

Avaliação da produção e da atividade antioxidante de *Pleurotus ostreatus* cultivado em substratos lignocelulósicos

Laura Amália Miranda Costa¹
Marisa Terezinha Lopes Putzke²
Chana de Medeiros da Silva³
Eduardo Alexis Lobo Alcayaga⁴
Silvio Augusto Ortolan⁵

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o cultivo de *Pleurotus ostreatus* em substratos lignocelulósicos e o potencial antioxidante dos basidiomas cultivados. O inóculo foi adquirido da empresa Funghi & Flora. Foram preparados dois substratos, um à base de serragem de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e outro de casca de arroz (*Oryza sativa*). Foram avaliados os parâmetros de cultivo, como o tempo necessário para o início dos primórdios, o peso dos basidiomas e a eficiência biológica. Após crescimento e maturação dos basidiomas, foi realizada análise fitoquímica e do potencial antioxidante dos extratos. Os extratos foram preparados por extração a quente, utilizando-se aparelho de soxhlet e etanol como solvente. A análise fitoquímica foi realizada por meio de reações cromogênicas de caracterização, e o ensaio antioxidante foi conduzido por meio da absorção de radicais de oxigênio pelo método ORAC. Os resultados indicaram que o substrato à base de serragem foi mais promissor, tendo completado a corrida micelial no menor tempo, com aparecimento dos primórdios no 23º dia e com eficiência biológica maior (7,6%) em relação ao substrato com casca de arroz (6,7%). Quanto às análises fitoquímicas, houve resultado positivo para flavonoides e taninos em ambos os substratos, porém, a atividade antioxidante foi positiva apenas nos basidiomas cultivados em serragem.

Termos para indexação: compostos fenólicos, cultivo do cogumelo Shimeji, substrato de casca de arroz, substrato de serragem de eucalipto.

Evaluation of production and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* cultivated on lignocellulosic substrates

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the growth of *Pleurotus ostreatus* in lignocellulosic substrates and the antioxidant activity of cultivated basidiomes. The inoculum was

Ideias centrais

- Cultivo de *Pleurotus ostreatus* em substratos de resíduos agrícolas.
- Eficiência biológica de *P. ostreatus*.
- Análise fitoquímica.
- Identificação de compostos fenólicos.
- Determinação do potencial antioxidante de *P. ostreatus*.

Recebido em
18/07/2021

Aprovado em
14/02/2022

Publicado em
11/07/2022



This article is published in Open Access under the Creative Commons Attribution licence, which allows use, distribution, and reproduction in any medium, without restrictions, as long as the original work is correctly cited.

¹ Bacharela em Ciências Biológicas, Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), Santa Cruz do Sul, RS. E-mail: lauracosta@mx2.unisc.br.

² Licenciada em Ciências Biológicas, doutora em Botânica, coordenadora do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), Santa Cruz do Sul, RS. E-mail: marisa@unisc.br.

³ Bacharela em Farmácia, doutora em Ciências Farmacêuticas, coordenadora dos Cursos de Farmácia e Estética Cosmética, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), Santa Cruz do Sul, RS. E-mail: csilva@unisc.br.

⁴ Bacharel em Ciências Biológicas, doutor em Ciências Aquáticas, professor do curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências da Vida, programa de pós-graduação em Tecnologia Ambiental (Mestrado e Doutorado), Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), Santa Cruz do Sul, RS. E-mail: lobo@unisc.br.

⁵ Bacharel em Farmácia, Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), Santa Cruz do Sul, RS. E-mail: silviortolan@yahoo.com.br.

purchased by the company Funghi & Flora. Two substrates were prepared, one based on eucalyptus sawdust (*Eucalyptus* sp.) and the other based on rice husk (*Oryza sativa*). Cultivation parameters were evaluated, such as the time required for the beginning of the spawns, weight of the basidiomas and the biological efficiency. After the growth and maturation of the basidiomas, a phytochemical and antioxidant potential analysis of the extracts was performed. The extracts were prepared by hot extraction, using soxhlet equipment and ethanol as solvent. The phytochemical analysis was carried out through chromogenic characterization reactions, and the antioxidant test was performed through the absorption of oxygen radicals by the ORAC method. The results indicated that the sawdust-based substrate was more promising, completing the mycelial race in the shortest time, with the appearance of the primordia on the 23rd day, and with greater biological efficiency (7.6%) compared to the rice husk substrate (6.7%). As for the phytochemical analyses, there was a positive result for flavonoids and tannins in both substrates, but the antioxidant activity was positive only in the basidiomes cultivated in sawdust.

Index terms: phenolic compounds, Shimeji mushroom cultivation, rice husk substrate, eucalyptus sawdust substrate.

INTRODUÇÃO

Pleurotus é um fungo carnoso pertencente à família Pleurotaceae (Mazidi et al., 2020). As espécies pertencentes ao gênero *Pleurotus* são amplamente cultivadas no Brasil por serem espécies cosmopolitas, que ocorrem naturalmente em florestas temperadas, subtropicais e tropicais e possuem um complexo enzimático lignocelulolítico específico, com enzimas como celulasas, ligninases, celobioses, lacases e hemicelulasas, que possibilitam a degradação de uma grande variedade de resíduos (Alves et al., 2017). Esse potencial biossintético consegue degradar diversos tipos de materiais com resíduos vegetais encontrados em diferentes culturas brasileiras. A atividade agrícola promove grande geração de resíduos lignocelulósicos, que são passíveis de aproveitamento como substratos lignocelulósicos para cultivo de cogumelos em um processo de baixo custo, contribuindo para a preservação ambiental, visto que os cogumelos são degradadores biológicos naturais (Gao et al., 2020).

