



2014



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Avaliação do Ciclo de Vida de Cogumelos Nativos: Comparação entre Sistemas de Produção Abertos e Fechados



Inês Isabel da Silva Ferreira

2014



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Avaliação do Ciclo de Vida de Cogumelos Nativos: Comparação entre Sistemas de Produção Abertos e Fechados

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor António Manuel Santos Carriço Portugal (Universidade de Coimbra) e do Engenheiro João Miguel dos Santos Almeida Nunes (Associação BLC3).

Inês Isabel da Silva Ferreira

2014

Este trabalho insere-se no Projecto Value Mycology-Technology financiado pelo COMPETE (Programa Operacional Factores de Competitividade) integrado no QREN (Quadro de Referência Estratégico Nacional) e do fundo Europeu FEDER (Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional).



"Um parvo em pé vai mais longe que um intelectual sentado."
António Lobo Antunes, 1998



AGRADECIMENTOS

No final da realização deste trabalho, não posso deixar de agradecer às várias pessoas que por diversas razões tornaram possível a sua concretização.

Aos Professor Doutor António Portugal e Engenheiro João Nunes, pela orientação.

À Associação BLC3 e à Voz da Natureza pelo apoio ao desenvolvimento deste trabalho e pelo suporte financeiro recebido pelo projeto Value Mycology-Technology Truficulture (ValueMicotecTruf/24845/2011) pelo COMPETE (Programa Operacional Fatores de Competitividade) integrado no QREN (Quadro de Referência Estratégico Nacional) e do fundo Europeu FEDER (Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional).

Aos meus colegas de trabalho (Laboratório e GAPI) pelo carinho e ajuda em todos os momentos, e ao ao Engenheiro João Bernardo pela paciência e apoio.

À Cristina Costa, Daniel Barata e João Trovão pelo companheirismo e ajuda incondicional em todos os momentos.

À Marta Leite pela a amizade.

À Silvia França, ao João Santos e à Nélia Mano que a apesar da distância estão sempre ao meu lado.

Aos meus pais e irmão pelo amor e carinho de sempre.

Ao Miguel pela paciência, pelo incentivo e pelo amor em todos os momentos.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 Sistemas Abertos de Produção de Cogumelos	6
1.1.1 A Floresta em Portugal	6
1.1.2 Produto da Floresta - Cogumelos Silvestres	9
1.1.3 Importância Sócio-Económica dos Recursos Micológicos	11
1.1.4 <i>Lactarius deliciosus</i>	13
1.2 Sistemas Fechados de produção de Cogumelos	14
1.2.1 Produção de Cogumelos Sapróbios	14
1.2.2 Aplicação de Resíduos para Produção	19
1.2.3 <i>Agrocybe cylindracea</i>	23
1.3 Avaliação de Ciclos de Vida para Comparação de Sistemas	24
1.4 Objetivos	27
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	29
2.1 Sistemas Abertos de Produção de <i>Lactarius deliciosus</i>	31
2.2 Sistemas Fechados de Produção de <i>Agrocybe cylindracea</i>	31
2.2.1. Material Biológico	31
2.2.2. Produção de Inóculo	32
2.2.3 Inoculação e Fase de Incubação.....	33
2.2.4 Fase de Frutificação	34
2.2.5 Análise Estatística.....	35
2.3 Avaliação de Ciclo de Vida para Comparação de Sistemas	35
2.3.1 Objetivo e Âmbito	35
2.3.2 Inventário de Ciclo de Vida	36
2.3.3 Avaliação de Impacto do Ciclo de Vida	38
3 – RESULTADOS	39
3.1 Sistemas Abertos de Produção de <i>Lactarius deliciosus</i>	41
3.2 Sistemas Fechados de Produção de <i>Agrocybe cylindracea</i>	47

3.2.1	Dados de produção de <i>Agrocybe cylindracea</i> e Eficiência Biológica	47
3.2.2	Dados de qualidade de uma estirpe de <i>Agrocybe cylindracea</i>	50
3.3	Avaliação de Ciclo de Vida para Comparação de Sistemas	53
3.3.1	Avaliação de Ciclo de Vida - <i>Lactarius deliciosus</i>	53
3.3.2	Avaliação de Ciclo de Vida de - <i>Agrocybe cylindracea</i>	55
3.3.3	– Comparação entre sistemas de produção	58
4	– DISCUSSÃO	59
4.1	Sistemas Abertos de Produção de <i>Lactarius deliciosus</i>	61
4.2	Sistemas Fechados de Produção de <i>Agrocybe Cylindracea</i>	62
4.2.1	Dados de Produção de <i>Agrocybe cylindracea</i> e Eficiência Biológica	63
4.2.2	Dados de Qualidade de uma estirpe de <i>Agrocybe cylindracea</i>	63
4.3	Avaliação de Ciclo de Vida de Sistema de Produção Aberto e Fechado: Potencial de Aquecimento Global e Requisito Energético Fóssil	67
5	– CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	69
5.1	– Conclusão	71
5.2	- Perspectivas Futuras	72
6	- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Substratos lenho-celulósicos utilizados para a produção de macrofungos... 17	17
Tabela 2 - Identificação das espécies isoladas e dados de recolha. 32	32
Tabela 3 - Parâmetros de registo para análise dos Dados de Produção e de Qualidade. 34	34
Tabela 4 - Fatores de conversão em CO ₂ eq, segundo IPCC, 2007. 37	37
Tabela 5 - Emissões específicas de GEE associadas a materiais e energia. 37	37
Tabela 6 - Energia primária equivalente. 38	38
Tabela 7 - Quantidade de <i>Lactarius deliciosus</i> vendida nos Mercados de Madrid, Valência e Barcelona no período de 2002 a 2011.. 42	42
Tabela 8 - Classes e preços em que se dividem os cogumelos de <i>Lactarius deliciosus</i> vendidos num Mercado em Barcelona. 43	43
Tabela 9 - Composição química aproximada, composição em ácidos gordos e valor energético da espécie <i>Lactarius deliciosus</i> 46	46
Tabela 10 - Tabela resumo de compostos bioativos de <i>Lactarius deliciosus</i> selecionados de acordo com a sua atividade biológica. 47	47
Tabela 11 - Dados de Qualidade dos cogumelos colhidos nos dois substratos, Acácia e Palha. 52	52
Tabela 12 - Inventário de Ciclo de Vida (ICV) para a produção de cogumelos em Sistema Aberto. 54	54
Tabela 13 - Impactos da produção de 1Kg de <i>Lactarius deliciosus</i> 54	54
Tabela 14 - Inventário de Ciclo de Vida (ICV) para a produção de cogumelos em Sistema Fechado. 56	56
Tabela 15 - Impactos da produção de 1Kg de <i>Agrocybe cylindracea</i> 57	57
Tabela 16 - Dados de Produção de <i>Agrocybe cylindracea</i> em diferentes substratos. 65	65
Tabela 17 - Avaliação de Ciclo de Vida para duas espécies de cogumelos sapróbios produzidos em sistemas fechados. 67	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Esboço de um cogumelo e termos micológicos utilizados.....	3
Figura 2 - Grupos funcionais dos fungos	4
Figura 3 – Evolução da área floresta, de matos e de agricultura no Continente Português durante o século XX.....	8
Figura 4 - Metodologia de cultivo e colheita de cogumelos.	16
Figura 5- Fases do Ciclo de Vida de um produto.....	24
Figura 6- Fases da Avaliação de Ciclo de Vida.	26
Figura 7 - A- Banco de inóculo nativo. B - Inóculo da estirpe Acyl/TAGV.....	32
Figura 8 - Esquema do processo realizado na produção de cogumelos.....	33
Figura 9 - Esquema teórico da cadeia de valor dos cogumelos silvestres.	42
Figura 10 – A - Efeito do desbaste na produção de <i>Lactarius deliciosus</i> . B- Relação entre a produção anual de <i>Lactarius deliciosus</i> e a área basal removida.....	44
Figura 11 – Earliness, Período de colheita e Período de cultivo da estirpe Acyl/TAGV nos dois substratos de estudo.	48
Figura 12 - Gráfico do número de carpóforos e peso para cada uma das colheitas nos dois substratos de estudo.	49
Figura 13 - Eficiência Biológica da estirpe Acyl/TAGV em substrato de Palha e substrato de Acácia.....	49
Figura 14 - Gráfico comparativo do peso fresco e seco de parte e totalidade dos carpóforos de <i>Agrocybe cylindracea</i> , colhidos nos dois substratos de estudo.....	52
Figura 15- Fronteira do sistema para a produção de cogumelos em Sistema Aberto. ...	53
Figura 16 - Fronteira do sistema para a produção de cogumelos em Sistema Fechado.	55
Figura 17 – Comparação dos impactos entre a produção de <i>Agrocybe cylindracea</i> e <i>Lactarius deliciosus</i>	58

ABREVIATURAS

€	Euros
ACV	Avaliação do Ciclo de Vida
cm	centímetro
cm²	Centímetros quadrados
CO₂eq	CO ₂ equivalente
DGADR	Direcção-Geral da Agricultura e Desenvolvimento Rural
dm³	Decímetro cubico
DRAPC	Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro
EB	Eficiência Biológica
ENF	Estratégia Nacional para as Florestas
FAO	Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação
g	Gramas
gCO₂eq	Gramas de CO ₂ equivalente
GEE	Gases de Efeito Estufa
h	Horas
ha	Hectares
ICNF	Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas
ICV	Inventário de Ciclo de Vida
ISO	International Organization for Standardization
Kcal	Kilo caloria
Kg	Kilogramas
KgCO₂eq	Kilograma de CO ₂ equivalente
kJ	Kilo Joule
Km	Kilometro
kWh	Kilo watt hora
L	Litro

lit.	Litro
m	Metros
MADRP	Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural e das Pescas
MJ	Mega Joule
MJ_{eléctrico}	Mega Joule eléctrico
MJ_{fóssil}	Mega Joule fóssil
MJ_{fóssil primário}	Mega Joule fóssil primário
mL	Mililitros
mm	Milímetros
°C	Graus Celsius
OMAIAA	Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares
PAG	Potencial de Aquecimento Global
PDA	Potato Dextrose Agar
PENDR	Plano Estratégico Nacional do Desenvolvimento Rural
PIB	Produto Interno Bruto
PNDFCI	Plano Nacional da Defesa da Floresta Conta Incêndios
PROF	Plano Reginal de Ordenamento Florestal
QREN	Quadro de Referência Estratégica Nacional
RE	Requisito Energético primário fóssil
SAIC	Scientific Applications International Corporation
SETAC	Society of Environmental Toxicology and Chemistry
t	Tonelada
UNEP	United Nations Environment Programme

RESUMO

Os cogumelos são reconhecidos como alimento e, certamente, algumas espécies como iguarias, pois há muito que são apreciados pelo seu sabor e textura. Atualmente, existe um crescente interesse do público no consumo de cogumelos como alimentos funcionais devido às suas propriedades nutracêuticas. A colheita de cogumelos silvestres e a produção de cogumelos sapróbios ao nível industrial têm vindo a aumentar. A importância de estudos sobre a produção de cogumelos em Sistemas Abertos e em Sistemas Fechados é cada vez maior devido à elevada procura de novas espécies e suas propriedades. Para tal é importante proceder à Avaliação de Ciclo de Vida destes sistemas, uma vez que esta é uma ferramenta que nos permite avaliar os impactos ambientais de uma atividade em toda a sua cadeia de produção ou o impacto e importância de um determinado processo.

Para desenvolver a produção de cogumelos nativos selecionaram-se duas espécies modelo e procedeu-se ao levantamento de estudos realizados para a produção em sistemas abertos de *Lactarius deliciosus*, e a pesquisa de técnicas e soluções já existentes para desenvolvimento de um método de produção de *Agrocybe cylindracea* em sistemas fechados. Após obtenção dos dados sobre a produção destas duas espécies modelo foi realizada uma Avaliação de Ciclo de Vida para analisar os impactos de cada sistema de produção e de forma a potenciar todo o processo de produção de cogumelos em sistemas abertos e em sistemas fechados. No presente estudo foram utilizadas duas categorias de impacto para a avaliação, nomeadamente o Potencial de Aquecimento Global ($\text{gCO}_2\text{eq/kg}$ cogumelo) e o Requisito Energético Primário Fóssil ($\text{MJ}_{\text{fóssil}}/\text{Kg}$ cogumelo).

Para a produção de cogumelos em sistemas abertos, a espécie *Lactarius deliciosus* revelou ser uma espécie com interesse estratégico e com reduzido impacto ambiental. O seu potencial no mercado português ainda se encontra por explorar, ao contrário do que acontece em Espanha onde esta espécie já é bem conhecida no mercado. Relativamente à produção em sistema fechado de *Agrocybe cylindracea*, dos dois substratos testados, palha de trigo e acácia, o substrato de acácia originou cogumelos com boa qualidade, e a sua Eficiência Biológica foi similar à produção em palha de trigo.

No que respeita à Avaliação do Ciclo de Vida dos dois sistemas de produção, verificou-se que o sistema de produção fechado tem maior impacto ambiental devido às necessidades energéticas inerentes ao processo. Observou-se que a produção de 1kg de *A. cylindracea*, em sistema fechado, apresenta maior impacto ao nível do potencial de aquecimento global e do requisito energético primário fóssil, quando comparado à produção de 1kg de *L. deliciosus*, em sistema aberto. Na produção de *A. cylindracea* o potencial de aquecimento global obtido foi de 4294,47gCO₂eq, enquanto a produção em sistema aberto de *L. deliciosus* foi de 678,67gCO₂eq. Relativamente ao requisito energético primário fóssil para a produção em sistema fechado de *A. cylindracea* o valor obtido foi de 164,32 MJ_{fóssil primário}, enquanto no sistema aberto de *L. deliciosus* foi 103,68MJ_{fóssil primário}.

No sistema de produção fechado será importante realizar futuramente ajustes nos vários processos que o constituem de forma a reduzir custos e impactos ambientais. Apesar da necessidade de otimização dos processos de produção, foi possível estabelecer um sistema de produção para espécies de interesse nutricional e económico.

PALAVRAS CHAVE

Avaliação de Ciclo de Vida; Sistema de Produção Aberto, Sistema de Produção Fechado, *Lactarius deliciosus*, *Agrocybe cylindracea*

ABSTRACT

Mushrooms are recognised for their culinary value worldwide and some species considered as real delicacies, very much appreciated due to their flavour and texture. On the other hand, due to their nutraceutical value, mushrooms have received increasing attention by public communities all over. This led to an increase in the harvest of wild mushrooms and on the production of saprobic mushrooms at the industrial level. This continuous enhancing demand for nutraceutical mushrooms and for new species makes the research on mushroom production of extreme importance, whether in Closed or Open Systems. It is thus important to perform a Life Cycle Assessment on such systems in order to evaluate the environmental impact of an activity in all the production chain, or the impact and the importance of a specific process.

For the production of native mushrooms, two model species were selected: *Lactarius deliciosus* and *Agrocybe cylindracea*. Previous reports on the production of these species were investigated, including studies on the production of *Lactarius deliciosus* in open systems. For the latter specie, data on current methodologies and techniques for production in closed systems was collected and further analysed. Following data analysis considering the production and growth of both model species, a Life Cycle Assessment was performed in order to evaluate the impact of each system, and subsequently heighten the production process for both closed and open systems. In the present study, two impact categories for the evaluation were used, namely the Global Warming Potential (gCO₂eq/kg mushroom) and the Primary Fossil Energy Requirement (MJ_{fossil}/Kg mushroom).

Considering mushroom production in an open system, this research revealed that *Lactarius deliciosus* is a promising specie, due to its' strategic interest and reduced environmental impact. Interestingly, its market value in Portugal is yet to be explored, as opposed to Spain where this specie is commercially available and settled. Regarding the production in closed systems of *Agrocybe cylindracea*, using two different substrates – wheat straw and acacia – results showed that the latter originates good quality mushrooms, presenting a Biological Efficiency similar to the one obtained using wheat straw.

Taking into consideration Life Cycle Assessment analysis, results provide evidence that there is a stronger environmental impact when using closed production

systems, due to the higher energetic costs inherent to the process. The major impact at the Global Warming Potential and the Primary Fossil Energy Requirement levels was observed in the production of 1kg of *A. cylindracea* in closed system, when compared with the same quantity of *L. deliciosus*, in open system. The Global Warming Potential of *A. cylindracea* was 4294,47 gCO₂eq, and 678,67gCO₂eq for *L. deliciosus* in open systems. The values relating the Primary Fossil Energy Requirement were 164,32 MJ_{primary fossil} for *A. cylindracea* in closed system and 103, 68 MJ_{primary fossil} for *L. deliciosus* in open systems.

Future optimization will be of utmost importance in order to reduce the costs and environmental impacts of the closed system. During the course of this research, a production system was established for species with high nutritional and economical interest, as well as an evaluation of the impact of both systems.

KEYWORDS

Life Cycle Assesment; Open Production System, Closed Production System, *Lactarius deliciosus*, *Agrocybe cylindracea*

1 – INTRODUÇÃO

Os Fungos são um importante grupo de organismos, cuja importância para a humanidade apenas tem sido reconhecida há pouco mais de um século, apesar de alguns terem já sido domesticados com sucesso pelo Homem há milhares de anos e sem nunca ter sido reconhecida a sua existência (Chang, 2002). Os fungos são muito importantes como agentes no ciclo do carbono, azoto e outros nutrientes presentes na biosfera, e na degradação de materiais e produtos. São seres eucariontes heterotróficos, pertencentes ao reino Fungi, unicelulares (como leveduras e bolores) ou multicelulares (macro e microfungos) (Griffin, 1996). Os fungos multicelulares formam estruturas filamentosas, denominadas de **hifas**, que em conjunto formam o **micélio** (Figura 1) (Kalač, 2009). A sua reprodução ocorre de forma assexuada e sexuada, o seu ciclo sexual consiste no acasalamento e meiose, enquanto o ciclo assexual é mitótico. Durante o processo de reprodução sexual os fungos produzem os **carpóforos**, vulgarmente conhecidos como **cogumelos** (Figura 1). Os cogumelos são uma estrutura especializada formada no processo de reprodução sexuada dos macrofungos, que têm como função a disseminação dos esporos (Deacon, 2006). Ao germinarem, estes esporos dão origem a um novo micélio, um novo indivíduo, diferente ao responsável pela sua origem. Os fungos estão divididos em vários grupos funcionais de acordo com o seu modo de nutrição (Figura 2). Ao longo deste trabalho serão explorados, principalmente, características de dois grupos: Fungos Sapróbios e Fungos Micorrízicos.

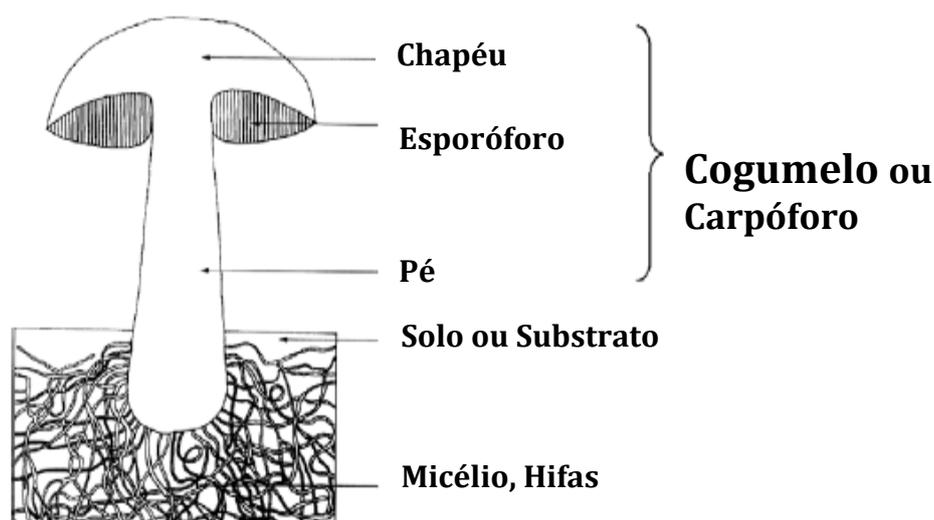


Figura 1- Esboço de um cogumelo e termos micológicos utilizados. Adaptado de Kalač, 2009.

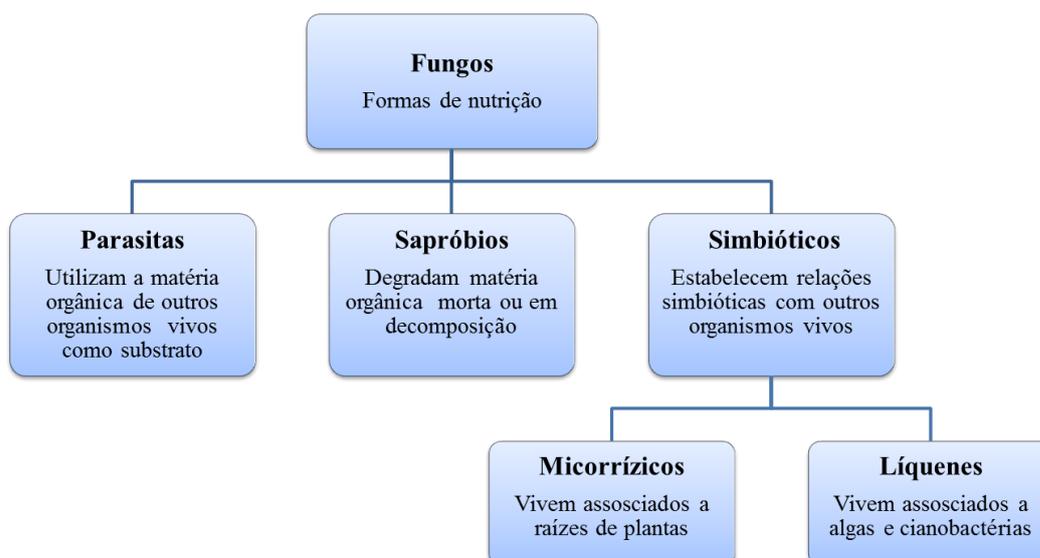


Figura 2 - Grupos funcionais dos fungos

A maioria das espécies de fungos são sapróbias, alimentando-se de matéria orgânica. Têm a capacidade de quebrar a maioria dos compostos orgânicos, incluindo lenhina, um composto que é um componente principal da madeira e é muito difícil de quebrar ou digerir. Esta capacidade deve-se à digestão extracelular por ação de enzimas (lenhinases como as lenhino peroxidases, manganesoperoxidases e lacases) que são segregadas para o meio ambiente e posteriormente absorção dos nutrientes produzidos. Os fungos micorrízicos, ao contrário dos fungos sapróbios, vivem em associação simbiótica com as raízes das plantas, e através desta associação o fungo recebe nutrientes orgânicos da planta, enquanto esta obtém do fungo nutrientes minerais, água e proteção contra agentes nocivos à planta (Kendrick *et al.*, 2011a e 2011b).

Atualmente conhecem-se cerca de 2500 espécies de cogumelos silvestres comestíveis, das quais cerca de 300 são espécies micorrízicas. Mais de 200 espécies têm sido colhidas da natureza e utilizadas na medicina tradicional, principalmente na Ásia (Honrubia, 2011).

Por exemplo, Miles e Chang (1997) reportam o uso da espécie *Auricularia auricula* cultivada na China desde 600 a.C. em troncos de madeira. Outras espécies, como a *Flammulina velutipes* e a *Lentinula edodes*, foram mais tarde cultivadas de forma semelhante. No entanto o maior avanço no cultivo de fungos ocorreu em França no século XVII com a produção de *Agaricus bisporus* em substrato compostado (Sánchez, 2004). Desde então, esta espécie mantém-se como a espécie mais produzida no Ocidente, mas outras espécies populares na Ásia têm surgido (e.g. *Pleurotus* spp.,

Lentinula edodes) e sido produzidas em larga escala, tendo uma crescente popularidade nos mercados Ocidentais (Chang, 2002).

