

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA
DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA

CRISTIANE SUELY MELO DE CARVALHO

VIABILIDADE DO USO DE RESÍDUOS AGRÍCOLAS NO
CULTIVO DO COGUMELO MEDICINAL *Ganoderma*
lucidum (Curt.: Fr.) P. Karst.

MANAUS
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA
DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA

CRISTIANE SUELY MELO DE CARVALHO

VIABILIDADE DO USO DE RESÍDUOS AGRÍCOLAS NO
CULTIVO DO COGUMELO MEDICINAL *Ganoderma*
lucidum (Curt.: Fr.) P. Karst.

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas como requisito para a Obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de concentração Agroflorestal.

Orientadora: Prof^a Dra Meire Cristina Nogueira de Andrade
Co-orientadora: Dra. Ceci Sales-Campos

MANAUS
2014

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

C331v	<p>Carvalho, Cristiane Suely Melo de. Viabilidade do uso de resíduos agrícolas no cultivo do cogumelo medicinal <i>Ganoderma lucidum</i> (Curt.: Fr.) P.Karst. / Cristiane Suely Melo de Carvalho. - 2014. 59 f. : il. color.. Tese (Doutorado em Biotecnologia) — Universidade Federal do Amazonas. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Meire Cristina Nogueira de Andrade. Coorientadora: Prof^a. Dr^a Ceci Sales-Campos.</p> <p>1. Cogumelo 2. Fungos – cultura e meios de cultura 3. Propriedades medicinais 4. Resíduos agrícolas I. Andrade, Meire Cristina Nogueira, orientador II. Universidade Federal do Amazonas III. Título</p> <p>CDU (1997): 635.89 (043.2)</p>
-------	--

A Deus, que reina em meu coração, dando-me saúde, força, alegria, em todos os minutos de minha vida.

A querida Leise Pessoa de Carvalho, que em todos os momentos me apoiou me dando estímulo, e em momentos de desânimo nunca deixou que eu desistisse.

A minha estimada mãe, Maria Noélia de Melo, que sozinha, sempre me acompanhou em todas as etapas da minha vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a Deus, por tudo que sou e que tenho.

Às minhas orientadoras, Meire Cristina Nogueira de Andrade e Ceci Sales-Campos, pela amizade, confiança, ensinamentos e principalmente pelo apoio e incentivo em momentos de desânimo e dificuldades.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, representado pelos professores e funcionários agradeço todo o apoio e oportunidade para o bom andamento do curso.

As minha querida amiga Gisele pelo apoio nos momentos em que estive em Botucatu-SP.

À Profa. Dra. Marli Teixeira Almeida Minhoni, coordenadora do Modulo de Cogumelos da Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP/ Botucatu-SP, por ter cedido à linhagem fúngica utilizada nos experimentos e por ter disponibilizado à estrutura física para a realização dos experimentos.

À técnica e Gisele Setznagl do Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ/ UNESP/ Botucatu-SP, pelo auxílio nas caracterizações físico-químicas.

A todos, que, de forma direta ou indireta, contribuíram para que este trabalho tenha sido realizado, muito obrigada!

RESUMO

Ganoderma lucidum trata-se de um fungo que desperta bastante interesse mundial devido suas inúmeras propriedades medicinais, são relatados principalmente pelo seu poder medicinal, podendo ser utilizados na prevenção e tratamento de diversas doenças incluindo o câncer e AIDS. É um cogumelo que apresenta a capacidade de desenvolver-se em diversos resíduos lignocelulósicos, pelo fato de produzirem enzimas lignocelulolíticas, especializadas em degradar esse tipo de matéria-prima. A espécie *G. lucidum*, apresenta diversas linhagens distintas, cujas exigências nutricionais que variam em relação ao local de coleta e ao tipo de substrato. Assim, torna-se necessário conhecer os substratos e a situação de cultivo mais adequados as diferentes linhagens de *G. lucidum*.—O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de duas linhagens de *Ganoderma lucidum* em resíduos agrícolas, bem como realizar a caracterização físico-química dos basidiomas obtidos no cultivo. O experimento foi conduzido nas instalações do Módulo de Cogumelos da FCA/UNESP-Botucatu, SP. As linhagens utilizadas foram GLM-09/01 e GLM 10/02. Os resíduos utilizados na cultura foram palha de aveia, palha de feijão, palha de capim braquiária, palha de capim tifton e serragem de eucalipto, todos em duas situações: com (20%) e sem suplementação (0%) de farelo de trigo. Todos os resíduos foram provenientes de despejos da atividade agrícola decorrente do município de Botucatu-SP. Os tratamentos foram realizados em 10 repetições, totalizando 200 pacotes. O cultivo totalizou 95 dias. Avaliou-se a eficiência biológica dos tratamentos e realizou-se a caracterização físico-química dos substratos inicial e residual e também dos basidiomas obtidos. Os

valores de EB (%) variaram de 0,0% a 6,7%. Nas análises da composição centesimal dos cogumelos, os parâmetros, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta, os resultados variaram de 8,7% a 13,7%, de 2,0% a 6,7%, de 0,83% a 1,79% e de 38,8% a 54,5% respectivamente. Dos substratos analisados, os que apresentaram maior rendimento foram os formulados à base de palha de braquiária (20%) em ambas as linhagens testadas (GLM-09/01 e GLM 10/02) e palha de feijão (20%) na linhagem GLM 10/02. Os cogumelos apresentaram teores elevados de lipídios, fibras e cinzas e baixo teor de proteínas.

Palavras-chave: bromatologia, fungo comestível, eficiência biológica, basidioma.

ABSTRACT

Ganoderma lucidum it is a fungus that arouses considerable interest worldwide because on their numerous properties, it is reported mainly for their medicinal power, and it may be used in the prevention and treatment of various diseases including cancer and AIDS. It is a mushroom that has the ability to thrive in a multitude of lignocellulosic wastes, since they produce lignocellulolytic enzymes, specialized to degrade this type of raw material. The *G. lucidum* species has several distinct lineages, and also nutritional requirements that vary in relation to the collection site and the type of substrate. Therefore, it is necessary to know the substrates, and the situation of the most suitable growing to the different strains of *G. lucidum*. The aim of this study was to evaluate the production of two strains of *Ganoderma lucidum* on agricultural waste as well as to perform chemical analyzes of basidiomata obtained in cultivation. The experiment was conducted at the premises of the module Mushrooms FCA / UNESP-Botucatu, SP, in which two strains were used: GLM-09/01 GLM and 10/02 both grown in waste, oat straw, bean straw, straw brachiaria grass Tifton straw and sawdust in two situations: with (20%) and without supplementation (0%) of wheat bran. All the waste came from dumps of agricultural activity resulting from Botucatu-SP. Both treatments were performed in 10 replications, totaling 200 packages. The cultivation of mushrooms totaled 95 days, later we assessed the biological efficiency of the treatments and it was performed and their chemical analysis of initial and residual substrates and basidiomata obtained. EB values (%) ranging from 0.0% to 6.7%. In the chemical analysis of the mushrooms, in the parameters, total protein, ether extract, crude fiber and ash, the results ranged from 8.7% to 13.7%, from 2.0% to 6.7%, 0.83% 1.79% to 38.8% and 54.5% respectively. Thus, it is concluded that from the substrates analyzed, those with the highest income were the base of straw brachiaria 20% in both strains tested (GLM 10/02 and GLM 09/01 and

bean straw to 20% GLM on 10/02 line. The mushrooms showed high levels of ether extract, ash and fiber and low protein content.

Keywords: food science, edible fungus, biological efficiency, basidiomata.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Aspectos gerais dos cogumelos.....	17
2.1.1 Histórico dos cogumelos.....	17
2.1.2 Biologia dos cogumelos.....	18
2.2 <i>Ganoderma lucidum</i>	19
2.3 Composição Química.....	20
2.4 Geração de resíduos.....	20
2.5 Resíduos.....	21
2.5.1 Palha de tifton (<i>Cynodon</i> spp.).....	21
2.5.2 Palha de braquiária.....	22
2.5.3 Palha de feijão.....	22
2.5.4 Palha de aveia.....	23
2.5.5 Serragem de eucalipto.....	24
2.6 Aspectos de produção de <i>G.lucidum</i>	25
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo Geral.....	26
3.2 Objetivos específicos.....	27
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1 Linhagens.....	27
4.2 Resíduos utilizados.....	27

4.3	Preparo do inóculo “Spawn”	28
4.3.1	Substrato de crescimento do Spawn	28
4.3.2	Inoculação e incubação	28
4.4	Substrato de cultivo.....	28
4.5	Inoculação.....	30
4.7	Processamento dos basidiomas	31
4.7.1	Desidratação dos basidiomas.....	31
4.7.2	Moagem.....	32
4.8	Variáveis analisadas.....	32
4.8.1	Produtividade.....	32
4.8.2	Perda da matéria orgânica (PMO) do substrato	32
4.8.3	Caracterização físico - química dos substratos e dos basidiomas	32
4.8.4	Proteína bruta.....	33
4.8.5	Lipídios	34
4.8.6	Cinzas.....	35
4.8.7	Fibra bruta	35
4.8.8	Relação C/N	36
4.9	Delineamento experimental e análise estatística.....	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	Eficiência Biológica	37
5.2	Perda da matéria orgânica (PMO)	41
5.3	Caracterização físico - química dos substratos inicial e após a colonização por duas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM- 10/02).	42

5.3.1	Proteína Bruta.....	43
5.3.2	Lipídios	46
5.3.3	Cinzas.....	49
5.3.4	Fibra bruta	51
5.4	Caracterização físico-química dos basidiomas de duas linhagens de <i>G.lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02) obtidas do cultivo em substratos agrícolas.....	54
5.4.1	Proteína Bruta.....	55
5.4.2	Lipídios	56
5.4.3	Fibra bruta	57
5.4.4	Cinzas.....	59
6.	CONCLUSÕES.....	60
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos utilizados para avaliar produção de <i>Ganoderma lucidum</i> em substratos à base resíduos agrícolas, com ou sem suplementação com farelo de trigo (proporção em base de massa seca).	29
Tabela 2 – Teores médios de C e N, relação C:N e pH dos substratos iniciais (matéria prima com suplementação de farelo de trigo).	40
Tabela 3. Valores de F resultantes da análise de variância de proteína bruta, lipídios, cinzas e fibra bruta dos substratos a base de Palha de Capim tifton, Palha de braquiária, Palha de Feijão e Serragem de Eucalipto, suplementados ou não com 20% de farelo de trigo, antes de serem utilizados no cultivo de duas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM -09/01 e GLM-10/02).	43
Tabela 4. Valores de F resultantes da análise de variância de proteína bruta, lipídios, cinzas e fibra bruta dos substratos a base de Palha de Capim tifton, Palha de braquiária, Palha de Feijão e Serragem de Eucalipto, suplementados ou não com 20% de farelo de trigo após 95 dias de cultivo de duas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02).	43
Tabela 5. Valores de F resultantes da análise de variância de proteína bruta, lipídios, cinzas e fibra bruta presentes nos basidiomas das duas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivados em resíduos agrícolas.	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- <i>Ganoderma lucidum</i>	19
Figura 2. Preparo dos substratos: A- Mistura em betoneira; B - Substrato homogeneizado.....	29
Figura 3. Acondicionamento dos substratos: A- Adição em sacos do tipo PEAD (polietileno de alta densidade); B – Fechamento dos sacos em seladora a quente; C – Autoclavagem.	30
Figura 4. Inoculação, incubação e colheita: A – Corte da lateral do saco para a inoculação do <i>Spawn</i> ; B - Inoculação; C – Incubadora Dalsem com as unidades experimentais distribuídas ao acaso; D – Vista externa da incubadora Dalsem; E e F - <i>Ganoderma lucidum</i> em ponto de colheita.	31
Figura 5. Eficiência Biológica, %, das linhagens GLM-09/01 e GLM 10/02 de <i>Ganoderma lucidum</i> , cultivadas em substratos à base de resíduos agrícolas. 38	
Figura 6. Perda da matéria orgânica, %, dos substratos à base de resíduos agrícolas cultivados com as linhagens GLM-09/01 e GLM 10/02 de <i>Ganoderma lucidum</i>	41
Figura 7. Proteína Bruta, %, presente no substrato inicial, antes de sua colonização pelas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM 10/02).	44
Figura 8. Proteína Bruta, %, presente no substrato residual, após o cultivo das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM 10/02).	45
Figura 9. Lipídios, %, presentes no substrato inicial, antes de sua colonização pelas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02).	47
Figura 10. Lipídios, %, presentes no substrato residual, após o cultivo das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM 10/02).	48
Figura 11. Cinzas, %, presente no substrato inicial, antes da sua colonização pelas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02).	49
Figura 12. Cinzas, %, presente no substrato residual, após o cultivo das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM 10/02).	50
Figura 13. Fibra bruta, %, presente no substrato inicial, antes da sua colonização pelas linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM 10/02).	52

Figura 14. Fibra bruta, %, presente no substrato residual, após o cultivo das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 E GLM-10/02).....	53
Figura 15. Proteína Bruta, %, presente nos basidiomas das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM 10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais.....	55
Figura 16. Lipídios, %, presentes nos basidiomas das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais.	57
Figura 17. Fibra bruta, %, presente nos basidiomas das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais.....	58
Figura 18. Cinzas, %, presente nos basidiomas das linhagens de <i>Ganoderma lucidum</i> (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais.	59

1. INTRODUÇÃO

O consumo de cogumelos é um hábito milenar para vários povos. Esse interesse é fundamentado nas características nutricionais e medicinais destes organismos. Em algumas civilizações primitivas, muitos cogumelos eram considerados até como divindades, sendo frequentemente utilizados em cerimônias religiosas. Atualmente o cultivo e o consumo estão difundidos por muitos países.

Entre os cogumelos mais apreciados no mundo, destacam-se o *Lentinula edodes* (Shiitake), *Pleurotus ostreatus* (Shimeji, cogumelo ostra, Hiratake) e o *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), devido principalmente às características nutricionais e sabor agradável (BONONI et al., 1999).

Dentre os cogumelos de valor farmacológico, o *Ganoderma lucidum*, [orelha-de-pau (pelos chineses) Reish ou Ling Zi (pelos japoneses)], desperta bastante interesse no que diz respeito a tal potencial, pois diante das suas inúmeras propriedades, são relatados principalmente pelo seu poder medicinal, podendo ser utilizados na prevenção e tratamento de diversas doenças incluindo o câncer e AIDS (RUSSELL e PATERSON, 2006),

Essa espécie apresenta diversos compostos farmacologicamente ativos, tais como: triterpenóides, esteróides, polissacarídeos, proteínas, alcalóides, nucleosídeos e nucleotídeos (BOH et al., 2007).

Ocorrem em diferentes tipos de cores, tais como: vermelho chinês, amarelo brilhante e branco. Seu corpo de frutificação inicialmente é branco, tornando-se amarelado com o seu amadurecimento e na sua fase adulta adquire um aspecto envernizado com tonalidade marrom (PERUMAL et al., 2009).

Décadas atrás, sua aquisição era realizada apenas de forma extrativista, sendo colhidos principalmente em florestas. Posteriormente iniciou-se a prática de cultivo. Para isso, utilizam-se diversas formas a fim de realizar tal atividade, como o cultivo tradicional (esterilização do substrato através da compostagem do substrato) e o axênico (com esterilização do substrato à temperatura de 121

°C), considerado o mais comum em diversas produções, por se tratar de um processo mais rápido e prático.

Os substratos utilizados no cultivo são geralmente formulados à base de palhas e serragens que, além, de permitir a utilização de várias matérias – primas de origem agrícola e agroindustrial são consideradas de baixo ou nenhum valor agregado. O cultivo constitui também uma opção de renda para os agricultores que geram bastante resíduos, pois representa uma alternativa eficiente para viabilizar o aproveitamento da matéria orgânica para a bioconversão em produtos de alto valor agregado, os cogumelos. Além disso, o fato destas matérias primas serem ricas em fibras lignocelulósicas, o que a torna um substrato propício ao desenvolvimento de fungos comestíveis.

Considerando-se a grande abundância desses resíduos gerados por vários segmentos: agrícolas, agroindustriais, florestais e madeireiros, e o fato de poder utilizá-los como substrato para o cultivo de fungos comestíveis, deve-se também levar em consideração as várias espécies desses fungos existentes na natureza e a sua afinidade pelos mesmos.

A espécie *G. lucidum* apresenta linhagens distintas, estas têm exigências nutricionais que variam em relação ao local de coleta e ao tipo de substrato. Assim, torna-se necessário conhecer os substratos, e a situação de cultivo mais adequados à diferentes linhagens de *G. lucidum*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais dos cogumelos

2.1.1 Histórico dos cogumelos

Registros históricos relatam que os cogumelos comestíveis já existiam no período cretáceo, 130 milhões de anos atrás, mesmo antes do surgimento da humanidade (CHANG, 1993). No início, eram apenas colhidos nas florestas, vindo a ser tempos depois cultivados pelo homem (SUBRAMANIAN, 1995).

