

CAPÍTULO 8

AVALIAÇÃO DO CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* (SHIMEJI PRETO) EM VÁRIOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Márlia Campos e Barros
José Victor Ferreira Fernandes
Vitória Tereza Negrão de Albuquerque
Lucas Brendo Pimenta Bandeira
Andréa Farias de Almeida
Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes
Kristerson Reinaldo de Luna Freire
Adna Cristina Barbosa de Sousa

RESUMO

Pleurotus ostreatus (Shimeji Preto) tem atraído o interesse crescente de agricultores, não apenas pelas características sensoriais e nutricionais, mas principalmente por suas características de cultivo menos exigentes em relação a outras espécies. Dessa forma, surge uma busca por substratos alternativos capazes de baratear a produção e aumentar a produtividade do cultivo regional. Esse estudo teve como objetivo desenvolver uma padronização de protocolo de cultivo para a espécie em diferentes substratos alternativos, averiguar a influência da luz sobre o crescimento vegetativo e a produção no endocarpo do coco verde descartado como recipiente. A influência da luz foi avaliada a partir da inoculação do fungo em duas formulações: TL1 [Bagaço de malte (98%) + gesso agrícola (2%)] e TL2 [Milho de pipoca (100%)]. Os tratamentos foram mantidos no claro, escuro e fotoperíodo de 12h claro/12h escuro. O crescimento micelial foi avaliado durante 15 dias de cultivo. Para os ensaios de produção, os resíduos utilizados foram: coco verde descartado como recipiente, bagaço de malte, vagem de feijão verde sem o grão, fibra da cana-de-açúcar, borra do café e gesso agrícola como suplemento. Foram testadas 18 formulações e 6 foram selecionadas para os ensaios de produção baseado no vigor e densidade do micélio. Apenas a formulação TB15 [bagaço de vagem (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)] frutificou. Não foi constatada interferência da luz sobre o crescimento micelial de *P. ostreatus*. O tratamento TB15 se mostrou ideal para o cultivo do cogumelo, com Eficiência Biológica de 25 %, Rendimento de 110 %, Produtividade de 0,22 g/dia e Perda de Matéria Orgânica de 45 %. O endocarpo do coco verde reciclado se mostrou adequado como recipiente para produção. As demais formulações de substratos testadas se mostraram promissoras, mas necessitam de ajustes para que a produção seja considerada satisfatória.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos Agroindustriais. Cogumelos. Shimeji Preto. *Pleurotus ostreatus*.

1. INTRODUÇÃO

Pleurotus ostreatus é o segundo cogumelo comestível mais consumido, atrás de *Agaricus bisporus* e *Lentinula edodes*. O macrofungo *P. ostreatus* é de ocorrência cosmopolita e pode ser encontrado praticamente no mundo todo, inclusive nas matas brasileiras (ALFARO *et al.*, 2016). Este cogumelo vem atraindo o interesse crescente de agricultores por uma série de fatores, como alta habilidade de colonização, que favorece o seu desenvolvimento em substratos variados, além de permitir técnicas de cultivo mais simplificadas que as exigidas pelo “Champignon de Paris”, sendo menos exigente com relação ao controle ambiental nos sistemas de cultivo comercial (YOAV *et al.*, 2018). São ricos em proteínas, fibras, hidratos de



carbono, vitaminas, aminoácidos essenciais e não essenciais, além de minerais como cálcio, potássio, iodo e fósforo, representando uma ótima alternativa de nutrição. Os seus níveis de proteínas são maiores até do que os de alguns legumes e vegetais. No entanto, essa composição depende do tipo de substrato, das metodologias de cultivo e das espécies cultivadas (PISKOV *et al.*, 2020). O gênero *Pleurotus* cresce em uma ampla variedade de resíduos agroflorestais e agroindustriais, sem a necessidade de uma fermentação prévia do substrato, tais como serragem, papel, palhas de cereais, milho, bagaço de cana de açúcar, resíduo de café, folhas de bananeira, resíduo de agave, polpa de soja, entre outros (CORRÊA *et al.*, 2016).

A cultura de cogumelos comestíveis a partir de resíduos agroindustriais tem-se revelado uma alternativa para melhor aproveitamento desses resíduos, uma vez que ao final da cultura obtém-se, por um lado, um produto de elevado valor nutricional e gastronômico, e por outro lado, um resíduo com grande potencial de aplicação em ração animal, uma vez que já foi parcialmente digerido pelo complexo lignocelulolítico do fungo (WAI *et al.*, 2018). A produção de cogumelos apresenta-se, então, como uma alternativa econômica e ambiental ao aproveitamento de resíduos agroindustriais, representando um passo importante na redução da poluição do setor agroindustrial (DHARMARAJ *et al.*, 2014).

Além do tipo de composição do substrato, o teor de água, pH e mesmo as condições do ambiente como temperatura e luz, interferem no desenvolvimento e na eficiência do micélio em transformar o substrato em matéria orgânica comestível (GAMBATO *et al.*, 2016). A influência da luz no cultivo de cogumelos comestíveis, principalmente na frutificação é bastante discutida em meios não científicos, em especial entre produtores que, empiricamente utilizam a luz para estimular a frutificação em *Lentinula edodes*, porém, no caso de *Pleurotus* sp. não há relatos específicos na literatura científica sobre a influência da luz na frutificação.

Devido às propriedades nutricionais do cogumelo *P. ostreatus* e dos substratos selecionados para cultivo, é importante avaliar o desenvolvimento do micélio, frutificação e produção nas diferentes formulações dos substratos a partir de resíduos agroindustriais regionais, tais como: coco verde descartado como recipiente, bagaço de malte, vagem de feijão verde (*Phaseolus vulgaris*) sem o grão, fibra da cana-de-açúcar, borra do café e gesso agrícola como suplemento na formulação do meio de cultivo. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver uma padronização de um protocolo e condições de cultivo para *P. ostreatus* em diferentes substratos alternativos, visando transformar resíduos sólidos que seriam descartados num produto sustentável, econômico e saudável – o cogumelo.



2. MATERIAL E MÉTODO

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia Vegetal (L G M Biotec), Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus I*, João Pessoa, Paraíba.