Os cogumelos são reconhecidos como alimento e, certamente, algumas espécies como iguarias, pois há muito que são apreciados pelo seu sabor e textura. Atualmente são reconhecidos como alimentos nutritivos, bem como uma importante fonte de compostos ativos biológicos com características medicinais, uma vez que têm baixo teor em calorias, gorduras e ácidos gordos essenciais, e são ricos em proteínas, vitaminas e minerais (Cheung, 2003; Reis, 2012). Os cogumelos possuem muitas propriedades únicas que têm desempenhado papéis importantes na história humana, religião e cultura. Em geral os cogumelos são constituídos por minerais, proteínas, fibras e glúcidos, e contêm cerca de 90% de água e 10% de matéria seca, possuindo uma composição química atraente do ponto de vista nutricional, sendo comparáveis aos ovos, leite e carne. Os cogumelos contêm também vitaminas e um elevado número de aminoácidos essenciais (Sánchez, 2004; 2010) e o seu valor energético (chapéu de um cogumelo fresco) varia entre o 250 e 350 Kcal/Kg (Sánchez, 2010).

Atualmente existe um crescente interesse do público em alimentos funcionais e os cogumelos com os seus metabólitos secundários apresentam-se como uma nova fonte de medicamentos. O número de estudos relativamente a propriedades nutraceuticas de cogumelos silvestres e cogumelos de produção industrial tem vindo a aumentar (Xu *et al.*, 2011; Suárez Arango *et al.*, 2013). Os cogumelos têm a vantagem de possuírem ingredientes bioativos e são uma escolha apropriada. No entanto é necessário ter conhecimento do material de origem, de forma a garantir a segurança humana. Por outro lado, o seu consumo e possíveis aplicações já são amplamente reconhecidos devido à longa experiência dos seus efeitos sobre a saúde humana (Vaz *et al.*, 2011, Erjavec *et al.*, 2012, Reis *et al.*, 2012; Vamanu *et al.*, 2012).

A produção em grande escala e aplicação industrial de algumas proteínas fúngicas comprova o seu potencial biotecnológico e estabelece os macrofungos como uma valiosa, embora relativamente inexplorada, fonte de proteínas específicas (Erjavec *et al.*, 2012; Suárez Arango *et al.*, 2013). A resistência dos microrganismos aos fármacos existentes e um grande número de doenças intratáveis exige novas abordagens na medicina humana e veterinária. O uso mais eficaz dos recursos naturais é necessário, incluindo rendimentos mais elevados das culturas, de forma eco e bio-sustentável, com utilização de recursos energéticos renováveis (Erjavec *et al.*, 2012).

Para desenvolver a produção de cogumelos nativos fez-se um levantamento de estudos realizados, técnicas e soluções já existentes de forma a realizar uma Avaliação de Ciclo de Vida para seleção de espécies com interesse estratégico e de forma a potenciar todo o processo de produção de cogumelos em **sistemas abertos** e em **sistemas fechados**:

- ✓ Por **sistemas abertos de produção de cogumelos** entende-se diferentes ecossistemas florestais onde são aplicadas técnicas de silvicultura e gestão sustentável, obtendo um co-produto principal: os recursos micológicos (e.g. colheita de cogumelos silvestres, cultivo de espécies de cogumelos específicas, micoturismo).
- ✓ Por **sistemas fechados de produção de cogumelos** entende-se o cultivo ou produção de espécies selecionadas de cogumelos sapróbios em larga escala com sistemas controlados (estufas ou estruturas similares com condições abióticas e substratos controlados).

1.1 SISTEMAS ABERTOS DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS

1.1.1 A Floresta em Portugal

Portugal é um dos países da Europa com maior área florestal em relação ao total do seu território, e segundo o último Inventário Florestal Nacional, de 2010, essa área corresponde a cerca de 3,15 milhões de hectares. As três principais espécies florestais em Portugal são *Pinus pinaster* (pinheiro-bravo), *Eucalyptus globulus* (eucalipto) e *Quercus suber* (sobreiro); em conjunto estas espécies representam 74% da área florestal existente em Portugal continental (Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas - ICNF, 2013; Pereira, 2014).

Portugal tem uma grande relação histórica com a floresta e a importância da floresta e do sector florestal é inquestionável, uma vez que a extensão territorial ocupada pela floresta em Portugal Continental é de 3,4 milhões de hectares, representando 38% do território. A vasta área florestal está na base de um sector da economia que representa cerca de 3% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional e garante mais de 260 mil postos de trabalho (Pinho, 2011). A floresta tem uma função económica, ambiental, social e cultural muito relevante, e a indústria transformadora

que lhe está associada baseia-se num recurso natural e renovável e assegura a existência de produtos recicláveis e reutilizáveis gerando emprego e riqueza.

As florestas portuguesas são na sua grande maioria propriedade privada (Batista e Santos, 2005), uma realidade contrária à maioria dos países da União Europeia. Em Portugal continental, 86% da área florestal é propriedade privada, 11% é propriedade comunal e apenas 2,6% está sob administração do Estado. Este facto leva a que sejam aplicadas diversas formas de gestão, onde é dada maior ênfase à produção em detrimento da prestação de serviços ambientais (Pereira, 2014). É importante uma gestão correta dos espaços florestais, que passa necessariamente pela definição adequada da política de planeamento tendo em vista a valorização, a proteção e a gestão sustentável dos recursos florestais. Segundo a Lei de Bases da Política Florestal, aprovada pela Lei nº33/96, de 17 de Agosto da Assembleia da República, os princípios orientadores da política florestal nomeadamente os relativos à organização dos espaços florestais determinam que o ordenamento e gestão florestal se fazem através de planos regionais de ordenamento florestal (PROF), cabendo a estes a explicitação das práticas de gestão a aplicar aos espaços florestais, manifestando um carácter operativo face às orientações fornecidas por outros níveis de planeamento e decisão política.

Os objetivos gerais do PROF, nos termos do nº3 do artigo 5.º da Lei de Bases da Política Florestal, prevêm:

- a avaliação das potencialidades dos espaços florestais, do ponto de vista dos seus usos dominantes;
- a definição do elenco de espécies a privilegiar nas ações de expansão e reconversão do património florestal;
- a identificação dos modelos gerais de silvicultura e de gestão dos recursos mais adequados e a definição das áreas críticas do ponto de vista do risco de incêndio,
- a sensibilidade à erosão e da importância ecológica, social e cultural,
- as normas específicas de silvicultura e de utilização sustentada dos recursos a aplicar nestes espaços.

É de salientar que a política florestal além de ter como objetivos a promoção e garantia de um desenvolvimento florestal sustentável dos espaços florestais e do acesso à sua utilização, também se propõe a assegurar a melhoria do rendimento global dos agricultores, produtores e utilizadores dos sistemas florestais e a otimizar a utilização do

seu potencial produtivo, tais como é salientado neste trabalho, os recursos micológicos que encontramos na floresta portuguesa.

Em 2006, decorrendo da necessidade sentida de que as florestas deviam possuir um quadro de referência geral a médio prazo, que seja reconhecido pela sociedade e por todos os agentes do sector, foi aprovada a Estratégia Nacional para as Florestas (ENF). A ENF aprovada pela Resolução do Conselho de Ministros n.º114/2006, de 15 de setembro, é um elemento de referência nas orientações e planos de ação públicos e privados para o desenvolvimento do sector florestal. A Estratégia Nacional para as Florestas concatena-se com a Estratégia Florestal da União Europeia e concretiza-se com a adoção de Medidas no âmbito do Quadro de Referência Estratégica Nacional (QREN) e do Plano Estratégico Nacional do Desenvolvimento Rural (PENDR) e em Planos e Programas Especiais, como os da Defesa da Floresta Contra Incêndios (PNDFCI) ou o Plano de Ação Nacional de Combate à Desertificação, onde são definidos os objetivos específicos, as metas, a repartição de responsabilidades e o quadro de recursos humanos e financeiros (Departamento de Gestão e Produção Florestal, 2013).

Segundo a Estratégia Nacional para a Floresta (ICNF, 2006), durante o século XX, no Continente, a área de espaços florestais arborizados aumentou muito significativamente sobretudo devido ao sobreiro e pinheiro bravo até à década de 70 e ao eucalipto desde a década de 50 (Figura 3), atingindo em 1995 um valor máximo de 3,3 milhões de hectares. A evolução da área florestal ficou sobretudo associada à crescente valorização, atribuída por proprietários florestais e pela sociedade em geral,

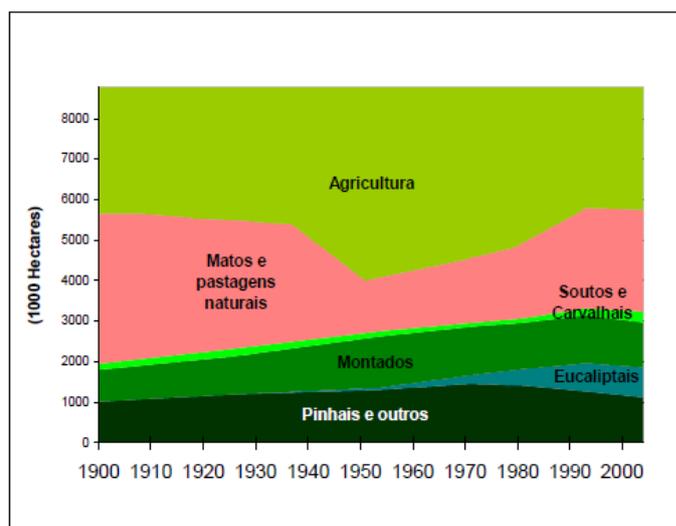


Figura 3 – Evolução da área floresta, de matos e de agricultura no Continente Português durante o século XX. Fonte DGPF, 2013

em comparação com outros usos do solo alternativos, em particular em relação aos matos e em relação à própria agricultura.

A Estratégia Nacional para as Florestas, que incidirá sobre os espaços florestais, áreas de matos e pastagens, tem como objetivo a valorização destes espaços de forma a maximizar o seu valor. Essa valorização é efetuada de forma global considerando não só os valores de uso direto (comercial) dos produtos tradicionais da floresta como a madeira, a cortiça e a resina, como também outros menos vezes contabilizados. Estão neste caso valores de uso direto referentes a produtos não lenhosos (mel, frutos, cogumelos, plantas aromáticas) mas também ao pastoreio, à caça, à pesca, e ao recreio, e a valores de uso indireto, como os referentes à proteção do solo e dos recursos hídricos, ao sequestro de carbono, e à proteção da paisagem e da biodiversidade.

1.1.2 Produto da Floresta - Cogumelos Silvestres

Segundo dados da Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR, 2014), em Portugal tem-se verificado um incremento significativo das atividades relacionadas com a exploração de cogumelos silvestres, que são cada vez mais, uma fonte de rendimento suplementar para os agricultores e populações locais. Observa-se um aumento da procura deste recurso em diversas vertentes nomeadamente gastronomia, turismo e indústria farmacêutica, facto que provocou uma afluência indiscriminada de pessoas aos espaços florestais, a invasão das propriedades privadas e a utilização de métodos de colheita desadequados (a recolha é feita de forma aleatória e desregrada) que ameaçam a sobrevivência deste recurso e o equilíbrio ecológico dos habitats assim como comprometer a segurança alimentar dos consumidores.

De acordo com o Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares (OMAIAA, 2006), a comercialização dos cogumelos silvestres efetua-se, em maior volume, durante os meses de Março, Abril, Maio, Outubro e Novembro, altura em que existe precipitação e, simultaneamente, as temperaturas são amenas. O escoamento no mercado nacional está garantido, sendo as transações efetuadas através de hipermercados, mercados abastecedores, hotéis e restaurantes. Cerca de metade da produção dos cogumelos silvestres colhidos são exportados para Espanha e França (OMAIAA, 2006). Nesta área no momento em Portugal operam apenas 3 empresas de transformação e exportação de cogumelos silvestres: a Sociedade Agroboletus e a Excusul, sediadas em Coruche, e a EuroFunghi, sediada na Guarda. As principais

espécies comercializadas e exportadas são *Cantharellus cibarius*, *Boletus edulis*, *Hydnum repandum* e *Lactarius deliciosus* (Excosul, 2013). Nos últimos anos surgiram alguns projetos com o intuito de valorização e exploração de cogumelos silvestres e trufas, como por exemplo, o projeto AGRO 449 – “Criação de áreas de produção de trufas, terfezas e cogumelos comestíveis nas regiões interiores do País”, que decorreu entre 2004 e 2007. O projeto AGRO 449 tinha como objetivos a monitorização da diversidade de cogumelos comestíveis silvestres em parcelas de estudo e instalação de parcelas de demonstração com espécies de fungos comestíveis. Com este projeto confirmou-se que nas regiões interiores de Portugal existe uma grande produção de cogumelos silvestres comestíveis, ocorrendo a apanha de um pequeno número de espécies por região, e obtiveram-se dados de produtividade de algumas espécies de Primavera e de Outono. Ao longo do Projeto AGRO 449 foram instaladas parcelas de demonstração para a produção de *Terfezia* spp., outras espécies micorrízicas e espécies sapróbias. O projeto previa ainda uma unidade demonstração de produção de cogumelos sapróbios, que se encontra em produção (Henriques, 2008 e Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro - DRAPC, 2000).

Existe ainda uma grande parte de mercado para explorar na área dos cogumelos silvestres, principalmente porque a floresta portuguesa ocupa cerca de 39% do território e está associada a uma atividade florestal que representa 11% das exportações totais portuguesas e cerca de 3% do PIB nacional, garantindo mais de 260 mil postos de trabalho, como já foi referido anteriormente. Segundo o Plano Estratégico Nacional Desenvolvimento Rural 2007-2013 (Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural e das Pescas - MADRP, 2007), o sector florestal tem uma dimensão económica, ambiental e social determinante, a que o elevado risco dos incêndios e a dimensão da área ardida têm vindo a adicionar-se como fatores críticos. Contudo, o tecido empresarial agrícola português está extremamente envelhecido, sendo o peso dos produtores que têm mais de 65 anos (46%) o dobro da média comunitária.

O valor económico da produção silvícola é, segundo dados do Instituto da Natureza e das Florestas (ICNF), superior a mil milhões de Euros, distribuídos pelos sectores da produção de cortiça (42 %), madeira para trituração (27 %), madeira para serrar e folhear (18 %), madeira para energia (4 %), bem como o mel, frutos secos e cogumelos. A par das fileiras tradicionais, o sector florestal nacional é atípico em relação ao de muitos outros países pela diversificação da atividade económica que apresenta. Para além dos produtos madeireiros baseados no pinheiro bravo e eucalipto, e da atividade

corticeira, o sector florestal tem outros polos economicamente ativos a uma escala regional. Estão, neste caso, produções não lenhosas como frutos e sementes, e atividades como o pastoreio extensivo, caça, pesca em águas interiores, e outros produtos (cogumelos, plantas aromáticas, mel e resina) que, na sua totalidade, representam cerca de 400 milhões de euros por ano, com claras tendências e possibilidades de aumento (MADRP, 2007). Estas produções valorizam o espaço florestal numa lógica multifuncional, possibilitando rendimentos anuais que permitem a fixação de populações, e contribuindo para o desenvolvimento rural.

Os fungos comestíveis e medicinais têm vindo a destacar-se como produtos florestais, com importância crescente nas florestas da Península Ibérica, com maior destaque em Espanha. As colheitas anuais têm aumentado o valor económico das florestas e proporcionam um rendimento aos coletores e mercados locais. A maioria das espécies colhidas nas florestas são fungos micorrízicos, que são essenciais ao estabelecimento das plântulas e a longo prazo para a nutrição das árvores (Martinez de Aragón *et al.*, 2007). Os fungos micorrízicos trazem assim duas vantagens: são uma fonte de rendimento para o produtor e trazem vantagens à fitossanidade da floresta. Uma das principais espécies florestais em Portugal é o Pinheiro-Bravo (*Pinus pinaster*) que ocupa uma área aproximadamente de 714 mil hectares (ICFN, 2006). As áreas florestais de pinheiro bravo são os principais **sistemas abertos** produtores de *Lactarius deliciosus* e de *Tricholoma equestre* e *T. portentosum*.

1.1.3 Importância Sócio-Económica dos Recursos Micológicos

Atualmente a diversidade de fungos é cada vez mais procurada a nível internacional, e tem surgido um novo interesse comercial na diversificação das espécies; grande parte devido a um processo que obedece a uma procura de novos sabores e texturas e uma melhor compreensão das características moleculares dos compostos fúngicos (Díaz-Balteiro *et al.*, 2013; Honrubia, 2011). Os fungos, como recursos endógenos, têm tido maior importância em períodos de carência e depressão socioeconómica, e o momento atual de valorização deve-se ao diversificado interesse que despertam. Com potencialidade de aplicações gastronómicas, comerciais e ambientais torna-se num instrumento, que original e bem gerido, é um claro instrumento para o desenvolvimento rural dos territórios onde são produzidos. A clara aposta que se tem verificado no cultivo de espécies de alto valor acrescentado, através da instalação de sistemas de

produção agro-florestais abrem novas oportunidades ao desenvolvimento, assim como fará se for aplicada uma gestão integral, equilibrada e sustentável das florestas produtoras de cogumelos e trufas (Honrubia, 2011).

De acordo com os registos da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), em 2011 a produção de cogumelos e trufas em Portugal foi de 1240 toneladas, um valor mais baixo que o ano anterior. Em 2010 a produção tinha sido de 1400 toneladas. Estes valores representam uma pequena fatia do que é produzido na União Europeia que nos anos de 2010 e 2011 produziu 1,78 milhões e 1,8 milhões de toneladas, respetivamente. O consumo de cogumelos *per capita* em Portugal é de 3 Kg/ano, um valor muito baixo quando comparado com o segundo maior produtor europeu, a Holanda, que consome 14 Kg/ano per capita. A produção mundial de cogumelos e trufas atingiu as 7,7 milhões de toneladas em 2011, sendo que a área de colheita total foi de 20 573 ha e a produção é de 3,7 milhões Kg/ha. A China é, segundo a FAO, o maior produtor mundial, tendo em 2010 e 2011 produzido 4,8 e 5 mil milhões de toneladas de cogumelos. Em segundo e terceiro lugar na produção mundial, e que tem vindo a sofrer um decréscimo na produção nos últimos anos, encontram-se a Itália com 761 mil toneladas produzidas em 2011 e 800 mil em 2010, seguida dos Estados Unidos da América que em 2010 e 2011 produziram 390 e 359 mil toneladas, respetivamente. A Holanda, segundo maior produtor europeu e quarto produtor mundial, produziu 266 mil toneladas em 2010 e 304 mil em 2011.

1.1.4 *Lactarius deliciosus*

Nome Científico	<i>Lactarius deliciosus</i> (L.) Gray
Nome Comum	Cardela, Cenoura, Cenourinha, Ceba, Cortelhas, Lactário, Laranja, Laranjinha, Pinheiras, Pinheirinha, Raivaca, Sanchas, Seta, Telheira, Vaca-vermelha, Verdete.
Origem	Europa e América do Norte
Habitat Natural	Muito frequente em Portugal. Exclusivamente associado a pinheiros, em todos os tipos de solo mas não tolera terrenos encharcados. Surge no outono e primavera.
Morfologia	Espécie Micorrízica. Chapéu cor de cenoura com forma que varia desde convexa à de taça, enrolado quando jovem, com 4 a 14 cm de diâmetro. Frequentemente com linhas de tons alaranjados mais escuros na forma de círculos concêntricos. Apresenta lamelas compactas e decorrentes, e pé curto, alaranjado e muitas vezes oco, com 3 a 8 cm de comprimento e 1 a 2 cm de diâmetro. Quando manuseado apresenta manchas de cor verde; o seu látex apresenta cor vermelho-alaranjada.
Comestibilidade	Bom comestível. Com odor agradável a fruta e sabor adocicado com final um pouco acre.
Propriedades Medicinais	Atividade antitumoral, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e atividade hipocolesterolémica
Valor de Mercado	Em Espanha, 1 a 12€ por Kg quando comprado diretamente ao coletor, bem estabelecida nos mercados na Europa, Ásia e Norte de África.
Referências	De Roman e Boa, 2006; Ferreira <i>et al.</i> , 2007; Palacios <i>et al.</i> , 2011; Ding <i>et al.</i> , 2012; DGADR e ICNF, 2013;

1.2 SISTEMAS FECHADOS DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS

1.2.1 Produção de Cogumelos Sapróbios

O cultivo de espécies sapróbias é um processo biotecnológico de reciclagem de resíduos orgânicos lenho-celulósicos. Este é um processo que combina a produção de um alimento rico em proteínas com a redução da poluição ambiental (Beetz e Kustudia, 2004). A produção de cogumelos é considerada a segunda tecnologia microbiana mais importante a seguir à utilização de leveduras, uma vez que os cogumelos têm sido apreciados pelo seu sabor, propriedades medicinais e pelos seus valor ecológico e económico (Sánchez, 2010).

As três espécies sapróbias de maior produção a nível mundial são *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes* (Sánchez, 2010). No entanto, o mercado português começa a apostar em novas espécies de cogumelos como *Lepista nuda* e outras espécies de *Pleurotus*. Uma outra espécie com grande visibilidade mundial é o *Agrocybe cylindracea*, espécie que foi cultivada pela primeira vez em 1950 (Chang, 2002), e a sua produção ocorre em inúmeros países Asiáticos e Europeus, tais como: China, Tailândia, Japão, Alemanha, Itália, Grécia e Espanha (Oei, 2006; Uhart *et al.*, 2008). Dois fatores para a apreciação e o cultivo de *Agrocybe cylindracea* são as suas propriedades medicinais e a sua boa comestibilidade. Nos últimos anos vários estudos têm vindo a demonstrar que uma das lectinas presente nesta espécie tem propriedades antitumorais podendo ser utilizada no tratamento de cancro (Erjavec. *et al.*, 2012). Adicionalmente, estão ainda reportados benefícios no funcionamento renal, efeitos hipoglicémico, antitumoral, antimutagénico e hipoclosterolémico (Hu *et al.*, 2011; Mau *et al.*, 2001; Rathee *et al.*, 2011; Taira *et al.*, 2005; Tsai *et al.*, 2006).

A produção e cultura de cogumelos têm vindo a evoluir nas últimas décadas devido à utilização de sistemas modernos de cultura. O progresso e desenvolvimento de novas tecnologias, como o controlo computadorizado, a colheita automatizada de cogumelos, a preparação do composto, a produção de cogumelos em substratos não compostados e os novos métodos de esterilização dos substratos e a preparação de micélios têm vindo a aumentar a produtividade das culturas de cogumelos (Sánchez, 2010; Chang, 2002). Estes aspetos são cruciais para a produção de cogumelos com um melhor sabor, textura, aparência, qualidades e propriedades nutricionais a baixo custo (Sánchez, 2004). Estes

fungos são um exemplo claro de como os resíduos de baixo valor acrescentado, produzidos principalmente através das atividades da floresta, agrícolas e indústrias de transformação alimentar, pode ser convertido num material de valor acrescentado para a sociedade.

