

Subprodutos da agroindústria do óleo de palma (dendê) para cultivo de cogumelos comestíveis e nutrição de peixes

Kátia dos Santos Morais¹; Agenor Fontoura Marquez²; Taísa Godoy Gomes²; Antony Enis Virginio Machado³; Marivane Lemos¹; Marcos Ene Chaves Oliveira⁴; Heitor Martins Junior⁴; Simone Mendonça²; Felix Gonçalves de Siqueira².

¹ Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, BA, Brasil. ² Embrapa Agroenergia, Brasília, DF, Brasil. felix.siqueira@embrapa.br ³ Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, Brasil. ⁴ Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, Brasil.

Resumo

Objetivo: Este trabalho teve por objetivos fazer uso dos subprodutos lignocelulósicos da Agroindústria da Palma de Óleo (APO) como substratos para cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* CC389 e utilizar a biomassa pós-colheita ou SMS (inglês: *spent mushroom substrate*) do *P. ostreatus* CC389 como um dos ingredientes para formulação de ração para nutrição de alevinos de tambacu. As APOs são estruturadas com uma série de equipamentos e logística que são favoráveis para o cultivo de cogumelos ou pré-tratamento biológico das biomassas vegetais por macrofungos e geração de bioprodutos para aplicação em formulações de ração animal, por exemplo. As autoclaves industriais utilizados nas APOs favorecem a esterilização dos substratos para inoculação do micélio dos macrofungos, assim não necessitando de investimento estrutural para esterilização dos substratos. Aqui também foi utilizada a estratégia de pré-compostagem (7 dias) e esterilização a vapor de uma formulação de substrato para escolha da espécie de *Pleurotus*. Resultados: Os resultados quanto ao processo de esterilização dos substratos mostraram a necessidade de buscar embalagens (sacolas) confeccionadas com material plástico que suporte temperaturas acima de 140 °C e 3 Atm, pois as sacolas de polietileno tradicionalmente utilizadas para autoclave com 1 Atm de pressão e 121 °C não suportaram e derreteram. As contaminações por fungos “verdes” dos gêneros *Trichoderma* foram um dos principais problemas, como também o controle da temperatura das salas de cultivo (sem ar-condicionado). Mesmo diante destas adversidades, os resultados da produtividade do *Pleurotus ostreatus* CC389 foram satisfatórios para a maioria das formulações. As atividades enzimáticas do SMS também foram avaliadas, sendo lacase como predominante. A análise centesimal das formulações e SMS também foram avaliados para compor os ingredientes para nutrição dos alevinos de tambacu. A ração formulada com SMS do cultivo de *Pleurotus* foi aceita pelos alevinos, que mostraram resultados de digestibilidade semelhantes a ração controle. Deste modo, a agroindústria de palma de óleo apresentam características favoráveis para produção de cogumelos do tipo *Pleurotus* e insumos para nutrição de peixes (SMS), em função das estruturas físicas, equipamentos e disponibilidade de biomassas lignocelulósicas e proteicas/lipídicas.

Palavras-chave: Biorrefinaria, Agroindústria Palma de óleo, Macrofungos, cogumelos, Nutrição de peixes.

Abstract

Objective: This work aimed to make use of the lignocellulosic sub products of the APO (Palm Oil Agroindustry), such as empty bunches, pressing fibers, palm kernel cake and palm kernel sludge from the decanter as substrates for edible mushroom cultivation *Pleurotus ostreatus* CC389. Also how to use post-harvest biomass or SMS (*Spent Mushroom Substrate*) of *P. ostreatus* CC389 as one of the

ingredients for formulating ration and nutrition of tambacu fingerlings. The APOs are structured with a series of equipment and logistics that are favorable for the cultivation of mushrooms or biological pre-treatment of the vegetal biomasses by macrofungos and generation of bioproducts for application in formulations of animal feed for example. Industrial autoclaves used in APOs favor to sterilize substrates for inoculation of the mycelium of macrofungi, and thus do not require structural investment for sterilization of substrates. However, the pre-composting strategy (7 days) and steam sterilization of a substrate formulation were also used to select *Pleurotus* species. Results: The results regarding the process of sterilization of the substrates showed the need to look for packages (bags) made with plastic material that supports temperatures above 140°C and 3 Atm, because the polyethylene bags traditionally used for autoclaving with 1 Atm of pressure and 121°C did not support the stress and melted. The contamination by "green" fungi of the *Trichoderma* genus was one of the main problems, as well as the temperature control of the growing rooms (without air conditioning). But even in the face of these adversities, the productivity results of *Pleurotus ostreatus* CC389 were satisfactory for most formulations. The enzymatic activities of SMS were also evaluated, with laccase being predominant. The centesimal analysis of the formulations and SMS were also evaluated to compose the ingredients for nutrition of tambacu fingerlings. The feed formulated with SMS of *Pleurotus* cultivation was accepted by the fingerlings, which showed digestibility results similar to the control ration. In this way, the palm oil agroindustry presents favorable characteristics for the production of *Pleurotus* mushrooms and fish nutrition inputs (SMS), in function of the physical structures, equipment and availability of lignocellulosic and proteic / lipid biomasses.

Key words: Biorefinery, Palm Oil Mill, Macrofungi, Mushroom, Fish Feed

Introdução

A agroindústria de palma de óleo (APO) gera dois tipos de óleos, que são: óleo de palma, extraído do mesocarpo dos frutos, e o óleo de palmiste obtido da amêndoa (ABDULLAH; WAHID, 2010; MBA et al., 2015). Logo após a colheita, os cachos devem ser transportados o quanto antes para a agroindústria, evitando o processo de acidificação dos óleos, com consequente perda do valor comercial (KURNIA et al., 2016).

O óleo de palma tem aplicações diversas em indústrias alimentícias, cosméticos e biocombustíveis (GILBERT, 2012). O CPO (inglês, *crude palm oil*) é o mais importante óleo vegetal do mundo, por ser o mais produzido e consumido, com diversas aplicações industriais (TEOH, 2010; NORHAIZAN et al., 2013).

A produção de CPO em 2013 no mundo foi de 54,3 milhões de toneladas, deste total a continente asiático, produziu 48,4 (FAOSTAT, 2016), representando 89% do mercado produtor deste óleo vegetal (Figura 1).

A Malásia e Indonésia são os maiores produtores desta cultura, sendo que estes países juntos alcançaram mais de 43 milhões de toneladas deste produto em 2013 (FAOSTAT, 2016) (Figura 2).

A Colômbia é o país das Américas com maior representatividade neste setor, que em 2013 produziu mais de 1 milhão de toneladas, ficando ranqueada entre os maiores produtores do mundo. O Brasil neste mesmo período produziu 340 mil toneladas, tendo maior representatividade no estado do Pará, e com produção crescente desde 1993 (Figura 3).

No Brasil são produzidas três variedades de planta do dendezeiro, a *E. guineensis*, variedade dura de origem africana; *E. oleifera*, variedade pisífera originária da Amazônia, denominada caiaué, e tenera, híbrido interespecífico resultado do cruzamento da variedade dura com pisífera (*E. guineensis* x *E. oleifera*), resistente a fusariose e AF, sendo também ótima produtora de cachos e melhor qualidade do óleo produzido (TELES, 2014; ALVES et al., 2013; ALVES, 2011; LIMA et

al., 2002). Os resultados de programas de melhoramento genético elevou a importância do Brasil junto à cultura da palma de óleo (COSTA et al., 2010), em função da obtenção de híbridos do cruzamentos entre palma de óleo africana (*E. guineenses*) X americana (*Elaeis oleífera*), com característica positivas como estatura e menor ao longo tempo de espera no pátio de processamento (MEDEIROS et al., 2015).

O cultivo e a agroindústria de óleo de palma geram imensas quantidades de resíduos lignocelulósicos e efluente. Durante o ciclo de vida dessa palmeira, apenas 10% é convertida em óleos de palma e palmiste; o restante, 90% são resíduos gerados durante o manejo e processamento (ATNAW et al., 2014; KURNIA et al., 2016), que podem ser matéria-prima para outras aplicações. O manejo das plantas nas fazendas geram folhas (OPF - *Oil Palm Fronds*) e troncos (OPT - *Oil Palm Trunks*). Enquanto que o beneficiamento dos cachos de frutos frescos (FFB) nas APOs geram biomassas lignocelulósicas residuais, tais como cachos vazios (EFB- *Empty Fruit Bunches*), fibra do endocarpo prensada (PPF- *Palm Pressed Fibres*), torta de palmiste (*Kernel Shells*) e o efluente líquido (POME- *Palm Oil Mill Effluent*) (SUDIRMAN et al., 2011; MOHAMMAD et al., 2012; RAZAK, 2013).

Garcia-Nunez et al. (2016) alertam que a biomassa sólida residual geradas na agroindústria de palma de óleo (APO) é cerca de duas vezes ao CPO produzido. De acordo com estes autores estas biomassas residuais estão disponíveis e geradas nas APOs durante todo ano, gerando preocupações econômicas e ambientais, quanto a destinação destes resíduos ou subprodutos. No entanto, estas biomassas têm ganhado atenção e diferentes propostas de aplicações, principalmente em cenários de biorrefinarias (STICHNOTHE et al., 2011; YOSHIZAKI et al., 2013; CHEW e BHATIA, 2008; CHIEW et al., 2013; PRASERTSAN et al., 2006; CHANG, 2014).

Garcia-Nunez et al. (2016) avaliaram seis alternativas para evolução das agroindústrias de palma de óleo da Colômbia

no cenário de biorrefinarias. As alternativas estudadas pelos autores foram: 1) produção de biogás utilizando POME; 2) compostagem de cachos vazios e fibra de prensagem; 3) combustão de biomassas vegetais para produção combinada vapor de alta pressão combinado com energia; 4) produção de pellets; 5) Produção de biochar (bio-carvão); 6) produção de biochar e bio-oil (bio-óleo). Zahari et al., (2015) realizaram um estudo de caso para viabilidade econômica utilizando os troncos de palma de óleo para obtenção de açúcares (xarope não-alimentício) para fermentação microbiana e obtenção de bioplásticos e poli-(3-hidroxitirato), dentro do conceito de biorrefinaria. Financie et al. (2016) apontaram a possibilidade de obtenção de compostos de celulose por meio da hidrólise enzimática de biomassas vegetais de APO após pré-tratamentos por líquidos iônicos.

Temu et al., (2016) argumentaram as vantagens da produção integrada de cogumelos comestíveis (basidiomicetos) e biogás utilizando resíduos da produção da APOs na Nigéria. Os autores relatam a possibilidade de geração de alimentos e energia utilizando fontes disponíveis em abundância nas regiões produtoras de óleo de palma, e por consequência reduzindo impactos ambientais.

Diferentes tipos de macrofungos do filo Basidiomycota evoluíram degradando tipos específicos de compostos orgânicos ou gêneros/espécies de madeira. Tradicionalmente, estes fungos são divididos em duas categorias: fungos de podridão castanha/marrom (inglês: *Brown-Rot Fungi* – BRF) e fungos de podridão branca (inglês: *White-Rot Fungi* – WRF). Os BRF desconstruem principalmente a celulose presente na madeira, por meio de enzimas celulolíticas e oxidativas, sem remover a lignina, deixando a madeira marrom-colorida. Os WRF são capazes de degradar completamente a lignina (ligninases) antes de degradar enzimaticamente a celulose (RILEY et al., 2014), deixando madeira uma aparência de branca, sem a cor marrom predominante dos compostos fenólicos da lignina.

Os basidiomicetos compreendem a maioria dos cogumelos comestíveis e tem se tornado cada vez mais importantes não somente por suas características nutricionais, mas por suas propriedades medicinais e nutracêuticas, por parte de bioativos e carboidratos (beta-glucanas) (AVIN et al., 2012). De modo geral os cogumelos comestíveis são excelente fonte de nutrientes, sendo de baixa caloria e gorduras, contém proteínas, vitaminas, fibras e minerais, tais como potássio, ferro e fósforo (DE MATTOS-SHIPLEY et al., 2016).