No Brasil, em razão da falta de conhecimento, tradição ou elevado valor de mercado, o consumo em média é de apenas 200 gramas per capita por ano, o que é considerado baixo quando comparado ao dos países asiáticos que consomem 4 quilogramas anualmente. Os cogumelos comestíveis mais consumidos são o *Agaricus bisporus* (champignon de Paris), *Pleurotus ostreatus* (cogumelo ostra ou shimeji), *Agaricus brasiliensis* (cogumelo-do-sol, anteriormente conhecido pelo nome científico *Agaricus blazei*) e *Lentinula edodes* (shiitake) (Largeteau et al., 2011; Chiavegatti et al., 2018). Essas mesmas espécies são as mais cultivadas e vendidas, sendo o champignon de Paris responsável por 66% do total de cogumelos in natura produzidos no País, seguido do cogumelo ostra e do shiitake (Gomes, 2018). No Brasil, a produção de cogumelos comestíveis e seu consumo têm aumentado, desde a década de 1970, sobretudo em virtude de estudos que sugerem benefícios à saúde pelas suas propriedades nutricionais e medicinais (Urban, 2017). O mercado de cogumelos movimentou 35 bilhões de dólares ao ano no mundo (Gomes, 2018), e a expectativa é que esse mercado possa crescer até 9% no próximo triênio, por causa do elevado potencial de crescimento nos próximos anos (Capra & Tonin, 2019).

Os cogumelos fornecem uma variedade de macronutrientes e micronutrientes para nossa saúde. O consumo de *Pleurotus* spp. está relacionado a benefícios nutricionais ou dietéticos, pelo fato de ter alto teor de fibras, aminoácidos, proteínas, minerais (Ca, K, Na, Mg, P e Fe) e vitaminas (ácido fólico, vitamina C, complexo B, riboflavina), e baixo teor de gorduras, colesterol e sódio (Samsudin & Abdullah, 2019). Os benefícios desse alimento à saúde se devem à presença de metabólitos primários e secundários, tais como ácido oxálico, proteínas, peptídeos, terpenos, esteroides, antraquinonas, derivados de ácido benzoico, quinolonas, alcaloides, taninos, saponinas, glicosídeos cardiotônicos, β -glucanas e fenóis. Essas propriedades estão presentes tanto no cogumelo in natura quanto na forma de extratos purificados (Abdel-Aziz et al., 2015; Valverde et al., 2015).

Os principais grupos de polifenóis são os flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos e lignanas. Entre eles, os que são mais encontrados em cogumelos comestíveis são os ácidos fenólicos e os flavonoides (Haminiuk et al., 2012; Gąsecka et al., 2016). É importante estudar fontes de antioxidantes naturais, uma vez que os sintéticos, como butil-hidroxi-anisol (BHA) e butil-hidroxi-tolueno (BHT), podem causar efeitos cancerígenos após a ingestão em longo prazo e em altas concentrações.

Evidencia-se, dessa forma, a necessidade de alternativas que venham a suprir as demandas de consumo, buscando conciliar uma fonte rentável e com alto valor gastronômico, medicinal e nutricional, por meio do reaproveitamento de resíduos de outras cadeias produtivas, estimulando, assim, a sustentabilidade dessas cadeias. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo cultivar o cogumelo Shimeji nos substratos de casca de arroz e serragem, comparar a eficiência biológica dos substratos, bem como realizar a caracterização fitoquímica e avaliar a atividade antioxidante dos basidiomas produzidos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do inóculo primário e secundário em grãos de arroz

O inóculo de *P. ostreatus* foi adquirido de uma amostra obtida da empresa Funghi & Flora. Para o inóculo primário, o micélio foi multiplicado em BDA (batata-dextrose-ágar), por 5 dias, em estufa a $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente, para a produção do inóculo secundário *spawn*, discos de aproximadamente 5 mm de meio colonizado pelo micélio foram transferidos para grãos de arroz com casca, cozidos por 15 minutos, dispostos em vidros de 500 mL e autoclavados a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 minutos. Após a inoculação, os vidros permaneceram em temperatura ambiente até a completa colonização dos grãos.

Preparo do substrato e cultivo de *Pleurotus ostreatus*

Para o cultivo foram preparados dois substratos, seguindo-se a metodologia de Bononi et al. (1995), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Composição dos substratos para cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Substrato	Composição
Substrato 1	Casca de arroz (80%)
	Farelo de arroz (16%)
	Cal hidratada (4%)
Substrato 2	Serragem (80%)
	Farelo de arroz (16%)
	Cal hidratada (4%)

Para o preparo, os substratos foram umedecidos até atingir a umidade de 70%, homogeneizados manualmente e envasados em vidros de 500 mL, e fechados e autoclavados a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos. Para garantir as trocas gasosas durante o período de colonização, as tampas foram perfuradas, e as perfurações vedadas com algodão. Antes do envase, uma amostra foi retirada de cada substrato para a avaliação de pH. Após a autoclavagem e resfriamento do substrato, foi realizada a inoculação, em condições assépticas (câmara de fluxo laminar), com 2 g de *spawn*. Os vidros foram mantidos em uma sala escura, em temperatura de $25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ até completa colonização no substrato. Foram feitas 14 repetições (vidros) para cada substrato.