O cultivo de cogumelos envolve diversas operações, as quais devem ser realizadas cuidadosamente, uma vez que a preparação do substrato, inoculação, incubação e condições de produção, para além de dependerem da espécie a ser cultivada, afetam a qualidade do produto final (Figura 4). A primeira etapa do cultivo de cogumelos envolve a obtenção do micélio puro de uma estirpe específica da espécie pretendida. O micélio pode ser obtido através de esporos, a partir de uma parte específica do cogumelo, ou a partir de bancos de inóculo existentes em instituições ou empresas. Para obter o inóculo, o micélio é estimulado a desenvolver-se em grãos de cereais, e.g., trigo ou centeio, o que é usualmente designado de “spawn”. A finalidade do grão de cereal revestido pelo micélio é colonizar rapidamente o substrato. (Stamets, 2000; Sanchez, 2010)

O sucesso da produção vai depender, em grande parte, da qualidade do “spawn”, que deve ser preparado em condições estéreis, de forma a diminuir a possibilidade de contaminação do substrato (Sánchez, 2004). O substrato, a forma e as condições em que é utilizado depende da espécie a ser cultivada. Espécies como o *Agaricus bisporus* necessitam de substratos pré-fermentados, enquanto que espécies como a *Lentinula edodes* cresce preferencialmente em troncos. O número de estudos sobre substratos para aplicação produção de cogumelos é crescente (Tabela 1) e cada vez mais a aposta passa por uma gestão sustentável de resíduos.

Um dos problemas na produção de cogumelos reside no facto de as estirpes, por vezes, diminuírem o seu desempenho de produção após várias subculturas e/ou após um longo período de armazenamento em meio de cultura, levando a uma redução do rendimento (Uhart *et al.*, 2008). Eficiência Biológica (EB) é definida como o rendimento da produção em relação ao peso seco do substrato e torna-se essencial para definir se uma espécie é economicamente atraente (Isikhuemhen e Mikiashvilli., 2009). A EB é uma ferramenta útil na otimização das condições da cultura quando da combinação de diferentes substratos e/ou adição de suplementos nutricionais. No entanto, estas práticas nem sempre são bem sucedidas na recuperação da produção de estirpes de desempenho comercial. Uma solução alternativa pode estar na procura de

INTRODUÇÃO

novas estirpes naturais, para aplicação em cultivo, podendo estas resultar na descoberta de estirpes altamente produtivas ou de qualidade superior (Sánchez, 2010).

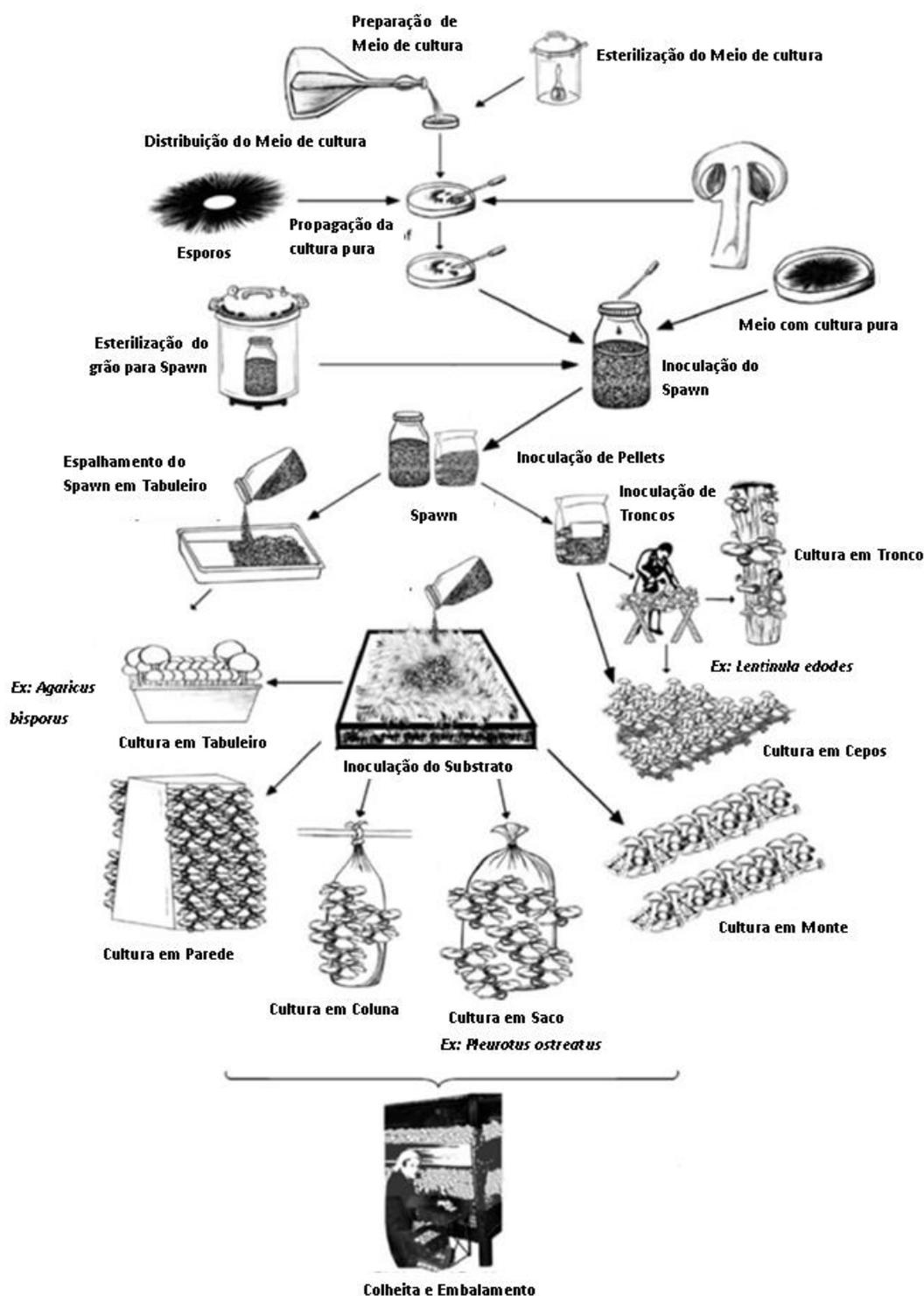


Figura 4 - Metodologia de cultivo e colheita de cogumelos. Adaptado de Stamets, 2000.

Tabela 1 - Substratos lenho-celulósicos utilizados para a produção de macrofungos.

Substratos	Espécies	País	Referências
Resíduos e Palha de Arroz	<i>Volvariella sp.</i> ; <i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Agaricus sp.</i> ; <i>Coprinus sp.</i> <i>Flammulina sp.</i> ; <i>Lentinus edodes</i> <i>Volvariella esculenta</i> ; <i>Pholiota microspora</i> ; <i>Auricularia auricular</i>	Brasil, China, EUA, Índia, Turquia	Abrar <i>et al.</i> 2009; Beetz e Kustudia, 2004; Bonatti <i>et al.</i> , 2004; Cayetano-Catarino, 2008; Fasidi, 1998; Murugesan, 1995; Obodai <i>et al.</i> , 2003; Rani <i>et al.</i> , 2008; Sivrikaya, 1999; Zhang <i>et al.</i> 2002;
Palha de Trigo	<i>Volvariella sp.</i> ; <i>Pleurotus sp.</i> <i>Agaricus sp.</i> ; <i>Agrocybe aegerita</i>	Argentina, Bangladesh, Bélgica, China, Grécia, EUA, Índia, Turquia	Abrar <i>et al.</i> 2009; Beetz e Kustudia, 2004; Carabajal, 2012; Elisashvili <i>et al.</i> , 2008; Moonmoon <i>et al.</i> , 2010; Kapoor <i>et al.</i> , 2009; Philippoussis <i>et al.</i> , 2001; Shah <i>et al.</i> , 2004; Yildiz <i>et al.</i> 2002; Zhang <i>et al.</i> , 2002
Resíduos de Café (cascas e borras)	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Lentinus edodes</i>	EUA, México	Beetz e Kustudia, 2004; Fan <i>et al.</i> , 2003
Serradura (várias espécies arbóreas)	<i>Pholiota microspora</i> ; <i>Auricularia auricular</i> ; <i>Coprinus sp.</i> ; <i>Lentinus edodes</i> ; <i>Pleurotus pulmonarius</i> ; <i>Grigola frondosa</i> ; <i>Agaricus bisporus</i> ; <i>Hericium sp.</i> ; <i>Volvariella esculenta</i>	Argentina, Colômbia, EUA, Nigéria, Turquia	Beetz e Kustudia, 2004; Fasidi, 1998; Ko <i>et al.</i> , 2005; Mamiro, 2008; Montoya, 2008; Onuoha, 2009; Shah <i>et al.</i> , 2004; Yildiz <i>et al.</i> , 2002
Resíduos de Algodão	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Volvariella sp.</i> ; <i>Lentinus edodes</i>	Grécia, EUA, Índia, Israel	Beetz e Kustudia, 2004; Fasidi, 1998; Hadar <i>et al.</i> 1992; Philippoussis <i>et al.</i> , 2001; Ragunathan, 2003
Resíduos Florestais	<i>Lentinus edodes</i>	Bélgica, Chile, EUA	Elisashvili <i>et al.</i> , 2008; Silva <i>et al.</i> , 2005;
Estrume de cavalo	<i>Agaricus sp.</i>	Todo o mundo	Beetz e Kustudia, 2004
Fibra de Coco	<i>Pleurotus sp.</i>	EUA, Índia	Beetz e Kustudia, 2004; Ragunathan, 2003
Resíduos de Milho	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Lentinus edodes</i> ; <i>Volvariella esculenta</i>	EUA, Nigéria, Turquia	Beetz e Kustudia, 2004; Fasidi, 1998; Sivrikaya, 1999

Tabela 1 – Substratos lenho-celulósicos utilizados para a produção de macrofungos (continuação).

Substratos	Espécies	País	Referências
Resíduos de Papel	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Stropharia sp.</i>	Bahrain, EUA, Turquia	Baysal <i>et al.</i> , 2003; Beetz e Kustudia 2004; Mandeel <i>et al.</i> , 2005; Sivrikaya, 1999; Yildiz <i>et al.</i> , 2002
Cascas de frutos (Cacau, Amendoin)	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Agrocybe aegerita</i> ; <i>Volvariella volvacea</i>	EUA, Grécia	Beetz e Kustudia, 2004; Philippoussis <i>et al.</i> , 2001
Resíduos da Produção de vinho e Bagaço moído	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Volvariella sp.</i> ; <i>Hypsizygus marmoreus</i>	EUA, Israel	Akavia <i>et al.</i> , 2009; Beetz e Kustudia, 2004; Murugesan, 1995
Resíduos do Oléo de palma	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Volvariella sp.</i>	EUA, Malásia	Beetz e Kustudia, 2004; Saidu <i>et al.</i> , 2011
Palha de Feijão e Soja	<i>Pleurotus sp.</i>	EUA, Índia	Abrar <i>et al.</i> , 2009; Beetz e Kustudia, 2004
Resíduos de Banana	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Lentinus connotus</i> ; <i>Volvariella volvacea</i>	Brasil, China, EUA, Índia, Nigéria	Beetz e Kustudia, 2004; Belewu, 2005; Bonatti <i>et al.</i> , 2004; Carvalho <i>et al.</i> , 2012; Rani, 2008; Reddy <i>et al.</i> , 2003; Yue-Lian, 2011
Resíduos de grãos destilados	<i>Hericium sp.</i>	EUA	Beetz e Kustudia, 2004
Plantas infestantes	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Índia	Das e Mukherjee, 2007
Resíduos da produção de azeite, Bagaço de azeitona	<i>Pleurotus sp.</i> ; <i>Fomes fomentarius</i>	Tunísia, Turquia	Brozzoli <i>et al.</i> , 2010; Neifar <i>et al.</i> , 2013; Ruiz-Rodriguez <i>et al.</i> , 2010
Resíduos de Sorgo	<i>Pleurotus eous</i> ; <i>Lentinus connotus</i> ; <i>Volvariella esculenta</i>	Índia	Fasidi, 1998; Rani, 2008
Resíduos da produção de chá	<i>Pleurotus florida</i>	Turquia	Gülser, 2003; Sivrikaya, 1999;

1.2.2 Aplicação de Resíduos para Produção

A produção de resíduos é uma parte inegável da sociedade humana. Estes são produzidos por diversos sectores incluindo a indústria, floresta, agricultura e os municípios. A acumulação de resíduos deve-se em grande parte a uma filosofia consumista, o que tem vindo a provocar sérios problemas ambientais e de saúde pública, sendo então necessário o desenvolvimento sustentável em termos da recuperação dos recursos e a reciclagem dos resíduos (Taherzadeh e Karimi, 2008). Uma perspetiva que visa promover um maior desenvolvimento sustentável e recuperação de recursos tem influenciado as práticas de gestão de resíduos sólidos, e está gradualmente sendo implementada através de orientações políticas a nível nacional na maioria dos países industrializados e mesmo em desenvolvimento.

a) Resíduos Lenho-celulósicos

Os resíduos lenho-celulósicos representam uma grande parte dos recursos renováveis que atualmente não são utilizados. O uso de polissacarídeos dos complexos lenho-celulósicos é limitado devido ao elevado teor de lenhina presente. No entanto alguns fungos produzem enzimas com capacidade de degradar a lenhina (Hadar *et al.*, 1992), e conseqüentemente, têm sido desenvolvidas linhas de investigação com o objetivo de estudar o processo dos mecanismos fisiológicos que regulam a síntese de enzimas que fazem a bioconversão de lenhina e celulose.

Uma vez que as aplicações biotecnológicas de bioconversão exigem grandes quantidades de enzimas a baixo custo, uma das abordagens apropriadas para o efeito é o de utilizar o potencial de resíduos lenho-celulósicos para a produção de cogumelos comestíveis, até porque muitos destes fungos com capacidade de degradar lenhina são comestíveis (Elisashvili, 2008). Os fungos têm a capacidade para degradar vários substratos lenho-celulósicos e podem ser produzidos em materiais naturais provenientes da agricultura, floresta, criação de animais e indústria. Mtui (2009) destaca os recentes avanços no tratamento de resíduos lenho-celulósicos e formas de transformá-los em produtos de valor acrescentado, com foco principal nos resíduos domésticos e agro-industrial. Segundo este autor, os sistemas de tratamento físico-químicos e biológicos parecem ser as opções preferidas para o tratamento destes resíduos. O tratamento biológico envolve o uso de organismos inteiros ou enzimas no pré-tratamento dos resíduos lenho-celulósicos, onde fungos e bactérias são utilizados para biotratamento.

Muitos fungos comestíveis são capazes de colonizar e degradar uma grande variedade de substratos lenho-celulósicos e outros resíduos que são produzidos principalmente pela actividade da agricultura, floresta e da indústria de processamento de alimentos (Sánchez, 2010). O cultivo de cogumelos comestíveis é um processo biotecnológico utilizado para a reciclagem de resíduos orgânicos lenho-celulósicos, e é o único processo atual que combina a produção de alimentos ricos em proteínas com a redução da poluição ambiental (Mandee *et al.*, 2005). Estudos sobre o cultivo de cogumelos e o uso de diferentes estirpes, diferentes substratos lenho-celulósicos, diferentes tipos de “spawn”, humidade, condições físico-químicas, etc. são importantes para a produtividade do cultivo de cada fungo (Beetz e Kustudia, 2004; Sánchez 2010).

Um dos pontos mais importantes na produção de cogumelos são os substratos. Atualmente são descritos inúmeros substratos lenho-celulósicos muitos dos quais preparados a partir de resíduos sem qualquer utilidade ou valor acrescentado (Dhillon *et al.*, 2013). No entanto, existe lugar para o desenvolvimento de substratos inovadores e diferenciadores, a partir da valorização de recursos naturais renováveis, entre os quais resíduos florestais e vegetação invasora e autóctone. Em Portugal, verifica-se um aumento na produção e diversificação da oferta, dada a sua boa rentabilidade e o aumento do consumo. As regiões produtoras mais importantes são Trás-os-Montes, Beira Litoral, Ribatejo e Oeste. No entanto, a nível mundial os maiores produtores de cogumelos são a China e os Estados Unidos da América, enquanto na Europa destacam-se a Espanha, França e os Países Baixos (OMAIAA, 2006).

Segundo o Plano Estratégico Nacional Desenvolvimento Rural 2007-2013, o sector florestal tem uma dimensão económica, ambiental e social determinante, às quais o elevado risco de incêndios e a dimensão da área ardida têm vindo a adicionar-se como fatores críticos. A par das fileiras tradicionais, o sector florestal nacional é atípico em relação ao de muitos outros países pela diversificação da atividade económica que apresenta. Para além dos produtos madeireiros baseados no pinheiro bravo e eucalipto, e da atividade corticeira, o sector florestal tem outros polos economicamente ativos a uma escala regional. Estão, neste caso, produções não lenhosas como frutos e sementes, e atividades como o pastoreio extensivo, caça, pesca em águas interiores, e outros produtos (cogumelos, plantas aromáticas, mel e resina) que, na sua totalidade, representam cerca de 400 milhões de euros por ano, apresentam claras tendências e possibilidades de aumento. Estas produções valorizam o espaço florestal numa lógica

multifuncional, possibilitando rendimentos anuais que permitem a fixação de populações, e contribuindo para o desenvolvimento rural.

É referido por Sánchez (2009) que anualmente são produzidos pela atividade das indústrias de transformação de produtos agrícolas, florestais e de alimentos, elevadas quantidades de resíduos orgânicos, particularmente materiais lenho-celulósicos. Atualmente, uma grande parte destes resíduos são queimados, desfeitos ou enviados para compostagem, e usados para aterro ou para melhorar a qualidade do solo. A acumulação de materiais lenho-celulósicos em grandes quantidades nos locais em que os resíduos agrícolas apresentam um problema de eliminação não só resulta na deterioração do meio ambiente, mas também em perda de material potencialmente valioso, que pode ser usado no fabrico de papel, produção de biomassa, compostagem, alimentação humana e animal, entre outros.

No entanto, com a aplicação de tecnologia de bioconversão adequada estes resíduos representam um recurso valioso, especialmente para as regiões com economia que ainda está em grande parte baseada na agricultura. Um dos processos, economicamente viável, para a bioconversão de um grande número de resíduos lenho-celulósicos é representado pelo cultivo de cogumelos comestíveis (Sánchez, 2009).

Matérias-primas lenho-celulósicas incluem os resíduos provenientes da agricultura e da silvicultura, culturas energéticas, resíduos de biorrefinarias e fábricas de celulose (Jönsson *et al.*, 2013). A biomassa lenho-celulósica pode contribuir significativamente para o fornecimento futuro de novas formas de produzir alimento, sem competição por terra arável. Resíduos lenho-celulósicos de madeira e florestais são particularmente abundantes na natureza e têm potencial para bioconversão. Apenas uma pequena quantidade de celulose, hemicelulose e lenhina produzidos pela silvicultura é usado, sendo o resto considerado resíduos sem valor económico. Lenhina e a celulose são os componentes principais da biomassa vegetal, compreendendo cerca de metade do material vegetal produzido por fotossíntese, e representa também o recurso renovável orgânico mais abundante no solo (Sánchez, 2009).

Os principais componentes dos resíduos lenho-celulósicos utilizados para o cultivo de cogumelos são celulose, hemicelulose e lenhina (Sánchez, 2009). Consequentemente, o crescimento e frutificação de uma espécie de fungo sobre um substrato lenho-celulósico em particular, dependerá em grande parte da capacidade do fungo para utilizar os componentes principais do substrato como uma fonte nutricional. Isto, por sua vez, é determinada pela capacidade do cogumelo para sintetizar as enzimas

hidrolíticas e oxidativas necessárias para degradar os componentes de celulose, hemicelulose e lenhina em compostos de baixo peso molecular que pode ser facilmente assimilados (Hadar *et al.*, 1992).

Um pequeno grupo de fungos filamentosos evoluiu com a capacidade de decompor a lenhina, o componente mais recalcitrante das paredes das células de planta. Estes são conhecidos como os fungos da podridão branca, que possuem a habilidade única de degradar a lenhina, utilizando de forma eficiente o carbono. Outros fungos lenhinocelulolíticos são fungos da podridão-castanha que despolimerizam rapidamente materiais celulósicos, apenas modificando quimicamente a lenhina, normalmente por metilação. Coletivamente, estes fungos que degradam resíduos lenho-celulósicos desempenham um papel importante no ciclo de carbono (Deacon *et al.*, 2006).

1.2.3 *Agrocybe cylindracea*

Nome Científico	<i>Agrocybe cylindracea</i> (DC.) Maire <i>Agrocybe aegerita</i> (Brig.) Singer
Nome Comum	Cogumelo de choupou ou Cogumelo-de-anilha
Origem	Europa
Habitat Natural	Frequente em Portugal, comum nas margens de ribeiros ou zonas abrigadas, onde vai decompondo árvores mortas, <i>Populus</i> , <i>Salix</i> , <i>Quercus</i> , <i>Ulmus</i> , <i>Acer</i> , <i>Robinia</i> e <i>Melia</i> . Durante todo o ano em condições de humidade prolongada.
Morfologia	Chapéu de cor branca, ocre, ou mesmo castanho-escuro, liso ao toque, podendo, no entanto, ficar rachado quando exposta ao calor. Lâminas inicialmente branco-bege, passando a cor “café com leite” depois de maduras. Pé delgado, com anel membranoso por vezes inexistente, de cor clara. Aparece geralmente em tufos.
Comestibilidade	Muito bom comestível, sobretudo em jovem. apreciado pelas suas propriedades culinárias e odor agradável.
Propriedades Mediciniais	Antioxidante, agente antimutagénico e antitumoral. Vitaminas: Riboflavina (B2); Niacina (B3); Ácido Pantoténico (B5) Estão ainda reportados benefícios no funcionamento renal e atividade antifúngica.
Valor de Mercado	7-8 Euro/Kg (dados de Itália)
Referências	Ngai <i>et al</i> 2003, Taira <i>et al.</i> , 2005; Huang <i>et al.</i> , 2006 Tsai, 2007 Erjavec <i>et al.</i> <i>et al.</i> , 2012; DGADR e ICNF, 2013

1.3 AVALIAÇÃO DE CICLOS DE VIDA PARA COMPARAÇÃO DE SISTEMAS

A **Avaliação de Ciclo de Vida (ACV)** é uma ferramenta para avaliar os impactos ambientais e recursos utilizados ao longo do ciclo de vida de um produto, i.e., desde a aquisição do material em bruto, via produção e fases de utilização, até à gestão de resíduos (Finnveden, 2009 e International Organization for Standardization - ISO, 2006). Esta é uma ferramenta de gestão ambiental utilizada para comparar o impacto ambiental de diferentes produtos com funções similares, permitindo uma análise completa de um sistema. A ACV é então, segundo definição da norma ISO 14040, a compilação dos fluxos de entradas e saídas e avaliação dos impactos ambientais associados a um produto ao longo do seu ciclo de vida (ISO, 2006). O **Ciclo de Vida** de um produto é definido por um conjunto de fases consecutivas e interligadas do sistema do produto, desde a aquisição ou produção de matéria-prima a partir de recursos naturais até aos resíduos finais (Figura 5) (United Nations Environment Programme - UNEP e Society of Environmental Toxicology and Chemistry - SETAC, 2011; ISO, 2006).



Figura 5- Fases do Ciclo de Vida de um produto. Adaptado de Scientific Applications International Corporation – SAIC, 2006.