2.1 Origem do Cogumelo

A matriz do Shimeji preto (*P. ostreatus*) foi isolada de corpos frutíferos comercializado na região metropolitana de João Pessoa/PB em 2022. Para obtenção do micélio foi realizada a Técnica de cultura de tecidos. O cogumelo foi cuidadosamente pré-lavado em água destilada e com um bisturi esterilizado em álcool 70 % previamente flambado, foi feito corte longitudinalmente na região do himênio interno e inoculado numa placa de Petri contendo meio sólido ágar-Sabouraud-dextrose 2 % com a seguinte composição: 5 g/L de peptona de carne, 20 g/L de glicose, 5 g/L de peptona de caseína e 15 g/L de ágar bacteriológico. Após o inóculo, a placa foi incubada por um período de 15 dias em temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Após crescimento do micélio, a colônia foi purificada, avaliada micro e macroscopicamente, e posteriormente mantida sob refrigeração a 4 °C em meio de manutenção ágar-Sabouraud-dextrose 2 %, conforme metodologia descrita por Furlan *et al.* (1997).

2.2 Exame macro e microscópico das estruturas vegetativas e reprodutivas

A metodologia utilizada baseou-se no trabalho de Lopes *et al.* (2008), adaptada para avaliação microscópica. Em uma placa de Petri contendo meio ágar-Sabouraud-dextrose 2 %, foram transferidos 4 discos do micélio e posteriormente cobertos por lamínulas previamente flambadas. A placa foi mantida a temperatura ambiente e as lamínulas com micélio aderido foram retiradas sucessivamente, no período de 48 – 72 – 96 – 120 h, colocadas invertidas sobre uma lâmina estéril, contendo uma gota de lactofenol e analisadas ao microscópio óptico. Para avaliação macroscópica o micélio de *P. ostreatus* foi inoculado no centro da placa de Petri contendo o meio de cultura ágar-Sabouraud-dextrose 2%. A placa foi mantida a temperatura ambiente e as observações foram feitas durante 15 dias para caracterização do aspecto macroscópico da colônia e comprovação da pureza e viabilidade da cultura.

2.3 ORIGENS DOS SUBSTRATOS

Foram utilizados os substratos descritos na Tabela 1.



Tabela 1: Origens dos substratos.

Substrato	Origem
Arroz com casca	Produto comercializado
Bagaço de malte	Laboratório de Tecnologia Cervejeira. CBIOTEC/UFPB (João Pessoa - PB)
Borra de café	Produto comercializado reciclado
Coco verde descartado	Barraca de coco da Região Metropolitana de João Pessoa
Bagaço da cana-de-açúcar	Barraca de caldo de cana da Região Metropolitana de João Pessoa
Gesso agrícola	Produto comercializado
Milho de pipoca	Produto comercializado
Vagem de feijão verde sem o grão	Feira livre da região metropolitana de João Pessoa

Fonte: Autoria própria (2022).

2.4 FORMULAÇÕES DOS SUBSTRATOS

As formulações dos substratos estão descritas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Formulações para análise da influência da luz em *Pleurotus ostreatus*.

Tratamentos	Formulações/Proporções dos substratos
TL1	Bagaço de malte (98%) + gesso agrícola (2%)
TL2	Milho de pipoca (100%)

Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 3: Formulações para fungicultura de *Pleurotus ostreatus*.

Tratamentos	Formulações/Proporções dos substratos
TBC - controle	Arroz (98 %) + gesso agrícola (2%)
TB1	Bagaço de malte (100%)
TB2	Bagaço de malte (98%) + gesso agrícola (2%)
TB3	Bagaço de malte (98%) + café (2%)
TB4	Bagaço de malte (96%) + café (2%) + gesso agrícola (2%)
TB5	Bagaço de malte (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)
TB6	Bagaço de malte (85%) + bagaço da cana-de-açúcar (15%)
TB7	Bagaço de malte (70%) + bagaço da cana-de-açúcar (30%)
TB8	Bagaço de malte (50%) + bagaço da cana-de-açúcar (50%)
TB9	Bagaço de malte (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%) + gesso agrícola (2%)
TB10	Bagaço de malte (85%) + bagaço da cana-de-açúcar (15%) + gesso agrícola (2%)
TB11	Bagaço de malte (70%) + bagaço da cana-de-açúcar (30%) + gesso agrícola (2%)
TB12	Bagaço de malte (50%) + bagaço da cana-de-açúcar (50%) + gesso agrícola (2%)
TB13	Vagem (100%)
TB14	Vagem (50%) + Bagaço de malte (50%)
TB15	Vagem (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)
TB16	Vagem (85%) + bagaço da cana-de-açúcar (15%)
TB17	Vagem (70%) + bagaço da cana-de-açúcar (30%)
TB18	Vagem (50%) + bagaço da cana-de-açúcar (50%)

Fonte: Autoria própria (2022).



2.5 PROCESSAMENTO DOS SUBSTRATOS

Todos os substratos foram tratados independentes e em seguida misturados para as diferentes formulações. Arroz com casca (*Oryza sativa* L.): o grão foi lavado com água corrente para retirar o excesso do amido, pré-cozido com água destilada e gesso agrícola durante 8 min em micro-ondas, potência alta e em seguida autoclavado a 121 °C por 60 minutos (Metodologia adaptada de SALAMI *et al.*, 2016). Bagaço de malte (*Hordeum vulgare* L.): esse resíduo foi oriundo do processamento da cerveja e devido à umidade alta (80 %) não passou por nenhum pre-tratamento. Após coleta foi acondicionado em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração a 4 °C. Vagem do feijão verde sem grão (*Phaseolus vulgaris* L.): após coleta, as vagens do feijão verde foram colocadas em estufa de secagem com circulação de ar por um período de 72 h a 60 ± 5 °C. Após secagem, elas foram submersas em água corrente por 24 h. Em seguida, a água foi escoada e as vagens foram deixadas numa plataforma sólida para secar externamente, por aproximadamente 2 h em temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Após isso, a vagem foi triturada em moinho de facas e em seguida acondicionada em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração a 4 °C (ZANETTI; RANAL, 1997). Milho de pipoca (*Zea mays* var. *evarta*): o grão foi cozido em fogo alto em uma panela de pressão por 90 minutos. Após a cocção, o extrato proveniente do cozimento foi drenado e o grão foi deixado em temperatura ambiente (28 ± 2 °C) para secar externamente por aproximadamente 60 minutos. Em seguida acondicionado em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração a 4 °C (BONATTI *et al.*, 2004). Bagaço da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.): esse resíduo não passou por nenhum tratamento específico, apenas foi cortado, com o auxílio de uma tesoura, em pedaços que variavam dos 2 a 5 cm de comprimento e em seguida acondicionado em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração a 4 °C. Borra do café (*Coffea* spp.): esse resíduo foi obtido do café coado (marca comercial) sem adição de açúcar. Não passou por nenhum pré-tratamento, apenas foi acondicionado em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração a 4 °C. Gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O): foi utilizado seguindo as recomendações do fabricante sem passar por nenhum processo de diluição. Além de reter umidade, o sulfato de cálcio fornece Ca e S e é absorvido pelos grãos e então utilizado pelo micélio do cogumelo. Coco verde descartado (*Cocos nucifera* L.): o coco verde foi aberto ao meio, lavado com água corrente, retirado a polpa e autoclavado a 121° C por 30 minutos e em seguida mantido sob refrigeração a 4 °C até o momento do uso. O endocarpo foi utilizado como recipiente para produção do Shimeji preto (ALBUQUERQUE; SOUSA, 2021).