Há citações de que, em 372-287 a.C., o filósofo grego Theophrastus descreveu os cogumelos silvestres como um alimento de valor para o homem (SIQUEIRA, 2006). Na Grécia, serviam-nos como fortificante para os soldados que nas batalhas. Os romanos os consideravam-nos “o alimento dos deuses”, servindo-os somente em ocasiões especiais, como em cerimônias religiosas. Na China, eram considerados como o elixir da vida, devido principalmente às suas propriedades medicinais (CHANG e MILES, 1982).

Existem aproximadamente 25.000 espécies de macrofungos, porém apenas 2.000 são consideradas apropriadas para o consumo (BONONI et al., 1999). Estima-se que o primeiro cogumelo foi cultivado na Ásia, datando de 600 a.C; tratava-se da espécie *Auricularia auricula* (CHANG e MILES, 1982). Tempos depois, outras espécies passaram a ser cultivadas, como o *Lentinula edodes* (Shiitake) na China, entre 1000 d.C e 1100 d.C, *Agaricus bisporus* na França, em meados de 1600, e *Pleurotus ostreatus* nos EUA, em 1900 (CHANG, 1993).

No Brasil, a coleta e utilização dos cogumelos era uma prática comum entre os povos indígenas, porém, esse costume como a maioria dos outros, está sendo perdido com o tempo. Na década de 50, as técnicas de cultivo passaram a ser realizadas pelos imigrantes orientais, que trouxeram de seus países de origem fungos comestíveis (BONONI et al., 1999).

Quanto à coleta de *G. lucidum* na natureza, data de muitos anos atrás. Imperadores diversos ao longo de várias dinastias ordenavam aos seus

funcionários a coleta dos mesmos no alto das montanhas mais distantes. O seu valor era considerado altíssimo tanto pelas suas propriedades medicinais quanto pela sua falta de disponibilidade. Segundo relatos, qualquer pessoa que colhesse esse fungo e o entregasse à alta nobreza era muito bem recompensado (WACHTEL-GALOR et al., 2011). Mesmo na década de 50 a sua disponibilidade ainda era muito escassa. Esta condição só mudou a partir das décadas de 70 e 80, quando se deu início ao cultivo desse cogumelo principalmente na China.

Atualmente o cultivo de *G. lucidum* é realizado em mais de dez países, dos quais a China ocupa o primeiro lugar, produzindo cerca de 4300 toneladas por ano, seguido da Coreia, Taiwan, Japão, Estados Unidos, Malásia, Vietnã, Indonésia e Srilanka (RUSSEL e PATERSON, 2006). No Brasil, a EMBRAPA vem pesquisando o cultivo de cogumelos pela técnica Jun-Cao, utilizando gramíneas forrageiras brasileiras (URBEN, 2004).

2.1.2 Biologia dos cogumelos

O cogumelo é o ápice do ciclo de vida do fungo, sendo também chamado de “corpo de frutificação”, basidioma ou fruto. Durante a sua maturação, o píleo abre-se e as lamelas ficam expostas; desta forma, os esporos sexuais (haplóides) são disseminados. Os esporos germinados dão origem às hifas que, por sua vez, formam o micélio primário. A união de micélios primários compatíveis gera um micélio dicariótico que dará origem ao cogumelo (CHANG e MILES, 1984; RAJARATHNAM e BANO 1987).

As hifas liberam grandes quantidades de enzimas lignocelulolíticas como a lacase e a manganês peroxidase, capazes de degradar resíduos lignocelulósicos, que possuem como principais componentes lignina, hemicelulose e celulose. Dessa forma, moléculas menores são liberadas e absorvidas pelo micélio do fungo, podendo este se desenvolver e colonizar o substrato (MODA, 2003).

Diversos resíduos pode ser utilizados para o seu cultivo, tais como: palhas de trigo e milho, resíduo de algodão e coco, bagaço de cana-de-açúcar, serragem, etc. Porém, para que haja um desenvolvimento mais satisfatório é

recomendável adicionar suplementos a esses substratos, tais como: farelo de trigo, arroz e soja (BERNARDI et al., 2008; BONONI et al., 1999; EIRA, 2004).

2.2 *Ganoderma lucidum*

O fungo *G. lucidum* (Figura 1) é bastante conhecido na medicina tradicional chinesa, sendo utilizado há mais de 4000 anos. Os primeiros relatos datam de 221-227 anos A.C, tempo no qual eram consumidos pelo imperador chinês Shih-huang, da dinastia Ch'in (WAGNER et al., 2003). Este fungo é conhecido por “Cogumelo Rei”, “Cogumelo brilhante” ou “Cogumelo do Imperador”. Possui várias aplicações consideradas milagrosas durante séculos pelas culturas orientais, porém só foram introduzidos no ocidente há 30 anos (RIOS-CANAVATE, 2008)



Figura 1- *Ganoderma lucidum*

Desde a primeira dinastia chinesa, era considerado como uma divindade, como símbolo de longevidade e boa fortuna. Apresenta píleo em forma de “rim” com diâmetro variável e estipe que pode estar solitário ou em cachos (RAMACHARAKA, 2013).

Possui a seguinte classificação: Reino: Fungi; Divisão: Basidiomycota; Subdivisão: Basidiomycotina; Classe: Basidiomycetes; Sub-Classe: Homobasidiomycetes; Ordem: Polyporales; Família: Ganodermatacea; Gênero: *Ganoderma*; Espécie: *Ganoderma lucidum* (WASSER, 2005)

Atualmente são descritas mais de 250 espécies do gênero *Ganoderma*, contudo, a mais utilizada medicinalmente é a *G. lucidum* (WASSER, 2005). No seu habitat natural, está distribuído principalmente na Europa, Ásia e nas Américas do Norte e Sul, devido sua preferência por climas tropicais e subtropicais (WASSER, 2005).

2.3 Composição Química

O cogumelo *G. lucidum* apresenta diversos compostos com potencial farmacêuticos, tais como: terpenos, esteróides (ergosterol), saponinas, flavonoides, xantonas, cumarinas, ácido ascórbico, aminoácidos e polissacarídeos, especialmente (β -D-glucanas) (SRIVASTAVA et al., 2000). Em relação ao seu valor nutricional, é composto por altos teores de fibras dietéticas (hemicelulose e quitina), proteínas e lipídios (MIZUNO, 1995; RUBEL, 2006;). A quantidade de fibras é o que mais se sobrepõem sobre os outros compostos; compreendem principalmente hemicelulose, pectina, quitina e outros polissacarídeos. Além disso, as fibras de *G. lucidum* evitam a absorção de substâncias tóxicas pelo organismo, prevenindo contra o câncer principalmente (GAO et al., 2003). Porém deve-se ressaltar que sua composição físico-química depende muito do tipo de substrato utilizado e das condições de cultivo (MIZUNO, 2014).

2.4 Geração de resíduos

Resíduos agrícolas correspondem a subprodutos derivados da transformação de uma determinada cultura, dentre estas cita-se: palhas, bagaço, sementes, serragem e cereais. (NEE'NIGAM et al., 2009). Esses resíduos (subprodutos) podem ser utilizados de diversas formas: geração de energia (produção de etanol), fabricação de proteínas, ácidos orgânicos, fabricação de celulose e também no cultivo de cogumelos (UGWUANYI et al., 2009). Os resíduos provenientes de pastagens, também são bastante utilizados como substrato para o cultivo de fungos comestíveis. As pastagens apresentam cerca de 40 % de material que não é digerível pelos animais

(HODGSON, 2002). Com isso essa grande quantidade de resíduos gerados, causando seu acúmulo, sendo como uma ótima alternativa para aproveitamento, sua utilização como substrato de cultivo.

O cogumelo *G. lucidum* é caracteristicamente lignocelulósico, pois se desenvolve naturalmente em substratos ricos em lignina e celulose. Conseqüentemente tem afinidade por uma grande variedade de resíduos lignocelulolíticos, incluindo a palha de tifton, braquiária, feijão, aveia e as serragens como, por exemplo, a de eucalipto.

2.5 Resíduos

2.5.1 Palha de tifton (*Cynodon* spp.)

Forrageiras são plantas, geralmente gramíneas e leguminosas utilizadas para a alimentação animal. Esse alimento é disponibilizado por meio do simples plantio da forrageira em um pasto ou em um outro local para serem colhidas e servirem de alimentação. Sua escolha deve ser bastante criteriosa, visando maior produtividade de matéria seca e conteúdo de proteína bruta, com equilíbrio estacional e aceitabilidade pelos animais (GERDES et al., 2000).

Em várias partes do mundo, o gênero *Cynodon* está sendo reconhecido como recurso forrageiro valioso e de grande versatilidade para uma vasta gama de empreendimentos pecuários, pois apresenta elevada produtividade, alta digestibilidade e boa aceitação pelos animais, além de possuir uma grande capacidade de crescimento e boas características de produção (ATAÍDE JR et al., 2000.; CECATO et al.; 2001).

Outra alternativa de aplicação desses resíduos tem sido a sua utilização como substrato para o cultivo de cogumelos. Zied et al. (2009) utilizaram palha de capim tifton como substrato para o cultivo de *Agaricus blazei*, obtendo uma ótima produtividade. Da mesma forma, Andrade et al. (2008), utilizaram esta palha na produção de *Agaricus bisporus* e também obtendo resultados favoráveis.

2.5.2 Palha de braquiária

São conhecidas cerca de 90 espécies de braquiária. A sua distribuição é predominantemente em regiões de clima tropical, tendo como local de origem a África Equatorial. No Brasil, esta forrageira é conhecida desde a década de 1950, tendo sido trazidas pelos escravos, na forma de como colchão de dormir nos navios negreiros (CRISPIM e BRANCO, 2002).

As braquiárias são largamente utilizadas em pastagens na América Tropical. Constituem os capins mais plantados no Brasil, sendo utilizados nas fases de cria, recria e engorda de animais. Adaptam-se às mais variadas condições de solo e clima, ocupando espaço cada vez maior em todo o território brasileiro (80% de toda a área de pastagens cultivadas no Brasil), por proporcionar produções satisfatórias mesmo em solos com baixa e média fertilidade (CAVALCANTI-FILHO et al., 2008).

Além dessas características bastante favoráveis, a palha de brachiária é um resíduo lignocelulósico, sendo dessa forma um material propício ao desenvolvimento fúngico. Kopytowski Filho et al. (2006) e Shimidt et. al (2003) cultivaram *P. ostreatus* e *A. blazei* utilizando palha de braquiária e obtiveram produtividades satisfatórias.

2.5.3 Palha de feijão

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das culturas de elevada relevância socioeconômica para o Brasil. O País é o segundo maior produtor e consumidor mundial dessa leguminosa. Segundo dados da FAOTAST (2013), uma produção nacional foi de 2,82 milhões de toneladas no ano de 2012, ficando atrás somente da Índia que produziu 3,63 milhões de toneladas (RICHETTI et al., 2011).

Esta leguminosa é cultivada em todos os estados brasileiros. Os de maior produção são os estados do Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Bahia, os quais respondem por mais de 65% da produção nacional (BORÉM et al., 2006).

Na região Norte, o clima e as condições do solo não são muito favoráveis ao cultivo do feijoeiro comum, porém existe uma outra variedade chamada feijão-caupi, que resiste perfeitamente às condições de calor e ao tipo de solo (EMBRAPA, 2014a) . Resultante dessa grande cultura, o Brasil gera 5,25 milhões de toneladas de resíduos por ano. Esses são queimados (emissão de CO₂) ou utilizados como cobertura morta (fonte de fitopatôgenos) (DESTRO et al., 2009).

Diversos autores relatam o uso dessa matéria-prima como substrato de cultivo para vários cogumelos. Dias et al. (2003) e Figueiró e Graciolli (2011) utilizaram como base para o substrato de cultivo palha de feijão no cultivo de *P. ostreatus* e *P. sajor-caju* respectivamente, obtendo ótimos resultados.

2.5.4 Palha de aveia

A aveia é um cereal natural de clima temperado e subtropical. Sua utilização é bastante versátil, podendo ser aproveitado tanto como alimento para bovinos de corte e leite, como ração animal e principalmente na alimentação humana. É um alimento bastante nutritivo, apresentando altos teores de fibras e proteínas. Adapta-se bem a vários tipos de solo, embora não tolere baixa fertilidade, excesso de umidade e temperaturas altas. Responde muito bem à adubação, principalmente com nitrogênio e fósforo além de suportar estresse hídrico e geadas (CECCON et al., 2004; MACHADO, 2008).

A palha de aveia apresenta diversas características que a torna propícia para o desenvolvimento fúngico, tais como teores adequados de carbono e nitrogênio, além de ser uma matéria prima lignocelulósica. Alguns autores destacam a sua utilização para o cultivo de cogumelos. Andrade et. al (2008) utilizaram palha de aveia para o cultivo de *Agaricus bisporus*, obtendo um rendimento satisfatório (EB = 52,9%). Resultados semelhantes foram obtidos por Zied et al. (2009) no cultivo de *A. blazei* (EB = 36,2%).

2.5.5 Serragem de eucalipto

O eucalipto é uma árvore de origem da Indonésia. Foi introduzida no Brasil em 1904 para servir de lenha, postes e dormentes nas estradas de ferro. Na década de 50 passou a ser utilizada também na fabricação de papel e celulose (SILVA, et al., 2004).

Tanto no Brasil quanto no mundo, o eucalipto tem se tornado uma cultura importante, pois seu crescimento é rápido e se adapta a diversos ambientes e temperaturas (OLIVEIRA et al., 2008). Estima-se que dentre os 6,5 milhões de hectares de florestas plantadas no Brasil, 4,6 milhões são de árvores de eucalipto, Minas Gerais é o maior produtor, possuindo 1 300 hectares de área plantada, seguido de São Paulo que apresenta 1 029 hectares (EMBRAPA, 2014b).

Os índices de produção do eucalipto são diretamente proporcionais à geração de resíduos e mesmo com o desenvolvimento de técnicas para minimizar o acúmulo destes, há um grande desperdício no processamento (VIEIRA, 2006). Segundo Oliveira (2008) uma serraria de porte médio chega a produzir 2000 m³/mês de madeira serrada de eucalipto e gera aproximadamente 78 toneladas de serragem. Ainda que a mesma seja aproveitada como forragem e na produção de energia, o seu volume residual continua maior que a demanda (WANDER, 2001). Assim, a serragem é uma ótima alternativa para o cultivo de cogumelos, além do fato de possuir altos teores de lignina, celulose e hemicelulose que servem como fonte nutritiva para esse tipo de fungo (SEVERO et al., 2006)

Vários estudos realizados comprovam essa capacidade. Aguiar et al. (2013) e Andrade et al. (2008) obtiveram ótimos resultados na utilização da serragem de eucalipto como substrato para o desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* (Shiitake). A mesma serragem também proporcionou altos valores de eficiência biológica (72,1%) também no cultivo de *L. edodes* (MACIEL, 2013).

Na região amazônica, o cultivo de eucalipto ainda não é considerado uma atividade muito comum. Por outro lado, porém a facilidade no manejo e as questões de preservação ambiental, no que diz respeito ao uso de madeiras

oriundas de árvores nativas, vêm despertando bastante interesse dos empresários do setor madeireiro (SOUZA et al., 2004). Tendo-se assim, oferta de serragem de madeiras nativas.

2.6 Aspectos de produção de *G.lucidum*

O cultivo de cogumelos do gênero *Ganoderma* sp. é realizado mais comumente pelo método axênico, que utiliza como forma de esterilização do substrato o calor úmido sob pressão (autoclavagem). Posteriormente procede-se as seguintes etapas: preparação da matriz, semeadura, incubação e colheita (EIRA, 2004).

O cultivo axênico vem despertando cada vez mais interesse e ganhando mais espaço na produção, pois é realizado sob condições mais controladas e previsíveis, reduzindo efetivamente o tempo de produção e aumentando a produtividade do cultivo. Além disso, produz uma quantidade menor de resíduos gerados, diminuindo problemas com o seu acúmulo (ROSSI et al., 2001). Nessa técnica, o substrato pode ser acondicionado em sacos de polipropileno (PP) ou polietileno de alta densidade (PEAD), resistentes a autoclavagem a 120 °C durante 1 a 4 horas. Após o resfriamento do composto, deve ser inoculado com o micélio do fungo (EIRA, 2004; MODA, 2003).

A matriz, que pode também ser chamada de *Spawn*, é produzida através da transferência de pequenos fragmentos do micélio do fungo de interesse (cultivadas anteriormente em meio de cultura), para frascos contendo grãos e/ou fibras cozidos ou serragem, devidamente esterilizados a 121 °C. Esses frascos já inoculados são vedados e incubados geralmente a uma temperatura de 25 °C até a total colonização dos fungos pelo substrato. A miceliação ocorre em um período de 20 a 30 dias (BONONI et al., 1999).

A matriz (*Spawn*), anteriormente preparada é então inoculada no substrato, que logo em seguida deve ser colocado em uma estufa para incubação sob condições controladas. Nesse período, o micélio inicia sua colonização pelo substrato, recebendo essa fase o nome de corrida do micélio (BONONI et al., 1999).

