

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANA LUIZA KLOTZ NEVES

**RESÍDUO DE ERVA-MATE - SUCESSÃO FÚNGICA E UTILIZAÇÃO COMO
SUBSTRATO NA PRODUÇÃO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus*
*ostreatoroseus***

São Gabriel

2021

ANA LUIZA KLOTZ NEVES

**RESÍDUO DE ERVA-MATE - SUCESSÃO FÚNGICA E UTILIZAÇÃO COMO
SUBSTRATO NA PRODUÇÃO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus*
*ostreatoroseus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Jair Putzke

São Gabriel

2021

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI
(Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

N518r NEVES, ANA LUIZA KLOTZ
Resíduo de erva-mate - Sucessão fúngica e utilização como
substrato na produção do cogumelo comestível *Pleurotus*
ostreatoroseus / ANA LUIZA KLOTZ NEVES.
84 p.
Dissertação(Mestrado)-- Universidade Federal do Pampa,
MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, 2021.
"Orientação: Jair Putzke".
1. Cogumelos. 2. Substrato. 3. *Ilex paraguariensis*. 4.
Chimarrão. 5. Cultivo. I. Título.

ANA LUIZA KLOTZ NEVES

**“RESÍDUO DE ERVA-MATE - SUCESSÃO FÚNGICA E UTILIZAÇÃO COMO SUBSTRATO
NA PRODUÇÃO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatoroseus*”**

Dissertação apresentada ao Programa de (Pós-graduação em Ciências Biológicas) da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre (Área Sistemática e Ecologia).

Dissertação defendida e aprovada em: 17 de setembro de 2021.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Jair Putzke

Orientador

(UNIPAMPA)

Prof. Dr. Antonio Batista Pereira

(UNIPAMPA)

Prof. Dra. Marisa Terezinha Lopes Putzke
(UNISC)



Assinado eletronicamente por **JAIR PUTZKE, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 17/09/2021, às 14:52, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **Marisa Terezinha Lopes Putzke, Usuário Externo**, em 17/09/2021, às 15:56, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **ANTONIO BATISTA PEREIRA, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 21/09/2021, às 20:18, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0617809** e o código CRC **B8EC79FA**.

Dedico este trabalho ao meu pai, Augusto
Emilio Klotz, e à minha mãe, Cleonice Klotz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por me capacitar a chegar até aqui. Sem Ele, com certeza eu não seria nada.

Agradeço ao meu pai, Augusto Emilio Klotz, por imprimir em mim o seu tão grande amor e cuidado pela natureza, por ter me ensinado a apreciá-la, cuidá-la e protegê-la e por sempre ter me incentivado à leitura e ao estudo.

Agradeço a minha mãe, Cleonice Klotz, por seu incentivo diário, fortalecimento, orações e conselhos. Eu ter chego até aqui também é mérito seu.

Agradeço ao meu amor, meu marido Roberto Neves da Costa, por ser todos os dias o meu maior incentivador, por acreditar em mim e me impulsionar a sempre fazer o que é correto, e por me mostrar que as coisas são menos complicadas do que parecem.

Agradeço ao meu irmão, Thomas Augusto Klotz, pela amizade e por ser desde criança meu parceiro em explorar as coisas boas e bonitas da vida.

Agradeço ao meu querido orientador, professor Jair Putzke, por ter me acolhido, incentivado e dado a segurança que eu precisava para fazer a seleção de mestrado, quando nos conhecemos lá na FLONA, em 2018. Obrigada pela parceria e amizade construídas ao longo desses três anos, por todo o conhecimento compartilhado e principalmente por mostrar que podemos sonhar mais alto. É uma honra poder ser sua orientada e aprender tanto com o senhor.

Agradeço a minha família, meus avôs Samuel, Julieta e Celma e minha tia Zelda, que diariamente intercedem por mim e torcem pelo meu sucesso. Essa conquista também é de vocês.

Agradeço ao meu colega Fernando Bertazzo da Silva, por sua total disponibilidade em me ajudar, em todos os momentos que precisei, desde o projeto, no primeiro semestre no mestrado até agora, nos últimos detalhes da dissertação. Muito obrigada Fernando. Tua colaboração para a conclusão dessa dissertação foi essencial.

Agradeço as minhas colegas Lilian Pedroso Maggio e Marines Avila Heberle pelas coletas de erva-mate e também pela amizade e parceria no laboratório e nos campos.

Agradeço as minhas amigas Bruna da Rosa Brites, Hellen Alves e Aline Fabra, por ouvirem meus desabafos, me aconselharem e visualizarem essa vitória por mim, quando eu não consegui ver.

Agradeço à Universidade Federal do Pampa e o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, pelo suporte, infraestrutura e oportunidade oferecida.

Agradeço à banca examinadora do meu trabalho, por sua disponibilidade em colaborar com meu estudo com seu conhecimento.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Muito obrigada!

“ Porque dele e por ele, e para ele, são todas
as coisas; glória, pois, a ele eternamente.

Amém.”

Romanos 11:36

RESUMO

A produção de resíduos orgânicos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos e a forma de descarte vem acarretando danos para a população e para o meio ambiente, necessitando pesquisas que busquem alternativas de utilização destes. No Rio Grande do Sul, grande parte dos resíduos orgânicos domésticos deriva-se do uso da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil), consumida pela população na forma de chimarrão, em função dos hábitos culturais. O presente estudo teve como objetivo avaliar os fungos associados à decomposição da erva-mate e propor uma metodologia de cultivo doméstico do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatoroseus* utilizando erva-mate como substrato. Para avaliação dos fungos associados à decomposição, erva-mate descartada após utilização no chimarrão foi recolhida por cinco consumidores pelo período de trinta dias, durante as estações outono, inverno e primavera de 2020, totalizando 450 amostras, que passaram por um período de maturação de dois meses para proliferação dos fungos associados (o período do verão não foi incluído em virtude da pandemia ter modificado o cronograma da pesquisa). Para a metodologia de cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* em erva-mate, três composições de substrato a base de erva-mate foram preparadas: 1) erva-mate parcialmente decomposta; 2) erva-mate fresca; 3) erva-mate fresca adicionada de serragem de eucalipto em três concentrações diferentes (30%; 50%; 70%), acondicionada em vidros de conserva e colmos de *Bambusa tuloides*. Quanto à avaliação dos fungos associados à decomposição, foram encontrados 22 gêneros de fungos associados ao resíduo, dos quais se destacam na microflora de colonização inicial os Zygomycota (*Rhizopus* e *Mucor*), tendo crescimento exclusivo nos primeiros 19 dias. Após este período desenvolvem-se com mais vigor os fungos Deuteromycota (principalmente *Aspergillus*) e Oomycota (*Pythium*), suplantando os *Rhizopus* e *Mucor*. As espécies de *Curvularia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Pythium* são fitopatógenos e acabam por ter a sua fonte de inóculo aumentada com o descarte irregular deste resíduo. Os resultados quanto ao cultivo em erva-mate de descarte pura, tanto parcialmente decomposta quanto fresca, mostrou-se inviável para o cultivo, ao contrário do que informa a literatura, com colonização do substrato pelo micélio, mas sem produção de basidiomas. Já no cultivo com adição de serragem de eucalipto, todas as concentrações apresentaram formação de primórdios, sendo a concentração com 70% de serragem a que primeiro frutificou (9 dias) e que apresentou os maiores basidiomas (5 cm). Dessa forma, o presente trabalho colabora com o conhecimento dos fungos associados ao resíduo de erva-mate e também propõe uma forma de reutilização deste resíduo na produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatoroseus*.

Palavras-chave: cogumelos; substrato; chimarrão; *Ilex paraguariensis*; cultivo.

ABSTRACT

The production of organic waste has increased considerably in recent years and the way it is disposed of has been causing damage to the population and the environment, requiring research to find alternative uses for it. In Rio Grande do Sul, a large part of the organic domestic waste derives from the use of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil), consumed by the population in the form of mate, due to cultural habits. This study aimed to evaluate the fungi associated with the decomposition of yerba mate and to propose a methodology for home cultivation of the edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* using yerba mate as substrate. To evaluate the fungi associated with decomposition, yerba mate discarded after use in mate tea was collected by five consumers for a period of thirty days during the autumn, winter, and spring seasons of 2020, totaling 450 samples, which underwent a two-month maturation period for proliferation of the associated fungi (the summer period was not included due to the pandemic modified the research schedule). For the cultivation methodology of *Pleurotus ostreatoroseus* in yerba mate, three substrate compositions based on yerba mate were prepared: 1) partially decomposed yerba mate; 2) fresh yerba mate; 3) fresh yerba mate added to eucalyptus sawdust in three different concentrations (30%; 50%; 70%), packed in canning jars and bamboo stalks (*Bambusa tuloides*). As for the evaluation of the fungi associated with decomposition, 22 genera of fungi associated with the residue were found, of which the Zygomycota (*Rhizopus* and *Mucor*) stand out in the microflora of initial colonization, having exclusive growth in the first 19 days. After this period, the Deuteromycota (mainly *Aspergillus*) and Oomycota (*Pythium*) fungi develop with more vigor, supplanting *Rhizopus* e *Mucor*. The species of *Curvularia*, *Fusarium*, *Verticillium*, and *Pythium* are phytopathogens and end up having their source of inoculum increased with the irregular disposal of this waste. The results regarding the cultivation in pure discarded yerba mate, both partially decomposed and fresh, proved to be unfeasible to cultivation, contrary to what is reported in the literature, with colonization of the substrate by the mycelium, but without production of basidiomes. In the cultivation with addition of eucalyptus sawdust, all concentrations showed formation of primordia, being the concentration with 70% sawdust the one that first fructified (9 days) and that presented the largest basidiomes (5 cm). Thus, the present work contributes to the knowledge of fungi associated with yerba mate waste and also proposes a way to reuse this waste in the production of the edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus*.

KEYWORDS: mushroom; substrate; mate; *Ilex paraguariensis*; cultivation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Erva-mate.....	12
1.2	Fungos em erva-mate.....	13
1.3	Cultivo de cogumelos comestíveis em resíduos orgânicos.....	15
1.4	O gênero <i>Pleurotus</i>	17
1.5	Sistema de produção de <i>Pleurotus</i> spp.....	18
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	Objetivo geral	21
2.2	Objetivos específicos.....	21
3	RESULTADOS.....	22
3.1	Artigo 1.....	23
3.2	Artigo 2.....	32
3.3	Artigo 3.....	44
3.4	Artigo 4.....	54
4	CONCLUSÃO.....	77
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

1. INTRODUÇÃO

1.1 Erva-mate

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill), planta da família Aquifoliaceae, é originária da América do Sul e cresce naturalmente na Argentina, Paraguai e Brasil (DELADINO *et al.*, 2015). Possui grande importância econômica nestes países, pois suas folhas secas e moídas são utilizadas para o preparo do chimarrão, bebida tradicional do gaúcho. Além disso, também é matéria prima para a produção de outras bebidas energéticas como chás, tererê (extrato de água gelada das folhas verdes secas) e chá-mate (extrato de água quente das folhas tostadas) (CORREA *et al.* 2017).

Quando cultivadas em ervais, a altura da erva-mate varia de 3 a 5m, mas em ambiente natural de floresta, as árvores podem alcançar até 25m de altura. O tronco é acinzentado, de aspecto rugoso e áspero. É uma árvore perenifólia, de folhas coriáceas e distribuídas de maneira alternada na planta, com coloração verde escura na parte superior e verde mais claro na parte inferior da folha, medindo de 5 a 10 cm de comprimento, podendo alcançar até 18 cm em ambiente natural. As folhas e ramos são a parte explorada da planta, que através da secagem e moagem são utilizadas no preparo de bebidas tônicas e estimulantes (CARVALHO, 1994; RACHWAL; CARVALHO; WITHERS, 2006; DANIEL, 2009; HENRIQUE, 2018).

Os benefícios do consumo de erva-mate são amplamente estudados e conhecidos, devido principalmente ao seu alto poder antioxidante. Estudos revelam que a erva-mate possui uma alta concentração de ácidos fenólicos, como o ácido caféico, o ácido clorogênico e a quercetina (CORREA *et al.* 2017; SANTOS *et al.* 2020). O extrato de *I. paraguariensis* se mostrou efetivo contra a proliferação de linhagens de células cancerígenas e também reduziu o rompimento da membrana de células eritrócitas devido ao stress mecânico quando comparado a amostras sem a presença do extrato, tendo portanto uma capacidade protetora contra a hemólise (SANTOS *et al.* 2020). Além disso, outros compostos que frequentemente são encontrados no extrato de erva mate são: ácido gálico, siríngico, ferúlico, metilxantinas (cafeína e teobromina), saponinas e taninos.(CORREA *et al.* 2017).

Mundialmente, a produção de erva-mate está concentrada nos países do sul da América do Sul, sendo o maior produtor da planta a Argentina, seguido do Brasil e por fim, Paraguai (DANIEL, 2009). No Brasil, a produção de erva-mate concentra-se principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, e em menor proporção no estado do Mato

Grosso do Sul (EMBRAPA, 2019). Entre os estados brasileiros, o principal produtor da erva é o Rio Grande do Sul, sendo 42,6% da erva brasileira produzida em solo gaúcho (SAPDR, 2020). Além disso, o estado consome cerca de 100 mil toneladas ao ano de erva-mate e por esta razão, além de ser o maior produtor também é o maior consumidor da mesma, cerca de 9kg/ano são consumidos per capita pelo gaúcho (IBRAMATE, 2018).

No estado do Rio Grande do Sul, a principal maneira de consumo da erva-mate é na forma de infusão, chamada de chimarrão ou mate, e para o preparo são necessárias cuia, bomba para sucção, erva-mate e água quente, cuja temperatura varia entre 85°C e 95°C, não devendo exceder os 100°C (ARRIETA *et al.*, 2018). Após a infusão, o resíduo de erva-mate tem o seu peso inicial triplicado, pois a água faz com que erva intumesça, aumentando dessa forma sua massa devido à retenção de água (FERRAZ JUNIOR *et al.*, 2020, GULLÓN, 2018 *et al.*).