Após a completa colonização no substrato, os vidros foram abertos e transferidos para um ambiente iluminado para induzir as frutificações, tendo a temperatura sido mantida em $25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$. Foi avaliado o tempo necessário para a completa colonização do substrato, ou seja, a corrida micelial; o início da formação de primórdios; e o tempo total de cultivo em dias. A colheita dos basidiomas foi realizada manualmente e, após colhidos, foram pesados em balança de pesagem semianalítica para obtenção do peso fresco. Em seguida, os cogumelos foram devidamente higienizados e submetidos a um processo de secagem em estufa a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h, para obtenção do peso seco. O ponto de colheita foi determinado de maneira visual, conforme descrito por Sturion & Oetterer (1995), em que a borda do *Pleurotus* ainda não se apresentava completamente aberta. A eficiência biológica (EB) foi usada para expressar a produção da biomassa do cogumelo, baseada na fórmula:

$$EB (\%) = \frac{\text{massa fresca total dos cogumelos}}{\text{massa seca do substrato inicial}} \times 100$$

Obtenção do extrato etanólico bruto

Após secagem, os cogumelos foram fragmentados para melhor homogeneização com recurso de um liquidificador. Posteriormente, 15 g do *P. ostreatus* cultivados nos diferentes substratos foram pesados e transferidos para cartuchos de papel com um tampão de algodão, acondicionados para extração por refluxo em aparelho Soxhlet (Latimer, 2019), utilizando-se como solvente 300 mL de uma mistura de etanol com água destilada (85%), e foram submetidos a aquecimento em sistema fechado por 3 horas e meia em cada um dos tratamentos. Após resfriamento do sistema, a solução extrativa obtida foi concentrada em evaporador rotativo acoplado à bomba de vácuo, em temperatura constante de $45 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, onde permaneceu até que ocorresse a evaporação total do solvente e seu peso seco fosse calculado.

O resíduo obtido foi retomado com etanol 96%, tendo sido posteriormente levado ao agitador ultrassônico por 25 minutos. Com esse extrato etanólico bruto (EEB) obtido, diluições foram preparadas para avaliação fitoquímica qualitativa e antioxidante quantitativa.

Avaliação fitoquímica

Os testes fitoquímicos foram realizados utilizando-se as metodologias descritas por Wagner & Bladt (1996), Costa (2001), Farias (2003), Biavatti & Leite (2005), e pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2019). Para identificação de polifenóis e taninos, foram realizadas as reações de sais de ferro, gelatina e acetato de chumbo, e para identificação de flavonoides, as reações de cloreto de alumínio, Shinoda, Taubouk, hidróxidos alcalinos e Pew. Utilizando-se os extratos etanólicos obtidos do cultivo de *P. ostreatus*, em cada substrato, foi possível determinar a presença ou não dos compostos metabólitos acima descritos, em que cada reação gera uma cor específica para resultados negativos ou positivos, bem como fluorescência ou formação de cristais.

Avaliação da atividade antioxidante

Por meio da metodologia ORAC foi possível analisar a atividade antioxidante dos extratos brutos de *P. ostreatus*. O método ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) foi originalmente desenvolvido por Cao et al. (1993) e se utiliza para medir a capacidade do antioxidante de sequestrar radicais peróxido que são gerados por uma fonte radicalar, AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropano) di-hidroclorado). O ensaio se baseia na medição da atividade antioxidante in vitro, em temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e em meio tamponado com fosfato de potássio, utilizando-se a fluoresceína sódica como sonda que simula o corpo ou alimento, o radical AAPH [2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride] como gerador de radical livre e o Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-ácido carboxílico 97%) como antioxidante padrão. A fluorescência relativa foi medida ao longo do tempo, para definir o potencial antioxidante dos metabólitos em relação ao padrão Trolox. Para isso, uma solução mãe de 5 mg/mL dos extratos foi preparada e acondicionada em balões volumétricos de 10 mL, que foram levados ao agitador ultrassônico até a completa homogeneização. Com a solução mãe prepararam-se três diluições com tampão fosfato (75 mM, pH 7,4) na proporção 10:20:50 μL em balões de 50 mL. Para a realização do teste, utilizou-se a metodologia descrita por Ou et al. (2001).

Foram adicionados 25 μL dos padrões ou das amostras e 150 μL de fluoresceína (81 mM) na microplaca de 96 poços (Fluotrac 200, Greiner Bio-One®), e incubou-se por 10 minutos a $37 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo os 3 últimos minutos sob agitação constante. Após incubação, foram adicionados 25 μL de AAPH (152 mM), como fonte de radicais livres, e posicionada a placa no equipamento. Para a integridade da placa, também foram feitos branco da placa (apenas tampão), branco do tampão (tampão, fluoresceína e AAPH), branco da sonda (fluoresceína e tampão) e branco do reagente (tampão e AAPH). O volume final de cada poço foi de 200 μL . A fluorescência foi monitorada durante 91 minutos (λ excitação = 485 nm e λ emissão = 528 nm) a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ na leitora de placas (SpectraMax® M3).

A capacidade antioxidante foi determinada usando-se a área sob a curva (AUC), e os resultados foram comparados com uma curva analítica de Trolox, e expressos em μmol de Trolox Equivalente (TE) por grama de amostra (Ou et al., 2001).

ANÁLISE DE DADOS

Na análise de dados, empregou-se a estatística descritiva (média \pm desvio-padrão; coeficiente de variação, CV). Diferenças estatísticas foram estabelecidas utilizando-se o teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney, com nível de significância $\alpha = 5\%$. Trabalhou-se com o software PAST V. 2.15 (Hammer et al., 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise da frutificação

O substrato com serragem apresentou a corrida micelial completa, com início do crescimento dos corpos de frutificação primeiro, totalizando 23 dias. Já o substrato com casca de arroz apresentou a corrida micelial com período mais tardio, aproximando-se dos 25 dias de cultivo. Os valores do pH variaram de 6,9 para o substrato com casca de arroz, a 7,7 para o substrato com serragem. Yamauchi et al. (2019) relatam diferentes condições de crescimento para diferentes tratamentos no cultivo de cogumelo-ostra, em que o tempo de crescimento micelial e o tempo de crescimento total variaram entre 15 e 48 dias, e esses valores coincidem com os apresentados no presente estudo. Reis et al. (2010) constata que o início da formação de primórdios em diferentes substratos para o gênero *Pleurotus* tem sido observado entre o 15º e o 30º dia, corroborando os valores obtidos para *P. ostreatus* no presente trabalho em ambos os tratamentos. Destaca-se que, por meio de análise visual, é possível observar que o substrato com casca de arroz apresentou corrida micelial de forma mais uniforme em todos os vidros, embora o substrato com serragem tenha frutificado primeiro (Figuras 1 e 2). O crescimento do micélio e a frutificação são fortemente influenciados pelo tipo de resíduo agrícola usado como substrato de base, e pela qualidade da semente, *spawn*. O meio de cultivo fornece o suporte físico e os nutrientes necessários para ser cumprido o período de vida dos fungos (Atila, 2017).