Após o cultivo dos cogumelos, o principal parâmetro utilizado para avaliar a produção de cogumelos é chamado Eficiência Biológica (EB). Depende principalmente das características do material e das circunstâncias em que o processo ocorre.

Várias metodologias de cultivo do *G. lucidum* são relatadas na literatura. Erkel (2009) utilizou como substrato para o cultivo de *G. lucidum* serragem de álamo (árvore europeia utilizada na indústria de papel) suplementado com glúten e melão de cana. Aysun e Gokcen (2009) cultivaram *G. Lucidum* em substratos a base de serragem suplementados com resíduos de chá verde. Veena et al. (2012) utilizaram serragem suplementada com farelo de arroz, obtendo altos índices de EB. Yang et. al (2003) utilizaram substratos à base serragem suplementado com grãos de vinhaça, obtendo resultados de produtividade bastante satisfatórios.

Gonzalez-Matute et al. (2002), ao utilizarem como substrato para o cultivo semente de girassol suplementado com malte, também apresentaram bons resultados. No Brasil, as informações sobre a produção do basidioma de *G. lucidum* não são muito estabelecidas. Evidentemente, existem ainda poucos relatos disponíveis no que diz respeito ao cultivo desse fungo. Com isso, fazem-se necessárias pesquisas que adaptem as tecnologias de produção ao clima e as condições de cultivo das regiões brasileiras.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a produção de duas linhagens de *Ganoderma lucidum* em resíduos agrícolas.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar o comportamento das duas linhagens em relação aos substratos de cultivo.
- Realizar a caracterização físico-química dos basidiomas obtidos no cultivo, bem como os substratos inicial e residual.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas instalações do Módulo de Cogumelos da FCA/UNESP-Botucatu, SP, Departamento de Proteção Vegetal, em câmara climatizada Dalsem Mushroom (container tipo “Reefer” com dimensões de 12 m e de comprimento x 2,25 de altura e 2 m de largura).

4.1 Linhagens

As linhagens de *G. lucidum* utilizadas no experimento foram GLM-09/01 e GLM 10/02, as quais se encontram preservadas em óleo mineral no banco de matrizes do Módulo de Cogumelos, Departamento de Proteção Vegetal – FCA/UNESP, Botucatu, SP.

4.2 Resíduos utilizados

Os resíduos utilizados no experimento foram: palha de aveia, palha de feijão, palha de capim braquiária, palha de capim tifton e serragem de eucalipto, sendo este último considerado como testemunha, pois segundo diversos trabalhos observados na literatura, constitui um resíduo pelo qual os cogumelos apresentam bastante afinidade. Todos os resíduos foram provenientes de despejos da atividade agrícola decorrente do município de Botucatu-SP. Os resíduos foram secos à temperatura ambiente e posteriormente armazenados em sacos de ráfia até a sua utilização.

4.3 Preparo do inóculo “Spawn”

4.3.1 Substrato de crescimento do Spawn

O substrato de crescimento do Spawn foi preparado à base de grãos de sorgo. Inicialmente, os grãos foram cozidos por 40 minutos em água fervente. Posteriormente, deixou-se em repouso por 40 minutos para o escoamento do excesso de água. A seguir, adicionou-se 20 g kg⁻¹ de calcário calcítico e 160 g kg⁻¹ de gesso em relação ao peso úmido dos grãos cozidos. A homogeneização do foi feita em betoneira de construção (capacidade 420 L).

4.3.2 Inoculação e incubação

Transferiram-se 250 g de substrato para sacos PEAD (polietileno de alta densidade) com capacidade de 500g, posteriormente, dividiu-se a matriz secundária das duas linhagens de *G. lucidum* (GLM 10/02 e GLM 09/01) crescidas em placa de Petri com meio BDA (batata dextrose ágar), em 8 fragmentos de tamanhos iguais, de forma triangular. Cada pacote recebeu um fragmento de inóculo. Os sacos foram selados em seladora à quente e incubados a 25 °C até que fossem totalmente colonizados pelos fungos.

4.4 Substrato de cultivo

Os substratos foram preparados de acordo com formulações descritas na tabela 1. Cada resíduo foi inserido em uma betoneira para construção, juntamente com calcário calcítico, com ou sem farelo de trigo. Em seguida, adicionou-se água até atingir-se 65% de umidade. A mistura foi homogeneizada até adquirir uniformidade (Figura 2).

Tabela 1. Tratamentos utilizados para avaliar produção de *Ganoderma lucidum* em substratos à base resíduos agrícolas, com ou sem suplementação com farelo de trigo (proporção em base de massa seca).

Linhagens		Substratos	
		T	Palha de tifton
		Ts	Palha de tifton 20% de farelo de trigo
		B	Palha de braquiária
GLM10/02	GLM09/01	Bs	Palha de braquiária 20% de farelo de trigo
		A	Palha de aveia
		As	Palha de aveia 20% de farelo de trigo
		PF	Palha de feijão
		PFs	Palha de feijão 20% de farelo de trigo
		Eu	Serragem de eucalipto
		Eus	Serragem de eucalipto 20% de farelo de trigo

Posteriormente, 1Kg da mistura foi adicionado em sacos de polietileno de alta densidade (PEAD). Os sacos devidamente identificados foram selados em seladora à quente e esterilizados em autoclave a 121 °C durante 60 minutos (Figura 3).

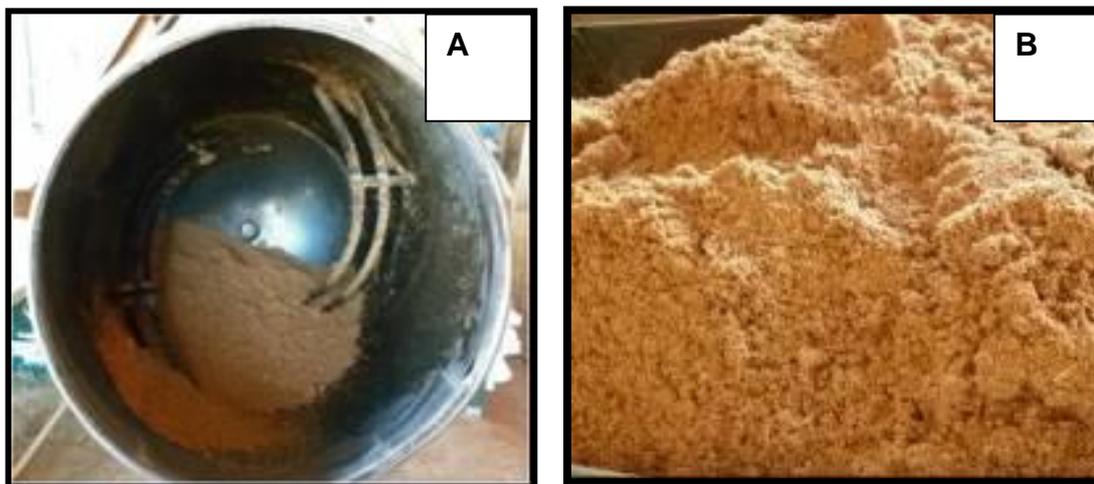


Figura 2. Preparo dos substratos: A- Mistura em betoneira; B - Substrato homogeneizado.



Figura 3. Acondicionamento dos substratos: A- Adição em sacos do tipo PEAD (polietileno de alta densidade); B – Fechamento dos sacos em seladora a quente; C – Autoclavagem.

4.5 Inoculação

Após a esterilização, os sacos foram levados para a sala de inoculação, onde foram mantidos à temperatura ambiente e em seguida de acordo com os tratamentos foram inoculados com as suas respectivas linhagens. Para isso, foi feito corte nas lateral superior de cada saco com uma tesoura esterilizada com álcool e na chama do bico de Bunsen a cada corte. Nesta abertura, foram inseridos 12 g do inoculo “Spawn” anteriormente preparado (Figura 4 A e B).

4.6 Incubação, produção e colheita.

Os sacos foram selados à quente e identificados. Posteriormente, foram distribuídos ao acaso em uma sala para incubação, com temperatura ajustada a 25 °C e umidade de 75%, até a total colonização do substrato.

No momento em que os substratos foram totalmente colonizados pelo fungo, o que equivaleu há 30 dias após a incubação os mesmos foram levados e distribuídos ao acaso em câmara climatizada Dalsem Mushroom, onde permaneceram até o final do ciclo de cultivo, sendo mantidas a mesma temperatura e umidade utilizadas na incubação anterior (Figura 4, C e D).

Após 85 dias de incubação, os primórdios começaram a surgir, e dez dias depois foram iniciadas as primeiras colheitas. Os cogumelos adultos foram colhidos manualmente no estágio precedente à esporulação (Figura 4, E e F). Em seguida foi realizada uma limpeza no estipe para a retirada de eventuais resíduos de substrato.

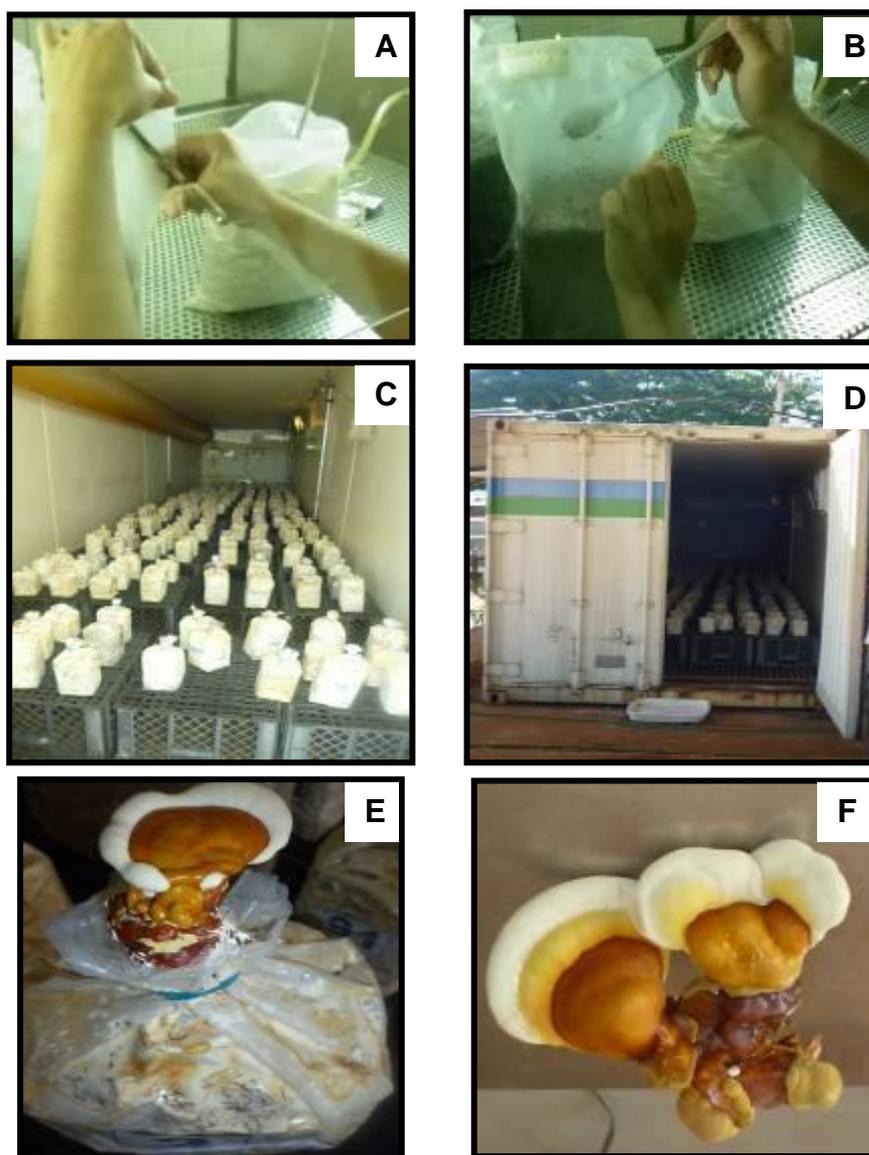


Figura 4. Inoculação, incubação e colheita: A – Corte da lateral do saco para a inoculação do *Spawn*; B - Inoculação; C – Incubadora Dalsem com as unidades experimentais distribuídas ao acaso; D – Vista externa da incubadora Dalsem; E e F - *Ganoderma lucidum* em ponto de colheita.

4.7 Processamento dos basidiomas

4.7.1 Desidratação dos basidiomas

Os cogumelos foram colocados em papel alumínio e desidratados em uma estufa com ventilação forçada e temperatura ajustada para 40 °C, até atingir peso constante. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em

sacos de polietileno de alta densidade (PEAD), devidamente identificados conforme cada tratamento.

4.7.2 Moagem

A moagem foi realizada em moinho de facas com peneira 30 mesh. Posteriormente as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos até devidamente lacrados e identificados até serem utilizadas nas análises posteriores.

4.8 Variáveis analisadas

4.8.1 Produtividade

A produtividade foi expressa através da eficiência biológica (EB) que representa o percentual de conversão de substrato em biomassa fúngica (cogumelos), de acordo com a equação abaixo:

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

4.8.2 Perda da matéria orgânica (PMO) do substrato

A perda de matéria orgânica (PMO) do substrato parâmetro que avalia a decomposição deste pelo fungo, foi determinada através da fórmula:

$$PMO (\%) = \frac{\text{massa seca do substrato inicial (g)} - \text{residual (g)}}{\text{massa seca do substrato inicial (g)}} \times 100$$

4.8.3 Caracterização físico - química dos substratos e dos basidiomas

As amostras moídas, tanto dos substratos (inicial e residual) quanto dos cogumelos, foram encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/UNESP, Botucatu, SP, para

análise de proteína bruta, cinzas, lipídios e fibra bruta segundo metodologia proposta por Silva e Queiroz (2002).

4.8.4 Proteína bruta

A determinação do conteúdo de proteína bruta presente, tanto no substrato inicial, residual e nos basidiomas, foi feita multiplicando o valor do nitrogênio total pelo fator de conversão, que converte o nitrogênio total em proteína. Esse fator varia de acordo com a amostra analisada. Para a matéria prima em geral (de origem animal ou vegetal), utiliza-se o fator de conversão 6,25. Já para amostras de cogumelos, utiliza-se o fator de conversão 4,38.

A determinação do nitrogênio total foi realizada conforme recomendação da AOAC (1997). Inicialmente, pesou-se 0,1 a 0,2 gramas da amostra moída e seca em tubo de digestão de 300mL (25 x 250 mm). Após, adicionou-se uma medida padronizada de mistura catalizadora (composta de 100g de sulfato de potássio, 10g de sulfato de cobre) e 3mL de ácido sulfúrico concentrado - P.A. Em seguida, as amostras foram levadas a um bloco digestor, inicialmente ajustado a uma temperatura de 250 °C, sendo a mesma elevada gradativamente até atingir 400 °C. O extrato ficou pronto quando adquiriu coloração verde, então os tubos de destilação foram retirados do digestor. Após o resfriamento do extrato, foi transferido água para o tubo, o qual, por sua vez, foi colocado em um destilador manual, cuja extremidade de saída ficou mergulhada em ácido bórico. Quando o volume de destilado atingiu 50mL, o aquecimento foi desligado e o Erlenmeyer e os tubos de digestão foram retirados. Após, o Erlenmeyer contendo a solução foi levada para titular com ácido sulfúrico (0,05 N). A titulação ocorreu até verificar visualmente a mudança de cor, quando então foi anotado o volume de ácido utilizado.

Os cálculos efetuados para a determinação da proteína bruta foram:

$$N(\%) = \frac{[(14 \times 0,05 \times 100)]}{100} \times (\text{Vol. H}_2\text{SO}_4 - \text{Vol. branco})$$

$$PB (\%) = N(\%) \times \text{Fator de conversão}$$

Em que:

%N= Porcentagem de nitrogênio

14 = Equivalente do nitrogênio

0,05= Normalidade do ácido sulfúrico

Vol. H₂SO₄= Volume de ácido consumido até o ponto de viragem

Vol.branco= Volume de ácido consumido até o ponto de viragem do branco.