Atualmente, o destino do resíduo gerado pela infusão de erva-mate é o descarte, uma vez que ainda não existem alternativas viáveis para sua reciclagem nem sua utilização como um biorrecurso (GULLÓN *et al.*, 2018). Na maior parte das vezes, o destino final deste resíduo são aterros sanitários e em menor escala a compostagem, o que acaba por ser um desperdício, visto que matérias orgânicas lignocelulósicas têm sido elencadas como uma grande alternativa para a geração de energia (MENEZES; BARRETO, 2015). Uma das formas de utilização de matérias lignocelulósicas para a geração de energia é a utilização destas como substrato na produção de cogumelos comestíveis (PÉREZ-CHAVÉZ; MAYER; ALBERTÓ, 2019).

1.2 Fungos em erva-mate

Os estudos com relação à associação entre fungos e erva-mate tiveram seu início com os trabalhos realizados por Spegazzini (1908) tendo realizado mais de 100 determinações de fungos em plantas de erva-mate na Argentina, Paraguai e Brasil (CABRERA; DIRCHWOLF, 2017; PERLA, 2014). Posteriormente, no mesmo país Marchionatto (1948) apresentou novas ocorrências sobre enfermidades da erva-mate. No Brasil, a abordagem deste assunto teve início com Maublanc (1913; 1915) e Grillo (1936) e mais recentemente com os trabalhos de Auer; Grigoletti (1995), Grigoletti & Auer (1996), Auer; Grigoletti; Maschio (1995) e Grigoletti *et al.* (1992; 1995).

Quanto aos fungos patógenicos que atacam as raízes de *I. paraguariensis*, o fungo mais reportado pertence ao gênero *Fusarium*, que é o causador da podridão-de-raízes (MEZZOMO *et al.*, 2021; PAULA *et al.*, 2018; PÉREZ *et al.*, 2016). Em um estudo avaliando a agressividade de

isolados de *F. oxysporum* e *F. solani* patogênicos a erva-mate, constatou-se que os isolados de *F. solani* mostraram-se mais agressivos que *F. oxysporum*, sendo responsável por um maior percentual de morte de mudas de erva-mate (MEZZOMO *et al.*, 2019). Além deste, os gêneros *Pythium* e *Rhizoctonia* também foram reportados como causadores da podridão-de-raízes (POLLETO *et al.*, 2007; POLLETO *et al.* 2015; GRIGOLETTI; DOS SANTOS; AUER, 1997). A podridão-de-raízes é considerada a principal doença da erva-mate, sendo responsável por sérios prejuízos, tanto em viveiros quanto à campo (PAULA *et al.* 2018; PIASSETA; MIKOS; AUER, 2021).

Vários gêneros de fungos são reportados como contaminantes para as sementes de *I. paraguariensis*, tais como: *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Nigrospora*, *Bipolaris*, *Alternaria*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Colletotrichum*, *Chaetomium*, *Graphium*, *Epicoccum*, *Verticillium*, *Botrytis*, *Phoma*, *Dictyosporium*, *Rhinoctadiella*, *Doratomyces*, *Circinotrichum*, *Amerosporium*, *Gliocephalis*, *Asteromyces*, *Trichothecium*, *Arthrobotrys*, *Mucor*, *Oidiodendron* (AUER; GRIGOLETTI JUNIOR, 2002; GRIGOLETTI JUNIOR *et al.*, 1999; OLIVEIRA; MACIEL; CAMPAGNOLO, 2015; POLLETO *et al.*, 2015; SOUZA *et al.* 2020; SOUZA *et al.*, 2019). Dentre estes, destacam-se os gêneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Penicillium* como sendo os mais recorrentes nos estudos avaliando a qualidade fitossanitária de sementes de *I. paraguariensis*, causando má formação nas plântulas e levando ao tombamento de mudas (POLETO *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.* 2015).

Com relação aos fungos patogênicos endofíticos, recentemente foi descoberta uma nova espécie associada à erva-mate, denominada *Ceratocystis fimbriata*, responsável pela murcha das folhas, levando plantas de diferentes idades a morte (SANTOS *et al.* 2018; BRITO *et al.* 2021). Além desta, muitas outras espécies associam-se as folhas de erva-mate, entretanto, apenas algumas causam verdadeiros danos e trazem preocupação aos produtores ervateiros (CABRERA; DIRCHWOLF, 2017). Destacam-se *Colletotrichum* spp., causador da antracnose; *Asterina sphaerelloides*, agente causal da fuligem; *Cylindrocladium spathulatum*, que causa a pinta-preta e conseqüentemente a queda foliar; *Pseudocercospora mate*, agente da mancha cinza ou cercosporiose; *Rhizoctonia solani*, causador da doença do tecido, enfermidade que leva ao desfolhamento da planta (CABRERA; DIRCHWOLF, 2017; BILENKI JUNIOR; AUER; WOLF II, 2021; GRIGOLETTI JUNIOR; DOS SANTOS; AUER, 1997; GRIGOLETTI JUNIOR; AUER. MASCHIO; 1996). Além destes, os gêneros *Alternaria*, *Phoma*, *Pilidium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Dendrophoma*, *Fusarium*, *Penicilium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma* e

Verticillium também foram encontrados associados endofiticamente à erva-mate, destacando-se *Trichoderma* e *Verticillium*, por serem agentes de controle biológico de doenças de plantas e insetos, respectivamente (LOPEZ *et al.*, 2020; PIMENTEL *et al.* 2006).

Ao tratar-se de fungos contaminantes de erva-mate pronta para consumo, encontram-se alguns trabalhos realizados no sentido de identificar quais as espécies fungicas estão presentes na erva processada. Amostras de erva-mate, camomila e erva-doce foram avaliadas quanto ao número de fungos potencialmente produtores de toxinas em diferentes modos de preparo (infusão fria, infusão e cocção), e verificou-se a presença de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Penicilium* e *Aspergillus* em diferentes proporções, encontrados nas três formas de preparo (CARVALHO *et al.*, 2009). Outro trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os principais fungos presentes em diferentes marcas comerciais de erva-mate, no qual foram encontrados fungos dos seguintes gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* e *Monilia* (BERNARDI; CALDEIRA; NASCIMENTO, 2005). Resultados semelhantes a esse foram encontrados ao serem avaliadas cinco amostras de erva-mate, microcultivadas em agar e incubadas por 25 dias, sendo encontrados fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (BORGES *et al.* 2002).

Através de revisão bibliográfica sobre os fungos encontrados em associação com a erva-mate, é possível perceber que estes se detêm em identificar as doenças causadas por fungos, sendo também encontrados alguns trabalhos avaliando a contaminação por fungos em erva-mate beneficiada. No entanto, não há trabalhos que realizem um levantamento de quais fungos estão associados à decomposição do resíduo de erva-mate. Desta forma, um dos objetivos deste trabalho foi realizar o levantamento de quais espécies fúngicas estão associadas a decomposição do resíduo de erva-mate e também realizar uma revisão de bibliografia dos fungos associados patogenicamente à erva-mate. Ao considerar-se que a maior parte dos fungos encontrados associados à erva-mate são patogênicos, torna-se necessário conhecer quais destes fungos permanecem viáveis no resíduo gerado pelo chimarrão, de forma que seja possível pensar em maneiras de descarte que evitem a propagação de inóculos de fungos patogênicos no ambiente.

1.3 Cultivo de cogumelos comestíveis em resíduos orgânicos

O consumo de cogumelos está presente na alimentação humana há milhares de anos, datando de muitos antes do nascimento de Cristo, sendo conhecidas entre espécies comestíveis e medicinais mais de 2.000 cogumelos selvagens úteis para o ser humano (BOA, 2004). A

utilização de cogumelos na alimentação vai muito além de seu sabor único e delicado, mas trata-se de um padrão alimentar que traz diversos benefícios para a saúde de quem os consome regularmente. Nutricionalmente, os cogumelos são alimentos de grande valor por terem uma quantidade significativa de fibra alimentar e terem um baixo percentual de gordura e calorias. Além disso, possuem um bom conteúdo protéico que contém a grande maioria dos aminoácidos essenciais (RONCERO-RAMOS; DELGADO-ANDRADE, 2017).

O hábito de consumir cogumelos na alimentação não é muito presente na cultura brasileira, acredita-se que isso ocorra porque o país foi colonizado por portugueses, que no passado, não tinham o costume de consumir cogumelos (ANPC, 2021). Fatores como falta de conhecimento sobre os benefícios do consumo e elevado valor de mercado do produto também colaboram para que o interesse dos brasileiros pelos cogumelos seja pequeno quando comparado a países asiáticos e europeus (PAZZA *et al.* 2019). Entretanto, o consumo de cogumelos comestíveis teve um crescimento expressivo no período entre 2005 e 2010, devido a propagação de restaurantes japoneses no Brasil (CARDOSO, 2019).

O Filo Basidiomycota é um dos maiores dentro do Reino Fungi, sendo precedido apenas pelo Filo Ascomycota tratando-se de número de espécies (HE *et al.* 2019). Nele estão presentes 41.270 espécies de fungos, que incluem os populares cogumelos e orelhas-de-pau, bem como as ferrugens, os carvões, os gasteromicetos e os gelatinosos (HE *et al.* 2019). Estes organismos são essenciais ao ecossistema e a vida no planeta terra, uma vez que são os grandes responsáveis pela ciclagem da matéria orgânica (KENDRICK, 2011).

Os fungos possuem a habilidade de colonizar tanto a madeira quanto os resíduos gerados por esta e produzir estruturas reprodutivas que tem sido exploradas por séculos na Ásia na produção de cogumelos como o Shiitake (*Lentinula edodes*) e o cogumelo-ostra (*Pleurotus ostreatus*) (YILDIZ *et al.* 2002). Os fungos são capazes de degradar uma ampla gama de matéria orgânica derivada de plantas, devido a produção de enzimas, que degradam a lignina e a celulose, transformando-as em energia e alimento.

Uma das maneiras de conseguir tornar os custos de produção de cogumelos comestíveis mais acessíveis é através da reutilização de resíduos orgânicos, que normalmente não possuem uso e seu destino final é o descarte. Diversos trabalhos têm sido feitos no sentido de reutilizar matérias orgânicas como substrato na produção de cogumelos comestíveis.

1.4 O gênero *Pleurotus*

O gênero *Pleurotus*, pertencente aos basidiomicetos, abriga cerca de 40 espécies, sendo todas elas comestíveis (RAMPINELLI *et al.*, 2010) sendo pelo menos 16 destas tendo ocorrência conhecida para o Brasil (PUTZKE; PUTZKE, 2018). Cogumelos deste gênero são conhecidos popularmente como cogumelos ostras e são cultivados em diversos países, principalmente no sudeste Asiático, Índia, Europa e África (BERNARDI *et al.*, 2009). *Pleurotus* é o segundo gênero de cogumelos comestíveis mais distribuído no mundo e possui um alto valor nutricional e propriedades terapêuticas únicas (SEKAN *et al.*, 2019).

Muito apreciados por seu aroma e sabor, os cogumelos do gênero *Pleurotus* também são conhecidos por possuírem alto valor nutricional e serem uma ótima fonte de proteínas, carboidratos, vitaminas, cálcio e ferro. Além disso, também apresentam propriedades medicinais importantes como atividade anti-tumoral e imunomoduladora (SILVA *et al.*, 2011), anti-inflamatória, produção de compostos bioativos com atividade antioxidante, sendo utilizados como alimentos funcionais (ARAUJO *et al.*, 2021).

Pleurotus spp. são espécies de fungos de podridão branca que crescem em diferentes substratos lignocelulósicos, pois possuem a capacidade de degradar todos os componentes da parede celular vegetal através da produção de enzimas extracelulares que realizam a degradação da lignina, celulose e hemicelulose (ARAUJO *et al.*, 2021). O uso de diferentes tipos de substrato pelo fungo depende das enzimas que este secreta, como as oxidativas (ligninase, lacase, peroxidase) e hidrolíticas (celulase, xilanase) (BELLETINI *et al.*, 2019; ELISASHAVILI *et al.*, 2017; KNOP; YARDEN; HADAR, 2015; RAVINDRAN *et al.*, 2018). São essas enzimas que estão envolvidas na utilização de substratos lignocelulósicos, pois através da degradação da parede celular fornecem ao fungo nutrientes como carbono, nitrogênio, enxofre, entre outros e dessa forma, permitem a estes fungos a capacidade de crescerem em uma grande variedade de substratos de origem vegetal (ARAUJO *et al.*, 2021).

Devido a sua rusticidade e resistência a doenças, os cogumelos do gênero *Pleurotus* spp. são de cultivo relativamente fácil, podendo desenvolver-se em uma ampla gama de resíduos agrícolas, desde que estes sejam umedecidos e pasteurizados (DIAS *et al.*, 2003). Tradicionalmente, os substratos utilizados para o cultivo dos fungos causadores da podridão branca da madeira incluem: farelo e palha de trigo, palha de aveia, palha de arroz, bagaço de cana e alguns outros resíduos lignocelulósicos (ALEXANDRINO, *et al.* 2007). Entretanto,

pesquisas têm sido feitas para testar outros resíduos agrícolas como possíveis substratos alternativos para o cultivo dos cogumelos.

A reutilização de resíduos orgânicos como substrato na produção de cogumelos é algo que tem sido estudado como uma alternativa para o descarte sustentável destes materiais. Dados obtidos em um trabalho sustentam o uso de resíduos de laranja gerados pela indústria de sucos como substrato para *P. ostreatus* (ALEXANDRINO *et al.*, 2007). A produção de inoculo de *P. ostreatoroseus* utilizando aveia preta e serragem adicionada a 20% de farelo de soja também mostrou-se satisfatória (BERNARDI *et al.*, 2007). Em um trabalho comparando diferentes substratos para a produção de *P. sajor-caju* a palha de feijão foi considerada o melhor resíduo para a produção deste cogumelo, mostrando-se mais eficiente biologicamente que a palha de milho pura e a casca de café (DIAS *et al.*, 2003).