Royse (2014) relata que cinco gêneros de cogumelos correspondem a mais de 85% da produção mundial, que são: 1) *Agaricus* (primeiramente *A. bisporus* e *A. brasiliensis*) é o maior gênero, contribuindo com 30% deste montante; 2) *Pleurotus* (com até seis espécies) 27%; 3) *Leninula edodes* (shiitake) contribui com 17%; 4 e 5) *Auricularia* e *Flammulina* que são responsáveis por 6% e 5%, respectivamente.

O *Pleurotus ostreatus* é o típico representante da família Pleurotaceae, e este é amplamente produzido pelo alto índice proteico, alcançando cerca de 15 a 35 % em peso seco; pela grande quantidade de vitaminas C e B3, produzindo até 144 mg/100g e 109 mg/100g de peso seco respectivamente, além alta produtividade, característica que favorece o cultivo da espécie (DA SILVA, 2016).

As espécies de *Pleurotus* se desenvolvem bem em resíduos agroindustriais como serragens, palhas trigo e milho e principalmente em resíduos ricos em material lignocelulósicos como restos de árvore; sendo que seu cultivo se iniciou primeiramente em palha de trigo na Europa (FIGUEIRÓ, 2009). A escolha das fontes de carbono e nitrogênio são essenciais para o desenvolvimento do metabolismo fúngico, pois a partir desses componentes, os fungos retiram açúcares que serão assimilados para fornecer energia e também retira nitrogênio, importante precursor de aminoácidos e proteínas (VIEIRA, 2012). O gênero *Pleurotus*, normalmente é o primeiro tipo de cogumelo a ser produzido por pequenos produtores, em função da facilidade do

crescimento em ampla variedade de substratos lignocelulósicos e sistema de esterilização. As fontes podem ser resíduos agroindustriais/florestais ou plantas verdes, como eucaliptos verdes (cortado e sepilhado).

Após a colheita dos cogumelos, que irão para o comércio, sobra a chamada biomassa pós-cultivo (mistura de massa micelial e parede celular vegetal parcialmente degradada) que é chamado de SMS (Inglês: *Spent Mushroom Substrate*). Em países com grande tradição na produção de cogumelos como a China, esse resíduo tem gerado grande preocupação, pois após a colheita há quantidades significativas de celulose, hemicelulose e lignina, além de hidratos de carbono que estão se tornando um passivo ambiental (ZHU et al., 2015).

A aplicabilidade de SMS para geração de outros produtos, tais como fertilizantes no solo e o aumento da melhoria do solo e produtividade de alguns vegetais ou aditivos em rações para animais ruminantes (KADIRI; MUSTAPHA, 2010; PARK et al., 2012), tem sido assunto discutido recorrentemente na literatura. Phan e Sabaratnam (2012) apresentaram um fluxograma apontando cinco possíveis áreas de aplicações do SMS, como: fontes de enzimas (oxidativas e lignolíticas), insumos para nutrição animal (ruminantes e monogástricos), biorremediação (indústria têxtil), biofertilizantes (substratos para cultivos de plantas), e fontes de biocombustíveis (etanol celulósico e biogás). Roy et al. (2015) afirmaram que o SMS pode ser utilizado como fertilizante para plantas pela quantidade de carbono e nitrogênio, sendo que essa relação fica entre 9 a 15:1, além de outros elementos essenciais para o desenvolvimento dos vegetais. O SMS de espécies como *Pleurotus* sp. pode ser utilizado como ração para animais ruminantes por conta do seu alto teor de fibras presentes no composto podendo servir como o material volumoso da ração, que terá menor concentração de lignina, em função dos ataques enzimáticos por parte das ligninases (PARK et al., 2012). No entanto, as propriedades básicas do composto pós-cultivo dependem necessariamente das características dos

substratos utilizados para o cultivo dos cogumelos (KULSHRESHTHA; SHARMA, 2014).

Tanemura et al., (2014) realizaram um estudo com três macrofungos (*Trametes coccinea*, *Lentinula edodes* e *Pleurotus sajor-caju*) para aumentar o valor nutritivo de ingredientes vegetais para nutrição da truta arco-íris (*rainbow trout*). Eles observaram que o pré-tratamento biológico com os macrofungos nos farelos de girassol, soja e algas (macroalgas) utilizados nas formulações de rações para peixe pode ser uma abordagem rentável para aumentar o valor nutritivo e diminuir a carga ambiental para este setor.

A busca de fontes de proteína para nutrição humana é um das principais demandas globais, pois a população é crescente e com projeções ainda maiores para as próximas décadas. A exigência nutricional tem crescido em função do aumento da educação e da busca por melhor qualidade de vida. Deste modo, diversos países têm se esforçado na obtenção de proteína animal, como peixes. A aquicultura é um dos principais cenários para a manutenção dos estoques de proteínas animais, uma vez que o globo é coberto principalmente por água marinha. No entanto, para a manutenção do cultivo destes animais aquáticos se faz necessário desenvolver dietas nutricionais com ingredientes com taxas de conversão alimentar significativa para o melhor desempenho animal.

O Brasil é um país que possui condições para o desenvolvimento de pescados, tanto em águas doces como salgada. A disponibilidade hídrica, clima favorável e ocorrência natural de espécies aquáticas que compatibilizam interesse zootécnico e mercadológico são fatores favoráveis para o desenvolvimento deste setor (Brabo et al., 2016).

Brabo et al., (2016) relatam dados da FAO (2014) que apontam a produção aquícola nacional com números incipientes se comparada a dos maiores produtores mundiais, como a China, a Índia, o Vietnã e a Indonésia.

Segundo dados do relatório anual de Produção Pecuária Municipal (PPM) do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística)

e divulgados na Revista Globo Rural; a produção brasileira de peixes em cativeiro é liderada pela região Centro-Oeste (26,8%), seguida pelas regiões Sul (22,4%), Nordeste (19,5%), Norte (18,6%) e Sudeste (12,8%).

Brabo et al., (2016) relatam que na região Norte a criação de peixes em sua maioria é realizada em açudes e viveiros escavados. As espécies de peixes que se destacam nesta região são os redondos, tais como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o tambacu (híbrido formado pela fêmea de tambaqui x macho do pacu - *Piaractus mesopotamicus*) produzidos em Rondônia e Roraima. O pirarucu (*Arapaima gigas*), o matrinhã (*Brycon amazonicus*) e o curimatã (*Prochilodus* spp.) são produzidos em menor escala.

Silva (2010) relata em sua revisão de literatura que no estado do Pará, a piscicultura é a principal atividade aquícola, com produtores desde o cultivo restrito a subsistência, a grandes produtores voltados à exportação. Os principais polos de piscicultura estão localizados na vizinhança de Belém (bacia do Rio Tocantins; Lago de Tucuruí; Santarém e municípios nos arredores). Esta região se destaca em função da melhor infraestrutura, tais como as estradas propícias para comercialização e abastecimento de insumos como ração, bem como a fácil obtenção de alevinos. Entretanto, algumas dificuldades são listadas para os piscicultores da região, tais como assistência técnica e custo com ração, pois os ingredientes são oriundos de outros estados brasileiros.

Deste modo este trabalho teve como objetivos o aproveitamento dos resíduos das APOs como substratos para cultivo de *Pleurotus ostreatus* CC389, fazendo uso da estrutura da agroindústria, modelo biorrefinaria e utilizar o SMS como insumo para nutrição de alevinos/juvenis de tambacu.

Metodologia

Local e biomassas

As biomassas lignocelulósicas utilizadas nas formulações dos substratos para o cultivo do macrofungo foram obtidas a partir do

processamento dos cachos de frutos frescos de palma africana na agroindústria Denpasa (Dendê do Pará S/A), localizada em Santo Antônio do Tauá – Pará.

As formulações foram feitas com cachos vazios (EFB - *Empty Fruit Bunches*), fibra de prensagem do endocarpo (PPF - *Palm Pressed Fibres*), torta de palmiste (PKC - *Palm Kernel Cake*), borra do Tridecâter ou dencatador de óleo (DCPO - *decanter cake palm oil mill*), cinzas da fibra de prensagem utilizada para caldeira (APPF - *Ash PPF*) e o efluente (POME - *Palm Oil Mill Effluent*).

Macrofungos e inóculo

As espécies utilizadas nos experimentos foram *Pleurotus ostreatus* CC-389, *Pleurotus albidus* CC111 e *Pleurotus ferulae* CC028, que pertence a Coleção de Microrganismos e Microalgas Aplicados a Agroenergia e Biorrefinaria da Embrapa Agroenergia. Estas espécies apresentam temperaturas de frutificação e colheita diferentes.

As cepas estavam mantidas em meio de cultura tipo batata-dextrose-ágar – BDA (PDA – *Potato Dextrose Agar*, em inglês) e foram repicados em placas contendo BDA. Após a colonização total do meio de cultura, a massa micelial foi transferida para um segundo meio de cultura a base de arroz com casca, que foi utilizado como inóculo.

O meio de cultivo utilizado como inóculo foi feito com arroz em casca suplementado com 10% de farelo de trigo, com umidade ajustada a 65%. A mistura foi acondicionada em frascos de vidro com tampa de metal e membrana *micropore* (0,22 µm) na tampa, para realização das trocas gasosas. Os frascos foram esterilizados em autoclave por 40 minutos a 121 °C. O micélio dos macrofungos foi inoculado nos meios estéreis e armazenados em estufas ventiladas com temperatura de 28 °C, por 30 dias.

Formulação dos substratos e sistemas de cultivos

Os experimentos para o cultivo do gênero *Pleurotus* e nutrição dos alevinos de tambacu com SMS estão resumidos no Fluxograma 1.

Experimento 1: pré-compostagem e pasteurização a vapor dos substratos

O processo de pré compostagem e pasteurização foram feitos conforme Siqueira *et al.*, (2012) com algumas modificações. As três espécies de *Pleurotus* foram primeiramente triadas quanto a capacidade de crescimento e frutificação em formulação de substrato (massa seca) contendo 90% fibra de prensagem do endocarpo (PPF) enriquecidas com 10% torta de palmiste (PKC). Os substratos foram preparados por meio de pré-compostagem (7 dias) e esterilização a vapor. A pré-compostagem foi feita por meio da mistura dos substratos que posteriormente foi colocada em caixa metálica com orifícios, com volume 0,8 m³. Após serem empilhados os substratos foram umedecidos com água corrente. A homogeneização e oxigenação das pilhas foram feitas por reviragem a cada dois dias. Os substratos pré-compostados por 7 dias foram transferidos para sacolas de polipropileno com filtros (0,22µm). As sacolas receberam 1,5 kg substrato úmido. A esterilização das 150 sacolas com substratos pré-compostados foi realizada utilizando-se vapor de água canalizado para ambiente fechado (sala de 2x2x2 m) por 12 horas, com temperatura de 110°C ± 4°C. Após a esterilização os substratos foram armazenados em câmara fria (± 4°C) por 12 horas. A inoculação foi executada em câmara de fluxo laminar com 5% de inóculo dos respectivos fungos. Para cada espécie de *Pleurotus* foram feitos 50 repetições. A incubação para colonização dos substratos ocorreu em estufa escura sem controle de temperatura e umidade e a frutificação, em estufas com ventilação, temperatura e umidade controlada.

Experimento 2: Esterilização em autoclave industrial (Agroindústria)

O *Pleurotus ostreatus* CC389 foi escolhido para realizar os experimentos de cultivo fazendo uso das instalações da agroindústria de palma de óleo. O substrato foi preparado por meio das misturas de cachos vazios (EFB), torta de palmiste (PKC), borra do tridecâter (DCPO), cinzas da fibra de prensagem utilizada aquecimento da caldeira (APPG) e o efluente (POME) para ajuste da umidade entre 65 e 70% (Tabela 1).