2.6 PRODUÇÃO DO SPAWN

O inóculo ou “*spawn*” foi preparado em meio ágar-Sabouraud-dextrose 2 % em placa de Petri. Foi inoculada com três discos do micélio (05 ± 1 mm de diâmetro) e incubada a $28^\circ \pm 2^\circ \text{C}$, na ausência de luz até a colonização completa da superfície. Após crescimento, discos de micélio (10 ± 1 mm de diâmetro) foi inoculado nos diferentes substratos/tratamentos.

2.7 TESTE DA INFLUÊNCIA DA LUZ NA CORRIDA MICELIAL

Foram utilizados os tratamentos TL1 [Bagaço de malte (98%) + gesso agrícola (2%)] e TL2 [Milho de pipoca (100%)]. O experimento foi realizado em tubos de ensaio (2,5 x 20 cm). Após inoculação, os tubos foram mantidos na presença da luz intermitente, no escuro intermitente e fotoperíodo 12 h claro/12 h escuro em temperatura ambiente. O experimento foi realizado em triplicata e avaliado durante 15 dias. A medição foi realizada longitudinalmente com uma régua milimetrada (cm).

2.8 TESTE PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR E DENSIDADE MICELIAL

Os materiais foram pesados, misturados e a umidade final foi corrigida para 70 %. Em seguida os materiais foram acondicionados em tubos de ensaio (2,5 x 20 cm) e vedados com algodão, sendo posteriormente autoclavados a 121°C por 15 minutos. Após a etapa de esterilização, foi realizada a inoculação com discos de micélio com 10 mm. Em seguida, os tubos foram incubados no escuro em temperatura ambiente. As avaliações foram feitas durante 15 dias para determinação do tempo de corrida micelial, densidade e vigor de todos os tratamentos. Os melhores tratamentos/formulações foram selecionados para o ensaio de produção no coco verde reciclado.

2.9 ENSAIOS DE PRODUÇÃO

A partir da caracterização da corrida micelial, densidade e vigor os tratamentos foram reproduzidos no coco verde reciclado. 100 g do substrato/tratamento foram acondicionados no mesocarpo do coco verde e em seguida o coco contendo o substrato foi colocado dentro de sacos, vedados e autoclavados a 121°C por 30 minutos. Após a etapa de esterilização, foi realizada a inoculação com discos de micélio com 10 mm. Em seguida, os cocos foram incubados no escuro em temperatura ambiente por 15 dias e em seguida aberto para frutificação.

3. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS PRODUTIVOS

Foram avaliados o rendimento, eficiência biológica, perda da matéria orgânica e produtividade.



3.1 Rendimento

Para determinação do rendimento (R%) do processo, foi utilizado a relação proposta por Chang *et al.* (1981), que relaciona a massa úmida dos corpos frutíferos e a massa do substrato seco (Equação 1).

$$R(\%) = \frac{(\text{Massa úmida dos corpos frutíferos} \times 100)}{\text{Massa de substrato seco}}$$

Eq.1

3.2 Eficiência Biológica

A eficiência biológica (EB%) do processo foi determinada pela relação proposta por Bisaria *et al.* (1987), entre a massa dos corpos frutíferos secos e a massa de substrato seco (Equação 2).

$$EB(\%) = \frac{(\text{Massa de corpos frutíferos secos} \times 100)}{\text{Massa de substrato seco}}$$

Eq.2

3.3 Produtividade

A produtividade (g/dia) do processo foi determinada segundo Holtz (2008). Consiste na relação entre a massa dos corpos frutíferos secos e o tempo total do cultivo (tempo desde a inoculação até o fluxo produtivo) (Equação 3).

$$Pr = \frac{\text{Massa de corpos frutíferos secos}}{\text{Tempo de cultivo}}$$

Eq.3

3.4 Perda da matéria orgânica (PMO)

Índice que avalia a decomposição do substrato pelo fungo. Tal índice é baseado na perda da matéria orgânica decomposta pelo fungo que é determinado por meio da diferença entre a massa seca do substrato inicial e a massa seca do substrato residual. A PMO será avaliada conforme Sturion (1994) (Equação 4).

$$PMO = \frac{(\text{Massa seca de substrato inicial} - \text{Massa seca de substrato residual}) \times 100}{\text{Massa seca de substrato inicial}}$$

Eq.4



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise Macro e Microscópica de *Pleurotus Ostreatus*

A colônia de *P. ostreatus* em meio ágar-Sabouraud-dextrose apresentou micélio primário de aspecto algodinoso e esbranquiçado na frente da colônia (Figura 1A). A coloração branca e a textura algodonosa do micélio de *P. ostreatus* também foram previamente relatadas por Acosta-Urdapilleta *et al.* (2016) em ensaios com placas de Petri contendo diferentes meios.

Figura 1: Aspectos morfológicos do micélio primário de *Pleurotus ostreatus*. A) Cultura pura em placa de Petri contendo meio ágar-Sabouraud-dextrose 2 %, com 15 dias de crescimento após inoculação. B) Micrografia evidenciando um grampo de conexão (1) e anastomose (2).

