rhizobacteria in an ecological cropping system: A study on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil production. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 97-104, 2017.

VIEIRA, F. R.; DE ANDRADE, M. C. N. Optimization of substrate preparation for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation by studying different raw materials and substrate preparation conditions (composting: phases I and II). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.32, n.11, e. 190, 2016.

WANNISSORN, B. et al. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 76, n. 2, p. 233-236, 2005.

WANZENBÖCK, E. et al. Wheat bran biodegradation by edible *Pleurotus* fungi—A sustainable perspective for food and feed. **LWT-Food Science and Technology**, v. 86, p. 123-131, 2017.

ZHONG, C. et al. Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in rice grown under different nitrogen levels. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, e. 1079, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresenta informações relevantes sobre o potencial de utilização de resíduos agroindustriais das culturas do sisal, dendê e cacau para o cultivo do cogumelo comestível *P. ostreatus* e a utilização do substrato pós-cultivo (SPC) na agricultura. Os resultados da produção das diferentes linhagens de *P. ostreatus*, utilizando como substrato os resíduos de sisal e dendê, suplementado com tegumento da amêndoa do cacau (TAC), demonstraram redução do ciclo de cultivo, aumento da eficiência biológica e do rendimento, melhorias nas características nutricionais, com a presença de macro e micronutrientes e todos os aminoácidos essenciais, e aumento da atividade antioxidante dos cogumelos produzidos. Adicionalmente, o SPC de *P. ostreatus* gerado como subproduto do cultivo do cogumelo ostra foi utilizado na adubação de plantas de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) e apresentou potencial para ser usado como fertilizante. A produção de *P. ostreatus* em substratos compostos por estes resíduos provou ser um processo biotecnológico que permite a valorização desses resíduos com a produção de um alimento nutritivo e com propriedades medicinais, podendo gerar renda e emprego para as populações das regiões produtoras dessas culturas, ainda com o uso dos seus resíduos. Este processo também pode evitar o seu acúmulo de resíduos no meio ambiente e a utilização do resíduo pós-cultivo na agricultura atendendo aos requisitos da economia circular. Portanto, a tecnologia desenvolvida para o cultivo de cogumelo ostra em resíduos agrícolas da região sul e do semiárido da Bahia poderá proporcionar benefícios econômicos, ambientais e sociais, com geração de renda e melhoria da qualidade de vida do produtor rural, com o melhor aproveitamento dos recursos naturais.