O conceito de Ciclo de Vida procura desenvolver um melhor e mais completo conhecimento sobre o consumo de energia e materiais, e consequente libertação de emissões associadas ao sistema do produto (SAIC, 2006). Esta ferramenta serve de modelo para governos, empresas e sociedade civil para delinear estratégias, ações, instrumentos políticos e/ou incentivos necessários para o desenvolvimento de produtos

e serviços mais ecológicos. Sem o conhecimento de onde e ao longo do ciclo de vida de um produto residem as melhores oportunidades para reduzir o seu impacto ambiental, podem ser realizadas mudanças que criarão impactos inesperados no ciclo de vida do produto (UNEP e SETAC, 2011). Mudanças realizadas no sistema do produto, como por exemplo, a mudança de local de produção ou a origem da matéria-prima, podem contribuir para diferentes impactos ambientais tais como: aumento da utilização de combustíveis fósseis e pesticidas, impacto no fluxo de nutrientes, aumento do uso da água e de ocupação de terras, e por último perda de biodiversidade devido à intensificação da agricultura (UNEP e SETAC, 2009).

A ACV avalia o desempenho ambiental através da sequência de atividades executadas ao longo da criação de um produto ou na realização de um serviço. Para tal é importante a quantificação, ao longo das várias etapas do ciclo de vida do produto ou serviço, a extração e consumo de recursos, assim como as emissões para o ar, água e solo. Ou seja, é feita a avaliação da sua contribuição para potenciais impactos ambientais, que incluem alterações climáticas, eco-toxicologia, saúde humana, radiação ionizante e deterioração da base das matérias-primas. Para tal foi elaborada uma norma, em 1997, a ISO 14040 onde a ACV é estruturada em quatro fases (Figura 6) (ISO, 2006; SAIC, 2006; UNEP e SETAC, 2011):

1. **Definição do Objetivo e Âmbito** (ISO 14041) – Definição e descrição o produto ou serviço. Estabelecimento do contexto no qual a análise é realizada e identifica as fronteiras e os aspetos ambientais a rever.
2. **Análise de Inventário** (ISO 14041) – Identificação e quantificação da energia, água e materiais utilizados. Quantificação das emissões ambientais (e.g. emissões atmosféricas, produção de resíduos sólidos, descargas de águas residuais).
3. **Avaliação de Impactos do Ciclo de Vida** (ISO 14042). – Avaliação dos efeitos dos vários aspetos identificados na Análise de Inventário sobre o Homem e a ecologia.
4. **Interpretação do Ciclo de Vida** (ISO 14043). – Avaliação dos resultados da Análise de Inventário e da Avaliação dos Impactos para selecionar o produto ou serviço.

A ACV consiste então na definição de um objetivo, seleção das fronteiras do sistema do produto, construção do inventário do ciclo de vida (i.e., quantificação das emissões e recursos do ciclo de vida de um produto), e a Avaliação do Impacto do Ciclo

de Vida (i.e., avaliação do impacto das emissões e da extração dos recursos no ambiente).

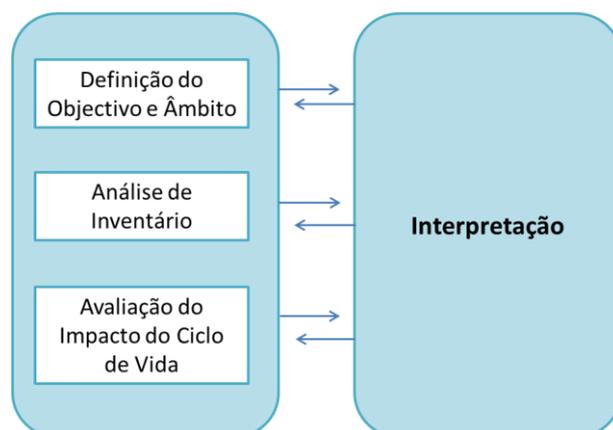


Figura 6- Fases da Avaliação de Ciclo de Vida (Adaptado de UNEP e SETAC, 2011).

A ACV é um método que juntamente com outros fatores, como os custos e os dados de desempenho, auxilia na tomada de decisões aquando da seleção de um produto ou serviço que resulte num menor impacto no ambiente (SAIC, 2006). As principais aplicações de uma ACV são: analisar as origens de um problema de um produto; comparar diferentes versões/protótipos de um produto; criar novos produtos; escolher entre um determinado número de produtos comparáveis (Guinée *et al*, 2002). Realizar uma ACV permite (Guinée *et al*, 2002; SAIC, 2006; UNEP e SETAC, 2011):

- Avaliação sistemática dos efeitos ambientais associados a um produto;
- Quantificar as emissões libertadas para o ambiente: emissões atmosféricas, água e solo;
- Analisar o custo-benefício relativamente ao ambiente, com um ou mais produtos ou serviços específicos, de forma a receber apoio de agentes, como por exemplo o Estado ou a comunidade, para aceitação da ação planeada;
- Auxiliar na identificação de mudanças significativas nos impactos ambientais entre fases do ciclo de vida e o meio ambiente;
- Avaliar os efeitos no Homem e na ecologia causados pelo consumo de material e libertações ambientais para a comunidade local, região, etc.;
- Comparar os efeitos na saúde e impactes ecológicos entre dois ou mais produtos ou serviços, e identificar quais os impactes mais relevantes em cada um dos produtos ou serviços;
- Identificar os impactes em uma ou mais áreas específicas do ambiente que tenham especial importância.

A ACV é uma ferramenta analítica que providência informação para o suporte à decisão. Um estudo ACV não prova que uma determinada decisão deve ser tomada, mas sim é tomada uma determinada decisão baseada num estudo ACV e outras evidências/fatores. Todavia, a ACV não substitui o processo de decisão em si (Guinée *et al.*, 2002; Guinée, 2004).

1.4 OBJETIVOS

A produção de cogumelos tem sido alvo de crescente interesse a nível mundial devido à sua importância económica e ecológica, e pelas suas propriedades medicinais. Para a criação de um sistema de produção de cogumelos nativos é importante realizar um levantamento de estudos, técnicas e soluções já existentes. Devido ao elevado número de espécies silvestres e espécies cultivadas, e com base na informação previamente existente sobre estas, é essencial a definição de duas espécies modelo. Para tal foram escolhidas duas espécies nativas, o *Lactarius deliciosus* e o *Agrocybe cylindracea*, de sistema aberto e sistema fechado, respetivamente.

Tendo em conta estas problemáticas, este trabalho tem como objetivos:

- 1) o levantamento de dados sobre a produção de *Lactarius deliciosus* em sistema aberto,
- 2) o desenvolvimento de um modelo de produção de *Agrocybe cylindracea* em sistema fechado.
- 3) a Avaliação de Ciclo de Vida, para a determinação do Potencial de Aquecimento Global e o Requisito Energético Primário Fóssil, aplicado a sistemas abertos e fechados.

Para a concretização destes objetivos procedeu-se à execução do inventário sobre a produção de *Lactarius deliciosus*, ao desenvolvimento de metodologias de cultivo de cogumelos sapróbios e à elaboração de uma Avaliação de Ciclo de Vida de ambos os sistemas de produção. Esta avaliação permite a comparação de impactos ambientais entre os dois sistemas de produção. Actualmente os estudos existentes relativamente à ACV em sistemas abertos e fechados são escassos, pelo que se torna pertinente a comparação entre os dois sistemas desenvolvidos neste trabalho.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 SISTEMAS ABERTOS DE PRODUÇÃO DE *LACTARIUS DELICIOSUS*

A espécie selecionada para o estudo de um sistema de produção aberto foi o *Lactarius deliciosus*. Esta espécie é bastante abundante no território português e um dos mais conhecidos pela população (Henriques, 2008). De forma a realizar um levantamento de dados sobre a cadeia de valor associada à produção do cogumelo silvestre *Lactarius deliciosus* em sistema aberto foi efetuada uma revisão dos dados já publicados em Portugal e Espanha.

2.2 SISTEMAS FECHADOS DE PRODUÇÃO DE *AGROCYBE CYLINDRACEA*

2.2.1. Material Biológico

A espécie selecionada para o desenvolvimento de um protótipo de sistema de produção fechado foi o *Agrocybe cylindracea*. Esta é uma espécie que surge com alguma frequência no estado selvagem em Portugal, no entanto ainda não tem grande expressão no mercado português, ao contrário do que acontece em países como a Itália e a China. Para iniciar os procedimentos de produção foram colhidos vários carpóforos em duas localizações distintas (Tabela 2).

A partir dos carpóforos recolhidos procedeu-se ao isolamento *in vitro* de duas estirpes da espécie *Agrocybe cylindracea*. Foi seguido o crescimento *in vitro* de cada uma das espécies, após isolamento. O meio de cultura PDA, potato dextrose agar (Uhart *et al.*, 2008; Isikhuemhen e Mikiashvilli., 2009), foi utilizado para o crescimento do fungo. O meio foi preparado de acordo com as instruções do fabricante (DIFCO, EUA), autoclavado a 121 ° C durante 30 minutos e distribuído em placas de Petri estéreis (90 mm de diâmetro), numa câmara de fluxo laminar. Cada placa de Petri contendo cerca de 20 ml de meio foi inoculada com um dos fungos isolados e incubada a 25 °C, até o fungo atingir o crescimento máximo. Culturas de reserva das espécies de fungos são mantidas em meio de cultura, PDA, a 4°C (Figura 7) (Stamets, 2000; Uhart *et al.*, 2008; Isikhuemhen e Mikiashvilli., 2009). As culturas foram isoladas e mantidas nos Laboratórios da Associação BLC3.

Tabela 2 - Identificação das espécies isoladas e dados de recolha.

Espécie	Local de recolha	Data	Estirpe
<i>Agrocybe cylindracea</i>	Coimbra- Jardim Botânico	Outubro 2012	Acyl/Bot
<i>Agrocybe cylindracea</i>	Coimbra – TAGV	Fevereiro 2013	Acyl/TAGV

2.2.2. Produção de Inóculo

A produção de inóculo, para posterior inoculação de substratos, foi feita tendo como base sementes de centeio, que após incubação com o micélio do fungo de que se pretende produzir cogumelos, são utilizadas para a inoculação de substratos lenhocelulósicos. Os grãos de centeio foram embebidos em água durante 24 horas, drenados, e misturados com 1g/Kg de carbonato de cálcio (CaCO_3) e 8g/Kg sulfato de cálcio (CaSO_4). O inóculo resultante continha cerca de 40% de H_2O , relativamente ao seu peso seco. Foram colocados 80g de sementes de centeio preparado em cada frasco de vidro (com um volume de 200 ml), que foram autoclavados durante 1 hora a 121 °C. Cada frasco foi inoculado com blocos de micélio, cortados da totalidade do meio de uma placa de Petri, totalmente invadidas como descrito acima. Fizeram-se 20 réplicas para a estirpe de *Agrocybe cylindracea* seleccionada, **Acyl/TAGV**, e incubaram-se 10 frascos de cada espécie a 25° C, e outros 10 à temperatura ambiente durante, pelo menos, 15 dias antes da sua utilização para inocular os diferentes substratos que iriam ser testados.



Figura 7 - **A**- Banco de inóculo nativo, meios de cultura conservados a 4°C de forma a conservar o fungo e limitar o seu crescimento, de forma a que se mantenha por um maior período de tempo. **B** -Inóculo ou Spawn da estirpe Acyl/TAGV para posterior inoculação de substratos.

2.2.3 Inoculação e Fase de Incubação

Foram preparados substratos (Figura 8), 1000 g de serradura de Acácia e 200 g de Palha, sem adição de suplementos; os substratos foram colocados em sacos de polipropileno autoclaváveis. Os dois substratos ficaram em água destilada *overnight*, pois pretende-se obter cerca de 70% de humidade (Uhart *et al.*, 2008). Escorreu-se o excesso de água. Na câmara de fluxo, inocularam-se os substratos com inóculo de Acyl/TAGV 5% w/w. Os substratos inoculados foram colocados numa câmara a 24 ± 2 °C, sem luz e com humidade relativa de 60 a 80 % (**Fase de Incubação**) (Figura 8A). Registou-se data da inoculação e de início da fase de incubação. Quando o substrato se encontrava totalmente invadido passaram-se os sacos à **fase de frutificação** (Figura 8A) (Isikhuemhen e Mikiashvilli., 2009). Registou-se data da invasão total do substrato.

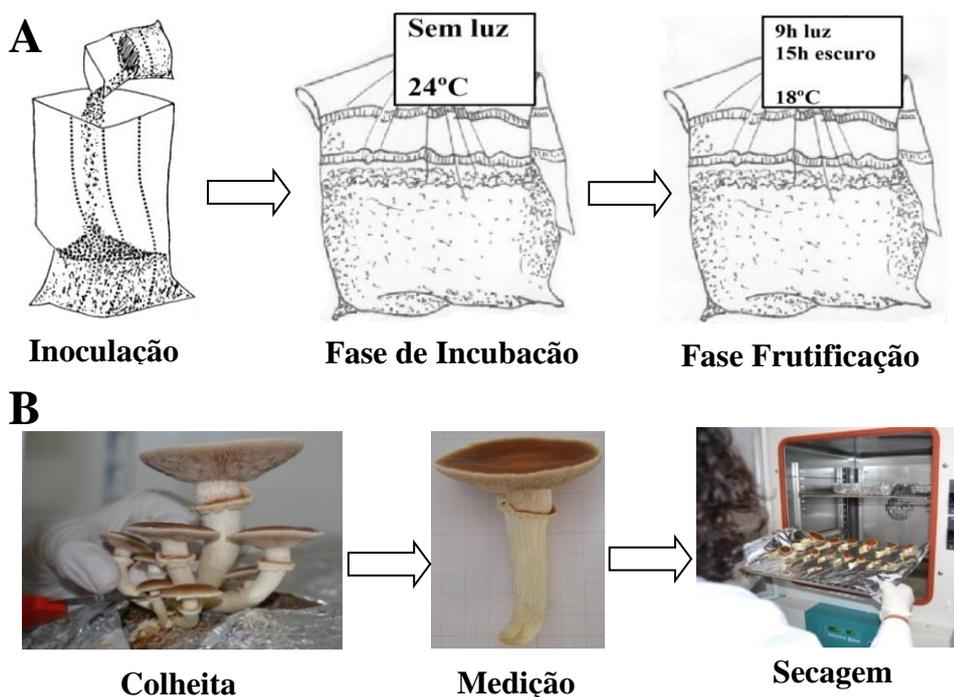


Figura 8 - Esquema do processo realizado na produção de cogumelos. A – Fases de Produção. B – Colheita dos carpóforos e procedimentos posteriores.

2.2.4 Fase de Frutificação

Após a invasão total dos substratos passaram-se os substratos invadidos para a câmara de frutificação; inicialmente fizeram-se pequenos cortes com cerca 15 a 20 mm. As condições de frutificação utilizadas foram: 18 a 20°C, 70-90% humidade relativa, 9h luz/15h escuro com luz fluorescente de 20w (sala 2 x2,5m). (Philippoussis *et al.*, 2001; Uhart *et al.*, 2008 e Carabajal, 2012). Registou-se a data de início da fase de frutificação. Quando da formação do primeiro primórdio, registou-se a data e colheram-se os carpóforos quando atingiram a maturação desejada (período de 4 a 5 dias). Registaram-se dados de Produção e Qualidade (Tabela 3) (Figura 8B).

Tabela 3 - Parâmetros de registo para análise dos Dados de Produção e de Qualidade.

	Parâmetros	Referências
Dados de Produção	-Total de dias de cultivo	
	- <i>Earliness</i> : tempo em dias entre a inoculação e o aparecimento do primeiro primórdio.	Philippoussis <i>et al.</i> , 2001; Uhart <i>et al.</i> , 2008;
	- Número total de carpóforos	Isikhuemher e
	- Peso fresco e seco dos carpóforos	Mikiashvilli, 2009;
	- Número de flushes	Carabajal, 2012
	-Carpóforos por <i>flush</i>	Koutrotsios <i>et al.</i> , 2014
	-Calcular a Eficiência Biológica $\frac{\text{Peso fresco do carpóforos colhidos}}{\text{Peso seco do substrato}} \times 100$	
Nota: secar os carpóforos a 50°C		
Dados de Qualidade	- Peso fresco do chapéu	
	- Peso seco do chapéu	Uhart <i>et al.</i> , 2008
	- Espessura do chapéu	
	- Peso fresco do pé	
	- Peso seco do pé	
	- Diâmetro do chapéu	
	- <i>Fruitbody fleshiness</i> (g/cm ²)	
- <i>Gracility Index</i>		

2.2.5 Análise Estatística

A análise estatística de todos os resultados obtidos foi realizada através da realização do Teste de Fisher para análise de variância e posterior Teste t de Student para amostras independentes, de forma a verificar se existe uma diferença entre as médias de grupos independentes.

2.3 AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA PARA COMPARAÇÃO DE SISTEMAS

Este estudo centra-se na produção de cogumelos e aborda dois casos: produção em sistemas abertos e produção em sistemas fechados. A Avaliação de Ciclos de Vida apresentada segue a abordagem “*weel-to-wheel*”, que se baseia na avaliação desde a produção até ao consumidor. Na realização de uma ACV aplica-se o cálculo inúmeros indicadores, contudo, o presente estudo apenas se concentrará no cálculo do Potencial de Aquecimento Global e do Requisito Energético Primário Fóssil. A ACV segue as diretrizes ISO 14040:2006 (ISO, 2006) e é dividida em quatro etapas: (1) Definição de objetivo e âmbito; (2) Inventário de Ciclo de Vida; (3) Avaliação de Impactos do Ciclo de Vida; (4) Interpretação do Ciclo de Vida (apresentado no capítulo 3.3).

2.3.1 Objetivo e Âmbito

O objetivo deste estudo foi determinar os potenciais impactos ambientais de dois cogumelos produzidos através de dois sistemas de produção distintos - sistema aberto e sistema fechado. Este objetivo foi conseguido através da criação de uma unidade funcional, selecionando as fronteiras do sistema relevantes e ao determinar os requisitos de dados. Este estudo inclui, no caso do sistema fechado: a aquisição de matéria-prima, cultivo e transporte para o local de venda; e no caso do sistema aberto a manutenção do povoamento florestal, a colheita e tratamento do produto e transporte para o local de venda. Foram utilizados os dados reunidos nos capítulos 3.1 e 3.2, para a abordagem “*weel-to-wheel*”. De forma a avaliar os impactos calcularam-se as emissões de gases de efeito estufa e o requisito energético primário fóssil.

a) *Definição da unidade funcional*

A unidade funcional é uma unidade de referência que constitui a base para a comparação entre os diferentes sistemas (Schau E Fet, 2008). Para todos os três produtos, a fronteira do sistema incluiu pré-produção, produção, e pós-produção. A unidade funcional atribuída foi 1 kg de peso fresco para ambas as espécies de cogumelos colhidas nos dois sistemas de estudo.

2.3.2 Inventário de Ciclo de Vida

O inventário de ciclo de vida (ICV) considera todas as entradas e saídas relevantes para os processos que ocorrem durante o ciclo de vida de um produto. Os ciclos de vida foram divididos em três etapas: pré-produção, produção e pós-produção. Os dados de processo para essas três etapas foram coletados diretamente dos dados obtidos da instalação/ensaio piloto em sistema fechado, e no caso do sistema aberto, de dados publicados em revistas e jornais técnico-científicos. Estes dados de processo ou os valores de entrada foram utilizados para calcular os consumos necessários para produzir 1Kg de *A. cylindracea* e *L. deliciosus*.

De forma a contabilizar as emissões totais, para cada cenário de estudo, teve-se como base o cálculo do potencial de aquecimento global para cada cenário de estudo (PAG). O PAG é calculado pela seguinte fórmula, que tem em consideração as emissões de Gases de efeito estufa (GEE) gerados em todos os processos do Ciclo de Vida em função da unidade funcional, kg de cogumelos.

$$PAG = \sum_i Q_{GEE} \times Coef_{CO_2} \quad (\text{IPCC, 1997})$$

onde:

$i = CO_2, CH_4$ e N_2O ;

QGEE – Caudal de emissão de cada gás (GEE) por cada MJelétrico produzido [g/MJelétrico];

CoefCO₂ – Coeficiente de equivalência para CO₂ para cada GEE, para um horizonte temporal de 100 anos (Tabela 4); e

PAG – Potencial de aquecimento global [gCO₂eq/kg cogumelos].

Foi então efetuado o cálculo das emissões de GEE associadas a cada processo. Neste estudo foram considerados os GEE mais relevantes nos sistemas abertos e fechados de produção de cogumelos, com base em biomassa: dióxido de carbono (CO₂);

metano (CH₄); e óxido nitroso (N₂O), sendo o valor das emissões de cada um deles convertido para dióxido de carbono equivalente (CO₂eq) com base nos fatores de conversão (horizonte temporal de 100 anos) do Painel Intergovernamental para as Alterações Climáticas (IPCC, 2006), os quais são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Fatores de conversão em CO₂eq, segundo IPCC, 2007.

Tipo de Gás	Coefficiente IPCC [gCO₂eq]
CO ₂	1
CO ₂ biomassa	0
CH ₄	23
CH ₄ biomassa	23
N ₂ O	296

O cálculo de emissões de GEE foi efetuado com base no consumo de recursos apresentados na tabela de inventário, elaborada para cada um dos sistemas, e nas emissões específicas de GEE associadas aos diversos materiais e tipos de energia consumidos, apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Emissões específicas de GEE associadas a materiais e energia.

		Unidade	CO₂eq	CO₂	CH₄	N₂O	Referência bibliográfica
Matéria-prima	CaCO ₃	g/Kg	2106	1098,66	0,92	3,33	IPCC (2007)
	Gasóleo (operações florestais) ^a	g/MJ	92	80,61	0,15	0,03	IPCC (1997) e IPCC (2006)
Combustível	Gasóleo (transporte) ^a	g/MJ	88	77,14	0,15	0,03	Várias ^c
	Gasolina (motores de 2 tempos) ^b	g/MJ	86	81,78	0,17	0,00	Várias ^d
Electricidade	Rede elétrica nacional	g/MJ _{elétrico}	124	n.d.	n.d.	n.d.	DGEG (2007b)

Notas sobre a Tabela:

n.d. – não disponível.

a – As emissões de GEE têm em consideração, as emissões emitidas na pré-combustão (extração, produção e transporte do combustível) e na pós-combustão (emissões decorrentes da combustão no motor).

b – Os fatores de emissões de GEE correspondem a motores de combustão interna a 2 tempos, o tipo de motores utilizados na construção de motosserras para atividades florestais. As emissões de GEE têm em consideração, a pré-combustão (extração,

MATERIAL E MÉTODOS

produção e transporte do combustível) e a pós-combustão (emissões decorrentes da combustão no motor).

c - EC (2007); IPCC (2007); Hekkert *et al.* (2005); SenterNovem (2005); Punter *et al.* (2004); Mortimer *et al.* (2003); Choudhury (2002) e Patyk e Reinhardt (2000).

d – IPCC (2007); Punter *et al.* (2004); Choudhury (2002); EC (2007); e IEA (1999).

Foi efetuado o cálculo do requisito energético primário fóssil de cada um dos processos. O cálculo do requisito energético primário fóssil (RE) foi efetuado com base no consumo de recursos apresentados na tabela de inventário de cada um dos sistemas e na energia equivalente associada aos diversos materiais e tipos de energia consumidos, apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Energia primária equivalente.

		Unidade	Energia Equivalente	Referência bibliográfica
Matéria-prima	CaCO ₃	MJ _{fóssil} /Kg	n.d.	-
Combustível	Gasóleo (atividades florestais e de transporte)	MJ _{fóssil} /lit.	43,06 ^a	CELE (2005)
	Gasolina	MJ _{fóssil} /lit.	38,63 ^b	CELE (2005)
Eletricidade	Rede elétrica nacional	MJ _{fóssil} /MJ _{elétrico}	2,87 ^c	DGEG (2007b)

Notas sobre a Tabela:

n.d – não disponível

a – Densidade considerada de 0,850 [Kg/dm³], IPCC (1997) e PCI de 43,31 [MJ/Kg], CELE (2005), para Portugal. Utilizámos um fator de conversão para energia primária de 1,19 [MJ_{fóssil}/MJ_{Gasolina}], EC (2007) e Unnasch (2005).

b – Densidade considerada de 0,725 [Kg/dm³], IPCC (1997) e PCI de 44,77 [MJ/Kg], CELE (2005), para Portugal. Utilizámos um fator de conversão para energia primária de 1,17 [MJ_{fóssil}/MJ_{Gasóleo}], EC (2007), Unnasch (2005) e Hekkert *et al.* (2005).

c – O valor apresentado foi calculado com base no “mix” energético nacional, em 2006.