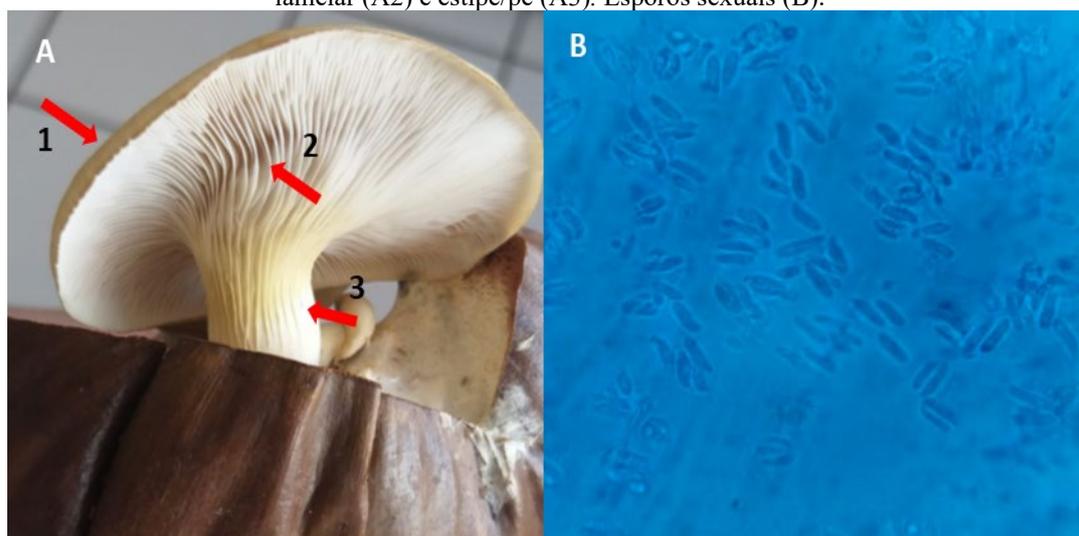


Fonte: Autoria própria (2022).

A análise citológica evidenciaram hifas hialinas, septadas, bem como diversas anastomoses, estruturas que proporcionam a migração dos núcleos entre os micélios, originando hifas dicarióticas, identificadas pelos grampos de conexão (Figura 1B). Em um meio de cultura apropriado, esse dicário forma o corpo de frutificação pelo acúmulo de hifas, resultando numa estrutura macroscópica, o basidioma (cogumelo). Na parte inferior estão dispostas as lamelas (Figura 2A) e no seu interior estão localizados os basídios, onde ocorre a meiose. Cada basídio produz quatro basidiósporos que são esporos sexuais de formato sub-cilíndricos e lisos (Figura 2B). Essas estruturas são características do gênero *Pleurotus* e também foram relatadas em *P. ostreatus* var. *florida* nessas mesmas condições (ALBUQUERQUE; SOUSA, 2021).



Figura 2: Corpo de frutificação de *Pleurotus ostreatus* evidenciando auréola/chapéu (A1), himênio do tipo lamelar (A2) e estipe/pé (A3). Esporos sexuais (B).

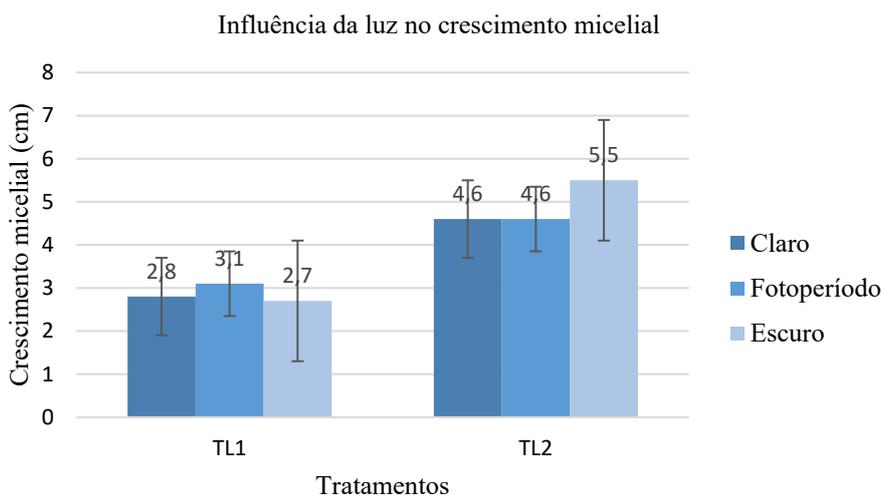


Fonte: Autoria própria (2022).

4.2 Influência Da Luz Na Corrida Micelial De *Pleurotus Ostreatus*

A corrida micelial nas condições claro intermitente, escuro intermitente e fotoperíodo 12 h claro/12 h escuro estão compilados na Figura 3. No claro os tratamentos TL1 e TL2 apresentaram um crescimento longitudinal médio de 2,8 e 4,6, respectivamente. No escuro 2,7 e 5,5 para os tratamentos TL1 e TL2, respectivamente. Já no fotoperíodo o crescimento foi de 3,1 e 4,6 para TL1 e TL2, respectivamente. As medições foram feitas no nono dia, quando o micélio atingiu o fundo do tubo de ensaio.

Figura 3: Variação da corrida micelial de *Pleurotus ostreatus* sob a influência da luz.



Fonte: Autoria própria (2022).