Figura 1. Crescimento micelial do substrato com casca de arroz após 20 dias de inoculação.

Foto: Laura Amália Miranda Costa



Figura 2. Crescimento micelial do substrato com serragem após 20 dias de inoculação.

Foto: Laura Amália Miranda Costa

A maioria dos vidros com os cogumelos levou cerca de 2 dias desde a formação primordial até a maturação do corpo de frutificação e, após 2 dias, os cogumelos foram colhidos. Dados semelhantes foram relatados por Zakil et al. (2019), em que a formação dos basidiomas em todos os resíduos agroindustriais testados levou entre 2 e 4 dias. A primeira colheita nessa pesquisa variou de 23 a 30 dias para o substrato com serragem, e de 25 a 32 dias para o substrato com casca de arroz. Esses resultados estão de acordo com a literatura para espécies do gênero *Pleurotus* (Li et al., 2017); por outro lado, contradizem os resultados de Paudel & Dhakal (2020), em que ocorreu uma variação de 38 a 46 dias para a primeira colheita de cogumelo-ostra cultivando-se diferentes substratos lignocelulósicos. O tempo de frutificação pode ser influenciado pela composição e pelo tipo de substrato (Tekeste et al., 2020). Considerando-se que o *Pleurotus* é um fungo de podridão-branca e que apresenta uma maior atividade ligninolítica efetiva, a capacidade desses fungos de quebrar a lignina difere consideravelmente dependendo da espécie e do meio de crescimento (Janusz et al., 2017).

Os valores obtidos de peso fresco e seco apresentam-se na Tabela 2. Verifica-se que o peso da massa fresca foi maior no substrato com serragem (188,9 g) comparativamente ao peso da massa fresca no substrato com casca de arroz (166,6 g). Essa diferença poderia ser explicada considerando-se que das 14 repetições realizadas, 4 com substrato de arroz tiveram problemas de contaminação com outros fungos, não havendo desenvolvimento do cogumelo. Essa condição não ocorreu com os testes do substrato de serragem, tendo atingido um peso fresco total maior e uma eficiência biológica maior, 7,6% comparativamente ao percentual de 6,7% para casca de arroz.

Tabela 2. Análise comparativa do peso fresco, seco e eficiência biológica (EB) do *P. ostreatus* nos substratos de casca de arroz e de serragem.

Substrato	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	EB (%)
Casca de arroz	166,6	77,9	6,7
Serragem	188,9	78,7	7,6

Entretanto, conforme se observa na Figura 3, os resultados indicaram que *P. ostreatus* apresentou um peso médio da massa fresca em substrato com casca de arroz de $16,7 \pm 7,3$ g (coeficiente de variação, CV = 43,9%), enquanto o peso médio da massa fresca em substrato com serragem foi de $13,5 \pm 13,4$ g (CV = 99,5%). Contudo, comparando-se estatisticamente os valores médios, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$). Dessa forma, o substrato com serragem apresenta vantagens competitivas para a produção de cogumelo quando comparado ao substrato de arroz, uma vez que apresentou uma eficiência biológica maior.

Em relação à eficiência biológica, Morais et al. (2016) obtiveram resultados com valores superiores, utilizando-se subprodutos da agroindústria do óleo de palma (dendê) para cultivo do cogumelo comestível *P. ostreatus*, variando entre 21,3% e 23,3%. Já para Sözbir et al. (2015), ao cultivarem *P. ostreatus* utilizando serragem de carvalho, os valores obtidos de eficiência biológica variaram de 2,5% a 36,9%, dados que contemplam a presente pesquisa. A eficiência biológica é uma variável importante para definição do substrato a ser utilizado nos cultivos, conforme Steffen et al. (2020).

Quanto ao diâmetro do píleo, houve uma variação de 4,5 cm–10 cm dos cogumelos cultivados no substrato com casca de arroz e de 2,5 cm–9 cm dos cogumelos cultivados no substrato com serragem. Para a altura do estipe, observou-se uma variação de 2,5 cm–12,5 cm dos cogumelos cultivados no substrato com serragem e de 5 cm–7,5 cm dos cogumelos cultivados no substrato com casca de arroz. Assim, o substrato com casca de arroz produziu cogumelos com maiores diâmetros do píleo, e o substrato com serragem gerou cogumelos com maior altura do estipe (Figura 4).

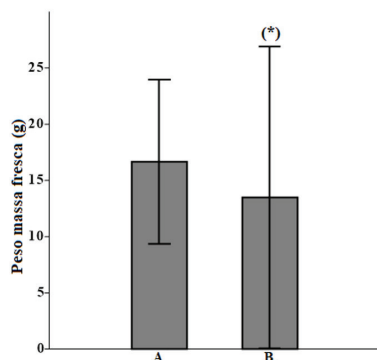


Figura 3. Média (\pm desvio-padrão) do peso da massa fresca de *Pleurotus ostreatus* em substrato com casca de arroz (A) e substrato com serragem (B).

*Diferença não significativa ($p > 0,05$).

