

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA E VIABILIDADE DO  
SUBSTRATO EXAURIDO DE COGUMELO EM CICLOS  
SUBSEQUENTES DE *Pleurotus ostreatus* E *Lentinula  
edodes***

**Wagner Gonçalves Vieira Júnior**  
Engenheiro Agrônomo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA E VIABILIDADE DO  
SUBSTRATO EXAURIDO DE COGUMELO EM CICLOS  
SUBSEQUENTES DE *Pleurotus ostreatus* E *Lentinula  
edodes***

**Discente: Wagner Gonçalves Vieira Júnior**

**Orientador: Prof. Dr. Diego Cunha Zied**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Microbiologia Agropecuária.

**2025**

V658a

Vieira Júnior, Wagner Gonçalves

Avaliação da eficiência e viabilidade do substrato exaurido de cogumelo em ciclos subsequentes de *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes* / Wagner Gonçalves Vieira Júnior. -- Jaboticabal, 2025

108 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Diego Cunha Zied

1. Microbiologia Agrícola. 2. Fungos na agricultura. 3. Cogumelos comestíveis. 4. Cogumelos cultivo. 5. Reciclagem de resíduos. I. Título.


## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA E VIABILIDADE DO SUBSTRATO EXAURIDO DE COGUMELO EM CICLOS SUBSEQUENTES DE *Pleurotus ostreatus* E *Lentinula edodes*


**AUTOR: WAGNER GONÇALVES VIEIRA JÚNIOR**

**ORIENTADOR: DIEGO CUNHA ZIED**


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 **DIEGO CUNHA ZIED**  
Data: 07/04/2025 08:45:33-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. DIEGO CUNHA ZIED (Participação Virtual)  
Departamento de Produção Vegetal / FCAT UNESP Dracena

Documento assinado digitalmente  
 **EUSTAQUIO SOUZA DIAS**  
Data: 07/04/2025 10:18:14-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EUSTÁQUIO SOUZA DIAS (Participação Virtual)  
Departamento de Microbiologia Agrícola / Universidade Federal de Lavras (UFLA) - Lavras/MG

Documento assinado digitalmente  
 **ELIANA GERTRUDES DE MACEDO LEMOS**  
Data: 22/04/2025 10:26:02-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ELIANA GERTRUDES DE MACEDO LEMOS (Participação Virtual)  
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente  
 **JAIR PUTZKE**  
Data: 10/04/2025 08:32:34-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. JAIR PUTZKE (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia / Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - São Gabriel/RS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ROSE MARIA DUDA  
Data: 22/04/2025 15:19:46-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. ROSE MARIA DUDA (Participação Virtual)  
Produção de Biogás, Tratamento de Águas Residuárias / FATEC - Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 04 de abril de 2025

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

O autor, Wagner Gonçalves Vieira Júnior, é filho de Wagner Gonçalves Vieira e de Durcilene Bernardo de Oliveira Vieira e nasceu em 21 de dezembro de 1995, na cidade de Goianésia, estado de Goiás. Graduiu-se em dezembro de 2018 no curso de Agronomia pela Faculdade Evangélica de Goianésia (FACEG). Concluiu o mestrado em Microbiologia Agropecuária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus Jaboticabal, com bolsa de estudos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) finalizando o curso em fevereiro de 2021. No mesmo ano, iniciou o curso de doutorado na mesma instituição e no mesmo programa de pós-graduação, atuando no Centro de Estudos em Cogumelos (CECOG) da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da UNESP, Câmpus Dracena. Durante o doutorado, realizou pesquisas voltadas ao desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de cogumelos, bem como à reutilização de resíduos provenientes dessa produção em novos ciclos produtivos.

*"A probabilidade de algo acontecer é inversamente proporcional à sua importância."*

(Douglas Adams, O Guia do Mochileiro das Galáxias)

A meu irmão, pais, avós, tios, tias e pastores, que sempre foram minha fonte de força e inspiração, deixo meu eterno agradecimento pelo apoio incondicional em todas as fases da minha vida. Sem o apoio de vocês, nada disso seria possível,

DEDICO E AGRADEÇO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força, sabedoria e inspiração concedidas ao longo desta jornada.

À minha família, pelo carinho, paciência e incentivo em todos os momentos. Sem vocês, essa conquista não seria possível.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, bem como às Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Câmpus Jaboticabal, e de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), Câmpus Dracena, expresso minha sincera gratidão. Agradeço, em especial, a todos os professores que contribuíram para minha formação, por compartilharem conhecimento, inspirarem pelo exemplo e orientarem cada etapa desta jornada acadêmica. Estendo meu reconhecimento aos técnicos e funcionários destas instituições, cuja dedicação, profissionalismo e apoio foram indispensáveis ao longo desta trajetória.

Ao Centro de Estudos em Cogumelos, ao meu orientador, Prof. Dr. Diego Cunha Zied, expresso minha profunda gratidão pela inestimável contribuição à minha formação profissional. Sua paciência, orientação dedicada e apoio constante foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento como pesquisador. Meu sincero reconhecimento e gratidão.

Aos meus queridos colegas de laboratório pelo acolhimento, ajuda e companheirismo. Agradeço à Cinthia, Lucas, Pedro, Marcos, Adriano, Asser, Mineo, Bruno, Caio, Stefany, Cibeli, Ana Julia, Daniel, Maryene, Leonardo, Murilo, Rodrigo e tantos outros que passaram ou estão no Centro de Estudos em Cogumelos.

À Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM), Espanhã, especialmente a Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes y Biotecnología (ETSIAMB) e a Oficina de Relaciones Internacionales (ORI) por me acolher durante minha estadia no exterior, proporcionando um ambiente de aprendizado e crescimento. Em especial, expresso minha profunda gratidão ao meu coorientador Prof. Dr. José Emilio por sua orientação e apoio inestimáveis. Aos amigos de convivência na universidade, Prof. Dr.

Manuel Álvarez-Ortí, Prof. Dr. Adrián Rabadán, Prof. Eulogio Mata e José Sahuquillo meu muito obrigado pelos momentos compartilhados que tanto enriqueceram minha jornada acadêmica e pessoal. Também minha gratidão à Dra. María Esther pelo apoio nas metodologias laboratoriais e pela receptividade.

Ao Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), especialmente ao Dr. Francisco Gea, por me proporcionar a oportunidade de participar do desenvolvimento de um trabalho no centro. Agradeço também à Dra. María Navarro, pela generosa ajuda, paciência e receptividade, que foram fundamentais para o progresso do meu trabalho. Minha gratidão se estende a Miguel Ángel, que teve um papel de apoio técnico crucial durante a realização das análises químicas, além de me ensinar, de forma dedicada, os processos e o funcionamento diário do laboratório. Ao Antônio, que foi de grande ajuda na condução das análises, especialmente na coleta dos substratos, sempre disposto a colaborar e contribuir para o sucesso das atividades. Agradeço ainda ao Gabriel e a Maria Jesus pela convivência agradável e apoio constante, tornando minha experiência no CIES ainda mais enriquecedora.

Aos meus amigos de república, Pedro, Adriano, Fabio, Bruno, Caio, Matheus, Eric, Robert, Breno, Kauan, Davi, Gabriel, e a todos os antigos moradores e agregados, como Carla, Guilherme, João Pedro, Leonardo, entre outros, meu muito obrigado pela parceria e irmandade durante tantos anos.

Aos meus amigos de vida, pesquisa e empreendedorismo, Prof. Dr. Jadson Moura, Prof. Dr. Rodrigo Souza e Dr. Luiz Filho, minha profunda gratidão pela parceria, orientação e amizade ao longo dessa jornada.

À seção técnica da Pós-Graduação, pelo auxílio, atenção e disponibilidade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação acadêmica, me apoiando, incentivando ou colaborando, meus sinceros agradecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa de doutorado e doutorado sanduiche concedida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT .....	2
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>3</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>3</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Macrofungos comestíveis .....	4
2.2. Ciclo de vida de um cogumelo .....	5
2.3. <i>Lentinula edodes</i> .....	6
2.4. <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	7
2.5. Cogumelos e degradação de material orgânico .....	9
2.6. Resíduos agrícolas.....	10
2.6.1. Utilização de resíduos agrícolas na produção de cogumelos .....	10
2.6.2. <i>Spent Mushroom Substrate</i> .....	11
2.7. Produção de cogumelos.....	12
2.7.1. Produção de <i>Lentinula edodes</i> .....	14
2.7.2. Produção de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	17
2.7.3. Uso de “ <i>Spent Mushroom Substrate (SMS)</i> ” em novos ciclos de produção .....	18
2.7.4. Cenário na produção de cogumelos .....	19
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO 2 – Do resíduo ao recurso: reutilização sustentável do substrato pós-cultivo de shiitake em ciclos subsequentes de produção .....</b>	<b>32</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>32</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
2.1. Primeiro experimento .....	35
2.2. Segundo experimento .....	36
2.3. Terceiro experimento .....	36
2.4. Produção do substrato .....	36
2.5. Produção do inóculo e inoculação .....	37
2.6. Produção e colheita dos cogumelos.....	37
2.7. Variáveis analisadas .....	38

2.8. Delineamento experimental e análise dos resultados .....	38
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>39</b>
3.1. Primeiro experimento .....	39
3.2. Segundo experimento .....	40
3.3. Terceiro experimento .....	42
3.4. Resultados gerais .....	48
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO 3 – Reutilização do substrato pós cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> para a formulação de novos substratos em ciclos subsequentes. ....</b>	<b>59</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>59</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>61</b>
2.1. Primeiro experimento .....	63
2.2. Segundo experimento .....	63
2.3. Terceiro experimento .....	63
2.4. Produção do substrato .....	64
2.5. Produção do inóculo e inoculação .....	64
2.6. Produção e colheita dos cogumelos.....	65
2.7. Variáveis analisadas .....	65
2.8. Delineamento experimental e análise dos resultados .....	65
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>66</b>
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>78</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>82</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>83</b>
<b>CAPÍTULO 4 – Estudo de alterações composicionais do conteúdo lignocelulósico de substratos durante o ciclo de produção de <i>Lentinula edodes</i> e <i>Pleurotus ostreatus</i>.....</b>	<b>88</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>88</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>89</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>90</b>
2.1 Densidade aparente.....	91
2.2. pH e condutividade elétrica .....	91

2.3. Conteúdo de Nitrogênio .....	91
2.4. Fibras brutas, celulose, hemicelulose e lignina .....	92
2.5. Cinzas e relação C/N .....	92
2.6. Desenho experimental e análise estatística .....	92
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>93</b>
<b>4. DICUSSÃO .....</b>	<b>100</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>103</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>104</b>

## **AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA E VIABILIDADE DO SUBSTRATO EXAURIDO DE COGUMELO EM CICLOS SUBSEQUENTES DE *Pleurotus ostreatus* E *Lentinula edodes***

**RESUMO** – A produção de cogumelos valoriza os resíduos agrícolas, convertendo-os em alimentos de alto valor. Contudo, esse processo também gera resíduos, denominados *Spent Mushroom Substrate* (SMS) que representam desafios ambientais e produtivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da reutilização do SMS na formulação de novos substratos para o cultivo da mesma espécie e compreender o processo de degradação dos substratos por *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*. Para a reutilização do SMS, foram conduzidos três ciclos de produção para cada espécie, utilizando o resíduo do ciclo anterior na formulação dos substratos subsequentes. No segundo ciclo, foram aplicadas dosagens de 5%, 10% e 20% de SMS, provenientes do primeiro ciclo. No terceiro ciclo, cada dosagem constituiu novas formulações com as mesmas proporções do ciclo anterior. Além disso, foram utilizados dois tipos de substratos, denominados alto-N (com maior concentração de farelos) e baixo-N (com menor concentração de farelos). Em todas as formulações, a adição de SMS foi acompanhada pela redução proporcional dos farelos. Os parâmetros agrônômicos avaliados incluíram produtividade (%), número e massa de cogumelos (g), e, no caso de *P. ostreatus*, número de pencas. Adicionalmente, realizou-se um experimento para avaliar o processo de degradação dos substratos, utilizando substratos comerciais, sendo o ciclo de *L. edodes* acompanhado por quatro fluxos, enquanto o de *P. ostreatus* por um fluxo. Durante o cultivo, foi analisado densidade aparente, pH, condutividade elétrica, nitrogênio total, relação C/N, teor de cinzas, fibras brutas, hemicelulose, celulose e lignina. Os resultados indicaram que apenas *L. edodes* respondeu positivamente à reutilização do SMS, com destaque para o terceiro ciclo, em substratos alto-N e dosagem de 10%, onde foi observado um incremento produtivo de 3,72% em comparação ao controle. Por outro lado, *P. ostreatus* não apresentou resposta favorável à reutilização do SMS, com reduções nos rendimentos em todos os ciclos e em todas as dosagens testadas. No monitoramento da degradação dos substratos comerciais, *P. ostreatus* demonstrou elevada capacidade de redução da densidade aparente (90,27%) e redução do teor de fibras brutas ao final do ciclo produtivo. Observou-se uma atividade similar na redução do pH, lignina, celulose e relação C/N, acompanhado do aumento da condutividade elétrica, nitrogênio total e teor de cinzas em ambas as espécies. *L. edodes* mostrou maior eficiência na degradação de hemicelulose. Os resultados evidenciam que o SMS é um resíduo com elevado potencial para diversas aplicações. Por outro lado, *L. edodes* mostrou-se promissor para a reintrodução do SMS nos ciclos produtivos e *P. ostreatus* não apresentou resultados satisfatórios nas condições testadas, indicando a necessidade de explorar novas estratégias para sua aplicação com o objetivo de ampliar os benefícios do reaproveitamento deste resíduo.

**Palavras-chave:** Microbiologia agrícola, fungos na agricultura, cogumelos comestíveis, cogumelos cultivo, reciclagem de resíduos.

## EVALUATION OF THE EFFICIENCY AND VIABILITY SPENT MUSHROOM SUBSTRATE IN SUBSEQUENT CYCLES OF *Pleurotus ostreatus* AND *Lentinula edodes*

**ABSTRACT** – Mushroom production has significantly contributed to the valorization of agricultural residues, converting them into high-value food products. However, this process also generates residues known as Spent Mushroom Substrate (SMS) which represent environmental and productive challenges. This study aimed to evaluate the efficiency of SMS reuse in formulating new substrates for the cultivation of the same mushroom species, as well as to understand the degradation process of substrates used in the cultivation of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*. To reuse SMS, three production cycles were conducted for each species, using the residue from the previous cycle to formulate substrates for the subsequent ones. In the second cycle, SMS dosages of 5%, 10%, and 20%, derived from the first cycle, were applied. In the third cycle, each dosage was used to create new formulations with the same proportions (5%, 10%, and 20%). Additionally, two types of substrates were employed: high-N (with a higher concentration of bran and, consequently, higher nitrogen content) and low-N (with a lower concentration of bran). In all formulations, the addition of SMS was accompanied by a proportional reduction in the amount of bran. The agronomic parameters evaluated included productivity (%), number and mass of mushrooms (g), and, in the case of *P. ostreatus*, the number of clusters. Furthermore, an experiment was conducted to monitor the degradation process of substrates, using commercial substrates obtained from companies. The production cycle of *L. edodes* was monitored over four flushes, while *P. ostreatus* was evaluated over a single flush. During cultivation, the following parameters were analyzed: bulk density, pH, electrical conductivity, total nitrogen, C/N ratio, ash content, crude fiber, hemicellulose, cellulose, and lignin. The results indicated that only *L. edodes* responded positively to SMS reuse, with a notable increase in productivity (3.72%) observed in the third cycle using high-N substrates and a 10% dosage compared to the control. On the other hand, *P. ostreatus* did not show favorable responses to SMS reuse, with decreases in yields across all cycles and dosages tested. In monitoring the degradation of commercial substrates, *P. ostreatus* demonstrated a high capacity for reducing bulk density (90.27%) and crude fiber content by the end of the production cycle. Similar trends were observed in the reduction of pH, lignin, cellulose, and C/N ratio, along with increases in electrical conductivity, total nitrogen, and ash content for both species. *L. edodes* showed greater efficiency in hemicellulose degradation. The findings highlight that SMS is a residue with high potential for diverse applications. While *L. edodes* proved promising for reintroducing SMS into production cycles, *P. ostreatus* did not yield satisfactory results under the tested conditions, underscoring the need to explore new strategies for its application to enhance the benefits of this residue's reuse.

**Keywords:** Agricultural microbiology, fungi in agriculture, edible mushrooms, mushroom cultivation, waste recycling.

## CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

### 1. INTRODUÇÃO

O sistema de produção agrícola é considerado ambientalmente insustentável (Campbell et al. 2017). Nesse sentido surgem os sistemas alternativos de produção que se propõe garantir o bem-estar humano e ambiental (Dorra\_See et al., 2021). A economia circular é uma destas ferramentas, que possui o objetivo de projetar sistemas industriais ou criados pelo homem, desde que tenham como a base os princípios ecológicos para alcançar a sustentabilidade (Tóth, 2019).

A produção de cogumelos é uma atividade que abrange os conceitos de economia circular, utilizando-se de resíduos agrícolas, como palhas, bagaços, restos de culturas, entre outros (Thakur, 2020), na geração de alimentos ricos em proteínas, aminoácidos essenciais, fibras, vitaminas e minerais, principalmente quando preparados frescos (Mattila et al., 2001; Krittanawong et al., 2021).

O consumo de cogumelos no Brasil ainda é baixo em comparação a outros países (Rodrigues et al., 2022), sendo o alto valor a principal influência que justifica a baixa adesão da população (Cianni et al., 2023). Este, é um reflexo da ausência de tecnologias específicas para a fungicultura brasileira (Guedes et al., 2021), que, diante das atuais altas nas matérias-primas provenientes da agricultura, tem problematizado ainda mais os custos de produção (Huang et al., 2021).

A comunidade científica busca alternativas que visem reduzir os custos e tornar a produção de cogumelos ainda mais sustentável, como a destinação e utilização do *Spent Mushroom Substrate* (SMS), que é o substrato residual do final do ciclo de produção (Leong et al., 2022). Mesmo diante dos avanços na valorização do SMS, grande parte deste resíduo ainda é descartada em aterros, incinerada, queimada a céu aberto ou disposta no solo de forma inadequada, causando incômodos ambientais, que incluem a contaminação do solo e a poluição do ar e dos cursos d'água (Lam et al., 2019).

Dentre as alternativas, a prática recente de reintrodução do SMS em novos cultivos é considerada eficaz (Leong et al., 2022). No final, o substrato ainda possui

quantidades significativas de nutrientes e compostos orgânicos, favorecendo sua utilização. Entretanto, metodologias e protocolos para sua utilização ainda são escassos, o que dificulta a compreensão da sua dinâmica (Zied et al., 2020).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é estudar a destinação do SMS para novos ciclos de produção, utilizando-se de duas espécies de cogumelos comestíveis conhecidas como *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*, propondo alternativas de utilização do resíduo e de redução dos custos através da diminuição da adição de farelos. Assim como, estudar o processo de degradação do material orgânico por estes fungos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Macrofungos comestíveis**

Estima-se que cerca de um quinto das espécies fúngicas descobertas estejam agrupadas no clado *Agaricomycetes* de *Basidiomycota* (Kirk et al., 2008), sendo esse grupo responsável por formar estruturas multicelulares relativamente grandes, conhecidas como corpos de frutificação ou cogumelos. Tais estruturas são responsáveis pela reprodução dos fungos e, durante séculos, vêm sendo utilizados como alimento pelos seres humanos (Boontawon et al., 2021).

A grande maioria dos macrofungos é responsável pela decomposição de matéria orgânica, atuando como fungos saprófitas. Eles podem ser classificados em decompositores primários e secundários: os primários são responsáveis pela degradação de materiais com alta concentração de lignina, por exemplo, madeiras mortas, possuindo assim alta relação C/N; os secundários são responsáveis principalmente pela degradação de celulose e hemicelulose, ou seja, materiais com relação C/N baixa (Miles e Chang, 2004; Mattos-Shiplely et al., 2016; Grimm e Wosten, 2018; Zied et al., 2020). Além destes, existem os macrofungos simbióticos, conhecidos como ectomicorrizicos, que estabelecem relação com plantas (Zak et al., 2019) e os fungos parasitas, que utilizam as plantas como hospedeiras (Kumar et al., 2022).

Embora o consumo de cogumelos seja recente em alguns países, sua utilização remonta, provavelmente, à época da sociedade primitiva, com registros de cultivo datados de cerca de 3.000 anos (Molitoris, 1994). Desde então, os fungos têm sido valorizados como fontes de nutrição e medicina em diversas culturas (Boyden, 1973; Ahmed et al., 2023). Diante da atual necessidade por alimentos, especialmente proteínas de origem animal (Enahoro et al., 2023), os cogumelos comestíveis destacam-se como alternativa viável, sendo ricos em nutrientes e desempenhando papel fundamental no tratamento e prevenção de diversas doenças (Rizzo et al., 2021).

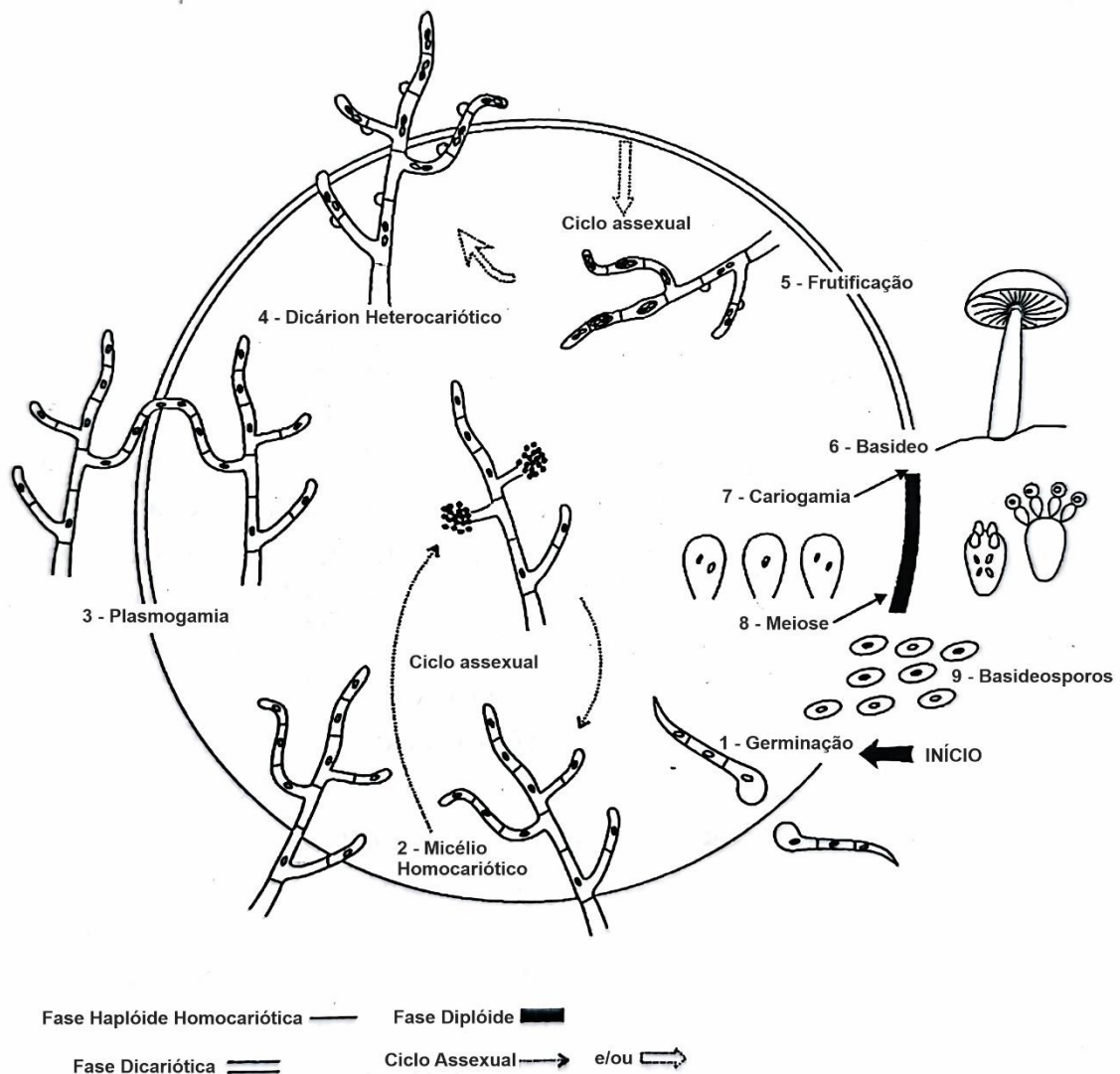
Em 2022, 42,79 milhões de toneladas de cogumelos foram produzidas no mundo e 15,6 mil toneladas no Brasil (Pérez-Álvarez et al., 2023). Essa produção é composta de diversas espécies, sendo que as principais são *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Fammulina velutipes*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Volvariella volvacea*, *Calocybe indica*, *Hericium erinaceus*, *Boletus edulis*, *Grifola frondosa* e *Agrocybe aegerita* (Wu et al., 2013; Das et al., 2021).

## 2.2. Ciclo de vida de um cogumelo

A maior parte dos fungos com estruturas de reprodução visível a olho nú se encontra nos grupos dos ascomicetos e basidiomicetos, sendo os basidiomicetos o grupo onde estão inseridos grande parte dos cogumelos comestíveis (Kirk et al., 2008; Boontawon et al., 2021).

Como ilustrado na Figura 01, o ciclo de vida dos basidiomicetos é dividido em 9 etapas, sendo: 1) Germinação dos esporos; 2) Origem do micélio homocarótico ou micélio primário; 3) Ocorrência de plasmogamia entre a fusão de micélios homocarióticos; 4) Formação de micélio fértil, que é resultado da plasmogamia, formando micélios dicarióticos; 5) Produção de basidiocarpos através das hifas secundárias (influenciado pelas condições ambientais); 6) Basidiocarpo com número variável de lamelas e presença de basídeos; 7) Processo de cariogamia seguida de meiose no basídeo, dando origem a recombinantes haploides; 8) Migração dos

núcleos (resultado da meiose) para os esterigmas formados do basídeo e originando os basidiosporos e 9) Liberação dos basidiosporos (Paccola-Meirelles, 2002).

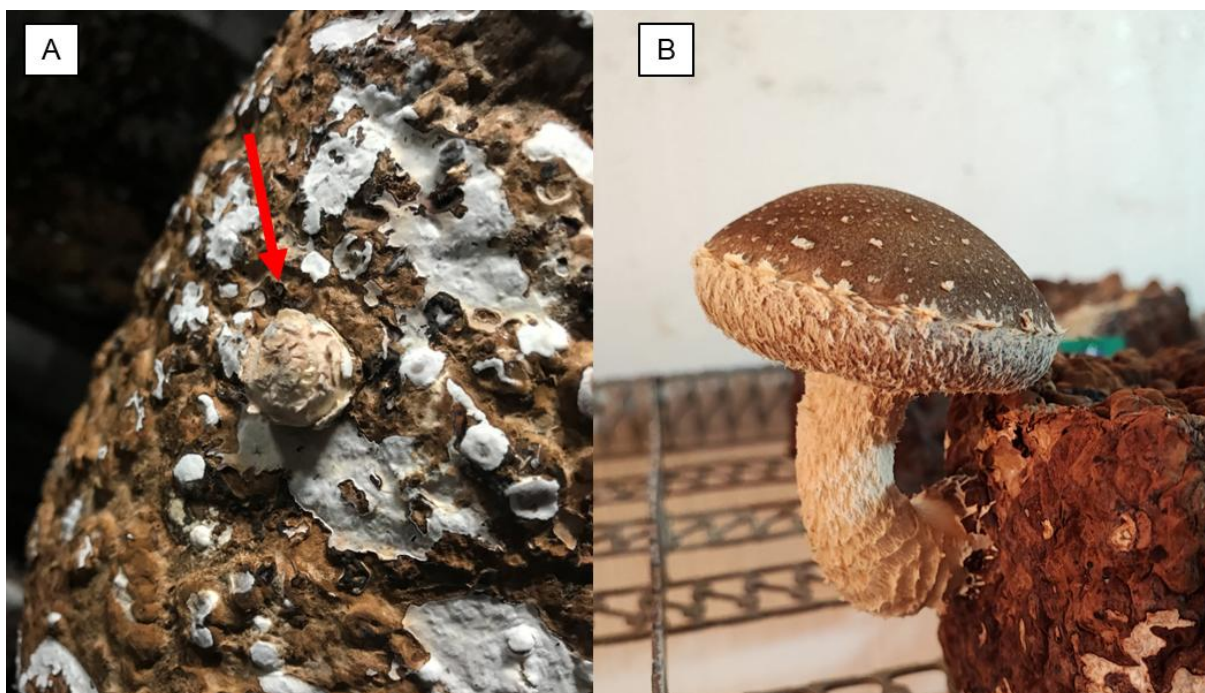


**Figura 1.** Ciclo de vida de um basidiomiceto. Fonte: Paccola-Meirelles (2002).

### 2.3. *Lentinula edodes*

O *Lentinula edodes* ou popularmente conhecido como shiitake, maitake ou reishi, é um fungo saprófita, pertencente ao filo Basidiomycota. É natural de regiões tropicais e subtropicais como Ásia, Austrália, América do Norte e do Sul. Os

cogumelos apresentam uma coloração marrom avermelhada, com píleo convexo e achatado com diâmetro de 2-25cm, sustentado por um estipe fibroso (Sokovic et al., 2018).



**Figura 2.** Basidioma de *Lentinula edodes* em diferentes fases, sendo início da frutificação (primórdios) (A) e cogumelo em ponto de colheita (B).

Por ser utilizado há muitos anos, especialmente na tradição oriental como medicamento, o shiitake tem sido considerado um dos cogumelos medicinais mais importantes. Isso se deve principalmente à sua variedade de biomoléculas com potencial terapêutico, incluindo polissacarídeos, lipídios, esteróis, entre outros, além de sua composição rica em micronutrientes, vitaminas e fibras (Skovic et al., 2018; Bisen et al., 2010).

#### 2.4. *Pleurotus ostreatus*

Os fungos do gênero *Pleurotus* são saprófitas e classificados como fungos da podridão branca (Tsujiyama e Ueno, 2013). Produzem micélio branco e algodinoso,

sendo cultivados em substratos lignocelulósicos (Savoie et al., 2007), e são considerados os cogumelos comestíveis mais amplamente distribuídos no mundo (Melanouri et al., 2022). As espécies desse gênero produzem cogumelos agrupados, com diferentes tamanhos e formas que se assemelham a ostras. O tamanho desses cogumelos varia entre 4 e 15 cm, e eles podem apresentar coloração rosa, amarela, cinza, branca, marrom-escuro, cinza-escuro, entre outras. A espécie *P. ostreatus*, por exemplo, é caracterizada por apresentar coloração cinza-escuro (Wojewoda, 2003).



**Figura 3.** Basidiomas de *Pleurotus ostreatus* em diferentes fases de desenvolvimento, onde, setas vermelhas demonstram a presença de primórdios.

*Pleurotus ostreatus* é considerado um dos cogumelos comestíveis de maior importância econômica no mundo (El-Ramady et al., 2022). Seu principal uso está relacionado às áreas médica, biotecnológica e nutricional, o que o torna um dos cogumelos mais estudados. Dentre suas aplicações destacam-se: a produção de

bioetanol (Ranjithkumar et al., 2022), a biorremediação (Wang et al., 2022), o uso medicinal (Mwangi et al., 2022) e a produção de moléculas bioativas (Caldas et al., 2022), entre outras.

## **2.5. Cogumelos e degradação de material orgânico**

O ciclo do carbono terrestre abrange o processo de degradação de matéria orgânica, resultando na reincorporação de seus elementos ao solo. Entre os materiais predominantes nesse ambiente destacam-se os lignocelulósicos, que são decompostos por organismos como bactérias, fungos, minhocas e outros (Cragg et al., 2015; Kumla et al., 2020). Esses materiais são compostos majoritariamente por polímeros, incluindo celulose, hemicelulose e lignina (Kumla et al., 2020), cuja degradação ocorre por meio da ação de enzimas hidrolíticas e oxidativas (Madeira et al., 2017).