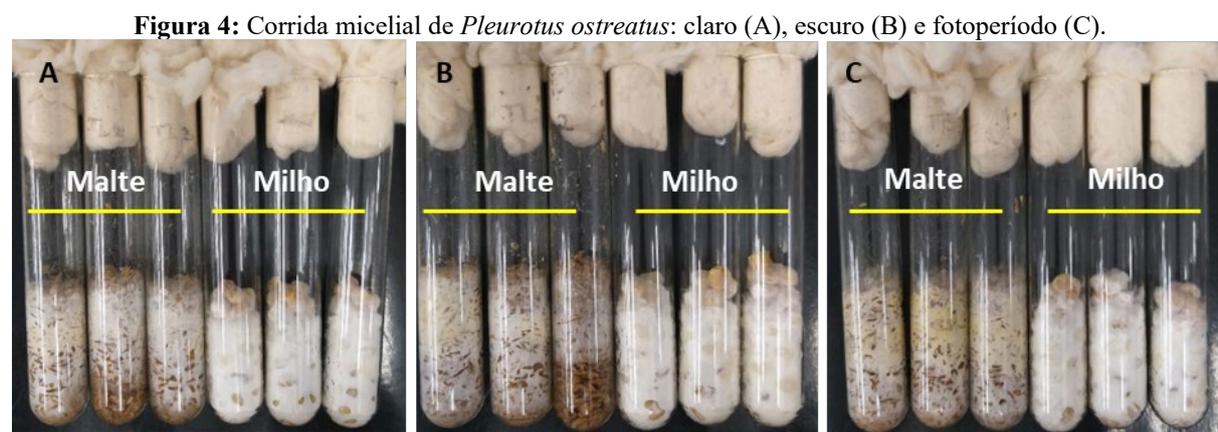
O fungo apresentou médias de crescimento sempre maiores na formulação TL2 (milho de pipoca 100%) em relação à formulação TL1 (Bagaço de malte 98% + gesso agrícola 2%),



independente das condições de iluminação. Essa diferença de valores pode estar relacionada com maior disponibilidade de nutrientes nos grãos de milho, por terem sido utilizados grãos íntegros, ao invés de resíduos do material, como é o caso do bagaço de malte. O bagaço de malte é gerado após a etapa de mostura e esgotamento dos grãos de malte moídos, quando já foram extraídos todos os compostos solúveis de interesse para constituição do mosto doce e sua clarificação, durante a qual o bagaço exerce importante papel como torta filtrante (MATHIAS; MELLO; SERVULO, 2014).

A sobrevivência e a multiplicação dos cogumelos estão relacionadas a fatores, além da luminosidade, que podem atuar individualmente ou ter efeitos interativos entre eles. A composição química, a atividade da água, a proporção de carbono para nitrogênio, minerais, surfactante, pH, umidade, temperatura, fontes de nitrogênio, tamanho de partícula e composição do ar do substrato circundante, quantidade de inóculo, agentes antimicrobianos e a presença de interações entre microrganismos são considerados fatores químicos, físicos e biológicos que estão ligados à produção de cogumelos (BELLETTINI *et al.*, 2016).

Tratando-se da mesma espécie em todos os ensaios, a pequena variação das médias de crescimento nas diferentes condições de iluminação em cada substrato pode estar relacionada a esses outros fatores relevantes no cultivo, já que não se pôde observar nenhum padrão conclusivo relacionado apenas às condições de iluminação sobre o crescimento vegetativo. Apesar das diferentes médias de crescimento, o micélio apresentou vigor semelhante para todas formulações/substratos, independente da condição de iluminação utilizada no cultivo (Figura 4).



Malte - TL1 [Bagaço de malte (98 %) + gesso agrícola (2 %)] e Milho - TL2 [Milho de pipoca (100 %)].

Fonte: Autoria própria (2022).

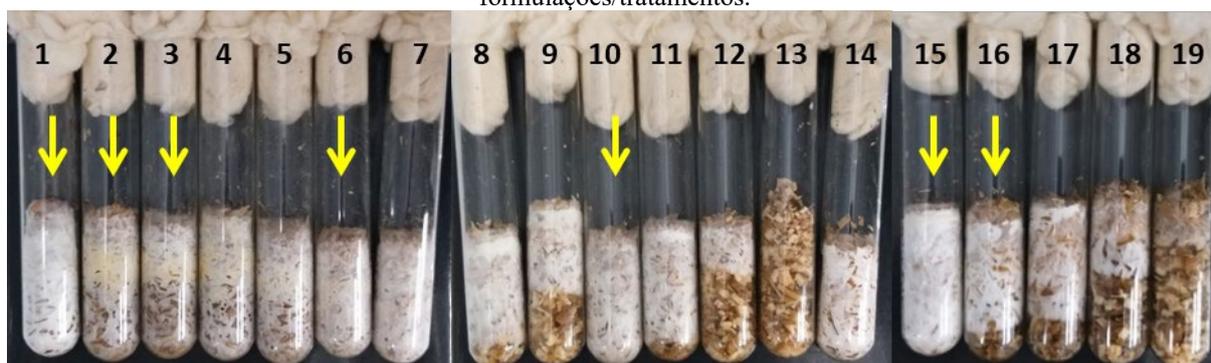


4.3 Avaliação Do Vigor E Densidade Micelial De *Pleurotus Ostreatus* Nas Diferentes Formulações/Substratos

Os tubos contendo as diferentes formulações e avaliados durante 15 dias na ausência da luz estão dispostos na Figura 5. A avaliação qualitativa do vigor e densidade micelial foi classificada em três categorias: micélio forte (alta densidade, compacto e vigor acentuado); micélio mediano (média densidade, pouco compacto e menor vigor) e micélio escasso (baixa densidade, escassos e sem vigor), como mostrado na Figura 6.

Dentro desses parâmetros, os tratamentos TB1 (100% malte), TB2 (98% bagaço de malte + 2% gesso agrícola), TB5 (95% bagaço de malte + 5% bagaço da cana-de-açúcar), TB9 (95% bagaço de malte + 5% bagaço da cana-de-açúcar + gesso agrícola 2%), TB14 (50% vagem + 50% malte) e TB15 (95% vagem + 5% bagaço da cana-de-açúcar) evidenciaram vigor e densidade fortes. Essas condições demonstram potencial para a formação de corpos de frutificação.

Figura 5: Avaliação do vigor e densidade micelial de *Pleurotus ostreatus* nas diferentes formulações/tratamentos.