Dessa forma, a escolha por utilizar o gênero *Pleurotus* neste trabalho que tem como um dos objetivos testar a utilização de erva-mate como substrato na produção de cogumelos comestíveis, justifica-se pelas características acima citadas, como a capacidade destes fungos adaptarem-se a diversos substratos vegetais, serem resistentes a doenças e de cultivo relativamente fácil.

1.5 Sistema de produção de *Pleurotus* spp.

Aproximadamente, 20 espécies do gênero *Pleurotus* são comercialmente cultivadas utilizando-se de ampla variedade de substratos, produzidos através de tecnologias ligeiramente diferentes (ESTRADA; PECCHIA, 2017). Diferentemente de outras espécies, estes cogumelos são conhecidos por serem de cultivo fácil, rápido e barato, pois demandam pouco tempo de preparação e baixa tecnologia de cultivo (FAN; SOCCOL; PANDEY, 2000; MANDEL, ALLAITH; MOHAMED, 2005).

O cultivo do gênero *Pleurotus* spp. envolve basicamente duas etapas: colonização do substrato e formação dos primórdios. Na primeira etapa, ocorre o crescimento micelial (fase vegetativa), que se dá por divisão celular e dura aproximadamente de 20 a 30 dias, em ausência de luz. Já a segunda etapa, a frutificação, inicia-se com a imposição de luz e aeração do substrato através da abertura do recipiente que contém o substrato inoculado, induzindo a formação de primórdios (fase reprodutiva), que podem ser colhidos entre 3 e 4 dias (MADAN; VASUDEVAN; SHARMA, 1987).

Detalhadamente, o cultivo de *Pleurotus* inicia-se com a produção ou aquisição do inócuo, continua com a preparação do substrato, inoculação, incubação, formação de primórdios, desenvolvimento do cogumelo e completa-se com a colheita do basidioma. Um dos passos muito importantes na produção de cogumelos comestíveis, é a esterilização do substrato, que visa eliminar microorganismos competidores e patógenos, que podem interferir no desenvolvimento do micélio (ESTRADA; PECCHIA, 2017). Para que ocorra a esterilização, é necessário que esta ocorra em 121°C por no mínimo 15 minutos (RAMAN *et al.*, 2020; RABUSKE *et al.*, 2019).

Para acondicionamento do substrato, o material mais comum utilizado são sacos plásticos, feitos a partir de polietileno ou polipropileno (ESTRADA; PECCHIA, 2017; DIAS *et al.*, 2003; RAMAN *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2018; ATILA, 2017). Há algumas situações onde primeiro o substrato é esterilizado, e então acondicionado nos sacos plásticos, entretanto, o procedimento mais comum é que primeiro ocorra o acondicionamento e depois autoclavagem em temperatura superior à 100°C.

Nos últimos anos, maior atenção tem sido dada à relação do plástico com os alimentos. Sabe-se que no contato entre embalagem e alimento, ocorre migração de partículas de plástico e aditivos para o alimentos, e que essa transmissão acontece com intensidade gradativamente maior com o aumento da temperatura (BERNARDO *et al.* 2015). Os efeitos da ingestão dessas partículas pelo ser humano estão associados com alterações do metabolismo lipídico e da glicose, infertilidade masculina e a uma série de patologias do sistema endócrino (ROCHA; MENDES, 2019).

É possível que durante a esterilização do substrato em alta temperatura, esta migração de partículas de plástico ocorra da embalagem para o substrato e estejam presentes até mesmo no basidioma formado, tornando-se um risco para o consumidor final. Por essa razão, torna-se necessário pensar em metodologias de cultivo que não envolvam a utilização de plástico no sistema de produção, utilizando materiais biodegradáveis. Dessa forma, um dos objetivos deste trabalho é testar a produção do cogumelo *P. ostreatoroseus* em colmos de *B. tuloides*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a utilização de substrato composto por resíduos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) exaurida após o chimarrão, para acompanhar a sucessão fúngica e para a produção cogumelos comestíveis *P. ostreatoroseus*.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar os gêneros fúngicos que ocorrem no resíduo de erva-mate gerado após o consumo durante as estações outono, inverno e primavera de 2020.
- Testar a erva-mate como substrato na produção de cogumelos comestíveis *P. ostreatoroseus*.
- Desenvolver uma metodologia de cultivo de *P. ostreatoroseus* utilizando erva-mate como substrato.
- Propor uma metodologia de cultivo de cogumelos comestíveis livre de contaminantes utilizando colmos de bambu e vidros de conserva como recipientes do substrato.
- Revisar bibliograficamente as espécies fúngicas fitopatógenas à erva-mate, propondo uma Lista das espécies e Chaves de Identificação.

3. RESULTADOS

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão dispostos sob a forma de quatro artigos. O primeiro foi submetido à Revista de Ciências Agrícolas, ISSN: 2256-2273 (Fator de Impacto: 0,2273 e conceito B1 na Nova Avaliação Qualis Capes - 2019). O segundo foi submetido à revista Biologia Tropical, ISSN: 0034-7744 (Fator de impacto: 0.723 e conceito A4 na Nova Avaliação Qualis Capes-2019). O terceiro foi aceito e está publicado na revista Agricultura Familiar: Pesquisa, Formação e Desenvolvimento (conceito B2 na Nova Avaliação Qualis Capes-2019). O quarto foi submetido à revista: Pesquisa Agropecuária Brasileira, ISSN: 1678-3921 (Fator de Impacto: 1.088 e conceito A na nova Avaliação Qualis Capes - 2019). Todos os artigos estão dispostos nas normas de submissão de cada revista.

3.1 Artigo 1:**Occurrence of filamentous fungi in discarded yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. – Aquifoliaceae)**

Foi submetido à Revista de Ciências Agrícolas, ISSN: 2256-2273, Fator de Impacto: 0,2273 e conceito B1 na Nova Avaliação Qualis Capes-2019.

OCCURRENCE OF FILAMENTOUS FUNGI IN DISCARDED YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* ST. HIL. – AQUIFOLIACEAE)

Ana Luiza Klotz-Neves¹; Jair Putzke²; Fernando Augusto Bertazzo da Silva³,
Lilian Pedroso Maggio, Marines de Avila Heberle

ABSTRACT

The yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil. -Aquifoliaceae) waste is one of the most produced in domestic environment in southern Brazil, for the traditional consumption of mate, whose decomposition by fungi has been poorly evaluated. In order to study the fungal succession in mate residue, 450 samples were evaluated during the autumn, winter and spring, kept for two months in a humid chamber (aerobic media) for the growth of associated filamentous fungi (the summer period was not included due to the pandemic modified the research schedule). The identification of fungi was morphological using microscopy only of the superficially developed mycelia. Twenty-two genera of filamentous fungi were found, of which the Zygomycota (*Rhizopus* spp. and *Mucor* spp.) microflora stand out, since their growth is exclusive in the first 19 days. After this period, the fungi Deuteromycota (mainly *Aspergillus* spp.) and Oomycota (*Pythium* spp.) develop more vigorously, supplanting the previous ones. The species of *Curvularia*, *Fusarium*, *Verticillium* and *Pythium* are phytopathogens and end up having their inoculum source increased with the irregular disposal of this residue in nature. Measures are needed to avoid the creation of yerba mate pathogen banks, affecting future production and even other plants in the natural and domestic environment, since the use of this residue in green manure is routine.

Keywords: succession; residue; phytopathology; mycodiversity.

PRESENCIA DE HONGOS FILAMENTOSOS EN YERBA MATE DESECHADA
(*Ilexparaguariensis* ST. HIL. - AQUIFOLIACEAE)

RESUMEN

El residuo de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil. - Aquifoliaceae) es uno de los más producidos en el medio doméstico en el sur de Brasil, para el consumo tradicional de mate, cuya descomposición por hongos ha sido mal evaluada. Para estudiar la sucesión fúngica en el residuo de mate, se evaluaron 450 muestras durante el otoño, invierno y primavera, mantenidas durante dos meses en cámara húmeda (medio aeróbico) para el crecimiento de hongos filamentosos asociados (el periodo de verano no se incluyó debido a que la pandemia modificó el cronograma de investigación). La identificación de hongos fue morfológica usando microscopía solo del micelio desarrollado superficialmente. Se encontraron 22 géneros de hongos filamentosos, de los cuales destaca la microflora Zygomycota (*Rhizopus* spp. y *Mucor* spp.), Ya que su crecimiento es exclusivo en los primeros 19 días. Después de este período, los hongos Deuteromycota (principalmente *Aspergillus* spp.) y Oomycota (*Pythium* spp.) Se desarrollan con más vigor, suplantando a los anteriores. Las especies de *Curvularia*, *Fusarium*, *Verticillium* y *Pythium* son fitopatógenos y acaban teniendo su fuente de inóculo incrementada con la disposición irregular de este residuo en la naturaleza. Se requieren medidas para evitar la creación de bancos de patógenos de yerba mate, que afecten la producción futura e incluso otras plantas en el medio natural y doméstico, ya que el uso de este residuo en abonos verdes es rutinario.

Palavras clave: sucesión; residuo; fitopatología; micodiversidad.

INTRODUCTION

Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. - Aquifoliaceae, Magnoliophyta), is popularly used as tea prepared in popular consumption called "mate" or "chimarrão" mainly by the population of southern Brazil, Argentina and Uruguay, have been little studied, considering the impact of this industry, which has been growing in the last few years, both in produced tons and in export values (Zanin and Meyer, 2018). Production is

concentrated in the three southern states of Brazil, with Rio Grande do Sul being the main producer of yerba mate (Santos et al., 2014).

Despite being a natural organic compound, the waste generated by the consumption of the "chimarrão" does not yet have an adequate destination, being normally disposed of in the common garbage, since there are still no viable alternatives for its recycling or its use as a bioresource (Gúllon et al., 2018). Before reaching the consumer, yerba mate goes through processing, where pruning, "sapeco", drying and grinding take place and then finely filling. Due to the lack of registration of specific and appropriate products for the crop, the use of herbicides and pesticides is not an accepted practice and there is still no registration of fungicides in the Ministry of Agriculture for yerba mate cultivation, resulting in the presence of viable pathogens at the end of the consumption process (Paula et al., 2017).

During processing, yerba mate is exposed to high temperatures, however, not enough for sterilization, since pathogenic fungi from the crop may remain viable in the waste material, as was observed by Silva et al. (2019). In industry, yerba mate undergoes two main heat treatment processes, called "sapeco" and drying, which are carried out by fire at temperatures ranging from 65°C to 400°C (Dors, 2017). Despite the temperatures being high, some filamentous fungi have spores that resist the increase in temperature, remaining viable until the environment presents favorable conditions for their development (Medeiros et al., 2019).

There are many pathogenic fungi in different stages of the life cycle of the yerba mate and many of them can occur on other cultivate plant species, being important a correct destination of the residual. Between the diseases caused by fungi, the tipping, root rots, vascular system fungi and leaf spots are the most important (Marques et al., 2013).

As a waste, yerba-mate has many few studies involving filamentous fungi succession, being its main use as a source of energy (burned) and/or as organic fertilizer (MOSELE, 2002). No studies on the pathogenic fungi found in this oeganic compound were done up to now.

What are the fungi found in the discarded mate and what are the implications of the occurrence of these fungi in the waste, are the main questions of this work, aiming to study the fungal succession in in this substrate and discussions on the impact of the increase in fungi diversity with the continuous use of it as a fertilizer.

MATERIAL AND METHODS

Discarded yerba mate by 5 consumers was filled in cleaned and buffered glass containers (canned type with the addition of \cong 160 mg of residue/glass) soon after consumption for a period of 90 days, staggered between the autumn, winter and spring seasons 2020. There was no addition of water other than that previously contained in the substrate, and the bottles were partially closed to create an aerobic environment, constituting a humid chamber.

Maintenance was at ambient temperature. After 30 days of collection, the samples were evaluated for the occurrence of fungi and this observation continues for another month. A part of the filamentous fungi found only on the exposed surface in each glass container was removed with the aid of tweezers and a permanent slide was prepared for the microscopic study. This was performed using a Karl ZeissAxiostar Plus microscope. The fungi were photographed and pertinent bibliography was used to identify the species found, especially at genus level using Putzke and Putzke (2008) and specific literature to each genus found. Lists of fungi for yerba mate were prepared by reviewing the literature on the subject.

RESULTS AND DISCUSSION

Twenty-two genera of fungi associated with discarded mate herb residues were found (Table 1). The species of phytopathogens found were identified up to the specific level whenever possible.

Table 1. Filamentous fungi found in yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) residuals.