Resíduos agrícolas apresentam elevada concentração de celulose, hemicelulose e lignina, além de macro e micronutrientes, e cinzas (Atila, 2019). Essas características tornam tais materiais promissores para o cultivo de cogumelos, considerando que basidiomicetos de podridão branca possuem alto potencial para utilizá-los como fonte de carbono. Esse aproveitamento ocorre através do sistema lignolítico oxidativo, que inclui enzimas como celulasas, hemicelulasas, lignina peroxidase, lacase e peroxidase de manganês (Lim et al., 2013).

A capacidade de degradação de materiais orgânicos por cogumelos está diretamente relacionada a diversos fatores, incluindo características genéticas entre espécies e linhagens, composição química dos materiais e condições ambientais (Blanchette, 1991; Atila, 2019). A composição do material é um dos fatores mais relevantes, pois pode impactar significativamente os rendimentos. Por exemplo, os teores de celulose, hemicelulose e lignina podem prolongar o tempo necessário para a colheita, facilitar o processo de colonização e influenciar outros aspectos do cultivo (Akçay et al., 2023).

Ademais, o processo de degradação de matéria orgânica por fungos envolve alterações bioquímicas substanciais principalmente devido à secreção de enzimas.

Contudo, há uma lacuna significativa no entendimento de como os cogumelos afetam os materiais e quais são as características específicas da degradação de cada espécie em diferentes substratos (Atila, 2019; Öztürk e Atila, 2021).

## **2.6. Resíduos agrícolas**

Aproximadamente 36% das terras cultiváveis estão sendo usadas para a agricultura, o que equivale a 5 bilhões de hectares (FAO, 2020). Isso demonstra a grande influência do setor agrícola em todo o mundo (Khalife et al., 2024). No entanto, quanto maior a produção, maior será a geração de resíduos agrícolas (Thangadurai et al., 2021). Estima-se que, globalmente, cerca de 998 milhões de toneladas de resíduos agrícolas sejam geradas anualmente (Agamuthu, 2009).

O Brasil é um importante produtor agrícola, com uma grande diversidade de cultivos, como soja, milho, cana-de-açúcar e café (Bhandari e Sessa, 2021), gerando, assim, uma quantidade significativa de resíduos agrícolas. Esses resíduos podem ser reaproveitados de diversas maneiras, como fonte de energia, produção de biogás e adubação orgânica, o que melhora a fertilidade do solo e reduz a necessidade de fertilizantes químicos (Koul et al., 2022). Apesar das vantagens do uso de resíduos agrícolas, ainda existem desafios a serem superados, como a falta de infraestrutura e tecnologia adequadas para o aproveitamento desses materiais, além da falta de conscientização sobre sua importância na gestão ambiental (Maji et al., 2020).

### **2.6.1. Utilização de resíduos agrícolas na produção de cogumelos**

A produção de cogumelos a partir de resíduos agrícolas é uma prática comum e promissora na agricultura, com diversos benefícios, tais como a redução do impacto ambiental desses resíduos, a geração de um produto de alto valor agregado e a promoção de uma agricultura sustentável (Royse et al., 2017; Grim e Rahman, 2021; Jasinska et al., 2022).

Diversos tipos de resíduos agrícolas podem ser utilizados, como a palha de trigo, o bagaço de cana-de-açúcar e a serragem de madeira (Sher et al., 2011; Grim e Rahman, 2021). O processo de utilização envolve o tratamento sanitário desses resíduos, a inoculação com o fungo de interesse e a manutenção das condições ideais de temperatura e umidade (Siqueira et al., 2012). A produção de cogumelos a partir de resíduos agrícolas é uma alternativa viável e promissora para a agricultura moderna, atendendo à crescente demanda por alimentos sustentáveis e de qualidade (Rizzo et al., 2021).

### ***2.6.2. Spent Mushroom Substrate***

A produção de cogumelos, mesmo sendo uma atividade sustentável e que visa utilizar resíduos provenientes de outras cadeias, também gera uma quantidade significativa de resíduos orgânicos, como substratos de cultivo e excedentes de biomassa. (Jiang et al., 2017; Lam et al., 2019; Alves et al., 2022; Leong et al., 2022).



**Figura 4.** Exemplos de substrato pós cultivo de cogumelos (*Spent Mushroom Substrate*) e descarte/armazenamento inadequado.

Os resíduos de cogumelos são compostos principalmente por micélio fúngico residual e por uma grande variedade de biomassa, que inclui palha, serragem, esterco e outros materiais orgânicos (Najafi et al., 2019). Esses resíduos podem ser transformados em fertilizantes orgânicos para melhorar a qualidade e fertilidade do solo (Pérez-Chávez et al., 2019) ou em biogás por meio da digestão anaeróbia, gerando energia limpa e renovável (Najafi et al., 2019).

No entanto, muitos produtores ainda enfrentam desafios na gestão adequada dos resíduos da produção de cogumelos, devido à falta de infraestrutura e conhecimento para o tratamento e aproveitamento desses materiais. Além disso, a disposição inadequada desses resíduos pode levar à contaminação do solo e das águas subterrâneas, além de contribuir para a emissão de gases de efeito estufa (Pérez-Chávez et al., 2019; Wan Mahari et al., 2020). Sendo assim, é fundamental a adoção de práticas responsáveis e sustentáveis na gestão destes resíduos, buscando alternativas para a redução, reutilização e reciclagem desses materiais.

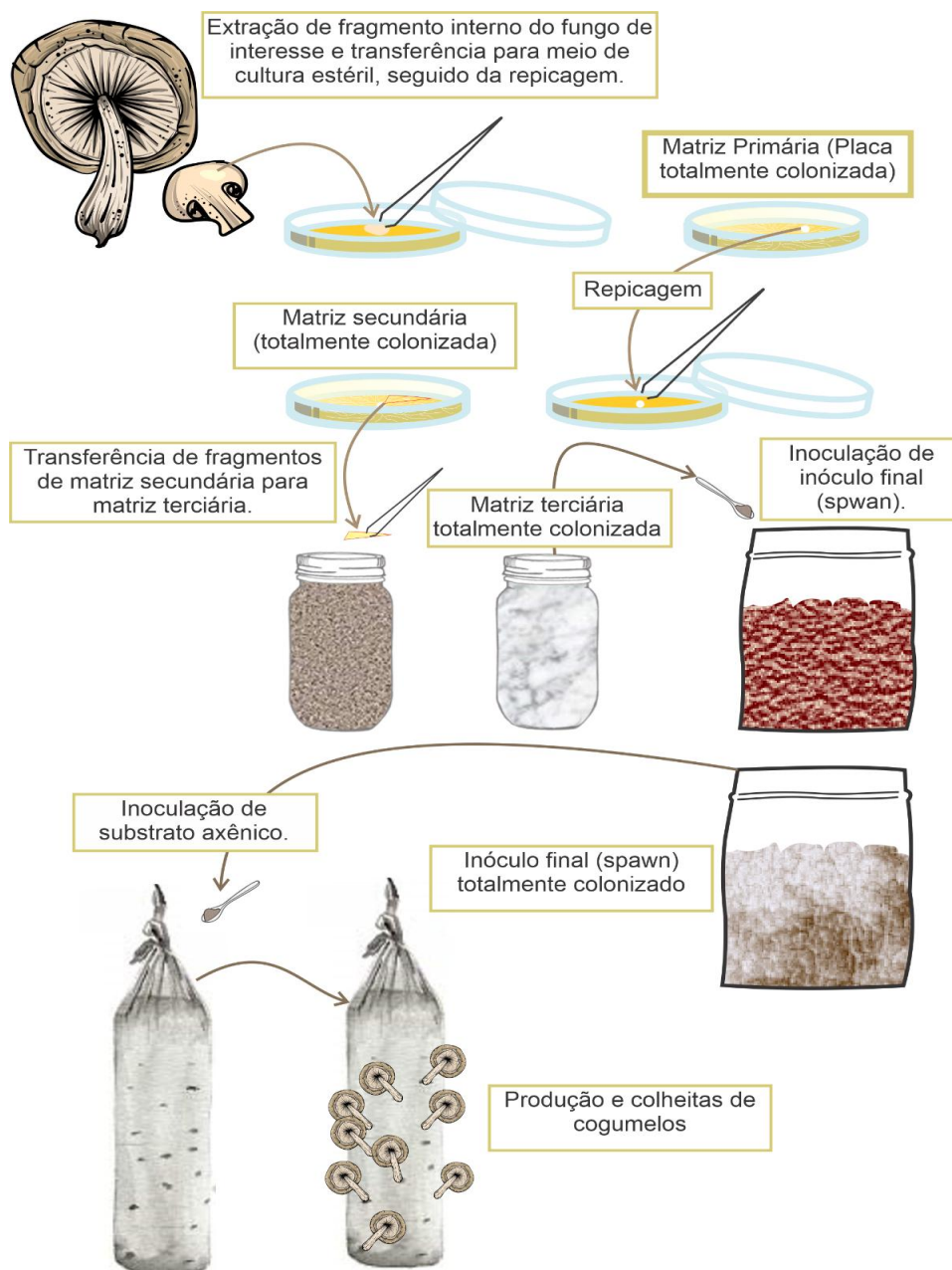
## **2.7. Produção de cogumelos**

A produção de cogumelos é um ramo agrícola que tem apresentado rápido crescimento (Thakur, 2020). Isso se deve principalmente à demanda por alimentos saudáveis e sustentáveis (Rhamann et al., 2017). Os cogumelos têm se tornado populares na alimentação humana devido aos seus benefícios nutricionais e para a saúde, além de sua versatilidade na gastronomia (Molina-Castillo et al., 2023), sendo sua produção sustentável majoritariamente baseada em resíduos agrícolas.

A primeira espécie a ser cultivada artificialmente no mundo foi *Auricularia auricularia*, seguida por *Flammulina velutipes* e *Lentinula edodes* (Atila et al., 2021). Por volta de 1600 d.C., foi registrado, pela primeira vez, na França, o cultivo de *Agaricus bisporus*, e em 1900, nos Estados Unidos, o de *Pleurotus ostreatus* (Chang, 2008). Das aproximadamente 3.000 espécies de cogumelos comestíveis já

catalogadas (Li et al., 2021; Chang e Wasser, 2017), apenas 35 foram cultivadas profissionalmente até 2021, e cerca de 20 são cultivadas industrialmente (Muhammad e Suleiman, 2015; Atila et al., 2021).

A produção de cogumelos pode ser realizada por meio de diversos tipos de tratamento, utilizando uma biomassa como base, à qual são adicionados suplementos para corrigir principalmente a relação C/N (Zied e Pardo-Giménez, 2017). Para o tratamento sanitário, pode-se utilizar a pasteurização (Grimm et al., 2024), a esterilização (substrato axênico) (Silva et al., 2024), a em submersão em solução alcalina (Ghosal, 2023), entre outros métodos. A produção axênica é uma das principais técnicas para a produção de shiitake (Cuquel, 2023) e também é utilizada na produção de *P. ostreatus* (Oliveira et al., 2022). O processo começa com o isolamento do fungo de interesse, seguido pela preparação do substrato, tratamento térmico, inoculação e produção (Figura 2).



**Figura 5.** Processo de isolamento e produção de cogumelos através de método axênico. Adaptado de Wassilieff (2008).

### 2.7.1. Produção de *Lentinula edodes*

O fungo *L. edodes* é um biodegradador eficiente de madeiras e por isto é comumente produzido em toras e serragem. Porém, para que a produção obtenha altos rendimentos é necessário a suplementação de 20 a 30% de materiais como farelo de arroz, trigo, painço e outros (Pire et al., 2001; Philippous et al., 2007).

No início, a produção de *L. edodes* era realizada principalmente através de toras de árvores. No entanto, por volta de 1970, o desenvolvimento de uma nova tecnologia na China facilitou o processo de produção e reduziu significativamente o tempo necessário para a primeira colheita (Royse et al., 2017; Yu et al., 2021). A partir desse momento, essa tecnologia foi adotada globalmente. No Japão, o principal substrato utilizado são cavacos de madeira solidificados (Ogawa e Yashima, 2019), enquanto no Brasil o substrato principal é a serragem de eucalipto acrescida de farelos (Zied et al., 2023).

Diferentes formulações sintéticas são encontradas para a produção de *L. edodes*, que são escolhidas pela disponibilidade de materiais e dos custos de aquisição. Como fórmula padrão para a produção da espécie, se utiliza 80% de serragem de madeira e 20% de suplemento, sendo as porcentagens calculadas como base no peso seco dos materiais (Ozcelik e Peksen, 2007; Huang et al., 2022). Após a confecção dos substratos, eles são ensacados e esterilizados a 121 °C por aproximadamente 2h (para sacos de 2 a 3kg) (Chen, 2001).



**Figura 6.** Cultivo de *Lentinula edodes* em blocos de serragem.

Antes da fase do cultivo existem as fases da corrida do micélio e da formação da capa micelial. A primeira fase é realizada a uma temperatura de 18 e 24 °C, por 28 a 35 dias. Após esse período, os blocos passam a obter uma coloração amarronzada e surgem pequenas protuberâncias, chamadas popularmente de “pipocas”. Nessa fase a temperatura deve ser mantida entre 20 e 22 °C, e pode durar de 50 a 70 dias. Após esse período os blocos são abertos e inicia-se a produção em uma temperatura variando de 18 a 20 °C (Dhar, 2017; Yamanaka, 2017).

### 2.7.2. Produção de *Pleurotus ostreatus*

A espécie *Pleurotus ostreatus* é classificada como um fungo saprófita (Rhiner, 2021), um decompositor primário, e é naturalmente encontrada degradando troncos de árvores (Savoie et al., 2007; Bellettini et al., 2019). O substrato para sua produção pode variar conforme a região, devido a fatores como disponibilidade e valor, permitindo a utilização de diferentes materiais. O bagaço de cana, serragem, farelos, resíduos cafeeiros, e muitos outros materiais agrícolas podem ser utilizados na produção, sendo que o substrato pode ser preparado pelo método pasteurização ou axênico (Estrada e Pecchia, 2017).

A pasteurização é um método que visa à seleção de microrganismos termófilos no substrato, os quais atuam como “protetores”. Devido às altas temperaturas, esse processo resulta na eliminação de microrganismos competidores, em sua maioria classificados como mesófilos. A pasteurização pode ou não ser precedida pela compostagem do substrato, que ocorre naturalmente por meio da atividade microbiana sobre a matéria-prima (Hernández et al., 2003; Souza et al., 2014). Pode ser realizada por diferentes métodos, como a imersão em água a 80–85 °C por 30 a 45 minutos, ou com o uso de vapor, em temperaturas de 60 a 100 °C, por períodos que variam entre 1 e 12 horas (Estrada e Pecchia, 2017).

Já o método axênico, o mais utilizado para a produção de *P. ostreatus* (Rugolo et al., 2020; Lu et al., 2023), consiste na esterilização do substrato a 118–120 °C por 50 a 60 minutos, ou a 100 °C por 5 a 6 horas. Nesse método, utiliza-se como base a serragem, acrescida de suplementos como farelos de arroz e trigo, resíduos industriais, entre outros (Yamanaka, 2017).



**Figura 7.** Cultivo de *Pleurotus ostreatus* através do método de substrato axênico.

Antes da produção, o substrato com o fungo é incubado a temperatura entre 21-23°C e umidade entre 65-75%, com aproximadamente 4000ppm de concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) no ambiente. Para o cultivo é necessário a redução da concentração de CO<sub>2</sub> para 2000ppm e da temperatura para 14-20°C e elevação da umidade para 90% (Yamanaka, 2017). Dependendo da linhagem a ser cultivada pode ser necessário a aplicação da técnica de *Scratching* (Vieira Junior et al., 2023).

### **2.7.3. Uso de *Spent Mushroom Substrate* (SMS) em novos ciclos de produção**

Pesquisas recentes buscam a valorização do uso do SMS sugerindo sua utilização como suplementação adicional para novos ciclos de cultivos (Leong et al., 2022). Zied e colaboradores (2020) verificaram que o uso de SMS em novos ciclos

pode ser eficiente para algumas espécies, ao mesmo tempo em que não afeta negativamente o rendimento em comparação como o uso de substratos padrão. Porém, eles destacam que a utilização deste resíduo deve ser realizada somente através de estudos tecnológicos específicos para cada espécie.

Mesmo sendo um material relativamente rico, os teores de carbono, nitrogênio, celulose e lignina do SMS são baixos em comparação ao substrato inicial (Atila, 2019). Desta forma, o primeiro passo antes de sua utilização é realizar a suplementação com nutrientes ou adição de novos materiais (Zhang et al., 2019), que deve ser feita de forma diferente para cada caso, já que a composição do SMS pode variar principalmente devido à sua localização e espécie que foi produzida.

Economou e colaboradores (2020) ao estudarem a capacidade de utilizar SMS de *P. ostreatus* para a produção de um novo ciclo para *P. ostreatus* e *P. pulmonarius*, obtiveram resultados que indicam claramente que o SMS suplementado é uma matéria prima ideal para um segundo ciclo de cultivo, em ambas as espécies estudadas. Da mesma forma, Mohamed e colaboradores (2020) demonstraram a eficácia da utilização do SMS para novos ciclos de produção, porém afirmaram que somente a utilização do substrato reutilizado não é suficiente, sendo necessário a adição de nutrientes oriundos de outras fontes. Por fim, os autores enfatizaram a necessidade de novos estudos para compreender melhor a dinâmica do uso do SMS em novos cultivos.

#### **2.7.4. Cenário na produção de cogumelos**

A variedade de produtos derivados dos cogumelos cria um mercado repleto de oportunidades. Os principais exemplos estão na gastronomia, como alimentos e bebidas à base de fungos e na coleta de cogumelos silvestres, que representa uma fonte importante de renda (Li et al., 2021; Niazi e Ghafoor, 2021; Kousar et al., 2024). A produção de cogumelos cresceu 30 vezes de 1977 até 2017 (Royse et al., 2017), sendo *Pleurotus* e *Lentinula* as principais espécies cultivadas (Nobre et al., 2024). Em 2017, a produção mundial foi estimada em cerca de 71,7 milhões de toneladas, com a China responsável por aproximadamente 47% desse total, consolidando-se como

líder mundial em produção, consumo e exportação (Chang et al., 2017). Outros países com produção significativa são os Estados Unidos (11%), Holanda (7%), Polônia, Espanha, França, Itália, Irlanda, Canadá e Reino Unido (Thakur, 2020). Ainda assim, projeta-se uma expansão substancial na produção até 2028, impulsionada por hábitos alimentares que favorecem alimentos mais nutritivos e saudáveis (Mukherjee et al., 2024).

A pandemia de SARS-CoV-2 ressaltou a importância da produção de cogumelos não apenas como fonte de alimentos de alta qualidade, mas também devido às suas substâncias antivirais e anti-inflamatórias, que possuem eficácia dependente do consumo regular. (Hetland et al., 2020; Shahzad et al., 2020; Niazi e Ghafoor, 2021; Parise et al., 2023; Ryoo et al., 2024).

Porém, a preocupação com a destinação de resíduos que promova uma agricultura mais sustentável, levou a comunidade científica a desenvolver diversas ferramentas para a aplicação dos resíduos da fungicultura, transformando-os em produtos de valor agregado (Andrews et al., 2021; Kousar et al., 2024). São exemplos disso a produção de biocarvão (Grimm et al., 2024), a modulação de microrganismos do solo e fornecimento de carbono (Yang et al., 2024), a geração de gás através de plataformas de valorização ambiental sustentável (Lee et al., 2024), o uso como substrato para a produção vegetal (Alves et al., 2024) e a reutilização na formulação de novos substratos para a produção de cogumelos (Kousar et al., 2024).

## REFERÊNCIAS

Agamuthu P (2009) Challenges and opportunities in agro-waste management: An Asian perspective. In: INAUGURAL MEETING OF FIRST REGIONAL 3R FORUM IN ASIA. Tokyo: United Nations p. 12.

Ahmed AF, Mahmoud GAE, Hefzy M, Liu Z, Ma C (2023) Overview on the edible mushrooms in Egypt. **Journal of Future Foods** 3(1):8-15.

Akçay C, Ceylan F, Arslan R (2023) Production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) from some waste lignocellulosic materials and FTIR characterization of structural changes. **Scientific Reports** 13(1):12897.

Alves LS, Tolardo G, Caitano CEC, Vieira Júnior WG, Freitas PNG, Zied DC (2024) Use of spent mushroom substrate for cherry tomato seedlings; a potential alternative to peat in horticulture. **Biological Agriculture & Horticulture** 40(2):127-140.

Alves LS, Moreira BRA, Viana RS, Dias ES, Rinker DL, Pardo-Gimenez A, Zied DC (2022) Spent mushroom substrate is capable of physisorption-chemisorption of CO<sub>2</sub>. **Environmental Research** 204:111945.

Andrews A, Singh S, Chandhrapati AI, Kumar YV (2021) Utilization of spent mushroom substrate: A review. **The Pharma Innovation Journal** 10:1017-1021.

Atila F (2019) Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. **Scientia Horticulturae** 245:263-268.

Atila F, Owaid MN, Shariati MA (2021) The nutritional and medical benefits of *Agaricus bisporus*: a review. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences** 7(3):281-286.

Bach F, Helm CV, Lima EA, Bellettini MB, Haminiuk CWI (2018) Influence of cultivation methods on the chemical and nutritional characteristics of *Lentinula edodes*. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, 30(12):1006-1013.

Bellettini MB, Fiorda FA, Maieves HA, Teixeira GL, Ávila S, Hornung PS, Júnior AM, Ribani RH (2019) Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences** 26(4):633-646.

Bhandari R, Sessa V (2021) Energy in agriculture in Brazil. **Revista Ciência Agronômica** 51:c20207784.

Bisen PS, Baghel RK, Sanodiya BS, Thakur GS, Prasad GBKS (2010) *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. **Current Medicinal Chemistry**, 17(22):2419-2430.

Blanchette RA (1991) Delignification by wood-decay fungi. **Annual Review of Phytopathology** 29(1):381-403.

Boontawon T, Nakazawa T, Inoue C, Osakabe K, Kawauchi M, Sakamoto M, Honda Y (2021) Efficient genome editing with CRISPR/Cas9 in *Pleurotus ostreatus*. **AMB Express** 11:30.

Boyden S (1973) Evolution and health. **The Ecologist** 3(8):304-309.

Caldas LA, Zied DC, Sartorelli P (2022) Dereplication of extracts from nutraceutical mushrooms *Pleurotus* using molecular network approach. **Food Chemistry** 370:131019.

Campbell BM, Beare DJ, Bennett EM, Hall-Spencer JM, Ingram JS, Jaramillo F, Ortiz R, Ramankutty N, Sayer JA, Shindell D (2017) Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries. **Ecology and Society**, 22(4):26798991.

Chang ST (2008) Overview of mushroom cultivation and utilization as functional foods. In Cheung PCK (Ed). **Mushrooms as functional foods**. New York: John Wiley & Sons, Inc. Publication, p. 1-33.

Chang ST, Wasser SP (2017) The cultivation and environmental impact of mushrooms. **Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science**, doi.org/10.1093/acrefore/9780199389414.013.231

Cianni R, Pippinato L, Mancuso T (2023) A systematic review on drivers influencing consumption of edible mushrooms and innovative mushroom-containing products. **Appetite** 182:106454.

Coletti D, Lalonde R, Masson P, Snudden S (2021) Commodities and monetary policy: Implications for inflation and price level targeting. **Journal of Policy Modeling** 43(5):982-999.

Cragg SM, Beckham GT, Bruce NC, Bugg TD, Distel DL, Dupree P, Etxabe, AG, Goodell BS, Jellison J, McGeehan JE, McQueen-Mason J, Schnorr K, Walton PH, Watts JEM, Zimmer M (2015) Lignocellulose degradation mechanisms across the Tree of Life. **Current Opinion in Chemical Biology** 29:108-119.

Das AK, Nanda PK, Dandapat P, Bandyopadhyay S, Gullón P, Sivaraman GK, McClements DJ, Gullón B, Lorenzo, J. M. (2021). Edible mushrooms as functional ingredients for development of healthier and more sustainable muscle foods: A flexitarian approach. **Molecules** 26(9):2463.

Dorr E, Koegler M, Gabrielle B, Aubry C (2021) Life cycle assessment of a circular, urban mushroom farm. **Journal of Cleaner Production** 288:125668.

Economou CN, Philippoussis AN, Diamantopoulou PA (2020) Spent mushroom substrate for a second cultivation cycle of *Pleurotus* mushrooms and dephenolization of agro-industrial wastewaters. **FEMS Microbiology Letters**, 367(8):fnaa060.

El-Ramady H, Abdalla N, Fawzy Z, Badgar K, Llanaj X, Törös G, Hajdú P, Eid Y, Prokisch J (2022) Green biotechnology of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* L.): A sustainable strategy for myco-remediation and bio-fermentation. **Sustainability**, 14(6), 3667.

Enahoro D, Kozicka M, Pfeifer C, Jones SK, Tran N, Chan CY, Sulser TB, Gotor E, Rich KM (2023) Linking ecosystem services provisioning with demand for animal-sourced food: an integrated modeling study for Tanzania. **Regional Environmental Change**, 23(1):48.

Estrada AER, Pecchia J (2017) Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In: Zied, DC, Pardo-Giménez A (Eds) **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. New York: John Wiley & Sons, Inc. Publication, p. 339-360.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020). FAOSTAT Database. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em 24 mai. 2024.

Gao X, Tang X, Zhao K, Balan V, Zhu Q (2021) Biogas production from anaerobic co-digestion of spent mushroom substrate with different livestock manure. **Energies** 14(3):570.

Ghosal A: Mushroom Cultivation: an alternate livelihood option (2023) Kolkata, India: Sasya Shyamala Krishi Vigyan Kendra, Ramakrishna Mission Vivekananda Educational and Research Institute 31 p.

Grimm A, dos Reis GS, Dinh VM, Larsson SH, Mikkola JP, Lima EC, Xiong S (2024) Hardwood spent mushroom substrate-based activated biochar as a sustainable bioresource for removal of emerging pollutants from wastewater. **Biomass Conversion and Biorefinery** 14(2):2293-2309.

Grimm D, Sonntag E, Rahmann G (2024) Evaluation of different pasteurization and sterilization methods for oyster mushroom substrates. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences** 13(5):e10428.

Grimm D, Kuenz A, Rahmann G (2021) Integration of mushroom production into circular food chains. **Organic Agriculture**, 11(2):309-317.

Grimm D, Wösten HA (2018) Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology** 102:7795-7803.

Guedes GR, da Silva Salbego EL, Rossetti BV, Ferla G, Wajda NTV, Maciel FL (2021) Utilização de resíduos agroindustriais e florestais disponíveis na serra gaúcha para o

cultivo de cogumelos comestíveis. In: SALÃO INTEGRADO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UERGS (SIEPEX). **Anais do 10 Siepex** Porto Alegre: UERGS.

Halim AA, El Baroudy AA (2014) Influence addition of fine sawdust on the physical properties of expansive soil in the Middle Nile Delta, Egypt. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 14(2):483-490.

Hamed HA, Abdalla MFM, Hosseney MH, Elshaikh KA (2020) Upcycling of oyster mushroom spent through reuse as substrate in sequential production cycles of mushroom. **Egyptian Journal of Horticulture** 47(1):69-79.

Harding T, Herzberg J, Kuralbayeva K (2021) Commodity prices and robust environmental regulation: evidence from deforestation in Brazil. **Journal of Environmental Economics and Management** 108:102452.

Hernández D, Sánchez JE, Yamasaki K (2003) A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. **Bioresource Technology** 90(2):145-150.

Hetland G, Johnson E, Bernardshaw SV, Grinde B (2021) Can medicinal mushrooms have prophylactic or therapeutic effect against COVID-19 and its pneumonic superinfection and complicating inflammation? **Scandinavian journal of immunology** 93(1):e12937.

Huang J, Yingli L, Hongwei Z, Jinyu C (2021) The effects of uncertainty measures on commodity prices from a time-varying perspective. **International Review of Economics and Finance** 71:100-114.

Huang X, Zhang R, Yang Q, Li X, Xiang Q, Zhao K, Ma M, Yu X, Chen Q, Zeng X, Zhang L, Penttinen P, Gu Y (2022) Cultivating *Lentinula edodes* on substrate containing composted sawdust affects the expression of carbohydrate and aromatic amino acid metabolism-related genes. **Msystems** 7(1):e00827-21.

Hultberg M, Asp H, Bergstrand KJ, Golovko O (2023) Production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on sawdust supplemented with anaerobic digestate. **Waste Management** 155:1-7.

Iossi MR, Vieira Junior, WG, Caitano CE, Heirinchs R, Pardo-Giménez A, Zied DC (2023) Macromineral consumption by *Pleurotus ostreatus* var. Florida in different straws. **Archives of Biological Sciences** 75:19-25.

Janusz G, Pawlik A, Sulej J, Świdorska-Burek U, Jarosz-Wilkolazka A, Paszczyński A (2017) Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. **FEMS microbiology reviews** 41(6):941-962.

Jasinska A, Wojciechowska E, Stoknes K, Roszak M (2022) Bioconversion of Agricultural Wastes into a Value-Added Product: Straw of Norwegian Grains

Composted with Dairy Manure Food Waste Digestate in Mushroom Cultivation. **Horticulturae** 8(4):331.

Jiang H, Zhang M, Chen J, Li S, Shao Y, Yang J, Li J (2017) Characteristics of bio-oil produced by the pyrolysis of mixed oil shale semi-coke and spent mushroom substrate. **Fuel** 200:218-224.

Khalife E, Sabouri M, Kaveh M, Szymanek M (2024) Recent Advances in the Application of Agricultural Waste in Construction. **Applied Sciences** 14(6):2355.

Krittanawong C, Isath A, Hahn J, Wang Z, Fogg SE, Bandyopadhyay D, Jneid H, Virani SS, Tang WW (2021) Mushroom consumption and cardiovascular health: a systematic review. **The American Journal of Medicine** 134(5):637-642.

Kousar A, Khan HA, Farid S, Zhao Q, Zeb I (2024) Recent advances on environmentally sustainable valorization of spent mushroom substrate: A review. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining** 18(2):639-651.

Koul B, Yakoob M, Shah MP (2022) Agricultural waste management strategies for environmental sustainability. **Environmental Research** 206:112285.

Kumar HA, Sarkar M, Darshan K, Ghoshal T, Kavya BS, Bashayl BM, Asaiya, Berry N (2022) The Ganoderma: Biodiversity and Significance. In.: Rajpal VR, Singh I, Navi SSS (Eds.) **Fungal diversity, ecology and control management**. Singapore: Springer Nature Singapore, p. 255-291.

Kumla J, Suwannarach N, Sujarit K, Penkhrue W, Kakumyan P, Jatuwong K, Vadthanarat S, Lumyong S (2020) Cultivation of mushrooms and their lignocellulolytic enzyme production through the utilization of agro-industrial waste. **Molecules** 25(12):2811.

Lam SS, Lee XY, Nam WL, Phang XY, Liew RK, Yek PN, Ho YL, Ma NL, Rosli, M. H. (2019). Microwave vacuum pyrolysis conversion of waste mushroom substrate into biochar for use as growth medium in mushroom cultivation. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology** 94(5):1406-1415.

Lee T, Choi D, Park J, Tsang YF, Lin KYA, Jung S, Kwon EE (2024) Valorizing spent mushroom substrate into syngas by the thermo-chemical process. **Bioresource Technology** 391:130007.

Leong YK, Ma TW, Chang JS, Yang FC (2022) Recent advances and future directions on the valorization of spent mushroom substrate (SMS): A review. **Bioresource technology** 344:126157.

Li H, Tian Y, Menolli Jr N, Ye L, Karunarathna SC, Perez-Moreno J, Rahman MM, Rashid H, ..., Mortimer, P. E. (2021). Reviewing the world's edible mushroom species: A new evidence-based classification system. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 20(2):1982-2014.

Lim SH, Lee YH, Kang HW (2013) Efficient recovery of lignocellulolytic enzymes of spent mushroom compost from oyster mushrooms, *Pleurotus* spp., and potential use in dye decolorization. **Mycobiology**, 41(4):214-220.