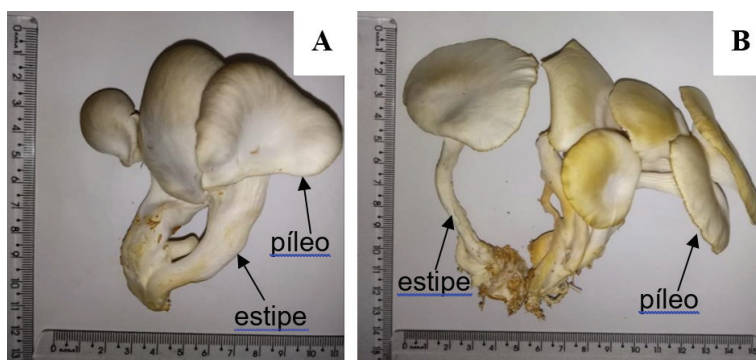


Figura 4. Medidas do píleo e estipe em *P. ostreatus* no substrato de casca de arroz (A) e serragem (B).

Fotos: Laura Amália Miranda Costa

O tamanho dos basidiomas se assemelha aos dados encontrados por Li et al. (2017), que, ao investigarem o potencial dos caules de *Perilla frutescens* para o cultivo de *Pleurotus ostreatus*, produziram cogumelos cuja altura do estipe variou de 5,8 cm a 6,1 cm e cujo diâmetro do píleo variou de 6,3 cm a 6,5 cm. No entanto, diferem dos valores encontrados por Gume et al. (2013), que relataram comprimento do estipe de 1,4 cm–1,9 cm e diâmetro do píleo de 3,8 cm–5,2 cm, em cogumelos cultivados em serragem, cascas de grãos de café e espigas de milho. Rambey et al. (2020) apresentaram, ao analisarem o crescimento e a produtividade de cogumelos-ostra (*Pleurotus ostreatus*) em palha de arroz média misturada com serragem, dados superiores aos obtidos para o diâmetro do píleo (10,7 cm–12,5 cm); e para altura do estipe, os dados foram semelhantes aos obtidos nesta análise (7,4 cm–10,3 cm). O comprimento do estipe e o diâmetro do píleo do cogumelo-ostra cultivado em diferentes substratos dependem da estrutura, compactação e propriedades físicas do substrato. Os substratos com maior capacidade de retenção de umidade apresentam melhor desempenho do que aqueles com menor capacidade de retenção de umidade (Chukwurah et al., 2013).

Avaliação do rendimento dos extratos

A avaliação do rendimento dos extratos de *P. ostreatus*, considerando-se sua produção em cada substrato (Tabela 3), foi determinada partindo de 15,7 g de cogumelo cultivado no substrato de casca de arroz, tendo-se obtido 9,6 g de extrato etanólico bruto seco, correspondendo a um rendimento de 61,3%. Já no substrato de serragem, o rendimento foi calculado partindo-se de 15,8 g de cogumelo, tendo-se obtido 3,2 g de extrato etanólico bruto seco, correspondendo, portanto, a um rendimento de 20,7%, sendo três vezes menor do que o rendimento do extrato de *P. ostreatus* cultivado com casca de arroz. Segundo Gume et al. (2013), grandes variações no rendimento de extratos comparados

colaboram para uma diferenciação na qualidade e quantidade dos componentes nutritivos presentes nos substratos em questão. Esses valores podem ter sofrido interferência pela presença de contaminações, bem como a maior degradação do meio pelo cogumelo.

Tabela 3. Avaliação do rendimento do extrato bruto de *P. ostreatus* (peso seco) cultivado nos substratos com casca de arroz e serragem.

Substrato	Peso do cogumelo seco (g)	Rendimento do extrato etanólico bruto seco (%)
Casca de arroz	15,7	61,3
Serragem	15,8	20,7

Avaliação fitoquímica

Por meio da análise fitoquímica realizada com base nos extratos de *P. ostreatus*, foi possível detectar a presença de flavonoides e taninos em algumas reações de caracterização (Tabela 4), porém, não para todas, inferindo fraca presença desses compostos fenólicos investigados. Esse resultado corrobora as pesquisas de Gil-Ramírez et al. (2016), os quais relataram que os cogumelos não contêm flavonoides, e aqueles encontrados podem ter sido encontrados em virtude da facilidade desses organismos de absorver muitos nutrientes e compostos do substrato onde crescem ou de plantas vizinhas, espalhando suas hifas ou formando micorrizas. Além disso, segundo os mesmos autores, algumas plantas liberam certos flavonoides para regular as interações simbióticas planta-micróbio, definindo as espécies toleradas a crescer em suas raízes. Os flavonoides são relatados como compostos antifúngicos, porque as plantas os produzem como proteção contra infecções fúngicas, podendo afetar negativamente o crescimento de fungos. Os autores também destacam que, embora os flavonoides tenham sido descritos tradicionalmente entre um dos principais fitoquímicos responsáveis pelas ações antioxidantes, estudos recentes têm evidenciado que os cogumelos comestíveis não sintetizam flavonoides, pois não possuem as principais enzimas envolvidas em sua via metabólica.

Já para taninos, a reação de sais de ferro confirmou positividade nos extratos de *P. ostreatus*, sendo eles adstringentes e hemostáticos e, portanto, justificando suas aplicações terapêuticas relacionadas com essas propriedades (Abdel-Aziz et al., 2015; Valverde et al., 2015). Essa condição pode ser explicada pela presença do tanino acil-hidrolase, conhecido como tanase (E.C.3.1.1.20), que é uma enzima induzível, que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis, liberando glicose e ácido gálico. Essa enzima é produzida por fungos filamentosos, bactérias e leveduras em fermentação sólida ou submersa (Liu et al., 2016). A produção dessa enzima está diretamente relacionada com a concentração de ácido tânico (tanino) no meio, fornecendo suprimento contínuo de fonte de carbono, que favorece o desenvolvimento do *P. ostreatus* no meio, e a partir desse momento, ele se torna capaz de degradar o ácido.