%PB Porcentagem de proteína bruta

Fator de conversão = 6,25 (matéria prima em geral – de origem animal ou vegetal)

4,38 (amostra de cogumelos)

4.8.5 Lipídios

Para a determinação dos teores de lipídios presentes na amostra, primeiramente 0,5 a 1,0g da amostra foram pesadas em papel filtro, e inseridas em um cartucho de tamanho compatível com o receptor de amostra do aparelho extrator. Os cartuchos foram inseridos nos tubos de vidro previamente pesados e levados ao receptor do aparelho. Em seguida, foi adicionado éter petróleo nos tubos em uma quantidade suficiente para cobrir todo o cartucho. O aparelho foi então ligado e ficou em funcionamento durante 4 a 6 horas. Após esse período as amostras, juntamente com os cartuchos, foram retiradas e os tubos com o éter foram levados a uma estufa ajustada para 105 °C durante 30 minutos, ou até a sua completa secagem. Posteriormente os mesmos foram inseridos em um dessecador e após o resfriamento foi feita a pesagem de cada um dos tubos. O valor de lipídios foi dado pela seguinte fórmula:

$$\text{Lipídios (\%)} = \frac{(M3 - M2)}{M1} \times 100$$

No qual:

M1 = Massa da amostra inicial (g)

M2 = Massa do tubo vazio (g)

M3 = Massa do tubo + massa da amostra processada (g)

4.8.6 Cinzas

Para a determinação de cinzas, foram utilizados cadinhos de porcelana previamente secos em mufla a 400 °C e armazenados em dessecador até o seu resfriamento à temperatura ambiente. Os mesmos foram pesados e neles foram inseridos 1 a 2g da amostra. Os cadinhos foram levados a um forno tipo mufla ajustado para 600° C, durante 3 horas. Após a calcinação, os cadinhos foram retirados da mufla e transferidos para um dessecador até esfriarem. Em seguida foi feita a pesagem de cada um dos cadinhos, sendo os valores de cinza determinados através da fórmula:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{(M3 - M1)}{M2} \times 100$$

M1= Massa do cadinho vazio (g)

M2 = Massa da amostra inicial(g)

M3 = Massa do cadinho + amostra incinerada (g)

4.8.7 Fibra bruta

Para a realização da análise, pesou-se 0,5 a 1,0g da amostra, nas embalagens previamente preparadas. Posteriormente, as mesmas foram seladas em seladora de mesa e submetidas a uma solução fervente de ácido sulfúrico 1,25% por 40 minutos. As embalagens foram então lavadas duas vezes, com água destilada fervente, por cinco minutos e submetidas a uma solução fervente de hidróxido de sódio 1,25% durante 40 minutos. A seguir, foi realizada uma lavagem com álcool absoluto durante cinco minutos, seguido de

secagem em estufa de circulação forçada ajustada para 105 °C, durante seis horas. A porcentagem de fibra bruta foi obtida com a equação abaixo:

$$\text{Fibra bruta (\%)} = \frac{(M3 - M1)}{M2} \times 100$$

M1= Massa saquinho (g)

M2 = Massa da amostra inicial (g)

M3 = Massa do saquinho + amostra digerida (g)

4.8.8 Relação C/N

As amostras do substrato inicial e residual foram encaminhadas ao Laboratório de Fertilizantes e Corretivos da FCA/UNESP, Botucatu-SP, para as análises de C, N e C/N de acordo com o método de Lanarv (1988).

4.9 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 X 10, equivalente a duas linhagens de *G. lucidum* e 10 tipos de substratos. Todos os tratamentos foram realizados em 10 repetições, totalizando 200 sacos.

Os dados dos experimentos foram submetidos à análise de variância ANOVA, utilizando o programa estatístico SISVAR 4.2 desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras, MG (UFLA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Eficiência Biológica

A eficiência biológica é um parâmetro utilizado para mensurar a produtividade de um substrato no cultivo de cogumelos. Após 90 dias de cultivo, foi possível estimar esses valores que foram expressos em porcentagem. De acordo com os dados obtidos na produção de duas linhagens de *G. lucidum*, pode-se observar que os valores de EB (%) variaram de 0,0% a 6,7% e que os melhores resultados foram obtidos nos substratos T (EB – 5,5 %) nas duas linhagens, Ts em ambas as linhagens (GLM-09/01 – EB 5,6% e GLM 10/02 – EB 6,2%), e PFs (Figura 5) , nesse caso apenas para a linhagem GLM 10/02 (EB - 6,7 %). Em todos os tratamentos não se observaram diferenças significativas entre as duas linhagens, com exceção do tratamento PFs em que a EB da linhagem GLM 10/02 foi maior do que a da linhagem GLM 09/01.

Resultados próximos aos maiores valores obtidos no experimento foram obtidos por Gonzalez-Matute et al. (2002) que, ao utilizarem semente de girassol suplementada com 2,5 % de extrato de malte como substrato para o cultivo de *G. lucidum* obtiveram eficiência biológica de 7,6%. No mesmo experimento, os autores ao utilizarem também os substratos: Semente de Girassol (100%); Semente de girassol + 5% de malte; Semente de girassol + 2,5% de farelo de trigo; Semente de girassol + 5% de malte. Para esses últimos, os autores obtiveram maiores valores de EB, ou seja, 8,8 %, 9,9%, 8,6% e 10% respectivamente. Gurung et al. (2012) também registraram valores próximos de ao do experimento (EB = 7,81%) quando utilizaram no serragem de *Alnus nepalensis* sem suplementação.

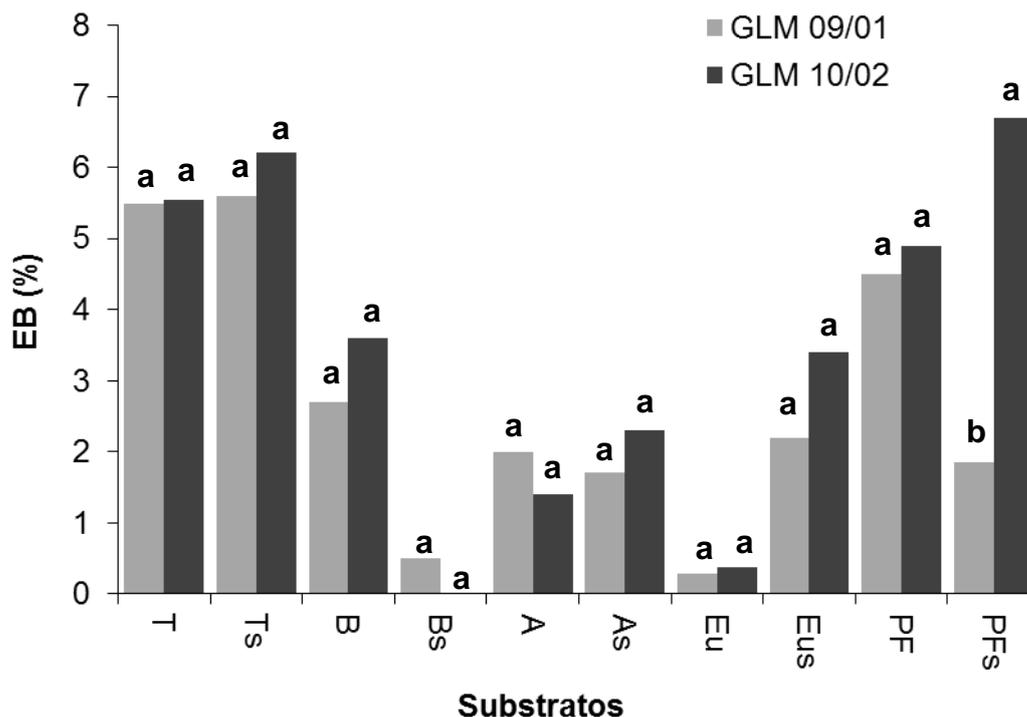


Figura 5. Eficiência Biológica, %, das linhagens GLM-09/01 e GLM 10/02 de *Ganoderma lucidum*, cultivadas em substratos à base de resíduos agrícolas.

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de dez repetições). CV(%) - 58,89.

Porcentagens superiores ao do referido experimento foram observados por Erkel (2009), ao utilizar como substrato para o cultivo de *G. lucidum* serragem de álamo (árvore europeia utilizada na indústria de papel) suplementado com glúten e melaço de cana nas proporções 1, 2 e 3%. Os maiores resultados de EB verificados nos tratamentos serragem + melaço de cana 1% (EB 20,3%) seguido do tratamento serragem + glúten 1% (EB 19%). Os tratamentos com maiores níveis de suplementação (2 e 3%) resultaram em menores valores de EB (%), demonstrando que a suplementação ideal foi de 1% para ambos os suplementos. Por outro lado, Aysun e Gokcen (2009) ao utilizarem substratos à base de serragem suplementados com resíduos de chá verde nas proporções (75:25, 80:20, 85:15, e 90:10) para o cultivo de *G.*

lucidum, obtiveram maiores resultados de EB quando usaram maiores doses de suplementação, ou seja, nas proporções 80:20 (EB 34,90%) e 75:25 (EB 31%).

Triratana et al. (1991), ao utilizarem para o cultivo de *G. lucidum*, serragem de seringueira (*Hevea brasiliensis*) suplementada com farelo de arroz obtiveram eficiência biológica de 17%. Dados semelhantes foram observados por Veena et al. (2006), que utilizaram serragem suplementada com farelo de arroz na proporção 9:1 no cultivo de *G. lucidum*, obtendo índices de EB equivalentes a 20%.

Rolim et al. (2014) obtiveram resultados ainda mais superiores para a EB (72%) ao cultivarem *G. lucidum* em substrato à base de capim elefante + serragem de mangueira, suplementado com 10% de farelo de trigo e 10% de bagaço de cana-de-açúcar. Porcentagens próximas ao menor resultado obtido no experimento nos tratamentos Bs (GLM 09/01 – 0,5% e GLM 10/02 – 0,0%) e Eu sem suplementação (GLM 09/01 – 0,3% e GLM 10/02 – 0,4 %) foram alcançadas por Gurung et al. (2012) que ao cultivarem o *G. lucidum* em substrato à base serragem de sal (*Shorea robusta*) suplementado com 10% de farelo de trigo e serragem de sal + 10% de farelo de arroz obtiveram EB de 0,0% e 0,81% respectivamente. Os autores, também obtiveram 0% de EB ao utilizarem serragem de mangueira suplementada com 20% de farelo de trigo.

Os dados de eficiência biológica obtidos no experimento foram inferiores em relação à maioria observada na literatura. Provavelmente pode-se associar este fato aos tipos e doses de fontes nitrogenadas presentes no substrato (Tabela 2). Segundo Hsieh e Yang (2004), a espécie *G. lucidum* requer para um crescimento uma relação C/N em torno de 70:1 a 80:1. No presente experimento, a relação C/N média foi de 53/1.

Os substratos à base de serragem de eucalipto sem suplementação e palha de braquiária com 20% de suplementação foram os que resultaram em menores valores de EB (%) (Figura 7). A relação C/N inicial destes substratos 121/1 e 35/1 respectivamente) estava acima e também muito abaixo do ótimo apresentado por Hsieh e Yang (2004).

Tabela 2 – Teores médios de C e N, relação C:N e pH dos substratos iniciais (matéria prima com suplementação de farelo de trigo).

Tratamentos	C (%)	N (%)	C:N	pH
T	17,52	0,50	35/1	6,5
Ts	19,93	0,60	34/1	5,8
B	19,22	0,47	41/1	7,1
Bs	20,50	0,59	35/1	6,3
A	18,64	0,30	63/1	6,8
As	19,49	0,42	48/1	5,7
Eu	21,77	0,18	121/1	3,5
Eus	19,83	0,35	58/1	4,4
PF	20,10	0,47	43/1	6,9
PFs	20,32	0,44	47/1	6,9

T= palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. CV(%) - 58,89.

Nos substratos Eu e Eus de menor eficiência biológica, observou-se um meio ácido de 3,5 e 4,4 respectivamente, inadequados para o cultivo de *G. lucidum*. Este fungo requer pH ótimo de 5,0 a 6,9 (Nawawi e Ho, 1990, Gurung et al., 2012, Kamra e Bhatt 2013)

5.2 Perda da matéria orgânica (PMO)

A perda da matéria orgânica é decorrente da decomposição do substrato em função do metabolismo do fungo (Sales-Campos, 2008). O resultado dessa análise, após os 95 dias de cultivo, pode ser observado na Figura 6.

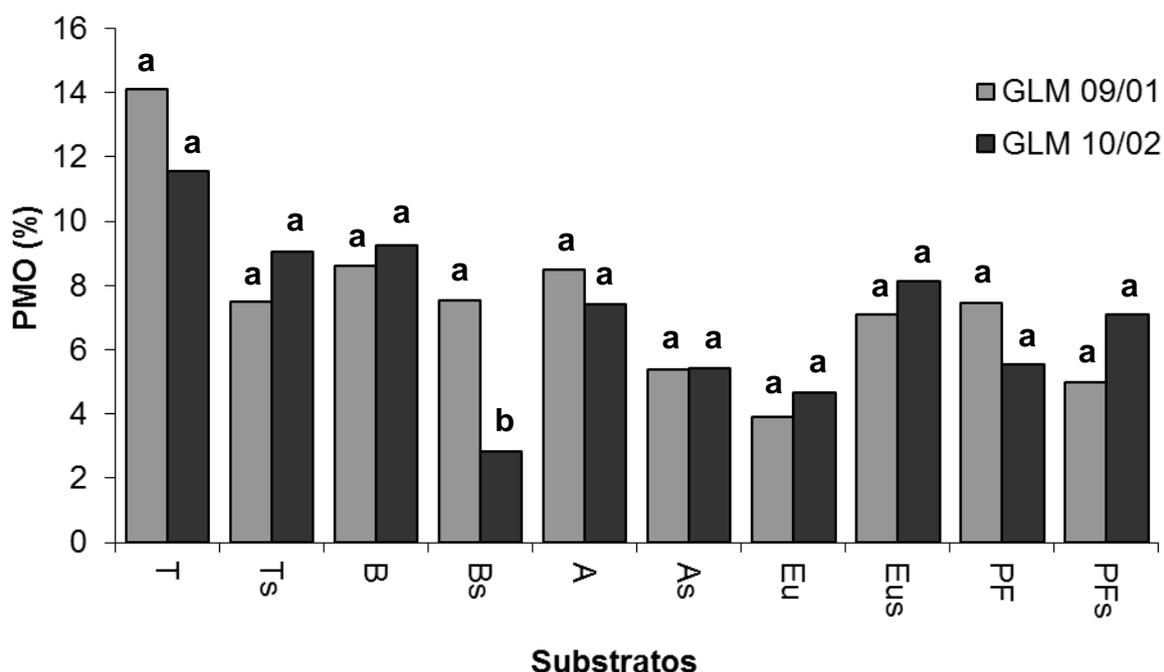


Figura 6. Perda da matéria orgânica, %, dos substratos à base de resíduos agrícolas cultivados com as linhagens GLM-09/01 e GLM 10/02 de *Ganoderma lucidum*. T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de dez repetições). CV(%) = 52,62.

Os resultados para a linhagem GLM 10/02 variaram de 2,8% a 11,5%, e para a linhagem GLM-09/01 variaram de 3,9% a 14,1% e as maiores porcentagens foram obtidas pelo substrato T (GLM 10/02 – 11,5% e GLM-09/01 – 14,5%), em ambas as linhagens testadas.

Resultados superiores aos obtidos no experimento os quais variaram de 59,91 a 71,83 % foram obtidos por Sales-Campos et al. (2010), utilizando resíduos madeireiros e agroindustriais. Outro resultado com maiores valores de PMO (38,7%) foi obtido por Ruegger et al. (2001) ao cultivarem *Oudemansiella canarii* em compostos à base de bagaço de cana-de-açúcar. Neste caso, a maior PMO esteve relacionada à eficiência biológica. Carvalho et al. (2012) também obtiveram valores de PMO superiores, de 56,3% a 78,6% ao cultivarem *P. ostreatus* em resíduos de bananeira, os autores relatam que a PMO (%) também não esteve relacionada à eficiência biológica, pois os substratos que apresentaram maior produtividade não foram os de maior PMO.

Comparando a PMO (%) (Figura 6) com a eficiência biológica (Figura 5), observa-se que na maioria dos tratamentos, não houve relação entre essas duas variáveis. Geralmente, não se devem utilizar os valores de PMO como um parâmetro correlacionado com a EB (%), pois segundo Zadrazil (1982), uma taxa elevada de PMO não é sempre correlacionada com um aumento da eficácia biológica porque a mesma ocorre devido às perdas de carbono na liberação de CO₂ durante o metabolismo do fungo e não apenas para a formação dos basidiomas.

5.3 Caracterização físico - química dos substratos inicial e após a colonização por duas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02).

Nas Tabelas 3 e 4, tem-se os valores de F obtidos na análise de variância dos resultados de proteína total, lipídios, cinzas e fibra bruta, dos substratos utilizados antes e após o cultivo de *G. lucidum* GLM 10/02 e GLM-09/01) em resíduos agrícolas.

Tabela 3. Valores de F resultantes da análise de variância de proteína bruta, lipídios, cinzas e fibra bruta dos substratos a base de Palha de Capim tifton, Palha de braquiária, Palha de Feijão e Serragem de Eucalipto, suplementados ou não com 20% de farelo de trigo, antes de serem utilizados no cultivo de duas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02).

Fator de variação	Proteína (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Fibra bruta (%)
Substratos	90,68**	217,13**	390,82**	13,21**
CV(%)	5,61	1,45	2,77	14,83

**Significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

Tabela 4. Valores de F resultantes da análise de variância de proteína bruta, lipídios, cinzas e fibra bruta dos substratos a base de Palha de Capim tifton, Palha de braquiária, Palha de Feijão e Serragem de Eucalipto, suplementados ou não com 20% de farelo de trigo após 95 dias de cultivo de duas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02).