2.3.3 Avaliação de Impacto do Ciclo de Vida

A avaliação de impactos avalia o potencial de aquecimento global de acordo com os dados obtidos na análise de inventário. As categorias de impacto causa neste estudo são a mudança climática, expressa em gCO₂ equivalente, e o requisito energético primário fóssil, expresso em MJ_{fóssil}.

3 – RESULTADOS



3.1 SISTEMAS ABERTOS DE PRODUÇÃO DE *LACTARIUS DELICIOSUS*

O cogumelo silvestre *Lactarius deliciosus* tem grande importância comercial na Península Ibérica, principalmente em Espanha (Martinez-Peña *et al.*, 2012b; Voces *et al.* 2012; Díaz-Balteiro *et al.*, 2013). Atualmente existem várias publicações que exploram vários fatores da sua cadeia de valor, como a produção, mercado e distribuição. Voces *et al.* (2012) e Díaz-Balteiro *et al.* (2013) propõem o que seria um esquema teórico da cadeia de valor de um cogumelo silvestre. Esta inicia-se no processo de recolha dos cogumelos após produção até que cheguem ao Consumidor Final, passando por várias fases/etapas (Figura 9). Os autores referem que eventualmente esta cadeia de valor poderá ter ligeiras diferenças quando aplicada a um país, região ou até uma espécie fúngica diferente. Apesar da falta de estatísticas para os produtos não madeireiros, e a necessidade de dados estatísticos para as diferentes etapas da cadeia de valor, Díaz-Balteiro e colaboradores reuniram alguns dados relativos a três Mercados Centrais em Espanha (Madrid, Valência e Barcelona) (Tabela 7), que representam cerca de 90% de *Lactarius deliciosus* que chegam ao consumidor através desta via. Os valores de produção, entre 2002 e 2011, nestes mercados tiveram como valor mínimo as 274 toneladas, e como valor máximo as 808 toneladas. Em 2004 quando a produção foi menor o valor de mercado de *Lactarius deliciosus* atingiu os 16,22 €/Kg, enquanto em 2010 a produção foi maior e o valor de mercado desta espécie era de 8,80€/Kg. O valor de mercado desta espécie é bastante variável, e não é inversamente proporcional à produção.

Ao longo do seu estudo o grupo Díaz-Balteiro *et al.* (2013) desenvolveu uma metodologia para caracterizar a disponibilidade de *Lactarius deliciosus* mediante dados agregados. Para analisar a oferta de *L. deliciosus*, estimaram um modelo econométrico, através de dados semanais, onde a variável dependente foi a quantidade disponível de *L. deliciosus*. O objetivo deste modelo econométrico foi quantificar o comportamento dos produtores de cogumelos no mercado Catalão. Para tal, foram consideradas as variáveis económicas (preço) e conjunto de variáveis relacionadas tanto com o mercado de cogumelos como com as condições meteorológicas, sendo a última determinante para a produção de cogumelos. Através do modelo desenvolvido, o trabalho de Díaz-Balteiro *et al.* (2013) permitiu concluir que as variáveis que apresentam uma maior incidência na

RESULTADOS

quantidade disponível não são os preços, mas sim variáveis meteorológicas como a precipitação e a temperatura.

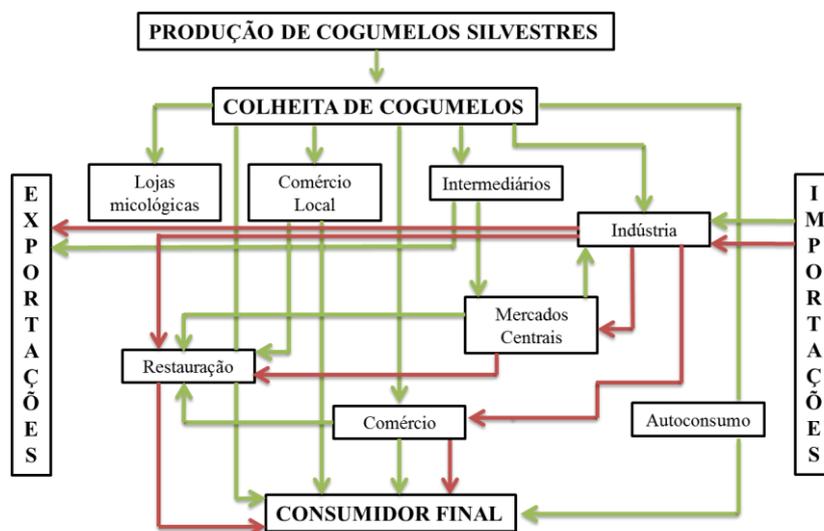


Figura 9 - Esquema teórico da cadeia de valor dos cogumelos silvestres. Linhas Verdes: fluxos de cogumelos em fresco. Linhas vermelhas: fluxos de cogumelos com algum grau de preparação. Adaptado de Díaz-Balteiro *et al.*, 2013.

Tabela 7 - Quantidade de *Lactarius deliciosus* vendida nos Mercados de Madrid, Valência e Barcelona no período de 2002 a 2011. Fonte: Díaz-Balteiro *et al.*, 2013.

Ano	Produção (t)	Preço (€/Kg)
2002	591	6,08
2003	379	8,55
2004	274	16,22
2005	337	15,06
2006	669	12,10
2007	472	13,92
2008	435	8,79
2009	779	12,17
2010	808	8,85
2011	481	13,97

Martinez de Aragón *et al.* (2011) relataram a comercialização da produção de várias espécies de cogumelos silvestres na região de Solsonès, Espanha. De acordo com os dados registados pelos autores ao longo de três anos, 2001, 2002 e 2003, a produção

comercializada de *Lactarius deliciosus* foi de 206,5Kg, 1041Kg e 1133Kg, respetivamente. Estes valores representaram 7,17 €/Kg, 2,46€/Kg e 3,84€/Kg preço de compra ao coletor e 11,8€/Kg, 5,1€/Kg e 8.33€/Kg preço de venda ao consumidor, nos anos de 2001, 2002 e 2003, respetivamente.

Outro trabalho desenvolvido/publicado por Román e Boa (2006) relata a colheita média de 4.000 Kg por dia de *Lactarius deliciosus*, durante um período de 6 semanas, numa aldeia no norte de Espanha. Cada recolector recebe cerca de 2,00€ por Kg de *Lactarius deliciosus*, o que pode representar um lucro de 5.600 a 8.400 € numa época, para uma família com quatro recolectores. O preço pago aos coletores varia entre 1 a 12€ por Kg, e é ainda mais alto quando vendido a mercados grossistas e retalhistas. Román e Boa visitaram um mercado em Barcelona em Novembro de 2002, verificando que este cogumelo estava disponível em todas as bancas de mercado onde normalmente se vendem frutas e vegetais, assim como era dividido em classes e preços (Tabela 8).

Tabela 8 - Classes e preços em que se dividem os cogumelos de *Lactarius deliciosus* vendidos num Mercado em Barcelona. Fonte: Román e Boa, 2006.

Classe	Preço
1ª Classe	6,90 a 13,00 €
2ª Classe	4,90 a 5,99 €
3ª Classe	2,90 a 4,90 €
4ª Classe *	0,99 a 1,49 €

*A 4ª Classe representa pedaços partidos ou cogumelos que não se encontravam inteiros.

A espécie *Lactarius deliciosus* frutifica a partir do fim do Outono até meados do Inverno em vários continentes e pode ser encontrado em diferentes condições, normalmente associado a florestas de coníferas. Segundo Bonet *et al.* (2012) esta é muito apreciada no Noroeste de Espanha, o que tem levado a um aumento significativo no interesse sobre os fatores que influenciam a sua produção. Bonet *et al.* (2012) referem como fatores com impacto na produção de cogumelos a topografia (altitude, declive, etc.), condições ambientais e outras características da população (espécies de árvores, densidade e idade da árvore). Tendo em conta que as características da população são o único fator passível de ser alterado ou manipulado através da gestão florestal, o estudo de Bonet *et al.* (2012) teve como objetivo avaliar a influência de desbaste na produção de *Lactarius deliciosus* numa floresta de *Pinus pinaster*. O seu

RESULTADOS

estudo concluiu a produção de *Lactarius* aumenta quando se procede a desbaste (Figura 10A), e que intensidade de desbaste e precipitação durante os meses de Agosto e Setembro foram os fatores mais significantes para explicar a produção anual de *Lactarius deliciosus* (Figura 10B).

Ao longo de nove anos, 1995 a 2002, o grupo Martinez-Peña *et al.* (2012) acompanhou e monitorizou a produção de vários cogumelos silvestres numa população de *Pinus sylvestris*, localizado no noroeste de Espanha. Para tal estabeleceram dezoito parcelas de 150 metros, onde foram recolhidas amostras semanais entre os meses de Setembro e Dezembro. Do total de carpóforos recolhidos 34% eram cogumelos comestíveis, dos quais 3% da produção eram cogumelos silvestres com valor comercial. A espécie *Lactarius deliciosus*, dentro do grupo dos cogumelos silvestres com valor comercial, representava cerca 60% da produção. Esta espécie apresentou uma produção média aproximadamente de 10Kg/ha, tendo chegado a atingir o valor máximo de 30Kg/ha no terceiro ano do estudo. Neste trabalho verificou-se também que o *Lactarius deliciosus* apresentava maiores taxas de produção em o povoamento de *Pinus sylvestris* com idades entre 16 a 30 anos e 71 a 90 anos, com 18 e 16Kg/ha. Segundo Bonet *et al.* (2004) fatores como a altitude e o declive também influenciam a produção desta espécie. Com o aumento da altitude, a produção das espécies de cogumelos comestíveis também aumenta, e com o aumento da inclinação diminui a produção total e a produção de espécies de *Lactarius*.

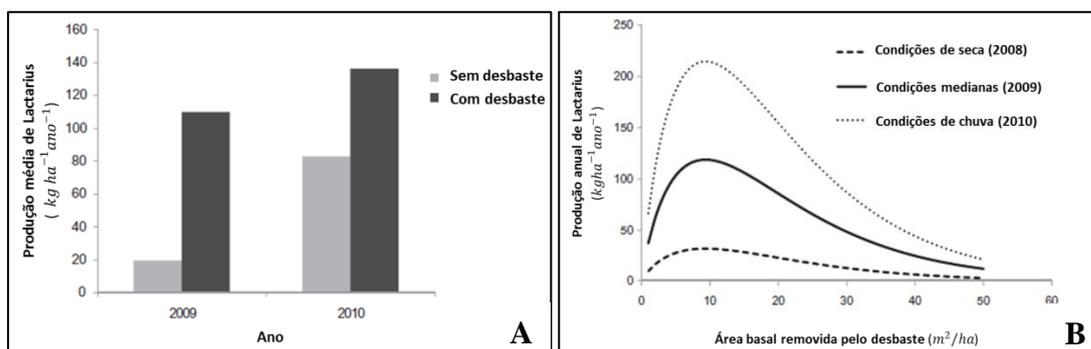


Figura 10 – A -Efeito do desbaste na produção de *Lactarius deliciosus* em 2009 e 2010. **B**- Relação entre a produção anual de *Lactarius deliciosus* e a área basal removida ao proceder ao desbaste ao longo dos anos de estudo. Adaptado de Bonet *et al.* 2012.

Em Portugal existem poucos registos relativamente à produção de *Lactarius deliciosus*. Em 2006, no âmbito do Projeto Agro 449, uma equipa técnica da Direção Regional de Agricultura da Beira Interior procedeu à realização de um inquérito, de forma a obter uma visão global sobre a realidade micológica da Beira Interior. Como resultado desse inquérito observou-se que 27 % dos inquiridos reconhecia esta espécie pelo seu nome científico, 60 % dos inquiridos conheciam pelo nome comum. Relativamente à apanha, observou-se que esta espécie é a terceira mais coletada na região, destacando-se neste caso o *Tricholoma esqueste* e o *Macrolepiota procera* com 58 e 53 %, respetivamente; o *Lactarius deliciosus* é coletado por 35 % dos inquiridos. Quanto ao consumo por parte dos inquiridos, esta espécie encontra-se também em terceiro lugar com 42 %, sendo novamente os mais consumidos o *Tricholoma esqueste* e o *Macrolepiota procera*. No que respeita à compra de cogumelos silvestres, verificou-se que apenas 35 % dos inquiridos compram cogumelos silvestres, dos quais apenas 4 % representam a compra de *Lactarius deliciosus*. Segundo Henriques (2008), esta espécie é uma das mais conhecidas e coletadas na região da Beira Interior.

A espécie *Lactarius deliciosus*, normalmente consumida por todo o país e com maior intensidade na Região de Trás-os-Montes, começa a suscitar interesse devido ao seu valor gastronómico e potencial comercial. Por este motivo têm surgido vários estudos relativos às propriedades nutricionais e a composição química de alguns cogumelos silvestres (Tabela 9).

Lactarius deliciosus é uma espécie com crescente interesse do público como alimento funcional, motivo pelo qual têm surgido estudos relativamente às suas propriedades nutracêuticas. Compostos com efeitos antimicrobianos e citotóxicos Terpenóides (sesquiterpenoides) foram detetados em espécies de *Lactarius* comestíveis, incluindo a espécie *Lactarius deliciosus*. Estes compostos inibem a libertação de histamina e revelam efeitos anti-inflamatórios, que podem ser aplicados no tratamento de infeções urogenitais, cistite e sífilis (Baladyan, 2012). Para esta espécie estão também descritas (Tabela 10) atividades antioxidantes, antitumorais (Ferreira *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2012) e antimicrobianas (Alves *et al.*, 2012).

RESULTADOS

Tabela 9 - Composição química aproximada, composição em ácidos gordos e valor energético da espécie *Lactarius deliciosus*. Adaptado de Barros *et al.* 2007b.

Composição	g/100g de peso fresco	%
Água	90.05±0.53	-
Gorduras totais	0.22±0.00	-
Proteína bruta	2.96±0.04	-
Cinzas	0.51±0.02	-
Hidratos de Carbono	6.26±0.15	-
Açúcares totais	1.63±0.01	-
Manitol	1.36±0.01	-
Trealose	0.27±0.01	-
Ácidos gordos Saturados	-	40.14±0.13
Ácidos gordos Monoinsaturados	-	42.28±0.01
Ácidos gordos Poliinsaturados	-	17.59±0.12
Energia (Kcal)	38.86±0.75	-
Energia (kJ)	164.88±3.19	-

Tabela 10 - Tabela resumo de compostos bioativos de *Lactarius deliciosus* selecionados de acordo com a sua atividade biológica.

Atividade	Substância/ extrato com bioatividade	Organismo alvo	Referências Bibliográficas
Antimicrobiana	Extratos	Bactérias gram-positivas (<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>)	Alves <i>et al.</i> 2012
Antimicrobiana	Compostos	Bactérias gram-negativas (<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	Alves <i>et al.</i> 2012a Alves <i>et al.</i> 2012b Barros <i>et al.</i> 2007a
Antimicrobiana e Anti-inflamatória	Terpenoides	-	Baladyan, 2012
Antioxidante	Chapéu e pé	-	Ferreira <i>et al.</i> , 2007
Antitumoral	Polissacarídeo	Morganhos (Células tumerais S180)	Ding <i>et al.</i> 2012
Antitumoral e Citotóxica	Lectinas (aglutininas)	-	Baladyan, 2012

3.2 SISTEMAS FECHADOS DE PRODUÇÃO DE *AGROCYBE CYLINDRACEA*

3.2.1 Dados de produção de *Agrocybe cylindracea* e Eficiência Biológica

Para avaliar a performance dos dois substratos em estudo para o cultivo da estirpe Acyl/TAGV foram recolhidos dados de produção (Figura 11, 12 e 13). Relativamente ao período de incubação, ambos os substratos verificaram um período de 139 dias para que o micélio cobrisse todo o substrato. Após este período os substratos foram transferidos para a fase de frutificação. Relativamente ao parâmetro *Earliness* (Figura 10), número de dias entre a inoculação e o surgimento do primeiro primórdio, verificou-se para o substrato de Palha de Trigo 200 dias, enquanto para o substrato de Acácia foram 222 dias. No substrato de Acácia observou-se um maior período de

RESULTADOS

colheita relativamente ao substrato de Palha de Trigo, com 86 e 55 dias, respetivamente. O substrato de Acácia registou um maior período de cultivo, relativamente ao substrato de Palha de Trigo.

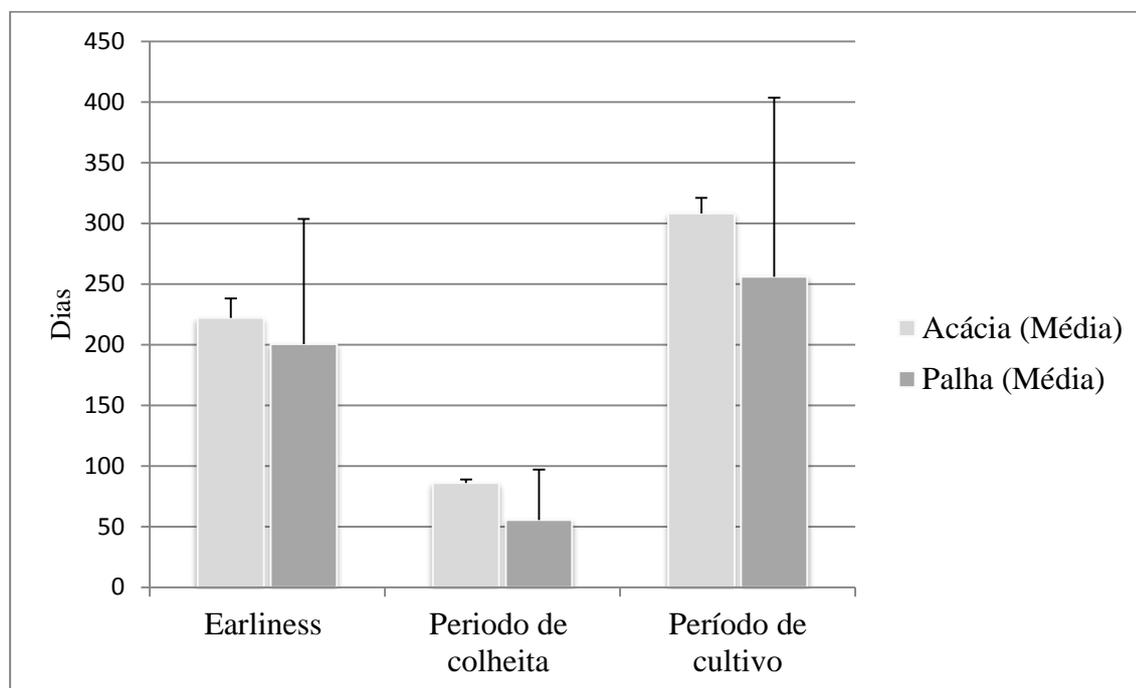


Figura 11 – *Earliness*, Período de colheita e Período de cultivo da estirpe Acyl/TAGV nos dois substratos de estudo.

Após o início da frutificação dos substratos foram realizadas várias colheitas de cogumelos (*Flush*), foram registadas 4 colheitas para o substrato de Acácia e apenas 3 colheitas no substrato de Palha de Trigo (Figura 11). Em todas as colheitas foram registados valores superiores para o número e peso fresco dos carpóforos no substrato de Acácia. O peso máximo colhido ocorreu na primeira colheita para ambos os substratos, com os seguintes valores 90,03g e 50,82g para Acácia e Palha de Trigo, respetivamente. No substrato de Acácia foram colhidos 16 carpóforos, correspondendo ao maior número de carpóforos colhido. O maior número de carpóforos no substrato de Palha de Trigo foi 5 na terceira colheita. No substrato de Acácia registou-se o valor médio total de 29 carpóforos, correspondendo a uma média de peso fresco total de 202,32g. No substrato de Palha de Trigo registou-se o valor médio total de 6 carpóforos, correspondendo a uma média de peso fresco total 49,07g (Figura 11).

Relativamente à Eficiência Biológica dos substratos (Figura 12) verificou-se que o substrato de Palha de Trigo é superior ao substrato de Acácia, com 24,50% e 20,20%, respetivamente.

Apesar da aparente diferença entre os vários parâmetros registados para os dois substratos para avaliação da Produção, a diferença da média das duas amostras não é estatisticamente significativa.

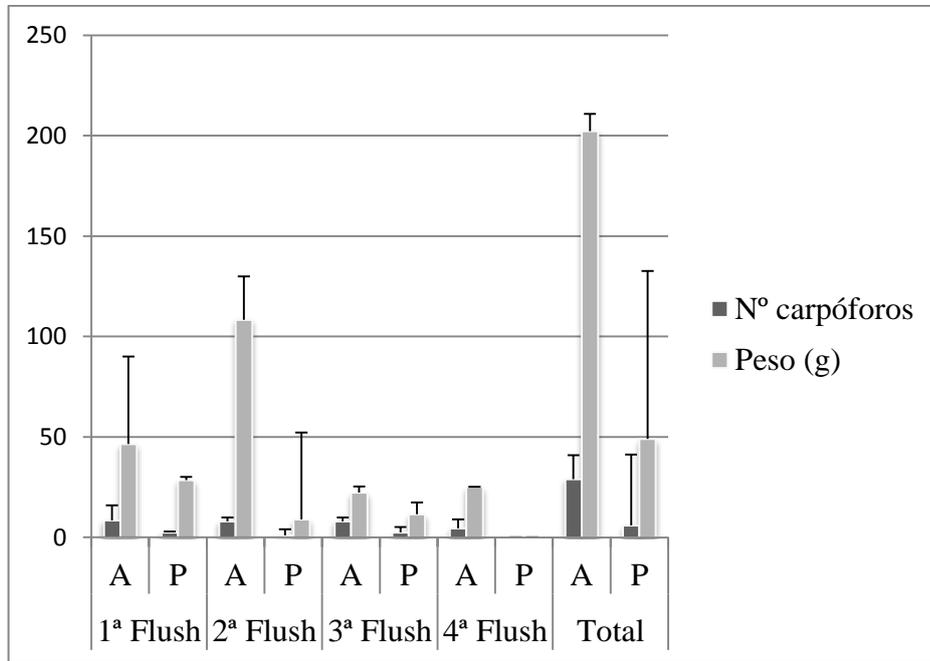


Figura 12 - Gráfico do número de carpóforos e peso para cada uma das colheitas nos dois substratos de estudo. A – Acácia; P – Palha de Trigo .