Species	Kind of relationship	Ref.
<i>Allomyces</i> sp.	Saprophytic. First occurrence in association with <i>Ilexparaguariensis</i> .	
<i>Alternaria alternata</i>	Pathogenic to fruits of <i>Ilex decidua</i> , <i>I. serrata</i> and <i>I. verticilliata</i>	2
<i>Alternaria</i> sp.	Found on seeds	6
<i>Arthrobotrys</i> sp.	Spores found on flowers and fruits	5
<i>Aspergillus</i> sp.	Found on seeds, saprophytic and comaninanting of processed mate.	1
<i>Aureobasidium</i> sp.	Saprophytic and pathogenic	3
<i>Bipolaris</i> sp.	Found on seeds	6, 7
<i>Cercospora</i> sp.	Pathogenicoftwigs	11
<i>Chaetomium</i> sp.	Found on seeds, saprophytic	1 5,
<i>Colletotrichum</i> sp.	Pathogenic causing anthracnose and black-paint	10
<i>Curvularia</i> sp.	On seeds, phytopathogenic	1
<i>Fusarium oxysporum</i>	Pathogenic causing root rot	3
<i>Fusarium</i> sp.	Pathogenic of leaves, twigs and seeds	1
<i>Mortierella</i> sp.	Saprophytic. Symbiotic with roots	4
<i>Mucor mucedo</i>	Saprophytic. First occurrence in association with <i>Ilex paraguariensis</i> .	
<i>Mucor</i> sp.	Saprophytic. Contaminating of processed mate	1
<i>Nigrospora</i> sp.	Found on seeds	5
<i>Penicillium</i> sp.	Saprophytic. On seeds and contaminating processed mate	1
<i>Peronospora</i> sp.	Pathogenic. First occurrence in association with <i>Ilex paraguariensis</i> ..	9
<i>Pilobolus</i> sp.	Saprophytic. First occurrence in association with <i>Ilex paraguariensis</i> .	
<i>Pythium</i> sp.	Pathogenic. Associated to root rot.	4
<i>Pythium aphanidermatum</i>	Pathogenic. First occurrence in association with <i>Ilex paraguariensis</i> .	8
<i>Rhizoctonia solani</i>	Pathogenic	1
<i>Rhizopus</i> sp.	Saprophytic. Found in seeds and processed mate	1
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Saprophytic.	
<i>Thanatephorus</i> sp.	Pathogenic to roots	10
<i>Verticillium alboatrum</i>	Pathogenic	

Verticillium sp. Saprophytic

5

Legend:

Ref. - Reference

1. Lin *et al.* (2018) 1
2. Souza *et al.* (2020) 2
3. Bergottini *et al.* (2017) 3
4. Poletto *et al.* (2015)
5. Souza *et al.* (2019)
6. Palmucci *et al.* (2011)
7. Thines and Choi (2016)
8. Capellari (2017)
9. Paula *et al.* (2018)
10. Dixon (2021)
11. Oliveira *et al.* (2015)
12. Borges *et al.* (2018)

The genera that initially occur in the residue are the molds of the Zygomycota group, mainly *Rhizopus* spp. and *Mucor* spp. which are the first to settle according to what was verified in the experiment, remaining dominant for at least 19 days, covering 100% of the exposed surface of the substrate during this period. Both are not pathogens and occur mainly associated with fruit rots (Poletto *et al.*, 2015). After this period, other filamentous species begin to occur, especially pathogens of the genera *Alternaria*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Verticillium* and *Pythium* (Poletto *et al.*, 2015), sometimes still associated with Zygomycota, but these in a final stage with reduced mycelial coverage. It is possible that pathogens take advantage of the initial decomposition that Zygomycota perform and then settle down, due to nutritional preferences and the possibility of spreading their spores more easily, without competition with other hyphae. The appearance of *Mucor* and *Rhizopus* in the initial colonization of the substrate was also observed in the biodiversity of fungi decomposing litter, which were considered the first colonizers, while fungi of the genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Chaetomium* were considered late colonizers, also observed

in others results of studies of fungal succession in yerba mate (Kumar *et al.*, 2020).

The occurrence of these fungi in percentage terms of each genus is shown in Table 2, indicating a high occurrence of pathogens that are still viable even after heat treatment in farming and industry and after the traditional form of consumption in Brazil, with hot water.

Table 2. Frequency of genera found in the autumn, winter and spring seasons on yerba mate residuals.

Genera	Autumn	Winter	Spring
<i>Allomyces</i> sp.	0,67%	0	0
<i>Alternaria</i> sp.	2,36%	0,66%	2,66%
<i>Arthrotrichum</i> sp.	0	0	0,66%
<i>Aspergillus</i> sp.	8,10%	6%	14,33%
<i>Aureobasidium</i> sp.	3,37%	0	0,00%
<i>Bipolaris</i> sp.	0,00%	0	0,66%
<i>Cercospora</i> sp.	0,67%	0	0,00%
<i>Chaetomium</i> sp.	0,00%	0	0,33%
<i>Colletotrichum</i> sp.	0,67%	0	0,00%
<i>Curvularia</i> sp.	2,02%	0	2%
<i>Fusarium</i> sp.	12,35%	0,66%	1%
<i>Mortierella</i> sp.	0,00%	0	0,66%
<i>Mucor</i> sp.	26,35%	24,33%	14,33%
<i>Nigrospora</i> sp.	0,00%	0,66%	0,00%
<i>Penicillium</i> sp.	0,67%	0,00%	1,33%
<i>Peronospora</i> sp.	0,00%	0,00%	0,66%
<i>Pilobolus</i> sp.	0,00%	0,00%	0,66%
<i>Pythium</i> sp.	3,04%	1%	1,66%
<i>Rhizoctonia</i> sp.	0,67%	0,66%	0,00%
<i>Rhizopus</i> sp.	17%	7,33%	3%
<i>Thanatephorus</i> sp.	0,00%	0,00%	0,66%
<i>Verticillium</i> sp.	2,02%	1,33%	0,66%
No occurrence	20%	57,33%	54,66%

The last stage of growth of filamentous fungi and other contaminant of this waste results in a completely darkened and very moist residue, denoting the final stage of succession of filamentous fungi and the final dominance of yeast-like fungi and bacteria, which is denoted by the strong odor of some samples in the final stages of the evaluation. This stage can be called the maturation phase, in which there is an increase in the proliferation of bacteria and, consequently, a reduction in the fungal population, which is possibly due to microbial antagonisms, antibiosis, high moisture content and slightly acidic pH of the compound (Zhouet *al.*, 2016). This result is in line with other researchers who study communities of microorganisms involved in the degradation of this lignocellulosic material have found, who report the existence of an "obvious succession" of fungal communities during the decomposition process, in which there is a predominance of bacteria while filamentous fungi often appear in the initial period of composting (Tian *et al.*, 2017).

It is important to note that the proliferation of insects and nematodes in the residual material was observed in some glass containers and on microscope slides, which limits the development of filamentous fungi as they can feed on them, reducing the observation time, which is therefore one of the indicators that the substrate has reached its maturation stage (Steel *et al.*, 2018). However, it is important to point out that the nematodes could only have reached the residue directly through the substrate, coming from the field, and some of them may also be associated with yerba mate pathologies, but this still needs to be evaluated. Nematodes of the genus *Meloidogine* spp. are mainly associated with yerba mate seedlings, where they cause root infestations (galling) and problems mainly with growth, yellowing, wilt and drought. The root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) is considered one of the main phytopathogens of the yerba mate, causing economic losses of up to 56% in some plantations (Laurindo and Souza, 2020).

Considering that 12 species of fungal pathogens of yerba mate were observed in our study, and all of them are generalists and can parasitize

other plants, it is important to consider that the use of this residue after consumption as organic fertilizer directly in flower beds, fruit trees or vegetable gardens, observed as practice among population in general, is a completely erroneous practice (Santos *et al.*, 2019). This causes the introduction of these perfectly viable fungi, as observed here, in the new environment and the possibility of reproducing symptoms in the new plant, since they are fungi with a broad host spectrum. *Fusarium oxysporum*, as for example, is among the most economically important pathogenic fungi in the world, causing root, stem and fruit rot in several cultivated species in the plant, resulting in production losses equivalent to one billion dollars (Rampersad, 2020).

New pathogenic fungi of yerba mate are constantly being found, as was the case of *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst in two southern Brazilian municipalities, located 163 km apart, causing losses of 5% in plants of different ages (Santos *et al.*, 2018). In Argentina, the species *Ceratobasidium niltonsouzanum* MP Melo, SI Moreira & PC Ceresini was found for the first time as pathogenic to yerba mate, whose symptoms included white leaf rust and mycelium growing on young branches, indicating that the diversity associated with yerba mate still needs further studies (Lima *et al.*, 2019). The results found in the present work report the first occurrences of the pathogenic fungi *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. (but this species is mostly associated to fruits), *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, *Peronospora* sp. and *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. associated with *Ilex paraguariensis*; in addition, the first occurrences of the saprophytic fungi *Mucor mucedo* L. and of the genera *Allomyces* and *Pilobolus* associated with yerba mate are reported here too.

There is an urgent concern with the proper destination of the residues from the consumption of yerba mate, especially since it contains many viable pathogens, as denoted by the present study. Even after heat treatments in farming, industry and domestic environment, the pathogens reproduction structures survive, and the deposition of these residues in the environment increases the inoculum potential. This can lead to the

contamination of new hosts and the capacity to infect other areas of yerba mate production and the reduction in the production of this important source of income in southern Brazil. The reintroduction of industrial yerba mate residue to replace the exported macronutrients (N, P and K), for example, was evaluated and considered an option, as no adverse effects on the soil and plant were observed, although the presence of phytopathogenic fungi was not evaluated (Sousa *et al.*, 2015).

Among the twenty-two genera of fungi found associated with yerba mate, twelve are pathogenic, not only for yerba mate but also for several other commercial crops. This work contributes to the expansion of knowledge about the fungi that occur associated with *Ilex paraguariensis*, noting that the pathogens remain viable in the final waste, even after all the processing and use by the consumer. For this reason, greater attention is required when disposing of this waste. Among the alternatives, the separate collection of organic waste generated in the producing regions and the correct destination to landfills, the use of the substrate for growing edible mushrooms, or some other additional form of sterilization, that still needs to be evaluated, are mentioned here.

CONCLUSIONS

Twenty-two genera of fungi were found in association with the yerba mate residue, twelve of which were pathogens. The most recurrent genera in the residue of *Ilex paraguariensis* were *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* and *Pythium*.

Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill., *Verticillium alboatrum* Reinke & Berthold, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *Mucor mucedo* L. are reported as the first occurrence associated with mate residue.

More rigorous attention in the disposal of yerba mate residue is recommended in relation to avoiding the contamination of other vegetable cultures due to the presence of viable pathogens in the residue after consumption.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ).

REFERENCES

- BERGOTTINI, V. M.; HERVÉ, V.; SOSA, D. A.; OTEGUI, M. B.; ZAPATA, P.D.; JUNIER, P. 2017. Exploring the diversity of the root-associated microbiome of *Ilex paraguariensis* St. Hil.(Yerba Mate). *Applied Soil Ecology*. 109, 23-31.
- BORGES, D. F.; LOPES, E. A.; MORAES, A. R. F.; SOARES, M. S.; VISÔTTO, L. E.; OLIVEIRA, C. R.; VALENTE, V. M. M. 2018. Formulation of botanicals for the control of plant-pathogens: A review. *CropProtection, Rio Paranaíba*. 110, 135-140
- CAPELLARI, P. L. 2017. Yerba Mate Reseña Histórica y Estadística. Producción e Industrialización em El siglo XXI. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Consejo Federal de Inversiones. 1 ed.
- DIXON G.R. 2021. Amino acid changes during early stages of tomato wilt disease (*Verticillium albo-atrum*). *Plant Protect. Sci*. 57, 140–147.
- DORS, P. 2017. Teor de elementos em infusão de erva-mate em diferentes temperaturas. 2017. 89 f.Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade Federal de Santa Catarina. Lages.
- GULLÓN, B.; EIBES, G.; MOREIRA, M.T.; HERRERA, R.; LABIDI, J.; GÚLLON, P. 2018. Yerba mate waste: A sustainable resource of antioxidante compounds. *Industrial crops and products*. 113, 398-405.

KUMAR, B.; SHARMA, T. K.; DASSANI, S. 2020. Succession of Microfungi on Leaf litter of *Anogeissus pendula* in Datia, Madhya Pradesh, India. Indian Journal of Ecology. 47(2), 419-425.

LAURINDO, L. K.; SOUZA, T. A. F. . Indicadores da qualidade do solo em sistemas agroflorestais e ecossistemas associados. 1. ed. Curitiba: PPGEAN/UFSC, 2020. v. 1. 102p.

LIMA, N. B.; KRYVENKI, M. A.; CONFORTO, C.; SERRI, D.; KRAMER, R.; ROCA, M; VARGAS-GIL, S. 2019. First report of White thread blight caused by *Ceratobasidium nitonsouzanum* on Yerba Mate in Argentina. Plant Disease. 104(2), 572.

LIN, S.; TAYLOR, N. J.; HAND, F. P. 2018. Identification and Characterization of Fungal Pathogens Causing Fruit Rot of Deciduous Holly. Plant Disease. 102(12), 2430-2445.

MARQUES, J. J., et al. 2013. Erva-mate: guia para aplicação de boas práticas agrícolas. Lajeado, RS: Emater/RS-Ascar. 80 p.

MEDEIROS, J. G. F.; FONTES, I. C. G.; SILVA, E. C.; SANTOS, P. D.; RODRIGUES, R. M. 2019. Controle de fungos e qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycinemax* L.) submetidas ao calor húmido. Revista de Ciências Agrárias. 42(2), 464-471.

OLIVEIRA, E.; MACIEL, C. G.; CAMPAGNOLO, K. 2015. Qualidade sanitária de sementes de ervamate. Unoesc&Ciência-ACET. 6(2), 233-240.

PALMUCCI, H. E.; WOLCAN, S.; GRIJALBA, P. E. 2011. Status of the Pythiaceae (Straminipila) in Argentina I. the genus *Pythium*. Bol. Soc. Argent. Bot. 46(3-4), 197-211.

PAULA, S., WOLF, K. R., MARTÍNI, A. F.; MILANESI, P. M. 2018. Fungal disease in "erva-mate". Scientific Electronic Archives. 11(2), 27-34.

PAULA, S.; WOLF, K. R.; MARTÍNI, A. F.; MILANESI, P. M. 2017. Incidência de fungos em solos cultivados com erva-mate no Alto Uruguai gaúcho. *Summa Phytopathologica*. 47, 10-16.

POLETTO, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; POLETTO, T. 2015. Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Ciência Florestal*. 25(2), 281-291.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. 2008. Os reinos dos fungos. 3ª ed., Santa Cruz do Sul, Editora da Universidade de Santa Cruz do Sul, 606 p.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. 2017. Cogumelos (fungos Agaricales) encontrados no Brasil: famílias Agaricaceae, Amanitaceae, Bolbitiaceae, Coprinaceae/Psathyrellaceae, Crepidotaceae, Entolomataceae e Hygrophoraceae. Editora LupaGraf, Santa Cruz do Sul.

RAMBERSAD, S. 2020. Pathogenomics and Management of Fusarium Diseases in Plants. *Pathogens*, The University of the West Indies, St. Augustine. 9(5), 1-21.

SANTOS, A. F.; FERREIRA, M. A.; AUER, C. G.; BUHRER, C. B.; BRITO, N. M.; SCREMIN, R. M.; MIRESKI, M. C. 2018. First report of Yerba Mate wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. *Plant Disease*. 102(11), 2381.