Fator de variação	Proteína (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Fibra bruta (%)
Substratos	1.295,20**	118,54**	420,73**	3.617,48**
Linhagens	0,00 ^{ns}	80,86**	4,31 ^{ns}	130,45**
S x L	53,15**	62,35**	22,19**	81,86**
CV(%)	2,39	4,41	2,81	1,19

**Significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

5.3.1 Proteína Bruta

Na Figura 7, observam-se os resultados das análises de proteína bruta no substrato inicial variaram de 1,0% a 9,2%. Os maiores teores foram observados no substrato Ts (9,2%), os menores valores foram encontrados no substrato Eu (1,09%).

Os substratos T (7,5%), B (6,9%), Bs (7,14%), As (7 %) e PFs (7,8%) não apresentaram diferenças significativas entre si.

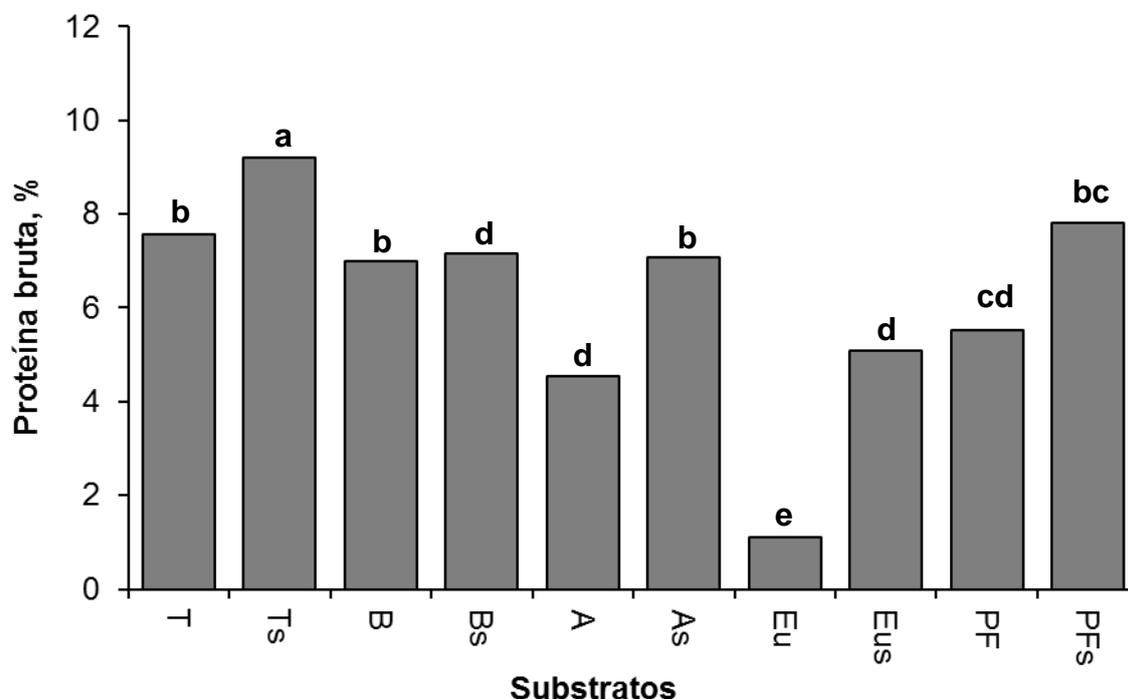


Figura 7. Proteína Bruta, %, presente no substrato inicial, antes de sua colonização pelas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM 10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%)= 5,6.

Na Figura 8, observam-se os resultados de proteína bruta obtidos no substrato residual em relação ao comportamento das duas linhagens de *G. lucidum* em cada substrato.

Os resultados para a linhagem 09/01 variaram de 0,7% a 11,2% e para a linhagem 10/02 de 0,8% a 11,6%. No substrato T (9,9%), A e As (– 4,9% e 8,8% respectivamente) e PFs (8,8%) os maiores teores de proteínas foram observados após sua colonização pela linhagem GLM 10/02, já nos substratos

B e Bs (7,7%), PF (6,1%) e Eus (5,4%) os que obtiveram maiores teores de proteínas foram os colonizados pela linhagem GLM (09/01).

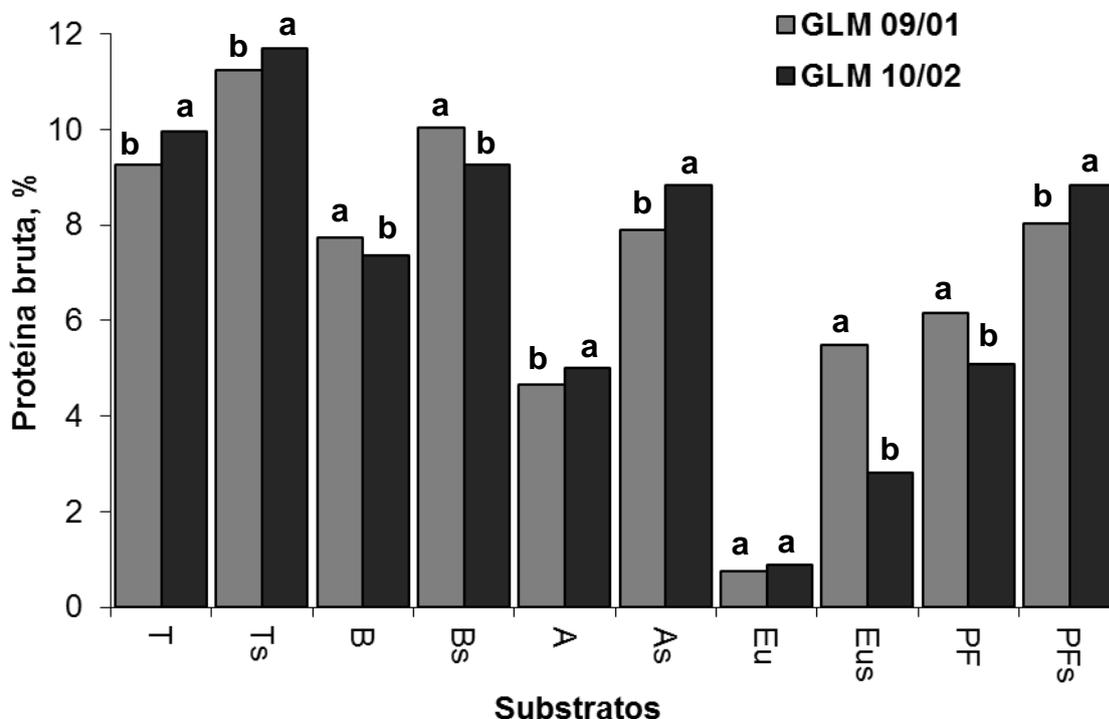


Figura 8. Proteína Bruta, %, presente no substrato residual, após o cultivo das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM 10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV(5) 2,39.

Comparando os teores de proteínas entre os substratos inicial e residual, observou-se que houve um acréscimo na sua quantidade no substrato residual, com exceção do substrato a base de Eu em ambas as linhagens e Eus colonizado pela linhagem GLM 10/02 que apresentou um leve decréscimo em relação ao substrato inicial. O mesmo foi relatado por Misra et al (2007), que ao realizarem a incubação de *G. lucidum* por 14 dias observaram um acréscimo no valores de proteínas (de 3,9% para 4,5%). Situação semelhante foi observada por Belewu ; Belewu (2005) que, ao analisarem o substrato antes e

após o cultivo de *Volvariella volvaceae* em folhas de bananeira, obtiveram um aumento significativo nos valores de proteína (de 7,08 para 10,26%) no substrato tratado com o fungo. Os autores associam o aumento ao fato de que durante a solubilização e a degradação do substrato os fungos acabam liberando proteínas do seu próprio metabolismo que conseqüentemente misturam-se ao meio.

Motato et al. (2006) também observaram, um acréscimo na quantidade de proteínas (de 1,2 para 5,1%) em substratos à base de folhas de bananeira e serragem de Jequitibá após o cultivo de *P. djamor*. Conforme os autores ocorreu um processo de biotransformação no qual as fibras presentes no substrato, que por sinal sofreram uma redução considerável (de 92% para 67%), transformaram-se em proteína. Wang et al. (2001) utilizaram grãos provenientes do processamento da cerveja no cultivo de *P. ostreatus* e obtiveram resultados semelhantes aos demais autores, com um acréscimo de proteínas no substrato após o cultivo (de 19,2 para 22,8%).

5.3.2 Lipídios

Os valores de lipídios no substrato antes de sua colonização pelos fungos podem ser observados na Figura 9, os valores variaram de 1,3% a 5,3%, onde o substrato que apresentou maior resultado foi palha de braquiária não suplementada (B – 5,3%). O mesmo não diferindo significativamente do substrato composto de palha de braquiária suplementada com 20% de farelo de trigo (B + 20% - 5,0%) e palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo (A + 20% - 4,9%).

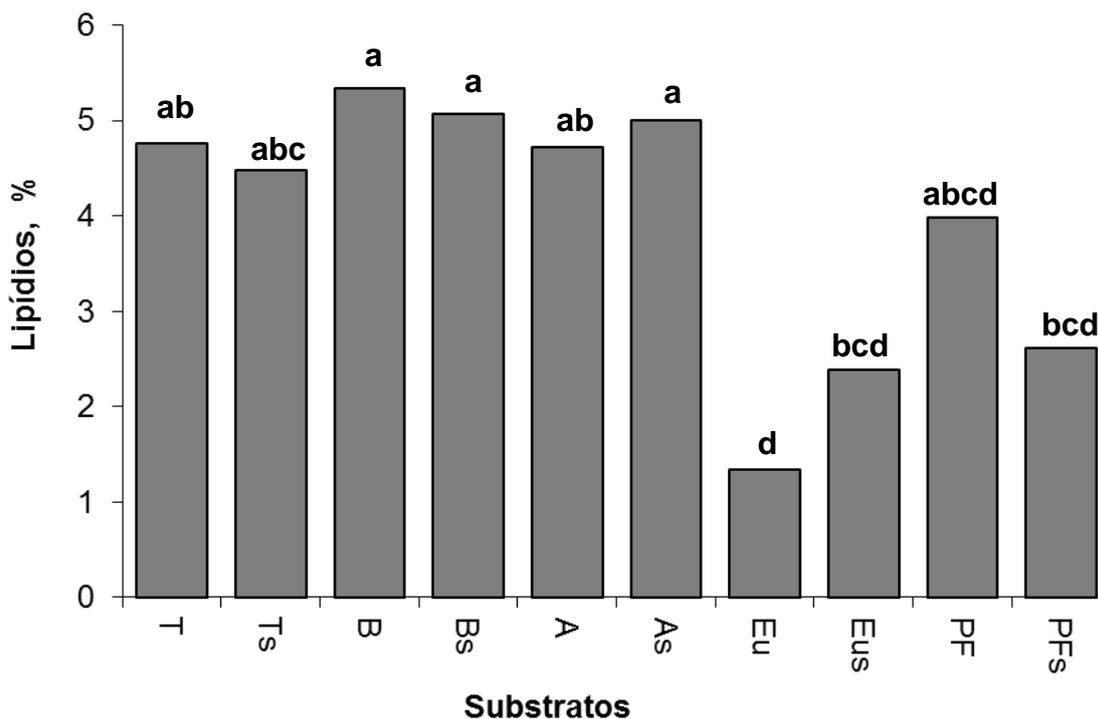


Figura 9. Lipídios, %, presentes no substrato inicial, antes de sua colonização pelas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%) = 2,39.

Em relação à porcentagem de lipídios apresentada no substrato residual após o cultivo das linhagens GLM-09/01 e GLM 10/02 (Figura 9), observou-se que os valores variaram de 1,17% a 5,2% (GLM 10/02) e de 3,0% a 4,8% (GLM-09/01), o substrato à base de palha de braquiária suplementado com 20% de farelo de trigo apresentou maiores concentrações da molécula em ambas as linhagens (5,2% - GLM 10/02, 4,8% - GLM-09/01). Observaram-se diferenças significativas entre as linhagens nos substratos palha de braquiária com 20% de farelo de trigo (Bs), palha de aveia não suplementada (A) e com 20% de farelo de trigo (As), serragem de eucalipto (Eus) e palha de feijão (PFs), ambos com 20% de suplementação.

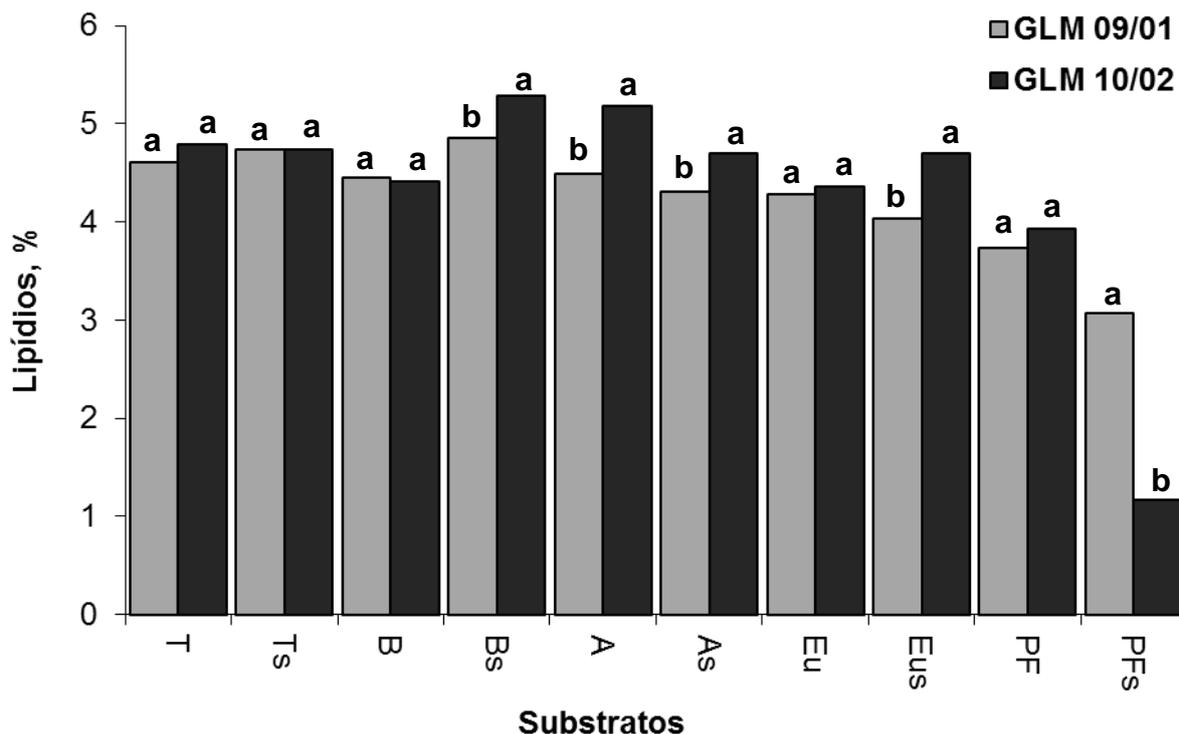


Figura 10. Lipídios, %, presentes no substrato residual, após o cultivo das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM 10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%) = 1,45.

Analisando o substrato residual (Figura 10) em relação ao inicial, observou-se que nos tratamentos: T, Ts, Bs (GLM 10/02), A (GLM 10/02), Eu, Eus, PF, PFs (GLM-09/01) apresentaram um acréscimo nos teores de lipídios em relação ao substrato inicial. Sugere-se que o acréscimo na quantidade de lipídios deve-se ao fato de que como a eficiência biológica foi relativamente baixa em relação aos outros cultivos observados na literatura, houve uma grande quantidade de micélio no substrato residual, dessa forma, sendo detectado nas análises não somente o substrato exaurido, mas o conteúdo fúngico que não chegou à sua fase adulta (cogumelo).

Em outros trabalhos observou-se o contrário, no caso o decréscimo na porcentagem de lipídios, os mesmos, utilizaram diversos resíduos lignocelulósicos no cultivo de cogumelos comestíveis (BELEWU e BELEWU,

2005; CARVALHO, 2010; MOTATO et al., 2006; SALES-CAMPOS, 2008; SILVA, et al., 2002; STURION, 1997).

5.3.3 Cinzas

Os valores de cinzas para o substrato residual variaram de 3,2 % a 15,1%, como observado na Figura 11, os maiores teores de cinzas foram obtidos nos substratos à base de palha de braquiária (B = 15,1%).