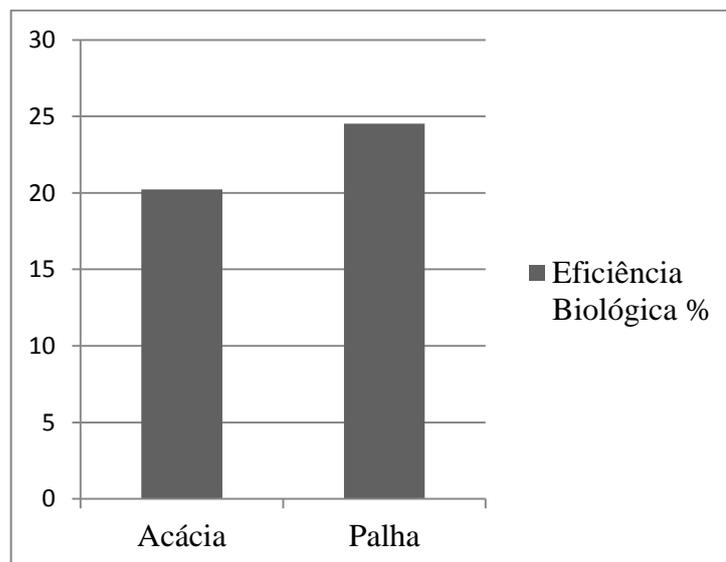


Figura 13 - Eficiência Biológica da estirpe Acyl/TAGV em substrato de Palha de Trigo e substrato de Acácia.

3.2.2 Dados de qualidade de uma estirpe de *Agrocybe cylindracea*

Os dados de qualidade da estirpe Acyl/TAGV nos dois substratos foram registados após a colheita dos carpóforos de cada substrato (Tabela 11). Foram registados dados relativos ao peso fresco e seco, diâmetro do chapéu e do pé, espessura do chapéu e altura do pé. Os carpóforos produzidos no substrato de Acácia pesavam em média 7,61g, enquanto os carpóforos produzidos em Palha de Trigo pesavam 6,66g. Os carpóforos foram desidratados a 50°C, e após estabilização foram registados os pesos secos. O peso seco médio do carpóforo resultante do substrato de Acácia foi de 0,63g e do substrato de Palha de Trigo foi de 0,51g, observou-se então que estes pesos representam cerca de 9% e 7% do peso fresco dos carpóforos, em Acácia e Palha de Trigo (Figura 14).

Cada carpóforo foi dividido em duas partes, chapéu e pé, das quais foram registados vários parâmetros como peso fresco e peso seco, diâmetro, espessura e altura (Tabela 11). Relativamente aos parâmetros do chapéu verificou-se que o seu peso fresco para substrato de Acácia e Palha de Trigo representam 68% e 64%, do peso fresco total do carpóforo (Figura 13). Quanto ao peso seco do chapéu, registou-se uma média de 0,40g para Acácia e 0,28g para Palha de Trigo, representando 5% e 4% do peso fresco total do carpóforo, respetivamente. Ao registar o diâmetro verificou-se que o do chapéu do carpóforo do substrato de Acácia é superior, com 4,14cm, ao do substrato de Palha de Trigo, 3,18 (Tabela 11). Ao calcular a espessura verificou-se também um valor superior para o carpóforo produzido em Acácia, 15,71cm², relativamente ao carpóforo produzido em Palha de Trigo, 9,14 cm².

Nos registos dos parâmetros para o pé observou-se menor peso fresco e seco nos carpóforos do substrato de Acácia, 2,11g valor médio de peso fresco e 0,23g valor médio de peso seco, enquanto no substrato de Palha de Trigo os valores médios foram 2,11g de peso fresco e 0,23g de peso seco (Tabela 11). O peso seco representa cerca de 3% do peso fresco dos carpóforos em ambos os casos (Figura 13). A altura média do pé em substrato de Acácia foi de 4,19cm e em substrato de Palha de Trigo foi de 4,95g.

Para o parâmetro Fleshiness, a densidade do chapéu estimada através do rácio do peso do chapéu e a área, obteve-se um valor superior para os carpóforos colhidos em substrato de Palha de Trigo (0,31g/cm²), enquanto para os carpóforos de substrato de Acácia o valor foi de 0,22g/cm² (Tabela 11). Na Gracility Index obteve-se 7,98 para os carpóforos de Acácia e 6,73 os carpóforos de Palha de Trigo.

Apesar da aparente diferença entre os vários parâmetros registados para os dois substratos no capítulo Dados de Qualidade, a diferença da média das duas amostras não é estatisticamente significativa.

RESULTADOS

Tabela 11 - Dados de qualidade dos cogumelos colhidos nos dois substratos, Acácia e Palha de Trigo .

	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Peso fresco chapéu (g)	Peso seco chapéu (g)	Diâmetro Chapéu (cm)	Espessura do chapéu (cm ²)	Peso fresco pé (g)	Peso seco pé (g)	Altura do pé (cm)	Diâmetro do pé (cm)	Fleshiness (g/cm ²)	Gracility index
Palha de Trigo	6,66±4,26	0,51±0,38	4,31±3,48	0,28±0,25	3,18±0,34	9,14±1,40	2,35±1.19	0,25 ±0.18	4,19±0.71	0,60±0.07	0,31±0.35	6,73±2.24
Acácia	7,61±5,99	0,63±0,48	5,48±4.91	0,40±0.32	4,14±1.02	15,71±8.21	2,11±1.17	0,23±0,16	4,95±1.42	0,66±0.17	0,22±0.11	7,98±3.21

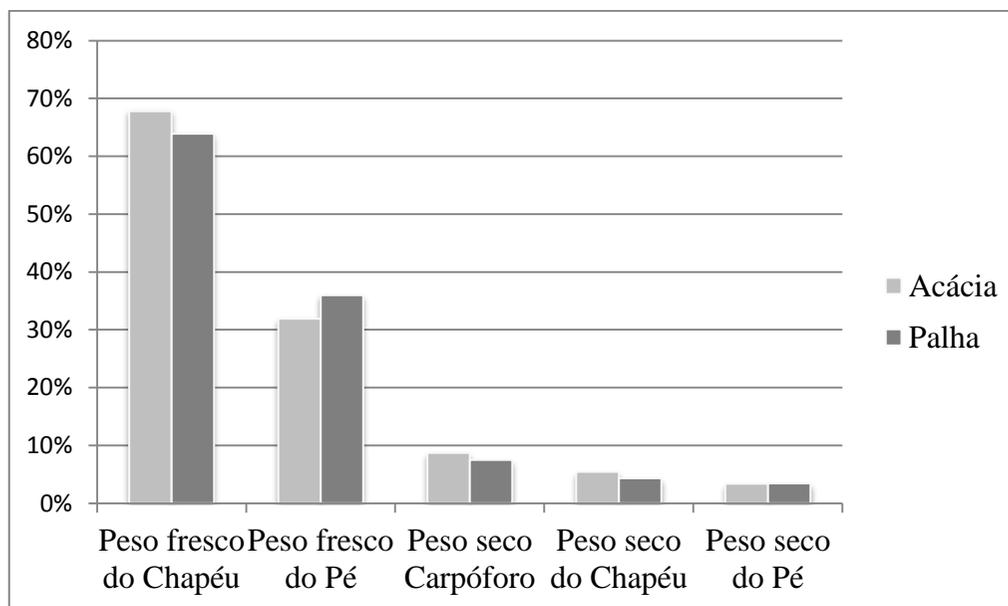


Figura 14 - Gráfico comparativo do peso fresco e seco de parte e totalidade dos carpóforos de *Agrocybe cylindracea*, colhidos nos dois substratos de estudo (Acácia e Palha de Trigo). Os valores apresentados correspondem à porcentagem de peso em relação ao peso fresco do carpóforo.

3.3 AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA PARA COMPARAÇÃO DE SISTEMAS

3.3.1 Avaliação de Ciclo de Vida - *Lactarius deliciosus*

Para a avaliação de ciclo de Vida de um Kg de *Lactarius deliciosus* procedeu-se à definição da fronteira do sistema (Figura 15). O sistema de produção aberto inclui três fases: 1) fase pré-produção, que inclui os processos de gestão florestal (Bonet *et al.* 2012) e trituração de resíduos; 2) fase de produção passa por dois processos, a colheita e transporte dos cogumelos; por fim, 3) a fase pós-produção inclui os processos de embalagem, armazenamento e transporte do produto para o mercado.

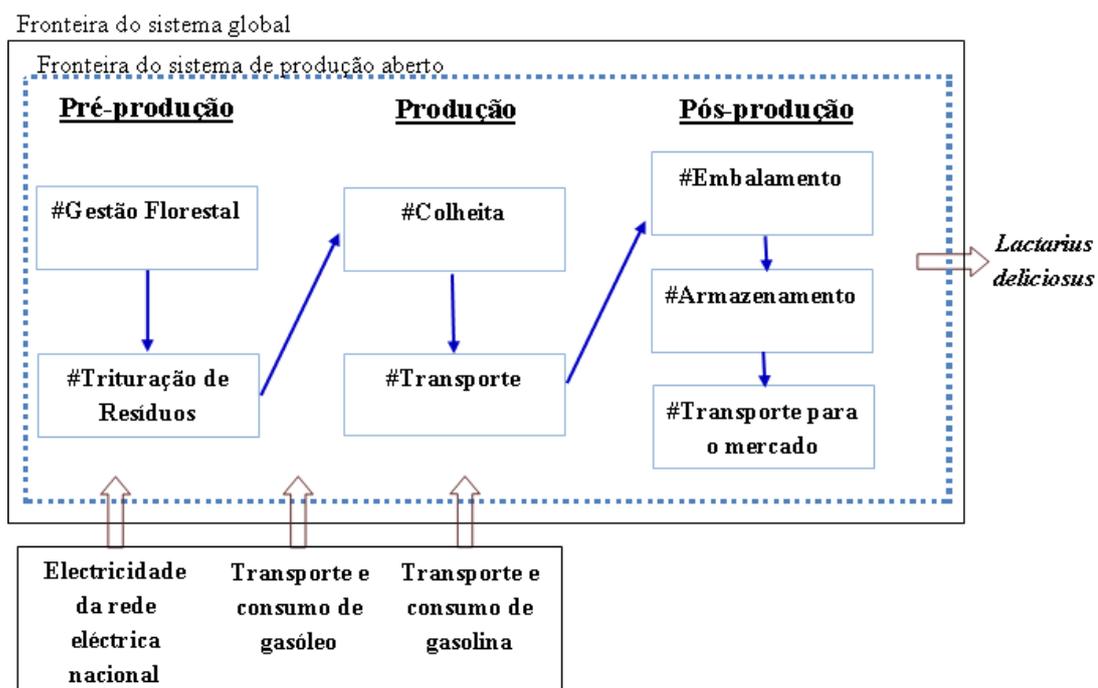


Figura 15-- Fronteira do sistema para a produção de cogumelos em Sistema Aberto.

Após a definição da fronteira do sistema procedeu-se à análise de inventário para 1Kg de *Lactarius deliciosus*. A Tabela 12 mostra o inventário de ciclo de vida da produção de *Lactarius deliciosus* nas diferentes fases, pré-produção, produção e pós-produção. Os resultados dos impactos da produção de *Lactarius deliciosus* são apresentados na Tabela 13. Observou-se que o processo, na produção de *L. deliciosus*, com maior impacto em ambas as categorias foi a manutenção do povoamento florestal.

RESULTADOS

Tabela 12 - Inventário de Ciclo de Vida para a produção de cogumelos em Sistema Aberto.

	Inputs	Valor	Unidade
ICV de 1Kg de <i>Lactarius deliciosus</i>	Pré-produção		
	Manutenção do povoamento florestal ^a	3,4	kWh
	Trituração de resíduos florestais	0,019	L (gasóleo)
	Deslocações ^b	0,006	L (gasóleo)
	Produção		
	Deslocações para colheita ^c	0,05	L (gasóleo)
	Transporte para frio ^d	0,001	
	Pós-produção		
	Embalamento ^d	0,002	kWh
	Armazenamento a frio ^d	0,0002	kWh
	Transporte para os mercados ^d	0,001	L (gasóleo) (raio 80km)

Notas da tabela:

a - Segundo Bonet et al. 2012, um povoamento de pinheiro bravo produz em média 105Kg/ha/ano de *Lactarius* sp..

b - Assumiram-se como sendo necessárias três deslocações durante a fase de pré produção.

c - Segundo dados publicados por Martínez de Aragón 2011, os coletores de cogumelos fazem em média duas deslocações semanais durante 12 semanas de frutificação.

d - Dados adaptados de Gunady *et al.*, 2012.

Tabela 13 - Impactos da produção de 1Kg de *Lactarius deliciosus*.

Inputs	PAG (gCO₂eq)	Requisito energético (MJ_{fóssil primário})
Pré-produção		
Manutenção do povoamento florestal	379,44	89,80
Trituração de resíduos florestais	77,00	2,99
Deslocações	23,67	0,96
Produção		
Deslocações para colheita	189,34	7,70
Transporte para frio	3,89	0,16
Pós-produção		
Embalamento	1,08	0,03
Armazenamento a frio	0,10	0,002
Transporte para os mercados	4,14	2,03
Totais	678,67	103,68

3.3.2 Avaliação de Ciclo de Vida de - *Agrocybe cylindracea*

Para a avaliação de ciclo de Vida de um Kg de *Agrocybe cylindracea* procedeu-se à definição da fronteira do sistema (Figura 16). O sistema de produção fechado é composto por três fases: 1) fase pré-produção, que inclui os processos de trituração de resíduos, recolha do material (substrato) e o seu transporte; 2) fase de produção que inclui os processos descritos no capítulo de Produção em Sistemas Fechados de *Agrocybe cylindracea*, 3) a fase pós-produção inclui os processos de embalagem, armazenamento e transporte do produto para o mercado.

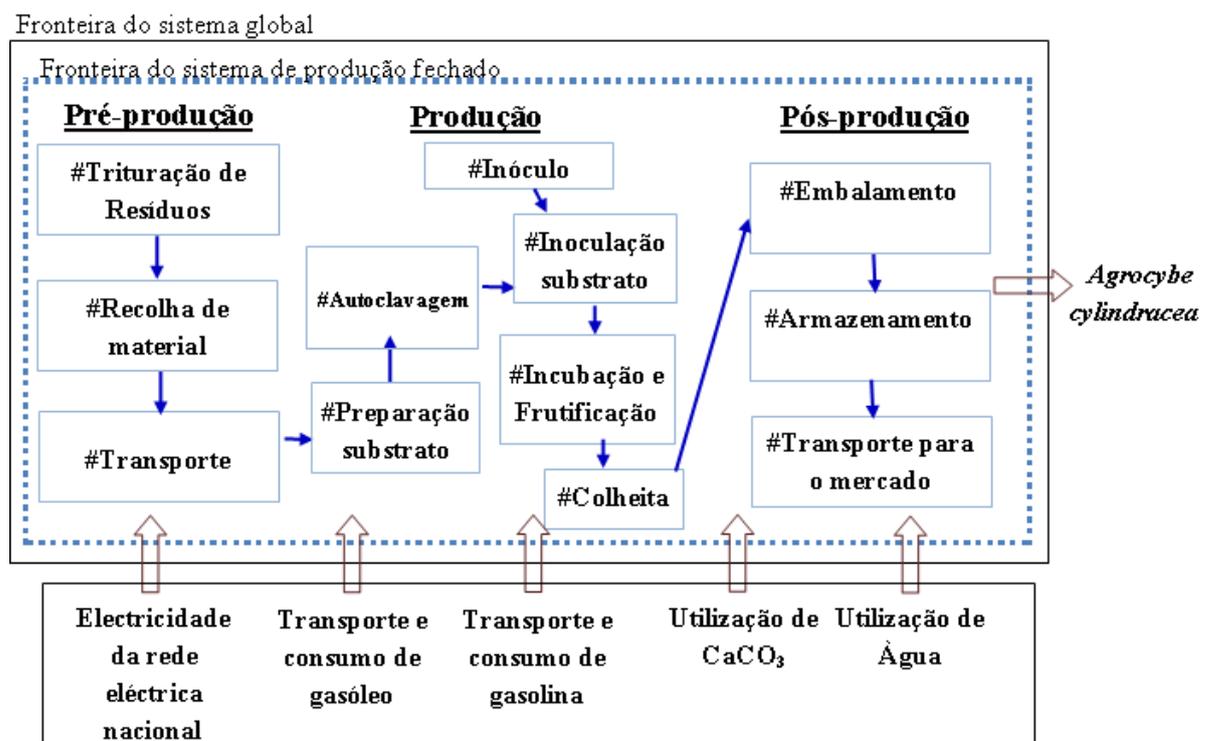


Figura 16 - Fronteira do sistema para a produção de cogumelos em Sistema Fechado.

Após a definição da fronteira do sistema procedeu-se à análise de inventário para 1Kg de *Agrocybe cylindracea*. A Tabela 14 mostra o inventário de ciclo de vida da produção e *A. cylindracea* nas diferentes fases, pré-produção, produção e pós-produção. Os resultados dos impactos da produção de *Agrocybe cylindracea* são apresentados na Tabela 15. Observou-se que os processos, na produção deste cogumelo *L. deliciosus*, com maior impacto em ambas as categorias são a autoclavagem e o processo de incubação de frutificação. O processo de incubação e frutificação, engloba os inputs relativos à câmara de crescimento e bomba de água. Estes três inputs têm os maiores

RESULTADOS

impactos relativamente ao PAG e RE, destacando-se o input Câmara de crescimento (temperatura).

Tabela 14 - Inventário de Ciclo de Vida para a produção de cogumelos em Sistema Fechado.

	Inputs	Valor	Unidade
ICV de 1Kg de Agrocybe cylindracea	Pré-produção		
	Recolha de material ^a	0,012	L (gasóleo)
	Transporte (camião com grua de 15 ton) ^a	0,011	L (gasóleo)
	Trituração de resíduos florestais ^a	0,019	L (gasóleo)
	Produção		
	CaCO ₃	0,003	Kg
	CaSO ₄	0,02	Kg
	Sementes de trigo	0,25	Kg
	Substrato (Acácia)	4,94	Kg
	Autoclavagem	1,07	kWh
	Câmara de fluxo	0,11	kWh
	Câmara de crescimento (luz) ^a	1,50	kWh
	Câmara de crescimento (temperatura) ^a	3,32	kWh
	Câmara de crescimento (água) ^a	14,80	L (H ₂ O)
	Bomba de água ^a	2,46	kWh
	Destilador	0,84	kWh
	Água	12,36	L (H ₂ O)
	Pós-produção		
	Embalamento ^b	0,002	kWh
	Armazenamento a frio ^b	0,0002	kWh
	Transporte para os mercados ^b	0,001	L (gasóleo)

Notas da tabela:

Dados apresentados segundo o procedimento seguido no capítulo 2.2 deste trabalho.

a - Cada saco de com 1Kg de substrato ocupa uma área de 0,25m². Para produzir 1Kg de cogumelo são precisos 4,94Kg de substrato, aproximadamente 5 sacos com um Kg de substrato cada. Então (0,25x5=1,25). Então num ha (=10000 m²) produzem-se 8.000Kg de cogumelos (10.000/0,125).

b - Dados adaptados de Gunady 2012.

Tabela 15 - Impactos da produção de 1Kg de *Agrocybe cylindracea*.

	Inputs	PAG (gCO₂eq)	Requisito energético (MJ_{fóssil primário})
	Pré-produção		
	Recolha de material	39,34	18,41
	Transporte (camião com grua de 15 ton)	34,91	17,08
	Trituração de resíduos florestais	61,19	30,64
	Produção		
	CaCO ₃	0,001	n.d
	CaSO ₄	n.d	n.d
	Sementes de trigo	n.d	n.d
	Substrato (Acácia)	n.d	n.d
ICV de 1Kg de Agrocybe cylindracea	Autoclavagem	476,16	11,02
	Câmara de fluxo	49,99	1,16
	Câmara de crescimento (luz)	669,60	15,50
	Câmara de crescimento (temperatura)	1482,05	34,30
	Câmara de crescimento (água)		
	Bomba de água	1100,19	25,46
	Destilador	375,713	8,70
	Água	n.d.	n.d
	Pós-produção		
	Embalamento	1,08	0,03
Armazenamento a frio	0,10	0,002	
Transporte para os mercados	4,15	2,03	
	Totais	4294,47	164,32

Notas da tabela:

n.d. – Não disponível os dados relativos ao coeficiente de CO₂eq e Energia primária.

3.3.3 – Comparação entre sistemas de produção

De forma a compreender quais as diferenças entre os dois sistemas, relativamente aos impactos ambientais, procedeu-se à comparação das categorias de impacto dos dois sistemas em estudo (Figura 17). De acordo com as emissões de GEE obtidas (CO₂eq) para a produção de 1Kg de *Lactarius deliciosus* e 1Kg *Agrocybe cylindracea* (Figura 17A), verifica-se que o sistema de produção fechado tem maior impacto ao nível do potencial de aquecimento global quando comparado com o sistema de produção aberto. O mesmo se verifica ao nível do requisito energético fóssil primário (Figura 17B), o RE é mais elevado no caso da produção em sistemas fechados. Os principais contributos para o impacto ambiental do sistema fechado provêm dos gastos energéticos inerentes ao processo. É também de frisar que não foram contabilizados, no caso do sistema de produção aberto, o uso do solo e consequentes impactos ambientais.

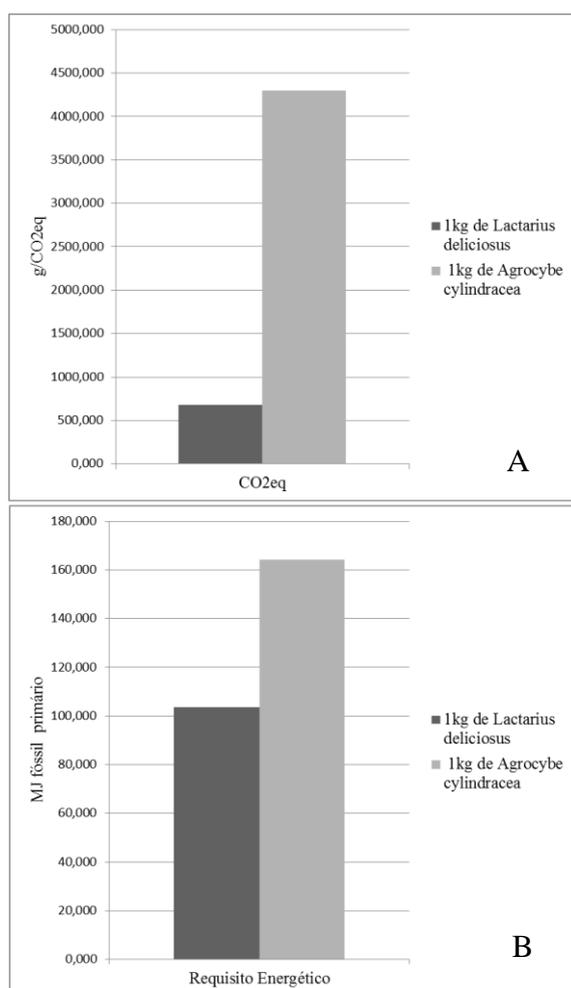


Figura 17 – Comparação dos impactos entre a produção de *Agrocybe cylindracea* e *Lactarius deliciosus*. **A** – Impacto no aquecimento global, unidade: gCO₂eq. **B** – Impacto no Requisito Energético Fóssil Primário, unidade: MJfóssil primário.

4 – DISCUSSÃO

4.1 SISTEMAS ABERTOS DE PRODUÇÃO DE *LACTARIUS DELICIOSUS*

Importantes mudanças têm vindo a ocorrer nos últimos anos relativamente aos recursos florestais. Como já foi referido, um bom exemplo disso é o caso de produtos não-madeireiros, pois não só o interesse do consumidor aumentou, mas houve também, simultaneamente, um aumento significativo na comercialização e distribuição destes produtos. Um dos mais importantes produtos não-madeireiros são os cogumelos silvestres (Voces *et al.*, 2012). A importância económica dos cogumelos silvestres tem grande impacto ao nível regional e local (Martínez de Aragón *et al.*, 2011; Bonet *et al.*, 2012).