SANTOS, A.; DIAS, L. C.; OLIVEIRA, S. D. 2019. Implantando o projeto horta vertical no Colégio Estadual Silveira da Motta, São José dos Pinhais, Paraná. *Braz. J. of Bus.* 1(1), 78-86.

SANTOS, C. O. DOS; TRINDADE, S. C.; SILVEIRA, M. L. R.; SANTOS, R. O.; SAUTTER, C. K. 2014. Caracterização, teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em diferentes tipos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) para chimarrão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 73(1), 77-86.

SILVA, J. J.; PUEL, O.; LORBER, S.; FERRANTI, L. S.; ORTIZ, L. F.; TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T.; FUNGARO, M. H. P. 2019. Occurrence and diversity of

Aspergillus in commercial yerba mate elaborated for the Brazilian beverage 'chimarrão'. Food Research International. 121, 940-946.

SOUSA, A.P.; JORGE, R. M. M.; WEINCHUTZ, R.; MOTTA, A. C. V.; MATHIAS, A. L. 2015. Reciclagem agrícola com borra de erva mate para recompor macronutrientes. In: Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas, 2015, Poços de Caldas. Anais. 7, 1.

SOUZA, G. F.; OLIVEIRA, L. M.; AGOSTINETTO, L.; PUCHALE, L. Z.; SÁ, A. C. S. 2019. Efeito da estratificação em substrato esterilizado na qualidade sanitária de sementes de *Ilexparaguariensis*. Ciência Florestal. 29(2), 854-862.

SOUZA, G. F.; OLIVEIRA, L. M.; CASA, R. T.; AGOSTINETTO, L.; SOUZA, A. C. 2020. Detection Methods of Fungi in *Ilex paraguariensis* Seeds. Floresta Ambient.27(3), 1-7.

STEEL, H.; MOENS, T.; VANDECASTEELE, B.; HENDRICKX, F.; DE NEVE, S.; NEHER, D. A.; BERT, W. 2018. Factors influencing the nematode community during composting and nematode-based criteria for compost maturity. Ecological Indicators. 85, 409-421.

THINES, M.; CHOI, Y-J. 2016. Evolution, Diversity, and Taxonomy of the Peronosporaceae, with Focus on the Genus *Peronospora*. Phytopathology.106, 6-18.

TIAN, X.; YANG, T.; HE, J.; CHU, Q.; JIA, X.; HUANG, J. 2017. Fungal community and cellulose-degrading genes in the composting process of Chinese medicinal herbal residues. Bioresource Technology. 241, 374-383.

ZANIN, V.; MEYER, L. G. 2018. Evolução da margem de comercialização da erva mate no Rio Grande do Sul. Revista IPecege. 4(1), 7-18.

ZHOU, Y.; SELVAM, A.; WONG, J. W. C. 2016. Effect of Chinese medicinal herbal residues on microbial community succession and anti-pathogenic properties during co-composting with food waste. Bioresource Technology. 217, 190-199.

3.2 Artigo 2:**YERBA MATE RESIDUE (*Ilex paraguariensis* – Aquifoliaceae) IN THE PRODUCTION OF EDIBLE MUSHROOMS *Pleurotus ostreatoroseus***

Foi submetido à revista *Biologia Tropical*, ISSN: 0034-7744 (Fator de impacto: 0.723), conceito A4 na Nova Avaliação Qualis Capes-2019.

YERBA MATE RESIDUE (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil. - Aquifoliaceae) IN THE PRODUCTION OF EDIBLE MUSHROOMS *Pleurotus ostreatoroseus* Singer

Ana Luiza Klotz-Neves¹

Jair Putzke^{2*}

Fernando Augusto Bertazzo da Silva³

Lilian Pedroso Maggio⁴

Marines de Avila Heberle⁵

Marisa Terezinha Lopes Putzke⁶

¹Biologist, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel, Av. Antônio Trilha, 1847, CEP 97300-162, São Gabriel (RS), Brasil, anaklotz.aluno@unipampa.edu.br (ORCID: 0000-0002-4273-0816)

²Biologist, Dr., Professor Titular na Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel, Av. Antônio Trilha, 1847, CEP 97300-162, São Gabriel (RS), Brasil, jairputzke@unipampa.edu.br (ORCID: 0000-0002-9018-9024).

³Biologist, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel, Av. Antônio Trilha, 1847, CEP 97300-162, São Gabriel (RS), Brasil, fernandobertazzo.aluno@unipampa.edu.br (ORCID: 0000-0002-2179-1492)

⁴Biologist, Dr. Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel, Av. Antônio Trilha, 1847, CEP 97300-162, São Gabriel (RS), Brasil. (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3837-3131>).

⁵Biologist, Ms., Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel, Av. Antônio Trilha, 1847, CEP 97300-162, São Gabriel (RS), Brasil. marinesheberle@yahoo.com.br

⁶Professor Dr., Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Av. Independência 2293, CP 188 Santa Cruz do Sul – RS, CEP 96815-900. marisa@unisc.br (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2004-8410>).

*autor correspondente: Jair Putzke, Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel, Av. Antônio Trilha, 1847, CEP 97300-162, São Gabriel (RS), Brasil. E-mail: jairputzke@unipampa.edu.br; telefone (51) 999920799.

ABSTRACT

Introduction: *Pleurotus* mushrooms are cultivable on various substrates of vegetable origin and the yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue may be one of the most promising, especially if domestic cultivation techniques are developed. As a large producer and consumer of yerba mate, southern Brazil also has a large production of waste from this industry. **Objective:** In this sense, this work aims to test the possible cultivation of *P. ostreatoroseus* in yerba mate residue (recently discarded and undergoing decomposition by associated fungi), seeking an appropriate technique for domestic cultivation of the mushroom. **Methods:** Three substrates were prepared: a) partially decomposed yerba mate (300 samples collected by five consumers for 30 days in the autumn and winter seasons of 2020, spending two months in maturation); b) recently discarded yerba mate; c) yerba mate recently discarded and added with eucalyptus sawdust in three concentrations (30%; 50%; 70%), packed in glass containers (triplicate) and in bamboo stalks 30 cm long. **Results:** Cultivation of *Pleurotus* in yerba mate just after disposal partially decomposed and fresh yerba mate proved to be unviable, with good mycelial colonization of the substrate, but without basidioma production. In experiments with sawdust addition, all concentrations showed formation of primordia, and with the concentration of 70% of sawdust, fruiting occurred before

(9 days) and presenting the largest basidiome (5 cm in diameter). It is believed that aeration is an important factor for mycelial and basidioma development in *P. ostreatoroseus*, contrary to what has already been mentioned for *P. djamor*, contributing to the differentiation of both species in cultivation situation. The mycelium of the species growing on yerba mate residue was able to reduce the inoculum of pathogenic fungi found in a previous analysis of the substrate, indicating that it is an adequate practice for the treatment of the final residue, thus avoiding the increase in the inoculum of pathogenic fungi to plants in the disposal sites. **Conclusion:** Yerba mate residue added with *Eucalyptus* sawdust (30% or more) is a good substrate for *Pleurotus ostreatoroseus* cultivation and while growing on this substrate de fungus also eliminates plant pathogenic fungi.

Keywords: Cultivation. Alternative substrates. Shimeji. Mycelial growth.

“Yerba mate” or “erva-mate” (EM) is commonly consumed as an infusion produced from hot water extract (85°C to 95°C) of the dried leaves of *I. paraguariensis*, popularly known as “mate” or “chimarrão”, or cold water as in the case of “tererê” (ARRIETA et al., 2018). More than 35 tons (ca. US\$ 82 million) of yerba mate were exported by Brazil in 2016, with Uruguay, Chile, USA and Germany being the main buyers. The per capita consumption of yerba mate in Rio Grande do Sul (southern Brazil state) is 9 kg/year (ca. 70 thousand tons/year), with the state of Paraná consuming 20 thousand and Santa Catarina about 15 thousand tons (IBRAMATE (2018).

The waste generated by consumption is simply discarded in the common garbage, being mainly directed to landfills or, on a smaller scale, to domestic fertilization. This ligno-cellulosic organic matter has been identified with a lot of other alternative uses, including to energy generation (MENEZES & BARRETO, 2015).

Yerba mate residue can also be used as the main base in the production of edible mushrooms, exempting the need for nutritional supplementation, as it presents an ideal C/N ratio. The residue is suggested as a base substrate, but only in the case of axenic production, since under normal conditions there would be a high rate of contamination due to the high nitrogen content (REFFATTI, 2006).

Taking into account that after use, the EM is entirely discarded and, as this is an organic

waste in part with remains of branches, ribs and leaves, it is possible that it is feasible to use this substrate for the production of mushrooms. The use of yerba mate as a substrate was tested by KOHARI et al. (1997) who obtained positive results for *Pleurotus sajor-caju*. According to the authors, as it has a high level of nitrogen in its composition, yerba mate is a good substrate for mushroom production, since this element is essential for the basidiomata to develop.

The genus *Pleurotus* (Agaricomycetes – Basidiomycota) encompasses about 70 edible species and the main cultivated commercially are the following: *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., *P. cystidiosus* O.K. Mill, *P. eryngii* (DC.) Quél. and *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. This group of mushrooms has high nutritional value, with several therapeutic properties and biotechnological applications (SILVA, 2016; RABUSKE et al., 2019).

P. ostreatoroseus Sing. is an interesting species for commercial use, due to its easy growth on various substrates without sterilization, with the possibility of growing at room temperature and as it presents a pink color, attractive to consumers (PUTZKE & PUTZKE, 2017). Due to its difficulty in being differentiated macroscopically, it is often confused with *Pleurotus djamor*. There are still no experiments using this species and this residue as substrate in literature.

The final EM substrate is characterized as one of the pure organic residues among those discarded in the domestic environment, since

the use of pesticides is very controlled in production and the treatment in the industry uses only heat in processing and packaging. The possibility of cultivating mushrooms as an alternative for the final use of this noble substrate is then considered. This would make the mushroom produced of higher quality than produced using sawdust or other substrates.

MATERIALS AND METHODS

For the tests in the present work commercial strains of *P. ostreatoroseus* (Pleurotaceae – Basidiomycota) were used, a native species with the spawn obtained from Brazilian commercial suppliers.

Three different compositions of erva-mate (EM) substrates were prepared, discussed below, as follows: 1) EM partially decomposed; 2) recently discarded EM; 3) fresh EM with eucalyptus sawdust in three different concentrations (30%; 50%; 70%), packed in glass containers (500 ml) and also in bamboo stalks. A fourth experiment evaluated the effect of the inoculation of the *Pleurotus* species on the pathogenic fungi found in this residual. The experiments are described below:

Experiment I

Substrate 1: Effect of inoculation of *P. ostreatoroseus* on EM partially decomposed by filamentous fungi

The waste generated by the consumption of the plant in the form of “chimarrão” (prepared with hot water) was collected for a period of 30 days, during the autumn and winter seasons of 2020, by five consumers, generating 150 winter and 150 autumn samples. These samples were placed in glass containers (500 ml) and remained at room temperature for a period of two months, for the proliferation of fungi associated with decomposition. This naturally partially decomposed EM was used in the present work

The objective of this work was to evaluate the viability of the cultivation of *P. ostreatoroseus* for the first time in “erva-mate” residue in different formulations and to verify if the species controls pathogenic fungi found in this kind of waste.

as a substrate for the production of *P. ostreatoroseus*.

To carry out the cultivation, 4 samples were chosen from the initial period of collection (1st, 2nd, 3rd and 4th days), other 4 samples from the intermediate period (13th, 14th, 15th and 16th days) and 4 samples from the final period (27th, 28th, 29th and 30th days), this for both autumn and winter collections. These were placed in new glass containers (500 ml) and closed with a metal lid with a cotton pad inserted in a 5 mm hole in the center of it, to facilitate gas exchange with the medium. The samples were autoclaved in a pressure cooker at three different times (30, 60 and 90 minutes). After cooling the substrate, each sample received a spoon of *P. ostreatoroseus* spawn, except for one sample from each period, which served as a control. The samples were kept at room temperature under indirect light. 30 days after inoculation, the samples were evaluated for mycelial growth and were opened to assess the possibility of producing mushroom primordia.

Experiment II

Substrate 2: Fresh Yerba Mate (EM)

Fresh EM was tested as a substrate for the production of *P. ostreatoroseus*, using two forms of cultivation: non-autoclaved and autoclaved in a domestic pressure cooker.

For a period of 25 days during the summer of 2021, the waste generated by the consumption of an EM was placed in a glass container (500 ml). Soon after being collected, the residue was autoclaved in a pressure

cooker for 30 minutes after being buffered. After cooling, a spoon of *P. ostreatoroseus* spawn was inoculated into the substrate. The glass was closed with a metal lid, with a central hole filled with a cotton swab, to facilitate gas exchange with the medium. After complete micellization of the substrate, the glasses were opened for the production of primordia.

Another 20 glass recipients (500 ml) dipped in boiling water for 10 minutes received EM discarded directly, with a spoon of inoculum added to the surface of the substrate. The metal cap had a cotton swab inserted into a 5mm hole in the center.

The samples were kept at room temperature under indirect light. After full colonization of the substrate, the vials were opened and kept at room temperature for the production of mushrooms. A spray of sterile water was added daily after surface exposure.

Experiment III

Substrate 3: Fresh EM added with *Eucalyptus* sawdust

Residue of freshly discarded EM was added 30%, 50% and 70% (v/v) of dry eucalyptus sawdust. The mixture was moistened to saturation and was placed in 500 ml glass containers (until full filling) and also in bamboo stalks 30 cm long (5 cm hole). Three glasses and three bamboos were prepared for each concentration. The glass samples were autoclaved in a pressure cooker for 30 minutes, while the bamboo samples were not autoclaved. After cooling, two spoons of *P. ostreatoroseus* spawn were added to the substrate of all preparations. The glasses were closed with a metal lid with a central hole filled with a cotton swab. The bamboos were closed with a paper towel cake placed on the surface according to a methodology already published (Putzke et al., 2019).

The samples were placed under indirect light and room temperature for mycelial

colonization of the substrate. With the total colonization of the mycelium, the lid was removed and the formation of the mushroom primordia was awaited.