Lu X, Zhao Y, Li F, Liu P (2023) Active polysaccharides from *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* by addition of corn straw and xylosma sawdust through solid-state fermentation. **International Journal of Biological Macromolecules** 228:647-658.

Madeira Jr JV, Contesini FJ, Calzado F, Rubio MV, Zubieta MP, Lopes DB, de Melo RR (2017) Agro-industrial residues and microbial enzymes: an overview on the eco-friendly bioconversion into high value-added products. **Biotechnology of microbial enzymes** 2017:475-511.

Mahari WAW, Peng W, Nam WL, Yang H, Lee XY, Lee YK, Liew RK, Ma NL, Mohammad A, Sonne C, Van Le Q, Show PL, Chen WH, Lam SS (2020) A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. **Journal of hazardous materials** 400:123156.

Maji S, Dwivedi DH, Singh N, Kishor S, Gond M (2020) Agricultural waste: Its impact on environment and management approaches. In.: Bharagava RN (Ed.) **Emerging eco-friendly green technologies for wastewater treatment**. Singapore: Springer, pp. 329-351.

Mattila P, Könkö K, Eurola M, Pihlava JM, Astola J, Vahteristo L., Hietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironen V (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49(5):2343-2348.

Mattos-Shipley KM, Ford KL, Alberti F, Banks AM, Bailey AM, Foster GD (2016) The good, the bad and the tasty: the many roles of mushrooms. **Studies in mycology** 85(1):125-157.

Melanouri EM, Dedousi M, Diamantopoulou P (2022) Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part I: Screening for growth, endoglucanase, laccase and biomass production in the colonization phase. **Carbon Resources Conversion** 5(1):61-70.

Miles PG, Chang ST (Eds.) (2004) *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. Boca Raton: CRC press, 635p.

Molina-Castillo S, Espinoza-Ortega A, Thomé-Ortiz H, Moctezuma-Pérez S (2023) Gastronomic diversity of wild edible mushrooms in the Mexican cuisine. **International Journal of Gastronomy and Food Science** 31:100652.

Molitoris HP (1994) Mushrooms in medicine. **Folia Microbiologica** 39:91-98.

Moura Rodrigues G, Okura MH (2022) Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development** 11(8):e24711830830.

Muhammad BL, Suleiman B (2015) Global development of mushroom biotechnology. **International journal of Emerging Trends in Science and Technology** 2(06):2660-2669.

Mukherjee A., Mishra, KK, Kharbikar, HL, Rakshit, S., Shubha, K., Anand, S., & Roy, S. Mushroom Marvels: Empowering Hill Farmers of India through Transformative Entrepreneurship. **SATSA Mukhapatra** 28:165-181.

Mwangi RW, Macharia JM, Wagara IN, Bence RL (2022) The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 147:112621.

Najafi B, Faizollahzadeh Ardabili S, Shamshirband S, Chau KW (2019) Spent mushroom compost (SMC) as a source for biogas production in Iran. **Engineering Applications of Computational Fluid Mechanics** 13(1):967-982.

Niazi AR, Ghafoor A (2021) Different ways to exploit mushrooms: A review. **All Life** 14(1):450-460.

Noble R, Thai M, Kertesz MA (2024) Nitrogen balance and supply in Australasian mushroom composts. **Applied Microbiology and Biotechnology** 108(1):151.

Ogawa K, Yashima T (2019) MRI visualization of shiitake mycelium growing in woodchip blocks used for shiitake mushroom cultivation. **Magnetic Resonance Imaging** 58:90-96.

Oliveira GD, Jesus GL, Silva RSA, Cuquel FL (2022) King oyster mushroom production in axenic blocks supplemented with brewery residue. In: XXXI INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS (IHC2022): INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AGROECOLOGY AND SYSTEM APPROACH FOR SUSTAINABLE. 1355 (pp. 363-368). **ISHS Acta Horticulturae** Angers: ISHS1355.

Özçelik E, Pekşen A (2007) Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). **Bioresource technology** 98(14), 2652-2658.

Öztürk C, Atila F (2021) Changes in lignocellulosic fractions of growing substrates during the cultivation of *Hypsizygus ulmarius* mushroom and its effects on mushroom productivity. **Scientia Horticulturae** 288:110403.

Paccola-Meireles LD (2002) Genética e melhoramento de cogumelos comestíveis. In: Melo IS, Valadares-Inglis MC, Nass LL, Valois ACC (Eds.) **Recursos Genéticos e Melhoramento de Microrganismos**. Jaguariúna: EMBRAPA, p. 357-391.

Parise R, Nadar RM, DeRuiter J, Pathak S, Ramesh S, Moore T, Agrawal DC, Dhanasekaran, M. (2023). Therapeutic and Prophylactic Potential of Medicinal

Mushrooms in COVID-19. In: Agrawal DC, Dhanasekaran M (Eds.) **Mushrooms with Therapeutic Potentials: Recent Advances in Research and Development**. Singapore: Springer Nature Singapore, p. 97-111.

Pérez-Álvarez S, Hector-Ardisana EF, Solano JR, García SAG, Ramírez VHV, Terrazas-Gómez MI (2023) Edible mushrooms—perspectives and considerations. **Notulae Scientia Biologicae** 15(3):11586-11586.

Pérez-Chávez AM, Mayer L, Albertó E (2019) Mushroom cultivation and biogas production: A sustainable reuse of organic resources. **Energy for Sustainable Development** 50:50-60.

Pire DG, Wright JE, Albertó E (2001) Cultivation of shiitake using sawdust from widely available local woods in Argentina. **Micologia Aplicada Internacional** 13(2):87-91.

Philippoussis AN (2009) Production of Mushrooms Using Agro-Industrial Residues as Substrates. In: Nee' Nigam PS, Pandey A (Eds.) **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation**. Dordrecht: Springer, p. 163-196.

Philippoussis A, Diamantopoulou P, Israilides C (2007) Productivity of agricultural residues used for the cultivation of the medicinal fungus *Lentinula edodes*. **International Biodeterioration & Biodegradation** 59(3):216-219.

Rahmann G, Reza AM, Bàrberi P, Boehm H, Canali S, Chander M, ..., Zanolì R (2017) Organic agriculture 3.0 is innovation with research. **Organic Agriculture** 7(3):169–197.

Ranjithkumar M, Uthandi S, Kumar PS, Muniraj I, Thanabal V, Rajarathinam R (2022) Highly crystalline cotton spinning wastes utilization: Pretreatment, optimized hydrolysis and fermentation using *Pleurotus florida* for bioethanol production. **Fuel**, 308:122052.

Rhiner D (2021). Evaluating Regional Agricultural Wastes as Substrates for the Mycelial Growth and Fruiting Body Yield of *Pleurotus ostreatus*. In: 24TH ANNUAL SYMPOSIUM OF STUDENT SCHOLARS. KENNESAW STATE UNIVERSITY, Georgia, United States.

Rizzo G, Goggi S, Giampieri F, Baroni L (2021) A review of mushrooms in human nutrition and health. **Trends in Food Science & Technology** 117:60-73.

Rugolo M, Lechner B, Mansilla R, Mata G, Rajchenberg M (2020) Evaluation of *Pleurotus ostreatus* basidiomes production on Pinus sawdust and other agricultural and forestry wastes from Patagonia, Argentina. **Maderas. Ciencia y tecnología** 22(4):517-526.

Ryoo R, Lee H, Park Y (2024) Potential Antiviral Effect of Korean Forest Wild Mushrooms against Feline Coronavirus (FCoV). **International Journal of Medicinal Mushrooms** 26(4):1-8.

Savoie JM, Salmones D, Mata G (2007) Hydrogen peroxide concentration measured in cultivation substrates during growth and fruiting of the mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus* spp. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 87(7):1337-1344.

Shahzad F, Anderson D, Najafzadeh M (2020) The antiviral, anti-inflammatory effects of natural medicinal herbs and mushrooms and SARS-CoV-2 infection. **Nutrients** 12(9): 2573.

Sher H, Al-Yemeni M, Khan K (2011) Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) in two different agroecological zones of Pakistan. **African Journal of Biotechnology** 10(2):183-188.

Silva RSA, Jarek TM, de Jesus GL, de Oliveira GD, Cuquel FL (2024) Incubation period of axenic shiitake (*Lentinula edodes* L.) blocks. **Observatório de la Economía Latinoamericana** 22(3):e3556.

Siqueira FG, Maciel WP, Martos ET, Duarte GC, Miller RN, da Silva R, Dias ES (2012) Cultivation of *Pleurotus* mushrooms in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. **African Journal of Biotechnology** 11(53):11630-11635.

Soković M, Glamočlija J, Ćirić A, Petrović J, Stojković D (2018) Mushrooms as sources of therapeutic foods. In: Holban AM, Grumezescu AM (Eds.), **Therapeutic Foods**. Cambridge: Academic Press, pp. 141-178.

Souza TP, Marques SC, Santos DMS, Dias ES (2014) Analysis of thermophilic fungal populations during phase II of composting for the cultivation of *Agaricus subrufescens*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 30:2419-2425.

Steffen GPK, Steffen RB, Handte VG, Costa AFP, Piaia A, Morais RM (Eds.) (2020) Produção de cogumelos comestíveis em substratos orgânicos. Porto Alegre: DDPA Circular: divulgação técnica, 36p.

Thakur MP (2020) Advances in mushroom production: key to food, nutritional and employment security: A review. **Indian Phytopathology** 73:377-395.

Thangadurai D, Naik J, Sangeetha J, Al-Tawaha ARMS, Adetunji CO, Islam S, David M, Shettar AK, Adetunji, J. B. (2021). Nanomaterials from agrowastes: Past, present, and the future. In: Kharissova OV, Torres-Martinez LM, Khavisov BI (Eds.) **Handbook of nanomaterials and nanocomposites for energy and environmental applications**. Springer Nature Switzerland, p. 471-487.

Tsujiyama SI, Ueno H (2013) Performance of wood-rotting fungi-based enzymes on enzymic saccharification of rice straw. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 93(11):2841-2848.

Tóth G (2019) Circular economy and its comparison with 14 other business sustainability movements. **Resources** 8(4):159.

Tuhy Ł, Samoraj M, Witkowska Z, Wilk R, Chojnacka K (2015) Using spent mushroom substrate as the base for organic-mineral micronutrient fertilizer–field tests on maize. **BioResources** 10(3):5709-5719.

Urban AF (Ed) (2018) Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. Brasília: Embrapa, 272 p.

Wang S, Li W, Liu L, Qi H, You H (2022) Biodegradation of decabromodiphenyl ethane (DBDPE) by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*: Characteristics, mechanisms, and toxicological response. **Journal of Hazardous Materials** 424:127716.

Wassilieff M (2008). Mushrooms and other cultivated fungi - Mushroom industry. In: TE ARA - THE ENCYCLOPEDIA OF NEW ZEALAND. Disponível em: <<http://www.TeAra.govt.nz/en/diagram/16818/stages-in-commercial-mushroom-production>> Acesso em: 11 jun. 2024.

Williams BC, McMullan JT, McCahey S (2001) An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. **Bioresource Technology** 79(3):227-230.

Wojewoda W, Mirek Z (Eds.) (2003) Checklist of Polish Larger Basidiomycetes. Cracow: Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 812p.

Wu SR, Zhao CY, Hou B, Tai LM, Gui MY (2013) Analysis on Chinese edible fungus production area layout of nearly five years. **Edible Fungi China**, 1:51-53.

Yang G, Ma Y, Ma X, Wang X, Lu C, Xu W, Luo J, Guo D (2024) Changes in soil organic carbon components and microbial community following spent mushroom substrate application. **Frontiers in Microbiology** 15:1351921.

Yu H, Zhang D, Zhang L, Li Q, Song C, Shang X, Bao D, Tan Q, Chen H, Lv, B. (2021). Corn cob as a Substrate for the Cultivation of *Lentinula edodes*. **Waste and Biomass Valorization** 13:929-939.

Zak DR, Pellitier PT, Argiroff W, Castillo B, James TY, Nave LE, ..., Tunlid A (2019) Exploring the role of ectomycorrhizal fungi in soil carbon dynamics. **New Phytologist** 223(1):33-39.

Zhang HL, Wei JK, Wang QH, Yang R, Gao XJ, Sang YX, Cai PP, Zhang GQ, Chen QJ (2019) Lignocellulose utilization and bacterial communities of millet straw-based mushroom (*Agaricus bisporus*) production. **Scientific Reports** 9(1):1151.

Zied DC, Freitas, MAS, Moreira BRA, Alves LS, Pardo-Giménez A (2023) A Comparative Analysis of Biodegradation and Bioconversion of *Lentinula edodes* and Other Exotic Mushrooms. **Microorganisms** 11(4):897.

Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.) (2017) Edible and medicinal mushrooms: technology and applications. New York: John Wiley & Sons, 562p.

## **CAPÍTULO 2 – Do resíduo ao recurso: reutilização sustentável do substrato pós-cultivo de shiitake em ciclos subsequentes de produção**

**RESUMO** – A valorização dos resíduos agrícolas é uma prática do cultivo de cogumelos e promove a economia circular e a sustentabilidade ambiental. No entanto, mesmo após a produção de um excelente alimento, a atividade gera um subproduto, chamado de *Spent Mushroom Substrate* (SMS) ou substrato pós-cultivo de cogumelos. Seu uso em novos ciclos de produção, pode ser uma alternativa para garantir a reciclagem e redução de custos de produção. O objetivo deste trabalho foi verificar a utilização do SMS de *Lentinula edodes* em novos ciclos de produção, reduzindo a concentração de farelos no substrato. Foram realizados três ciclos de produção sucessivos com dois tipos de substrato inicial (alto-N e baixo-N). Os resíduos do primeiro ciclo foram adicionados aos substratos do segundo com 5%, 10% e 20% de SMS. Posteriormente o SMS de cada porcentagem foi utilizada para a formulação de novos substratos também com 5, 10 e 20%. Como controle foi utilizado uma formulação sem adição de SMS. Para substratos alto-N foi utilizado a formulação do substrato com serragem (75%), farelo de trigo (12,5%), farelo de arroz (12,5%) e calcita (2%). Para substratos baixo-N utilizou-se serragem (83%), farelo de trigo (7,5%), farelo de arroz (7,5%) e calcita (2%). Os cogumelos foram então colhidos durante os ciclos de produção, contados e pesados para a determinação de: produtividade (%), número de cogumelos e massa de cogumelos (g). Também foram determinados os valores de nitrogênio (N), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), relação C/N, condutividade elétrica e pH dos substratos utilizados assim como dos SMS dos dois primeiros experimentos. Verificou-se que a redução de farelos no substrato baixo-N reduz o rendimento do shiitake, independente da adição de SMS. O uso de SMS foi eficiente no terceiro ciclo, especialmente para o substratos alto-N com 5% ou 10% de SMS. A eficácia do SMS depende dos nutrientes principalmente nitrogênio. São necessários mais estudos para compreender os ganhos econômicos e energéticos, bem como a emissão de gases e a fixação de carbono associados a essa tecnologia.

**Palavras-chave:** Substratos de cultivo, economia circular, cultivo de cogumelos, reciclagem de substratos, sustentabilidade na fungicultura.

## 1. INTRODUÇÃO

O sistema de produção agrícola é, em sua maioria, considerado uma atividade intensiva (Campbell et al., 2017). Tem surgido sistemas alternativos de produção que se propõe a garantir o bem-estar humano e ambiental (Devkota et al. 2020; Deguine et al., 2023; Finger et al., 2024). A economia circular é uma ferramenta para de projetar sistemas industriais ou feitos pelo homem, desde que tenham como base os princípios ecológicos para alcançar a sustentabilidade (Tóth, 2019; Fang et al., 2024).

A produção de cogumelos é uma atividade que abrange conceitos da economia circular, utilizando-se de resíduos agrícolas, como palhas, bagaços, restos de culturas, e outros (Thakur, 2020; Goglio et al., 2024) na geração de alimentos ricos em polissacarídeos, aminoácidos essenciais, fibras, vitaminas e minerais, principalmente quando preparados frescos (Mattila et al., 2001; Krittanawong et al., 2021).

O consumo de cogumelos no Brasil ainda é baixo em comparação com outros países (Rodrigues et al., 2022), sendo influenciado principalmente pelo alto custo, o que se justifica pelo baixo poder aquisitivo de parte da população (Cianni et al., 2023). Esse cenário reflete a ausência de tecnologias específicas para a fungicultura local (Guedes et al., 2021), agravado pela recente volatilidade do mercado agrícola, que afeta diretamente alguns insumos utilizados na produção e eleva os custos produtivos (Huang et al., 2021; Mustafá et al., 2024).

A comunidade científica busca alternativas que visem reduzir os custos de produção e tornar a produção de cogumelos ainda mais sustentável, como a destinação e utilização do *Spent Mushroom Substrate* (SMS), que é o substrato residual do final do ciclo de produção (Leong et al., 2022; Alves et al., 2024). Mesmo diante dos avanços da utilização do SMS, grande parte deste resíduo ainda é descartada em aterros, incinerados, queimados a céu aberto ou dispostos no solo de forma inadequada, causando incômodos ambientais, que incluem a contaminação do solo e poluição do ar e dos cursos d'água (Lam et al., 2019), bem como potencializa o índice de contaminação da própria produção de cogumelos.

Em comparação com as alternativas, a reintrodução do SMS em novos cultivos é uma prática recente que é considerada eficaz (Leong et al., 2022). No final do

processo produtivo, o substrato ainda possui quantidades significativas de nutrientes e composto orgânicos, favorecendo sua utilização. Entretanto, metodologias e protocolos para sua utilização ainda são escassos, o que impede que sua dinâmica seja totalmente compreendida (Zied et al., 2020).

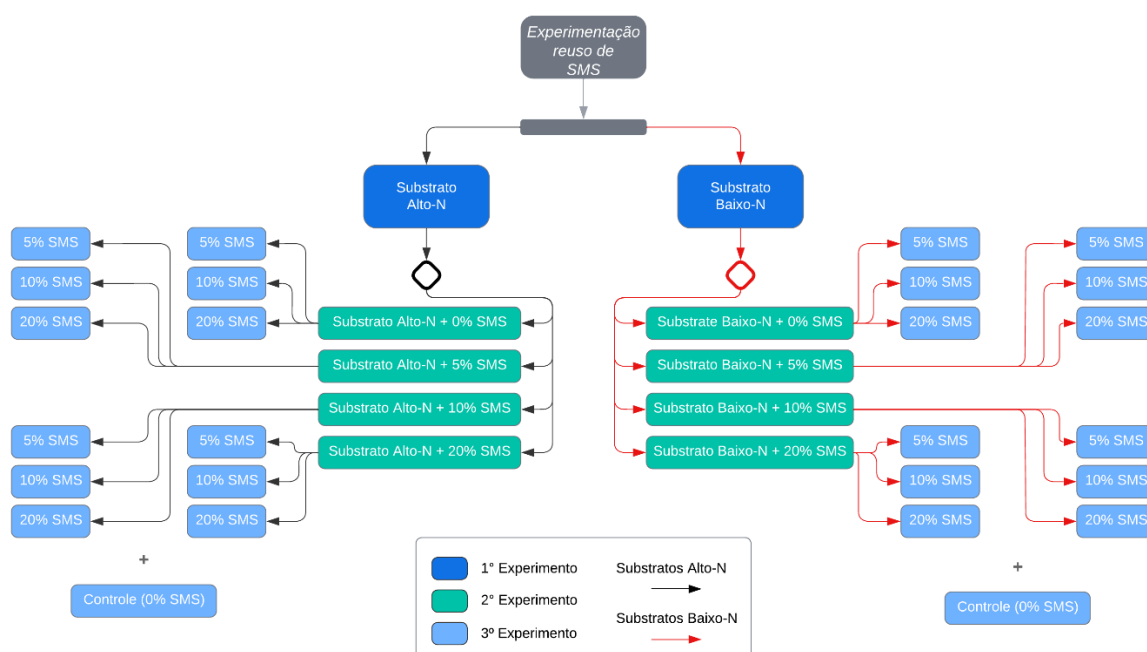
*Lentinula edodes*, popularmente conhecido como shiitake e xianggu (Yan et al., 2021; Wen et al., 2022), é o segundo cogumelo mais cultivado do mundo e utilizado a muitos anos principalmente na tradição oriental, como alimento e medicamento, sendo considerado um dos cogumelos mais importantes. Isto ocorre principalmente por sua variedade de biomoléculas medicinais, incluindo polissacarídeos, lipídios, esteróis, entre outros, além da sua composição com quantidades significativas de micronutrientes, vitaminas e fibras (Bisen et al., 2010; Skovic et al., 2018). Não obstante, devido à sua proporção específica de cultivo, o shiitake é, conseqüentemente, responsável por grande parte da geração de resíduos na fungicultura.

A cada quilo de cogumelo colhido, aproximadamente 5 kg de SMS são gerados (Zied et al., 2021). A produção mundial de cogumelos é de 34,8 bilhões de quilogramas por ano (Royse et al., 2017), sendo que 22% deste valor se refere à produção de *L. edodes*, o que equivale a uma quantidade de SMS anual de 38,3 bilhões de quilogramas. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi estudar a destinação do SMS de *L. edodes* em novos ciclos sucessivos de produção de substrato.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O presente estudo foi conduzido no Centro de Estudos em Cogumelos (CECOG), da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Dracena. A pesquisa foi estruturada em três etapas. Inicialmente, foi realizado um estudo comparativo entre substrato alto-N e baixo-N para o cultivo de *L. edodes*. Adicionalmente, investigou-se a utilização do SMS na formulação de novos ciclos de produção.

O primeiro experimento foi composto por dois tipos de substratos: o substrato alto-N, com maior adição de farelos, e o substrato baixo-N, com menor adição. No segundo experimento, testaram-se diferentes dosagens de SMS (5%, 10% e 20%) na formulação de novos substratos. Com a adição do SMS, a porcentagem de farelos foi reduzida proporcionalmente. O SMS utilizado nesse experimento provinha do primeiro experimento. Finalmente, no terceiro experimento, utilizou-se o SMS do segundo experimento para formular novos substratos, onde cada tratamento do experimento anterior gerou três novos substratos, com variação das dosagens. Em todas as três experimentações foi mantida a distinção entre substratos alto-N e baixo-N (Figura 1).



**Figura 1.** Esquema de condução experimental da utilização de substrato pós-cultivo de *Lentinula edodes* em ciclos subsequentes. SMS: Spent Mushroom Substrate.

## 2.1. Primeiro experimento

Na primeira etapa, foram utilizados dois substratos para a produção. O primeiro, composto por serragem (75%), farelo de trigo (12,5%) e farelo de arroz (12,5%), foi denominado substrato alto-N. O segundo possuía uma quantidade menor de farelos (15%), sendo metade de farelo de trigo (7,5%) e farelo de arroz (7,5%), o que o levou

a ser considerado um substrato baixo-N. Ao final dessa etapa, os dados de rendimento agrônomo foram coletados para avaliação. Posteriormente, o SMS foi triturado ainda fresco e imediatamente utilizado na etapa seguinte.

## **2.2. Segundo experimento**

Utilizando o SMS do cultivo anterior (primeiro experimento), foram realizadas as formulações da segunda etapa, mantendo a distinção entre substrato alto-N e substrato baixo-N. Cada substrato recebeu uma porcentagem específica de SMS, com a quantidade de farelos sendo reduzida proporcionalmente. Foram utilizadas três doses de SMS: 5%, 10% e 20%, além de um controle que não recebeu o resíduo (0%). Para o substrato alto-N, em que a concentração de farelo inicial era de 25%, a quantidade de farelos foi reduzida conforme a adição de SMS. Por exemplo, no substrato com 5% de SMS, foram 20% de farelos. O mesmo procedimento foi realizado para o substrato baixo-N, no qual a adição de farelos é limitada a 15%. No substrato com 20% de SMS, a adição de farelos foi eliminada e a de serragem reduzida em 5%.

## **2.3. Terceiro experimento**

Na última etapa, foi realizado mais um ciclo de produção com diferentes doses de SMS, em que cada dose utilizada no experimento anterior (segundo experimento) serviu como base para três novas concentrações. Por exemplo, o SMS proveniente do substrato alto-N com 5% de SMS foi utilizado na formulação de novos substratos com 5%, 10% e 20% de SMS. O mesmo procedimento foi adotado para as demais doses. Além disso, manteve-se a distinção entre os substratos alto-N e baixo-N.

## **2.4. Produção do substrato**

A produção dos substratos foram realizadas conforme as porcentagens descritas anteriormente. Na formulação de todos os experimentos foi utilizado 25% de

farelos, sendo 12,5% de farelo de arroz, 12,5% de farelo de trigo para o substrato alto-N e 15% de farelos, sendo 7,5% de farelo de trigo e 7,5% de farelo de arroz para o substrato baixo-N. Todos os substratos receberam a adição de 2% de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) para correção do pH. Como base para o substrato, utilizou-se a serragem de eucalipto nas porcentagens de 73% e 83% nos substratos alto-N e baixo-N, respectivamente, exceto no caso de tratamentos com redução de serragem devido à adição de substrato pós-cultivo (substratos baixo-N). Para a formulação, todos os ingredientes foram misturados até a sua completa homogeneização. A umidade do substrato foi corrigida até atingir 65%. Em seguida, o substrato foi ensacado na quantidade de 2 kg, prensado e autoclavado por 4 horas a 121 °C.

## **2.5. Produção do inóculo e inoculação**

A produção do inóculo foi realizada conforme metodologia proposta por Moreaux (2017), com a produção de matriz primária, secundária, terciária e inóculo. Para a produção de matriz terciária e inóculo, foi utilizada a formulação do substrato de cultivo contendo 78% de serragem de eucalipto, 10% de farelo de trigo, 10% de farelo de arroz e 2% de carbonato de cálcio. Utilizou-se a linhagem de LED 19/11 de *L. edodes* isolada de produtores da região de Botucatu, no Estado de São Paulo, Brasil. A inoculação ocorreu em ambiente controlado, através da utilização de fluxo laminar, onde 2% (40g) do peso do substrato foi adicionado de inóculo. Ao final, os blocos foram selados e conduzidos à sala de incubação, permanecendo em uma temperatura de 26 a 28 °C e umidade relativa de 80 a 85%.

## **2.6. Produção e colheita dos cogumelos**

Ao final do período de colonização, os blocos foram retirados das embalagens plásticas, lavados em água corrente para a remoção dos exsudados e, em seguida, transferidos para a sala de produção, onde permaneceram a uma temperatura de  $19 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $80 \pm 5\%$ . Para os substratos alto-N, esse procedimento foi realizado após 80 dias de incubação, enquanto que para os substratos baixo-N,

foram necessários 90 dias até a completa formação da capa micelial. Foram realizados quatro fluxos de produção; entre cada um deles, os blocos foram submersos em um tanque com água por 8 horas, visando à indução da frutificação. A colheita foi feita manualmente, respeitando-se o ponto ideal de colheita (antes da completa abertura do píleo). Os cogumelos foram contados e pesados para as avaliações das características agronômicas.

## **2.7. Variáveis analisadas**

Os experimentos foram avaliados quanto às seguintes características agronômicas: produtividade (massa de cogumelos colhidos\*100 / massa úmida do substrato inicial), número de cogumelos e massa de cogumelos (massa fresca de cogumelos / número de cogumelos). Também foram determinadas as características químicas dos substratos e do SMS utilizado, com a análise de macronutrientes, relação C/N, condutividade elétrica e pH seguindo as metodologias propostas pelo Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos (Mapa, 2007; Mapa, 2017).

## **2.8. Delineamento experimental e análise dos resultados**

Todos os experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um total de 10 repetições, onde o primeiro experimento foi conduzido em um fatorial simples com 2 substratos (alto-N e baixo-N), perfazendo 20 unidades experimentais. O segundo foi conduzido em esquema fatorial duplo com 2 substratos (alto-N e baixo-N) e 4 dosagens de SMS, perfazendo 80 unidades experimentais. Por último, o terceiro experimento foi conduzido em fatorial duplo, sendo dois substratos (alto-N e baixo-N) e diferentes formulações de SMS do experimento passado (0%, 5%, 10% e 20%), acrescidos de novas porcentagens de SMS (5%, 10% e 20%), além do tratamento sem a adição de SMS, perfazendo 260 unidades experimentais. Após a obtenção dos dados, eles foram submetidos à análise de variância e posteriormente comparados pelo teste de médias de Tukey a 5% de

probabilidade. Para a estatística e a confecção dos gráficos foi utilizado o software R (R Core Team, 2024).

### 3. RESULTADOS

A experimentação foi conduzida em três etapas. Após a primeira etapa foi testada a utilização do SMS do experimento anterior para a formulação de um novo substrato em diferentes doses. Além disso, foram utilizados dois tipos de substrato: um substrato padrão (alto-N), com suplementação comercial, e um substrato baixo-N, com suplementação reduzida.

#### 3.1. Primeiro experimento

A redução dos farelos de 25% (substrato alto-N) para 15% (substrato baixo-N) resultou em uma diminuição significativa da produtividade de *L. edodes*, demonstrando um decréscimo de aproximadamente 38%. Observou-se também que o substrato alto-N produziu uma quantidade maior de cogumelos que apresentaram uma menor massa (Tabela 1).

**Tabela 1.** Rendimento de *Lentinula edodes* cultivado em substratos com diferentes formulações.

Substrato	Produtividade (%)	Massa Média de cogumelos (g)	Número Cogumelos (un)
Alto-N	32,66 a	26,23	31,5 a
Baixo-N	23,61 b	29,55	20,91 b
Média	28,13	27,89	26,2
DMS	4,13	3,55	5,34
CV (%)	17,35	15,06	24,08

Médias seguidas de letras distintas entre linhas diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS= Diferença mínima significativa. CV= Coeficiente de variação.

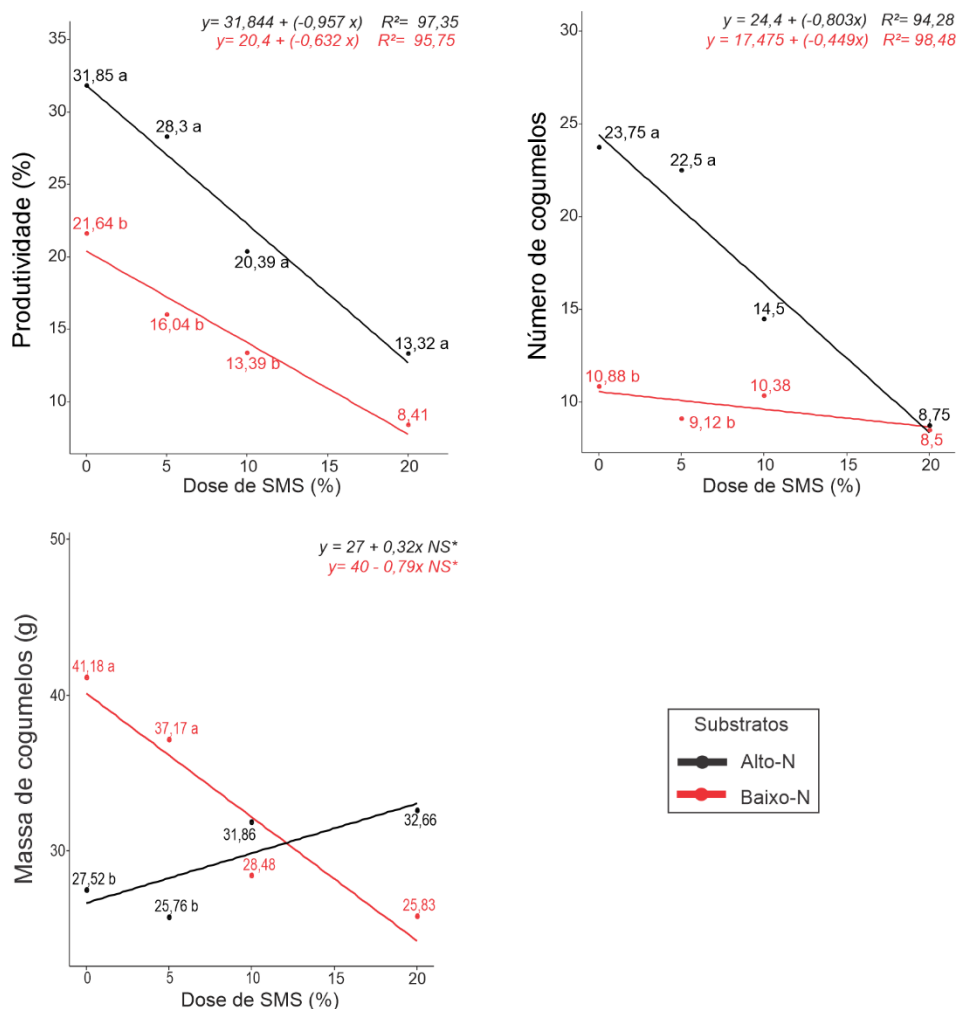
Tal produtividade obtida pelo substrato alto-N são adquiridas pelo maior teor de N e a menor relação C/N. O substrato baixo-N apresentou maior teor de Ca. Nota-se que ao final do cultivo, o SMS foi mineralizado, proporcionando um incremento nos valores de todos os elementos químicos e reduzindo a relação C/N, o que o deixou apto para uso em novas formulações de substratos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise química de substrato e *Spent Mushroom Substrate* (SMS) do primeiro experimento, considerando substratos alto-N e baixo-N para a produção de *Lentinula edodes*.