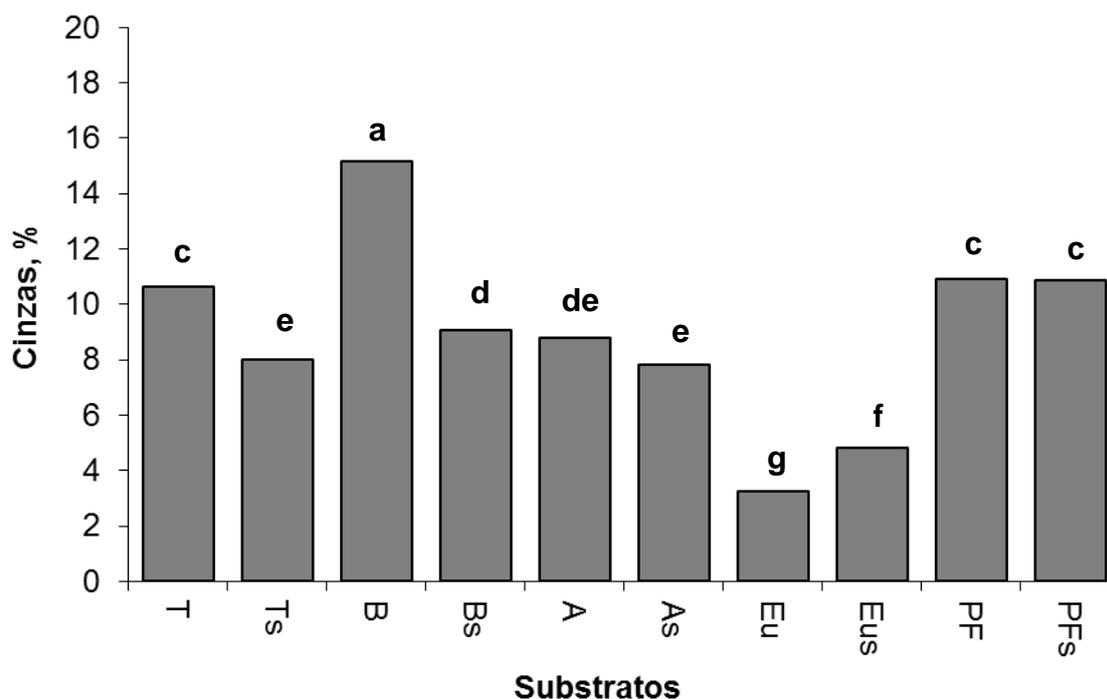


Figura 11. Cinzas, %, presente no substrato inicial, antes da sua colonização pelas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%) = 4,41.

Na comparação entre os substratos colonizados pelas linhagens de *G. lucidum* em relação às concentrações de fibras (Figura 12), observa-se que na linhagem GLM-10/02 os resultados variaram de 5,93% a 17,1%. Já na linhagem GLM-09/01 a variação foi de 5,7% a 18,2%, nos compostos preparados à base de palha de tifton (T) – 16,4% e palha de braquiária (B) - 18,2% foram obtidos maiores teores de cinzas após a sua colonização pela linhagem GLM – 09/01, já nos a base de palha de aveia (A) 15,2% e serragem de eucalipto (20%) 9,0% o maiores valores de cinzas foram obtidos após sua colonização pela linhagem GLM 10/02, os demais substratos não diferiram significativamente entre si.

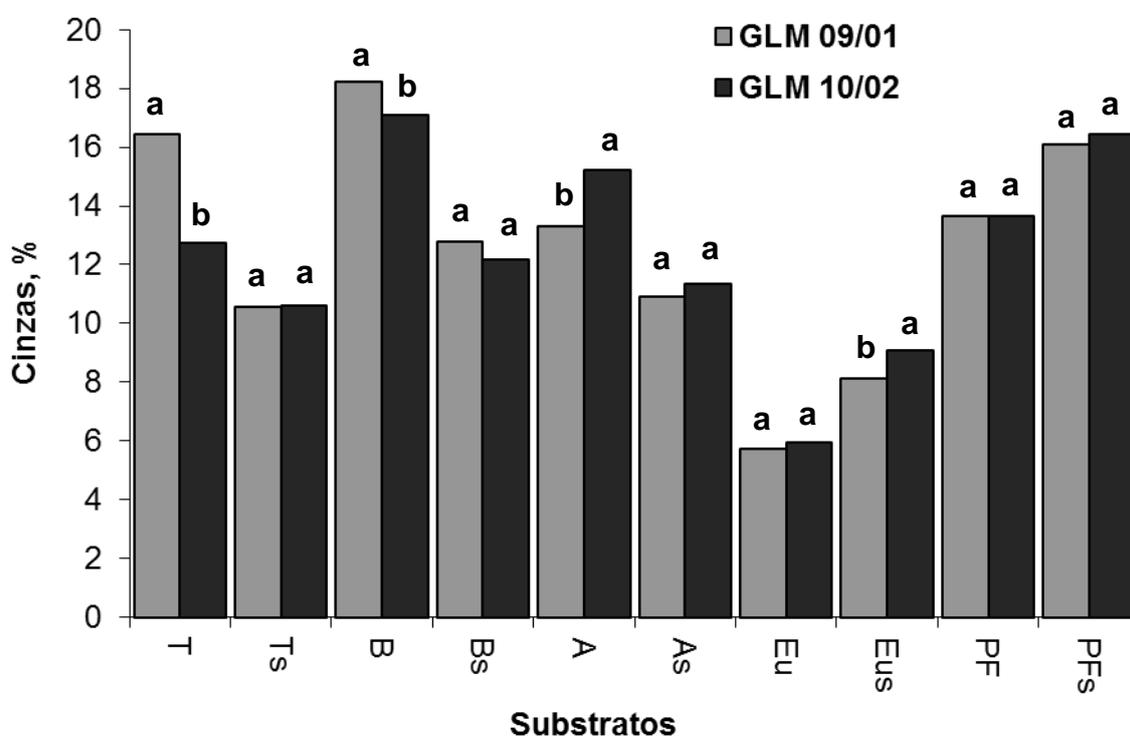


Figura 12. Cinzas, %, presente no substrato residual, após o cultivo das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM 10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%) = 2,41.

Realizando a comparação do substrato inicial com o substrato residual, observa-se que também houve um aumento na quantidade de cinzas após o cultivo pelas linhagens GLM-10/02 e GLM-09/01. Resultados similares também foram obtidos por Carvalho (2010) ao realizar o cultivo de *P. ostreatus* em resíduos de bananeira. Outras similaridades também foram encontradas por Zhang et al. (2002) ao cultivarem *P. ostreatus* em palha de trigo; por Motato et al. (2006) no cultivo de *P. djamor* em folhas de bananeira e serragem de Jequitibá; por Ozçelik e Peksen (2007) utilizando casca de avelã no cultivo de *L. edodes*; por Silva et al. (2002) no cultivo de *P. pulmonarius* em vários resíduos agroindustriais; por Sturion (1994) utilizando como substrato para a produção de *P. djamor* palha de folha de bananeira e por Okano et al. (2007) ao utilizarem em bagaço de cana de açúcar na produção de *P. eryngii*.

Como as cinzas são obtidas através da decomposição de todos os materiais orgânicos presentes na amostra, através da qual se obtêm os minerais, tais como os macronutrientes e os micronutrientes. A explicação do aumento é sugerida pelo fato da constante utilização da matéria orgânica pelo fungo desde a fase de miceliação até a formação dos basidiomas, dessa forma liberando minerais para o substrato (KALAC, 2009; RAJARATHNAM, 1987).

5.3.4 Fibra bruta

Os teores de fibras no substrato inicial (Figura 13) variaram de 52,3 a 92,7%. Os maiores valores foram observados no substrato formulado à base de serragem de eucalipto sem suplementação, seguido do substrato à base de serragem de eucalipto com 20% de suplementação com farelo de trigo (Eus).

No que diz respeito aos dados de fibras no substrato residual, os maiores valores foram observados no tratamento Eu, em ambas as linhagens (GLM-09/01 – 65,5% e GLM 10/02 – 67,5%).

Analisando a concentração de fibras por linhagens (Figura 14), nos substratos preparados à base de palha de tifton (T e Ts = 27,9%; 26,9%, respectivamente), palha de aveia (A e As = 29,2% e 34,9 %, respectivamente),

serragem de eucalipto (Eu = 50,2%) e palha de feijão (PFs = 43,2%). Os maiores valores foram encontrados nos colonizados pela linhagem GLM-09/01. Já os substratos de cultivo da linhagem GLM1-0/02 que obtiveram maiores porcentagens de fibra bruta, foram os formulados à base de palha de braquiária (Bs = 24,7%), serragem de eucalipto (Eu = 67,5%) e palha de feijão (PF = 49,4%). Não foram observadas diferenças significativas entre as linhagens nos substratos à base de palha de braquiária com 0% de suplementação (B).

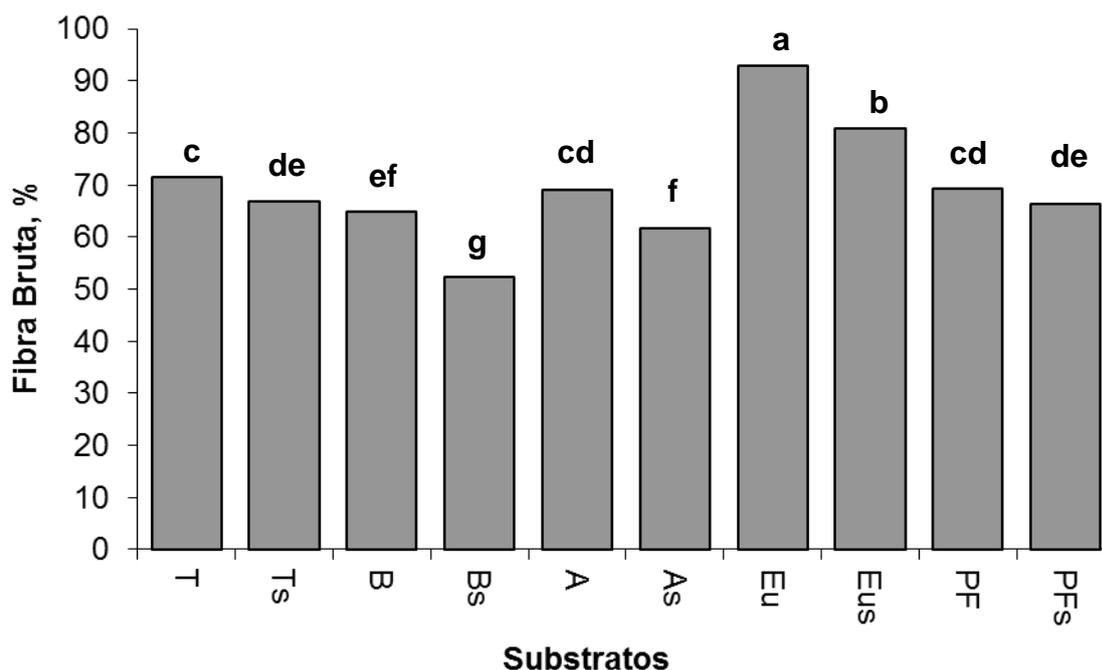


Figura 13. Fibra bruta, %, presente no substrato inicial, antes da sua colonização pelas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM 10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%) = 14,83.

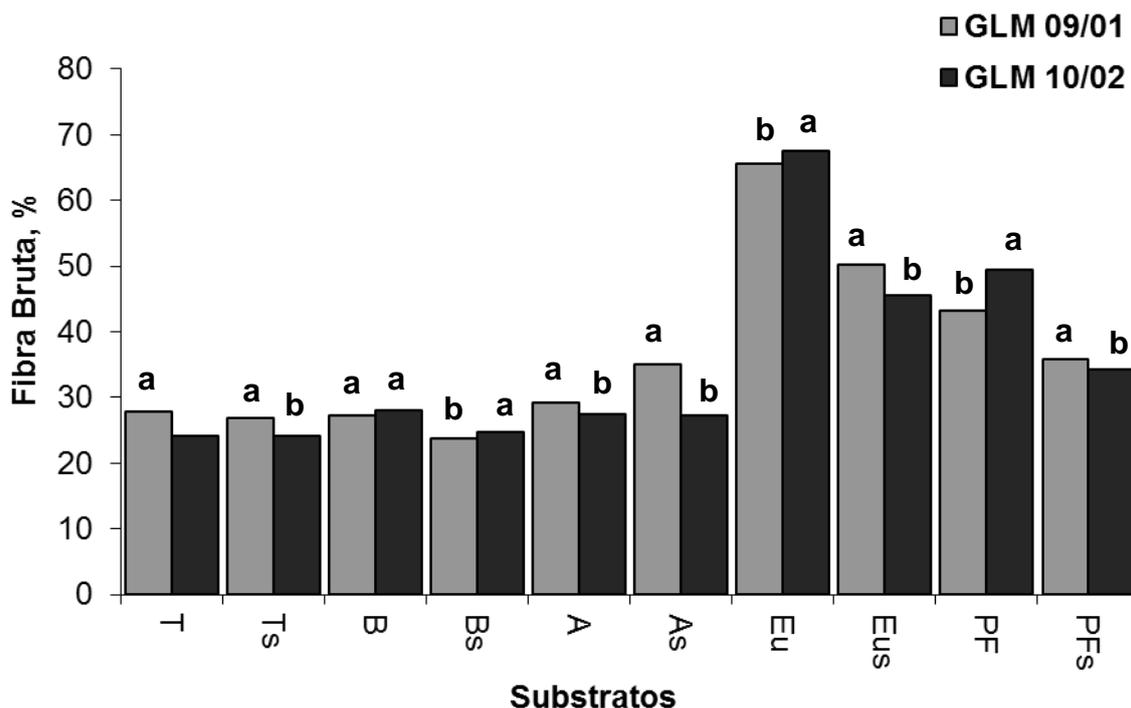


Figura 14. Fibra bruta, %, presente no substrato residual, após o cultivo das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 E GLM-10/02).

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV(%) = 1,19.

A fibra bruta é basicamente composta por carboidratos, constituídos principalmente de celulose e lignina (NOGUEIRA e SOUZA, 2005). A redução da fração fibrosa do substrato se dá pelo fato de que fungos do gênero *Ganoderma*, assim como outros fungos causadores da podridão branca da madeira, terem afinidade por resíduos ricos em lignina e celulose, pois utilizam seu complexo enzimático para degradar essa matéria prima, permitindo que os nutrientes presentes no resíduo se tornem mais assimiláveis por suas células (RAJARATHNAM e BANO, 1987; CHANG e MILES, 1982).

Segundo Motato et al. (2006) a diminuição na quantidade de fibras pode ter levado ao aumento na porção protéica do substrato, pois conforme os autores, partes das fibras presente nos substratos podem ter passado por uma bioconversão e terem sido transformadas em proteínas.

Uma redução na quantidade de fibras no substrato residual em relação ao inicial também foi observada por Carvalho (2010), Sales-Campos et al. (2008), Silveira et al. (2008) e Ortega et al. (1992), ao cultivarem *Pleurotus* sp. em diversos agro resíduos.

5.4 Caracterização físico-química dos basidiomas de duas linhagens de *G.lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02) obtidas do cultivo em substratos agrícolas.

Os resultados de F resultante da análise de variância da caracterização físico-química (proteína bruta, lipídios, fibra bruta e cinzas) dos basidiomas de *G. lucidum* cultivados em resíduos agrícolas estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores de F resultantes da análise de variância de proteína bruta, lipídios, cinzas e fibra bruta presentes nos basidiomas das duas linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivados em resíduos agrícolas.

Fator de variação	Proteína (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Fibra bruta (%)
Substratos	315,20**	35,77**	10,92**	86,31**
Linhagens	44,68**	3,53 ^{ns}	12,51**	37,47**
S x L	12,04**	8,68**	4,09 ^{ns}	17,37**
CV(%)	2,45	7,70	13,86	2,02

**Significativo ao nível de 5%; ns: não significativo.

5.4.1 Proteína Bruta

Na Figura 15, tem-se a comparação dos teores de proteína bruta presentes nos basidiomas das linhagens GLM-09/01 e GLM 10/02. Os valores variaram de 8,7% (Eu) a 13,7% (Ts) para a linhagem GLM-10/02 e de 9,5 (Eu) a 15,1% (Ts) para a linhagem GLM-09/01.