Tabela 4. Avaliação fitoquímica dos extratos de *P. ostreatus* nos substratos de casca de arroz e serragem.

Classe química	Reações	Casca de arroz	Serragem
Flavonoides	Cloreto de alumínio (AlCl ₃)	+	+
	Taubouk (H ₃ BO ₃)	+	+
	Hidróxidos alcalinos (NaOH)	-	-
	Pew	-	-
	Shinoda	-	-
Taninos	Acetato de chumbo	-	-
	Sais de ferro	+ (Condensados)	+ (Condensados)
	Gelatina	-	-

Prospecção fitoquímica: (+) reação positiva; e (-) reação negativa.

Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante de *P. ostreatus*, medida por meio da fluorescência relativa ao longo do tempo e comparada ao padrão Trolox, apresentou-se apenas no substrato com serragem, a qual teve uma queda que permaneceu entre os valores medidos (Figura 5). A atividade antioxidante do substrato com casca de arroz apresentou-se inferior ao menor valor do padrão Trolox e, por esse motivo, não foi considerada nesta análise.

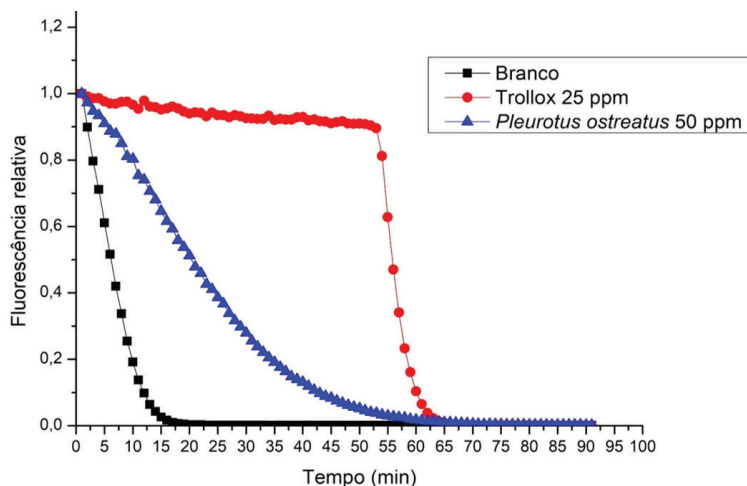


Figura 5. Fluorescência relativa do extrato de *P. ostreatus* em substrato de serragem

Em relação à fluorescência do composto analisado, podemos afirmar que *P. ostreatus* no substrato de serragem apresentou fluorescência intermediária entre o Trolox 25 ppm e o branco. Por meio da curva analítica ($R^2 = 0,9885$), foi quantificada a capacidade antioxidante do substrato, tendo-se obtido o valor de $539,521 (\pm 74,199) \mu\text{mol ET g}^{-1}$. Quando comparados ao padrão utilizado, para terem efeitos equivalentes na atividade antioxidante, deve-se dosar 7,4 g de *P. ostreatus* para cada 1,0 g de Trolox. Considerando que, para uma melhor capacidade antioxidante, o valor ET deve-se aproximar de 1 g, inferimos assim que houve baixo potencial antioxidante, resultado consistente com a baixa caracterização de compostos fenólicos na análise fitoquímica.

Adebayo et al. (2018), em seu estudo comparativo das propriedades antioxidantes e antibacterianas em diferentes espécies do gênero *Pleurotus*, constataram que a maior atividade antioxidante foi registrada na cepa CP-800, tendo atingido $34.646 (\pm 4.124,4) \mu\text{mol de ET mL}^{-1}$, embora a cepa CP-50 dessa espécie tenha mostrado $8.199,2 (\pm 1.468,9) \mu\text{mol de ET mL}^{-1}$, e esses valores são superiores ao obtido no tratamento com serragem, analisado neste experimento.

A variabilidade genética (espécie ou cepa), entre outros fatores, pode afetar a quantidade de metabólitos secundários produzidos pelo cogumelo. Uma vez que o tamanho da porção para cogumelos é equivalente a 85 g (Estados Unidos, 2010), os valores totais do ORAC variaram entre 564 e $823 \mu\text{mol ET/porção}$ (Dubost et al., 2007), porém, apresentaram valores menores para *P. ostreatus*, de $55,34 \mu\text{mol ET g}^{-1}$. Smolskaite et al. (2015) também apresentaram valores inferiores, quando comparados aos da presente análise, tendo obtido uma atividade antioxidante ORAC de 1,73–115 $\mu\text{mol ET g}^{-1}\text{dw}$ (peso seco) em extratos de *P. ostreatus*, tendo utilizado diferentes solventes (ciclo-hexano, diclorometano, metanol e água).

É interessante comparar diferentes ensaios para análise antioxidante, como estudo de Smolskaite et al. (2015), que empregaram diferentes análises e encontraram uma atividade antioxidante de 0,08–1,52 $\mu\text{mol ET g}^{-1}\text{dw}$ em *P. ostreatus* tendo utilizado diferentes solventes e o método DPPH, enquanto no método ABTS, a atividade antioxidante foi de 0,10–0,80 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$. Diferentemente

disso, Koutrotsios et al. (2017) obtiveram uma atividade de eliminação de DPPH de 0,82–4,07 mmol ET/100 g relatado em extratos metanólicos de *P. ostreatus*.