Substratos	N	Ca	Mg	Na	Relação C/N	Condutividade elétrica mS/cm	pH
	% (ao natural)			mg/kg			
Alto-N	0,64 ± 0,01	0,66 ± 0,01	0,35 ± 0,01	212,10 ± 4,24	73 ± 1,46	1,43 ± 0,03	5,83 ± 0,11
Baixo-N	0,50 ± 0,01	0,84 ± 0,01	0,34 ± 0,01	211,43 ± 4,22	92 ± 1,84	1,11 ± 0,02	5,60 ± 0,11
<b>Spent Mushroom Substrate (SMS)</b>							
SMS alto-N	1,07 ± 0,02	2,42 ± 0,04	1,13 ± 0,02	347,03 ± 6,94	36 ± 0,72	4,24 ± 0,08	4,07 ± 0,08
SMS baixo-N	0,80 ± 0,01	2,40 ± 0,04	0,85 ± 0,02	348,16 ± 6,96	47 ± 0,94	2,83 ± 0,06	4,19 ± 0,08

### 3.2. Segundo experimento

A análise de regressão para a segunda experimentação mostrou que a adição de SMS proveniente do primeiro experimento de *L. edodes* reduziu a produtividade. Quanto maior a dose utilizada, maiores foram as perdas, tanto em substratos alto-N quanto em baixo-N. É interessante mencionar que o substrato alto-N, quando adicionado de 10% de SMS, numa formulação com 15% de farelo, obteve uma produtividade muito semelhante ao substrato baixo-N, sem o uso de SMS, com 15% de farelos, e com valores de 20,39% e 21,64%, respectivamente. O número de cogumelos para o substrato alto-N também é reduzido conforme o aumento da dose; no entanto, para substratos baixo-N, os números se mantêm com uma menor variação, inclusive não diferindo do substrato alto-N para as doses de 10 e 20%. Para a massa de cogumelos, a análise de regressão não foi significativa (Figura 2).



**Figura 2.** Análise de regressão para parâmetros agrônômicos de *Lentinula edodes*, cultivados com diferentes doses de *Spent Mushroom Substrate*. Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A aplicação de porcentagens crescentes de SMS proporcionou uma redução no teor de N nos substratos, e um incremento dos teores de Ca, Mg, Na e condutividade elétrica. Ao comparar os valores de N e relação C/N dos substratos alto-N sem SMS do primeiro e segundo experimento, verificou-se que o substrato do segundo experimento possuía maior teor de N (0,71%) e menor relação C/N (64/1). Como consequência, o substrato pós-cultivo alto-N, sem a aplicação de SMS em sua formulação, apresentou um elevado valor de N (1,32%) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Análise química de substrato e *Spent Mushroom Substrate* (SMS) do segundo experimento, considerando substratos alto-N e baixo-N para a produção de *Lentinula edodes*.

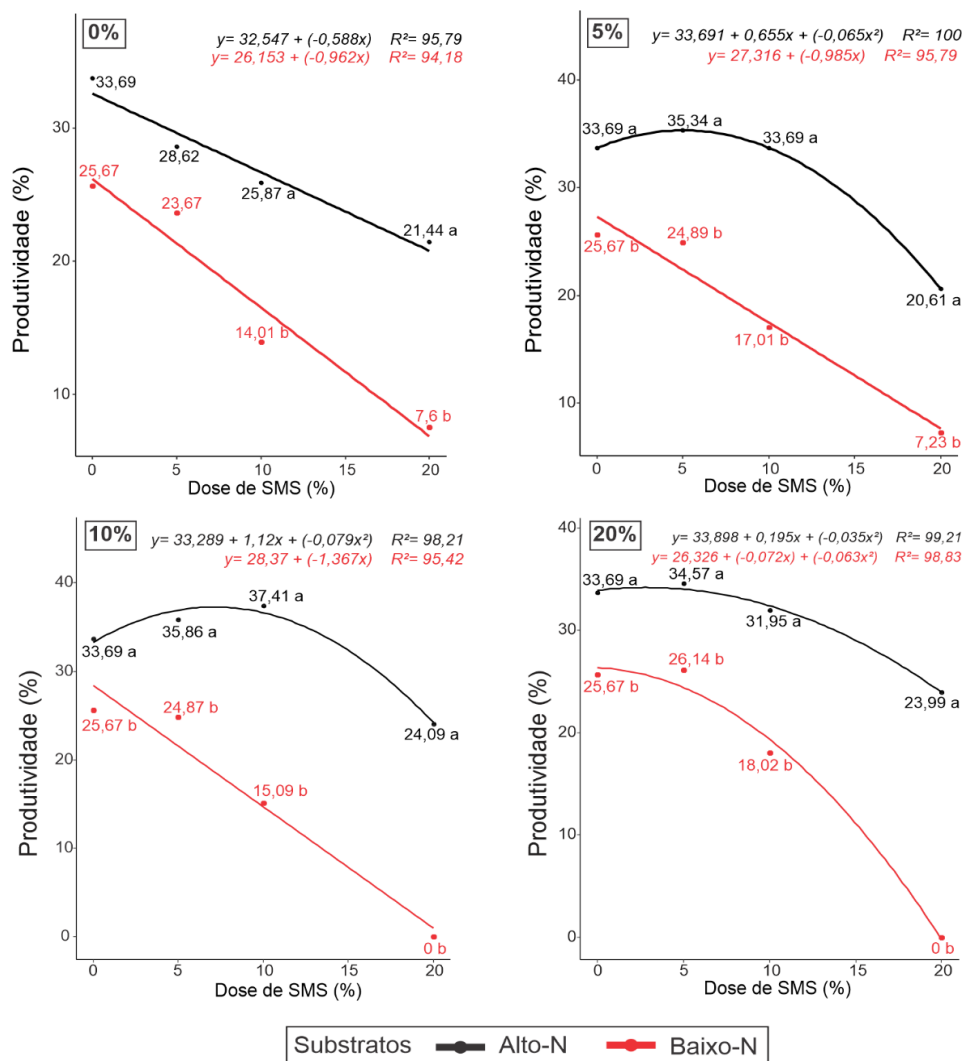
Substrato	N	Ca	Mg	Na	Relação C/N	Condutividade Elétrica mS/cm	pH
	% (ao natural)			mg/kg			
Alto-N + 0% SMS	0,71 ± 0,01	0,93 ± 0,02	0,43 ± 0,01	210,90 ± 4,22	64 ± 1,28	1,55 ± 0,03	6,03 ± 0,12
Alto-N + 5% SMS	0,65 ± 0,01	1,01 ± 0,02	0,45 ± 0,01	228,43 ± 4,57	70 ± 1,42	1,55 ± 0,03	6,02 ± 0,12
Alto-N + 10% SMS	0,59 ± 0,01	1,10 ± 0,02	0,47 ± 0,01	245,96 ± 4,92	75 ± 1,51	1,56 ± 0,03	6,00 ± 0,12
Alto-N + 20% SMS	0,47 ± 0,01	1,27 ± 0,03	0,50 ± 0,01	281,03 ± 5,62	88 ± 1,77	1,57 ± 0,03	6,04 ± 0,12
Baixo-N + 0% SMS	0,48 ± 0,01	0,86 ± 0,02	0,36 ± 0,01	211,27 ± 4,23	96 ± 1,92	1,14 ± 0,02	6,01 ± 0,12
Baixo-N + 5% SMS	0,41 ± 0,01	0,94 ± 0,02	0,36 ± 0,01	228,47 ± 4,57	115 ± 2,30	1,07 ± 0,02	6,00 ± 0,13
Baixo-N + 10% SMS	0,33 ± 0,01	1,03 ± 0,02	0,36 ± 0,01	245,69 ± 4,91	136 ± 2,73	0,99 ± 0,02	6,00 ± 0,11
Baixo-N + 20% SMS	0,19 ± 0,00	1,20 ± 0,02	0,37 ± 0,01	280,12 ± 5,60	228 ± 4,56	0,85 ± 0,02	6,01 ± 0,12
<b>Spent Mushroom Substrate (SMS)</b>							
SMS Alto-N + 0%	1,32 ± 0,03	1,92 ± 0,04	1,06 ± 0,02	280,00 ± 5,60	31 ± 0,62	2,35 ± 0,05	4,39 ± 0,06
SMS Alto-N + 5%	1,19 ± 0,02	2,47 ± 0,05	0,94 ± 0,02	365,33 ± 7,31	33 ± 0,66	3,08 ± 0,06	4,46 ± 0,09
SMS Alto-N + 10%	0,93 ± 0,02	2,65 ± 0,05	0,97 ± 0,02	404,77 ± 8,10	42 ± 0,84	3,52 ± 0,07	4,49 ± 0,10
SMS Alto-N + 20%	0,66 ± 0,01	1,91 ± 0,04	0,72 ± 0,01	349,51 ± 6,99	58 ± 1,16	3,07 ± 0,06	4,33 ± 0,09
SMS Baixo-N + 0%	1,11 ± 0,02	2,10 ± 0,04	0,87 ± 0,02	346,14 ± 6,92	38 ± 0,76	4,33 ± 0,09	4,48 ± 0,09
SMS Baixo-N + 5%	0,86 ± 0,02	2,29 ± 0,05	0,84 ± 0,02	348,00 ± 6,96	48 ± 0,96	3,90 ± 0,08	4,43 ± 0,09
SMS Baixo-N + 10%	0,55 ± 0,01	2,52 ± 0,05	0,79 ± 0,02	345,51 ± 6,91	71 ± 1,42	2,98 ± 0,06	4,43 ± 0,08
SMS Baixo-N + 20%	0,39 ± 0,01	2,75 ± 0,05	0,78 ± 0,02	369,83 ± 7,40	98 ± 1,96	2,74 ± 0,05	4,42 ± 0,09

\*SMS proveniente do primeiro experimento.

### 3.3. Terceiro experimento

As diferentes porcentagens de SMS utilizados no experimento anterior (5%, 10% e 20%), proporcionou um aumento de produtividade no substrato alto-N, enquanto que o substrato baixo-N apresentou, como no segundo experimento, uma redução na produtividade. Notavelmente, a dosagem de 10% (substrato alto-N) resultou em médias mais expressivas e significativas, conforme a análise de regressão, com um aumento de produção até a dosagem de 10%, atingindo 37,41% de produtividade, o que representa um incremento de aproximadamente 11% na produtividade. Os demais substratos de base rica (alto-N) foram responsivos até à dosagem de 5%, com exceção do tratamento controle (0%), que apresentou rendimentos menores com diferentes doses de SMS, assim como demonstrado nos experimentos anteriores. Para os substratos de base pobre (baixo-N), apenas o

resíduo de dosagem 20% em relação ao experimento anterior, foi responsivo até a dosagem de 5%, com um modesto aumento de 2% em comparação ao controle, isso em relação à produtividade (Figura 3).



**Figura 3.** Análise de Regressão para rendimento de *Lentinula edodes* cultivado em substrato com diferentes fontes e doses de *Spent Mushroom Substrate* (SMS). Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O uso sucessivo do SMS no terceiro ciclo de produção demonstrou-se viável, inclusive em relação à acidificação do substrato com índices de pH mais baixos no momento da formulação do substrato principalmente quando a dose de 20% de SMS

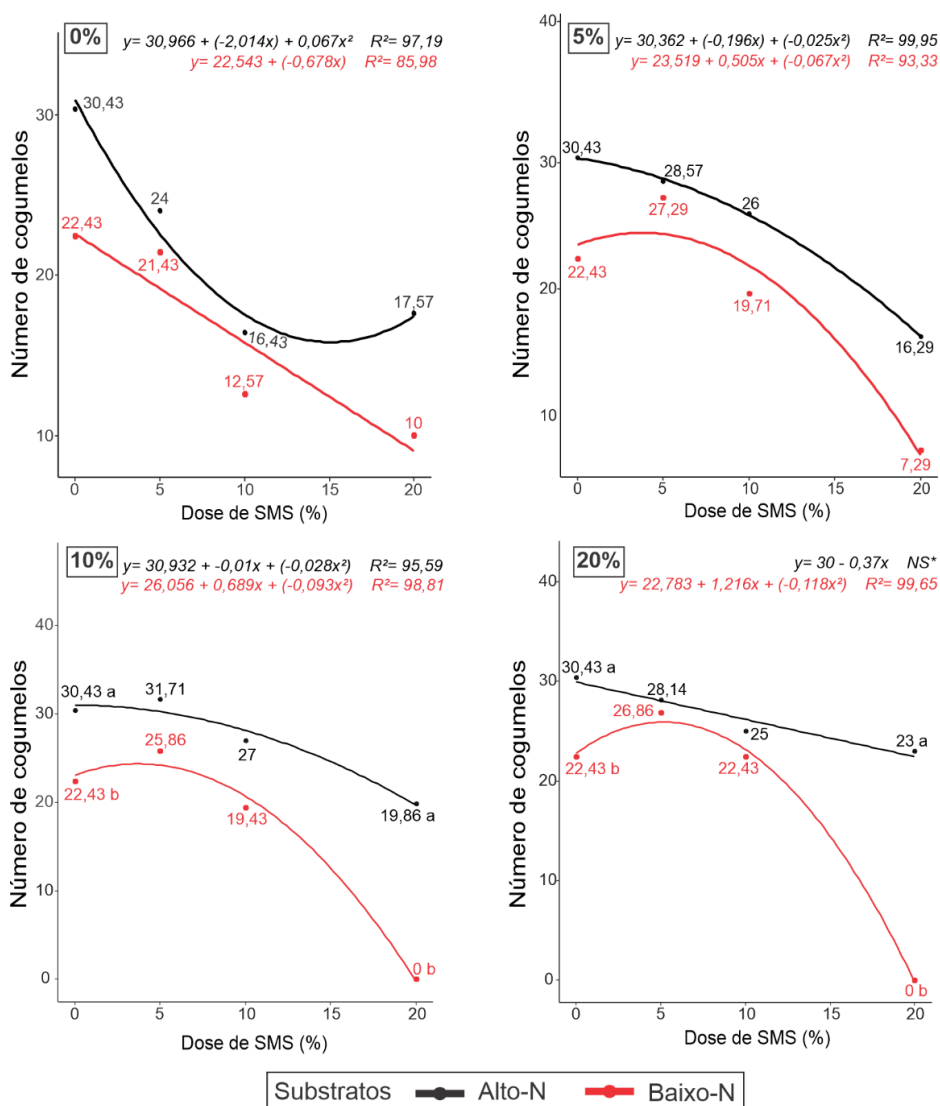
na forma acumulativa foi usada. Isso representa praticamente 40% do volume total do substrato formulado, com resultados na ordem de 4,8. Nota-se que valores intermediários de N e relação C/N foram cruciais para o sucesso desta técnica (Tabela 4).

**Tabela 4.** Análise química de substrato do terceiro experimento, considerando substratos alto-N e baixo-N para a produção de *Lentinula edodes*.

Substrato	N	Ca	Mg	Na mg/kg	Relação C/N	Condutividade Elétrica mS/cm	pH
	% (ao natural)						
Alto-N + 0% SMS	0,83 ± 0,02	0,77 ± 0,02	0,44 ± 0,01	212,21 ± 4,24	58 ± 1,16	1,62 ± 0,03	5,78 ± 0,12
Alto-N + 5% SMS de* 0%	0,77 ± 0,02	0,94 ± 0,02	0,49 ± 0,01	264,71 ± 5,29	62 ± 1,24	1,60 ± 0,03	5,54 ± 0,11
Alto-N + 10% SMS de 0%	0,72 ± 0,01	1,11 ± 0,02	0,55 ± 0,01	317,22 ± 6,34	65 ± 1,30	1,59 ± 0,03	5,30 ± 0,11
Alto-N + 20% SMS de 0%	0,60 ± 0,01	1,46 ± 0,03	0,65 ± 0,01	422,24 ± 8,44	72 ± 1,44	1,56 ± 0,03	4,82 ± 0,10
Alto-N + 5% SMS de 5%	0,77 ± 0,02	1,02 ± 0,02	0,49 ± 0,01	268,97 ± 5,38	63 ± 1,26	1,64 ± 0,03	5,53 ± 0,11
Alto-N + 10% SMS de 5%	0,70 ± 0,01	1,03 ± 0,02	0,53 ± 0,01	325,73 ± 6,51	67 ± 1,33	1,66 ± 0,03	5,29 ± 0,11
Alto-N + 20% SMS de 5%	0,56 ± 0,01	1,80 ± 0,04	0,63 ± 0,02	439,25 ± 8,78	76 ± 1,52	1,71 ± 0,03	4,81 ± 0,10
Alto-N + 5% SMS de 10%	0,75 ± 0,02	1,04 ± 0,02	0,49 ± 0,01	271,00 ± 5,42	64 ± 1,28	1,66 ± 0,03	5,54 ± 0,11
Alto-N + 10% SMS de 10%	0,67 ± 0,01	1,30 ± 0,03	0,54 ± 0,01	329,73 ± 6,59	69 ± 1,39	1,71 ± 0,03	5,29 ± 0,11
Alto-N + 20% SMS de 10%	0,51 ± 0,01	1,84 ± 0,04	0,64 ± 0,01	447,25 ± 8,94	84 ± 1,68	1,80 ± 0,04	4,80 ± 0,10
Alto-N + 5% SMS de 20%	0,74 ± 0,01	1,00 ± 0,02	0,48 ± 0,01	268,22 ± 5,36	65 ± 1,30	1,64 ± 0,03	5,54 ± 0,11
Alto-N + 10% SMS de 20%	0,65 ± 0,01	1,23 ± 0,02	0,51 ± 0,01	324,23 ± 6,48	72 ± 1,44	1,66 ± 0,03	5,31 ± 0,11
Alto-N + 20% SMS de 20%	0,46 ± 0,01	1,69 ± 0,03	0,58 ± 0,01	436,25 ± 8,72	94 ± 1,88	1,71 ± 0,03	4,83 ± 0,10
Baixo-N + 0% SMS	0,58 ± 0,01	1,04 ± 0,02	0,44 ± 0,01	289,24 ± 5,78	85 ± 1,70	1,36 ± 0,03	5,74 ± 0,11
Baixo-N + 5% SMS de 0%	0,51 ± 0,01	1,28 ± 0,03	0,48 ± 0,01	345,05 ± 6,90	96 ± 1,91	1,44 ± 0,03	5,50 ± 0,11
Baixo-N + 10% SMS de 0%	0,44 ± 0,01	1,52 ± 0,03	0,53 ± 0,01	400,86 ± 8,02	107 ± 2,14	1,53 ± 0,03	5,25 ± 0,11
Baixo-N + 20% SMS de 0%	0,29 ± 0,01	2,00 ± 0,04	0,61 ± 0,01	512,48 ± 10,25	146 ± 2,92	1,70 ± 0,03	4,76 ± 0,10
Baixo-N + 5% SMS de 5%	0,50 ± 0,01	1,29 ± 0,03	0,48 ± 0,01	345,15 ± 6,90	98 ± 1,97	1,42 ± 0,03	5,50 ± 0,11
Baixo-N + 10% SMS de 5%	0,41 ± 0,01	1,54 ± 0,03	0,52 ± 0,01	401,06 ± 8,02	114 ± 2,28	1,48 ± 0,03	5,26 ± 0,11
Baixo-N + 20% SMS de 5%	0,24 ± 0,00	2,04 ± 0,04	0,61 ± 0,01	512,88 ± 10,26	178 ± 3,56	1,61 ± 0,03	4,77 ± 0,10
Baixo-N + 5% SMS de 10%	0,48 ± 0,01	1,30 ± 0,03	0,48 ± 0,01	345,05 ± 6,90	102 ± 2,03	1,37 ± 0,03	5,50 ± 0,11
Baixo-N + 10% SMS de 10%	0,38 ± 0,01	1,56 ± 0,03	0,52 ± 0,01	400,86 ± 8,02	123 ± 2,47	1,39 ± 0,03	5,26 ± 0,11
Baixo-N + 20% SMS de 10%	0,18 ± 0,00	2,08 ± 0,04	0,60 ± 0,01	512,48 ± 10,25	239 ± 4,78	1,43 ± 0,03	4,77 ± 0,10
Baixo-N + 5% SMS de 20%	0,47 ± 0,01	1,31 ± 0,03	0,48 ± 0,01	346,25 ± 6,93	104 ± 2,07	1,36 ± 0,03	5,49 ± 0,11
Baixo-N + 10% SMS de 20%	0,36 ± 0,01	1,58 ± 0,03	0,52 ± 0,01	403,26 ± 8,07	130 ± 2,59	1,37 ± 0,03	5,26 ± 0,11
Baixo-N + 20% SMS de 20%	0,15 ± 0,00	2,13 ± 0,04	0,60 ± 0,01	517,28 ± 10,35	294 ± 5,89	1,38 ± 0,03	4,78 ± 0,10

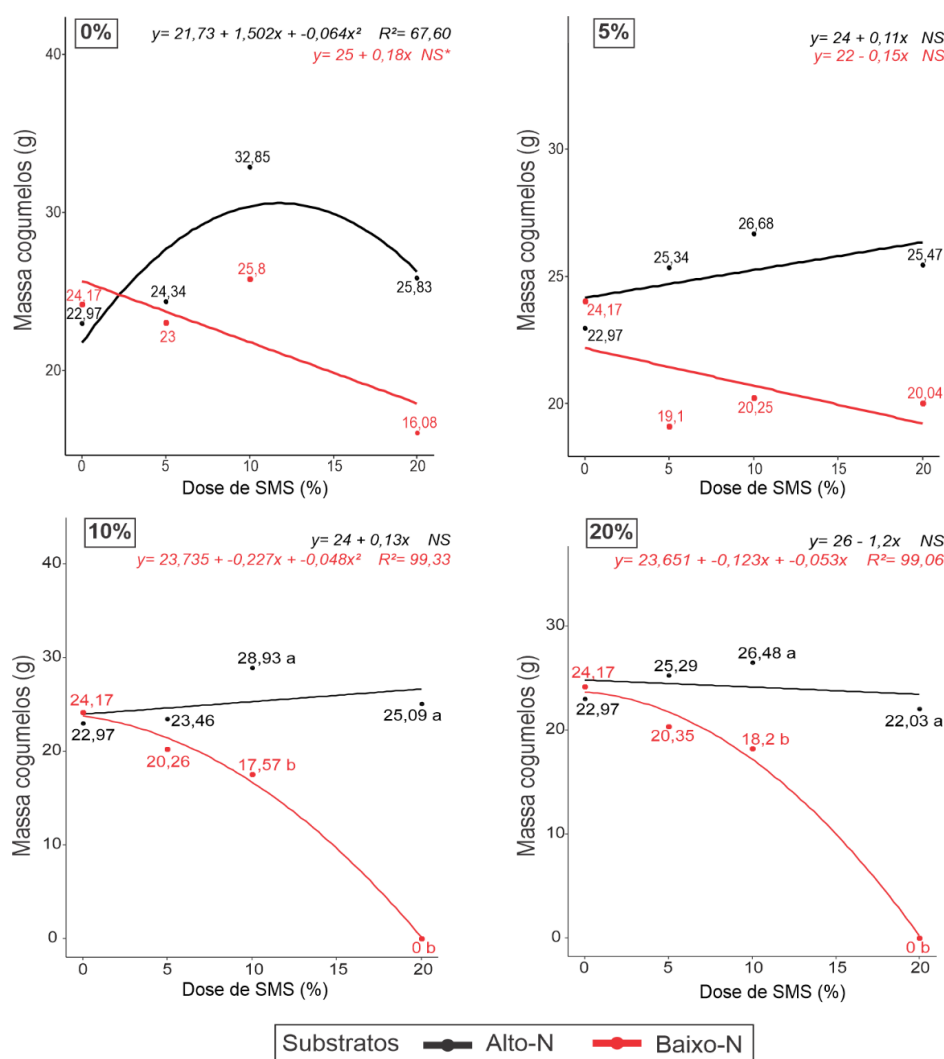
\*indica a origem do SMS referente ao tratamento do segundo experimento.

A análise de regressão para a quantidade de cogumelos produzidos em diferentes substratos mostrou uma redução no número de basidiocarpos com aumento das doses de SMS em substratos alto-N. Em contraste, em substratos baixo-N, observou-se um aumento no número de cogumelos com a dosagem de 5% de SMS, oriundos do cultivo anterior nas misturas com 5, 10 e 20% (Figura 4).



**Figura 4.** Análise de regressão para o número de cogumelos de *Lentinula edodes* cultivados em substrato com diferentes fontes e doses de *Spent Mushroom Substrate* (SMS). Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os substratos alto-N, ao utilizar diferentes dosagens de SMS, apresentaram um incremento no tamanho do cogumelo. Este resultado chama a atenção, mesmo que não significativo nas dosagens de 0 e 5% de SMS do experimento anterior. Em substratos baixo-N, observou-se uma redução na massa média dos cogumelos com a adição de SMS. Como apresentado nos gráficos anteriores, o substrato com 10 e 20% de SMS do experimento anterior, com a dose de 10 e 20% de SMS, não produziram, resultando em massa de cogumelos igual a zero (Figura 5).

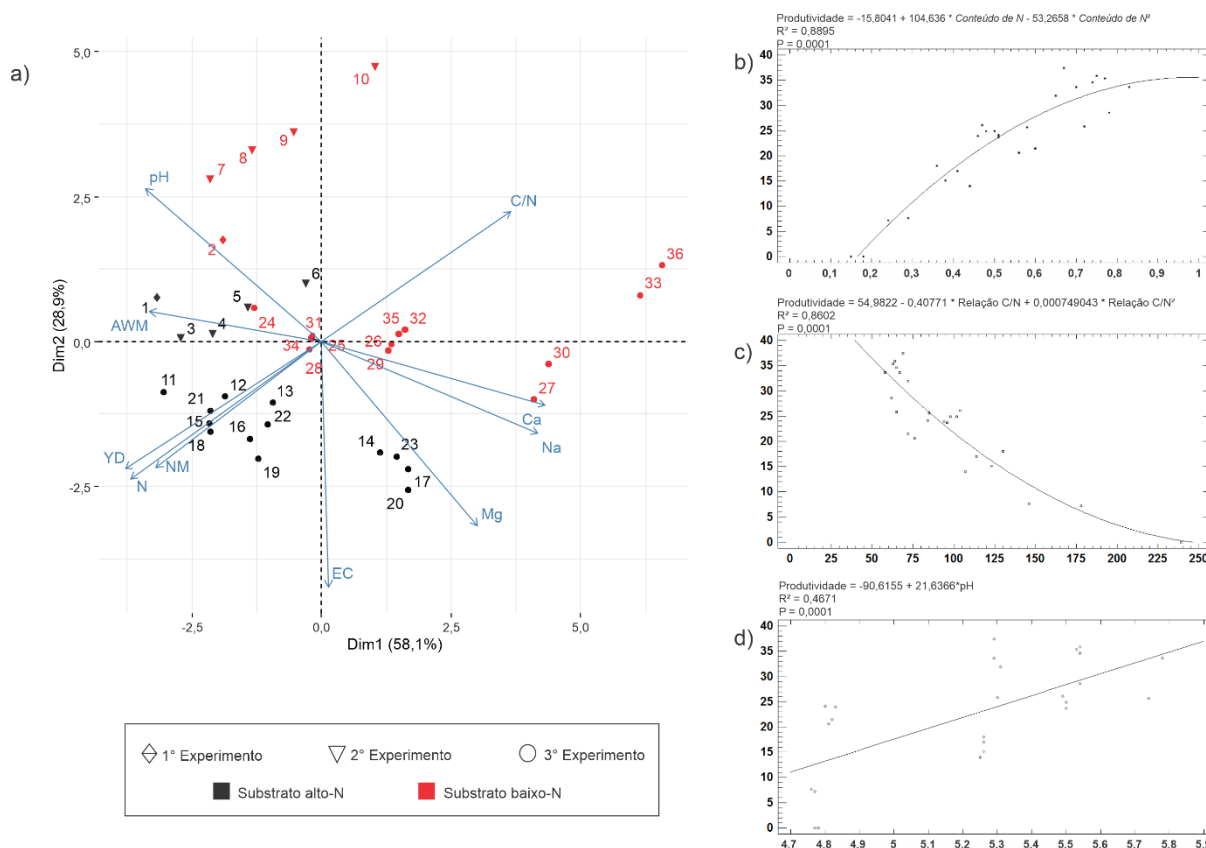


**Figura 5.** Análise de regressão para a massa média de cogumelos de *Lentinula edodes* cultivados em substrato com diferentes fontes e doses de *Spent Mushroom Substrate* (SMS). Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.4. Resultados gerais

Para entender o comportamento das variáveis no conjunto de dados, foram realizadas análises multivariadas. A análise de PCA biplot foi aplicada para reduzir a dimensionalidade e identificar as principais variáveis que contribuem para a variabilidade dos dados. O biplot revelou uma interação entre os diferentes substratos e os parâmetros agronômicos e químicos (Figura 6a). As duas dimensões, Dim1 e Dim2, explicaram 28,9% e 58,1% da variância total, respectivamente. O teor de nitrogênio, a produtividade e o número de cogumelos estão no mesmo quadrante, possuindo uma elevada correlação, se opondo à relação C/N. Nota-se também, que o valor do pH possui uma relação inversa ao cálcio, sódio e magnésio, o que indica que o pH acidifica com a biodegradação do fungo, aumentando o teor destes elementos. Esses resultados sugerem uma complexa interação entre os componentes químicos e agronômicos, com implicações importantes para a otimização das condições de cultivo.

O modelo quadrático demonstra que a partir de 0,8% de nitrogênio a resposta na produtividade já não é tão ascendente, o que pode aumentar o custo de produção devido à utilização de farelos e também o risco de contaminação principalmente se adicionado uma dose elevada de SMS (Figura 6b). O inverso ocorre com a relação C/N, sendo que valores próximos a 63 a 69/1 apresentaram as maiores produtividades, alcançando uma redução drástica quando acima de 80/1 (Figura 6c). Deve-se ressaltar também, que o menor valor de relação C/N não resultou na maior produtividade, como no caso do experimento 3, com substrato alto-N, relação C/N de 58/1 e produtividade de 33,69%.



**Figura 6.** Avaliação de dados químicos e rendimento de *Lentinula edodes*, produzido em substrato com diferentes formulações e dosagens de spent mushroom substrate, sendo a: PCA biplot, b: gráfico de modelo quadrático de conteúdo de nitrogênio, c: gráfico de modelo quadrático para relação C/N e (d) gráfico de modelo linear para pH (d). PCA: 1 e 2 substratos alto-N e baixo-N, respectivamente (primeiro experimento). 3-6 substratos alto-N do segundo experimento com doses de 0%, 5%, 10% e 20%, respectivamente e 7-10 para substrato baixo-N, com mesmas dosagens. Demais numerações referentes ao terceiro experimento sendo dosagens de 5% 10% e 20% do substrato origem (segundo experimento, podendo ser 0%, 5%, 10% e 20%): de 11-23 substratos alto-N e 24-36 substratos baixo-N. 11 sem SMS; 12-14 dosagens de substrato 0%; 15-17 de 5%; 18-20 de 10%; 21-23 de 20%; 24 sem SMS; 25-27 de 0%; 28-30 de 5%; 31-33 de 10% e 34-36 de 20%.