1 – TBC controle [Arroz (98 %) + gesso agrícola (2%)], 2 - TB1 [Bagaço de malte (100%)], 3 - TB2 [Bagaço de malte (98%) + gesso agrícola (2%)], 4 - TB3 [Bagaço de malte (98%) + café (2%)], 5 - TB4 [Bagaço de malte (96%) + café (2%) + gesso agrícola (2%)], 6 - TB5 [Bagaço de malte (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)], 7 - TB6 [Bagaço de malte (85%) + bagaço da cana-de-açúcar (15%)], 8 - TB7 [Bagaço de malte (70%) + bagaço da cana-de-açúcar (30%)], 9 - TB8 [Bagaço de malte (50%) + bagaço da cana-de-açúcar (50%)], 10 - TB9 [Bagaço de malte (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%) + gesso agrícola (2%)], 11 - TB10 [Bagaço de malte (85%) + bagaço da cana-de-açúcar (15%) + gesso agrícola (2%)], 12 - TB11 [Bagaço de malte (70%) + bagaço da cana-de-açúcar (30%) + gesso agrícola (2%)], 13 - TB12 [Bagaço de malte (50%) + bagaço da cana-de-açúcar (50%) + gesso agrícola (2%)], 14 - TB13 [Vagem (100%)], 15 - TB14 [Vagem (50%) + Bagaço de malte (50%)], 16 - TB15 [Vagem (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)], 17 - TB16 [Vagem (85%) + bagaço da cana-de-açúcar (15%)], 18 - TB17 [Vagem (70%) + bagaço da cana-de-açúcar (30%)] e 19 - TB18 [Vagem (50%) + bagaço da cana-de-açúcar (50%)]. As setas amarelas indicam os tratamentos selecionados para o ensaio de produção.

Fonte: Autoria própria (2022).



Figura 6: Classificação do vigor e densidade micelial de *Pleurotus ostreatus*.



1 - Micélio forte, 2 - Micélio mediano e 3 - Micélio escasso.

Fonte: Aatoria própria (2022).

Os tratamentos TB1, TB2, TB5 e TB9 são formulações que contém o bagaço do malte, material predominantemente fibroso (70 % massa seca), e proteico (15 a 25 % massa seca), apresentando também em sua composição lipídios, minerais, vitaminas, aminoácidos e compostos fenólicos (MULLER *et al.*, 2017); e o bagaço da cana-de-açúcar, substratos que é constituído basicamente de material lignocelulósico, tendo como componentes principais celulose, fibras e ligninas e apresenta em sua constituição açúcares, principalmente na forma de sacarose e fibras, que são os principais componentes da cana-de-açúcar. O bagaço é composto de aproximadamente 50 % de celulose, 25 % de hemicelulose e 25 % de lignina (OLIVEIRA, 2018). Devido a tais características de composição, essa formulação de substratos demonstrou potencial para ser utilizado no desenvolvimento do cogumelo *P. ostreatus*.

O vigor observado nos tratamentos TB14 e TB15, compostos por vagem de feijão verde com bagaço de malte e vagem de feijão verde com bagaço de cana-de-açúcar, está em concordância com os resultados obtidos para outra espécie do gênero *Pleurotus*. Rettore *et al.* (2011) afirmaram que não há necessidade de suplementação da palha de feijão, ela se mostrou um excelente substrato para o cultivo do *Pleurotus sajor-caju* em regiões onde a cultura do feijoeiro é abundante; ainda, os autores descreveram esse resíduo como uma importante fonte de enriquecimento para outros resíduos agrícolas, principalmente quando se utilizam resíduos com uma relação C/N muito elevada.

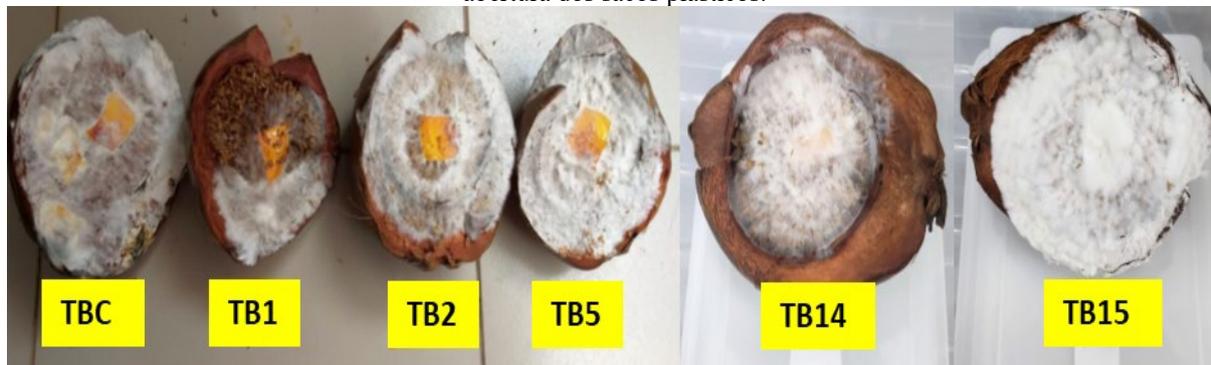
4.4 Parâmetros Produtivos

As formulações selecionadas para serem reproduzidas no ensaio com coco verde reciclado foram: TBC (controle), TB1, TB2, TB5, TB9, TB14 e TB15. Esses tratamentos apresentaram maior vigor, alta densidade e também uma média de crescimento adequada demonstrando potencial para frutificação/formação do basidioma. Dentre esses tratamentos,



apenas o TB1 e TB9 não apresentaram crescimento satisfatórios nos cocos durante 15 dias no escuro, período de incubação para o desenvolvimento vegetativo (Figura 7).

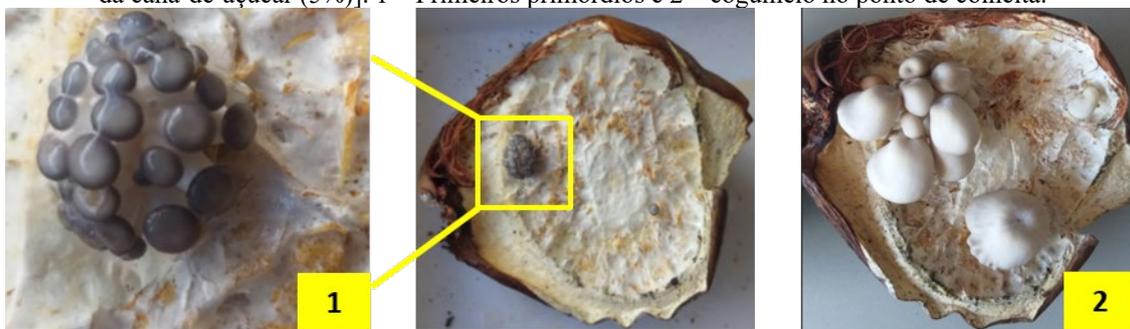
Figura 7: Colonização de *Pleurotus ostreatus* no coco verde reciclado, após 15 dias de inoculação. Momento da abertura dos sacos plásticos.