Nota-se uma diferença no potencial antioxidante encontrado entre as espécies do gênero *Pleurotus* analisadas e descritas na literatura, em que se percebe que os componentes hidrofílicos dos cogumelos fornecem predominantemente o potencial antioxidante, indicando que os componentes solúveis em água dos cogumelos têm uma maior capacidade antioxidante contra os radicais peróxila em comparação com os componentes lipofílicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados para o cultivo de *P. ostreatus* indicaram que houve um melhor desempenho do substrato de serragem para a corrida micelial, início das frutificações, peso fresco, altura do estipe e eficiência biológica. Com relação à análise fitoquímica, foi possível detectar fracamente a presença de flavonoides e taninos, porém, não houve divergência nos resultados entre os diferentes substratos, em que ambos os tratamentos obtiveram resultados semelhantes.

A quantificação da capacidade antioxidante apresentou correlação positiva apenas no substrato com serragem; com isso, sugere-se para trabalhos futuros a repetição da análise com valores diferentes para obtenção de um valor mais preciso para ambos os substratos. Para fins comerciais, o substrato com serragem apresentou uma adequação melhor considerando-se os resultados obtidos, e comprova-se que a utilização de subprodutos agroindustriais para produção de cogumelos é uma alternativa viável, visando maior retorno econômico no aproveitamento desses resíduos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZIZ, S.M.; HAMID, H.A.; FADEL, M. Edible mushrooms: a green biotechnology and great nutritional value for improving human health. **EPH International Journal of Science & Engineering**, v.1, p.1-17, 2015. Disponível em: <<https://ephjournal.org/index.php/se/article/download/333/281>>. Acesso em: 19 jun. 2019.
- ADEBAYO, E.A.; MARTÍNEZ-CARRERA, D.; MORALES, P.; SOBAL, M.; ESCUDERO, H.; MENESES, M.E.; AVILA-NAVA, A.; CASTILLO, I.; BONILLA, M. Comparative study of antioxidant and antibacterial properties of the edible mushrooms *Pleurotus levis*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* and *P. tuber-regium*. **International Journal of Food Science & Technology**, v.53, p.1316-1330, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13712>.
- ALVES, E.P.; TAVARES, L.B.B.; GERN, R.M.M.; SILVA, D.A.K.; FURLAN, S.A.; WISBECK, E. Produção e caracterização de biossurfactantes metabolizados por *Pleurotus sajor-caju* a partir de óleo de soja. **Revista Matéria**, v.22, e11867, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1517-707620170003.0201>.
- ATILA, F. Evaluation of suitability of various agro-wastes for productivity of *Pleurotus djamor*, *Pleurotus citrinopileatus* and *Pleurotus eryngii* mushrooms. **Journal of Experimental Agriculture International**, v.17, p.1-11, 2017. DOI: <https://doi.org/10.9734/JEAI/2017/36346>.
- BIAVATTI, M.W.; LEITE, S.N. **Práticas de farmacognosia**. Itajaí: Univali, 2005. 145p.
- BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone editora, 1995. 206p.
- CAO, G.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, v.14, p.303-311, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90027-R](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90027-R).
- CAPRA, R.S.; TONIN, F.B. Ascensão do cultivo de cogumelos comestíveis no Brasil. In: JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA FATEC DE BOTUCATU, 8., 2019, Botucatu. **Anais**. São Paulo: Fatec, 2019. Disponível em: <<http://www.jornacitec.fatecbt.edu.br/index.php/VIIIJTC/VIIIJTC/paper/view/1755>>. Acesso em: 3 maio 2021.
- CHIAVEGATTI, B.; AKITI, B.T.; GIANNOTTI, I.; PERAZZOLO, I.N.; KAWAKAMI, L. **Cogumelos comestíveis: produção e mercado brasileiros**. [2018]. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4332863/mod_folder/content/0/Integral/Cogumelos%20comest%C3%ADveis%20produ%C3%A7%C3%A3o%20e%20mercado%20no%20Brasil.pdf?forcedownload=1>. Acesso em: 23 maio 2021.