Finalmente nota-se que o valor do pH influencia de maneira negativa nos valores de produtividade, conforme modelo linear apresentado, mesmo explicando apenas 46% dos resultados obtidos. O pH nesta situação se torna uma ferramenta importante, pois expressa o valor do SMS no final do cultivo, o que pode influenciar no momento da formulação de novos ciclos sucessivos. O substrato recém formulado no terceiro ciclo variou de 4,76 a 5,78, enquanto no segundo experimento se manteve em torno de 6. Neste sentido, o excesso de SMS reduz a produtividade.

#### 4. DISCUSSÃO

A literatura ainda é escassa em estudos que abordem a utilização do SMS na reintrodução de ciclos de produção da mesma espécie. Por exemplo, o reuso do SMS de *L. edodes* já é realizado, no entanto, é destinado à produção de outras espécies (Zied et al., 2020). Sendo assim, pesquisas com essa abordagem são de extrema importância para a difusão da técnica na produção de cogumelos.

A produção de *L. edodes* utilizando um substrato à base de serragem de eucalipto enriquecido com 25% de farelos (composto por 12,5% de farelo de trigo e 12,5% de farelo de arroz) e 2% de carbonato de cálcio demonstrou ser para as condições brasileiras, especialmente devido à ampla disponibilidade desses materiais (Fabrizio et al., 2024; Santos et al., 2024). Além disso, os rendimentos obtidos estão dentro da média relatada na literatura internacional, com autores apresentando resultados tanto inferiores quanto superiores (Yu et al., 2022; Sassine et al., 2024; Zied et al., 2024).

Diversos resíduos agrícolas são empregados na produção de *L. edodes*; entretanto, diferentes substratos podem apresentar características químicas variadas, influenciando, assim, os rendimentos. Um dos principais fatores envolvidos é a relação entre carbono e nitrogênio (C/N), que pode limitar o desenvolvimento fúngico, bem como a produção (Li et al., 2017; Desisa et al., 2023). Observa-se que a elevação da relação C/N de 73/1, no substrato alto-N, para 92/1, no substrato baixo-N, no primeiro experimento, resultou em uma redução de aproximadamente 38% nos rendimentos da espécie. Esta ocorrência foi consistente nos demais experimentos, ainda que em proporções distintas. O PCA biplot demonstra que relações C/N mais elevadas impactam negativamente na produtividade.

Desta forma a utilização do SMS também é considerada viável. Mesmo quando a concentração de nitrogênio aumenta após a mineralização da biomassa, devido à degradação do *L. edodes* ao final do cultivo (Narváez et al., 2021), ainda há uma relação C/N alta, quando comparado aos farelos. Neste trabalho, o SMS apresentou, em média, uma relação C/N de 50/1, enquanto o farelo de arroz apresentou 18/1 (Neves, 2014) e o de trigo 22/1 (Picornell-Buendía et al., 2016), respectivamente. Nota-se que a relação C/N do SMS está abaixo aos valores de relação C/N ideais

encontradas no presente trabalho (63 a 69/1), o que indica que tal material pode ser utilizado para substituir os farelos, reduzindo o custo de produção do substrato. No entanto, o índice de pH é um fator limitante, considerando que ele acidifica demais as novas formulações.

A nutrição do substrato também está correlacionada com o número e a massa média dos cogumelos. Observa-se que um substrato com menor relação C/N resulta em uma maior quantidade de cogumelos colhidos, porém com massa reduzida. Inversamente, quando se utiliza um substrato com menor quantidade de nutrientes (Ca, Na e Mg), a quantidade de cogumelos é menor, mas a massa média dos cogumelos é maior. Sendo assim, a disponibilidade de nutrientes influencia diretamente os aspectos físicos dos basidiocarpos (Ozkan et al., 2022).

O tamanho dos cogumelos pode influenciar sua comercialização (Shah et al., 2021; Cianni et al., 2023). No entanto, uma das principais consequências é que a obtenção de um maior número de cogumelos com massa reduzida aumenta os custos, pois demanda mais tempo para a colheita, resultando em maior necessidade de mão de obra, que representa um dos principais custos da produção (Alexander et al., 2002; Li e Xu, 2022).

Os aspectos químicos do substrato também estão relacionados ao valor do pH. Deve-se ressaltar que a degradação da matéria orgânica proporciona uma redução do pH (Sharma et al., 1997). A acidificação do substrato é essencial para o desenvolvimento de *L. edodes*, pois fungo possui mecanismos para a regulação deste meio principalmente através da produção de ácido oxálico. A produção deste ácido está relacionada ao pH do meio, de modo que, quanto maior a alcalinidade, maior será a expressão genica para a produção deste ácido (Li et al., 2022). No entanto, a acidificação do substrato, em excesso, é prejudicial, tanto que a adição de  $\text{CaCO}_3$  ao substrato, promove o fornecimento de cálcio, que atua no controle do oxalato, substância tóxica ao fungo (Mäkelä et al., 2014; Li et al., 2022).

Outro fator correlacionado é a condutividade elétrica, que no SMS de *L. edodes* apresenta valores elevados, atribuídas principalmente às altas concentrações de sais (Ribas et al., 2009), tais como Ca, Na e Mg, cujas concentrações aumentam ao final do ciclo de produção em comparação com o substrato inicial (Narváez et al., 2021).

Este fenômeno também foi observado no presente estudo. Além disso, sabe-se que o resíduo é composto por diversos subprodutos gerados durante o processo de colonização, incluindo ácidos (Li et al., 2022), nutrientes (Ribas et al., 2009), enzimas (Nakajima et al., 2018), entre outros, os quais podem influenciar as características químicas do substrato, de maneira benéfica ou prejudicial.

Para a produção de 5.000 blocos de 2 kg (10.000 kg de substrato fresco) de *L. edodes*, são necessários aproximadamente 3.500 kg de matéria seca de substrato, dos quais 875 kg são representados por farelos, sendo 437,5 kg de farelo de trigo e 437,5 kg de farelo de arroz. Com a substituição parcial de 15% de SMS, seriam necessários 525 kg de farelos, considerando 3.500 kg de matéria seca, tendo assim 262,5 kg de cada farelo. Tal exemplo, extraído do 3º experimento, foi adicionado de 10% de SMS em ciclos sucessivos, proporcionando um incremento no valor da produtividade de 3,72%, quando comparado com o substrato controle, o que resulta numa colheita de 372 kg de cogumelos sob 10.000 kg de substrato fresco ao final do ciclo.

De acordo com a cotação atual desses produtos (Clic Mercado, 2024; Ceagesp, 2024) e a conversão direta para o dólar<sup>1</sup>, isso representaria uma redução de USD 39,89 no custo para a formulação do substrato (10.000 kg substrato úmido) referente ao uso de farelos, e um ganho de USD 2976 referente ao aumento de produtividade nos 5.000 blocos, considerando o valor da venda dos cogumelos a USD 8 o quilo. Acrescenta-se a isso a redução dos custos indiretos, com o transporte do resíduo, custo de descarte e outros.

Para além do ganho econômico, esta prática promove a sustentabilidade na agricultura, que é impulsionada pelo uso eficiente de recursos através da economia circular e preservação dos recursos naturais. A reutilização dos resíduos da produção de cogumelos diminui a necessidade de insumos externos, resultando em menor emissão de gases de efeito estufa, uma vez que reduz a necessidade de transporte e processamento desses materiais. Isso, por sua vez, aumenta a autossuficiência dos produtores, tornando-os menos dependentes de fornecedores externos e mais

---

<sup>1</sup>Cotação de reais para dólar R\$ 5,645 = 1 USD, na data de agosto de 2024 (BCB, 2024).

resilientes às flutuações do mercado. Adicionalmente, o impacto da reutilização desses materiais na diminuição de custos, afeta diretamente a disponibilidade e o preço desse alimento para o consumidor final (Cianni et al., 2023), melhorando o acesso e a qualidade de vida das famílias.

## 5. CONCLUSÃO

O uso do substrato pós-cultivo de *L. edodes*, na produção de novos substratos para a mesma espécie, visando substituir parte da suplementação nitrogenada, mostrou-se promissor, desde que considerados os valores de nitrogênio, relação C/N e pH. O reuso deste resíduo em substratos da própria espécie para novos ciclos é uma tecnologia emergente e ainda há necessidade de mais pesquisas para consolidar sua eficácia e estabelecer seu uso como uma ferramenta inovadora na fungicultura.

## REFERÊNCIAS

Alexander SJ, Pilz D, Weber NS, Brown E, Rockwell VA (2002) Mushrooms, trees, and money: value estimates of commercial mushrooms and timber in the Pacific Northwest. **Environmental Management** 30:129-141.

Alves LS, Tolardo G, Caitano CEC, Vieira Júnior WG, Freitas PNG, Zied DC (2024) Use of spent mushroom substrate for cherry tomato seedlings, a potential alternative to peat in horticulture. **Biological Agriculture & Horticulture** 40:127-140.

BCB, Banco Central do Brasil (2024) Fechamento diário do dólar 22/07/2024. Disponível em: <<https://www.bcb.gov.br/estabilidade financeira/fechamentodolar>>. Acesso em 26 jul. 2024.

Bisen PS, Baghel RK, Sanodiya BS, Thakur GS, Prasad GBKS (2010) *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. **Current Medicinal Chemistry** 17(22):2419-2430.

Campbell BM, Beare DJ, Bennett EM, Hall-Spencer JM, Ingram JS, Jaramillo F, Ortiz R, Ramankutty N, Sayer JA, Shindell D (2017) Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries. **Ecology and Society** 22(4):26798991.

Ceagesp, Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (2024) Cotação Preços no Atacado. Disponível em: <<https://ceagesp.gov.br/cotacoes/#cotacao>>. Acesso em: 26 jul. 2024.

Cianni R, Pippinato L, Mancuso T (2023) A systematic review on drivers influencing consumption of edible mushrooms and innovative mushroom-containing products. **Appetite** 182:106454.

Clic Mercado BRA (2024) Cotações. Disponível em: <<http://www.clicmercado.com.br/novo/cotacoes/BuscaCot.asp>>. Acesso 26 jul. 2024.

Deguine JP, Aubertot JN, Bellon S, Côte F, Lauri PE, Lescourret F, ..., Lamichhane, JR (2023) Agroecological crop protection for sustainable agriculture. **Advances in Agronomy** 178:1-59.

Desisa B, Muleta D, Dejene T, Jida M, Goshu A, Martin-Pinto P (2023) Substrate optimization for shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) mushroom production in Ethiopia. **Journal of Fungi** 9(8):811.

Devkota KP, Khanda CM, Beebout SJ, Mohapatra BK, Singleton GR, Puskur R (2020) Assessing alternative crop establishment methods with a sustainability lens in rice production systems of Eastern India. **Journal of Cleaner Production** 244:118835.

Fabrizio IB, Beatriz Schuh A, Silva RA, Coronel DA (2024) The contribution of each Brazilian state to the competitiveness of the country's rice exports (1999-2021). **Revista de Gestão Social e Ambiental** 18(2):e04454.

Fang F, Parida S, Sarkis J (2024) Private financing and the circular economy. **Resources, Conservation and Recycling** 205:107581.

Finger R, Möhring N (2024) The emergence of pesticide-free crop production systems in Europe. **Nature Plants** 10(3):360-366.

Goglio P, Ponsioen T, Carrasco J, Milenkovi I, Kiwala L, Van Mierlo K, Helmes R, Tei F, Oosterkamp E, Pérez M (2024) An environmental assessment of *Agaricus bisporus* ((JE Lange) Imbach) mushroom production systems across Europe. **European Journal of Agronomy** 155:127108.

Guedes GR, Salbego ELS, Rossetti BV, Ferla G, Wajda NTV, Maciel FL (2021) Utilização de resíduos agroindustriais e florestais disponíveis na serra gaúcha para o cultivo de cogumelos comestíveis. In: Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão da Uergs. **Anais do 10º Siepex**, Porto Alegre: UERGS.

Huang J, Yingli L, Hongwei Z, Jinyu C (2021) The effects of uncertainty measures on commodity prices from a time-varying perspective. **International Review of Economics & Finance** 71:100-114.

Krittanawong C, Isath A, Hahn J, Wang Z, Fogg SE, Bandyopadhyay D, Jneid H, Virani SS, Tang WW (2021) Mushroom consumption and cardiovascular health: a systematic review. **American Journal of Medicine** 134(5):637-642.

Lam SS, Lee XY, Nam WL, Phang XY, Liew RK, Yek PN, Ho YL, Ma NL, Rosli MH (2019) Microwave vacuum pyrolysis conversion of waste mushroom substrate into biochar for use as growth medium in mushroom cultivation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** 94(5):1406-1415.

Leong YK, Ma TW, Chang JS, Yang FC (2022) Recent advances and future directions on the valorization of spent mushroom substrate (SMS): A review. **Bioresource Technology** 344:126157.

Li W, Chen W, Yang Y, Zhang J, Feng J, Yu H, Zhou S, Li X, Liu Y (2017) Effects of culture substrates on taste component content and taste quality of *Lentinula edodes*. **International Journal of Food Science & Technology** 52(4):981-991.

Li J, Duan Y, Hu Z, Yang F, Wu X, Zhang R (2022) Physiological mechanisms by which gypsum increases the growth and yield of *Lentinula edodes*. **Applied Microbiology and Biotechnology** 106(7):2677-2688.

Li C, Xu S (2022) Edible mushroom industry in China: Current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology** 106(11):3949-3955.

Mattila P, Könkö K, Eurola M, Pihlava JM, Astola J, Vahteristo L, Hietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironen V (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49(5):2343-2348.

Mäkelä MR, Sietiö OM, Vries RP, Timonen S, Hilden K (2014) Oxalate-metabolising genes of the white-rot fungus *Dichomitus squalens* are differentially induced on wood and at high proton concentration. **PLoS One** 9(2):e87959.

Mapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil (2007) Instrução Normativa SDA Nº 17. Métodos Analíticos Oficiais para Análise de Substratos para Plantas e Condicionadores de Solo. Brasília: Secretaria de defesa Agropecuária, 8 p.

Mapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil. (2017). Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, 240 p.

Moreaux K (2017) Spawn production. In: Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.), **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. New York: Wiley Online Library, p. 89-128.

Mustafá Z, Vitali G, Huffaker R, Canavari M (2024) A systematic review on price volatility in agriculture. **Journal Economic Surveys** 38(1):268-294.

Nakajima VM, Soares FEF, Queiroz JH (2018) Screening and decolorizing potential of enzymes from spent mushroom composts of six different mushrooms. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** 13:58-61.

Narváez L, Bolaños AC, Chaurra A, Zuñiga Escobar O (2021) Changes in macronutrients and physical properties during the growth of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* in a compost based on sugarcane bagasse agricultural waste. **Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences** 37(3):301-312.

Neves KCS (2014) **Produção de proteases coagulantes por espécies de *Pleurotus* em resíduos vegetais da Amazônia**. 97 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife.

Ozkan D, Morrow R, Zhang M, Dade-Robertson M (2022) Are mushrooms parametric? **Biomimetics** 7(2):60.

Picornell-Buendía MR, Pardo-Giménez A, Juan-Valero JA (2016) Agronomic qualitative viability of spent *Pleurotus* substrate and its mixture with wheat bran and a commercial supplement. **Journal Food Quality** 39(5):533-544.

R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: R project.

Ribas LCC, Mendonça MM, Camelini CM, Soares CHL (2009) 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** 100(20):4750-4757.

Rodrigues MG, Okura MH (2022) Cogumelos comestíveis no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development** 11(8):e24711830830.

Royse DJ, Baars J, Tan Q (2017) Current overview of mushroom production in the world. In: Zied DC, Pardo-Gimenez A (Eds.) **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications**. New York: John Wiley & Sons, Inc, p. 5-13.

Santos VB, Conceição GJ, Rodrigues PD, Cirilo NRM, Almeida MNF, Rocha MFV, ... Vidaurre, G. B. (2024). Impact of age and genotype on the quality of eucalyptus wood for dissolving pulp. **Industrial Crops and Products** 218:118930.

Sassine YN, Nabhan S, Rachkidy E, El Sebaaly Z (2024) Valorization of agro-forest wastes (oak acorns, vineyard pruning, and olive pruning) through the cultivation of shiitake (*Lentinula edodes*) mushrooms. **Heliyon** 10(12):e32562.

Shah TD (2021) Analysis of consumer perceptions regarding mushroom consumption in their regular diet: A case of Western-India (Gujarat). **Sarhad Journal of Agriculture** 37(2):613-621.

Sharma VK, Canditelli M, Fortuna F, Cornacchia GJEC (1997) Processing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting. **Energy Conversion and Management** 38(5):453-478.

Soković M, Glamočlija J, Ćirić A, Petrović J, Stojković D (2018) Mushrooms as sources of therapeutic foods. In: Holban AM, Grumezescu AM (Eds.), **Therapeutic Foods**. Cambridge: Academic Press, pp. 141-178.

Thakur MP (2020) Advances in mushroom production: Key to food, nutritional and employment security: A review. **Indian Phytopathology** 73:377-395.

Tóth G (2019) Circular economy and its comparison with 14 other business sustainability movements. **Resources** 8(4):159.

Wen X, Li W, Li W, Chen W, Zhang Z, Wu D, Yang Y (2022) Quality characteristics and non-volatile taste formation mechanism of *Lentinula edodes* during hot air drying. **Food Chemistry** 393:133378.

Yan D, Gao Q, Rong C, Liu Y, Song S, Yu Q, Zhou K, Liao Y (2021) Comparative transcriptome analysis of abnormal cap and healthy fruiting bodies of the edible mushroom *Lentinula edodes*. **Fungal Genetics and Biology** 156:103614.

Yu G, Li X, Zhao S, Sun S, Yu Y, Chen J, Cheng X, Li W (2022) Waste apple wood: A safe and economical alternative substrate for the cultivation of and. **Folia Horticulturae** 34(2):173-185.

Zied DC, Abreu CG, Alves LDS, Prado EP, Pardo-Gimenez A, de Melo PC, Dias ES (2021) Influence of the production environment on the cultivation of lettuce and arugula with spent mushroom substrate. *Journal of Environmental Management* 281:111799.

Zied DC, Sánchez JE, Noble R, Pardo-Giménez A (2020) Use of spent mushroom substrate in new mushroom crops to promote the transition towards a circular economy. **Agronomy** 10(9):1239.

Zied DC, Silva BD, Caitano CEC, Vieira Junior WG, Freitas MAS, Teixeira PAG, Pardo-Giménez A (2024) Use of Eucalyptus Charcoal Waste in the Formulation of Substrate for the Cultivation of Two Strains (LED 20/11 and LED 20/12) of *Lentinula edodes*. **Agronomy** 14(4):811.

### **CAPÍTULO 3 – Reutilização do substrato pós cultivo de *Pleurotus ostreatus* para a formulação de novos substratos em ciclos subsequentes.**

**RESUMO** – A sustentabilidade é um tema de grande relevância na contemporaneidade, especialmente no que diz respeito à gestão de resíduos. Apesar de ser considerada uma atividade relativamente sustentável, a produção de cogumelos gera uma quantidade significativa de resíduos ao final do cultivo. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é investigar a reutilização do *Spent Mushroom Substrate* (SMS), ou substrato pós-cultivo de cogumelos, para a formulação de novos substratos destinados ao cultivo subsequente de *Pleurotus ostreatus*. Inicialmente, foram elaborados dois tipos de substratos: alto-N, com maior concentração de farelos, e baixo-N, com menor concentração. Após o primeiro cultivo, o SMS gerado foi utilizado na formulação de novos substratos, incorporando diferentes proporções do resíduo (5, 10 e 20%), respeitando a distinção entre substratos alto e baixo-N. Um terceiro ciclo de cultivo foi realizado com a reutilização do SMS gerado no segundo, onde cada porcentagem passada se tornou novos substratos, com novas porcentagens (5, 10 e 20%), respeitando a distinção entre substratos alto e baixo N. As formulações dos substratos foram as seguintes: alto-N: 73% de serragem, 12% de farelo de trigo, 8% de farelo de arroz, 3,5% de quirera de milho, 1,5% de farelo de soja e 2% de calcita. Baixo-N: 83% de serragem, 7,2% de farelo de trigo, 4,8% de farelo de arroz, 2,1% de quirera de milho, 0,9% de farelo de soja e 2% de calcita. À medida que o SMS foi incorporado, houve uma redução proporcional nos teores de farelos utilizados. Durante os cultivos, os cogumelos foram colhidos e analisados quanto à produtividade (%), número de cogumelos, massa fresca dos cogumelos (g) e número de pencas. Além disso, foi realizada a caracterização química dos substratos, com a determinação de nitrogênio total (N), carbono (C), relação C/N, condutividade elétrica e pH. Os resultados indicaram que a adição de SMS, acompanhada da redução proporcional de farelos, não foi benéfica para o rendimento de *P. ostreatus*. De modo geral, nas condições testadas, a adição de SMS reduziu a produtividade (%) em comparação aos substratos controle (sem SMS). Não foram observadas correlações consistentes entre as variáveis químicas dos substratos e o rendimento obtido, embora os substratos alto-N tenham apresentado maior produtividade em geral. Conclui-se que, nas condições avaliadas, a reutilização de SMS não é viável para o cultivo de *P. ostreatus*. Contudo, os achados deste estudo abrem perspectivas para futuras pesquisas visando aprimorar essa técnica e explorar estratégias alternativas de aplicação do resíduo.

**Palavras-chave:** Resíduos agrícolas, economia circular, fungicultura, cogumelos ostra, shimeji.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os anos de 1978 e 2016, a produção de cogumelos tem demonstrado um crescimento expressivo, com um aumento de 30 vezes (Royse et al., 2016). Esse crescimento deve-se principalmente à crescente preocupação global com alimentos mais saudáveis, já que os cogumelos são reconhecidos por seu alto valor nutricional (Arshadi et al., 2023; Medihi et al., 2024). Além disso, os cogumelos são frequentemente associados ao tratamento de várias doenças, incluindo doenças neurodegenerativas (Zhou et al., 2024), câncer (Nandi et al., 2024), e possuem atividades antioxidantes e anti-inflamatórias (Chen et al., 2024), entre outras propriedades.

O cogumelo *Pleurotus ostreatus* é um dos fungos mais cultivados no mundo (Zhao et al., 2024) através de práticas agrícolas sustentáveis, especialmente no que se refere à utilização de resíduos orgânicos como fonte de nutrientes em novos ciclos de cultivo (Jahedi et al., 2024). *P. ostreatus* destaca-se não apenas pela sua adaptabilidade (Mastro et al., 2023), mas também pelo potencial de minimizar o desperdício agrícola, utilizando resíduos como serragem, palha e farelos diversos como substratos (Claude et al., 2024). Essa característica destaca o papel do cogumelo na promoção da economia circular e na mitigação do desperdício de recursos naturais.

Concomitantemente ao crescimento da indústria de cogumelos, observa-se um aumento significativo na geração de resíduos, conhecidos como *Spent Mushroom Substrate* (SMS), ou substrato pós-cultivo de cogumelos (Kousar et al., 2024). A má gestão desses resíduos provenientes da produção pode resultar em diversos problemas ambientais, além de comprometer a integridade microbiológica do cultivo (Atallah et al. 2021). O SMS não é totalmente degradado pelo fungo, com uma taxa de decomposição variando entre 40% e 80% (Rodriguez Estrada et al., 2009). Este resíduo é composto por biomassa lignocelulósica e pode conter substâncias valiosas em sua composição, como proteínas, compostos fenólicos, polímeros de açúcar, entre outros, variando conforme a região e biomassa utilizada para o cultivo (Najafi et al., 2019; Kousar et al., 2024).

Nesse cenário, novas tecnologias para o uso do SMS vêm emergindo, tanto para aproveitar um resíduo com potencial de promover melhorias em diversas áreas quanto para buscar soluções que reduzam os impactos ambientais (Alves et al., 2024; Grimm et al., 2024; Yang et al., 2024). Um dos principais focos é a redução dos custos de produção por meio da reutilização do SMS na formulação de substratos para novos ciclos de cultivo. No entanto, trata-se de uma tecnologia recente que ainda requer ajustes para aplicação prática (Zied et al., 2020), especialmente no que diz respeito à compreensão e utilização do SMS na produção da mesma espécie.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a reintrodução do SMS em substratos durante três novos ciclos de produção de *P. ostreatus*, visando a redução proporcional da quantidade de materiais concentrados utilizados, assim como determinar a viabilidade da técnica.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi realizado no Centro de Estudos em Cogumelos (CECOG), pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), no Câmpus de Dracena. A pesquisa foi dividida em três etapas. A primeira etapa consistiu em um estudo comparativo entre dois tipos de substratos, um com maior quantidade de farelos (alto-N) e outro com menor quantidade (baixo-N) para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Além disso, foi analisada a aplicação do SMS na formulação de novos ciclos de produção (Figura 1).



**Figura 1.** Esquema de processo de realização experimental para o reuso do substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* em novos ciclos de produção.

No primeiro experimento, utilizaram-se dois substratos distintos: alto-N, com maior quantidade de farelos e conseqüentemente de nitrogênio, e baixo-N, com uma quantidade menor de farelos. No segundo experimento, diferentes quantidades de SMS (5%, 10% e 20%) foram testadas na formulação dos substratos, sendo que, à medida que o SMS era adicionado, a proporção de farelos era reduzida proporcionalmente. O SMS utilizado nessa etapa foi obtido a partir do primeiro experimento. Por fim, no terceiro experimento, o SMS gerado no segundo experimento foi reaproveitado na criação de novos substratos, em que cada tratamento anterior gerou três novas formulações com diferentes dosagens de SMS. Em todas as etapas, a distinção entre os substratos (alto-N e baixo-N) foi mantida.

## **2.1. Primeiro experimento**

Na primeira fase, dois tipos de substrato foram utilizados no cultivo. O primeiro, denominado substrato alto-N, foi composto por 73% de serragem, 12% de farelo de trigo, 8% de farelo de arroz, 3,5% de quirera de milho, 1,5% de farelo de soja e 2% de calcita. O segundo, classificado como substrato baixo-N, continha menos farelos (15% no total), sendo 83% de serragem, 7,2% de farelo de trigo, 4,8% de farelo de arroz, 2,1% de quirera de milho, 0,9% de farelo de soja e 2% de calcita. Ao término desta etapa, foram coletados dados sobre o rendimento agrônômico para avaliação. Em seguida, o resíduo (SMS) foi triturado ainda fresco e imediatamente utilizado na próxima fase.

## **2.2. Segundo experimento**

O SMS gerado no experimento anterior foi utilizado na segunda fase, mantendo-se a diferenciação entre os substratos alto-N e baixo-N. Cada substrato recebeu uma quantidade específica de SMS, e a quantidade de farelos foi ajustada proporcionalmente. Três concentrações de SMS foram testadas: 5%, 10% e 20%, além de um grupo controle sem adição de SMS (0%). No substrato alto-N, com 25% de farelos na formulação original, a quantidade de farelo foi reduzida conforme o aumento do SMS. Por exemplo, com 5% de SMS, utilizou-se 5% de SMS e 20% de farelos. A mesma lógica foi aplicada ao substrato baixo-N, no qual a quantidade inicial de farelos era limitada a 15%. No substrato com 20% de SMS, os farelos foram eliminados e 5% de serragem também foi removida.

## **2.3. Terceiro experimento**

Na última fase, foi realizado um novo ciclo de produção com diferentes doses de SMS, repetindo-se as dosagens do segundo experimento, porém testadas em três novas proporções. Por exemplo, o substrato alto-N com 5% de SMS foi utilizado em

novas formulações contendo 5%, 10% e 20% de SMS. O mesmo procedimento foi realizado para as demais concentrações. A distinção entre substratos alto-N e baixo-N foi mantida.

#### **2.4. Produção do substrato**

As formulações dos substratos seguiram as proporções mencionadas anteriormente. Para todos os experimentos, o substrato alto-N continha 25% de farelos (12% de farelo de trigo, 8% de farelo de arroz, 3,5% de quirera de milho e 1,5% de farelo de soja), e o substrato baixo-N, 15% de farelos (7,2% de farelo de trigo, 4,8% de farelo de arroz, 2,1% de quirera de milho e 0,9% de farelo de soja). Além disso, todos os substratos receberam 2% de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) para ajuste do pH. A serragem de eucalipto foi utilizada como base do substrato nas proporções de 73% no substrato alto-N e 83% no substrato baixo-N, exceto nos tratamentos em que a serragem foi reduzida pela adição de SMS. Os ingredientes foram misturados até a obtenção de uma mistura homogênea e a umidade foi ajustada para 65%. O substrato foi então ensacado (2 kg por saco), prensado e autoclavado a 121°C por 4 horas.

#### **2.5. Produção do inóculo e inoculação**

A produção do inóculo seguiu a metodologia proposta por Moreaux (2017), abrangendo a produção de matriz primária, secundária, terciária e do próprio inóculo. Para a produção da matriz terciária e do inóculo, utilizou-se um substrato composto por 75,5% de serragem de eucalipto, 10,8% de farelo de trigo, 7,2% de farelo de arroz, 3,15% de quirera de milho, 1,35% de farelo de soja e 2% de carbonato de cálcio. A linhagem utilizada foi a POS 22/03 de *P. ostreatus*, originária da Coreia do Sul e reisolada de produtores da região de Mogi das Cruzes, no estado de São Paulo, Brasil. A inoculação foi realizada em ambiente controlado, sob fluxo laminar, com 2% do peso do substrato. Após esse processo, os blocos foram selados e encaminhados para a sala de incubação, onde permaneceram a uma temperatura entre 26 e 28 °C e umidade relativa variando de 80 a 85%.

## **2.6. Produção e colheita dos cogumelos**

Após o período de colonização, os sacos foram abertos com a retirada da parte superior, borrifados com uma pequena quantidade de água e, em seguida, conduzidos à sala de produção, onde permaneceram a uma temperatura entre 20 e 22 °C e umidade relativa variando de 80% a 85%. A colheita foi manual e realizada no ponto ideal, antes da abertura completa do píleo. Os cogumelos foram contados e pesados para análise das características agrônômicas.

## **2.7. Variáveis analisadas**

As avaliações dos experimentos incluíram as características agrônômicas: produtividade (massa dos cogumelos colhidos \* 100 / massa úmida do substrato inicial), número de cogumelos e massa média dos cogumelos (massa fresca / número de cogumelos) e número de pencas. Também foram analisadas as propriedades químicas dos substratos e do SMS quanto a relação C/N, condutividade elétrica e pH, conforme as metodologias descritas no Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos (Mapa, 2007; Mapa, 2017).

## **2.8. Delineamento experimental e análise dos resultados**

Todos os experimentos seguiram um delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições. O primeiro experimento foi organizado em um fatorial simples, com dois substratos (alto-N e baixo-N), totalizando 20 unidades experimentais. O segundo experimento seguiu um esquema fatorial duplo, com dois substratos (alto-N e baixo-N) e quatro dosagens de SMS, resultando em 80 unidades experimentais. O terceiro experimento também foi em fatorial duplo, com dois substratos (alto-N e baixo-N) e diferentes concentrações de SMS (0%, 5%, 10% e 20%) do experimento anterior, onde cada uma deu origem a 3 novas concentrações de SMS (5%, 10% e 20%), somando 260 unidades experimentais. Após a coleta dos dados, foi realizada análise

de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de significância. O software R (R Core Team, 2024) foi utilizado para análise estatística e elaboração dos gráficos.

### 3. RESULTADOS

A redução da concentração de nitrogênio, decorrente da diminuição do uso de materiais concentrados no substrato, resultou em uma queda de 22,04% no rendimento, quando comparado ao tratamento com maior concentração de nitrogênio (alto-N). Observou-se o mesmo efeito sobre a massa média dos cogumelos, sendo que o substrato alto-N promoveu cogumelos de maior massa em comparação ao substrato com menor concentração de nitrogênio (baixo-N). Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas no número total de cogumelos nem no número de pencas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Rendimento de *Pleurotus ostreatus* cultivado em substratos com diferentes formulações.