Experiment IV

Effect of inoculation of *Pleurotus ostreatoroseus* on samples of EM with phytopathogenic fungi

In several samples, the occurrence of phytopathogenic fungi in the EM residue was detected (data still being prepared for publication). In these samples, spawn of *P. ostreatoroseus* was inoculated. After total micellization of the substrate (30 days), an attempt was made to isolate the fungi previously found using PDA culture medium. Inoculation was done in petri dishes, in solid medium, from fragments of the substrate and these dishes were kept at room temperature. The isolated fungi were identified using an AxioStar Plus microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

Experiment I

Effect of inoculation of *Pleurotustreatoroseus* on EM substrate partially decomposed by filamentous fungi

After one month of inoculation of *P. ostreatoroseus* on yerba mate (EM) substrate partially decomposed by other fungi, the samples were evaluated for mycelial growth. The mycelial growth on this substrate did not result in a good development, as described for the species in other media. Samples collected in winter had an average substrate colonization of 5.5% and samples selected from the autumn season had an average of substrate colonization a little higher, of 16%.

Therefore, mycelial colonization by *P. ostreatoroseus* in EM substrate partially decomposed by filamentous fungi, even if autoclaved before inoculation, was not

satisfactory. However, there was a difference between the winter and autumn seasons, in which the samples colonized in autumn had a higher average of micellization. This difference in the colonization of the substrate may be due to the maturing time of the yerba mate at the time the spawn was inoculated, since the winter season samples were 3 months older than the autumn season ones. Another reason why this colonization of the substrate by the edible fungus was so low could also be due to the fact that the EM has already been completely degraded by the filamentous fungi, making it an unsuitable substrate for *Pleurotus*.

Thus, it was possible to see that EM with a shedding time of more than two months and previously colonized by other fungi cannot be used as substrate in the production of edible mushrooms *P. ostreatoroseus*.

Experiment II

Effect of direct inoculation *Pleurotus ostreatoroseus* on fresh discarded EM

The 25 glasses of fresh unautoclaved EM substrate had full colonization of the medium in all samples by 7 days, whereas the 20 flasks with fresh autoclaved EM substrate took 17 days for full colonization. However, even though the mycelial colonization of the substrate was complete, the formation of mushroom primordia after opening and moistening the surface was not observed in both, with subsequent degeneration of the mycelium occurring.

Experiment III

Effect of inoculation of *Pleurotus ostreatoroseus* in EM substrate added with eucalyptus sawdust

All glass flasks had total colonization of the substrate by the mycelium of *P. ostreatoroseus* in 30 days, being then opened for exposure and formation of primordia, being humidified for 9 days. After this period, the primordia emerged from EM.

The first substrate in which there was formation of primordia was that of a 70% concentration of eucalyptus sawdust. Formation took place nine days after opening the glass and moistening the substrate. Subsequently, there was also formation of primordia in the substrate 50% of sawdust and finally in the concentration of 30% of sawdust. The effect of the addition of sawdust should be mainly on the maintenance of aeration in the substrate, which is difficult to obtain with pure EM.

In bamboo containers, it was not possible to evaluate mycelial colonization by the opacity of the material. However, after 9 days, there was formation of primordia in one of the samples, in which the concentration of eucalyptus sawdust in the substrate was 30%. The technique, therefore, proved to be adequate, but due to excessive humidification, the final result for most samples was not positive.

Experiment IV

Effect of inoculation of *Pleurotus ostreatoroseus* on EM samples with phytopathogenic fungi

Flasks samples with the detection of phytopathogens that were inoculated in PDA, after the mycelial growth of *P. ostreatoroseus*, all had negative results, with no isolation of any of the species originally found. This demonstrates that the edible mushroom species has the ability to eliminate yerba mate phytopathogenic fungi and leave the substrate improved for disposal purposes.

DISCUSSION

Refatti et al. (2006) mention that EM residues have the capacity to be used as the main basis for the formulation of the substrate in the production of *Pleurotus* spp., without the need for supplementation. However, the results found in this work for *P. ostreatoroseus* demonstrate the opposite. Although there is complete colonization of the substrate formed solely by discarded EM, there is no formation of basidiome, indicating that there is a need for

supplementation of the substrate by some other substances or modification of its physical properties. Thus, it is believed that the pure EM substrate does not support the formation of mushroom primordia, because the aeration of the substrate, necessary for the development of them was not sufficient, since a compaction of the medium was perceived and also reported by other authors (Maddau et al., 2002). Eventually, for other species of *Pleurotus* this characteristic may be adequate, as suggested for *P. sajor-caju* (KOHARI et al., 1997).

It is known that mycelial colonization of some *Pleurotus* species depends on good aeration (O₂/CO₂ ratio), and transpirant bags have even been developed to accelerate the process in *P. eryngii* (MADDAU et al., 2002). In “in vitro” studies with sealed petri dishes, the species *P. sajor-caju*, *P. pulmonarius* and *P. florida* had no significant differences in growth in aerobic and anaerobic conditions (Tolentino, 2016). For *P. djamor*, a species sometimes considered the same as *P. ostreatoroseus*, there were also no differences in growth under aeration or with sealed plates (BUMANLAG et al., 2018). This characteristic can also be used to differentiate both species under growing conditions.

It is known that *Pleurotus* fungi are more aggressive in competition with microorganisms, so much so that the substrate would not even need to be sterilized before inoculation (CHANG & QUIMIO, 1984; SANCHEZ, 2010). Cultivated fungi present a series of metabolism products capable of reacting with other contaminating fungi, including plant pathogens, in order to successfully colonize a substrate (MONEY, 2016). *Pleurotus* spp. control filamentous fungi and nematodes during their growth, and their role as biological controllers is still underestimated (PUTZKE & PUTZKE, 2008).

Several works mention the possibility of using in animal feed the final residue from the production of edible mushrooms of the genus *Pleurotus*, creating a closed cycle at the end of production and without generating residues. Calves supplemented with 50% of the microbially fermented mushroom substrates

used had a trend of 8-12% increased live weight gain compared to the control group (KIM et al., 2012). Rice straw-based compost used in mushroom production can replace 75% of fresh Napoer (MS) grass for cattle feed (SUWANDYASTUTI and BATA, 2012). More studies have revealed applications as food for birds and fish, among others (FOLUKE et al., 2014; SARTORI et al., 2015).

CONCLUSIONS

The EM residue added with eucalyptus sawdust proved to be suitable for the production of edible mushrooms *Pleurotus ostreatoroseus*. The procedure tested here can be applied to the domestic environment and yerba mate consumers can locally produce their mushroom for consumption. The EM is one of the substrates with less toxic substances, resulting in a much healthier mushroom. The recommendation for the use of this substrate can also be applied to commercial producers. The inoculated fungus eliminates the yerba mate pathogens present and viable in the substrate, which could even infect other cultures, resulting in an innocuous disposal material. It is important to highlight that several studies mention the possibility of using the final residue from the production of edible mushrooms in animal feed diminishing the waste production.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the scholarship granted to the first author.

RESUMEN

Introducción: Los hongos *Pleurotus* se pueden cultivar en diversos sustratos de origen

vegetal y el residuo de yerba mate (*I. paraguariensis*) puede ser uno de los más prometedores, especialmente si se desarrollan técnicas de cultivo doméstico. Como gran productor y consumidor de yerba mate, el sur de Brasil también tiene una gran producción de residuos de esta industria. **Objetivo:** En este sentido, este trabajo tiene como objetivo probar el posible cultivo de *P. ostreatoroseus* en residuo de yerba mate (sustrato puro, recientemente descartado y en descomposición por hongos asociados), buscando una técnica adecuada para el cultivo doméstico del hongo. **Métodos:** Se prepararon tres sustratos: a) yerba mate parcialmente descompuesta (300 muestras recolectadas por cinco consumidores durante 30 días en las temporadas de otoño e invierno de 2020, con dos meses de maduración); b) yerba mate recién descartada; c) yerba mate recién descartada y adicionada con aserrín de eucalipto en tres concentraciones (30%; 50%; 70%), envasada en envases de vidrio (triplicado) y en tallos de bambú de 30 cm de largo. **Resultados:** El cultivo de *Pleurotus* en yerba mate inmediatamente después de su disposición (pura), parcialmente descompuesta y yerba mate fresca resultó inviable, con buena colonización micelial del sustrato, pero sin

producción de basidioma. En experimentos con adición de aserrín, todas las concentraciones mostraron formación de primordios, y con la concentración de 70% de aserrín, la fructificación ocurrió antes (9 días) y presentando el basidioma más grande (5 cm de diámetro). Se cree que la aireación es un factor importante para el desarrollo de micelios y basidiomas en *P. ostreatoroseus*, contrario a lo ya mencionado para *P. djamor*, contribuyendo a la diferenciación de ambas especies en situación de cultivo. El micelio de la especie que crece sobre el residuo de yerba mate logró reducir el inóculo de hongos patógenos encontrados en un análisis previo del sustrato, indicando que es una práctica adecuada para el tratamiento del residuo final, evitando así el aumento del inóculo de hongos patógenos a las plantas en los sitios de disposición. **Conclusión:** El residuo de yerba mate agregado con aserrín de eucalipto (30% o más) es un buen sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* y mientras crece en este sustrato también elimina los hongos patógenos de las plantas.

Palabras clave: cultivo. Sustratos alternativos. Shimeji. Crecimiento micelial.

REFERENCES

- Arrieta, M. P., Peponi, L., López, D., & Fernández-García, M. (2018). Recovery of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue for the development of PLA-based bionano composite films. *Industrial Crops and Products*, 111, p. 317–328.
- Bumanlag, C. P. B., Kalaw, S. P., Dulay, R. M. R., & Reyes, R. G. (2018). Optimum conditions for mycelia growth and basidiocarp production of *Pleurotus djamor* on corn-based media. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 7, n. 4, 558-575.
- Chang, S. T., & Quimio, T. H. (1984). *Tropical Mushrooms*. Hong Kong, The Chinese Univ. Press, 493p.
- Foluke, A., Olutayo, A., & Olufemi, A. (2014). Assessing spent mushroom substrate as a replacement to wheat bran in the diet of broilers. *American International Journal of Contemporary Research*, 4 (4), 178–83.

- Ibramate. (2018). Instituto Brasileiro de Erva-Mate. Diagnóstico da Cadeia Produtiva de Erva-mate no Estado do Rio Grande do Sul. Ano I, nº1/2018.
- Kim, Y. I., Lee, Y. H., Kim, K. H., Oh, Y. K., Moon, Y. H., & Kwak, W. S. (2012). Effects of supplementing microbially-fermented spent mushroom substrates on growth performance and carcass characteristics of Hanwoo steers (a field study). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25, 1575-1581.
- Kohari, E. K., Amazonas, M. A. L. A., & Carvalho, F. J. P. C. (1997). Potencial de crescimento micelial do fungo *Pleurotus sajor-caju* em serragem e casca de *Pinus* spp. e resíduo de infusão de erva-mate. Em: *Workshop Sul-americano sobre Usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana. Anais*, Curitiba. p. 150-155.
- Maddau, L., Franceschini, A., Serra, S., & Marras, F. (2002). Influence of aeration on development and productivity of edible and medicinal mushroom *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quel. (first contribution). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 4(1), 59-61.
- Menezes, C. R., & Barreto, A. R. (2015). Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, 19, 1365-1391.
- Money, N. P. (2016). Are mushrooms medicinal? *Fungal Biology*, 120, 449-453.1
- Putzke, J., Klotz, A. L., Heberle, M. A., Cogo, M. R. M., & Putzke, M. T. L. (2019). Nova técnica de cultivo de cogumelos (*Pleurotus* spp.) utilizando recipientes de colmos de bambu para a pequena propriedade rural. *Revista da Agricultura Familiar: Pesquisa, formação e Desenvolvimento*, 13(1), 103 – 111.
- Putzke, J., & Putzke, M. T. L. (2008). *Os reinos dos fungos*. Vol I: Santa Cruz do Sul, RS. EDUNISC, 587 p.
- Putzke, J., & Putzke, M. T. L. (2018). *Cogumelos (Fungos Agaricales l. s.) no Brasil*. Editora LupaGraf, Santa Cruz do Sul, 558 p.
- Rabuske, E., Düpont, A., Putzke, J., & Putzke, M. T. L. (2019). Substratos alternativos para o cultivo do cogumelo comestível ostra salmão: *Pleurotus djamor*. *Caderno de Pesquisa*, 31(2), 22-29.
- Reffatti, P. F., Lorenzetti, E., & Rodrigues, M. B. (2006). Caracterização de resíduos de erva-mate – para produção axênica de cogumelos. *Synergismus Scientifica UTFPR*, 01, 92-98.
- Sanchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1321–1337.
- Sartori, S. B., Ferreira, L. F. R., Messiasb, T. G., Souza, G., Pompeua, G. B., Monteiro, R. T. R. (2015). *Pleurotus* biomass production on vinasse and its potential use for aquaculture feed. *Mycology*, 6(1), 28–34.
- Silva, A. S. C. da. (2016). *Parâmetros industriais para produção de Pleurotus ostreatus*. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual

- Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 136 p.
- Suwandyastuti, S. N. O., & Bata, M. (2012). Utilization of spent rice straw compost to substitute napier grass fed to cattle and its effect on rumen metabolism products. *Animal Production*, 14, 147-154.
- Tolentino, J.V. (2016). *Growth performance and proximate nutrient composition of Pleurotus species on corn-based substrate*. Unpublished MS Thesis. Central Luzon State University, Science City of Muñoz, Nueva Ecija.

3.3 Artigo 3

Nova técnica de cultivo de cogumelos (*Pleurotus* spp.) utilizando recipientes de colmos de bambu para a pequena propriedade rural

A new mushroom cultivation technique (*Pleurotus* spp.) using bamboo stalk containers for small rural properties

Artigo publicado na revista: Agricultura Familiar: Pesquisa, Formação e Desenvolvimento, ISSN: 1414-0810, Fator de Impacto: e conceito na Nova Avaliação Qualis Capes - 2019.