Entre os serviços ambientais fornecidos pelas florestas mediterrânicas, a colheita de cogumelos selvagens é uma atividade particularmente apreciada. No entanto, quando o acesso às florestas é livre e os direitos de propriedade sobre os produtos que podem ser colhidos não são claramente atribuídos, os proprietários florestais suportam um custo, na forma de danos florestais causados pelas colheitas e recolectores, e não recebendo nenhum benefício. Estes proprietários, portanto, têm pouco incentivo para fornecer ao público mais ou melhores florestas, porém socialmente desejável. Se o valor deste serviço ambiental à sociedade fosse conhecido poderia ser aplicada uma política adequada (Martínez de Aragón *et al.*, 2011). É importante a avaliação do valor deste serviço ambiental para a sociedade e o seu impacto económico. Por outro lado, segundo Martínez de Aragón *et al.* (2011), os recolectores de cogumelos obtêm benefício devido à colheita de cogumelos e a passeios micológicos. O valor deste benefício é normalmente desconhecido, o que torna difícil a concretização e projeção de políticas baseadas no bem-estar social.

Os cogumelos em geral, como por exemplo o *Lactarius deliciosus*, são importantes produtos florestais não-madeireiros em todo o mundo, que apesar da sua importância económica e ecológica, os modelos que descrevem a influência de diferentes fatores sobre a produção de cogumelos são poucos. Estes modelos apoiariam a gestão florestal multi-objetivo e o planeamento tendo em conta a produção de cogumelos.

O mercado de cogumelos silvestres comestíveis tem vindo a crescer rapidamente em todo o mundo, e favorecido pelas políticas de comércio livre internacional (Román e Boa, 2006; Bonet *et al.*, 2012). Román e Boa (2006) relataram 61 espécies de

cogumelos silvestres comestíveis que são colhidas e consumidas em Espanha, sendo a espécie *Lactarius deliciosus* uma das mais consumidas (Román e Boa, 2006). De acordo com Frutos (2008), os canais de distribuição mais frequentes para cogumelos silvestres são: vendas diretas, intermediários ou vendas a indústrias transformadoras.

Lactarius deliciosus é uma das espécies de cogumelos silvestres que surge com maior frequência na floresta Portuguesa, pois é encontrada numa ampla variedade de povoamentos de coníferas. Uma das principais espécies presente na floresta Portuguesa é o Pinheiro-Bravo (*Pinus pinaster*) que ocupa uma área aproximadamente de 714 mil hectares., Segundo Bonet *et al.* (2012), uma floresta de *Pinus pinaster* pode produzir em média 105Kg/ha/ano de *Lactarius deliciosus*, quando aplicado um sistema de gestão e planeamento correto e vantajoso para a produção desta espécie. Assim a produção de *Lactarius deliciosus* no território Português poderia atingir aproximadamente as 75 mil toneladas por ano.

4.2 SISTEMAS FECHADOS DE PRODUÇÃO DE AGROCYBE CYLINDRACEA

Agrocybe cylindracea é uma espécie ainda bastante negligenciada, e cuja produção comercial ainda está bem desenvolvida na Europa e Estados Unidos da América. Um fator importante relativo a esta espécie é que é esta representa uma boa fonte de hidratos de carbono, fibras dietéticas, vitaminas do complexo B, aminoácidos essenciais e minerais, assim como de compostos bioativos, incluindo os antioxidantes, b-glucanos, e lectinas (Philippoussis *et al.*, 2001; Tsai *et al.*, 2006; Kalač 2009; Xu *et al.*, 2011; Erjavec *et al.*, 2012; Koutrotsios *et al.*, 2014). Uma estirpe de *Agrocybe cylindracea* foi cultivada em dois tipos de substrato, Palha de Trigo e Acácia, de forma a escolher o substrato mais adequado para o cultivo deste cogumelo.

A perspetiva de utilização e valorização de materiais lenho-celulósicos e resíduos agro-florestais, que são em grande parte inexplorados, é bastante significativa, especialmente se este processo for realizado através da combinação de uma gestão ecologicamente correta com uma geração de novos produtos de valor acrescentado. Um exemplo de utilização e valorização desses materiais é a produção de cogumelos comestíveis, pois este processo depende de enzimas lenho-celulolíticas de macrofungos selecionados. Atualmente já utilizados em diversas aplicações biotecnológicas,

incluindo aplicações de desintoxicação e bioconversão de resíduos agro-industriais (Sanchez 2010; Noutgias *et al.*, 2012; Koutrotsios *et al.*, 2014).

4.2.1 Dados de Produção de *Agrocybe cylindracea* e Eficiência Biológica

Na avaliação do período de cultivo de *Agrocybe cylindracea* nos dois substratos verificou-se que em substrato de Palha de Trigo o tempo de cultivo é menor que em substrato de Acácia. Comparativamente a outros trabalhos publicados (Tabela 16), o período de colheita foi superior, isto é, o número de dias durante o qual foram colhidos os carpóforos foi maior (Philippoussis *et al.*, 2001; Uhart *et al.*, 2008; Koutrotsios *et al.*, 2014). No entanto, o maior número de dias de colheita pode dever-se ao facto de, por exemplo, no substrato de Acácia ter sido feita mais uma colheita, uma vez que normalmente são feitas até três colheitas por substrato. Relativamente à *Earliness*, o número de dias entre o dia de inoculação e o surgimento do primeiro primórdio, o que pode dever-se ao facto, ao contrário do que foi realizado nos trabalhos anteriormente publicados, de não terem sido adicionados complementos aos substratos. Isto pode ter levado ao crescimento mais lento em ambos os casos. Relativamente à Eficiência Biológica (EB), esta foi menor em substrato de Acácia, com apenas 4% de diferença para o substrato de Palha de Trigo. Estes valores foram mais baixos relativamente à EB de outros substratos utilizados para produção de *Agrocybe cylindracea*, atualmente publicados. Por exemplo, Uhart *et al.* (2008), observou que ao utilizar substratos não suplementados obtinha menor Eficiência Biológica quando comparando com os mesmos substratos suplementados.

Durante as colheitas realizadas nos dois substratos observou-se que o substrato de Acácia originou maior número de carpóforos e maior peso por colheita, e o peso Total dos carpóforos colhidos em Acácia foi quatro vezes superior ao colhido em Palha de Trigo. O peso médio por carpóforo foi maior em substrato de Acácia.

4.2.2 Dados de Qualidade de uma estirpe de *Agrocybe cylindracea*

Segundo Uhart *et al.* (2008), a diminuição de desempenho de uma estirpe é um problema que surge frequentemente na produção de cogumelos. Esta diminuição ocorre devido a várias subculturas da estirpe ou a um longo período de armazenamento em meio de cultura, o que provoca a uma redução do rendimento da estirpe. A Eficiência Biológica da estirpe pode otimizada por mudanças nas condições de cultura, como a

combinação de diferentes substratos e/ou adição de suplementos nutricionais. No entanto, estas práticas nem sempre são bem sucedidas na recuperação da produção e do desempenho das estirpes. Uma solução alternativa poderá estar na procura de novas estirpes naturais, que possam altamente produtivas ou de qualidade superior.

Para determinar a qualidade de uma estirpe é importante avaliar vários parâmetros que nos possam fornecer dados sobre a qualidade da estirpe em estudo, e de forma a que possa ser comparada com outras estirpes e em diferentes substratos.

O peso médio de um carpóforo é um importante dado sobre a qualidade da estirpe, no caso dos dois substratos em estudo verificou-se que o peso médio dos carpóforos era bastante aproximado. Estes valores encontram-se muito próximos dos valores publicados para diferentes substratos e estirpes. Nos trabalhos publicados por Philippoussis *et al.* (2001) e Koutrotsios *et al.* (2014), o peso médio de um carpóforo varia entre 0,83 a 2,57g e 2,6 a 9,3g, respetivamente. Face a estes dados os carpóforos da estirpe Acyl/TAGV apresentam um bom peso fresco médio.

O peso seco para a estirpe em estudo foi maior nos carpóforos resultantes do substrato de Acácia do que no substrato de Palha de Trigo, representando 9% e 7% do peso fresco do carpóforo, respetivamente. Estes valores são superiores ao publicado por Uhart *et al.* (2008), relativamente a três estirpes de *Agrocybe cylindracea* e em três diferentes substratos. No trabalho de Uhart *et al.* (2008) a percentagem de peso seco de um carpóforo varia entre os 5% e 7,2%. Para os parâmetros de peso e diâmetro do chapéu, verificou-se que os valores obtidos neste trabalho são bastante similares aos dados publicados por Uhart *et al.* (2008).

A *Fleshiness* do carpóforo foi superior nos carpóforos colhidos no substrato de Palha de Trigo. No entanto, os valores obtidos para os substratos de Palha de Trigo e Acácia, 0,31g/cm² e 0,22g/cm², respetivamente, encontram-se próximos dos valores obtidos por Uhart *et al.* (2008).

Quanto ao parâmetro de *Gracility Index*, verifica-se quando comparado às estirpes utilizadas por Uhart *et al.* (2008), que a estirpe Acyl/TAGV obtém bons resultados para ambos os substratos utilizados neste estudo. No trabalho de Uhart e colaboradores (2008), verifica-se que uma das estirpes se destaca claramente das restantes neste parâmetro. A estirpe Acyl/TAGV aparenta ter uma performance similar à estirpe 621/04 de Uhart e colaboradores, e segundo estes autores este parâmetro é fortemente influenciado pelo genótipo da estirpe.

Tabela 16 - Dados de Produção de *Agrocybe cylindracea* em diferentes substratos.

Substratos	Complementos	Estirpe	Earliness (dias)	Período De colheita (dias)	Número de colheitas	Peso total carpóforos (g)	Eficiência Biológica %	Referências
Palha de Trigo de trigo		0834	64,00	54	2	131,64	47,51	Philippoussis <i>et al</i> 2001
	- CaCO ₃ (2% peso seco)	S4021	47,00	24	2	150,59	49,80	
Resíduos de Algodão	- Farelo de trigo (90:10 ratio)	0834	69,00	36	2	87,35	30,46	
	- 70% humidade	S4021	46,00	39	3	136,66	34,88	
Cascas de Amendoim		0834	76,00	54	2	23,93	7,15	
		S4021	45,00	40	1	34,81	10,15	
Palha de Trigo de trigo	- CaCO ₃ (1% peso seco)	621/04	-	17-60	1-2	169,3	56,4	
		9/98	-	30-53	2	178,2	59,4	
		571/03	-	45-54	2	170,5	57,0	
	- CaCO ₃ (1% peso seco)	621/04	-	49-51	2-3	537,4	179	
		998	-	53-60	2-3	440,9	148	
		571/03	-	26-64	2-3	413,4	140	
	- Farinha de soja (20%)	621/04	-	28-57	2-3	370,1	125	
		998	-	26-64	2	262,0	90	
	- Flocos de aveia (20%)	571/03	-	28-49	2-3	295,8	99	
Palha de Trigo de trigo 100%			-	-	-	149,4	10,1	Uhart <i>et al.</i> 2008
Palha de Trigo de trigo 75%			-	-	-	197,8	13,2	
Resíduos sólidos 25%	-	156						
Palha de Trigo de trigo 50%			-	-	-	232,2	15,5	
Resíduos sólidos 50%			-	-	-	95,00	6,3	
Resíduos sólidos 100%			-	-	-	95,00	6,3	Isikhuemhen e Mikiashvilli 2009

DISCUSSÃO

Tabela 16 – Dados de Produção de *Agrocybe cylindracea* em diferentes substratos (continuação).

Substratos	Complementos	Estirpe	Earliness (dias)	Período De colheita (dias)	Número de colheitas	Peso total carpóforos (g)	Eficiência Biológica %	Referências
Palha de Trigo de trigo 70%			-	-	-	159,10	10,6	
Resíduos sólidos 10% Millet 20%								
Palha de Trigo de trigo 80%		156	-	-	-	372,0	24,8	Isikhuemhen e Mikiashvilli 2009
Resíduos sólidos 20% Millet 10%								
Palha de Trigo de trigo 80%			-	-	-	770,50	51,4	
Resíduos sólidos 20% Millet 10%								
Cascas de amêndoa e noz			41,7	76,3	3	167,7	26,2	
Serradura de faia			37,7	76,7	2	141,7	38,3	
Espigas de milho			37,7	75,0	2	165,7	46,8	
Bagaço de uva	- CaCO ₃ (2% peso seco)	LGAM 445	42,7	79,0	3	323,2	128,1	Koutrotsios <i>et al.</i> 2014
Resíduos de algodão	- Farelo de trigo (5:95 ratio)		44,7	75,0	2	143,1	40,9	
Subprodutos do moinho de azeite	- 70% humidade		62,0	75,3	2	163,3	29,2	
Resíduos de azeitona			38,3	70,0	3	187,8	52,4	
Agulhas de Pinheiro			36,3	75,7	3	252,3	93,5	
Folhas de palmeira			39,7	73,0	2	139,0	61,4	
Palha de Trigo de Trigo								

4.3 AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA DE SISTEMA DE PRODUÇÃO ABERTO E FECHADO: POTENCIAL DE AQUECIMENTO GLOBAL E REQUISITO ENERGÉTICO FÓSSIL

Ao realizar a Avaliação de Ciclo de Vida para as espécies *Lactarius deliciosus* e *Agrocybe cylindracea*, pretendeu-se potenciar o processo de produção de cogumelos em sistemas abertos e em sistemas fechados. Ao avaliar os impactos ambientais de ambos os sistemas, pode-se perceber quais os processos do Ciclo de Vida de cada sistema que poderão ser melhorados de forma a diminuir os impactos do produto final. Ou seja, a ferramenta de Avaliação de Ciclo de Vida pode ser utilizada de forma a melhorar a performance ambiental de cada um dos sistemas.

Os estudos realizados relativamente à ACV de cogumelos são escassos, e não foram encontrados, ao longo deste trabalho, estudos para espécies produzidas em sistemas abertos. Na Tabela 17 apresentam-se dados de ACV para duas espécies também produzidas em sistema fechado.

Tabela 17 - Avaliação de Ciclo de Vida para duas espécies de cogumelos sapróbios produzidos em sistemas fechados.

Espécie	Unidade Funcional	Alteração climática	Unidade	Referência
<i>Pleurotus Sajor-caju</i>	1Kg	3,014 ^a	Kg CO ₂ eq	Ueawiwatsakul <i>et al.</i> ,2014
<i>Agaricus bisporus</i>	1kJ	3,00	gCO ₂ eq	Gunady 2012

Ao definir a fronteira para os dois sistemas de produção em estudo, verificou-se que o número de processos necessários para a produção de *Lactarius deliciosus* é menor e requer menores gastos energéticos. A produção de *Agrocybe cylindracea* envolve um maior número de processos, dos quais os processos que requerem o gasto de energia representam a maior parte dos impactos deste sistema. Assim, relativamente aos dados obtidos em cada um dos sistemas verificou-se que a produção de 1Kg de *A. cylindracea* tem maior impacto ao nível das alterações climáticas e do requisito primário fóssil. Esta diferença prende-se com o facto de no sistema de produção fechado serem necessárias grandes quantidades de energia para a esterilização do substrato e para o processo de incubação e frutificação, o que não é necessário num sistema de produção aberto. Por outro lado, há que ter em atenção que não foram considerados os gastos energéticos, no sistema de produção aberto, como a quantidade de energia solar (horas de luz solar)

DISCUSSÃO

necessárias à produção de 1Kg de *Lactarius deliciosus*; assim como não foram considerados dados de uso do solo e os impactos da produção no solo.

Após a ACV, mostra-se importante melhorar alguns processos da produção de *A. cylindracea* de forma a diminuir os impactos ambientais e os custos monetários implícitos à produção. Os processos a melhorar no sistema de produção fechado são o processo de autoclavagem e o processo de incubação e frutificação. Relativamente ao processo de autoclavagem, poderá ser melhorado ao adotar uma autoclave industrial, com capacidade para um maior volume de substrato. A autoclave utilizada neste trabalho tem pequenas dimensões, com capacidade para apenas 6Kg de substrato por autoclavagem. Quanto ao processo de incubação e frutificação os gastos energéticos elevados devem-se à manutenção das condições abióticas ideais para o desenvolvimento da espécie. Isto é, este processo implica um maior gasto de energia para manutenção de temperatura, humidade e luz. Para reduzir os impactos e melhorar o processo devem ser feitos ajustes às necessidades do fungo, ou seja, devem ser diminuídos os gastos, mas de forma a que a produção de *A. cylindracea* permaneça nas condições ideais de crescimento e possa ser maximizada.

5 – CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

5.1 – CONCLUSÃO

O cultivo e a colheita de fungos podem fornecer um importante rendimento a partir dos sistemas agro-florestais, juntamente com o desenvolvimento de novas tecnologias para produzir novos produtos a partir de cogumelos. Com o aumento da procura, e conseqüente aumento da produção de cogumelos, torna-se importante compreender os diferentes sistemas de produção e conhecer os impactos ambientais implícitos dos sistemas de produção.

Os cogumelos silvestres como *Lactarius deliciosus* são um importante produto florestal não-madeireiro. A produção de *Lactarius deliciosus* em sistemas abertos parece ser um contributo importante para a valorização da floresta e um incentivo à aplicação de processos de gestão e manutenção da floresta. Esta espécie ainda não se encontra ainda bem implementada no mercado português, ao contrário do que ocorre no mercado espanhol. A colheita de cogumelos silvestres é uma potencial fonte de rendimento extra, pois por cada colheita pode ser obtido em média cerca de 40 euros de rendimento.

Os cogumelos produzidos em sistema fechado, como *Agrocybe cylindracea*, são cada vez mais uma oportunidade de negócio, devido ao rendimento proporcionado e à procura no mercado. A procura de novas estirpes silvestres com vista ao melhoramento da produção e a aplicação e utilização de substratos sustentáveis são importantes para a valorização da produção. No caso da espécie em estudo, apesar do surgimento de vários estudos sobre a produção de *A. cylindracea*, mostra-se fundamental o desenvolvimento de novos substratos, técnicas de produção e o conhecimento do sistema de produção mais sustentável e favorável ao desenvolvimento desta espécie.

Relativamente à Avaliação de Ciclo de Vida verificou-se que um sistema de produção fechado tem maior impacto ambiental, comparativamente à produção em sistema aberto. Por outro lado, a quantidade de cogumelo produzida por hectare em sistema aberto é menor do que o produzido em sistema fechado. Quanto aos dois sistemas de produção mostra-se essencial aprofundar o estudo, uma vez que os dados disponíveis são insuficientes para uma avaliação mais completa. A comparação de novas condições em ambos os sistemas é importante de forma a otimizar os processos implícitos a cada sistema de produção, e paralelamente diminuir os impactos ambientais por estes produzidos.

5.2 - PERSPECTIVAS FUTURAS

Num estudo, por sí só, é extremamente complicado conseguir realizar um inventário completo de ciclo de vida que permita concluir em termos gerais, quais os impactos ao nível do PAG e Requisito Energético Fóssil Primário entre um sistema de produção aberto e fechado. Este estudo apresenta-se como um início de obtenção de dados para uma Avaliação de Ciclo de Vida para os sistemas de produção aberto e fechado, relativos às espécies *Lactarius deliciosus* e *Agrocybe cylindracea*. Quanto aos dois sistemas de produção mostra-se essencial aprofundar o estudo, uma vez que os dados disponíveis são insuficientes para uma avaliação mais completa. A comparação de novas condições em ambos os sistemas é importante de forma a otimizar os processos implícitos a cada sistema de produção, e paralelamente diminuir os impactos ambientais por estes produzidos. Será importante futuramente realizar a Avaliação de Ciclo de Vida para outras espécies, em sistemas abertos e fechados. De forma a aprofundar o tema será também importante a realização destes mesmos estudos em diferentes regiões.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrar, A.S., Kadam, J.A., Mane, V.P., Patil, S.S., Baig, M.M.V. (2009) Biological efficiency and nutritional contents of *Pleurotus florida* (Mont.) singer cultivated on different agro-wastes. *Nature and Science* 7(1):1545–1740. ISSN 1545-0740
- Akavia, E., Beharav, A., Wasser, S.P., Nevo, E. (2009) Disposal of agro-industrial by-products by organic cultivation of the culinary and medicinal mushroom *Hypsizygos marmoreus*. *Waste Management* 29(5):1622–1627. doi: 10.1016/j.wasman.2008.10.024
- Alves, M.J., Ferreira, I.C.F.R., Martins, A., Pintado, M. (2012) Antimicrobial activity of wild mushrooms extracts against clinical isolates resistant to different antibiotics. *Journal of Applied Microbiology* 113:466-475. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05347.x
- Baladyan, S. (2012) Medicinal Aspects of Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. In: *Edible Ectomycorrhizal Mushrooms: Current Knowledge and Future Prospects*. Zambonelli A. and Bonito G.M. (eds.). Springer-Verlag: Heidelberg, Berlin, Vol. XII, Capítulo 18, pp. 317-334. doi: 10.1007/978-3-642-33823-6_18
- Barros, L., Baptista P., Estevinho, L.M., Ferreira, I.C.F.R. (2007) Effect of Fruiting Body Maturity Stage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Lactarius* sp. Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:8766–8771. doi: 10.1021/jf071435+
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D.M., Casal, S., Oliveira, B., Ferreira, I.C.F.R. (2007) Composição química e valor nutricional de cogumelos silvestres comestíveis do nordeste de Portugal. In: *Actas do 8º Encontro de Química dos Alimentos*. Beja. pp. 333-336, Instituto Politécnico de Beja, ESA: Beja
- Batista, F.O., Santos, R.T. (2005) *Os Proprietários Florestais – Resultados de um inquérito*. pp. 95, Celta Editora: Oeiras, Portugal
- Baysal, E., Peker, H., Yalinkiliç, M.K., Temiz, A. (2003) Cultivation of oyster mushroom on waste paper with some added supplementary materials. *Bioresource Technology* 89(1):95–97. doi: 10.1016/S0960-8524(03)00028-2
- Beetz, A., Kustudia, M. (2004) *Mushroom cultivation and marketing: Horticulture production guide* [Em linha] National Sustainable Agriculture Information Service - ATTRA [Consultado: 23 out 2012]. Disponível em: www.attra.ncat.org

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Belewu, M.A., Belewu, K.Y. (2005) Cultivation of mushroom (*Volvariella volvacea*) on banana leaves. *African Journal of Biotechnology* 4(12):1401–1403. ISSN 1684–5315

Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H.M., Furlan S.A. (2004) Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry* 88(3):425–428. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.01.050

Bonet, J.A., de-Miguel, S., Martínez de Aragón, J., Pukkala, T., Palahí, M. (2012) Immediate effect of thinning on the yield of *Lactarius group deliciosus* in *Pinus pinaster* forests in Northeastern Spain. *Forest Ecology and Management* 265:211–217. doi: 10.1016/j.foreco.2011.10.039

Bonet, J.A., Pukkala, T., Fischer, C.R., Palahi, M., Aragón, M.J., Colinas, C. (2008) Empirical models for predicting the production of wild mushrooms in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) forests in the Central Pyrenees. *Annals of Forest Science* 65(2):206p1-206p9. doi: 10.1051/forest:2007089

Brozzoli, V., Bartocci, S., Terramoccia, S., Contò, G., Federici, F., D'Annibale, A., Petruccioli, M. (2010) Stoned olive pomace fermentation with *Pleurotus* species and its evaluation as a possible animal feed. *Enzyme and Microbial Technology* 46(3-4):223–228. doi: 10.1016/j.enzmictec.2009.09.008

Carabajal, M. (2012) Effect of co-cultivation of two *Pleurotus* species on lignocellulolytic enzyme production and mushroom fructification. *International Biodeterioration & Biodegradation* 66(1):71-76. doi: 10.1016/j.ibiod.2011.11.002

Carvalho, C.S.M., Aguiar, L.V., Sales-Campos, C., Almeida Minhoni, M.T., Andrade, M.C. (2012) Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. *Brazilian Journal of Microbiology* 43(2):819-826. doi: 10.1590/S1517-83822012000200048

Cayetano-Catarino, M., Bernabé-González, T. (2008) Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Revista Mexicana de Micología* 26:57–60. ISSN: 0187-3180

CELE (2005) Tabela dos valores de poder calorífico inferior e de factor de emissão de CO₂ utilizados no inventário nacional de gases com efeito de estufa. Equipa do projecto para o Comércio Europeu de Licenças de Emissão, Portugal.