Substratos	Produtividade (%)	Número Cogumelos	Massa média (g)	Número Pencas
Alto-N	30,66 a	25,08	6,35 a	4,16
Baixo-N	23,9 b	24,08	5,15 b	4,33
CV (%)	12,2	22,78	21,07	28,52

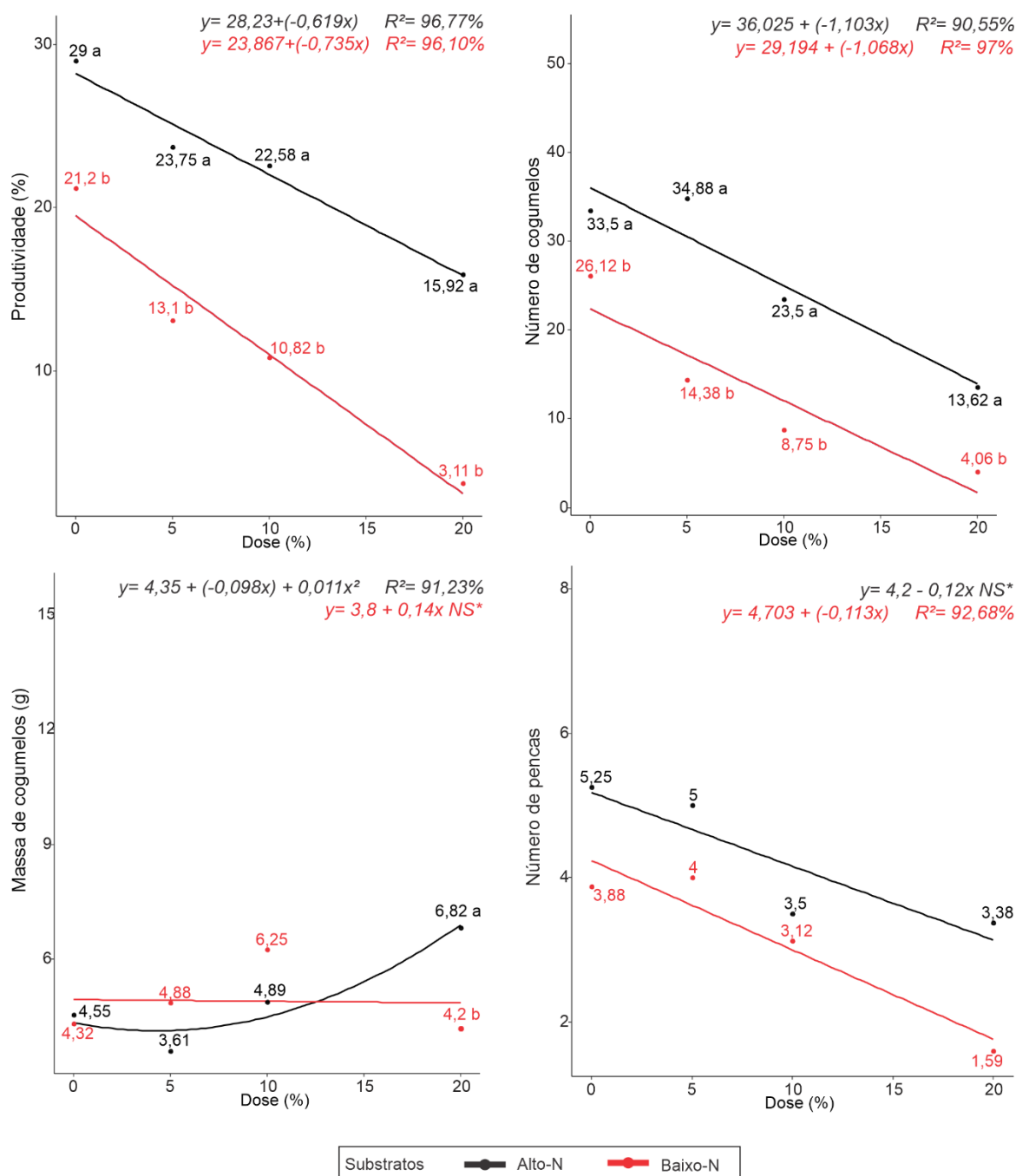
Letras distintas entre linhas, indicam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A redução dos concentrados adicionados (farelos e quirera de milho) aumentou a relação C/N em 63,17%, devido à menor concentração de nitrogênio no substrato. Além disso, observou-se uma redução na condutividade elétrica associada à diminuição desses componentes. O substrato pós-cultivo (SMS) apresentou uma condutividade elétrica mais elevada (em comparação ao substrato inicial), bem como concentrações reduzidas de carbono e nitrogênio (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise química de substrato pós-cultivo do primeiro experimento, considerando substratos alto-N e baixo-N para a produção de *Pleurotus ostreatus*.

Substrato	Relação			Condutividade Elétrica	
	N	C	C/N	mS/cm	pH
Alto-N	0,84	48,9	58,2	1,57	5,7
Baixo-N	0,51	47,8	93,6	1,01	5,69
<b>Substrato pós-cultivo de cogumelos (<i>Spent Mushroom Substrate</i>)</b>					
Alto-N	0,69	45,7	66,6	2,09	5,19
Baixo-N	0,5	45,7	90,7	2,06	5,12

A substituição dos concentrados por doses de SMS não se mostrou eficaz, conforme indicado pela análise de regressão no segundo experimento. A adição e retirada proporcional dos concentrados resultou em perdas de rendimento, com redução na produtividade, no número de cogumelos e no número de pencas, sendo apenas a massa média dos cogumelos mantida estável. Esse comportamento foi observado tanto para o substrato alto-N quanto para o baixo-N, com as médias do tratamento alto-N apresentando valores superiores para produtividade e número de cogumelos (Figura 2).



**Figura 2.** Análise de regressão para parâmetros agrônômicos de *Pleurotus ostreatus*, cultivados com diferentes doses de substrato pós-cultivo. Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A adição de doses de SMS resultou em uma redução na relação C/N, com um aumento proporcional na medida em que se elevou a dosagem utilizada. A condutividade elétrica diminuiu conforme o concentrado foi substituído pelo SMS,

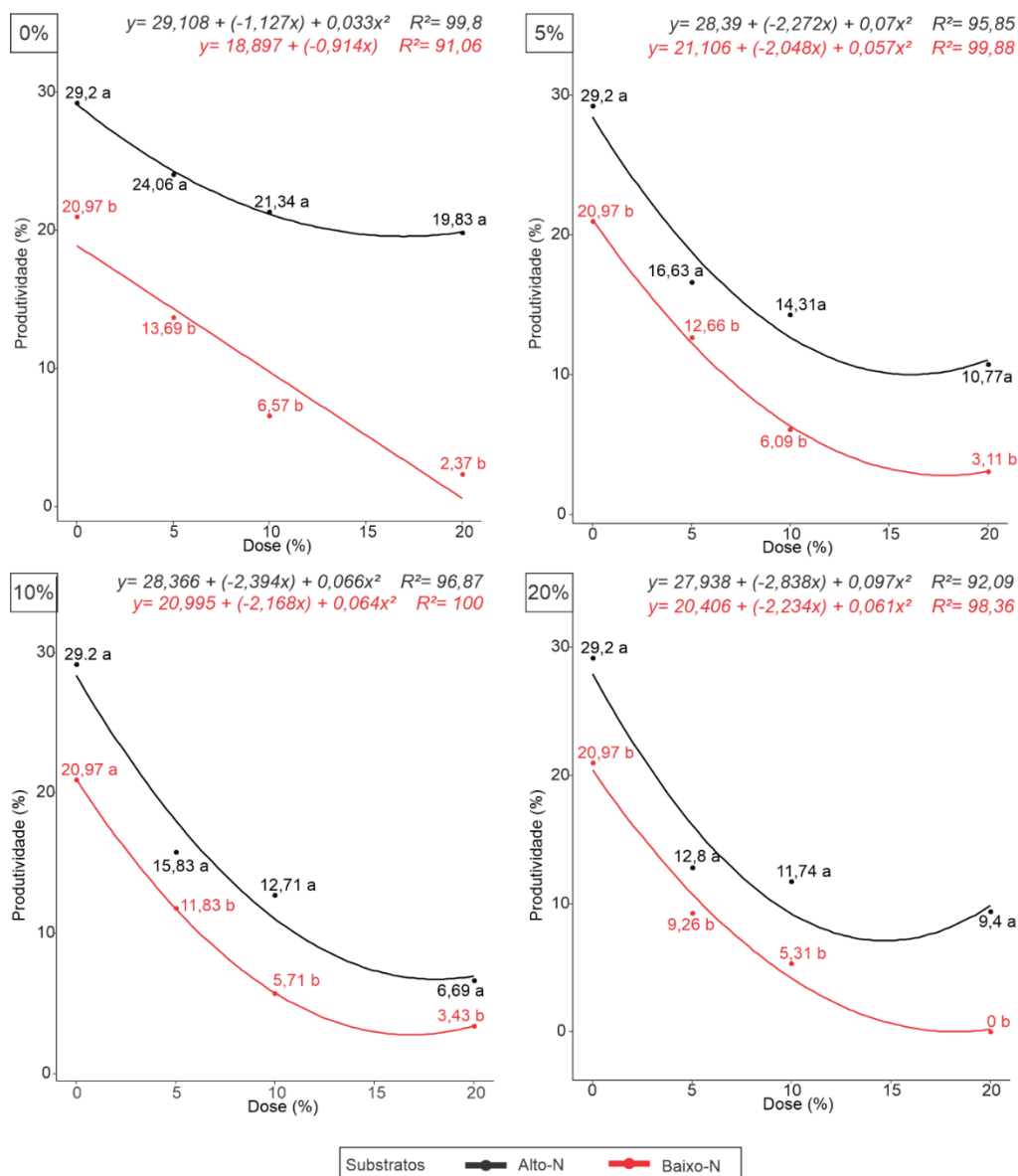
assim como o pH. Observou-se, novamente, que o SMS apresentou uma menor concentração de nitrogênio em comparação ao substrato inicial, o que aumentou consequentemente a relação C/N. Além disso, verificou-se um aumento na condutividade elétrica e uma diminuição no pH (Tabela 3).

**Tabela 3.** Análise química de substrato e substrato pós-cultivo do primeiro experimento, considerando substratos alto-N e baixo-N para a produção de *Pleurotus ostreatus*.

Substrato	N	Relação C/N	Condutividade	
			Elétrica mS/cm	pH
Alto-N + 0% SMS	1,39	36,40	2,45	5,56
Alto-N + 5% SMS	1,24	40,18	1,92	5,50
Alto-N + 10% SMS	1,08	44,94	1,40	5,48
Alto-N + 20% SMS	0,78	60,88	1,33	5,45
Baixo-N + 0% SMS	1,02	50,40	1,19	6,02
Baixo-N + 5% SMS	0,90	56,31	0,98	5,98
Baixo-N + 10% SMS	0,74	67,50	0,77	5,78
Baixo-N + 20% SMS	0,59	83,95	0,69	5,54
<b>Substrato pós-cultivo de cogumelos (<i>Spent Mushroom Substrate</i>)</b>				
SMS alto-N + 0%	0,94	49,76	2,78	4,62
SMS alto-N + 5%	0,97	48,77	3,13	4,52
SMS alto-N + 10%	0,80	57,51	2,91	4,66
SMS alto-N + 20%	0,50	92,04	2,04	4,66
SMS baixo-N + 0%	0,78	61,54	2,84	4,42
SMS baixo-N + 5%	0,64	75,78	2,16	5,19
SMS baixo-N + 10%	0,43	110,35	1,56	5,69
SMS baixo-N + 20%	0,26	176,96	1,34	5,70

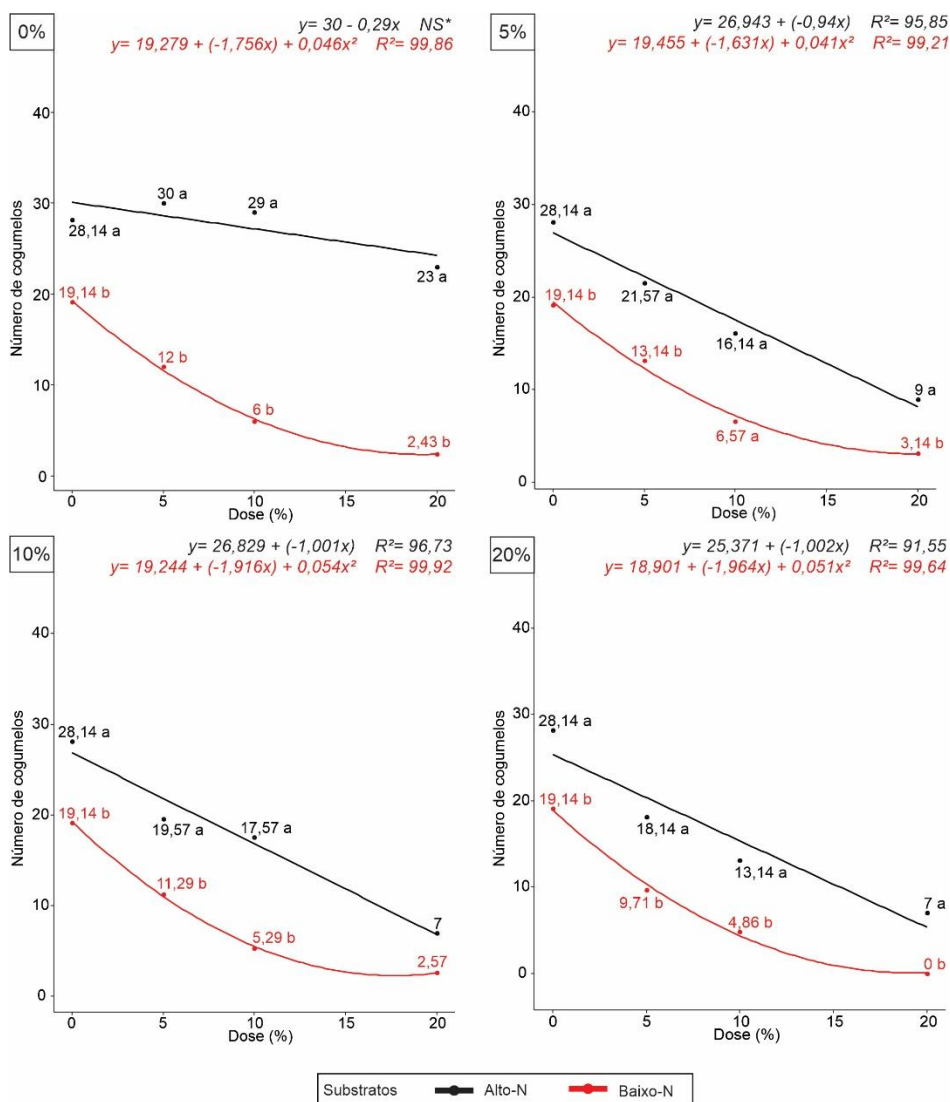
No terceiro experimento, que utilizou o substrato pós-cultivo (SMS) do segundo experimento, observou-se, por meio do modelo de regressão aplicado à produtividade, que o parâmetro quadrático (grau 2) apresentou melhor ajuste aos dados obtidos, sugerindo um possível aumento ou estabilidade de rendimento com dosagens acima

de 20%. No entanto, com base nos dados disponíveis, não foram observados benefícios significativos na utilização do SMS, dado que todos os tratamentos apresentaram reduções expressivas de rendimento. Mais uma vez, constatou-se que os substratos alto-N apresentaram médias superiores em comparação aos substratos baixo-N (Figura 3).



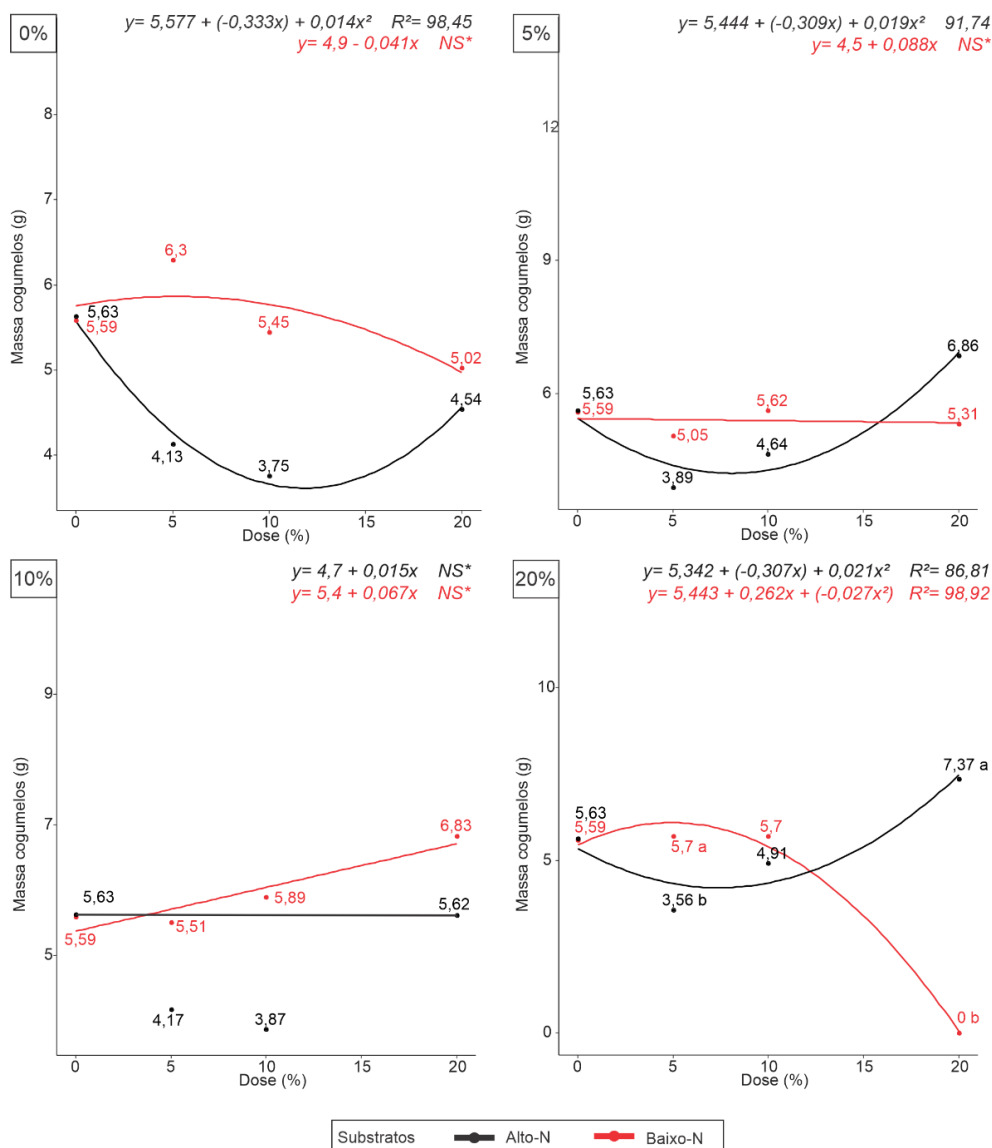
**Figura 3.** Análise de regressão para a produtividade (%) de *Pleurotus ostreatus* cultivados em substrato com diferentes fontes e doses de substrato pós-cultivo. Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se quanto a número de cogumelos, também se observa uma redução na quantidade de basidiomas, conforme a adição de SMS. Conforme a origem do SMS (diferentes dosagens do segundo experimento) é possível notar diferentes comportamentos, no entanto maiores média são observadas no substrato alto-N com frequentes constatações de diferença estatística entre alto-N e baixo-N.



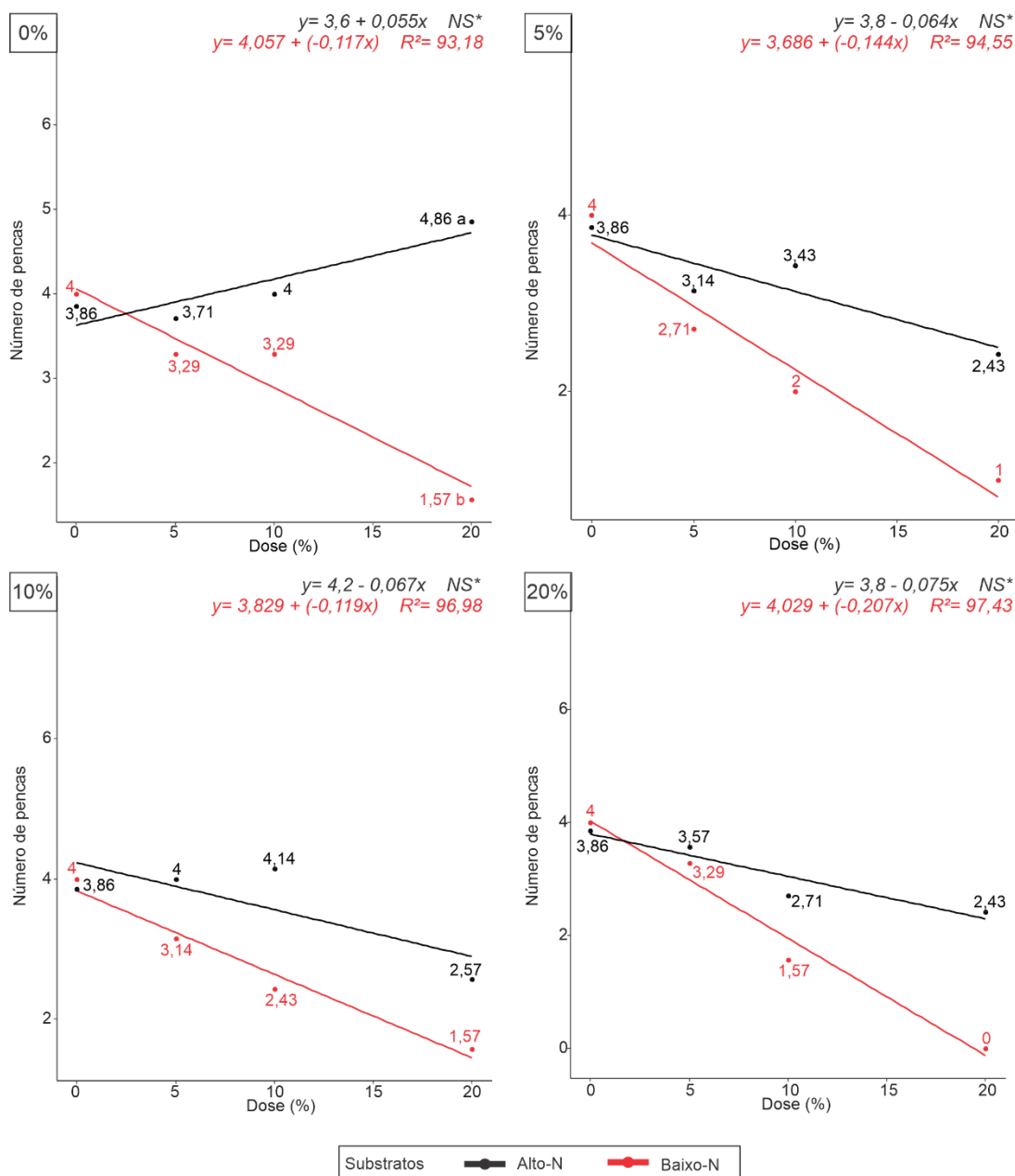
**Figura 4.** Análise de regressão para número de cogumelos de *Pleurotus ostreatus* cultivados em substrato com diferentes fontes e doses de substrato pós-cultivo. Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação à massa dos cogumelos, a remoção dos concentrados e a adição de SMS até a dosagem de 10% reduziram as médias para essa variável, com uma recuperação desses valores nas dosagens de 20%. Esse padrão, contudo, não foi observado para o SMS oriundo da dosagem de 10% no segundo experimento. Ao comparar substratos alto-N e baixo-N, não se identificou um comportamento consistente entre os tratamentos, havendo diferenças estatisticamente significativas apenas nos substratos compostos por SMS com dosagem de origem de 20% (Figura 5).



**Figura 5.** Análise de regressão para massa de cogumelos de *Pleurotus ostreatus* cultivados em substrato com diferentes fontes e doses de substrato pós-cultivo. Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De modo geral, o número de pencas foi reduzido com a adição de SMS. Uma exceção foi observada no substrato alto-N com SMS de origem 0%, onde houve um aumento no número de pencas com a adição do resíduo, apresentando diferença estatisticamente significativa entre alto-N e baixo-N na dosagem de 20%. Nos demais casos, não foram observadas diferenças estatísticas entre os substratos (Figura 6).



**Figura 6.** Análise de regressão para número de penca de *Pleurotus ostreatus* cultivados em substrato com diferentes fontes e doses de substrato pós-cultivo. Letras distintas dentro da mesma dose indica diferença estatística entre substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

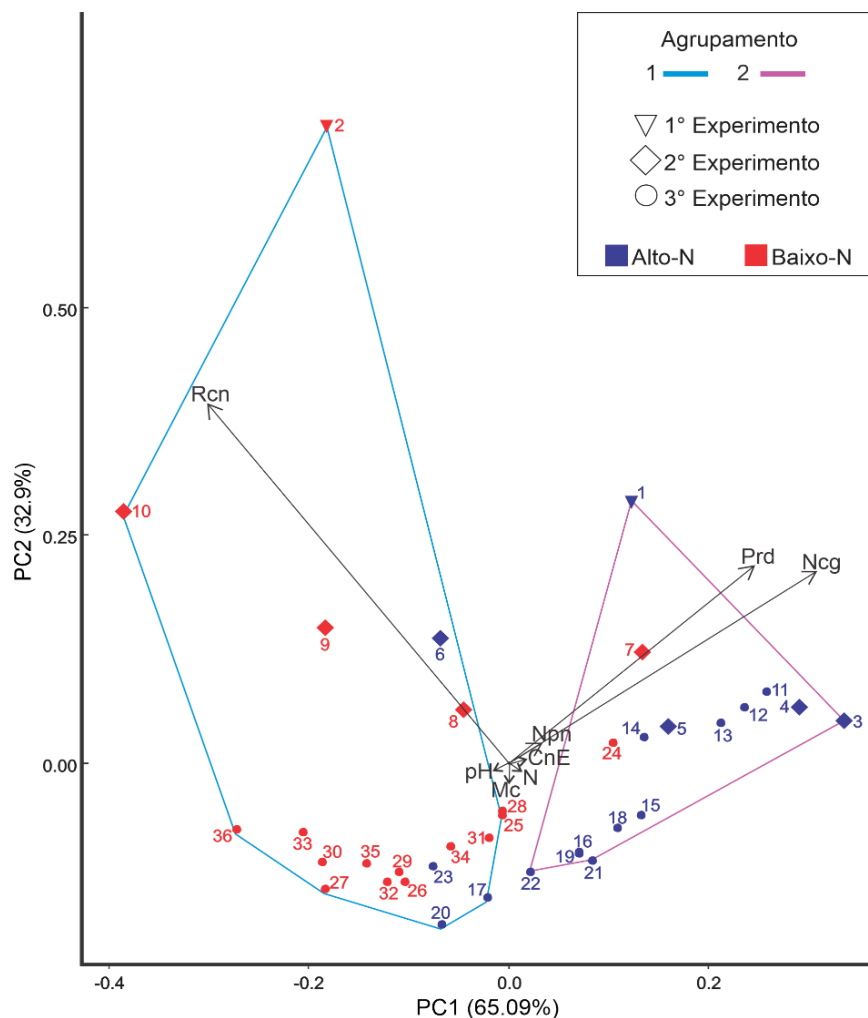
O mesmo comportamento químico foi observado nos substratos do terceiro experimento, com redução de nitrogênio e pH devido ao acréscimo de SMS, e diminuição da condutividade elétrica em função da redução dos materiais concentrados

**Tabela 4.** Análise química de substrato e substrato pós-cultivo do primeiro experimento, considerando substratos alto-N e baixo-N para a produção de *Pleurotus ostreatus*.

Substrato	N	Relação C/N	Condutividade	
			Elétrica mS/cm	pH
Alto-N + 0% SMS	1,21	41,7	1,96	6,27
Alto-N + 5% SMS de* 0%	1,18	42,2	1,70	6,03
Alto-N + 10% SMS de 0%	1,15	42,7	1,44	5,64
Alto-N + 20% SMS de 0%	1,09	45,7	0,92	5,34
Alto-N + 5% SMS de 5%	1,18	41,9	1,72	6,05
Alto-N + 10% SMS de 5%	1,15	43,1	1,47	5,88
Alto-N + 20% SMS de 5%	1,10	45,2	0,99	5,51
Alto-N + 5% SMS de 10%	1,17	42,4	1,70	6,05
Alto-N + 10% SMS de 10%	1,14	43,2	1,45	5,86
Alto-N + 20% SMS de 10%	1,07	46,3	0,95	5,48
Alto-N + 5% SMS de 20%	1,16	42,1	1,66	6,05
Alto-N + 10% SMS de 20%	1,11	44,5	1,36	5,86
Alto-N + 20% SMS de 20%	1,01	49,6	0,77	5,48
Baixo-N + 0% SMS	1,06	46,9	1,16	6,36
Baixo-N + 5% SMS de 0%	1,02	48,7	0,91	6,18
Baixo-N + 10% SMS de 0%	0,98	50,4	0,65	6,01
Baixo-N + 20% SMS de 0%	0,91	54,1	0,43	5,65
Baixo-N + 5% SMS de 5%	1,02	49,1	0,87	6,14
Baixo-N + 10% SMS de 5%	0,97	51,2	0,58	5,93
Baixo-N + 20% SMS de 5%	0,88	55,6	0,43	5,50
Baixo-N + 5% SMS de 10%	1,01	48,3	0,78	6,12
Baixo-N + 10% SMS de 10%	0,95	51,3	0,52	5,88
Baixo-N + 20% SMS de 10%	0,84	58,1	0,39	5,40
Baixo-N + 5% SMS de 20%	0,99	49,9	0,68	6,12
Baixo-N + 10% SMS de 20%	0,93	53,3	0,50	5,88
Baixo-N + 20% SMS de 20%	0,81	61,7	0,40	5,40

\*indica a origem do SMS referente ao tratamento do segundo experimento.

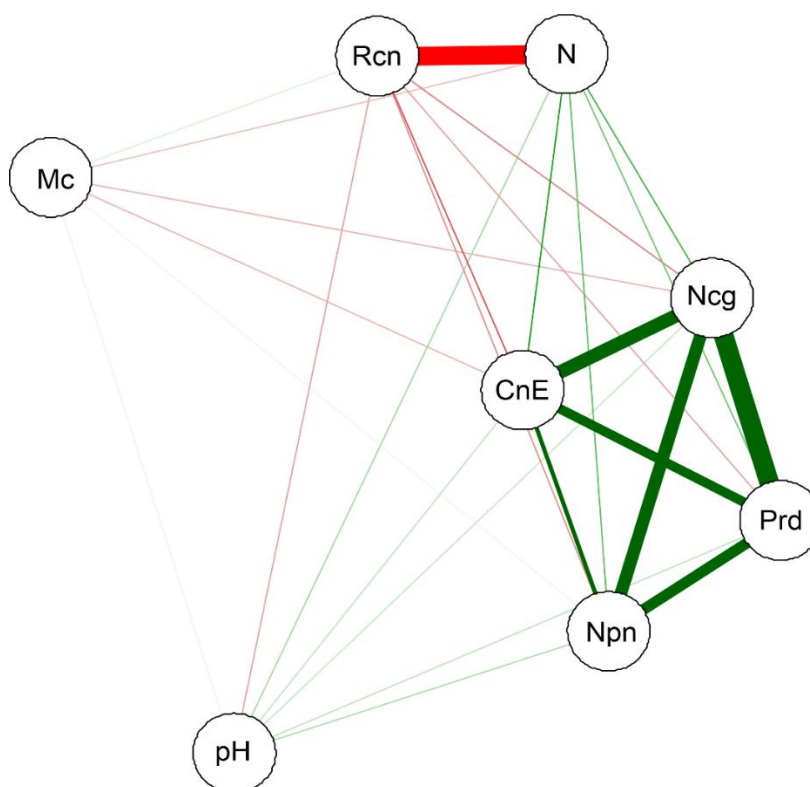
Para compreender o comportamento das variáveis no conjunto de dados, foram realizadas análises multivariadas. A análise de PCA (análise de componentes principais) com biplot foi aplicada para reduzir a dimensionalidade e identificar as principais variáveis responsáveis pela variabilidade dos dados. O biplot revelou uma interação entre os diferentes substratos e os parâmetros agronômicos e químicos. As duas primeiras dimensões, PC1 e PC2, explicam 32,9% e 65,09% da variância total, respectivamente. Na maioria dos casos, os substratos alto-N e baixo-N formaram agrupamentos distintos, com algumas exceções de substratos com comportamentos semelhantes. A produtividade e o número de cogumelos apresentaram os maiores valores no agrupamento 2, enquanto o agrupamento 1 apresentou maiores valores para a relação C/N (Figura 7).