Agricultura Familiar:

Pesquisa, Formação e Desenvolvimento

RAF. v.13, nº 01 / jan-jun 2019, ISSN 1414-0810

Nova técnica de cultivo de cogumelos (*Pleurotus spp.*) utilizando recipientes de colmos de bambu para a pequena propriedade rural

A new mushroom cultivation technique (*Pleurotus spp.*) using bamboo stalk containers for small rural properties

Jair Putzke, Doutor, Unipampa, jrputzkebr@yahoo.com;

Ana Luiza Klotz, Mestranda, Unipampa, analuizaklotz@gmail.com;

Marines de Avila Heberle, Doutoranda, Unipampa, marinesheberle@yahoo.com.br;

Maurício Ricardo de Melo Cogo, Doutorando, Unipampa, mauriciomcogo@gmail.com;

Marisa Terezinha Lopes Putzke, Doutora, UNISC, marisa@unisc.br.

Resumo

O cultivo de cogumelos do grupo Shimeiji (*Pleurotus spp.*) faz uso dos mais diversos substratos. No Brasil o bambu ainda não foi testado. O produtor sempre precisa comprar nova “semente” para inoculação num novo ciclo, encarecendo o processo, além de usar recipientes de plástico, contaminando o produto final. O bambu tem sido amplamente plantado em pequenas propriedades rurais, estando disponível para outros usos, além de material construtivo. Procurando resolver estes problemas, testou-se uma formulação à base de serragem de Eucalyptus introduzida em bambu. Colmos de cerca de 30 cm foram preparados com a inoculação direta de serragem de Eucalyptus. No teste inicial com bambu os cogumelos foram formados após 48 dias de inoculação, o que reduziu o tempo de produção pela metade, demonstrando ser viável o seu uso. Os novos plantios resultaram em sucesso na colonização do substrato, indicando viabilidade de novas bateladas de produção usando o mesmo colmo sem necessidade de nova semente.

Palavras-chave

substratos alternativos, shimeiji, produção, pequeno produtor.

Abstract

Mushroom cultivation of the Shimeiji group (*Pleurotus spp.*) uses the most diverse substrates. In Brazil, bamboo has not been tested. Mushroom growers always have to buy new seed for the inoculation of a new cycle, making the process more expensive; planters must also use plastic containers that contaminate final products. Bamboo has been widely planted on small rural properties and is often available for other uses. To solve these problems, a sawdust-based formulation of Eucalyptus introduced in approximately 30 cm bamboo stalks was tested. In an initial test conducted with bamboo stalks, the mushrooms were formed after 48 days of inoculation, which reduced the production time by half and proved viable. The new plantings resulted in the successful colonization of the substrate, indicating the viability of new production batches using the same stem without the need for new seed.

Keywords

alternative substrates, shimeiji, production, small producer.

1. Introdução

Os cogumelos têm sido cultivados desde milênios devido às suas características altamente nutricionais e potencial medicinal. Entretanto, ainda são pouco explorados no Brasil, sendo recente o interesse de pesquisadores brasileiros em estudos sobre a utilização destes organismos (CASTILLO *et al.*, 2017; FURLANI *et al.*, 2007; PAULA *et al.*, 1999). Já em outros países, como por exemplo, nos asiáticos, o cultivo e consumo de cogumelos é uma tradição, devido ao potencial terapêutico desse alimento e também, por serem fonte de proteínas e carboidratos (BONATTI *et al.*, 2004), minerais como P, K, Mg e baixo teor de Na (STURION & RANZANI, 2000). Das cerca de trezentas espécies de cogumelos comestíveis já conhecidas, apenas trinta foram domesticadas e cerca de dez são cultivadas comercialmente (BARNEY, 2009). Dentre estas, as mais cultivadas são espécies do gênero *Agaricus* sp., seguidas pelas do gênero *Pleurotus* sp. (RÜHL *et al.* 2008).

Os métodos de cultivo em geral encarecem a produção e restringem o consumidor aos de maior poder aquisitivo (SANCHÉZ, 2010). Na Etiópia, por exemplo, há relatos de que cogumelos cultivados são consumidos predominantemente por estrangeiros, uma vez que são considerados muito caros pela população geral, fato este que pode estender-se por todo o continente (WOLDEGIORGIS *et al.*, 2015). Considerando que cogumelos shimeji se apresentam como um alimento completo, oferecer acesso ao mesmo a todas as classes sociais um tema de grande consideração, desde que pesquisas tornem mais barato o custo de produção, usando tecnologias apropriadas voltadas para a agricultura familiar (MAYET, 2012; DIAS, 2010).

O cultivo comercial de *Pleurotus* spp. tem utilizado os mais diversos substratos, entre eles resíduos gerados pela agroindústria como serragem de diversas árvores, fibras como de coco, cascas, grãos, folhas, cachos de frutos, palha, bagaço de cana, frutos, borra de café, vários tipos de madeira (YANG *et al.*, 2013; REZANIA *et al.*, 2017; ALANANBEH *et al.*, 2014; MARLINA *et al.*, 2015; ANANBEH & ALMOMANY, 2005; ANANBEH & ALMOMANY, 2008; ANANBEH, 2003; HASAN *et al.*, 2015). O uso de bambu ou taquara como substrato não tem sido testado, apesar de que a serragem do mesmo já se mostrou eficiente para a produção destes cogumelos (OHGA, 1999).

Segundo Nyochembeng *et al.* (2008), o uso de fungos na reciclagem de resíduos sólidos é muito benéfico, já que os cogumelos são produzidos a partir de um subproduto.

A produção comercial de shimeiji, em geral, usa recipientes feitos de plástico,

contaminando o produto final e eventualmente prejudicando a produção, sendo o microplástico um dos maiores problemas dos alimentos na atualidade (HATJE *et al.*, 2018). O uso de recipientes orgânicos seria uma alternativa a esta produção, já que os cogumelos se constituem num produto final praticamente livre de agrotóxicos, garantindo um alimento 100 % saudável.

Ao mesmo tempo, vários autores sugerem uma possibilidade de produção caseira para estes fungos, mas ainda esbarrando na necessidade de obtenção da semente e no uso de embalagens artificiais, o que igualmente encarece a produção e afasta muitos interessados (NEVES *et. al.*, 2008).

A proposta deste trabalho é testar a viabilidade de novos recipientes e de fácil obtenção para a produção de cogumelos shimeiji. Neste sentido, aplicou-se metodologia utilizando-se de colmos de bambu, de fácil obtenção e que, se inoculados, serviriam para novas bateladas de produção sem a necessidade de spawn adicional. Os resultados deste trabalho são aqui apresentados.

2. Material e métodos

O *spawn* ou “semente” de *Pleurotus ostreatoroseus* (shimeiji) para os testes, foi obtido na empresa Funghi e Flora. A espécie de bambu utilizada foi a *Bambusa tuloides* popularmente chamada de bambu taquara.

Foram preparados 30 colmos de bambu verde, de 18 a 40 cm de comprimento e diâmetro 4,7 a 5,3 cm com núcleo de 2,4 a 3,8 cm. Como controle foram preparados 12 tocos de madeira de eucalipto de 24 a 28 cm de comprimento e diâmetro de 5 a 6,7 cm.

Nos colmos foi introduzido *spawn* na base + serragem de eucalipto não esterilizada até encher metade + *spawn* + serragem até a boca + *spawn* + tamponagem com um bolo de papel higiênico. Não houve qualquer tipo de aditivo ao substrato (Figura 1). Os colmos foram posicionados em temperatura ambiente, sobre laje de concreto à sombra, em inclinação de 30 graus, recebendo água natural (coletada de chuva, sem tratamento) a cada 24 horas. O controle foi colocado na mesma condição. O experimento foi executado de setembro a dezembro de 2019.

Os basidiomas formados foram coletados e pesados para avaliar biomassa produzida.

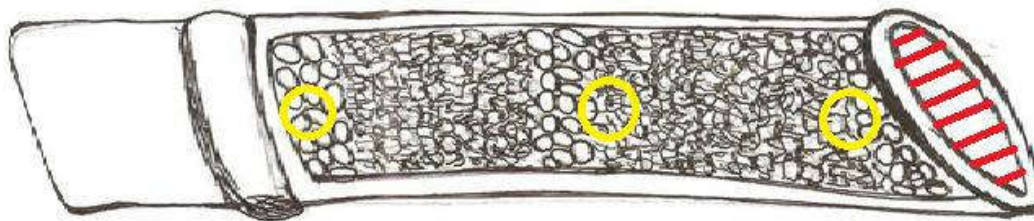


Figura 01 – Desenho esquemático do preparado em bambu, indicando o substrato com a “semente” adicionada em três pontos (círculos amarelos) e o vedamento com papel (linhas vermelhas).

3. Resultados e discussões

Os colmos de bambu formaram os primeiros basidiomas depois de 48 dias (50% dos bambus emitiram cogumelos neste tempo e os demais posteriormente), ao passo que as toras de eucalipto somente com 120 dias como é usual. O procedimento reduziu pela metade o tempo de crescimento até a frutificação e a produção foi de 02 cogumelos por bambu pro ciclo, com até 1,8 g de peso fresco (Figura 02, 03).

Todos os cogumelos foram formados a partir da boca cortada do bambu tamponada com o papel. Disso resulta que a disposição dos colmos deve ser de tal maneira a permitir a fácil emissão dos mesmos a partir deste ponto. O empilhamento, portanto, é possível e a disposição das diferentes peças de bambu deve ser tal que permita o fácil crescimento dos basidiomas, sugerindo-se para isso um esquema (Figura 04). O procedimento é viável para a produção doméstica e permite um retorno em tempo extremamente rápido, sendo o resultado final apenas resíduo orgânico e estando o cultivo livre de quaisquer contaminantes plásticos.

O modelo aqui estruturado de produção para a pequena propriedade rural permitirá cultivo sem compra de novo Spawn para novo ciclo produtivo, o que acaba por baratear a produção.



Figura 02 – Colmos inoculados em repouso para colonização e emitindo os primeiros botões (setas amarelas).



Figura 03 – Cogumelo shimeiji rosado completamente desenvolvido a partir de um dos colmos.

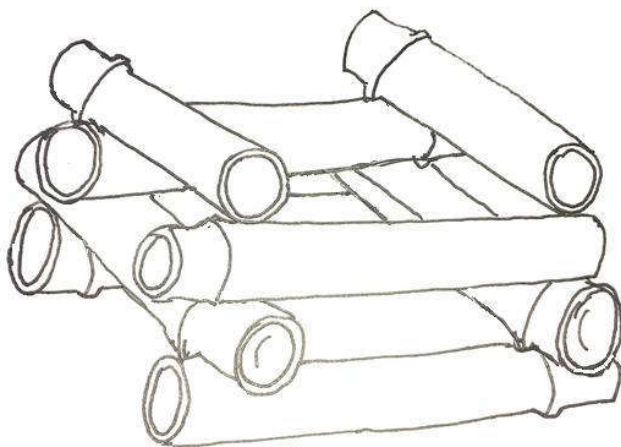


Figura 04 – Sugestão de empilhamento para os colmos inoculados, visando maior e melhor produção, à medida que se aguarda colonização e frutificação.

Visto que aqui se utilizou com sucesso a *Bambusa tuloides* (bambu-taquara) como recipiente para cultivo de cogumelos shimeiji, considera-se viável a utilização de qualquer outra espécie de bambu. Os bambus gigantes (*Dendrocalamus* spp.), por exemplo, cujo diâmetro de 10 a 20 cm, permitem preparar mais substrato à base de serragem de eucalipto e uma produção consideravelmente maior. O uso deste tipo de recipiente torna a produção muito mais orgânica e livre de resíduos de plástico, algo imprescindível quando se fala em qualidade de vida.

Referências bibliográficas

ANANBEH, K.M.; BOUQELLAH, N.A.; AL KAFF, N.S. Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 21, n. 6, p. 616–625, 2014.

ANANBEH, K.M., 2003. **Production of oyster mushroom on different agricultural wastes available in Jordan**. M. Sc. Thesis, Jordan University, Jordan.

ANANBEH, K.M.; ALMOMANY, A. Production of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on tomato tuff agro-waste. **Dirasat Agric. Sci.**, v. 35, p. 133–138. 2008.

ANANBEH, K.M.; ALMOMANY, A.R. Production of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on olive cake agro waste. **Dirasat Agric. Sci.** v. 32, p. 64–70. 2005.

BARNEY, D. L. **Growing mushrooms commercially: risks and opportunities.** University of Idaho, College of Agriculture. 2009.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.; FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v.88, p.425-428. 2004.

CASTILLO, T.A.; PEREIRA, J.R.G.; ALVES, J.M.A.; TEIXEIRA, M.F.S. Mycelial Growth and Antimicrobial Activity of Species of Genus *Lentinus* (Agaricomycetes) from Brazil. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 19 n. 12):1135–1143. 2017.

DIAS, E. S. Cultivo de cogumelos no Brasil: desafios e potencialidades. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 34, n. 4, p. 795-803, 2010.

HASAN, M.T., KHATUN, M.H.A., SAJIB, M.A.M., RAHMAN, M.M., RAHMAN, M.S., ROY, M., AHMED, K.U. Effect of Wheat Bran Supplement with Sugarcane Bagasse on Growth, Yield and Proximate Composition of Pink Oyster Mushroom (*Pleurotus djamor*). **Am. J. Food. Sci. Technol.**, v. 3, n. 6, p. 150–157, 2015.

FURLANI, R.P.Z; GODOY, H.T. Valor Nutricional de Cogumelos Comestíveis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 154-157, 2007.

HATJE, V.; DA CUNHA, L.C.; COSTA, M. F. Mudanças globais, Impactos Antrópicos e o Futuro dos Oceanos. **Rev. Virtual Quim.**, v. 10, n. 6, p. 1947-1967, 2018.

MARLINA, L.; SUKOTJO, S.; MARSUDI, S. Potential of Oil Palm Empty Fruit Bunch (EFB) as Media for Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus* Cultivation. **Procedia. Chem.**, v. 16, p. 427–431, 2015.