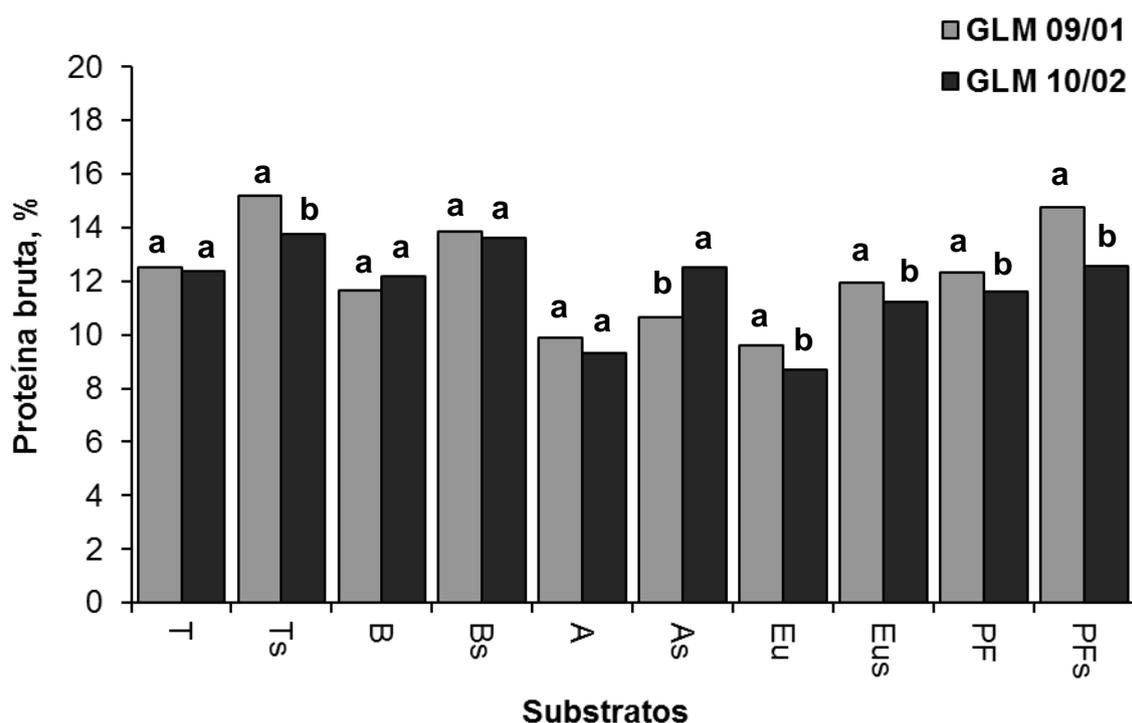


Figura 15. Proteína Bruta, %, presente nos basidiomas das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM 10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais.

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV (%) = 2,49.

Nos tratamentos T, B, Bs e A não se observaram diferenças entre as duas linhagens. Nos tratamentos Ts, Eu, Eus PF, PFs, os basidiomas da linhagem GLM-09/01 foram os que apresentaram maiores teores de proteína bruta em relação aos da linhagem GLM 09/01. Por outro lado, no tratamento

As, foram os basidiomas da linhagem GLM-10/02 que apresentaram maior teor de proteína bruta em relação a linhagem GLM 09/01. Resultados superiores foram observados por Rawat et al. (2012), ao realizarem a caracterização físico-química de *G. lucidum* colhidos na floresta do Himalaia, obtendo 20,6% de proteína bruta em seu basidioma.

Observou-se que ao se comparar o maior valor protéico obtido com os valores de nitrogênio dos substratos utilizados, que os resíduos que proporcionaram cogumelos ricos em proteínas (Ts) foram os que apresentaram os maiores teores de N (0,60%). Segundo Silva et al. (2006) o teor de proteína bruta dos basidiomas é influenciado pelo teor de nitrogênio presente no substrato inicial, pois, ao realizarem o cultivo de *P. sajor caju* em substratos suplementados com diferentes concentrações de nitrogênio, notaram que quanto maior a sua concentração, maiores foram as quantidades de proteínas presentes nos cogumelos. Substratos com teores mais altos de N não foram colonizados pelo fungo.

5.4.2 Lipídios

Para os valores de lipídios (Figura 16), nos basidiomas da linhagem GLM-09/01 os resultados obtidos variaram de 2,0% (Eus) a 6,7% (Bs).

Analisando separadamente as linhagens, em relação à 09/01, os tratamentos T, Eus, PFs, foram os que apresentaram um maior teor de lipídios. No caso da linhagem GLM-10/02 os maiores valores foram obtidos do tratamento T + 20%. Resultados inferiores aos obtidos no experimento (1,7%) foram observados em exemplares de *G. lucidum* comercializados em feiras do Vietnã (HUNG e NHI, 2012), Ogbe e Obeka (2013) também obtiveram menores resultados (1,5%) em *G. lucidum* coletados em florestas da Nigéria, assim como Aremu et al. (2009) que analisarem físico-quimicamente os corpos de frutificação de *G.lucidum* também coletados no mesmo local, porém alcançaram resultados semelhantes ao do experimento (6,9%).

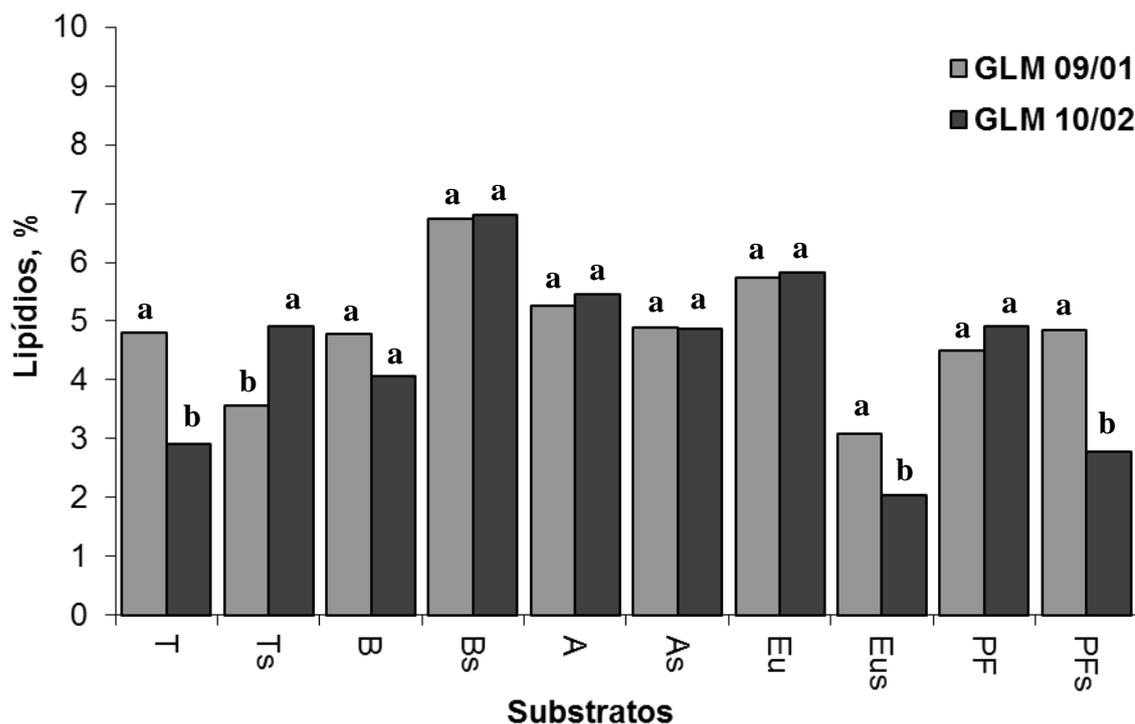


Figura 16. Lipídios, %, presentes nos basidiomas das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais. T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV(%) = 7,70.

5.4.3 Fibra bruta

Os valores de fibra bruta presente nos basidiomas das linhagens GLM- 10/02 e GLM-09/01 podem ser observados na Figura 17.

Os resultados obtidos variaram de 38,8% (Eu) a 54,5% (PFs) na linhagem GLM 10/02 e de 41% (Eu) a 57,7% (As) em GLM-09/01. Analisando separadamente cada linhagem, em relação à GLM-09/01, as maiores concentrações de fibras foram obtidas nos basidiomas oriundos dos tratamentos A (56,2%), As (57,7%), PF (57,3%) e Eu (41,2%). Já para a linhagem GLM-10/02, PFs foi o tratamento que proporcionou um maior resultado (54,5%).

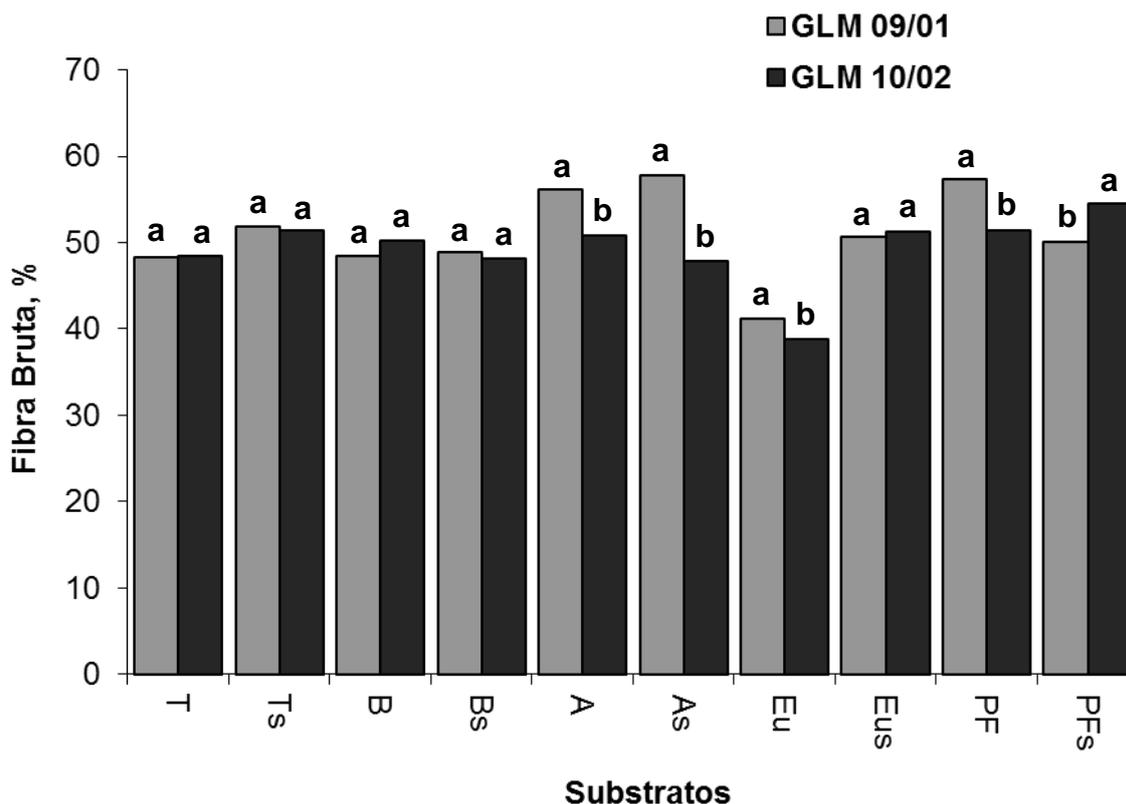


Figura 17. Fibra bruta, %, presente nos basidiomas das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais.

T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFS = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV(%) = 2,02.

Todos os resultados observados na literatura foram inferiores aos obtidos no experimento, como o de Ogbe e Obeka (2013) que ao analisarem cogumelos *G. lucidum* coletados no campus da Universidade de Nassarawa-Nigéria, encontram 7,7% de fibra bruta presente em seus basidiomas. Já Aremu et al. (2009), que também coletaram *G. lucidum* em florestas nigerianas, obtiveram em suas análises 6,9% de fibras. Nagaraj et al. (2013), obtiveram 14,4% de fibras em cogumelos *G. lucidum* encontrados em florestas da Índia.

5.4.4 Cinzas

A partir dos teores de cinzas presentes nos basidiomas das linhagens GLM-09/01 e GLM-10/02 (Figura 18) em cada substrato específico, observa-se que, em relação à GLM-09/01, as maiores concentrações de cinzas foram originárias dos tratamentos PFs (1,8%). Nos demais tratamentos as duas linhagens não apresentaram diferenças significativas entre si, os menores valores em ambas as linhagens foram verificados nos tratamentos A e Eu.

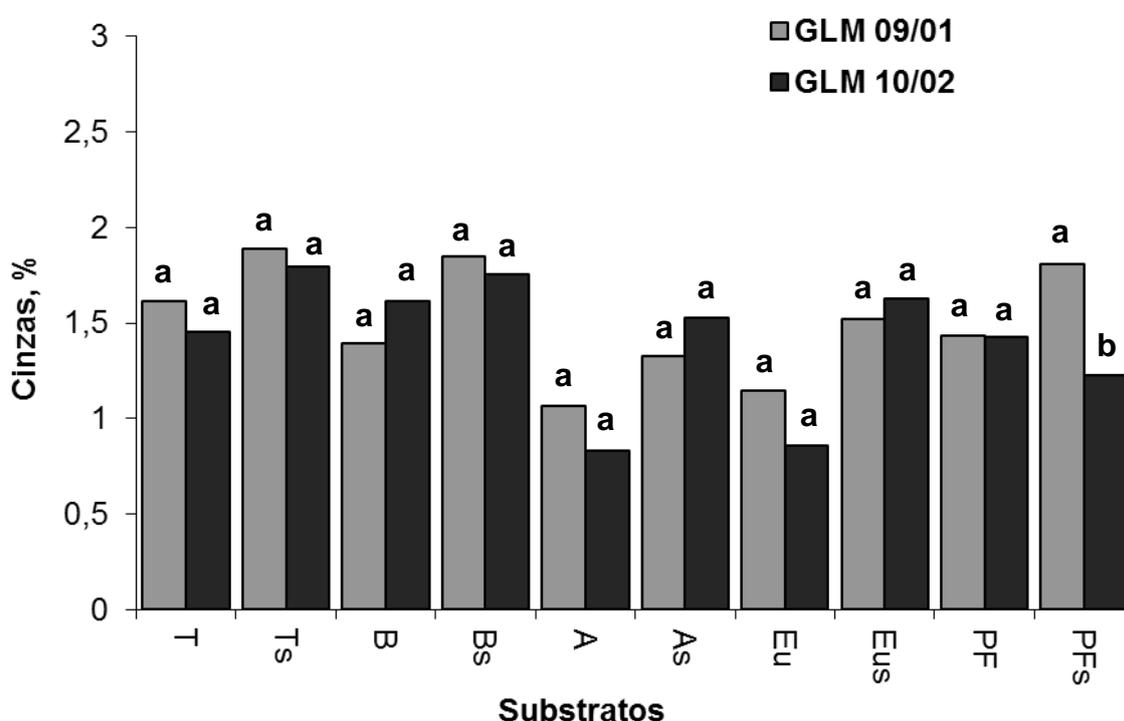


Figura 18. Cinzas, %, presente nos basidiomas das linhagens de *Ganoderma lucidum* (GLM-09/01 e GLM-10/02) cultivadas em substratos à base de resíduos agroindustriais. T = palha de tifton sem suplementação; Ts = palha de tifton com 20% de suplementação de farelo de trigo; B = Palha de braquiária sem suplementação; Bs = palha de braquiária com 20% de suplementação de farelo de trigo; A = palha de aveia sem suplementação; As = palha de aveia com 20% de suplementação de farelo de trigo; Eu = serragem de eucalipto sem suplementação; Eus = serragem de eucalipto com 20% de suplementação de farelo de trigo; PF = palha de feijão sem suplementação; PFs = palha de feijão com 20% de suplementação de farelo de trigo. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%) (Média de duas repetições). CV(%) = 13,86.

Os valores oscilaram de 0,83% (A) a 1,79% (Ts) na linhagem GLM-10/02 e de 1,0% (A) a 1,8% (Bs) para a linhagem GLM-09/01.

Os valores de cinzas correspondem cerca de 5 a 12 % da matéria seca dos basidiomas e estima a quantidade de micro e macroelementos presentes nos mesmos (KALAC, 2009).

Resultados semelhantes foram observados por Hung e Nhi (2012) em cogumelos *G. lucidum* comercializados em mercados do Vietnã (1,4%). Valores superiores ao do experimento foram observados por Singh et al. (2014) ao analisarem basidiomas de *G. lucidum* (8,3%) e *G. philipii* (7,6%) adquiridos em florestas da Índia. Resultados também superiores foram obtidos por Ogbe e Obeka (2013) e Aramu et al. (2009) em cogumelos *G. lucidum* coletados em florestas nigerianas, obtendo valores de cinzas de 8,4% e 7,8% respectivamente. Resultados também superiores aos obtidos no experimentos foram observados por Ragunathan e Swaminathan (2003), ao cultivar *P. citrinopileatus* em resíduos de casca de coco e sabugo de milho (6,10 a 6,30 %); por Sales-Campos (2008), utilizando resíduos madeireiros e agroindustriais no cultivo de *P. ostreatus*.

6. CONCLUSÕES

- Dos substratos analisados, os que apresentaram maior rendimento foram os à base de palha de braquiária 20% em ambas as linhagens testadas (GLM-09/01 e GLM 10/02) e palha de feijão a 20% na linhagem GLM 10/02.
- O substrato residual apresentou-se bastante nutritivo, passando também por uma redução na sua porção fibrosa.
- Os cogumelos apresentaram altos teores de lipídios, fibras e cinzas e baixo teor de proteínas.
- Os resíduos com maiores teores de N foram os que proporcionaram a produção de cogumelos com maior teor de proteínas.