Fonte: A autoria própria (2022).

Após abertura dos sacos, os cocos foram deixados em temperatura ambiente com fotoperíodo de 12 h claro e 12 h escuro para frutificação. O tratamento TB15 foi o único que formou primórdios, 5 dias após a abertura dos sacos. Três dias após formação dos primórdios, os cogumelos estavam prontos para serem colhidos (Figura 8). Sendo assim, o ciclo de produção total neste novo substrato foi de 23 dias, sendo 15 dias para o crescimento vegetativo e 8 dias para formação dos cogumelos.

Figura 8: Produção de *Pleurotus ostreatus* no coco verde reciclado. Tratamento TB15 [Vagem (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)]. 1 – Primeiros primórdios e 2 – cogumelo no ponto de colheita.



Fonte: A autoria própria (2022).

A partir da produção do corpo de frutificação no substrato, foi obtido um peso total de 22 g de cogumelo, gerando Rendimento de 110 %, Eficiência Biológica (EB) de 25 %, Produtividade de 0,22 g/dia e Perda de Matéria Orgânica (PMO) de 45 % (Tabela 4).



Tabela 4: Parâmetros Produtivos do cultivo de *Pleurotus ostreatus* no tratamento TB15 [vagem (95%) + bagaço da cana-de-açúcar (5%)].

Parâmetro	Valores
Eficiência Biológica (%)	25
Rendimento (%)	110
Produtividade (g/dia)	0,22
Perda de Matéria Orgânica (%)	45

Fonte: Autoria própria (2022).

Diversos autores utilizaram a Eficiência Biológica (EB) como parâmetro de análise da adequação do substrato como meio de cultivo para as espécies estudadas. Quanto maiores os valores de EB, maior a adequação do substrato para o cultivo da espécie (CUEVA; HERNÁNDEZ; NIÑO-RUIZ, 2017; CARVALHO *et al.*, 2021). Uma EB de 25% é considerada satisfatória.

Parâmetros como o Rendimento e a Produtividade também são parâmetros importantes para avaliar se as condições de cultivo são viáveis no contexto de comercialização e geração de valor agregado. O R e EB obtidos neste trabalho foram superiores aos maiores valores encontrados por Albuquerque e Sousa (2021) para a espécie *Pleurotus ostreatus* var. *florida* no substrato composto por malte, café e gesso agrícola, cujo Rendimento foi de 103% e EB foi de 19,6%. Já a produtividade neste trabalho foi menor perante os 0,40 g/dia obtidos, indicando que o tempo para o cultivo neste trabalho foi mais demorado.

O tratamento TB15 deste trabalho também apresentou um valor satisfatório de PMO para *P. ostreatus*, superando os valores obtidos para *P. ostreatus* var. *florida* nos resíduos agroindustriais testados por Paiva *et al.* (2021). Isso é um indicativo de que essa formulação de substrato é mais rica em nutrientes disponíveis para a decomposição pelo fungo. Nitrogênio, minerais e vitaminas influenciam no crescimento micelial, e os carboidratos aumentam a velocidade de colonização e degradação do substrato resultando em menor tempo de frutificação e maior PMO. Porém, a perda de matéria orgânica também pode ser decorrente da perda de CO₂ e H₂O durante o metabolismo dos microrganismos e não somente pela remoção de materiais para formação do basidiomas (PAIVA *et al.*, 2021).

Os demais tratamentos, nos quais não foi possível a frutificação, não proporcionaram as concentrações ideais de nutrientes para o cultivo de cogumelos. Isso não significa que os resíduos utilizados não podem ser adequados ao cultivo de *P. ostreatus*, mas indicam que outros testes, com formulações diferentes dos mesmos resíduos, podendo ser suplementados ou não, devem ser aplicados, além de ajustes nas demais condições que influenciam o crescimento do cogumelo.



5. CONCLUSÕES

A presença da luz não interferiu no crescimento micelial de *P. ostreatus*, de acordo com os parâmetros testados. Outros fatores químicos, físicos e biológicos também devem ser investigados para a obtenção de resultados conclusivos sobre as condições ideais de cultivo da espécie.

Dentre todas as formulações testadas, o tratamento TB15 (95% bagaço de vagem + 5% bagaço da cana-de-açúcar) se mostrou ideal para o cultivo do cogumelo, transformando um subproduto em um produto de valor agregado;

Constatou-se o mesocarpo do coco verde reciclado como sendo um recipiente adequado para produção de *P. ostreatus*;

As demais formulações de substratos a partir dos resíduos agroindustriais testadas para a adaptação da fungicultura de *P. ostreatus* ao cenário paraibano se mostraram promissoras, porém não proporcionaram crescimento satisfatório para que houvesse a frutificação dos cogumelos na maioria dos tratamentos. Sendo assim, são necessários ajustes nesse protocolo de cultivo, que devem ser baseados em mais estudos sobre o tema abordado neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica a Márlia Campos e Barros.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-URDAPILLETA, M. L. *et al.* Characterization of five species of *Pleurotus* grown in four culture media. **Mexican Journal of Biotechnology**, v. 1, p. 1-11, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/312686569_Characterization_of_five_species_of_Pleurotus_grown_in_four_culture_media_Characterizacion_de_cinco_especies_de_Pleurotus_crecidas_en_cuatro_medios_de_cultivo_SHORT_COMMUNICATION. Data do acesso: 11-2022.

ALFARO, M. *et al.* Comparative and transcriptional analysis of the predicted secretome in the lignocellulose-degrading basidiomycete fungus *Pleurotus ostreatus*. **Environ. Microbiol.** v. 18, p. 4710–4726, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27117896/>. Data do acesso: 09-2022.



ALBUQUERQUE, V.; SOUSA, A. C. B. **Fungicultura do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* var. *florida***. 1.ed. Editoria Novas Edições Acadêmicas, p. 69, 2021. Disponível em: <https://www.amazon.com/FUNGICULTURA-COGUMELO-COMEST%C3%8DVVEL-Pleurotus-ostreatus/dp/6204192159>. Data do acesso: 06-2022.

BELLETTINI, M. B. *et al.* Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, p. 636-646, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31048986/>. Data do acesso: 11-2022.