**Figura 7.** Análise de componentes principais (PCA) para variáveis agrônômicas: produtividade (Prd), número de cogumelos (Ncog), massa de cogumelos (MC) e número de pencas (Npn) e variáveis químicas: Relação C/N (Rcn), condutividade elétrica (Cne), nitrogênio (N) e pH de *Pleurotus ostreatus* cultivado em diferentes substratos, com diferentes dosagens e origem de SMS em diferentes experimentos. 1 e 2 substratos alto-N e baixo-N, respectivamente (primeiro experimento). 3-6 substratos high-N do segundo experimento com doses de 0%, 5%, 10% e 20%, respectivamente e 7-10 para substrato baixo-N, com mesmas dosagens. Demais numerações referentes ao terceiro experimento sendo dosagens de 5% 10% e 20% do substrato origem (segundo experimento, podendo ser 0%, 5%, 10% e 20%): de 11-23 substratos high-N e 24-36 substratos baixo-N. 11 sem SMS; 12-14 dosagens de substrato 0%; 15-17 de 5%; 18-20 de 10%; 21-23 de 20%; 24 sem SMS; 25-27 de 0%; 28-30 de 5%; 31-33 de 10% e 34-36 de 20%.

Para o conjunto total de dados (todos os experimentos), a construção de uma rede de correlação revelou pouca influência entre os fatores. Observou-se uma

correlação negativa entre a relação C/N e o nitrogênio, e uma correlação positiva entre o número de cogumelos, o número de pencas e a produtividade. Além disso, constatou-se que a quantidade de cogumelos promoveu um aumento na condutividade elétrica (Figura 8).



**Figura 8.** Rede de correlação de totalidade dos dados (todos experimentos) para diferentes substratos, com diferentes formulações e doses de SMS na produção de *Pleurotus ostreatus*.

#### 4. DISCUSSÃO

A reutilização do substrato pós-cultivo ou SMS, na produção de cogumelos é uma prática comum, voltada para a destinação sustentável desse resíduo, com o objetivo de minimizar impactos ambientais e reduzir os custos de produção na fungicultura (Zied et al., 2020; Dedousi et al., 2024). No entanto, observa-se que a prática de reutilizar o SMS na mesma espécie de cogumelo ainda é pouco frequente, o que limita a aplicação dessa tecnologia para produtores que cultivam apenas uma espécie.

O substrato utilizado na produção de *Pleurotus ostreatus* pode apresentar variações, dividindo-se em duas categorias principais: substratos compostados e pasteurizados, geralmente compostos por palhas agrícolas e enriquecidos com materiais concentrados (Pardo-Giménez et al., 2012), e substratos estéreis, conhecidos como axênicos, que são formados principalmente por materiais como a serragem de espécies arbóreas locais (Pathmashini et al., 2009; Hultberg et al., 2023).

Sendo assim, as formulações utilizadas neste trabalho apresentaram rendimentos inferiores em comparação com a literatura, onde são encontradas produtividades próximas a 45% (Bhatti et al., 2007; Girmay et al., 2016; Dedousi et al., 2024), enquanto o tratamento controle (sem adição de SMS), com a formulação alto-N, foi obtido, em média, 29,6%. Os constituintes do substrato, assim como seu equilíbrio nutricional, representam os principais fatores limitantes para alcançar alta produtividade (Dedousi et al., 2024), especialmente no que se refere à relação entre carbono e nitrogênio (C/N).

A deficiência de nitrogênio, por exemplo, pode desviar o catabolismo central de carbono devido à inativação de enzimas como a fosfofrutoquinase e a isocitrato desidrogenase dependente de NAD<sup>+</sup> / NADP<sup>+</sup> (Papanikolaou et al., 2019). Por outro lado, baixas razões de C/N podem promover uma elevada produção de biomassa e a síntese de materiais celulares nitrogenados, como proteínas, glucosaminas e outros compostos (Papanikolaou et al., 2011; Dedousi et al., 2024). Concentrações menores de relação C/N mostraram-se mais eficazes neste estudo principalmente devido à distinção nos rendimentos entre substratos alto-N e baixo-N. Substratos com maior concentração de nitrogênio apresentaram, de forma estatisticamente significativa, maiores percentuais de produtividade em todos os experimentos realizados.

Dessa forma, a limitação dos rendimentos pode estar associada à incapacidade do substrato de fornecer concentrações ideais de nitrogênio, o que também impediu o acúmulo desse nutriente no substrato pós-cultivo, tornando-o um resíduo ineficaz para substituir materiais concentrados na formulação do substrato. Substratos com relação C/N entre 15,09 e 41,02 apresentam os maiores rendimentos para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Dedousi et al., 2024); no entanto, os valores observados neste estudo são superiores a essa faixa, com uma média maior que 50/1 na maioria dos

substratos, o que também impossibilitou a detecção de correlação significativa entre o conteúdo de nitrogênio e os rendimentos. Não só a relação C/N, mas diversos fatores podem interferir nos rendimentos de *P. ostreatus*, dentre eles, o teor de celulose, hemicelulose e lignina, a disponibilidade de nutrientes, o pH e a condutividade elétrica (Bellettini et al., 2019; Dedousi et al., 2024).

O número de cogumelos está relacionado a fatores que podem influenciar essa variável, incluindo a linhagem utilizada e o substrato de cultivo (Muswati et al., 2021). Observou-se que a quantidade de basidiomas está primeiramente associada ao rendimento, como demonstrado pela quantidade reduzida no substrato baixo-N em comparação ao alto-N; dessa forma, quanto menor a produção, menor é o número de cogumelos. Além disso, observou-se uma correlação positiva entre os valores de condutividade elétrica e o número de cogumelos, provavelmente relacionada à presença de sais, como cálcio, magnésio e sódio, além de outros nutrientes que podem impactar o processo de frutificação (Jonathan e Fasidi, 2001; Sakamoto, 2018). O mesmo resultado foi observado para o número de pencas produzidas.

A massa dos cogumelos também é influenciada pela formulação do substrato e pela disponibilidade de nutrientes, e por outros fatores (Royse et al., 2003; Yang et al., 2013). Hoa e colaboradores (2015), ao cultivar *Pleurotus ostreatus* em diferentes substratos, observaram que, quanto maior a relação C/N, menor a massa dos cogumelos. No entanto, o presente estudo demonstrou o oposto: com o aumento da relação C/N, a massa dos cogumelos aumentou, especialmente em substratos com alto teor de nitrogênio, ou se manteve relativamente estável em substratos com baixo teor de nitrogênio. Esse efeito pode estar relacionado à adição de SMS, embora não tenha sido possível identificar exatamente qual fator promove esse aumento.

As características químicas do substrato exercem grande importância no desenvolvimento e produção dos cogumelos. O nível de pH na faixa de 5 a 9 é considerado ótimo para o desenvolvimento de *Pleurotus* spp. (Sultana et al., 2018; Vilas et al., 2020). Seu desequilíbrio pode afetar diretamente a quantidade de proteína bruta, carboidratos e cinzas. Ademais, substratos fora da faixa ideal de pH podem sofrer com compostos insolúveis que se tornam inacessíveis para a absorção, criados através de certos nutrientes (Boadu et al., 2023).

Os valores de pH observados neste estudo variaram de 5,34 a 6,27, conforme o substrato utilizado. Observou-se que o substrato ao final do cultivo do *Pleurotus* (SMS) tende a apresentar pH reduzido, com média de 4,93, devido à atividade metabólica do fungo no substrato principalmente pela produção de ácidos orgânicos, como o ácido oxálico (Bellettini et al., 2019). Mesmo em substratos com formulações idênticas, foram notadas variações heterogêneas nos níveis de pH, possivelmente relacionadas às diferenças entre os lotes de serragem de eucalipto utilizados. O pH desse material pode variar, assim como a composição de fibras (celulose, hemicelulose e lignina), o que altera a atividade metabólica do fungo e a geração de subprodutos que impactam as características químicas do substrato (Boadu et al., 2023).

A condutividade elétrica é outro fator químico relevante no substrato, apresentando um aumento quando se compara o substrato inicial com o substrato ao final do cultivo (SMS). Esse aumento ocorre principalmente devido à mineralização de sais (Ribas et al., 2009; Cebula et al., 2013; Narváez et al., 2021), o que pode representar um desafio para a reutilização do SMS na produção vegetal (Prasad et al., 2021). No entanto, verificou-se que a condutividade elétrica não apresentou impacto significativo na reutilização do SMS em dosagens de até 20%, uma vez que a redução dos materiais concentrados (farelo de trigo, arroz e soja, e quirera de milho) contribuiu para uma diminuição significativa deste parâmetro. Isso foi evidenciado pelas diferenças entre os substratos alto-N e baixo-N, em que, devido à maior concentração de materiais concentrados, os substratos alto-N apresentaram valores mais elevados de condutividade elétrica.

O principal fator limitante para a utilização de substratos e resíduos na produção de *Pleurotus* spp. está diretamente relacionado às proporções de celulose/lignina e de carbono/nitrogênio (Philippoussis e Diamantopoulou, 2001). Assim, não foram identificados parâmetros ideais que permitam o uso do SMS de *Pleurotus ostreatus* para sua reincorporação em novos ciclos de produção, considerando as dosagens e formulações apresentadas neste estudo. No entanto, o SMS é um resíduo que possui em sua formulação diversos nutrientes, compostos orgânicos (Lou et al., 2017) que podem ter diversas aplicações e serem utilizados como alternativa para substituições de matérias de alto valor na cadeia de produção

de cogumelos (Zied et al., 2020), como é o caso dos farelos. A sua reutilização mostra-se urgente para conter métodos de destinação com alto impacto ambiental, como a queima, o descarte em aterros ou diretamente no solo, entre outros (Hřebečková et al., 2020).

Neste contexto, este estudo proporciona uma base promissora para futuras pesquisas que visem equilibrar a composição química e a quantidade de SMS utilizado, possibilitando o desenvolvimento de protocolos eficazes para sua reutilização e aplicação em novos ciclos de cultivo da mesma espécie. Isso pode representar uma solução significativa para a fungicultura mundial, ao reduzir os custos operacionais com o descarte do resíduo, além de minimizar o impacto ambiental associado.

## **5. CONCLUSÃO**

A reutilização do substrato pós-cultivo de *Pleurotus ostreatus* na formulação de novos substratos para o cultivo da mesma espécie não se mostrou eficaz em nenhuma das dosagens avaliadas, resultando em redução dos rendimentos em substratos com quantidades maiores e menores de nitrogênio (alto-N e baixo-N). Esse fator foi limitado pelo balanço entre carbono e nitrogênio dos substratos iniciais. Contudo, este estudo se estabelece como uma base promissora para investigações futuras que busquem otimizar a eficiência dessa técnica.

## REFERÊNCIAS

Alves LS, Tolardo G, Caitano CEC, Vieira Júnior WG, Freitas PNP, Zied DC (2024) Use of spent mushroom substrate for cherry tomato seedlings; a potential alternative to peat in horticulture. **Biological Agriculture & Horticulture**, 40(2):127–140.

Arshadi N, Nouri H, Moghimi H (2023) Increasing the production of the bioactive compounds in medicinal mushrooms: an omics perspective. **Microbial Cell Factories** 22(1):11.

Atallah E, Zeaiter J, Ahmad MN, Leahy JJ, Kwapinski W (2021) Hydrothermal carbonization of spent mushroom compost waste compared against torrefaction and pyrolysis. **Fuel Processing Technology** 216:106795.

Bellettini MB, Fiorda FA, Maieves HA, Teixeira GL, Ávila S, Hornung PS, Júnior AM, Ribani RH (2019) Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences** 26(4):633-646.

Bhatti MI, Jiskani MM, Wagan KH, Pathan MA, Magsi MR (2007) Growth, development and yield of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Kummer as affected by different spawn rates. **Pakistan Journal Botany** 39(7):2685-2692.

Boadu KB, Nsiah-Asante R, Antwi RT, Obirikorang KA, Anokye R, Ansong M (2023) Influence of the chemical content of sawdust on the levels of important macronutrients and ash composition in Pearl oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **PLoS One** 18(6):e0287532.

Cebula J, Pelczar J, Loska K, Widziewicz K (2013) The effect of Spent Mushroom Substrate field storage conditions on its leachate composition. **Inżynieria i Ochrona Środowiska** 16(1):93-102.

Chen XJ, Deng Z, Zhang LL, Pan Y, Fu J, Zou L, Bai Z, Xiao X, Sheng F (2024) Therapeutic potential of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* against Alzheimer's disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 172:116222.

Claude I, Aimable N, Mediatrice H, Zhou H, Lin D, Liu P, Lin Z (2024) Evaluation of the Influence of Varied Juncao Grass Substrates on Physiological and Enzymatic Reactions of *Pleurotus ostreatus*. **Current Issues in Molecular Biology** 46(9):9493-9502.

Dedousi M, Melanouri EM, Karayannis D, Kaminarides EI, Diamantopoulou P (2024) Utilization of spent substrates and waste products of mushroom cultivation to produce new crops of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* and *Agaricus bisporus*. **Carbon Resources Conversion** 7(2):100196.

Girmay Z, Gorems W, Birhanu G, Zewdie S (2016) Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. **Amb Express** 6:1-7.

Grimm A, Reis GS, Dinh VM, Larsson SH, Mikkola JP, Lima EC, Xiong S (2024) Hardwood spent mushroom substrate-based activated biochar as a sustainable bioresource for removal of emerging pollutants from wastewater. **Biomass Conversion and Biorefinery** 14(2):2293–2309.

Hoa HT, Wang CL, Wang CH (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.

Hřebečková T, Wiesnerová L, Hanč A (2020) Change in agrochemical and biochemical parameters during the laboratory vermicomposting of spent mushroom substrate after cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Science of the Total Environment** 739:140085.

Hultberg M, Asp H, Bergstrand KJ, Golovko O (2023) Production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on sawdust supplemented with anaerobic digestate. **Waste Management** 155:1-7.

Jahedi A, Ahmadifar S, Mohammadigoltapeh E (2024) Revival of wild edible-medicinal mushroom (*Hericium erinaceus*) based on organic agro-industrial waste-achieving a commercial protocol with the highest yield; optimum reuse of organic waste. **Scientia Horticulturae** 323:112510.

Jonathan SG, Fasidi IO (2001) Effect of carbon, nitrogen and mineral sources on growth of *Psathyrella atroumbonata* (Pegler), a Nigerian edible mushroom. **Food chemistry** 72(4):479-483.

Kousar A, Khan HA, Farid S, Zhao Q, Zeb I (2024) Recent advances on environmentally sustainable valorization of spent mushroom substrate: A review. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining** 18(2):639–651.

Lou Z, Sun Y, Zhou X, Baig SA, Hu B, Xu X (2017) Composition variability of spent mushroom substrates during continuous cultivation, composting process and their effects on mineral nitrogen transformation in soil. **Geoderma** 307:30-37.

Mastro F, Traversa A, Matarrese F, Cocozza C, Brunetti G (2023). Influence of growing substrate preparation on the biological efficiency of *Pleurotus ostreatus*. **Horticulturae** 9(4):439.

Mapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil (2007) Instrução Normativa SDA Nº 17. Métodos Analíticos Oficiais para Análise de Substratos para Plantas e Condicionadores de Solo. Brasília: Secretaria de defesa Agropecuária, 8p.

Mapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil (2017) Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, 240 p.

Medihi NI, Haiyee ZA, Sukor R, Raseetha S (2024) Exploring the Functional Properties and Nutritional Values of Colored Oyster Mushrooms Species (*Pleurotus*, Agaricomycetes): A Review. **International Journal of Medicinal Mushrooms** 26(6):25-38.

Mihai RA, Heras EJM, Florescu LI, Catana RD (2022) The Edible Gray Oyster Fungi *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P. Kumm a Potent Waste Consumer, a Biofriendly Species with Antioxidant Activity Depending on the Growth Substrate. **Journal of Fungi** 8(3):3.

Moreaux K (2017) Spawn production. In: Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.), **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. New York: Wiley Online Library, p. 89-128.

Muswati C, Simango K, Tapfumaneyi L, Mutetwa M, Ngezimana W (2021) The effects of different substrate combinations on growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **International Journal of Agronomy** 2021(1):9962285.

Najafi B, Ardabili, S.F, Shamshirband S, Chau K (2019) Spent mushroom compost (SMC) as a source for biogas production in Iran. **Engineering Applications of Computational Fluid Mechanics** 13(1):967–982.

Nandi S, Sikder R, Rapior S, Arnould S, Simal-Gandara J, Acharya K (2024) A review for cancer treatment with mushroom metabolites through targeting mitochondrial signaling pathway: In vitro and in vivo evaluations, clinical studies and future prospects for mycomedicine. **Fitoterapia** 172:105681.

Narváez L, Bolaños AC, Chaurra A, Zuñiga Escobar O (2021) Changes in macronutrients and physical properties during the growth of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* in a compost based on sugarcane bagasse agricultural waste. **Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences** 37(3):301-312.

Papanikolaou S, Aggelis G (2011) Lipids of oleaginous yeasts. Part I: Biochemistry of single cell oil production. **European Journal of Lipid Science and Technology** 113(8):1031-1051.

Papanikolaou S, Aggelis G (2019) Sources of microbial oils with emphasis to *Mortierella (Umbelopsis) isabellina* fungus. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 35:1-19.

Pardo-Giménez A, Picornell-Buendia MR, Juan Valero JA, Pardo-González JE, Zied, DC (2010) Cultivation of *Pleurotus ostreatus* using supplemented spent oyster mushroom substrate. In: XXVIII International Horticultural Congress on Science and

Horticulture for People (IHC2010): International Symposium. ISHS Acta Horticulturae 933. Lisboa: ISHS, pp. 267-272.

Pathmashini L, Arulnandhy V, Wijeratnam RW (2009) Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on sawdust. **Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)** 37(2):177-182.

Philippoussis A, Zervakis G, Diamantopoulou P (2001) Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 17:191-200.

Prasad R, Lisiecka J, Antala M, Rastogi A (2021) Influence of different spent mushroom substrates on yield, morphological and photosynthetic parameters of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Agronomy**: 11(10):2086.

R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: R Project.

Ribas LCC, Mendonça MM, Camelini CM, Soares CHL (2009) 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** 100(20):4750-4757.

Rodriguez Estrada AE, Jimenez-Gasco MM, Royse DJ (2009) Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var. *Eryngii* by substrate supplementation and use of a casing overlay. **Bioresource Technology** 100(21):5270–5276.

Royse DJ, Sanchez-Vazquez JE (2003) Influence of precipitated calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>) on shiitake (*Lentinula edodes*) yield and mushroom size. **Bioresource Technology** 90(2):225-228.

Sakamoto Y (2018) Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. **Fungal Biology Reviews** 32(4):236-248.

Silva M, Ramos AC, Lidon FJ, Reboredo FH, Gonçalves EM (2024) Pre- and Postharvest Strategies for *Pleurotus ostreatus* Mushroom in a Circular Economy Approach. **Foods** 13(10):10.

Sultana R, Hossain MI, Saifullah AR, Chakraborty R (2018) Influence of substrate pH and watering frequency on the growth of oyster mushroom. **International Journal of Plant Biology & Research** 6(4):1097.

Vilas PM, Jadhav AC, Dhavale MC, Hasabnis SN, Gaikwad AP, Jadhav PR, Ajit PS (2020) Effect of cultural variability on mycellial growth of eleven mushroom isolates of *Pleurotus* spp. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 9(6):881-888.

Yang G, Ma Y, Ma X, Wang X, Lu C, Xu W, Luo J, Guo D (2024) Changes in soil organic carbon components and microbial community following spent mushroom substrate application. **Frontiers in Microbiology** 15:1351921.

Yang W, Guo F, Wan Z (2013) Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. **Saudi Journal of Biological Sciences** 20(4):333-338.

Zhou Y, Chu M, Ahmadi F, Agar OT, Barrow CJ, Dunshea FR, Suleria HA (2024) A comprehensive review on phytochemical profiling in mushrooms: occurrence, biological activities, applications and future prospective. **Food Reviews International** 40(3):924-951.

Zhao Q, Liu X, Cui L, Ma C (2024) Extraction and bioactivities of the chemical composition from *Pleurotus ostreatus*: A review. **Journal of Future Foods** 4(2):111–118.

Zied DC, Pardo-Giménez A (Eds.) (2017) Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications. New York: John Wiley & Sons, 562 p.

Zied DC, Sánchez JE, Noble R, Pardo-Giménez A (2020) Use of spent mushroom substrate in new mushroom crops to promote the transition towards a circular economy. **Agronomy** 10(9):1239.

**CAPÍTULO 4 – Estudo de alterações composicionais do conteúdo lignocelulósico de substratos durante o ciclo de produção de *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*.**

**RESUMO** – Os fungos de podridão branca são microrganismos com alta eficiência na degradação de materiais lignocelulolíticos. Essa eficiência é atribuída principalmente ao seu intrincado aparato enzimático, capaz de degradar moléculas complexas, como celulose, hemicelulose e lignina. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar o comportamento de duas espécies de cogumelos na degradação de substratos lignocelulolíticos. Para isso, durante o período de cultivo, foram coletados substratos das espécies *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* diretamente de empresas comerciais de cultivo de cogumelos na região de Castilla-La Mancha, Espanha. As coletas foram realizadas antes da inoculação e ao final de cada ciclo de produção, totalizando quatro ciclos para *L. edodes* e um para *P. ostreatus*. As análises envolveram a determinação de densidade aparente, pH, condutividade elétrica, teor de nitrogênio, relação C/N, cinzas, fibras brutas, hemicelulose, celulose e lignina. *P. ostreatus* demonstrou uma redução de 90,27% na densidade aparente ao final do primeiro ciclo, enquanto *L. edodes* obteve uma redução de 58,06% após os quatro ciclos de produção. Ambas as espécies promoveram acidificação dos substratos ao final do cultivo, com significativa redução do pH, acompanhada por aumentos nos teores de nitrogênio, condutividade elétrica e cinzas. As concentrações de fibras também foram reduzidas: para celulose e lignina, ambas as espécies apresentaram valores médios semelhantes. Entretanto, *P. ostreatus* destacou-se na redução de fibras brutas, enquanto *L. edodes* foi mais eficiente na degradação de hemicelulose. Substratos lignocelulolíticos demonstraram ser uma fonte eficiente de carbono para os fungos. Além disso, devido à ação dos microrganismos durante o cultivo, o resíduo final produzido apresenta elevado potencial para reutilização.

**Palavras-chave:** Cogumelos, degradação enzimática, fungicultura, substratos orgânicos.

## 1. INTRODUÇÃO

Os basidiomicetos, conhecidos como fungos de podridão branca (Oki et al., 1981), destacam-se pela elevada eficiência na degradação de materiais lignocelulósicos (Atila, 2019). Essa capacidade deve-se principalmente à produção de um conjunto de enzimas específicas, como celulasas, hemicelulasas, ligninases, entre outras (Fukasawa e Matsukura, 2021). Tais enzimas permitem que esses microrganismos habitem uma ampla variedade de ambientes (Ghobad-Nejhad et al., 2023) e sejam cultivados em diferentes tipos de substratos (Phonemany et al., 2024).

Nesse contexto, os cogumelos (macrofungos) são amplamente estudados e cultivados, especialmente pelo seu uso como alimento funcional, sendo considerados uma importante fonte medicinal e nutracêutica (Araújo-Rodrigues et al., 2024). Esse valor é atribuído à presença de proteínas, açúcares, macronutrientes e ao elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados (Reis et al., 2012). Além disso, os cogumelos têm sido utilizados no tratamento de tumores (Nandi et al., 2024) e apresentam propriedades antioxidantes (Dedousi et al., 2024), antivirais (Khumlianlal et al., 2024), antibacterianas (Kumar et al., 2024) e redutoras de colesterol (Goyal et al., 2024). Esses atributos posicionam os cogumelos como um dos alimentos mais relevantes na atualidade, em resposta à crescente demanda por alimentos mais saudáveis entre os consumidores (Thomas e Mago, 2024).

Dentre os cogumelos mais cultivados no mundo, destacam-se as espécies *Lentinula edodes*, conhecida como shiitake, e *Pleurotus ostreatus*, conhecida como cogumelo ostra (Royse et al., 2017). Em comparação com outras espécies, esses cogumelos são comumente produzidos em substratos com relação carbono/nitrogênio (relação C/N) elevada, sendo estes constituídos de serragem, que é enriquecida com fontes nitrogenadas, tais como farelo de trigo, farelo de arroz, farelo de soja, entre outros (Megersa e Tolessa, 2024; Safaie et al., 2024). Tradicionalmente, essas espécies eram cultivadas utilizando o método de substrato axênico (Bernardi et al., 2013; Bach et al., 2018) no entanto, atualmente observa-se o uso de substratos pasteurizados, além da substituição da serragem por biomassas como palha de trigo, palha de arroz, entre outras (Annepu et al., 2023; Avila et al., 2023; Yusof et al., 2024).

Ao final do cultivo, o substrato utilizado é considerado um resíduo, conhecido em inglês como *Spent Mushroom Substrate* (SMS). Esse subproduto é gerado em grandes quantidades, sendo que, para cada 1 kg de cogumelo produzido, são gerados cerca de 5 kg de resíduo, aproximadamente. (Zied et al., 2021). Esse material é, muitas vezes, pouco estudado e caracterizado (Atila, 2019), o que dificulta sua reutilização e aplicabilidade em outros processos, especialmente em relação a substratos que acabaram de ser utilizados, contribuindo, assim, para o descarte inadequado, o que resulta em impactos ambientais significativos (Martín et al., 2023). Portanto, a compreensão da digestibilidade desse material é essencial para viabilizar sua reciclagem, possibilitando sua aplicação em diversas áreas, como condicionador de solo (Ré et al., 2024), ração animal (Martín et al., 2023), fertilizante orgânico (Alves et al., 2024), além de sua reintrodução em novos ciclos de produção (Zied et al., 2020).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é estudar a constituição lignocelulósica de substratos pasteurizados utilizados na produção de *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*, bem como avaliar os parâmetros químicos e nutricionais ao longo dos fluxos de produção de cada espécie.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho buscou analisar e observar a alteração na composição do substrato antes, durante e depois do cultivo de cogumelos. Para tal, foi realizado um acompanhamento de substratos produzidos através do método de compostagem e pasteurização, oriundos de duas empresas de cultivo de cogumelos situadas na província de Castilla-La Mancha, Espanha. As amostras de *Lentinula edodes* foram adquiridas na empresa Agrosolutions S.Coop (Villamalea, Albacete, Espanha) e de *Pleurotus ostreatus* na empresa Champinter SCL (Villamalea, Albacete, Espanha).

O início das coletas se deu antes da adição do inóculo, sendo considerado o substrato inicial. Em seguida, ao final de cada fluxo de produção, foram, novamente, coletas mais amostras. *L. edodes* foi acompanhado durante 4 fluxos de produção e *P. ostreatus* por apenas 1, conforme padrão de cultivo na região. Após a realização das coletas, as amostras foram encaminhadas ao Centro de Investigación,

Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES) para análise. As avaliações de densidade aparente, pH e condutividade elétrica foram realizadas utilizando amostras frescas. Já para a determinação dos teores de nitrogênio, cinzas, relação C/N, fibras brutas, celulose, hemicelulose e lignina, as amostras passaram previamente por secagem em estufa a 105 °C por um período de 24 horas, garantindo a padronização e precisão das análises químicas e físicas realizadas.

## **2.1 Densidade aparente**

A determinação da densidade aparente se deu através do peso de substrato em um cilindro de 1L de capacidade depois de submeter a amostra a uma compactação estática com base na norma UNE-EN 1936, sendo os resultados expressos em gramas/cm<sup>3</sup> (Aenor, 2007).

## **2.2. pH e condutividade elétrica**

O pH foi determinado utilizando o substrato natural em suspensão solúvel em água destilada (1:5) previamente agitada por 1h a 140rpm (Clavijo, 2005) utilizando um Hach sensION™ Plus PH3. A condutividade elétrica (1:5, v/v) foi determinada através da densidade aparente compactada em solução com água destilada, sendo previamente agitada por 1h a 140rpm, a solução então foi filtrada e realizada a leitura em condutímetro marca Crison, modelo 525 (Crison Instruments, S.A. Alella, Barcelona, Espanha) (ECS, 1999).

## **2.3. Conteúdo de Nitrogênio**

O conteúdo de nitrogênio foi determinado pelo método de digestão em blocos e destilação a vapor, conhecido como método de Kjeldahl, utilizando um Foss Kjeltac™ 8400 (FOSS Analytical Co., Ltd Suzhou, China) para titulação das amostras (FOSS, 2003).

#### 2.4. Fibras brutas, celulose, hemicelulose e lignina

Para a determinação de celulose e hemicelulose foi utilizado o analisador de fibras Ankon A200<sup>®</sup>, através do método de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) (Van Soest et al., 1991), utilizando a técnica de bolsa filtrante desenvolvida por Ankom Technology (Macedon, NY, USA) (Ankom, 2005, 2006a e 2006b). A hemicelulose foi calculada usando FDN e FDA e a celulose usando FDA e LDA (hemicelulose=FDN-FDA; celulose= FDA-LDA) (Zadrazil e Brunnert, 1982). De forma semelhante foram também determinados os valores de fibras brutas, através do aquecimento e agitação das amostras em solução de ácido sulfúrico 0,255N e hidróxido de potássio 0,25N por meio da técnica de bolsa filtrante, assim como nas análises de fibras (Ankom, 2008).

#### 2.5. Cinzas e relação C/N

Para a determinação dos valores de cinzas foi realizada a calcinação direta das amostras a 540°C (MAPA, 1994), utilizando um forno mufla eletrônico da marca Slecta, modelo Select-Horn (J.P. Selecta, S.A., Abrera, Barcelona, Espanha) A relação entre carbono e nitrogênio (C/N) se deu assumindo o conteúdo de carbono da matéria orgânica de 58% (Waksman e Stevens, 1930), sendo calculada a partir do nitrogênio total e da matéria orgânica total (calculada pela diferença com o valor de cinzas), ambos em matéria seca, mediante a fórmula:

$$\text{Relação CN} = \frac{\text{Matéria orgânica total (g por kg)} \times 0,58}{\text{Nitrogênio total (g por kg)}}$$

#### 2.6. Desenho experimental e análise estatística

As análises e tratamentos dos dados foram conduzidos em um delineamento fatorial simples, com diferentes momentos de avaliação ao longo do processo de cultivo de *L. edodes* e *P. ostreatus*. A coleta de amostras foi realizada por meio da

seleção aleatória de cinco blocos/sacos de cultivo, de onde foram retiradas amostras simples posteriormente reunidas para compor uma amostra composta. Para as análises de caracterização do substrato, foram realizadas quatro repetições para cada variável avaliada.

Após a obtenção dos dados, eles foram submetidos à análise de variância e posteriormente comparados pelo teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade, e por modelos de estatística multivariada. Para a estatística e a confecção dos gráficos foi utilizado o software R (R Core Team, 2024).

### 3. RESULTADOS

O processo de degradação do substrato pelos fungos influencia diretamente as condições finais desse material. As espécies *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* apresentam comportamento semelhante na redução de parâmetros ao longo do processo de degradação. Observou-se uma diminuição nos valores de densidade aparente, pH, relação C/N, fibras brutas, hemicelulose, celulose e lignina. Em contrapartida, os valores de condutividade elétrica, nitrogênio e cinzas aumentaram ao final do cultivo dos fungos (Tabelas 1 e 2).