As biomassas e efluente (POME) foram misturados em betoneiras (equipamento de construção civil) para melhor homogeneização dos substratos. Para avaliar o efeito da contaminação por outros fungos utilizou-se diferentes estratégias de esterilização, uma vez que as sacolas de polietileno de alta densidade (PEAD), normalmente utilizadas pela fungicultura, tem ponto de fusão abaixo das condições de temperatura/pressão programadas nas autoclaves industriais deste tipo de agroindústria.

O primeiro lote (L1) de substrato, previamente misturado, foi acondicionado em sacolas PEAD (2 kg de massa úmida) e esterilizados em autoclave comercial (tipo laboratório) por uma hora a 121 °C e 1 Atm de pressão. Os lotes de substratos dois (L2) e três (L3) são provenientes do processo de esterilização em autoclave industrial (agroindústria do dendê). Para isso os substratos foram transferidos para sacos de algodão cru (50 x 80 cm) e colocados nos vagonetes utilizados para esterilização juntos com os cachos com frutos frescos. Esta etapa ocorreu conforme a agenda de trabalho da linha de processamento APO. Os autoclaves industriais tem a programação ajustada para 145 °C e aproximadamente 3 Atm de pressão por 90 minutos.

Após a esterilização “industrial” os sacos de panos com substratos foram transferidos para uma sala com ar-condicionado a 15°C, onde permaneceram por 12 horas. Após o resfriamento os substratos foram

acondicionados em sacolas PEAD (2 kg de massa úmida) e foram divididos em dois lotes (L2 e L3). O L2 refere-se às sacolas com substratos resubmetidos a esterilização, fazendo uso de autoclave comercial (conforme fora feito com L1). Enquanto que as sacolas com o L3 representam o substrato esterilizado nas condições industriais, ou seja, esterilização única. Os três lotes foram manipulados em sala limpa, fechada e refrigerada a 15 °C. Um quarto lote (L4) foi feito como os substratos (sacolas com 2 kg, úmidos) utilizando amostras do processo de mistura, sem nenhum procedimento de esterilização (testemunho). O número de repetições foi de 20 sacolas/substratos por lote (L1, L2, L3 e L4).

Inoculação e Colonização Micelial

A inoculação dos substratos com a massa micelial fúngica foi feita da mesma maneira nos dois experimentos. Os substratos receberam 2% (massa inoculo/massa úmida de substrato) de inoculo de cada fungo (Experimento 1) e *Pleurotus ostreatus* CC-389 (Experimento 2).

Após inoculação, em ambos os experimentos, as sacolas foram transferidas para sala de colonização escura, ventilação por exaustor e temperatura ambiente (33 a 38 °C).

O crescimento micelial foi verificado periodicamente para avaliação da contaminação por fungos “verdes”, tais como os gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma* e outros, como fora feito para as sacolas testemunhas (L4 do experimento 2, por exemplo). O tempo de colonização (dias) também foi registrado até o surgimento dos primórdios, que sinaliza o momento de transferência para sala de frutificação.

Frutificação, Produtividade e Eficiência Biológica

Após o surgimento dos primórdios os lotes (L1, L2 e L3) foram colocados na sala de frutificação. As sacolas PEAD foram perfuradas com lâmina (estéril) em diferentes partes, de modo a proporcionar o crescimento dos cogumelos. A temperatura da sala foi ajustada para 16 °C por 48 horas e o restante do

processo a 25 °C. O ambiente teve a umidade ajustada a aproximadamente 90%, fazendo uso de vaporizadores. A ventilação ocorreu por meio de exaustores e iluminação por foto períodos a cada 12 horas.

A colheita ocorreu manualmente, durante quatro semanas, onde foram contabilizados três fluxos (Fx-1, Fx2 e Fx3). A maioria dos cogumelos foram colhidos quando o píleo atingia o máximo de tamanho (antes da abertura das lamelas). A produtividade da colheita foi determinado pela relação da massa de cogumelos frescos colhidos (g) pelo massa úmida dos substratos, conforme equação 1 (Siqueira et al., 2012).

Equação 1:

$$P = \frac{\text{MCF (g)}}{\text{MSU (g)}} \times 100$$

Onde:

- P = rendimento. MCF (Massa Cogumelos Frescos em g) e MSU (Massa Substrato Úmido, determinado no início do processo).

A eficiência biológica (EB) foi estabelecida por meio da equação 2 (Siqueira et al., 2012), onde foi feito a relação entre a massa de cogumelos frescos pela massa de substrato inicial em massa seca (g).

Equação 2:

$$EB = \frac{\text{MCF (g)}}{\text{MSS (g)}} \times 100$$

Onde:

- EB = Eficiência Biológica. MCF (Massa Cogumelos Frescos em g) e MSS (Massa Substrato Seca, determinado no início do processo).

Atividades Enzimáticas: substratos colonizados pelos Pleurotus (Experimento 1)

Para obtenção do extrato enzimático bruto, pesou-se 25 g dos substratos totalmente colonizados pelos Pleurotus no experimento 1. Adicionou-se 50 mL de água destilada (1:4) em erlenmeyer de 150 mL e solução de triton X-

100, como surfactante para ajudar na dessorção das enzimas ligadas aos substratos sólidos. A mistura foi então homogeneizada em shaker (agitação mecânica) durante 40 min a 5 °C. O sobrenadante foi filtrado em funil de buchner com papel de filtro e auxílio de bomba de vácuo, para obtenção do extrato bruto enzimático (enzimas extracelulares). Para evitar contaminações foi adicionado azida sódica junto ao extrato (0,01 mL de solução 1% para cada 50 mL de extrato).

Determinação dos Açúcares Redutores - DNS

Para a determinação dos açúcares redutores liberados após reações enzimáticas, utilizou-se o método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), originalmente proposto por Miller (1959), com modificações de acordo com protocolo da Embrapa Agroenergia. O método do DNS baseia-se na redução do ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, concomitantemente com a oxidação do grupo aldeído do açúcar a grupo carboxílico. Após aquecimento, a solução torna-se avermelhada, sendo lida em espectrofotômetro a 540 nm. O preparo da solução de DNS seguiu o método de Ghose (1987).

Determinação das atividades de holocelulases

Os ensaios enzimáticos para determinação de CMCCase (endoglicanase), xilanase, pectinase e mananase presentes no extrato bruto enzimático obtido dos substratos colonizados pelos Pleurotus foram realizados utilizando 50 µL de enzima (extrato bruto) e 100 µL de substrato (carboximetilcelulose, xilana, pectina cítrica ou galactomanana), sendo os três primeiros ensaios com solução de 1% do substrato e 0,5% para o último ensaio, que reagiram por 30 minutos a 50 °C. Após este tempo foram adicionados 300 µL de DNS e os tubos com os ensaios foram fervidos por 10 minutos. Adicionou-se 1,5 mL de água para leitura do ensaio no espectrofotômetro a 540 nm. Para o ensaio de FPase (celulase total) foi utilizado como substrato papel Whatman

número 1 em forma de tiras de 1 x 6 cm, com aproximadamente 50 mg de massa, e 150 µL de enzimas (extrato bruto), que foram incubadas por 1 h a 50 °C. Os ensaios de FPase foram interrompidos e analisados como descrito acima para outras holocelulases.

Para determinação da quantidade de açúcar redutor liberado durante os ensaios enzimáticos foram construídas as curvas de calibração com os monossacarídeos que formam as cadeias principais dos respectivos polissacarídeos. Para calibração foi utilizado uma solução estoque de 2 mg/mL para cada açúcar redutor quantificado pelo método DNS, conforme descrito anteriormente (glicose, xilose, manose e ácido galacturônico). Variando a concentração do açúcar redutor com água destilada, assim foram construídos 5 pontos do gráfico de regressão linear, e a partir da equação da reta obtida pelo método DNS. Para todos os ensaios enzimáticos foi utilizado UI.mL⁻¹ como unidade de açúcar redutor liberada durante todo o tempo do ensaio enzimático. Unidade internacional (UI) representa a quantidade que a enzima necessita para liberar 1 µmol de açúcar redutor por minuto.

Atividades de proteases

O método de determinação das atividades proteásicas foi realizado de acordo com o protocolo de Charney e Tomarelli (1946) com adaptações. Os ensaios para proteases presentes nos substratos colonizados ocorreram em tubos de centrifuga tipo falcon de 15 mL. Foram adicionados 500 µL do filtrado (extrato bruto enzimático), 500 µL de azocaseína, incubados em banho-maria a 37 °C por 40 min. Após o término de incubação (40 min) a reação foi paralisada com TCA (ácido tricloroacético). No preparo do branco da amostra para que não haja reação enzimática o TCA é adicionado antes do extrato enzimático. Para o branco do aparelho adicionou 500 µL de azocaseína, 500 µL de tampão acetato de sódio pH 5. As amostras foram a 6000 rpm, por 10 min a 4 °C. Os sobrenadantes foram transferidos para tubos limpos, então adicionou-se 1 mL de KOH 0,5

M. A leitura em espectrofotômetro foi a 430 nm.

Para o cálculo da atividade de protease não foi usada curva padrão como a metodologia usando DNS, mas sim uma fórmula (Equação 3), descrita abaixo:

Equação 3:

$$X = \left(\frac{\frac{Abs}{0,001}}{t(\text{min}) \times V.\text{enzima} \times V.EC} \right) * \text{Volume total ensaio}$$

$$X = \text{valor U/mL}$$

Onde:

- Abs = Absorbância ensaio - Absorbância branco
- t = tempo em minutos no banho-maria;
- V = volume
- EC = ensaio colorimétrico

Determinação das atividades enzimáticas de oxi-redutases

A determinação das atividades enzimáticas de oxi-redutases dos substratos colonizados de *Pleurotus* seguiu protocolo sugerido por Neto (2010). Para a obtenção do extrato, o substrato foi homogeneizado na proporção de 1:5, ou seja, para cada 1 g do meio colonizado, adicionou-se 5 mL de água destilada. Após a homogeneização, o material foi mantido em banho de gelo por 1 hora com agitação manual a cada 15 minutos e em seguida, filtrado com o auxílio de bomba a vácuo.

Para a determinação das atividades de ligninases foi utilizada a equação derivada da Lei de Beer-Lambert (Equação 4):

Equação 4:

$$\Delta Abs \times 10^6 = \text{Enzima} \left(\frac{U}{L} \right) \varepsilon \times R \times T$$

Onde:

ΔAbs = valor de absorbância

ε = coeficiente de extinção da enzima (absortividade molar L.mol⁻¹cm⁻¹).

R = volume (mL) do sobrenadante;

T = Tempo de reação (min).

Todas as atividades enzimáticas foram expressas em unidade internacional por mL (UI.mL⁻¹), definidas como número de μmol liberado do produto por mL, por minuto, nas condições do teste.

Lacases

A atividade de lacases foi determinada com o uso do substrato 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS). A mistura reacional para ABTS continha 0,45 mM do ABTS, 90 mM de tampão acetato de sódio pH 5,0, e 1 mL de amostra diluída 10 vezes com água destilada. A oxidação do ABTS foi monitorada pelo aumento da absorvância em 420 nm, durante 90 segundos a 25 °C (Equação 5) (WOLFENDEN e WILSON, 1982).

Equação 5:

$$\Delta Abs \times 10^6 = Enzima \left(\frac{U}{L} \right) \div \epsilon \times R \times T$$

Onde:

ΔAbs = valor de absorvância

ε = Lacase: 36000 L.mol⁻¹cm⁻¹;

R = volume (mL) do sobrenadante

T = Tempo de reação (min).

Atividade de lignina peroxidase

A atividade de LiP foi determinada pela oxidação de álcool veratrílico na presença de peróxido de hidrogênio, segundo Tien e Kirk (1984). O meio reacional foi composto de 500 μL de sobrenadante do extrato enzimático centrifugado, 200 μL de álcool veratrílico (2 mM) em tampão tartarato de sódio (0,4 M; pH 3,0) e 200 μL de peróxido de hidrogênio (2 mM). A formação de aldeído veratrílico foi acompanhada pela leitura da absorvância a 310 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Spectrum SP-2000 UV) por 5 minutos, com registros a cada 10 segundos (Equação 6).