BISARIA, R.; MADAN, M.; BISARIA, V. S. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. **Biological Wastes**, v. 19, p. 239-255, 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0269748387900589>. Data do acesso: 10-2021.

BONATTI, M. *et al.* Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chem.**, v.88, p. 425-428, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/222200822_Evaluation_of_Pleurotus_ostreatus_and_Pleurotus_sajor-caju_nutritional_characteristics_when_cultivated_in_different_lignocellulosic_wastes. Data do acesso: 02-2021.

CARVALHO, P. I. A. *et al.* Resíduos agroindustriais como substrato para cultivo indoor de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.9, p. 330-339, 2021. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/article/view/11873>. Data do acesso: 04-2022.

CHANG, S. T.; LAU, O. W.; CHO, K. Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. **European Journal Microbiology Biotechnology**, v.12, p. 58-62, 1981. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-cultivation-and-nutritional-value-of-Pleurotus-Chang-Lau/7d8499b422cb99e8427e248df98e9d523e03de6b>. Data do acesso: 02-2022.

CORRÊA, R. C. G. *et al.* Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushrooms) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. **Trends Food Sci Technol**, v. 50, p. 103-117, 2016. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/13346>. Data do acesso: 11-2022.

CUEVA, M.B.R.; HERNÁNDEZ, A.; NIÑO-RUIZ, Z. Influence of C/N ratio on productivity and the protein contents of *Pleurotus ostreatus* grown in different residue mixtures. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 49, p. 331-344, 2017. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/3828/382853527023.pdf>. Data do acesso: 12-2022.

DHARMARAJ, K.; KUBERAN, T.; MAHALAKSHMI, R. Comparison of nutrient contents and antimicrobial properties of *Pleurotus djamor*, *Agaricus bisporus* and *Ganoderma tsugae*. **Int. J. Cur. Microbiol. App. Sci**, v. 3, p. 518-526, 2014. Disponível em: <https://www.ijcmas.com/vol-3-6/K.Dharmaraj,%20et%20al.pdf>. Data do acesso: 01-2022.



FURLAN, S. A. *et al.* Mushroom strains able to grow at high temperatures and low pH values. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 689-692, 1997. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/226748637_Mushroom_strains_able_to_grow_at_high_temperatures_and_low_pH_values. Data do acesso: 11-2021.

GAMBATO, G. *et al.* Evaluation of productivity and antioxidante profile of solid-state cultivated macrofungi *Pleurotus albidus* and *Pycnoporus sanguineus*. **Bioresour. Technol.**, v. 207, p. 46-51, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26868155/>. Data do acesso: 08-2021.

HOLTZ, M. Utilização de resíduos de algodão da indústria têxtil para a produção de corpos frutíferos de *Pleurotus ostreatus* DSM 1833. **Revista de Ciências Ambientais**, v.3, p. 37-51, 2009. Disponível em: https://revistas.unilasalle.edu.br/documentos/Rbca/V3_N1/03_Marcos_Holtz.pdf. Data do acesso: 11-2022.

LOPES, R. S. *et al.* Aspectos morfológicos de *Paecilomyces farinosus* (HOLM EX S. F. GRAY) BROWN and SMITH sobre infecção em *Coptotermes gestroi* (WASMANN) (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE). **Biológico**, v. 70, p. 29-33, 2008. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70_1/lopes.pdf. Data do acesso: 04-2022.

MATHIAS, T. R. S.; MELLO, P. P. M.; SERVULO, E. F. C. **Caracterização de resíduos cervejeiros**. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química XX. Florianópolis/SC, 2014. Disponível em: <https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/caracterizacao-de-resduos-cervejeiros-17098>. Data do acesso: 07-2022.

MULLER, C.; MARCUSSO, E. Anuário da Cerveja no Brasil: O ministério da agricultura informando e esclarecendo. **Ministério da Agricultura**, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pastapublicacoes-DIPOV/a-cerveja-no-brasil-28-08.pdf>. Data do acesso: 11-2022.

OLIVEIRA, O. C. **Avaliação de fibras de bagaço de cana-de-açúcar in natura e modificada para aplicação em compósitos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Ciência dos Materiais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 115 pp, 2018.

PAIVA, G. A. *et al.* Produção de cogumelos comestíveis em resíduos agroindustriais na Amazônia mato-grossense. **Research, Society and Development**, v. 10, p. 01-10, 2021. Disponível em: [file:///C:/Users/Adna/Downloads/22523-Article-270256-1-10-20211113%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Adna/Downloads/22523-Article-270256-1-10-20211113%20(1).pdf). Data do acesso: 10-2022.

PISKOV, S. *et al.* Effects of various drying methods on some physico-chemical properties and the antioxidant profile and ACE inhibition activity of oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). **Foods**, v. 9, p. 160, 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074390/>. Data do acesso: 06-2022.

RETTORE, V.; GIOVANNI, R. N.; PAZ, M. F. Influência da luz na produção do cogumelo hiboukitake em bagaço de uva. **Evidência**, v. 11 n. 2, p. 29-36, 2011. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/evidencia/article/view/1742/pdf>. Data do acesso: 10-2022.

SALAMI, A. O.; BANKOLE F. A.; OLAWOLE, I. O. Effect of different substrates on the growth and protein content of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* var. *florida*). **Int. J. Biol.**



Chem. Sci. v. 10, p. 475-485, 2016. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/view/143692>. Data do acesso: 09-2022.

STURION, G. L. **The banana leaf plant utilization as substrate for edible mushrooms cultivation (*Pleurotus* spp.)** (Dissertação de Mestrado) ESALQ/ USP, Piracicaba, 147 pp., 1994.

ZANETTI, A. L.; RANAL, M. A. Suplementação da cana-de-açúcar com guandu no cultivo de *Pleurotus* sp. *florida*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, p. 959-964, 1997.

WAI, L. N. *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. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/321850093_Production_of_bio-fertilizer_from_microwave_vacuum_pyrolysis_of_palm_kernel_shell_for_cultivation_of_Oyster_mushroom_Pleurotus_ostreatus. Data do acesso: 09-2021.

YOAV, S. *et al.* Effects of cre1 modification in the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* PC9: Altering substrate preference during biological pretreatment. **Biotechnol. Biofuels**, v. 11, p. 212, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30065786/>. Data do acesso: 06-2022.