- CHUKWURAH, N.F.; EZE, S.C.; CHIEJINA, N.V.; ONYEONAGU, C.C.; OKEZIE, C.E.A.; UGWUOKE, K.I.; UGWU, F.S.O.; ARUAH, C.B.; AKOBUEZE, E.U.; NKWONTA, C.G. Correlation of stipe length, pileus width and stipe girth of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) grown in different farm substrates. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, v.5, p.54-60, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5897/JABSD2013.0197>.
- COSTA, A.F. **Farmacognosia**: Farmacognosia Experimental. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- DUBOST, N.J.; OU, B.; BEELMAN, R.B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v.105, p.727-735, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.030>.
- ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. **USDA Database for the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods, Release 2**. Beltsville: USDA, 2010. Disponível em: <<https://handle.nal.usda.gov/10113/43336>>. Acesso em: 12 dez. 2021.
- FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2003.
- GAO, M.; LI, H.; MA, H.; PENG, C.; WU, W.; YU, Z.; WANG, Q. Electricity enhancement by MFCs from food waste ethanol fermentation recycle stillage effect of dilution ratio and addition of Tween 80. **ChemistrySelect**, v.5, p.5701-5705, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.202000501>.
- GAŚECKA, M.; MLECZEK, M.; SIWULSKI, M.; NIEDZIELSKI, P. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. **European Food Research and Technology**, v.242, p.723-732, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2580-1>.
- GIL-RAMÍREZ, A.; PAVO-CABALLERO, C.; BAEZA, E.; BAENAS, N.; GARCIA-VIGUERA, C.; MARÍN, F.R.; SOLER-RIVAS, C. Mushrooms do not contain flavonoids. **Journal of Functional Foods**, v.25, p.1-13, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.05.005>.
- GOMES, M. **Agronegócio: consumo e produção de cogumelos cresce no Brasil**. 2018. Disponível em: <https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/economia/2018/01/29/internas_economia,656318/consumo-e-producao-de-cogumelos-no-brasil.html>. Acesso em: 15 abr. 2021.
- GUME, B.; MULETA, D.; ABATE, D. Evaluation of locally available substrates for cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Jimma, Ethiopia. **African Journal of Microbiology Research**, v.7, p.2228-2237, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR12.895>.
- HAMINIUK, C.W.I.; MACIEL, G.M.; PLATA-OVIEDO, M.S.V.; PERALTA, R.M. Phenolic compounds in fruits: an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v.47, p.2023-2044, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v.4, art.4, 2001.
- JANUSZ, G.; PAWLIK, A.; SULEJ, J.; ŚWIDERSKA-BUREK, U.; JAROSZ-WILKOŁAZKA, A.; PASZCZYŃSKI, A. Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. **FEMS Microbiology Reviews**, v.41, p.941-962, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsre/fux049>.
- KOUTROTSIOS, G.; KALOGEROPOULOS, N.; STATHOPOULOS, P.; KALIORA, A.C.; ZERVAKIS, G.I. Bioactive compounds and antioxidant activity exhibit high intraspecific variability in *Pleurotus ostreatus* mushrooms and correlate well with cultivation performance parameters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.33, art.98, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2262-1>.
- LARGETEAU, M.L.; LLARENA-HERNÁNDEZ, R.C.; REGNAULT-ROGER, C.; SAVOIE, J.-M. The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: biology, cultivation and non-medicinal valorisation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.92, p.897-907, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3630-7>.
- LI, H.; ZHANG, Z.; LI, M.; LI, X.; SUN, Z. Yield, size, nutritional value, and antioxidant activity of oyster mushrooms grown on perilla stalks. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.24, p.347-354, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.001>.
- LIU, T.P.S.L.; PORTO, T.S.; MOREIRA, K.A.; TAKAKI, G.M.C.; BRANDÃO-COSTA, R.; HERCULANO, P.N.; PORTO, A.L.F. Tannase production by *Aspergillus* spp. UCP1284 using cashew bagasse under solid state fermentation. **African Journal of Microbiology Research**, v.10, p.565-571, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.7924>.
- MAZIDI, M.N.I.B.H.; IBRAHIM, R.; YAACOB, N.D. The growth morphology and yield of grey oyster mushrooms (*Pleurotus sajor-caju*) subjected to different durations of acoustic sound treatment. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v.767, art.012013, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/767/1/012013>.
- MORAIS, L.F. de. **Efeitos da amonização sobre o valor nutritivo do feno de capim-elefante colhido após o florescimento**. 2016. 43p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4619-4626, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf010586o>.
- PAUDEL, S.; DHAKAL, D. Yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrate. **Archives of Agriculture and Environmental Science**, v.5, p.190-195, 2020. DOI: <https://doi.org/10.26832/24566632.2020.0502016>.
- RAMBEY, R.; SIMBOLON, F.M.; SIREGAR, E.B.M. Growth and productivity of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) on media rice straw mixed with sawdust. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v.454, art.012082, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/454/1/012082>.
- REIS, M.F. dos; DUCCA, F.; FERDINANDI, D.M.; ZONETTI, P. da C.; ROSADO, F.R. Análise de substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida*. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.3, p.79-91, 2010. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/rama/article/view/582>. Acesso em: 8 jun. 2019.
- SAMSUDIN, N.I.P.; ABDULLAH, N. Edible mushrooms from Malaysia; a literature review on their nutritional and medicinal properties. **International Food Research Journal**, v.26, p.11-31, 2019. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20\(01\)%202019\(2\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20(01)%202019(2).pdf). Acesso em: 7 dez. 2021.
- SMOLSKAITE, L.; VENSKUTONIS, P.R.; TALOU, T. Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species. **LWT - Food Science and Technology**, v.60, p.462-471, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.007>.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. [Manual de aulas práticas]. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/flavonoides_e_antocianinos.html. Acesso em: 19 maio 2019.
- SÖZBIR, G.D.; BEKTAŞ, İ.; ZÜLKADIR, A. Lignocellulosic wastes used for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* mushrooms: effects on productivity. **BioResources**, v.10, p.4686-4693, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15376/biores.10.3.4686-4693>.
- STEFFEN, G.P.K.; STEFFEN, R.B.; HANDTE, V.G.; COSTA, A.F.P.; PIAIA, A.; MORAIS, R.M. de. **Produção de cogumelos comestíveis em substratos orgânicos**. Porto Alegre: SEAPDR, DDP, 2020. (Circular divulgação técnica, 3). Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/202106/11094745-n-3-2020-producao-de-cogumelos-comestiveis-em-substratos-organicos.pdf>. Acesso em: 2 dez. 2021.
- STURION, G.L.; OETTERER, M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados de cultivos de diferentes substratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, p.189-193, 1995.
- TEKESTE, N.; DESSIE, K.; TADDESSE, K.; EBRAHIM, A. Evaluation of different substrates for yield and yield attributes of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in crop-livestock farming system of northern Ethiopia. **The Open Agriculture Journal**, v.14, p.30-35, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1874331502014010030>.
- URBEN, A.F. (Ed.). **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada: biotecnologia e aplicações na agricultura e na saúde**. 3.ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa, 2017.
- VALVERDE, M.E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T.; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. **International Journal of Microbiology**, v.2015, art.376387, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/376387>.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2nd ed. New York: Springer, 1996. 384p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>.
- YAMAUCHI, M.; SAKAMOTO, M.; YAMADA, M.; HARA, H.; TAIB, S.M.; REZANIA, S.; FADHIL, M.; DIN, M.; MOHD HANAFI, F.H. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on fermented moso bamboo sawdust. **Journal of King Saud University - Science**, v.31, p.490-494, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.021>.
- ZAKIL, F.A.; SUEB, M.S.M.; ISHA, R. Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* on various agro-industrial wastes in Malaysia. **AIP Conference Proceedings**, v.2155, art.020055, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.5125559>.