Equação 6:

$$\Delta Abs \times 10^6 = Enzima \left(\frac{U}{L} \right) \div \epsilon \times R \times T$$

Onde:

ΔAbs = valor de absorvância

ε = LiP: 9300 L.mol⁻¹cm⁻¹;

R = volume (mL) do sobrenadante;

T = Tempo de reação (min).

Manganês peroxidases

A atividade de manganês peroxidases foi determinada pelo método proposto por Kuwahara et al. (1984). A mistura reacional consistiu de 50 mg.mL⁻¹ de vermelho de fenol, 50 mM de sulfato de manganês, 50 mM de H₂O₂, 12,5 mM de lactato de sódio, 500 mg.mL⁻¹ de albumina bovina e tampão succinato de sódio pH 4,5, sendo adicionados 0,5 mL de amostra (extrato bruto enzimático). Após 5 min a 30°C, as reações foram interrompidas pela adição de 40 mL de NaOH, 2M. A formação do produto de oxidação foi quantificada pela variação da absorvância (610 nm) (Equação 7).

Equação 7:

$$\Delta Abs \times 10^6 = Enzima \left(\frac{U}{L} \right) \div \epsilon \times R \times T$$

Onde:

ΔAbs = valor de absorvância

ε = MnP: 460L.mol⁻¹cm⁻¹;

R = volume (mL) do sobrenadante;

T = Tempo de reação (min).

Atividade de fitase

Os ensaios enzimáticos de fitases foram mensurados pela quantidade de fósforo inorgânico liberado, seguindo o protocolo sugerido pela Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com). Foram incubados 500μL de fitato de sódio e 25μL do extrato enzimático durante 30 minutos na temperatura de 37 °C. A reação foi então paralisada pela adição de 4mL da solução “color reagent” (molibdato de amônio 10mM, ácido sulfúrico 5

N e acetona na proporção 1:1:2. Uma unidade de fitase foi definida como a quantidade de enzima necessária para libertar 1 μ mol de fosfato inorgânico por minuto a partir de fitato de sódio a 37 °C em pH 2,5.

Análises bromatológicas

Todas as amostras foram trituradas no moinho tipo Willey com peneira de 60 mesh. O teor de matéria seca foi determinado em estufa a 105 °C por 12 h, e a matéria mineral (cinzas) em forno tipo mufla a 600 °C por 3h.

Para a determinação do teor de proteína bruta (PB) foi utilizado o equipamento destilador de nitrogênio Kjeldahl, e o fator de conversão foi de 6,25 (NOGUEIRA, 2005).

O extrato etéreo foi determinado através do extrator de óleo Ankon (Modelo XT-15). As análises das frações de FDN e FDA foram feitas através do equipamento Ankon (Modelo A220) e a lignina determinada com a adição de ácido sulfúrico 72 % no resíduo insolúvel da determinação da FDA (VAN SOEST, 1994).

O teor dos carboidratos não fibrosos foi determinado através da fórmula: $CNF = 100 - [\text{Fibra em Detergente Neutro} + \text{Proteína Bruta} + \text{Cinzas} + \text{Extrato Etéreo}]$. O teor de Hemicelulose através do FDN menos o FDA.

Análise elementar (CHN)

A determinação do teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio nos substratos foi realizada em um analisador elementar (CHN/S 2400 series II, Perkin Elmer, EUA). As amostras foram pesadas (1,5 – 2,5 mg) em cápsulas de estanho em balança analítica com precisão de 0,1 mg. Os elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio foram analisados simultaneamente, mediante curva analítica obtida com padrões secos e de alta pureza, com tempo de queima de 600 segundos, entre temperatura de 926-1000 °C e fluxo de gás hélio. As análises foram realizadas em duplicata. Em cada análise obtiveram-se os valores percentuais de C, H e N presentes em cada amostra.

Juvenis de tambacu

Os alevinos de tambacu foram adquiridos em lojas de piscicultura na cidade de Belém, Pará, apresentando o tamanho médio de cinco centímetros. Os alevinos foram transportados, seguindo as recomendações da empresa quanto ao tipo de recipiente para transporte, qualidade da água, oxigenação e tempo de descolamento até os tanques de recria, para minimizar o estresse e mortandade dos animais.

Os alevinos foram transferidos para tanques de aclimatação existentes na Embrapa Amazônia Oriental, Belém/PA, por 20 dias. Durante este período os animais foram nutridos com ração padrão até chegarem a fase juvenil.

Preparo das rações e nutrição dos juvenis de tambacu

A Estação de Piscicultura da Embrapa Amazônia Oriental foi o local onde foram preparadas as rações e o experimento para avaliação da digestibilidade por parte dos juvenis de tambacu.

Três tipos de rações foram preparadas para a realização do experimento de digestibilidade. A Tabela 2 descreve a formulação para ração controle (RC), ração com a adição de torta de palmiste (RTP) e a terceira, a ração com adição do substrato do cultivo do cogumelo (SMS). O SMS e a torta do palmiste foram secos a 10 5°C por 24 horas e triturados em moinhos de faca (Maqtron B-611) (Figura 4).

Foram preparados 10 kg para cada tipo de formulação básica que foi utilizado no preparo das rações. Os ingredientes foram levados a um misturador de rações (marca G. Paniz, modelo AM 25), foram adicionados 1,5 L de água na ração I e 3,0L nas rações II e III, com o objetivo de ajustar a umidade da dieta. As rações foram misturadas por aproximadamente 30 minutos e posteriormente seguiram para o processo de peletização (Figura 5). Depois de peletizadas as rações foram secas por 12 horas a 60 °C. Após secagem as rações foram embaladas e guardadas em freezer a -22 °C.

Utilizou-se um marcador externo nas três dietas, o óxido de cromo III, que adicionado a um alimento ou dieta permite calcular o coeficiente de digestibilidade (ANDRIGUETTO et al., 1988).

Após aclimação os juvenis de tambacu foram divididos em três grupos, contendo 30 peixes em cada grupo (Figura 6). Os animais foram colocados em basquetas acopladas a um sistema de recirculação contínua de água, com filtro físico e biológico e aeração durante 24 horas.

Coleta e tratamento das amostras fecais dos juvenis de tambacu

Os dois grupos que não tiveram coleta de fezes foram alimentados *ad libitum* (à vontade) três vezes durante o dia.

O grupo que seguiu para a coleta das fezes foi alimentado quatro vezes ao dia: às 9:00h, 15:00h, 16:00h e 17:00h. Às 18:00h os peixes foram levados à garrafas pet acopladas com tubos Falcon de 50 mL (incubadoras adaptadas ao sistema Guelph) e permaneceram até manhã seguinte (6:00h). Esse sistema também foi acoplado à caixas de isopor com gelo para preservação das amostras. Depois da retirada dos tubos com as amostras, os animais foram levados às basquetas para descanso. Essa rotina foi feita para os grupos subsequentes. O pH da água foi determinado diariamente para controle da qualidade da água.

Depois de coletadas, as amostras foram centrifugadas (CELM, modelo LS – 3 Plus), por 10 minutos, a 3.000 rpm. Separada a parte líquida da sólida, as fezes foram pesadas em balança analítica (SHIMADZU – modelo - AUY220) e, posteriormente, secas em estufa (Nova Ética), por 12 horas, a 60 °C. Depois foram novamente pesadas e guardadas em freezer a -22 °C, para posterior análise de composição. Foram coletadas 5g de fezes por grupo e o experimento durou 32 dias.

Digestibilidade aparente dos ingredientes das rações pelos peixes

Para o cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente das rações, foi utilizada

a fórmula citada por Ramirez (2005). Também foi calculado o índice de recuperação do cromo (Cr2O3) através da equação descrita por Lobo Junior et al. (2001).

Calculo da Digestibilidade Aparente (CDA)

$$CDA(\%) = 100 - 100 \left\{ \frac{\% \text{ Cr2O3 nas Dietas} \times \% \text{ de Proteínas nas Fezes}}{\% \text{ Cr2O3 nas Fezes} \times \% \text{ de Proteínas nas Dietas}} \right\}$$

Índice de Recuperação do Cromo nas Fezes

$$IR(\%) = \frac{\text{Cr2O3 nas fezes} \times 100}{\text{Cr2O3 nas dietas}}$$

Resultados e Discussão

Eficiência biológica e produtividade

O experimento 1 foi norteador para a escolha de uma espécie para outros experimentos. Dentre as três espécies, *P. ostreatus* CC389 foi o fungo que apresentou melhor eficiência tanto no crescimento micelial quanto na produção de corpos de frutificação, produtividade e eficiência biológica (Tabela 3). Enquanto que *P. ferulae* CC111 e *P. albidus* CC028 não frutificaram, apesar da rápida colonização entre 21 e 25 dias, respectivamente. Estes duas espécies também foram as mais suscetíveis a contaminação, com 12,5 e 18,3%, respectivamente. A espécie *P. ostreatus* tem sido cultivado em temperaturas que variam entre 15 e 28 °C, com resultados significativos, enquanto que as espécies *P. ferulae* e *P. albidus*, normalmente são colocadas para frutificar em estufas com temperaturas próxima dos 15 °C. A estufa de frutificação teve a temperatura ajustada por volta dos 25 °C com uso de exatores (sem ar condicionado), isso pode ter afetado a frutificação das duas espécies (Tabela 3).

Assim, a espécie *P. ostreatus* CC389 foi selecionado para um segundo experimento, em função das condições de cultivo das estufas.

A produtividade e EB *P. ostreatus* CC389 no experimento 2 foi mensurada nos três lotes de cultivo (Tabela 3), em que se percebe resultados similares para ambas avaliações. A

produtividade variou entre 8,1 e 10,7% para os três lotes, enquanto que a EB ficou entre 21,3 e 23,3%. A contaminação por fungos “verdes” ou “laranjas” foi de 100% no L4, que fora controle das misturas sem nenhum tipo de esterilização. Entre os três lotes o L3 foi o que mais contaminou com 17,1%. No L3 foi feita apenas a esterilização na autoclave industrial, porém foi feito em sacos de pano, para depois serem colocados nas sacolas PEAD (esterilizadas). Os demais lotes apresentaram menores índices de contaminação por fungos esporulantes, mas com valores ainda preocupantes. Assim, se faz necessário buscar um recipiente que resista às condições de temperatura e pressão das autoclaves industriais da APO, para minimizar as contaminações. O tempo de colonização dos substratos e início na formação dos primórdios ficou entre 25 e 29 dias (Tabela 3).

A opção de colher os cogumelos em mais de um fluxo, também favorece o aparecimento de contaminações, além de redução da produção, principalmente a partir do terceiro fluxo. Entretanto, para pequenas produções não mecanizadas, ainda é válida a colheita entre dois e três fluxos. Em sistemas automatizados de preparo, esterilização e inoculação normalmente faz-se apenas uma colheita na produção de cogumelos do gênero *Pleurotus*. O decréscimo da produtividade e eficiência biológica a partir do 2º fluxo de colheita pode ser explicado pela diminuição dos nutrientes do substrato ou pelo acúmulo de substâncias tóxicas desfavoráveis à frutificação (UPADHYAY et al., 2002; ALANANBEH et al., 2014).

Marlina et al. (2015) descrevem o cultivo de *P. ostreatus* em formulações com diferentes concentrações de cachos vazios (EFB) suplementadas com farelo de arroz, CaC_2 e fertilizante mineral (TSP). O macrofungo quando cultivado em formulação com 93% de EFB; 4,4% de farelo de arroz; 1,3% de CaC_2 e 0,44% de TSP apresentou rápido crescimento micelial, colonizando todo o substrato em 35 dias. Nessa formulação foram realizados três fluxos de colheita com rendimento de 204,2g, 120,7g, 32,2g, respectivamente. No entanto

quando os autores diminuíram a concentração de EFB na formulação para 87% e aumentaram a concentração de farelo de arroz para 10% o mesmo fungo cresceu de forma mais lenta, porém o rendimento aumentou nos três fluxos de colheita: 289,7g, 86,3g e 177,4g.