O *L. edodes* apresentou alterações menos expressivas na estruturação do substrato ao longo do processo. A densidade aparente, por exemplo, reduziu-se de 0,31 g/cm<sup>3</sup> no início para 0,13 g/cm<sup>3</sup> ao final. Observou-se também, uma redução mais acentuada no pH, de 5,61 para 3,94, e um aumento significativo na condutividade elétrica, que passou de 886 para 1610. Além disso, houve uma diminuição de aproximadamente 40% na relação C/N (Tabela 1).

Na análise da produção de *P. ostreatus*, observou-se uma redução significativa na densidade aparente do substrato, passando de 1,44 g/cm<sup>3</sup> para 0,14 g/cm<sup>3</sup>, considerando-se que apenas um ciclo de produção foi realizado. O pH do substrato variou em 2,58 ao longo do ciclo, enquanto a condutividade elétrica apresentou um aumento de 337 µS/cm entre o substrato inicial e o final (Tabela 2). Esses resultados

evidenciam alterações físico-químicas substanciais no substrato durante o processo produtivo, refletindo a degradação e transformação dos componentes originais.

**Tabela 1.** Alteração na composição de substrato durante o período de cultivo de *Lentinula edodes*.

Substratos	Densidade Aparente (g/cm <sup>3</sup> )	pH	Condutividade Elétrica $\mu$ S/cm	N (%)	Relação C/N	Cinzas (%)	Fibras Brutas (%)	Hemicelulose (%)	Celulose (%)	Lignina (%)
Inicial	0,31 $\pm$ 0,013 a	5,61 $\pm$ 0,008 a	886 $\pm$ 3,55 c	0,84 $\pm$ 0,012 d	61 $\pm$ 1,44 a	11,08 $\pm$ 0,69 d	36,25 $\pm$ 0,62 a	30,15 $\pm$ 1,6 a	31,66 $\pm$ 0,68 a	13,75 $\pm$ 0,58 a
Final 1º fluxo	0,21 $\pm$ 0,000 b	4,27 $\pm$ 0,026 b	1049 $\pm$ 19,13 b	0,97 $\pm$ 0,021 c	50 $\pm$ 0,97 b	16,41 $\pm$ 0,01 c	31,35 $\pm$ 3,72 b	21,88 $\pm$ 0,31 b	27,95 $\pm$ 0,27 b	9,99 $\pm$ 0,56 b
Final 2º fluxo	0,18 $\pm$ 0,002 c	4,15 $\pm$ 0,005 c	1478 $\pm$ 8,95 a	1,12 $\pm$ 0,048 b	42 $\pm$ 1,65 c	18,87 $\pm$ 0,51 b	30,41 $\pm$ 1,21 b	18,96 $\pm$ 0,37 c	22,54 $\pm$ 0,81 c	9,73 $\pm$ 0,01 b
Final 3º fluxo	0,15 $\pm$ 0,003 d	4,12 $\pm$ 0,022 c	1504 $\pm$ 49,46 a	1,21 $\pm$ 0,051 a	38 $\pm$ 1,44 d	20,44 $\pm$ 0,89 a	21,91 $\pm$ 0,14 c	18,69 $\pm$ 1,43 c	22,46 $\pm$ 0,65 c	9,04 $\pm$ 1,07 b
Final 4º fluxo	0,13 $\pm$ 0,000 e	3,94 $\pm$ 0,039 d	1610 $\pm$ 148,6 a	1,25 $\pm$ 0,041 a	37 $\pm$ 1,1 d	20,48 $\pm$ 0,69 a	21,47 $\pm$ 1,44 c	15,55 $\pm$ 0,92 d	21,27 $\pm$ 0,36 c	8,68 $\pm$ 0,98 b
CV (%)	3,27	0,53	5,41	3,51	2,94	3,62	6,67	3,77	2,34	7,25

**Tabela 2.** Alteração na composição de substrato durante o período de cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

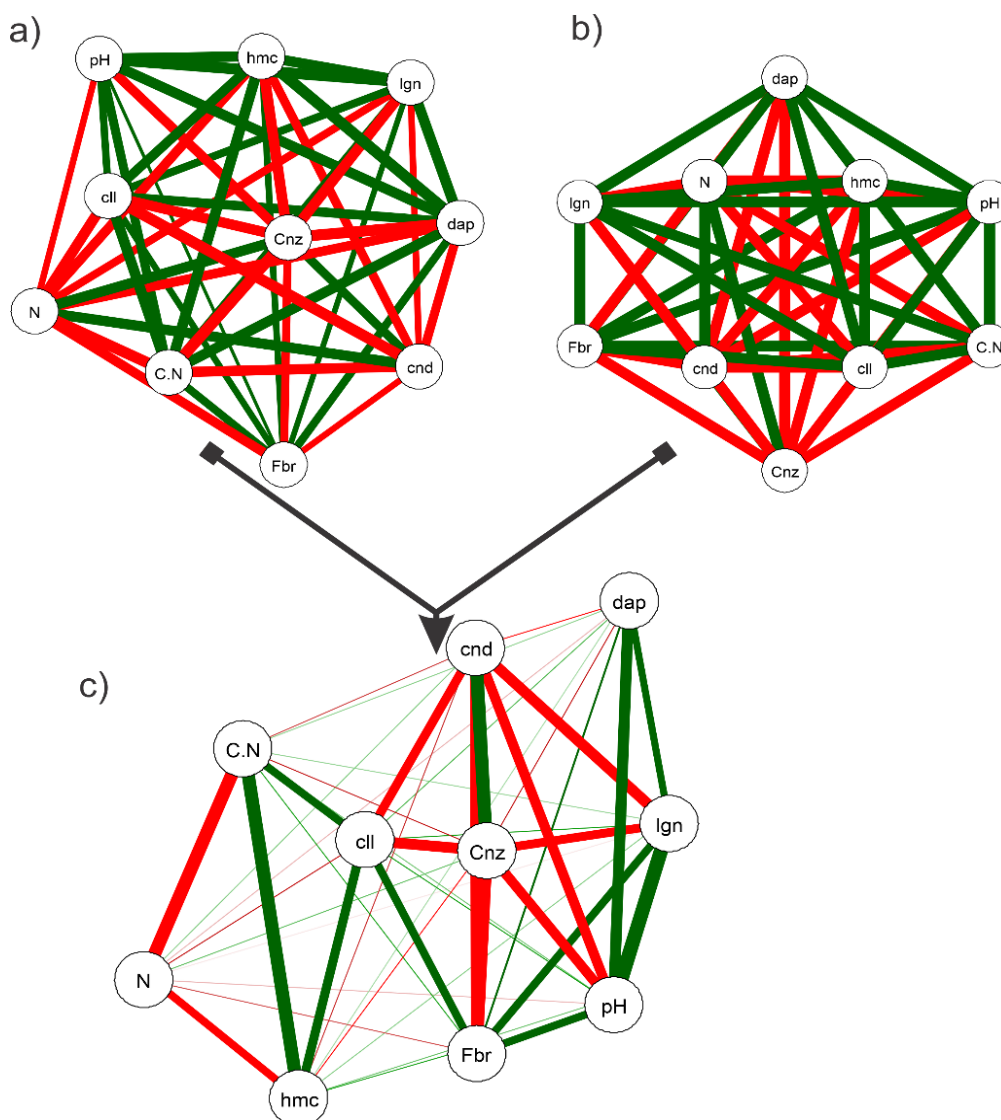
Tratamento	Densidade Aparente (g/cm <sup>3</sup> )	pH	Condutividade Elétrica $\mu$ S/cm	N (%)	Relação C/N	Cinzas (%)	Fibras Brutas (%)	Hemicelulose (%)	Celulose (%)	Lignina (%)
S. Inicial	1,44 $\pm$ 0,013 a	8,06 $\pm$ 0,04 a	501 $\pm$ 22,60 b	1,08 $\pm$ 0,06 b	49 $\pm$ 2,53 a	9,49 $\pm$ 0,25 b	42,24 $\pm$ 1,51 a	22,21 $\pm$ 0,32 a	29,73 $\pm$ 0,85 a	23,05 $\pm$ 1,31 a
S. Final	0,14 $\pm$ 0,001 b	5,48 $\pm$ 0,19 b	838 $\pm$ 10,66 a	1,32 $\pm$ 0,03 a	38 $\pm$ 1,13 b	13,37 $\pm$ 0,50 a	32,49 $\pm$ 0,12 b	19,39 $\pm$ 1,11 b	26,74 $\pm$ 1,10 b	16,74 $\pm$ 0,94 b
CV (%)	1,14	2,01	2,64	3,92	4,51	3,46	2,87	1,15	3,49	5,72

As duas espécies estudadas apresentaram comportamentos semelhantes, especialmente em relação à redução percentual de cada parâmetro avaliado (Tabela 3). No entanto, *P. ostreatus* demonstrou maior eficiência na redução da densidade aparente e do conteúdo de fibras brutas, com diminuições de 90,27% e 23,08%, respectivamente, em comparação com os 32,25% e 13,52% observados para *L. edodes*, ao final do primeiro ciclo de produção. Por outro lado, *P. ostreatus* evidenciou maior potencial para o aumento da condutividade elétrica, com uma elevação de 67,22% ao término do ciclo, em contraste com os 18,47% observados para o *Lentinula edodes* (Tabela 3).

**Tabela 3.** Taxas percentuais de variação no conteúdo químico e lignocelulósico dos substratos de cultivo de *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* durante diferentes estágios de produção de cogumelos.

Substratos	Densidade Aparente		Condutividade							
	(%)	pH (%)	Elétrica (%)	N (%)	CN (%)	Cinzas (%)	Fibras Brutas (%)	Hemicelulose (%)	Celulose (%)	Lignina (%)
<i>Lentinula edodes</i>										
Final 1° fluxo	(-) 32,25	(-) 23,88	(+) 18,47	(+) 15,47	(-) 18,03	(+) 48,10	(-) 13,52	(-) 27,43	(-) 11,72	(-) 27,34
Final 2° fluxo	(-) 41,93	(-) 26,02	(+) 66,89	(+) 33,33	(-) 31,15	(+) 70,30	(-) 16,11	(-) 37,11	(-) 28,81	(-) 29,24
Final 3° fluxo	(-) 51,61	(-) 26,55	(+) 69,79	(+) 44,05	(-) 37,70	(+) 84,48	(-) 39,56	(-) 38,01	(-) 29,06	(-) 34,25
Final 4° fluxo	(-) 58,06	(-) 29,77	(+) 81,71	(+) 48,81	(-) 39,34	(+) 84,83	(-) 40,77	(-) 48,42	(-) 32,82	(-) 36,78
<i>Pleurotus ostreatus</i>										
Final 1° fluxo (SMS)	(-) 90,27	(-) 32,01	(+) 67,22	(+) 22,22	(-) 22,45	(+) 40,88	(-) 23,08	(-) 12,70	(-) 10,05	(-) 27,37

A análise das médias dos parâmetros avaliados para *L. edodes* revela uma correlação positiva entre os valores de celulose, hemicelulose, lignina, densidade aparente e a relação C/N com o pH do substrato. Por outro lado, observa-se uma correlação negativa desses mesmos parâmetros com a condutividade elétrica. Além disso, a concentração de nitrogênio apresentou uma influência negativa sobre a relação C/N, assim como a condutividade elétrica e o teor de cinzas (Figura 1a). De maneira semelhante, *Pleurotus ostreatus* exibe um padrão comparável de resposta às mudanças no substrato em relação a *L. edodes*. Contudo, no caso de *P. ostreatus*, as correlações, tanto positivas quanto negativas, tendem a ser mais pronunciadas, indicando uma maior sensibilidade a essas variáveis (Figura 1b).



**Figura 1.** Análise correlação sendo: a: comportamento de substrato de *Lentinula edodes*, b: comportamento de substrato de *Pleurotus ostreatus* e c: comportamento compartilhado entre as espécies (todos dados). dap: densidade aparente; C.N: relação C/N; cnd: condutividade elétrica; Cnz: cinzas; Fbr: fibras brutas; cll: celulose; hmc: hemicelulose e lgn: lignina.

Ao analisar a totalidade dos dados, incluindo a correlação entre as duas espécies de fungos avaliadas, é possível identificar comportamentos compartilhados. Observa-se que a redução da relação carbono/nitrogênio (C/N) está associada a maiores concentrações de nitrogênio, enquanto o aumento da relação C/N é favorecido por maiores concentrações de hemicelulose. Adicionalmente, maiores concentrações de cinzas demonstraram uma relação direta com o aumento da condutividade elétrica. Contudo, as concentrações de cinzas mostraram-se

influenciadas por níveis mais elevados de fibras brutas, destacando uma interação complexa entre os componentes químicos e as propriedades físicas do substrato analisado (Figura 1c).

#### 4. DISCUSSÃO

Cada espécie de cogumelo cultivado apresenta uma relação ideal de C/N para seu crescimento (Zied et al., 2011), além de requerer características químicas e físicas específicas. Esses fatores são essenciais para assegurar uma rápida colonização pelo fungo, aumentar os rendimentos e reduzir o período de colheita, possibilitando a realização de mais ciclos em um intervalo de tempo determinado (Atila, 2019).

Entre as duas espécies estudadas, *L. edodes* apresenta uma relação C/N maior em comparação com *P. ostreatus*, o que está diretamente relacionado às preferências metabólicas de cada uma. *L. edodes* é caracterizado por sua capacidade de degradar materiais com maior concentração de carbono e por sua menor exigência em fontes de nitrogênio (Kumla et al., 2020). Essa espécie tem sido tradicionalmente cultivada em materiais como serragem de forma axênica (Bach et al., 2018), ou seja, substrato estéril, sem o uso de processos de pasteurização e compostagem, sendo estas técnicas utilizadas recentemente para essa espécie (Avila et al., 2023). Por outro lado, *P. ostreatus* é cultivado há décadas utilizando o método de pasteurização principalmente na Europa (Royse e Vázquez, 2001), com relações C/N menores em comparação a *L. edodes*.

Quanto à ação das duas espécies estudadas, observa-se que ambas, ao final do cultivo, reduziram os valores de densidade aparente, reflexo da degradação estrutural do substrato por ação enzimática. Esse processo ocorreu principalmente pela degradação dos componentes estruturais como a celulose, hemicelulose e lignina (Kumla et al., 2020) o que confere rigidez ao substrato (Farahi et al., 2017). O substrato de *P. ostreatus* apresentou maiores valores de fibras brutas e também de lignina. Considerando que a lignina é um polímero capaz de conferir rigidez a vegetais (Borghi e Kimura, 2024) isso justifica a maior densidade aparente para esta espécie.

Se as duas espécies forem comparadas apenas até o final do primeiro fluxo, *P. ostreatus* exibiu maior eficiência na redução da densidade aparente (90,27%) em relação a *L. edodes* (32,25%), demonstrando uma grande adaptabilidade à ação de enzimas lignocelulósicas expressas pelo cogumelo ostra no que tange ao substrato utilizado. Mesmo após 4 fluxos de produção, *L. edodes* foi capaz de reduzir apenas 58,06% dos valores de densidade. No entanto, não se trata de uma inferioridade de *L. edodes* em comparação com *P. ostreatus*, já que também se observa uma redução padrão dos níveis de lignina pelas duas espécies. Como já abordado, o processo de produção de *L. edodes* em substratos pasteurizados e com menor concentração de lignina, pode prejudicar a sua atividade enzimática e conseqüentemente reduzir sua capacidade de degradação do material (Yang ShiFeng et al., 2017; Avila et al., 2023).

A análise das reduções de hemicelulose, celulose e lignina corrobora a ação sinérgica de enzimas específicas produzidas por ambas as espécies. Enquanto *L. edodes* demonstra uma eficiência maior na degradação de hemicelulose, sendo típico da espécie (Atila, 2019), *P. ostreatus* demonstra uma capacidade maior na redução da densidade evidenciado pela redução superior de fibras brutas. No entanto, ambas espécies compartilham eficiência na degradação de celulose e lignina, levando em consideração que *L. edodes* foi cultivado em substrato atípico. Outro aspecto é que os fungos têm uma capacidade maior de degradação de estruturas lignocelulósicas, da colonização até o início da frutificação, onde essa ação diminui até o final do cultivo (Singh, 2000). Ademais, maior disponibilidade de nutrientes no substrato pode influenciar na atividade das enzimas lignocelulósicas (Lin et al., 2015). Nesse quesito o substrato de *P. ostreatus* é favorecido por apresentar relação C/N menor do que o de *L. edodes*.

A redução do pH durante o cultivo foi evidente em ambas as espécies, com maior intensidade para *P. ostreatus* com 32,01% de redução ao final do cultivo (1º Fluxo). Esse fenômeno está associado à produção de ácidos orgânicos principalmente de ácido oxálico (Li et al., 2022). O maior decréscimo no pH em *P. ostreatus* pode estar relacionado à sua capacidade de produzir maiores quantidades desses compostos para facilitar a solubilização de lignina, característica de substratos ricos em carbono. Esse decréscimo também pode se relacionar principalmente ao fato de a espécie estar adaptada à colonização de substratos produzidos de forma

compostada/pasteurizada. A maior atividade enzimática evidenciada pela rápida degradação do substrato (densidade aparente e fibras) conseqüentemente afeta de forma direta o pH do substrato, também o impacto dessa acidificação tem implicações na microbiota associada e na estabilidade química do substrato (Qian et al., 2022).

O aumento na condutividade elétrica, mais pronunciado em *P. ostreatus* (67,22%) do que em *L. edodes* (18,47%), se eles forem comparados até o final do primeiro fluxo, indica o acúmulo de íons solúveis no substrato, como resultado da mineralização de compostos orgânicos e da liberação de nutrientes anteriormente complexados (Gómez-Brandón et al., 2008; Wei et al., 2020). De certa forma, nos substratos em que foram cultivados, o cogumelo ostra demonstra uma maior rapidez na mineralização, mesmo que ao final de 4 fluxos o *L. edodes* tenha valores de condutividade elétrica 81,71% maiores que ao final. O que é demonstrado pela mineralização de nitrogênio, se comparados até o final do primeiro fluxo, *P. ostreatus* foi superior (aumento de 22,22%), porém se observado todo período de cultivo de cada espécie, *L. edodes* foi capaz de adicionar mais 48,81% de nitrogênio ao substrato. O mesmo comportamento pode se aplicar aos minerais de íons solúveis, como o cálcio, magnésio e sódio (Ribas et al., 2009; Narváez et al., 2021).

A correlação negativa observada entre fibras brutas e relação C/N, bem como entre fibras brutas e condutividade elétrica, reforça o papel central dos materiais lignocelulósicos como fonte de carbono para o metabolismo de fungos filamentosos (Eichlerová et al., 2015; Dörsam et al., 2017). A densidade aparente, por sua vez, correlaciona-se positivamente com o pH e a concentração de lignina, sugerindo que substratos mais densos e ricos em lignina mantêm características estruturais e químicas que conferem principalmente estruturação física ao substrato. Essa relação pode ser relevante para a escolha do substrato dependendo do objetivo produtivo, como maior rendimento ou preservação do material residual.

Os resultados destacam a influência do perfil metabólico de cada espécie nas características finais do substrato. *P. ostreatus* apresentou maior eficiência na degradação estrutural e química do substrato, enquanto *L. edodes* se mostrou mais seletivo na transformação de componentes específicos, como a lignina. Esses achados podem guiar estratégias de manejo para otimizar tanto a produção de

cogumelos quanto o aproveitamento do substrato residual. Além disso, a acidificação e o aumento da condutividade elétrica observados em ambos os processos reforçam a necessidade de avaliar os impactos ambientais e a viabilidade de reaproveitamento desses substratos.

## 5. CONCLUSÃO

Os cogumelos *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* demonstraram eficiência na degradação de materiais lignocelulolíticos, promovendo reduções na densidade do substrato de 58,06% e 90,27%, respectivamente. Entre essas espécies, *P. ostreatus* destacou-se pela maior eficiência na redução das concentrações de fibras brutas e apresentou desempenho comparável ao de *L. edodes* na degradação de celulose e lignina, especialmente ao final do primeiro ciclo do cultivo, mesmo sendo cultivado em substrato alternativo. Por outro lado, *L. edodes* foi mais eficiente na degradação de hemicelulose. Dessa forma, os materiais lignocelulolíticos demonstram potencial significativo como fonte sustentável de carbono para o cultivo dessas espécies de cogumelos. Além disso, o processo de mineralização de nutrientes gera um resíduo final com grande potencial de aplicação.

## REFERÊNCIAS

AENOR, Asociación Española de Normalización (2007) EN 1936. Natural stone test methods. Determination of real density and apparent density, and of total and open porosity. Madrid: UNE.

Alves LS, Tolardo G, Caitano CEC, Vieira Júnior WG, Freitas PNG, Zied DC (2024) Use of spent mushroom substrate for cherry tomato seedlings; a potential alternative to peat in horticulture. **Biological Agriculture & Horticulture** 40(2):127-140.

ANKOM (2005) Method for Determining Acid Detergent Lignin in Beakers. Method AK 8/05. Macedon: Ankom Technology.

ANKOM (2006a) Neutral Detergent Fiber in Feeds. Filter Bag Technique. Method 6. Macedon: Ankom Technology.

ANKOM (2006b) Acid Detergent Fiber in Feeds. Filter Bag Technique. Method 5. Macedon: Ankom Technology.

ANKOM (2008) Crude Fiber Analysis in Feeds By Filter Bag Technique. AOCS Approved Procedure Ba 6a-05, Method 7. Macedon: Ankom Technology.

Annepu SK, Sharma VP, Barh A, Kamal S, Shirur M, Kumar S, Bairwa RK, Gupta S, Gupta M, Dutta U, Summuna B, Gupta D, Kumar R (2023) Influence of heat treatment and solid-state fermentation on the lignocellulosic fractions of substrates supporting *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler cultivation: implications for commercial production. **Fermentation** 9(2):130.

Araújo-Rodrigues H, Sousa AS, Relvas JB, Tavaría FK, Pintado M (2024) An overview on mushroom polysaccharides: Health-promoting properties, prebiotic and gut microbiota modulation effects and structure-function correlation. **Carbohydrate Polymers** 333:121978.

Atila F (2019) Compositional changes in lignocellulosic content of some agro-wastes during the production cycle of shiitake mushroom. **Scientia Horticulturae** 245:263-268.

Avila IAF, Alves LS, Zied DC (2023) Bioconversion of rice straw by *Lentinula edodes* under different spawn formulations. **Brazilian Journal of Microbiology** 54(4):3137-3146.

Bach F, Helm CV, Lima EA, Bellettini MB, Haminiuk CWI (2018) Influence of cultivation methods on the chemical and nutritional characteristics of *Lentinula edodes*. **Emirates Journal of Food and Agriculture** 30(12):1006-1014.

Borghini M, Takeda-Kimura Y (2024) Synthesis and physiological function of lignin in the reproductive structures of angiosperms. **Phytochemistry Reviews** 2024:1-13.

Clavijo MP (2005) Determinación de las características analíticas de compost de champiñón (*Agaricus bisporus*) mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR). In: Avances en la tecnología de producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados 3. Quintanar del Rey (Cuenca): CIES, p. 55-67.

Dedousi M, Melanouri EM, Diamantis I, Papanikolaou S, Diamantopoulou P (2024) Biochemical, functional and antioxidant potential of higher fungi cultivated on agro-industrial residues. Part II: Cultures on mixtures of spent mushroom substrates and mushroom cropping by-products. **Resources Chemicals and Materials** 3(3):175-187.

Dörsam S, Fessler J, Gorte O, Hahn T, Zibek S, Syldatk C, Ochsenreither K (2017) Sustainable carbon sources for microbial organic acid production with filamentous fungi. **Biotechnology for Biofuels** 10:1-12.

ECS, European Committee for Standardization (1999) Determination of electrical conductivity. Soil Improvers and Growing Media. Brussels: Standard 13038.

Eichlerová I, Homolka L, Žifčáková L, Lisá L, Dobiášová P, Baldrian P (2015) Enzymatic systems involved in decomposition reflects the ecology and taxonomy of saprotrophic fungi. **Fungal Ecology** 13:10-22.

Farahi RH, Charrier AM, Tolbert A, Lereu AL, Ragauskas A, Davison BH, Passian A (2017) Plasticity, elasticity, and adhesion energy of plant cell walls: nanometrology of lignin loss using atomic force microscopy. **Scientific reports** 7(1):152.

FOSS (2003) The Determination of Nitrogen According to Kjeldahl Using Block Digestion and Steam Distillation. Foss Application Note AN 300, Höganäs: FOSS Analytical, 13p.

Fukasawa Y, Matsukura K (2021) Decay stages of wood and associated fungal communities characterise diversity–decomposition relationships. **Scientific reports** 11(1):8972.

Ghobad-Nejhad M, Dima B, Cui BK, Si J (2023) Basidiomycete fungi: From biosystematics and biodiversity to biotechnology. **Frontiers in microbiology** 14:1128319.

Gómez-Brandón M, Lazcano C, Domínguez J (2008) The evaluation of stability and maturity during the composting of cattle manure. **Chemosphere** 70(3):436-444.

Goyal R, Grewal RB (2024) Effect of Feeding *Agaricus Bisporus* (White Button) Mushroom on Serum and Liver Cholesterol and Excretion of Cholesterol and Bile Acids in Rats. **Journal of Scientific Research** 16(2):579-587.

Khumlianlal J, Rajkumari J, Keshry SS, Jena S, Chattopadhyay S, Mukherjee PK, Sarangthem I (2024) Analysis of nutritional value, antiviral potential and in vivo

toxicological evaluation of *Termitomyces clypeatus* R. Hiem mycelial extract, a wild edible mushroom. **Food Bioscience** 61:104817.

Kumla J, Suwannarach N, Sujarit K, Penkhruw W, Kakumyan P, Jatuwong K., Vadthanarat S, Lumyong S (2020) Cultivation of mushrooms and their lignocellulolytic enzyme production through the utilization of agro-industrial waste. **Molecules** 25(12):2811.

Kumar R, Gupta D, Barh A, Nath M, Sharma VP, Rana, N, Sharma PK, Bhardwaj C (2024) Insights on Strain-Substrate Interactions and Antioxidant and Anti-Bacterial Properties of the Velvet Foot Medicinal Mushroom *Flammulina velutipes* (Agaricomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms** 26(4):29-39.

Li J, Duan Y, Hu Z, Yang F, Wu X, Zhang R (2022) Physiological mechanisms by which gypsum increases the growth and yield of *Lentinula edodes*. **Applied Microbiology and Biotechnology** 106(7):2677-2688.

Lin Y, Ge X, Liu Z, Li Y (2015) Integration of Shiitake cultivation and solid-state anaerobic digestion for utilization of woody biomass. **Bioresource Technology** 182:128-135.

Mapa, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (1994) Métodos oficiales de análisis. Tomo III. Madrid: Servicio de Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 51p.

Martín C, Zervakis GI, Xiong S, Koutrotsios G, Strætkevorn KO (2023) Spent substrate from mushroom cultivation: exploitation potential toward various applications and value-added products. **Bioengineered** 14(1):2252138.

Megersa S, Tolessa, A (2024) Enhancing Yields of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* Mushrooms Using Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* [Mart.] Solms) supplemented with Locally Available Feedstock as Substrate. **Heliyon** 20:e39113.

Nandi S, Sikder R, Rapior S, Arnould S, Simal-Gandara J, Acharya K (2024) A review for cancer treatment with mushroom metabolites through targeting mitochondrial signaling pathway: In vitro and in vivo evaluations, clinical studies and future prospects for mycomedicine. **Fitoterapia** 172:105681.

Narváez L, Bolaños AC, Chaurra A, Zuñiga Escobar O (2021) Changes in macronutrients and physical properties during the growth of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* in a compost based on sugarcane bagasse agricultural waste. **Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences** 37(3):301-312.

Oki T, Watanabe H, Ishikawa H (1981) Biodegradation of lignin by Shiitake *Lentinus edodes* (berk.) sing. **Mokuzai Gakkaishi** 27(9):696-702.

Phonemany M, Niego AGT, Thongklang N (2024) Pleurotoid (Basidiomycetes) from Laos and Thailand: A Review of their Taxonomy, Distribution, Cultivation, Nutrition and Bioactivities. **Fungal Biotech** 4(1):12-35.

Qian X, Bi X, Xu Y, Yang Z, Wei T, Xi M, Li J, Chen L, Li H, Sun S (2022) Variation in community structure and network characteristics of spent mushroom substrate (SMS) compost microbiota driven by time and environmental conditions. **Bioresource Technology** 364:127915.

Ribas LCC, Mendonça MM, Camellini CM, Soares CHL (2009) 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** 100(20):4750-4757.

Ré BB, Junior WGV, Postiguel RB, Alves LS, Caitano CEC, Freitas MAS, Zied DC (2024) A cascade approach to sustainable agriculture: From mushroom mycelium to lettuce harvest. **Science of The Total Environment** 20:173976.

Reis FS, Barros L, Martins A, Ferreira IC (2012) Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. **Food and Chemical Toxicology** 50(2):191-197.

Royse DJ, Baars J, Tan Q (2017) Current overview of mushroom production in the world. In: Zied DC, Pardo-Gimenez A (Eds.) **Edible and medicinal mushrooms: technology and applications**. New York: John Wiley & Sons, p. 5-13.

Royse DJ, Vázquez ES (2001) La importancia del cultivo de *Pleurotus* spp. Estadísticas mundiales de producción, com énfasis en Hispanoamérica. In: Sánchez JE, Royse D (Eds.) **La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp.** Chiapas: Ecosur UTEHA, p. 17-26.

Safaie N, Salehi M, Farhadi S, Aligholizadeh A, Mahdizadeh V (2024) *Lentinula edodes* substrate formulation using multilayer perceptron-genetic algorithm: a critical production checkpoint. **Frontiers in Microbiology** 15:1366264.

Singh MP (2000) Biodegradation of lignocellulosic wastes through cultivation of *Pleurotus sajor-caju*. In: Science and cultivation of edible fungi. Van Griensven LJKD (Ed.) **Proceedings of the 15th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi**. Maastricht: A.A. Balkema, p. 517-521.

Thomas L, Mago P (2024) Unearthing the therapeutic benefits of culinary-medicinal mushrooms for humans: Emerging sustainable bioresources of 21st century. **Journal of Basic Microbiology** 64(8):e2400127.

Van Soest PV, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science** 74(10):3583-3597.

Waksman SA, Stevens KR (1930) A critical study of the methods for determining the nature and abundance of soil organic matter. **Soil Science** 30(2):97-116.

Wei Y, Jin Z, Zhang M, Li Y, Huang S, Liu X, Jin Y, Wang H, Qu J (2020) Impact of spent mushroom substrate on Cd immobilization and soil property. **Environmental Science and Pollution Research** 27:3007-3022.

Yang ShiFeng YS, Xiao Yang XY, Huang TianJi HT, Zhang Jian ZJ, Liu JunPeng LJ, Gong YuHua GY, Bian YinBing BY (2017) Effects of incorporating rice straw in *Lentinula edodes* cultivation substrates on mycelial growth and selected fruit body parameters. **Acta Edulis Fungi** 24(3):30-34.

Yusof MS, Masrol SR, Suloh NA, Main NI (2024) Utilization of Rice Straw from Sungai Balang, Muar as an Alternative for Oyster Mushroom Production. **Progress in Engineering Application and Technology** 5(1):359-368.

Zdražil F, Brunnert H (1982) Solid state fermentation of lignocellulose containing plant residues with *Sporotrichum pulverulentum* Nov. and *Dichomitus squalens* (Karst.) Reid. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology** 16:45-51.

Zied DC, Abreu CG, Alves LDS, Prado EP, Pardo-Gimenez A, Melo PC, Dias ES (2021) Influence of the production environment on the cultivation of lettuce and arugula with spent mushroom substrate **Journal of Environmental Management** 281:111799.

Zied DC, Sánchez JE, Noble R, Pardo-Giménez A (2020) Use of spent mushroom substrate in new mushroom crops to promote the transition towards a circular economy. **Agronomy** 10(9):1239.

Zied DC, Savoie JM, Pardo-Giménez A (2011) Soybean the main nitrogen source in cultivation substrates of edible and medicinal mushrooms. **Soybean and Nutrition** 22:433-452.