Chang, S. (2002) Mushrooms and Mushroom Cultivation. In: Encyclopedia of Life Sciences. LS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. doi: 10.1038/npg.els.0000370.

Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C (2003) Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chemistry 81(2):249-255. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00419-3

Choudhury, R. (2002) GM Well-to-Wheel Analysis of Energy Use and Greenhouse Gas Emissions of Advanced Fuel/Vehicle Systems – A European Study. Technical Report General Motors, Germany, pp. 138

Das, N., Mukherjee, M. (2007) Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plants. Bioresource Technology 98:2723-2726. doi:10.1016/j.biortech.2006.09.061

Frutos, P. (2008) El micoturismo en Castilla y León. Mycosylva Proyecto -International Conference on Silvicultural Management for Edible Mushroom Producing Forests, 9-11 June, Valladolid, Spain.

De Román, M., Boa, E. (2006) The marketing of *Lactarius deliciosus* in Northern Spain. Economic Botany 60(3):284-290.

Deacon, J.W. (2006) Fungal Biology. 4^a ed., pp. 371. Blackwell Publishing: United Kingdom. ISBN: 978-1-4051-3066-0

Decreto Lei nº33/96 de 17 de Agosto da Assembleia da República. [Em linha] Diário da República: I Série, N^o 190 [Consultado: 17 abr 2014]. Disponível em <http://dre.pt/pdfgratis/1996/08/190A00.PDF>

Departamento de Gestão e Produção Florestal – DGPF (2013) Avaliação da Estratégia Nacional para as Florestas – Resultados e Propostas. [Em linha] ICNF [Consultado: 9 abr 2014]. Disponível em <http://www.icnf.pt/portal/icnf/docref/enf>

Dhillon, G.S., Kaur, S., Brar, S.K. (2013) Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 27:789–805. doi: 10.1016/j.rser.2013.06.046

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Díaz Balteiro, L., Alfranca, O., Voces, R. (2013) Mercado de *Lactarius deliciosus*. Modelización de la oferta en España. ITEA 109(3):370-389. doi: 10.12706/itea.2013.022

Ding, X., Hou, Y., Hou, W. (2012) Structure feature and antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from *Lactarius deliciosus* Gray. Carbohydrate Polymers 89(2):397–402. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.020

Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural – DGADR [Em linha] DGADR [Consultado: 9 abr 2014] Disponível em <http://www.dgadr.mamaot.pt/>

Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural – DGADR, Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas – ICNF (2013) Guia do Colector de Cogumelos – para os cogumelos silvestres comestíveis com interesse comercial em Portugal. DGADR: Lisboa. ISBN: 978-989-8539-0609

Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro – DRAPC (2000) Documentação | Cogumelos Silvestres [Em linha] DRAPC [Consultado: 29 maio 2014]. Disponível em http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/documentos/cogumelos_silvestres.htm

EC (2007) Well-to-Wheels Analysis of Future Automotive Fuels and Powertrains in the European Context, European Commission, Joint Research Centre, Version 2c, pp. 88

Elisashvili, V. et al. (2008) *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. Bioresource Technology 99(3):457–462. doi: 10.1016/j.biortech.2007.01.011

Erjavec, J., Kos, J., Ravnikar, M., Dreo, T., Sabotič, J. (2012) Proteins of higher fungi - from forest to application. Trends in biotechnology 30(5):259–73. doi: 10.1016/j.tibtech.2012.01.004

Exploração dos Cogumelos do Sul, Lda. – Excosul (2013) [Em linha] Excosul [Consultado: 10 out 2013]. Disponível em <http://www.excosul.com/>

Fan, L., Soccol, A.T., Pandey, A., Soccol, C.R. (2003) Cultivation of *Pleurotus* mushroom on brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid. Micología Aplicada International 15(1):15–21. ISSN: 1534-2581

- Fasidi, I.O. (1998) Studies on *Volvariella esculenta* (Mass) Singer: cultivation on agricultural wastes and proximate composition of stored mushrooms. *Food Chemistry* 55(2):161-163. doi: 10.1016/0308-8146(95)00082-8
- Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. (2007) Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry* 100(4):1511–1516. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.11.043
- Finnveden, G., Hauschild, M.Z., Ekvall, T., Guinée, J., Heijungs, R., Hellweg, S., Koehler, A., Pennington, D., Suh, S. (2009) Recent developments in Life Cycle Assessment. *Journal of Environmental Management* 91(1):1–21. doi: 10.1016/j.jenvman.2009.06.018
- Griffin, D.H. (1996) *Fungal Physiology*. 2nd ed., pp. 1-21, Wiley-Liss: New York. ISBN: 0-471-16615-4
- Guinée, J.B., Gorrée, M., Heijungs, R., Huppes, G., Kleijn, R., de Koning, A., van Oers, L., Wegener Sleeswijk, A., Suh, S., Udo de Haes, H.A., de Bruijn, H., van Duin, R., Huijbregts, M.A.J. (2002) *Handbook on life cycle assessment. Operational guide to the ISO standards. I: LCA in perspective. Iia: Guide. Iib: Operational annex. III: Scientific background.* pp. 692, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht. ISBN 1-4020-0228-9
- Guinée, J.B., Heijungs, R., Huppes, G. (2004) Economic allocation: examples and derived decision tree. *The International Journal of Life Cycle Assessment* 9(1):23–33. doi: 10.1007/BF02978533
- Gülser, C., Pekşen, A. (2003) Using tea waste as a new casing material in mushroom (*Agaricus bisporus* (L.) Sing.) cultivation. *Bioresource Technology* 88(2):153–156. doi: 10.1016/S0960-8524(02)00279-1
- Gunady, M.G.A., Biswas W., Solah, V.A., James, A.P. (2012) Evaluating the global warming potential of the fresh produce supply chain for strawberries, romaine/cos lettuces (*Lactuca sativa*), and button mushrooms (*Agaricus bisporus*) in Western Australia using life cycle assessment (LCA). *Journal of Cleaner Production* 28:81e87. doi:10.1016/j.jclepro.2011.12.031

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hadar, Y., Kerem, Z., Gorodecki, B., Ardon, O. (1992) Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom, *Pleurotus*. *Biodegradation* 3:189-205. doi: 10.1007/BF00129083

Hekkert, M., van den Broek, R., Faaij A. (2005) Energy Crops versus Waste Paper: A System Comparison of Paper Recycling and Paper Incineration on the basis of Equal Land-Use. Presented at: 4 th Biomass Conference of the America's: Oakland, CA, USA

Henriques, J.L.G. (2008) Alguns aspectos da realidade micológica da Beira Interior – Resultados de um inquérito. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas – Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro e Direcção de Serviços de Agricultura e Pescas

Honrubia, M. (2011) Los Hongos silvestres como fuente de desarrollo local. *Mycosylva Proyecto - International Conference on Silvicultural Management for Edible Mushroom Producing Forests*, 9-11 June, Valladolid, Spain.

Hu, D., Zhang, R., Zhang, G., Wang, H., Ng, T. (2011) A laccase with antiproliferative activity against tumor cells from an edible mushroom, white common *Agrocybe cylindracea*. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 18:374–379. doi: 10.1016/j.phymed.2010.07.004

Huang, S.J., Tsai, S.Y., Mau, J.L. (2006) Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agrocybe cylindracea*. *LWT - Food Science and Technology* 39(4):379–387. doi: 10.1016/j.lwt.2005.02.012

IEA (1999) *Automotive fuels for the future: the search for alternatives*. IEA AFIS, International Energy Agency, pp. 92

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas – ICNF (2006) *Estratégia Nacional para as Florestas – ENF*. [pdf] pp. 189, ICNF: Lisboa.

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas – ICNF (2013) *6º Inventário Florestal Nacional – Áreas dos usos do solo e das espécies florestais de Portugal continental – Resultados preliminares*. [pdf]. pp. 34, ICNF: Lisboa.

International Organization for Standardization (ISO) 2006. *ISO 14040:2006(E) Environmental Management – Life Cycle Assessment – Principles and Framework*.

IPCC (1997) Revised 1996 IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories - workbook. Intergovernmental Panel on Climate Change, WG I Technical Support Unit, Bracknell

IPCC (2007) 2007 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Eggleston H.S., Buendia L., Miwa K., Ngara T. and Tanabe K. (eds). IGES:Japan

Isikhuemhen, O.S., Mikiashvilli N.A. (2009) Lignocellulolytic enzyme activity, substrate utilization, and mushroom yield by *Pleurotus ostreatus* cultivated on substrate containing anaerobic digester solids. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 36(11):1353-1362. doi: 10.1007/s10295-009-0620-1

Jönsson, L., Alriksson, B., Nilvebrant, N.O. (2013) Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for biofuels* 6:16 doi: 10.1186/1754-6834-6-16

Kalač, P. (2009) Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 113(1):9-16. ISSN 0308-8146, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.077

Kapoor, S., Khanna, P.K., Katyal, P. (2009) Effect of supplementation of wheat straw on growth and lignocellulolytic enzyme potential of *Lentinus edodes*. *World Journal of Agricultural Sciences* 5(3):328–331. ISSN: 1817-3047

Kendrick, B. (2011a) Fungi and the History of Mycology. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. doi: 10.1002/9780470015902.a0002320.pub2

Kendrick, B. (2011b) Fungi: Ecological Importance and Impact on Humans. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. doi: 10.1002/9780470015902.a0000369.pub2

Ko, H.G., Park, H.G., Park, S.H., Choi, C.W., Kim, S.H., Park, W.M. (2005) Comparative study of mycelial growth and basidiomata formation in seven different species of the edible mushroom genus *Hericium*. *Bioresource Technology* 96(13):1439–1444. doi: 10.1016/j.biortech.2004.12.009

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Koutrotsios, G., Mountzouris, K.C., Chatzipavlidis, I., Zervakis, G.I. (2014) Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi – Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food Chemistry* 161:127–135. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.03.121
- Mamiro, D.P., Royse, D.J. (2008) The influence of spawn type and strain on yield, size and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted and spent mushroom compost. *Bioresource Technology* 99(8):3205–3212. doi: 10.1016/j.biortech.2007.05.073
- Mandeel, Q.A., Al-Laith, A. A., Mohamed, S.A. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21(4):601-607. doi: 10.1007/s11274-004-3494-4
- Martínez de Aragón, J., Bonet, J.A., Fischer, C.R., Colinas, C. (2007) Productivity of ectomycorrhizal and selected edible saprotrophic fungi in pine forests of the pre-Pyrenees mountains, Spain: Predictive equations for forest management of mycological resources. *Forest Ecology and Management* 252(1–3):239–256. doi: 10.1016/j.foreco.2007.06.040
- Martínez de Aragón, J., Riera, P., Giergiczy M., Colinas, C. (2011) Value of wild mushroom picking as an environmental service. *Forest Policy and Economics* 13(6):419-424. doi: 10.1016/j.forpol.2011.05.003
- Martínez-Peña, F., Ágreda, T., Águeda, B., Ortega-Martínez, P., Fernández-Toirán, L.M. (2012) Edible sporocarp production by age class in a Scots pine stand in Northern Spain. *Mycorrhiza* 22(3):167-174. doi: 10.1007/s00572-011-0389-8
- Martínez-Peña, F., de-Miguel, S., Pukkala, T., Bonet, J.A., Ortega-Martínez, P., Aldea, J., Martínez de Aragón, J. (2012) Yield models for ectomycorrhizal mushrooms in *Pinus sylvestris* forests with special focus on *Boletus edulis* and *Lactarius* group *deliciosus*. *Forest Ecology and Management* 282:63-69. 10.1016/j.foreco.2012.06.034
- Miles, P. G. and Chang, S. T. (1997). *Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments*. pp. 193, World Scientific: Singapore.

Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural e das Pescas – MADRP (2007) Plano Estratégico Nacional: Desenvolvimento Rural 2007 – 2013. [Em linha] Gabinete de Planeamento e Políticas – GPP [Consultado: 10 out 2013]. Disponível em: www.gpp.pt/drural/doc/PEN_Out2007_pt.pdf

Montoya Barreto, S., Varón López, M. (2008) Effect of culture parameters on the production of edible mushroom *Grifola frondosa* (maitake) in tropical weathers. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24(8):1361–1366. doi: 10.1007/s11274-007-9616-z

Moonmoon, M., Uddin, N., Ahmed, S., Shelly, N.J., Khan, A. (2010) Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences* 17(4): 341–345. doi: 10.1016/j.sjbs.2010.05.004

Mortimer, N., Cormack, P., Elsayed, M., Horne, R. (2003) Evaluation of the Comparative Energy, Global Warming and Social Costs and Benefits of Biodiesel, report, UK: Resource Research Unit, Sheffield Hallam University

Mtui, G.Y.S. (2009) Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products. *African Journal of Biotechnology* 8(8):1398-1415. ISSN 1684–5315

Murugesan, A.G., Vijayalakshmi, G.S., Sukumaran, N., Mariappan C. (1995) Utilization of Water Hyacinth for Oyster Mushroom Cultivation. *Bioresource Technology* 51(1):97-98. doi: 10.1016/0960-8524(95)00063-K

Neifar, M., Jaouani, A., Ayari, A., Abid, O., Salem, H.B., Boudabous, A., Najjar, T., Ghorbel, R.E. (2013) Improving the nutritive value of Olive Cake by solid state cultivation of the medicinal mushroom *Fomes fomentarius*. *Chemosphere* 91(1):110–114. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.12.015

Ngai P.H.K., Wang H.X., Ng T.B. (2003) Purification and characterization of a ubiquitin-like peptide with macrophage stimulating, antiproliferative and ribonuclease activities from the mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Peptides* 24(5):639-45. doi: 24(5):639-45

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Obodai, M., Cleland-Okine, J., Vowotor, K. A. (2003) Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 30(3):146-149. doi: 10.1007/s10295-002-0021-1

Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares – OMAIAA (2006) A Comercialização de Cogumelos em Portugal. [Em linha] OMAIAA [Consultado: 10 out 2013]. Disponível em: http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=102

Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares – OMAIAA (2006) A Comercialização de Cogumelos em Portugal. [Em linha] OMAIAA [Consultado: 10 out 2013]. Disponível em: http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=102

Oei, P. (2006) Italy: halfway Holland and China. [Em linha] Mushroom Business Information Center – Articles__[Consultado: 28 fev 2014]. Disponível em: <http://www.mushroombusiness.com/content/articles/detail/336/italy-halfway-holland-and-china>

Onuoha, C.I., Uchechi, U., Onuoha, B.C. (2009) Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* (mushroom) using some agrowaste materials. *Agricultural Journal* 4(2):109–112. ISSN: 1816-9155

Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura – FAO (2011) FAO Statistical Programme of Work (FAOSTAT). [Em linha] FAO [Consultado: 20 jan 2013]. Disponível em: www.fao.org/statistics/en/

Palacios, I., Lozano, M., Moro, C., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Martínez, J.A., García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A. (2011) Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry* 128(3):674–678. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.03.085

Patyk, A., Reinhardt, G. (2000). Bioenergy for Europe: Which ones fit best? A comparative analysis for the Community. Final report – External Annex

Pereira, J. S. (2014) O Futuro da Floresta em Portugal. 1ª ed., pp. 43-79. Fundação Francisco Manuel dos Santos: Lisboa, Portugal. ISBN: 978-989-8662-05-7

- Philippoussis, A., Zervakis, G., Diamantopoulou, P. (2001) Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 17(2):191–200. doi: 10.1023/A:1016685530312
- Pinho, J.C., Monteiro, A.P., Sampaio de Sá, E. (2011) *Guias Práticos Regionais de Empreendedorismo e de Promoção de Competitividade – Floresta*. We Link – Comunicação e Multimédia, Lda.: Braga, Portugal
- Punter, G., Rickeard, D., Larivé, J. F., Edwards, R., Mortimer, N., Horne, R., Bauen, A., Woods, J. (2004) Well-to-Wheel Evaluation for Production of Ethanol from Wheat. Technical Report by the LowCVP Fuels Working Group, pp. 40
- Ragunathan, R., Swaminathan, K. (2003) Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. *Food Chemistry* 80(3):371–375. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00275-3
- Rani, P., Kalyani, N., Prathiba, K. (2008) Evaluation of lignocellulosic wastes for production of edible mushrooms. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 151(2-3):151–159. doi: 10.1007/s12010-008-8162-y
- Rathee, S., Rathee, D., Rathee, D., Kumar, V., Rathee, P. (2011) Mushrooms as therapeutic agents. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 22(2):459-474. doi: 10.1590/S0102-695X2011005000195
- Reddy, G.V., Ravindra Babu, P., Komaraiah, P., Roy, K.R.R.M., Kothari, I.L. (2003) Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochemistry* 38:1457-1462. doi: 10.1016/S0032-9592(03)00025-6
- Reis, F., Martins, A., Barros, L., Ferreira, I. (2012) Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: a comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 50:1201–7. doi: 10.1016/j.fct.2012.02.013

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Resolução do Conselho de Ministros n.º114/2006 de 15 de Setembro da Presidência do Conselho de Ministros. [Em Linha] Diário da República, I Série, No 179. [Consultado a 18 abr 2014]. Disponível em <https://dre.pt/pdf1sdip/2006/09/17900/67306809.pdf>

Ruiz-Rodriguez, A., Soler-Rivas, C., Polonia, I., Wichers, H.J. (2010) Effect of olive mill waste (OMW) supplementation to Oyster mushrooms substrates on the cultivation parameters and fruiting bodies quality. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64(7):638-645. doi: 10.1016/j.ibiod.2010.07.003

Saidu, M., Razman Salim, M., Yuzir, M.A.M. (2011) Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) on palm oil mesocarp fibre. *African Journal of Biotechnology* 10(71):15973-15976. doi: 10.5897/AJB11.1942

Sánchez, C. (2004) Modern aspects of mushroom culture technology. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64:756–762. doi: 10.1007/s00253-004-1569-7

Sánchez, C. (2009) Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances* 27(2):185–194. doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.11.001

Sánchez, C. (2010) Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85:1321–1337. doi: 10.1007/s00253-009-2343-7

Schau, E.M., Fet, A.M. (2008) LCA Studies of Food Products as Background for Environmental Product Declarations. *The International Journal of Life Cycle Assessment* 13(3):255–264. doi: 10.1065/lca2007.12.372

Scientific Applications International Corporation – SAIC (2006) Life cycle assessment: principles and practice. Scientific Applications International Corporation, National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency: Cincinnati, Ohio. Report No. EPA/600/R-06/060.

SenterNovem (2005) The road to pure plant oil? The technical, environment-hygienic and cost-related aspects of pure plant oil as a transport fuel. Report 2Gave, pp. 95

Shah, Z.A., Ashraf, M., Ishtiaq M. (2004) Comparative Study on Cultivation and Yield Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Different Substrates (Wheat Straw, Leaves, Saw Dust). *Pakistan Journal of Nutrition* 3(3):158-160

- Silva, E.M., Machuca, A., Milagres, A.M.F. (2005) Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. *Letters in Applied Microbiology* 40(4):283–288. doi: 10.1111/j.1472-765X.2005.01669.x
- Sivrikaya, H., Peker, H. (1999) Cultivation of *Pleurotus florida* on forest and agricultural wastes by leaves of tree and wood waste. *Turkish Journal of Agriculture & Forestry* 23:585–596
- Stamets, P. (2000) *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. 3rd ed., pp. 614, Ten Speed Press: Berkley. ISBN: 978-1580081757
- Suárez Arango, C., Nieto, I. (2013) Biotechnological cultivation of edible macrofungi: An alternative for obtaining nutraceuticals. *Revista iberoamericana de micología* 30:1–8. doi: 10.1016/j.riam.2012.03.011
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2008) Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 9:1621-1651. doi: 10.3390/ijms9091621
- Taira, K., Miyashita, Y., Okamoto, K., Arimoto, S., Takahashi, E., Negishi, T. (2005) Novel antimutagenic factors derived from the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 586(2):115–123. doi: 10.1016/j.mrgentox.2005.06.007
- Tsai, S.Y., Huang, S.J., Mau, J.L. (2006) Antioxidant properties of hot water extracts from *Agrocybe cylindracea*. *Food Chemistry* 98(4):670-677. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.003
- Ueawiwatsakul, S., Mungcharoen, T., Tongpool, R. (2014) Life Cycle Assessment of Sajor-caju Mushroom (*Pleurotus Sajor-caju*) from Different Sizes of Farms in Thailand. *International Journal of Environmental Science and Development* 5(5):435-439. doi: 10.7763/IJESD.2014.V5.523
- Uhart, M., Piscera, J.M., Albertó, E. (2008) Utilization of new naturally occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 35(6):595-602. doi: 10.1007/s10295-008-0321-1

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

United Nations Environment Programme – UNEP/ Society of Environmental Toxicology and Chemistry – SETAC Life Cycle Initiative (2011) Towards a Life Cycle Sustainability Assessment: Making informed choices on products. pp. 86, UNEP/SETAC Life Cycle Initiative: Paris, France. ISBN: 978-92-807-3175-0

United Nations Environment Programme – UNEP/ Society of Environmental Toxicology and Chemistry – SETAC Life Cycle Initiative (2009) Guidelines for Social Life Cycle Assessment of Products. pp. 104, UNEP: Paris, France. ISBN: 978-92-807-3021-0

Unnasch, S. (2005) Alcohol Fuels from Biomass: Well-to-Wheel Energy Balance, 15th International Symposium on Alcohol Fuels – ISAF XV: San Diego, California, pp. 10

Vamanu, E. (2012) Antioxidant properties of polysaccharides obtained by batch cultivation of *Pleurotus ostreatus* mycelium. Natural product research 2012:1-4. ISSN: 1478-6419, doi: 10.1080/14786419.2012.704376

Vaz, J.A., Barros, L., Martins, A., Santos-Buelga, C., Vasconcelos, M.H., Ferreira, I.C.F.R. (2011) Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions. Food Chemistry 126(2):610-616. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.063

Voces, R., Díaz-Balteiro, L., Alfranca, O. (2012) Demand for wild edible mushrooms. The case of *Lactarius deliciosus* in Barcelona (Spain). Journal of Forest Economics 18(1):47– 60. doi: 10.1016/j.jfe.2011.06.003

Wasser, S. P. (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Applied Microbiology and Biotechnology 60(3):258–274. doi: 10.1007/s00253-002-1076-7

Xu, X., Yan, H., Chen, J., Zhang, X. (2011) Bioactive proteins from mushrooms. Biotechnology advances 29: 667–74. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.003

Yildiz, S., Yildiz, Ü.C., Gezer, E.D., Temiz, A. (2002) Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. Process Biochemistry 38(3):301-306. doi: 10.1016/S0032-9592(02)00040-7

Yue-Lian, L., Qing-Fang, L. (2011) Identification and cultivation of a wild mushroom from banana pseudo-stem sheath. *Scientia Horticulturae* 129(4):922–925. doi: 10.1016/j.scienta.2011.06.002

Zhang, R., Li, X., Fadel, J.G. (2002) Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology* 82(3):277-284. doi: 10.1016/S0960-8524(01)00188-2