Alananbeh et al. (2014) avaliaram diferentes resíduos agroindustriais (folhas de boobialla, palmeira, serragem, palha de trigo) como substrato para produção de *Pleurotus ostreatus* e concluíram que palha de trigo misturado com palmeira na proporção de 75:25 foi a melhor formulação para produção de cogumelos. Nessa formulação o rendimento de *P. ostreatus* foi de 120 g/saco e eficiência biológica (EB) de 250%. Os mesmos autores também relatam que houve diminuição da produção de cogumelos entre o 1º fluxo de colheita e o 2º fluxo.

Razak (2013) também usou resíduos da dendeicultura para produção de *Auricularia polytricha*, com produtividade de 43%, em serragem misturado com óleo de palma (90:10). A produtividade de 40% quando cultivou o mesmo fungo em serragem misturado com o cacho vazio (50:50).

A produtividade e eficiência biológica de *P. ostreatus* no presente trabalho ficaram abaixo dos valores considerados ideais descritos na literatura, em decorrência de fatores como: i) poucas formulações de substratos; ii) mecanismos de esterilização dos substratos; iii) controle de temperatura na frutificação.

No entanto, os resultados encontrados neste trabalho permitem inferir que é possível produzir esta espécie de cogumelo associado a indústria do óleo de palma. Para este cenário promissor, será necessária ação conjunta entre indústrias de processamento de óleo de palma e de cultivo de cogumelos comestíveis. As condições como temperatura e pressão das autoclaves utilizadas no processamento dos cachos com frutos do dendê são de aproximadamente 145 °C e 4 atm, ou seja, mais que suficiente para esterilização dos substratos. Entretanto, ajustes serão necessários, tais como alternativas de recipientes para acondicionar os

substratos que suportem tais condições. A geração de energia elétrica por queima de fibra de prensagem feito nas agroindústrias também é outro item que poderá favorecer a ação, uma vez que a implementação de sistemas de ar condicionado para o período de frutificação, abrirá o leque de opções de espécies de cogumelos a serem cultivadas.

A associação da dendeicultura com a fungicultura tem sido promovida em países como a Malásia, pois o país gera centenas de milhares de toneladas de resíduos lignocelulósicos da cultura da palma de óleo. Assim, diante da grande quantidade de resíduos de palma de óleo e da sua constituição heterogênea, de celulose (40 a 50 %), hemicelulose (25 a 35%) e lignina (25 a 35%) e dada sua grande quantidade de macro e micronutrientes, estes têm se mostrado promissor no uso como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (CHIEJINA; OSIBE, 2015; MOHAMMAD et al., 2012). A cada milhão de toneladas de cachos de frutos frescos processados, são gerados aproximadamente 65.000 toneladas de POME - *Palm Oil Mill Effluent* (SUDIRMAN et al., 2011) se tornando um dos maiores problemas dessa indústria, que pode ser utilizado para ajustar a umidade dos substratos para os cultivos de cogumelos, além de fornecer micronutrientes ao macrofungo.

Atividades Enzimáticas

Através das atividades enzimáticas, pode-se observar que as três espécies de *Pleurotus* após a colonização total dos substratos no experimento 1 tiveram atividades para proteases similares (Figura 7). A lacase foi mensurada de forma significativa em *P. ostreatus* CC389 e *P. albidus* CC028. As peroxidases totais foram detectadas em *P. albidus* CC028. As CAZYmes, tais como, exoglicanase, FPases, beta-glicosidase e xilanase foram observadas para as três espécies, entretanto a nível basal.

Análises bromatológicas

Quanto às análises bromatológicas, a Tabela 4 refere-se aos dados obtidos das

amostras do experimento 1, enquanto que a Tabela 5 refere-se ao experimento 2. As biomassas colonizadas e os SMS apresentam teores próximos dos 10% e lipídios que podem variar entre 3,79 e 5,14% (Tabelas 4 e 5).

As rações preparadas para os juvenis de tambacu também foram avaliadas quanto à bromatologia (Tabela 5). Os teores de proteína total variaram entre 25 e 28%, enquanto que o extrato etéreo (lipídios totais) variou entre 1,11 e 1,86%. Os valores de FDA e FDN para ração com fibra de dendê e SMS tiveram valores aproximados de 20 e 33% respectivamente, enquanto que a ração controle apresentou 7,32% (FDA) e 16,93% (FDN) (Tabela 5). Assim as rações com fibra de dendê e SMS apresentaram maior disponibilidade de fibras que podem interferir na ganhas de energia de monogástrico, como peixes. A ração controle também apresentou maior quantidade de carboidratos não fibrosos 42,57%, enquanto que a rações com fibra de dendê e SMS 32,76 e 31,73%, respectivamente (Tabela 5). O SMS apresenta não somente a biomassa vegetal, mas também biomassa microbiana, diferentemente das duas outras formulações.

Digestibilidade da ração pelos juvenis de tambacu

A análise bromatológica (Tabela 6) das fezes foi realizada para determinar os valores residuais de proteína total, extrato etéreo e fibras. A proteína total das fezes nas rações com fibra de dendê e SMS foi menor que as apresentadas no controle.

A Tabela 7 mostram os coeficientes de digestibilidade aparente das rações utilizadas no experimento com juvenis de tambacu. Na ração controle os valores de digestibilidade aparente para matéria seca, extrato etéreo e proteína bruta foram menores que os resultados encontrados no trabalho de Braga et al. (2009) em dieta referência utilizando feno.

A ração contendo torta de dendê (RTD) obteve dados de coeficiente de digestibilidade para matéria seca (-1954), cinzas (-1236), extrato etéreo (-264) e proteína bruta (-418) negativos. Resultados negativos também foram

encontrados por Pezzato et al. (2002) analisando digestibilidade aparente em tilápia do Nilo, onde encontraram o valor médio do coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca de -21,57%, valor semelhante ao encontrado neste trabalho que foi de -21,53 (RSMS). Os autores explicam que estes resultados podem estar relacionados a vários fatores, tais como a presença dos produtos digestórios acrescidos à ingesta, provenientes do estômago e hepatopâncreas dos animais; e tais secreções digestórias aumentam a concentração de MS, PB e EE, diluindo o marcador externo (Cr₂O₃) e possibilitando essas distorções nos resultados.

O CDA (%) matéria seca do SMS foi semelhante ao encontrado no trabalho Pezzato et al. (2002), onde avaliou o coeficiente de digestibilidade aparente de uma ração purificada marcada com indicador externo óxido de cromo em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). Segundo MORO et al. (2015), rações purificadas e semipurificadas são compostas por ingredientes de alta qualidade e digestibilidade, com composição química bem definida, e diferem entre si pelo tipo de ingrediente utilizado.

Os animais foram mantidos em sistema semelhante ao utilizados neste trabalho (Sistema Ghelf). A digestibilidade foi avaliada ao longo do intestino (terço proximal, terço intermédio e terço distal) através da obtenção das fezes pelo método de dissecação.

Pedrosa (2014) salienta que quando o óxido de cromo for utilizado nos ensaios de digestibilidade, as coletas das fezes devem ser feitas a partir do terceiro dia de alimentação para que ocorra a total recuperação do marcador. O autor ainda comenta que vários outros fatores interferem nos resultados de digestibilidade. Entre eles, o método de coleta utilizado, fatores biológicos e ambientais (tamanho, peso e espécie de peixe utilizada, temperatura), erros experimentais, equação utilizada para o cálculo e diferenças no processamento, qualidade e composição química das matérias-primas. Neste trabalho, as basquetas para acomodação dos alevinos

pode ter interferido, pois, o tambacu, espécie de crescimento rápido, foi acomodado neste recipiente pequeno contendo 30 alevinos por grupo.

Os coeficientes de digestibilidade aparente de extrato etéreo (67,1%) e da proteína bruta (60,0%) do SMS foram maiores que os valores obtidos por Pezzato et al. (2002) nos coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca e proteína bruta obtidos por dissecação das porções intermediária e distal do intestino de tilápia do Nilo.

Comparando-se os percentuais de CDA nas dietas controle e ração contendo SMS, em relação aos teores de extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB), observa-se que a RSMS obteve um valor maior no teor de EE (6,29%) e um teor menor de PB (2,30%).

O SMS tem potencial para ser utilizado na nutrição de peixes, em substituição aos ingredientes proteicos de origem animal (Ex: farinha de peixe e farinha de víscera), proteicos de origem vegetal (ex: farelo de soja e de algodão), energéticos (ex: Milho e farelo de trigo) e dos óleos vegetais (ex: óleo de soja), sem que ocorra perdas no coeficiente de digestibilidade aparente, e sem interferir na palatabilidade da ração

Pedrosa (2014) relata que a farinha de peixe é responsável por até 60% da composição da dieta de peixes de cativeiro que em 2008, 67% da produção mundial de peixes foi destinada a produção de farinha de peixe. O autor ainda destaca que a substituição da farinha de peixe por outras fontes proteicas amenizaria a pressão por produtos pesqueiros e reduziria os custos das rações para a aquicultura.

De acordo com Da Silva (2016), o resíduo do composto para produção de cogumelos pode ser direcionado para diversos fins agropecuários gerando renda, inclusive no uso de rações, pois o exaurido resultante do processo de frutificação possui substâncias como polímeros de β -glucanos, conhecidas por sua atuação como estimulantes da atividade imunológica do hospedeiro, mesmo após a colheita dos cogumelos.

Os resultados encontrados nesse trabalho corroboram com o modelo de biorrefinaria proposto por Rodrigues (2011), pois a partir do cultivo de cogumelos comestíveis foi possível converter a biomassa lignocelulósica da Agroindústria da Palma de Óleo em aditivo para ração de alevinos de tambacu. Assim, a combinação da tecnologia da dendeicultura e da fungicultura possibilitou a criação de um produto com valor agregado.

Conclusão

O principal objetivo desse trabalho foi demonstrar que é possível integrar a cadeia produtiva do óleo de palma e fungicultura (cogumelos comestíveis), fazendo uso dos resíduos lignocelulósicos, efluentes e estruturas de esterilização/vapor para minimizar os custos de instalações de equipamentos, tais como autoclaves, além de gerar alimentos para os restaurantes das agroindústrias e vendas no mercado local.

Dessa forma, em estudos posteriores visando obter a máxima eficiência biológica e produtividade, parâmetros como relação C/N, pH, umidade, quantidade de inóculo inicial devem ser ajustados. Além de testar diferentes recipientes para suportar as condições de esterilização industrial.

Os resultados obtidos no trabalho mostram que os resíduos da dendeicultura têm potencial para uso como substrato de cultivo para cogumelos e que o SMS (Spent Mushroom Substrate) pode entrar em formulações de rações para peixes, principalmente em regiões como os arredores de Belém/PA, por terem a cultura do consumo da carne de pescado e um polo de colônia japonesa que pode fomentar o consumo de cogumelos comestíveis, por força da tradição cultural.

Pode-se concluir que:

- Os substratos lingocelulosicos e efluente da agroindústria do dendê podem ser combinados para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* associada ao processamento da agroindústria do dendê.
- A contaminação por fungos filamentosos esporulantes em ambientes ainda não totalmente adaptados, como a agroindústria do

dendê, é um fator que pode limitar o sucesso do cultivo.