- Os resíduos analisados quanto à avaliação físico-química dos basidiomas obtidos, estão dentro do padrão observados na literatura.
- Em relação aos baixos valores de eficiência biológica obtidos no trabalho, se comparados aos dados observados na literatura, sugere-se que devam ser feitos ajustes na metodologia de cultivo, pois, provavelmente, diversos fatores interferiram no desenvolvimento do fungo, tais como acidez do substrato, níveis de suplementação e parâmetros ambientais (T °C e umidade) fora dos padrões requeridos pela espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L. V. et al. Uso de resíduos de madeiras e frutos da Amazônia para o cultivo in vitro do cogumelo comestível shiitake. **Interciencia**, v. 38, n. 8, p. 585-589, 2013.

ANDRADE, M.C.N et al. Mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains in culture media prepared with sawdust extracts from seven eucalyptus species and three eucalyptus clones. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 333-337, 2008.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**: edited W. Horwitz 16. ed. Washington, 850p. v.2. 1997.

AREMU, M.O. et al. Proximate Composition and Functional Properties of Mushroom Flours from *Ganoderma spp.*, *Omphalotus olearius* (DC.) Sing. And *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué. Used in Nasarawa State, Nigeria **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 233 - 241, 2009.

ATAÍDE JÚNIOR, J.R. et al. Valor Nutritivo do Feno de Capim-tifton 85 (*Cynodon spp.*) em Diferentes Idades de Rebrotas, em Ovinos. **Revista brasileira de zootecnia**, 29(6):2193-2199, 2000.

AYSUN;P.; GOKCEN, Y. Tea waste as a supplement for the cultivation of *Ganoderma lucidum*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n.4, p. 611-618, 2009.

BELEWU, M. A.; BELEWU, K. Y. Cultivation of mushroom (*Volvariella volvaceae*) on banana leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 12, p.1401-1403, 2005.

BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Aproveitamento de resíduo de curtume como suplemento no cultivo de *Pleurotus ostreatus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2, p. 243-246, 2008.

BOH, B et al.. *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. **Biotechnology Annual Review**, n. 13, p. 265–301, 2007.

BONONI, V. L. et al. **Cultivo de Cogumelos Comestíveis**, São Paulo: Ícone, 1999.

BORÉM, A et al. A cultura. In: VIEIRA, C.;PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**.2. ed. atual. e ampl.Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. p. 13-18.

CARVALHO, C.S.M. **Cultivo, análise química e bromatológica de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de diferentes cultivares de bananeira**. Manaus, 2010. 110p. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/ Agroflorestal)** – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

CAVALCANTI FILHO, L.F.M. et al; Caracterização de pastagem de *Brachiaria decumbens* na zona da mata de Pernambuco. **Archivos de Zootecnia**, v.57, n.220, p.391-402, 2008.

CECATO, U. et al. Avaliação de cultivares do gênero *Cynodon* com e sem nitrogênio. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 23, n. 4, p. 781-788, 2001.

CECCON, G. et al. Efeito de inseticidas na semeadura sobre pragas iniciais e produtividade de milho safrinha em plantio direto. **Bragantia**, v.63, n.2, p.227-237, 2004

CHANG, S. T. Mushroom biology: The impact on mushroom production and mushroom and mushroom products. **Proceeding of the first international conference on mushroom**. In: CHANG, S. T. et al. Mushroom biology and mushroom products. Hong Kong: The Chinese University Press, 1993. p. 3-20.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **What are mushrooms?** In: CHANG, S. T.; QUIMIO, T. H. Tropical mushrooms: Biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982. p. 3-10.

CHANG, S.T.; HAYES, W.A. **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms**. New York & London: Academic Press. 1978.

CHANG, S.T.; MILES, P.G. A new look at cultivated mushrooms. **BioScience** n. 34, p. 358–362, 1984. 229p

CRISPIM, S.M.A.; BRANCO, O.D. **Aspectos gerais das braquiárias e suas características na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS Corumbá**: Embrapa Pantanal, 2002. 26p. (Embrapa Pantanal Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 20).

DESTRO, P. et al. Produção de carvão ativado a partir dos resíduos da colheita do feijão (palha de feijão). In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 32, 2009, Ceará. Anais... Sociedade Brasileira de Química. Ceará. p.15*

DIAS, E.S et al. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**,v.27, n. 6, p.1363-1369, 2003

EIRA, A.F. Fungos Comestíveis. In: AZEVEDO, J.L.; ESPOSITO, E. **Fungos: uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p. 379-448.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do Feijão caupi no Amazonas**, 1. ed. versão eletrônica. Disponível em: <livraria.sct.embrapa.br/liv_resumos/pdf/00051910.pdf >. Acesso em: 01 fev. 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistemas de Produção**, 4. ed. versão eletrônica. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto>>. Acesso em: 29 jan. 2014

ERKEL, E.I. The effect of different substrate medium on the yield of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, n.7, v. 3, p. 841-844, 2009.

FAOSTAT. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2012 **Agricultural Production - Crops Primary** - Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> > Acesso em: 10 jan. 2013.

FIGUEIRO, G.C; GRACIOLLI, L.A. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 5, P. 924-930, 2011.

GAO, Y. et al. Antibacterial and Antiviral Value of the Genus *Ganoderma* P. Karst. Species (Aphyllophoromycetidae). **A Review. International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 5, n. 3, P. 235-246. 2003.

GERDES, L. et al. Avaliação de características de valor nutritivo das gramíneas forrageiras Marandu, Setária e Tanzânia nas estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.955-963, 2000.

GONZÁLEZ MATUTE, R. et al. Sunflower seed hulls as a main nutrient source for cultivating *Ganoderma lucidum*. **Micologia aplicada internacional**, v. 14, n. 2, p. 19-24, 2002.

GURUNG, O.K.; BUDATHOKI, U.; PARAJULI, G. Effect of Different Substrates on the Production of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) Karst. **Our Nature**, v.5, n.10, p. 191-198, 2012.

HODGSON, J. et al. 2002. Options in tropical pasture management. In: Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39, 2002, Recife. *Anais...* Sociedade Brasileira de Zootecnia. Recife. p. 180-202.

HSIEH C, YANG F. Reusing soy residue for the solid-state fermentation of *Ganoderma lucidum*. **Bioresource Technology**, v. 1, n. 91, p.105–109, 2004.

HUNG, P. V.; NHI, N. N. Y. Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible mushrooms grown in the Southern Vietnam. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 2, p. 611-615, 2012.

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

KAMRA, A.; BHATT, A.B. First attempt of an organic cultivation of red *Ganoderma lucidum* under subtropical habitat and its economics. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n.4, 94-98, 2013.

LANARV. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. **Análise de corretivos, fertilizantes e inoculantes - métodos oficiais**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Ministério de Agricultura, 1988. 104p.

KOPYTOWSKI FILHO, J. et al. *Agaricus blazei* – “The Almond Portobello”: Cultivation and Commercialization. American Mushroom Institute. Washington DC: **Mushroom News**, v. 54, n. 2, p. 22-28, 2006.

MACHADO, L.A.Z.; et al. Desempenho de animais alimentados com lâminas foliares, em pastagem de capim-marandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 11, p. 1609-1616, 2008.

MACIEL, W.P. Cultivo de *P. ostreatus* em diferentes condições de substrato em temperatura. Dissertação (Mestrado) – Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras –UFLA. Lavras: UFLA,2013.35p.

MISRA, A. K. et al. Optimization of Solid State Fermentation of Mustard (*Brassica campestris*) Straw for Production of Animal Feed by White Rot Fungi (*Ganoderma lucidum*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 2, p. 208 – 213, 2007.

MIZUNO, T. Bioactive substances and medicinal effects of the Reishi. Disponível em : <<http://www.toi-reishi.com>. > Acesso em 05 jan. 2014.

MIZUNO, T. et al. Reishi, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*: bioactive substances and medicinal effects. **Food Reviews International**, v. 11, n. 1, p. 151-166, 1995.

MODA, E. M. **Produção de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de cana-de-açúcar lavado e o uso de aditivos visando sua conservação “in natura”**. 2003. 100p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MOTATO, R.; MEJÍA, I.A.; LEÓN, A. Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisiaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. **Vitae**, v.13, n.1, p.24-29, 2006.

NAGARAJ, K.; RAJA, N. MALLIKARJUN, N. Nutritive value of the potential macrofungi *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. from Shivamogga District-Karnataka, India. **Journal of Natural Product and Plant Resources**, v.3, n. 4, p. 51-61, 2013.

NAWAWI, A.; HO, Y.W. Effect of temperature and pH on growth pattern of *Ganoderma boninense* from oil palm in peninsular Malaysia. **Pertanika**, v. 13, n. 3, 303-307, 1990

NEE'NIGAM, P. Pre-treatment of agro-industrial residues. In: Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation. **Springer Netherlands**, v. 74, n. 1, p. 13-33, 2009.

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. (Ed.). **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

OGBE, A.O.; OBEKA. A.D. Proximate, Mineral and Anti-Nutrient Composition of Wild *Ganoderma*: Implication on Its Utilization in Poultry Production. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 3, n. 1, p. 161-166, 2013.

OKANO, K.et al. Effects of culture length of *Pleurotus eryngii* grown on sugarcane bagasse on in vitro digestibility and chemical composition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 136, n.1, p. 240–247, 2007.

OLIVEIRA, C. H. R. et al. Área foliar e biomassa de plantas intactas e de brotações de plantas jovens de clone de eucalipto em sistemas agrossilvipastoris. **Revista Árvore**, v.32, n.1, p.59-68, 2008

ORTEGA, G.M. et al. Bioconversion of sugar cane crop residues with white-rot fungi *Pleurotus* sp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.8, n. 4, p.402-405, 1992.

ÖZÇELİK, E.; PEKSEN, A. Hazelnut husk as a substrate for the cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Bioresource Technology*, v. 98, n. 14, p.2652-2658, 2007.

PERUMAL K I. et al. Technology on Organic Cultivation of Reishi (*Ganoderma lucidum*). In: Booklets on *Ganoderma*. Shri AMM Murugappa Chettiar Research Centre, Chennai, India 2009.

RAGUNATHAN, R. et al. Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. **Food Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 139–144, 1996.

RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHAN, K. Nutritional status of *Pleurotus* spp. grow on various agro-wastes, **Food Chemistry**. v. 80, n. 3, p. 371-375, 2003.

RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushrooms. Part IA. Morphology, life cycle, taxonomy breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, n.2, p.157-223, 1987.

RAJARATHNAM, S.; BANO, Z. *Pleurotus* mushrooms; Part 1A: Morphology, life cycle, taxonomy breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, n.2, p.157-223, 1987.

RAMACHARAKA, Y. El poder de la *Ganoderma* en la Salud de hoy. 2013 – Disponível em: <<http://asociacionamyco.wordpress.com>> Acesso em: 13 de dezembro de 2013.

RAWAT, A. et al. Biochemical estimation of wildy collected *Ganoderma lucidum* from Central Himalayan Hills of India. **Advances in Applied Science Research**, v. 3, n. 6, p. 3708-3713, 2012.

RICHETTI, A et al. **Viabilidade Econômica da Cultura do Feijão Comum, Safra 2012, em Mato Grosso do Sul.** Comunicado Técnico n° 173 –Embrapa. Dourados, MS. 2011.

RIOS-CAÑAVATE, J.L. *Ganoderma lucidum*, un hongo con propiedades inmunoestimulantes. **Revista de Fitoterapia**, v.8, n.2, p. 135-146, 2008.

ROLIM, L.N. et al . Application of Chinese Jun-Cao technique for the production of Brazilian *Ganoderma lucidum* strains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, No prelo. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/babt/2014nahead/cd_1620.pdf>. Acesso em: 07 mai. 2014

ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n.6, p. 887-891, 2001.

RUBEL, R. **Produção de compostos bioativos do *Ganoderma lucidum*: avaliação da ação antitumoral, imunomoduladora e hipolipidêmica.** 2006. 172 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos). Curso de Pós-graduação em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006

RUEGGER, M.J.S.; TORNISIELO, S.M.T.; BONONI, V.L.R.; CAPELARI, M. Cultivation of the edible mushroom *Oudemansiella canarii* (jungh.) höhn. in lignocellulosic substrates. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n.3, p. 211-214, 2001.

RUSSELL A.; PATERSON, M. *Ganoderma* - A therapeutic fungal biofactory. **Phytochemistry**, n. 67, p. 1985-2001, 2006.

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência**

na região amazônica. Manaus. 197p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2008

SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M.T. A.; ANDRADE, M. C. N. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. **Interciencia**, v.35, n. 10, p. 198-201, 2010.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F. S.; NASCIMENTO, J. S.; VARGAS JUNIOR, F. M. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1866-1871, 2003.

SEVERO, E. T. et al. Composição Química da Madeira de *Eucalyptus citriodora* em Função das Direcções Estruturais. **Silva Lus**, v. 14, n.1, p. 113-126, 2006.

SILVA, M. R et al. Efeitos do manejo hídrico e da aplicação de potássio nas características morfofisiológicas de mudas de *Eucalyptus grandis* W (Hill ex. Maiden). **Irriga**, v.9, n.1, p.31-40, 2004.

SILVA, S.O.; COSTA, S.M.G.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Qué., substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 531-535, 2002.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. UFV, Viçosa, 235 p. 2002

SILVEIRA, M. L. L.; FURLAN, S. A.; NINOW, J. Development of an alternative technology for the oyster mushroom production using liquid inoculum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28,n. 4, p. 858-862, 2008.

SIQUEIRA, F.G. **Efeito do teor de nitrogênio, inoculantes e métodos de compostagem para o cultivo de *Agaricus blazei***. 2006. 139p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.

SOUZA, C.R.; et al. Comportamento da *Acacia mangium* e de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em plantios experimentais na Amazônia Central. **Scientia Forestalis**, v. 65, n. 01, p. 95-101, 2004.

SRIVASTAVA, A. et al. Recent development in plant derived antimicrobial constituents: **A review. J. Med. Aromat. Plant. Sci.** v. 22, n. 01, p 349–405., 2000.

STURION, G. L. **Utilização da folha da bananeira como substrato para o cultivo cogumelo (*Pleurotus* spp.)**. Piracicaba, 1994. 147p. **Dissertação (Mestrado em Ciências/ Ciência e tecnologia de alimentos)** - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

STURION, G. L. **Utilização da folha da bananeira como substrato para o cultivo cogumelo (*Pleurotus* spp.)**. Piracicaba, 1994. 147p. **Dissertação (Mestrado em Ciências/ Ciência e tecnologia de alimentos)** - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SUBRAMANIAN, C.V. Mushrooms: Beauty, diversity, relevance. **Currente Science**, v. 69, n. 12, p. 986-997, 1995.

TRIRATANA, S.; THAITHATGOON, S.; GAWGLA, M. Cultivation of *Ganoderma lucidum* in Sawdust Bags. **The international society of mushroom Science**, v.20, n.13, p. 15-20, 1991.

UGWUANYI, J.O. et al. Production of protein-enriched feed using agro-industrial residues as substrates. **Biotechnol. Agro Ind. Residues Utilisation** n.77,v.103, 2009.

URBEN, A.F. Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. Brasília: **EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2004. 186p.

VEENA.S.S. et al. Physiological and cultivation requirements of *Trametes versicolor*, a medicinal mushroom to diversify Indian mushroom industry. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. n. 82, n. 8. p. 672-675. 2012

VIEIRA, R.,2006.**Pequenos Objetos de Madeira de Eucalipto:possibilidade de aproveitamento de resíduos**. Dissertação (Mestrado) – Engenharia Florestal, Universidade Federal de Lavras –UFLA. Lavras: UFLA, 2006.94p.

WACHTEL-GALOR S. et al. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): **A Medicinal Mushroom**. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press; 2011. Chapter 9.

WAGNER, R. et al. 2003. Current techniques for the cultivation of *Ganoderma lucidum* for the production of biomass, ganoderic acid and polysaccharides. Food Technol. Biotechnol. n. 41, v. 4, p. 371-382, 2003.

WANDER, P. R. **Utilização de resíduos de madeira e lenha como alternativas de energias renováveis para o desenvolvimento sustentável da região nordeste do estado do Rio Grande do Sul**. 2001. 140 p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

WANG, D.; SAKODA, A. SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 293-333, 2001.

WASSER S. P. et . **Encyclopedia of Dietary Supplements**. New York: Marcel Dekker; Reishi or Lingzhi (*Ganoderma lucidum*); pp. 680–90. 2005.

YANG F.; CHIENYAN, H.; CHEN H. Use of stillage grain from a rice-spirit distillery in the solid state fermentation of *Ganoderma lucidum*. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 1, p. 21-26, 2003.

ZADRAZIL, F.; KURTZMAN, R.H. The Biology of *Pleurotus* Cultivation in the Tropics. In: CHANG, S. T.; QUIMIO, T. H. (Eds). **Tropical mushrooms: Biological nature and cultivation methods**. The Chinese University Press. Hong Kong, 1982. p. 277-296.

ZHANG, R.; LI, X.; FADEL, J.G. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 3, p. 277–284, 2002.

ZIED, D. C. et al. Produção de *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) em função de diferentes camadas de cobertura e substratos de cultivo. **Interciencia**, v. 34, p. 437-442, 2009.