- As condições de temperatura e pressão das autoclaves industriais da agroindústria do dendê são suficientes para esterilização dos substratos para cultivo de *Pleurotus ostreatus*, entretanto se faz necessário avaliar recipientes para acomodação dos substratos que resistam a tais condições.
- O uso do SMS como ingrediente nas formulações de rações surge como alternativa para diminuir o uso de vários ingredientes em rações para juvenis de tambacu, por exemplo,

Refêrencias Bibliográficas

- ALVES, S. A. O. Sustentabilidade da agroindústria de palma no Estado do Pará. 2011. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- ALVES, S. A. O. et al. Caracterização dos recursos genéticos dos plantios de dendê no Estado do Pará. *Bioenergia em revista: diálogos*, v. 3, n. 1, p. 20-31, jan/jun., 2013.
- ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I. **Nutrição animal**. 2 ed. São Paulo: Nobel, v. 1, p. 71-75, 1988.
- ATNAW, S. M.; SULAIMAN, S. A.; YUSUP, S. Influence of fuel moisture content and reactor temperature on the calorific value of syngas resulted from gasification of oil palm fronds. **The Scientific World Journal**, Malásia, p. 1-10, 2014.
- BIBBINS-MARTÍNEZ, M. et al. Enzymatic and expression profiling of oxidases produced by *Pleurotus ostreatus* in submerged fermentation in the presence of Remazol Brilliant Blue R (RBBR) and Yellow Azo (AYG) dyes. **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, México, v. 4, n. 5, p. 17-25, nov., 2014.
- BRABO, M. F. et al. Competitividade da cadeia produtiva da piscicultura no nordeste paraense sob a perspectiva dos extensionistas rurais. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 44, n. 5, set/out., 2014.
- BRAGA, L. G. T. et al. Inclusão de celulose em rações para juvenis de tambacu. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v.15, n.4, p.947-956 out/dez., 2014.
- BRAGA, Z. C. A. C. et al. Avaliação do consumo e digestibilidade aparente de rações com diferentes níveis de farelo de coco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 1, p. 249-256, jan/mar., 2009.
- CASTRO, A. M. Produção, propriedades e aplicações de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Quim. Nova**, Brasil, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.
- CHEW, T. L. et al. Catalytic processes towards the production of biofuels in a palm oil and oil palm biomass-based biorefinery – review. **Bioresource Technology**. V. 99, p. 7911-7922, 2008.

- CHIEW, Y. L. et al. Current state and environmental impact assessment for utilizing oil palm empty fruit bunches for fuel, fiber and fertilizer - A case study of Malaysia. **Biomass and Bioenergy**, v. 51, p. 109-124, 2013.
- CHIEJINA, N. V.; OSIBE, D. A. Oil palm fruit promotes the yield and quality of *Lentinus squarrosulus* (Mont.) Singer, an edible Nigerian mushroom. **African Journal Biotechnology**, Nigeria, v. 14, n. 14, p. 1195-1200, 2015.
- CONFORTINI, Fernanda Grison. **Produção de biomassa fúngica da linhagem PS-2001 de *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer em cultura submersa**. 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2006.
- DA LUZ, J. M. R. et al. Lignocellulolytic enzyme production of *Pleurotus ostreatus* growth in agroindustrial wastes. **Brazilian Journal Microbiology**, Brasil, p. 1508-1515, 2012.
- DA SILVA, Amanda Souza Calixto. **Parâmetros industriais para produção de *Pleurotus ostreatus***. 2016. 137 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Rio Claro, 2016.
- DASHTBAN, M. et al. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. **Int. J. Biochem. Mol. Biol.** Canadá, v. 1, n. 1, p. 36-50, 2010.
- DE LA RUBIA, T. et al. Characterization of manganese-dependent peroxidase isoenzymes from the lignolytic fungus *Phanerochaete flavidobrunnea*. **Research in Microbiology**, Espanha, v. 153, p. 547-554, 2002.
- DIAS, E. S. et al. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1363-1369, nov/dez. 2003.
- DIAS, E. S. et al. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1363-1369, nov/dez. 2003.
- DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 795-803, jul/ago., 2010.
- EIRA, F. C. et al. Shiitake Production in corn cob substrates. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Brasil, v.4, n.2, p.141-148, 2005.
- FIGUEIRÓ, Gláucia Garcia. **Influência do substrato no cultivo e na composição química do cogumelo *Pleurotus florida***. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Ilha Solteira, 2009.
- FORTES, Bruno Duarte Alves. **Métodos de avaliação de alimentos para aves**. 2011. 46 f. Seminário (Doutorando em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.
- FUNDAÇÃO GETÚLIO VARGAS. **Projeto potencialidades regionais estudo de viabilidade econômica piscicultura**. 2003. Brasil, 2003, 72 p.
- FURLAN JÚNIOR, J. **Dendê: manejo e usos dos subprodutos e dos resíduos**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Documentos 246. 2006. Belém, 2006, 37 p.
- GARCIA-NUNEZ, J. A. **Evolution of Palm Oil Mills into Biorefineries**, Washington State University, 2015. Ph.D. dissertation.
- GILBERT, N. Palm-oil boom raises conservation concerns: Industry urged towards sustainable farming practices as rising demand drives deforestation. **Nature International Weekly Journal of Science**, v. 484, p. 14-15, 12 jul/ 2012.
- KADIRI, M.; MUSTAPHA, Y. The use of spent mushroom substrate of *L. subnudus* Berk as a soil conditioner for vegetables. **Bayero Journal of Pure and Applied Sciences**, Nigéria, v. 3, n. 2, p. 16 – 19, dez., 2010.
- KARINGAR, C. S.; RAO, S. S. Role of microbial in the bioremediation of pollutants: a review. **Enzyme Research**, India, p. 1-12, 2011.
- KARP, S. G. et al. Pretreatment strategies for delignification of sugarcane bagasse: a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Brasil, v. 56, n. 4, p. 679-689, jul/ago., 2013.
- KURNIA, J. C. et al. Advances in biofuel production from oil palm and palm oil processing wastes: A review. **Biofuel Research Journal**. V. 9, p. 332-346, 2016.
- KRISHNA, C. Solid-state fermentation systems – an overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, USA, v. 25, p. 1–30, 2005.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsões e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. 2016. Brasil, 2016, 115 p.
- LIMA, S. M. V. et al. Desempenho da cadeia produtiva do dendê na Amazônia Legal. 2002. 164 f. Trabalho de cooperação SUDAM/Fundação de Apoio ao desenvolvimento da UFPE – Ministério da Integração Nacional, Belém, 2002.
- LOBO JÚNIOR, M. F. et al. Coeficiente de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Brasil, v.53, n.6, p.691-694, 2001.
- MBA, O. I. et al. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Bioscience**, v. 10. P. 26-41, 2015.
- MADAKI, Y. S.; SENG, L. Palm oil Mill effluent (POME) from Malaysia palm oil mills: waste or resource. **International Journal of Science, Environment and Technology**, Malásia, v. 2, n. 6, p. 1138 – 1155, 2013.
- MARTINS, Marcelo Gaspar. **Complexo enzimático SFF em rações para juvenis de *Tilápia* do Nilo e *Tambacu***. 2014. 57

f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2014.

MARTOS, Emerson Tokuda. **Aditivos microbianos no processo de compostagem e na cama de cobertura para o cultivo do cogumelo *Agaricus brasiliensis***. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – Minas Gerais, 2009.

MOHAMMED, N.; ALAM, M. Z.; KABBASHI, N. A.; AHSAN, A. Effective composting of oil palm industrial waste by filamentous fungi: a review. **Resources, Conservation and Recycling**, Malásia, v. 58. p. 69–78, 2012.

NETO, J. R. T. V. Diversidade e seleção de fungos basidiomicetos afiloforóides para produção de enzimas lignocelulolíticas em área de mata atlântica do sul da Bahia. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana/BA, 2010.

NOGUEIRA, A. R. DE A. **Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos** / Ana Rita de Araújo Nogueira, Gilberto Batista de Souza. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 334p., 2005.

NORHAIZAN, M. E. et al. Palm oil: Features and applications. **Lipid Technology**, v. 25, n. 2, p. 39-42, 2013.

OLIVEIRA FILHO, Paulo Roberto Campagnoli de. **Coefficiente de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen***. 2005. 49 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2005.

OLIVEIRA, M. A. et al. Produção de inoculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet – CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, Brasil, v.27, p. 84-87, ago., 2007.

OLIVEIRA, Paulo Andrade de. **Torta de dendê em dietas para vacas leiteiras em pastagem com *Brachiaria brizantha***. 2015. 136 f. Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga/BA, 2015.

PARK, J. H. et al. Spent mushroom substrate influences Elk (*Cervus Elaphus Canadensis*) hematological and serum biochemical parameters. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, Coréia, v. 25, n. 3, p. 320-324, mar., 2012.

PEDROSA, Ricardo Uriel. **Digestibilidade de ingredientes proteicos e energéticos para crescimento de bijupirá (*Rachycentron canadum*)**. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

PEREIRA, Bruno Henrique Silva. **Uso de complexo em dietas para Tilápia do Nilo: digestibilidade enzimática, desempenho produtivo e parâmetros fisiológicos**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Jaboticabal, 2014.

PEZZATO, L. E. et al. Avaliação de dois métodos de determinação do coeficiente de digestibilidade aparente com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 965-971, 2002.

PIMENTA, M. E. S. G. et al. Desempenho produtivo e digestibilidade pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) alimentada com dietas suplementadas com níveis crescentes de silagem ácida de pescado. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1953-1959, nov/dez., 2008.

PINTO, A. C. et al. Biodiesel: an overview. **J. Braz. Chem. Soc.**, Brasil, v. 16, n. 6B, p. 1313-1330, 2005.

PLÁCIDO, J.; CAPAREDA, S. Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 2, n. 23, 2015.

POLLEGIONE, L.; TONIN, F.; ROSINI, E. Lignin-degrading enzymes. **The FEBS Journal**, Italia, v. 282, p. 1190-1213, 2015.

PRASERTSAN, S. et al. Biomass and biogas energy in Thailand: Potential, opportunity and barriers. **Renewable Energy**, v. 31, p. 599-610, 2006.

RAMÍREZ, Adriana Patrícia Muñoz. **Utilização de carboidratos digestíveis em dietas para pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holeberg, 1887)**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2005

RAZAK, Dang Lelamurni Binti Abd. **Cultivation of *Auricularia polytrichia* Mont. Sacc (Black Jelly Mushroom) using oil palm wastes**. 2013. 165 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade da Malásia, 2013.

RESENDE, E. K. Pesquisa em rede em aquicultura: bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil. Aquabrazil. **R. Bras. Zootec.**, Brasil, v.38, p.52-57, 2009.

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

SALMAN, A. K. D. et al. **Metodologias para avaliação de alimentos para ruminantes domésticos**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Documentos 136. 2010. Porto Velho, 2010, 36 p.

SANTANA, M. C. C. B. et al. Dendê e seu potencial de uso: uma prospecção tecnológica. **Cadernos de Prospecção**, Brasil, v. 6, n. 4, p. 516-525.

SILVA, E. G. et al. Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 72-75, jan/mar., 2007.

SILVA, E. G. et al. Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações

de nitrogênio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 72-75, jan/mar., 2007.

SIQUEIRA, F. G.; MACIEL, W. P.; MARTOS, E. T.; DUARTE, G. C.; MILLER, R. N.G.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Cultivation of Pleurotus mushroom in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. **African Journal of Biotechnology**, Brasil, v. 11, n. 53, p. 11630-11635, jul., 2012.

SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Brasil, v. 2, n. 1, p. 121-139, jan/abr., 2009.

STICHNOTHE, H. et al. Life cycle assessment of two palm oil production systems. **Biomass and bioenergy**, v. 35, p. 3976-3984, 2011.

SUDIRMAN, L. I; SUTRISNA, A.; LISTIYOWATI, S.; FADLI, L.; TARIGAN, B. The potency of oil palm plantation wastes for mushroom production. **Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7)**, Indonesia, p. 378-384, 2011.

TELES, Daniel Aparecida do Amaral. **Características físicas e rendimento em óleo de cachos de duas cultivares de dendezeiro cultivadas, sob irrigação, no cerrado do Distrito Federal**. 2014. 92 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

TEOH, CHENG HAI. Key Sustainability Issues in the Palm Oil Sector: A Discussion Paper for Multi-Stakeholders Consultations (commissioned by the World Bank Group). The World Bank. 2010.

WAHID, M.B. Overview of the Malaysian Oil Palm Industry 2009. Malaysian Palm Oil Board, Bangi, Malaysia, 2010.

YOSHIZAKI, T. et al. Improved economic viability of integrated biogas energy and compost production for sustainable palm oil mill management. **Journal of Cleaner Production**. v. 44, p. 1-7, 2013.

ZHU, J.; HAN, M.; ZHANG, G.; YANG, L. Co-digestion of spent mushroom substrate and corn stover for methane production via solid-state anaerobic digestion. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, China, v. 7, 2015.

Figura 1. Produção mundial de óleo de palma, classificação percentual por continentes. Fonte: FAOSTAT, 2016.

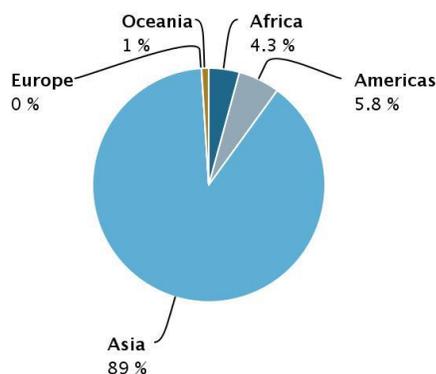


Figura 2. Os países com maior produção de óleo de palma. Fonte: FAOSTAT, 2016.
Legenda: M. milhões; K. mil.

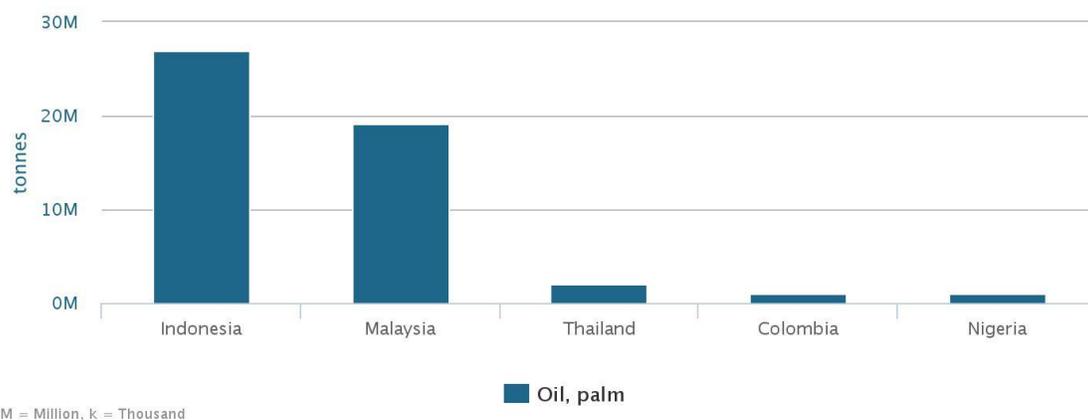


Tabela 1. Formulação dos substratos lignocelulósicos e efluentes da agroindústria de palma de óleo (dendê) para o cultivo do *Pleurotus ostreatus* CC389 (Experimento 2).

Formulação: Biomassas e Efluente	Quantidade (Kg)	Massa Seca (%)
Cacho vazio (EFB)*	28,00	28%
Torta de Palmiste (PKC)	20,00	20%
Borra do Tridecâter (DCPO)	50,00	50%
Cinza da Caldeira (APPG)	2,00	2%
Efluente (POME)	50,00	-

*Os cachos vazios foram triturados.

Figura 3. Produção de óleo de palma no Brasil entre 1993 e 2013. Fonte: FAOSTAT, 2016. Legenda: M. milhões; K. mil.

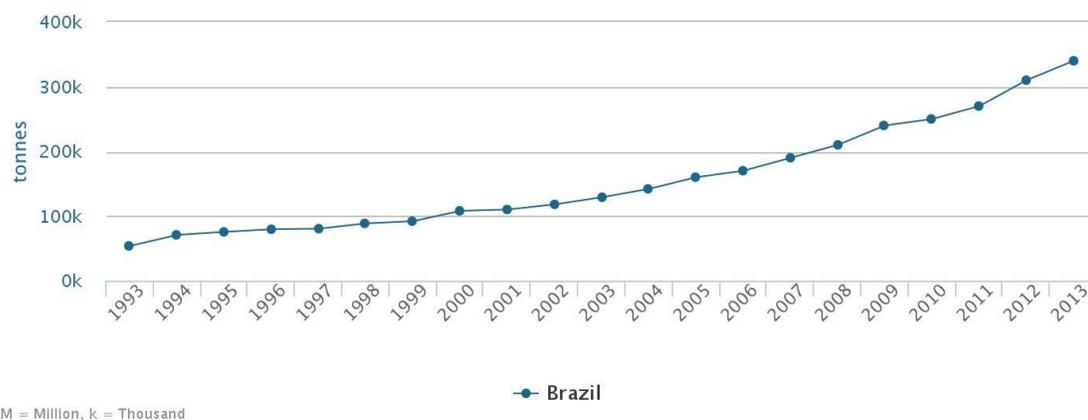


Figura 4. Preparado do SMS para adição na formulação da ração para os juvenis de Tambacu. A) SMS; B) Triturador; C) SMS triturado e pronto para ser adicionado na ração.



Tabela 2. Proporção dos ingredientes nas formulações para rações dos juvenis de Tambacu. Ração Controle (RC), Ração com Torta de Palmiste (RT) e na Ração com SMS (RSMS).

INGREDIENTE	RC	RT	RSMS
	-----%-----		
Farelo de Soja	37.90	26.50	26.50
Farelo de Milho	34.20	23.94	23.94
Farelo de Trigo	10.00	7.00	7.00
Farinha de Peixe	10.00	7.00	7.00
Óleo de Soja	4.10	2.87	2.87
Fosfato Bicálcico	2.50	1.75	1.75
Premix Mineral	0.75	0.525	0.525
Metionina	0.25	0.175	0.175
Lisina	0.20	0.14	0.14
Óxido de Cromo III	0.10	0.10	0.10
Torta de Palmiste	-	30.00	-
SMS*	-	-	30.00
Total	100.0	100.0	100.0

*SMS de *Pleurotus ostreatus* CC389 do experimento 2, Lote 3.

Fluxograma 1: Etapas experimentais realizadas para cultivo dos cogumelos do gênero *Pleurotus* com resíduos lignocelulósicos de APOs e a nutrição de alevinos de tambacu.

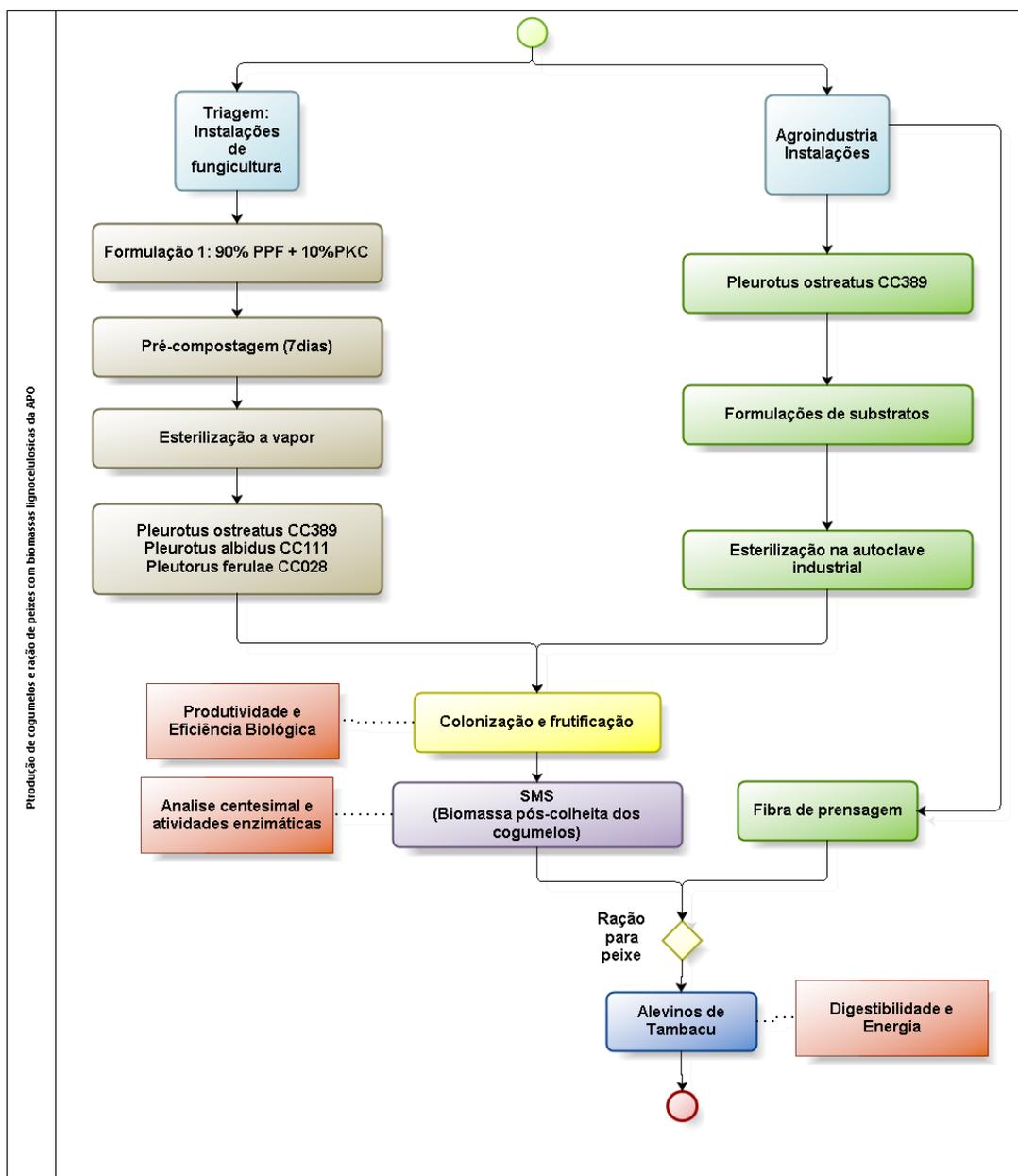


Figura 5. Imagens do preparo das rações para nutrição dos juvenis da Tambacu. A) Mistura dos ingredientes da ração; B) Peletização; C) Secagem dos pellets. D) Rações peletizadas: RC= Ração Controle; RSMS= Ração com SMS; Ração com Torta de Dendê.



Figura 6. Sistema de acondicionamento dos juvenis de tambacu que antecederam os experimentos para avaliação da digestibilidade aparente.

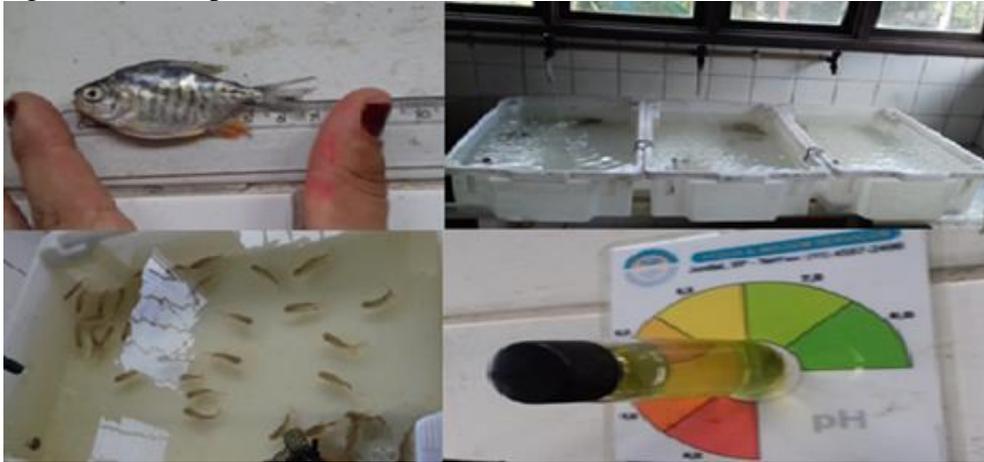


Tabela 3. Eficiência biológica, produtividade, tempo de colonização e contaminação dos *Pleurostus* nos substratos formulados com biomassas lignocelulósicas e efluentes da agroindústria da palma de óleo (dendê).

Cultivos	Macrofungos / Espécie	Colonização (dias)	Contaminação*** (%)	Produtividade %	Eficiência biológica (EB) %
Experimento #1	<i>P. ostreatus</i> CC389	19	6,3%	18.60±1,47	41.33±1,49
	<i>P. ferulae</i> CC111	21	12,5%	0*	0*
	<i>P. albidus</i> CC028	25	18,3%	0*	0*
Experimento # 2	<i>P. ostreatus</i> CC3899 – L1**	29	7,8%	8.9±0.98	22,9±1,04
	<i>P. ostreatus</i> CC3899 – L2**	28	12,4%	8.1±1,25	21,3±1,31
	<i>P. ostreatus</i> CC3899 – L3**	25	17,1%	10,7±1,09	23,3±1,22
	<i>P. ostreatus</i> CC3899 – L4**	-	100%	-	-

*Espécies de *Pleurotus* cultivados normalmente em temperaturas em torno de 15°C. Condições de cultivo neste experimento foi de aproximadamente 25°C.

**L1-L2-L3-L4: Diferentes formas de esterilização dos substratos utilizados no experimento 2. Sendo que o L4 foi utilizado como controle, ou seja, sem esterilização e sem inoculação do *P. ostreatus*.

***Contaminação por fungos filamentosos esporulantes “verdes e laranjas”, provavelmente como *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Neurospora*, entre outros.

Figura 7. Atividades enzimáticas observadas nos extratos brutos obtidos do cultivo dos três *Pleurotus* após a colonização total do substrato (experimento #1).

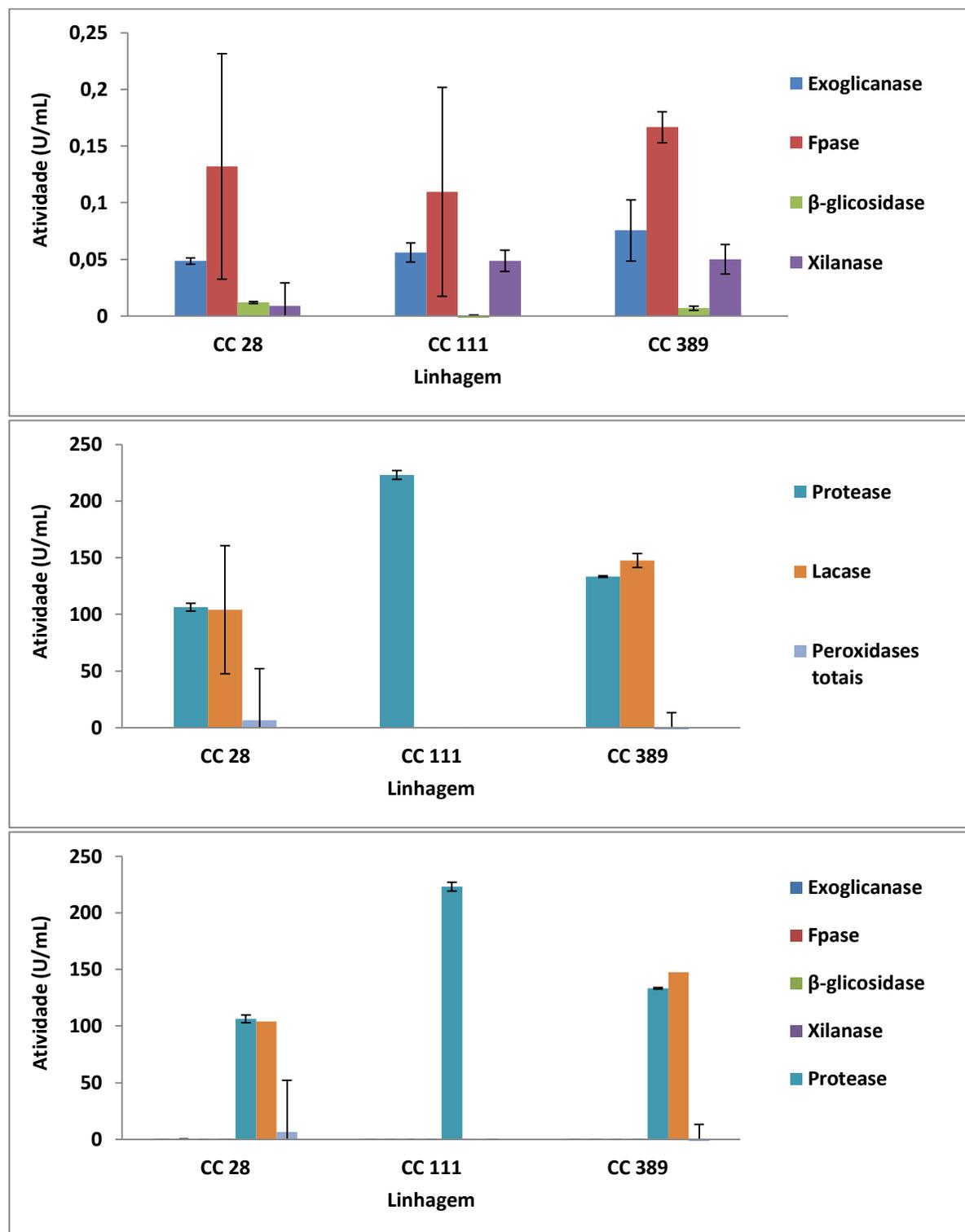


Tabela 4: Análise bromatológica do experimento #1 referente aos ingredientes, substratos formulados, substratos colonizados, SMS e cogumelos.

Fontes de origem	Amostras	MS*	CINZ*	EE*	FDN*	FDA*	LIG*	PB*	HEM*	CNF*
Ingredientes (Exp. #1)	FPD	94,47	4,06	7,74	73,16	51,61	22,38	6,61	21,55	8,43
	TPD	97,89	2,50	9,34	61,32	45,77	16,12	11,41	15,55	15,43
Substratos (Exp.#1)	F1E1-Pré	94,75	3,83	5,56	73,49	50,59	21,77	6,39	22,90	10,73
	F1E1-Pós	96,76	3,70	8,90	69,77	50,27	24,62	8,45	19,50	9,18
Substratos colonizados (Exp. #1)	CC389	95,79	3,69	4,58	67,94	50,73	19,74	9,13	17,21	14,66
	CC028	95,25	4,54	3,79	72,14	54,41	22,74	9,88	17,73	9,65
	CC111	95,50	3,78	5,14	69,42	52,33	22,17	9,19	17,09	12,47
SMS (Exp. #1)	CC389	95,11	11,40	0,96	55,83	41,60	11,32	9,90	14,23	21,91
Cogumelos (Exp. #1)	CC389	95,31	8,64	2,04	45,00	22,02	15,00	26,21	22,98	6,92

Legenda: MS = Matéria Seca; Cinz = Cinzas; EE = Extrato Etéreo; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; LIG = Lignina; PB = Proteína Bruta; HEM = Hemicelulose; CNF = Carboidratos não fibrosos. (Torta do palmiste do dendê – TPD e Fibra de prensagem do dendê - FPD), das formulações dos substratos (F1E1 PRÉ E PÓS), do Colonizado (CC 389, CC28 e CC111), do SMS (composto pós cultivo do cogumelo composto por: 23 kg de cacho vazio prensado + 2 kg de torta de palmiste + 50 kg de borra do tridecnater + 2 kg de cinza de caldeira = 50 l de POME), das Rações com Torta de Palmiste (RT), Ração com SMS (RSMS) e Ração Controle (RC), e da Frutificação (Cogumelo CC 389).

Tabela 5: Análise bromatológica do experimento #2 referente aos ingredientes, substratos formulados, substratos colonizados, SMS, cogumelos e formulações das rações.

Fontes de origem	Amostras	MS*	CINZ*	EE*	FDN*	FDA*	LIG*	PB*	HEM*	CNF*
Ingredientes (Exp. #2)	FPD	94,47	4,06	7,74	73,16	51,61	22,38	6,61	21,55	8,43
	TPD	97,89	2,50	9,34	61,32	45,77	16,12	11,41	15,55	15,43
	EFB	94,47	4,06	7,74	73,16	51,61	22,38	6,61	21,55	8,43
	DCPO	97,89	2,50	9,34	61,32	45,77	16,12	11,41	15,55	15,43
Substrato (Exp.#2)	Antes esterilização industrial	94,75	3,83	5,56	73,49	50,59	21,77	6,39	22,90	10,73
	Depois esterilização industrial	96,76	3,70	8,90	69,77	50,27	24,62	8,45	19,50	9,18
Substrato colonizado (Exp. #2)	CC389 – L1	95,79	3,69	4,58	67,94	50,73	19,74	9,13	17,21	14,66
	CC389 – L2	95,25	4,54	3,79	72,14	54,41	22,74	9,88	17,73	9,65
	CC389 – L3	95,50	3,78	5,14	69,42	52,33	22,17	9,19	17,09	12,47
SMS	CC389 – L3	95,11	11,40	0,96	55,83	41,60	11,32	9,90	14,23	21,91
Cogumelos	CC389 – L3	95,31	8,64	2,04	45,00	22,02	15,00	26,21	22,98	6,92
Rações	RT	89,71	6,43	1,86	33,09	20,27	6,28	25,86	12,82	32,76
	RSMS	91,28	8,53	1,11	32,85	20,97	5,72	25,78	11,88	31,73
	RC	96,50	10,45	1,48	16,93	7,32	1,76	28,57	9,61	42,57

Legenda: MS = Matéria Seca; Cinz = Cinzas; EE = Extrato Etéreo; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; LIG = Lignina; PB = Proteína Bruta; HEM = Hemicelulose; CNF = Carboidratos não fibrosos. (Torta do palmiste do dendê – TPD e Fibra de prensagem do dendê - FPD), das formulações dos substratos (F1E1 PRÉ E PÓS), do Colonizado (CC 389, CC28 e CC111), do SMS (composto pós cultivo do cogumelo composto por: 23 kg de cacho vazio prensado + 2 kg de torta de palmiste + 50 kg de borra do tridecnater + 2 kg de cinza de caldeira = 50 l de POME), das Rações com Torta de Palmiste (RT), Ração com SMS (RSMS) e Ração Controle (RC), e da Frutificação (Cogumelo CC 389).

Tabela 6: Análise Bromatológica das fezes coletadas dos animais alimentados com a ração controle (FRC), com SMS (FRSMS) e com torta de palmiste (FRTD)

Análises	Tratamento		
	FRC	FRSMS	FRTD
Matéria Seca	92.26	91.03	92.20
Cinzas	9.32	7.38	4.30
Extrato Etéreo	0.53	0.30	0.34
Proteína Bruta	10.73	8.73	7.38
Fibra Bruta	20.50	27.17	29.93

Tabela 7. Resultado dos coeficientes de digestibilidade aparente das rações administradas a tambacu usando o cromo com marcador e seu índice de recuperação nas amostras fecais

Dietas	Coeficiente de digestibilidade Aparente das rações (%)				Recuperação do Cromo (%)
	MS	CIN	EE	PB	IR
RC	1,54	8,23	63,13	61,38	97
RSMS	-21,53	-5,4	67,1	60,0	82
RTD	-1954	-1236	-264	-418	5

Legenda: RC = ração controle. RSMS = ração com SMS. RTD = ração com torta de dendê. MS = Matéria Seca. CIN = Cinzas. EE = Extrato Etéreo. PB = Proteína Bruta. IR = Índice de Recuperação de Cromo.