MAYETT, Y.; MARTÍNEZ-CARRERA, D.; SOBAL, M.; MORALES, P. BONILLA, M. Mushroom prices and their effect on consumption: the case of Mexico. **Micologia Aplicada International**, v. 24, n. 1, pp. 11-26, 2012.

NEVES, C.F.Q. & GRACIOLLI, L.A. Caracterização da produção em toros de cogumelo comestível *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler na região oeste do Estado de São Paulo. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 487-494, 2008.

NYOCHEMBENG, L.M.; BEYL, C.A.; PACUMBABA, R.P. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5645-5649. 2008.

OHGA, S. Suitability of bamboo powder for the sawdust-based cultivation of edible mushrooms. **Japanese Society of Mushroom Science and Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 19-22.

PAULA, D. P.; TARSITANO, M. A. A.& GRACIOLLI, L. A. Análise econômica da produção de cogumelo comestível shiitake, na região noroeste Paulista. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 29, n. 4, 1999.

REZANIA, S.; DIN, M.F.M.; TAIB, S.M.; SOHAILI, J.; CHELLIAPAN, S.; KAMYAB, H.; SAHA, B.B. Review on fermentative biohydrogen production from water hyacinth, wheat straw and rice straw with focus on recent perspectives. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 42, n. 33, p. 20955–20969, 2017.

RÜHL, M.; FISCHER, Ch.; KÜES, U. Ligninolytic enzyme activities alternate with mushrooms production during industrial cultivation of *Pleurotus ostreatus* on wheat-straw-based substrate. **Curr. Trends Biotechnol. Pharm.**, v. 4, p. 478-492, 2008.

SÁNCHEZ, C. Modern aspects of mushroom culture technology. **Appl. Microbiol. Biot.**, v. 64, p. 756-762, 2004.

STURION, G.L. & RANZANI, M.R.T.C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil - *Pleurotus* spp. e outras espécies desidratadas. **Archivos Laminoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 1, p.102-108, 2000.

WOLDEGIORGIS, A.Z.; ABATE, D.; HAKI, G.D.; ZIEGLER, G.R. & HARVATINE, K.J. Fatty acid profile of wild and cultivated edible mushrooms collected from Ethiopia. **Journal of Nutrition and Food Sciences**, v. 5, n. 3, p. 1-5, 2015.

YANG, W.; GUO, F.; WAN, Z. Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. **Saudi. J. Biol. Sci.** v. 20, n. 4, p. 333-338, 2013.

3.4 Artigo 4

YERBA MATE PATHOGENIC FUNGI (*Ilex paraguariensis* St. Hil. – Aquifoliaceae): LIST AND IDENTIFICATION KEYS

Foi submetido à revista: Pesquisa Agropecuária Brasileira, ISSN: 1678-3921, Fator de impacto: 1.088 e conceito A4 na Nova Avaliação Qualis Capes - 2019.

YERBA MATE PATHOGENIC FUNGI (*Ilex paraguariensis* St. Hil. – Aquifoliaceae):
LIST AND IDENTIFICATION KEYS

Ana Luiza Klotz Neves⁽¹⁾, Jair Puztke⁽²⁾ and Marisa Terezinha Lopes Putzke⁽³⁾

⁽¹⁾⁽²⁾ Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel, Rua Aluizio Barros Macedo, s/n. BR 290 – km 423. São Gabriel - RS - Caixa Postal: 02, CEP: 97300-970. analuzaklotz@gmail.com, jrputzkebr@yahoo.com

⁽³⁾ Universidade de Santa Cruz do Sul, Av. Independência 2293, CP188, Santa Cruz do Sul – RS, CEP 96815-900. marisa@unisc.br

Abstract

The production of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is one of the major sources of foreign exchange for southern South American countries, being the main non-timber product of the forest agribusiness. Identifying pathogens as quickly as possible to avoid losses is essential. In an attempt to contribute to the theme, a bibliographical survey resulted in the occurrence of 75 species of fungi that are harmful to the crop, 41 with the potential to reduce production. Most articles on the subject treat species only at the genus level, indicating difficulties in identification. To solve this problem in part, identification keys were developed for genera and species already cited for the crop as pathogens.

Index Terms: Taxonomy, Control, Phytopathology, *Ilex paraguariensis*.

FUNGOS PATÓGENOS DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil. –
Aquifoliaceae): LISTA E CHAVES DE IDENTIFICAÇÃO

Resumo

A produção de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma das maiores fontes de divisas para os países do cone sul da América do Sul, sendo o principal produto não

madeireiro do agronegócio florestal. Identificar patógenos o mais rapidamente para conseguir um controle e evitar perdas é fundamental, mas ainda não se tem ferramentas criadas com este objetivo. Buscando contribuir com o tema, um levantamento bibliográfico realizado resultou na constatação de ocorrência de 75 espécies de fungos prejudiciais à cultura, 41 com potencialidade de reduzir produção. A maioria dos artigos sobre o tema trata as espécies apenas ao nível de gênero, indicando dificuldades na identificação. Para sanar em parte este problema, foram elaboradas chaves de identificação para gêneros e todas as espécies já citadas para a cultura como patógenos.

Termos para Indexação: Taxonomia, Controle, Fitopatologia, *Ilex paraguariensis*.

Introduction

The yerba mate industry (*Ilex paraguariensis* St. Hil. – Aquifoliaceae, Magnolophyta) is one of the most important in southern Brazil, Argentina and Paraguay, being the main non-timber forest agribusiness in the region and even an export product for many countries (FAOSTAT 2013). The economic importance of yerba mate in these countries is due to the traditional consumption of the plant's dried leaves, in the form of infusion in a drink called “chimarrão”, “tererê” or simply “mate” (Correa et al., 2017; FAO, 2007). In Brazil, yerba mate has demonstrated its social importance, being present in approximately 180,000 rural properties, most of which are small producers, bringing together around 600 companies and generating more than 700,000 jobs (Chechi et al., 2017).

Brazil is the world's largest producer of this crop, having produced between 2010-2014 an average of 573 thousand tons, followed by 243 thousand tons by Argentina and 80 thousand tons by Paraguay (Bonfatti Junior et al., 2018). In the yerba mate domestication process, the effects of cultural techniques are added to the genetic erosion of resistance characteristics that plants have when they grow in their natural environment, leading to a homogeneity that favors the appearance of diseases. Inadequate planting density ends up favoring the appearance of pathogens, which directly interferes with the producer's income. It is believed that disease problems will worsen in the future (Paula et al., 2018; López et al., 2020).

Problems associated with yerba mate cultivation range from diseases caused by microorganisms to climatic effects and at all stages of development, from the production of seedlings (nursery) to the stages of young and adult trees in native fields and commercial plantations, to the storage (Penteado Junior & Goulart, 2019; Marucci et al., 2006). Studies on diseases of this important agricultural crop began with the work of Spegazzini (1908), one of the most complete ever carried out with fungi. More concentrated research on phytopathology followed, but with few contributions in more than a century, with some of the most important reviews being Grillo (1936), Nowacki (1954), Viégas (1961), Flores (1983) and Auer & Grigoletti (1995 ; 2002).

Work has also been carried out with more specific groups regarding the occurrence of fungi, such as endophytic ones (Penna, 2000; Pimentel et al., 2006), those in soils with yerba mate plantations (Borges et al., 2011) and associated with microbiological analysis of foods (Borges et al., 2000; Marucci et al., 2000; Saatkamp et al., 2000; Borges et al., 2002; Bernardi et al., 2005; Carvalho et al., 2009). Among phytopathogenic fungi, some species can cause great damage and even make cultivation unfeasible in certain areas, such as *Cylindrocladium spathulatum*, the cause of black spot (Gomes et al., 2001; Grigoletti Junior & Auer, 2003). This disease and anthracnose, caused by *Colletotrichum acutatum*, are considered the most important. On the other hand, brown spot (*Cercospora* spp.) and *Phyllosticta* spot generally occur at mild intensity in nurseries (Grigoletti & Auer, 1996; Grigoletti et al. 2000).

Recent works still find pathogenic fungi not registered for the culture in some countries, as was the case of *Ceratocystis fimbriata* in Brazil (Santos et al., 2018) and *Ceratobasidium niltonsouzanum* (Lima et al., 2019). Most current references bring the fungi identified only to the generic level, demonstrating difficulty in recognizing the species. There are no identification keys for yerba mate phytopathogens (Piassetta et al., 2021).

So, this work aims to carry out a bibliographic survey of the entire mycota associated with yerba mate diseases in the southern cone of South America. With this study, a list of species associated with yerba mate and a key to identification of the species of fungi pathogenic to yerba mate are proposed, aiming to facilitate the work with this culture so important in the economy of southern South America.

Material and Methods

In our work a literature review was carried out that mention yerba mate pathogenic fungi on the Google Scholar online platform, gathering literature data from all associated species and causing some damage to the crop (*Ilex paraguariensis*) both in the crop in all parts of the plant, including seeds, in storage, in the processed mate and in the soil. Works in English, Portuguese, French and Spanish were selected. The key words used were: “fungi in yerba mate”, “phytopathological fungi in yerba mate”, “fungal diseases in yerba mate”.

To prepare the list and the identification key, classical literatures were used, such as the first works published in the area (Spegazzini, 1908; Maublanc, 1913; 1915; Grillo, 1936) and also more recent specialized articles, produced in all producing countries of herb from South America, in addition to reviews already presented for some genera. With the data gathered, the list of species associated with yerba mate was drawn up, including the source of the citation and the affected organ (if in the field). Based on the literature found, dichotomous identification keys were elaborated for the species of phytopathogenic fungi to yerba mate.

Results and Discussion

With the review of the literature on the fungi already mentioned as occurring associated with yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. – Aquifoliaceae), 60 references were found and referring a total of 76 species that cause damage to yerba mate, of which 41 are considered crop pathogens. Many species are from genera that occur much more as opportunists in stored material, as in the case of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* and *Mucor*. Most species are in fact phytopathogenic fungi and mitosporic. The genera *Pythium* and *Phytophthora* are the only representatives of Oomycota, presenting zoospore formation and, therefore, often associated with problems such as poor drainage or excessive irrigation.

There is much confusion with older references, exemplified by opulent *Asterella* Henn. (Black mildew), which is cited by Hennings (1904) occurring in *Ilex* spec. In the thesis of Mussi-Dias (2011) this citation is interpreted as an occurrence in yerba mate, but this does not confirm, as the host was not identified as being *Ilex paraguariensis*, especially since the collection came from Rio de Janeiro (not an area of yerba mate plantations).

The species *Cercospora ilicicola* Maubl. (Grillo, 1936; Maublanc & Rangel, 1915; Viégas, 1961) and *Cercospora paraguariensis* Maubl. (Grillo, 1936; Viégas, 1961), both recorded causing symptoms in yerba mate leaves, have not yet been re-studied by any modern researcher, in order to verify if they are valid and should be included in *Pseudocercospora* as was the case of other parasitic *Cercospora*. Therefore, they were not included in the list below because they are *nomen dubium*.

In the past there was a strong belief that *Colletotrichum* species had high host specificity, with a new species being described whenever the fungus was found causing disease in a different host (Cannon et al., 2012). Spegazzini (1908) named the fungus that causes anthracnose in yerba mate as *Colletotrichum yerbae*. More recent work with anthracnose revealed that there is a complex of associated species (Bilenki Júnior et al., 2021) being this also a matter for future studies.

Many recent works identify fungi only at the genus level, illustrating the difficulty of identifying the yerba mate pathogens at the specific level, for which dichotomous identification keys have been developed in this work. Others authors cite most species as endophytes only, the relationship not being known yet. This is the case of *Dendrophoma* which, even mentioned as an endophyte (Pimentel et al., 2006), was included in the key to facilitate possible future findings as pathogen.

It is important to mention that several species are changing genus due to molecular studies, increasing the confusion. Wherever possible this has been added to the text.

Here we joined the confirmed pathogenic species in a list (including some other associated species causing damage to yerba mate or suspected to), including part of plant infected and bibliographic source:

1. *Alternaria* sp. – fruits and seeds (Oliveira et al., 2015). Leaves (López et al., 2020). Roots (López et al., 2020). Seeds (Buddenhange & Young, 1957). (Grillo, 1936).
2. *Amerosporium* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015).
3. *Arthrobotrys* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015).
4. *Aspergillus* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). In soil (Borges et al., 2011; Paula et al., 2017). Storage (Marucci et al., 2006; Alvarenga et al., 2016). Seeds (Souza et al., 2020). In seedlings (Poletto et al., 2015). Contaminant of processed yerba mate (Carvalho et al., 2009) (Bernardi et al., 2005) (Borges et al., 2002). Seeds (Souza et al., 2019).
5. *Aspergillus repens* (Corda) Sacc.– Seeds (Mendes et al., 1998). (Marucci et al., 2006).
6. *Asterina* sp. – Leaves (Wills & Kambe, 1978).
7. *Asterina mate* Speg. – Leaves (Mendes et al., 1998; Novacki, 1954); Spegazzini, 1908; Stammer & Tomaz, 1991).

8. *Asterina sphaerelloides* Speg. – Leaves (López et al., 2020; Rybak et al. 2014).
9. *Asteromyces* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015).
10. *Aureobasidium* sp. –Seeds (Souza et al., 2019).
11. *Aureobasidium melanogenum* (Hermanides-Nijhof) Zalar, Gostincar, Gunde-Cimerman- Seeds (Souza et al., 2020).
12. *Bipolaris* sp. – flowers and fruits (Poletto et al., 2015). Seeds (Souza et al., 2019).
13. *Botrytis* sp. - soil (Paula et al., 2017; Mendes et al., 1998). Seeds, flowers and fruits (Poletto et al., 2015).
14. *Capnodium* sp. – Leaves (Vellozo et al., 1953).
15. *Ceratobasidium niltonsouzanum* M. P. Melo, S.I. Moreira & P.C. Ceresini– stem, twigs and leaves (Lima et al., 2019).
16. *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted – Leaves (Santos et al., 2018; Brito et al., 2021).
17. *Cercospora* sp. –Leaves (Grigoletti et al., 2000).
18. *Chaetomium* sp. –Seeds (Grigoletti Junior et al., 1999; Poletto et al., 2015; Souza et al., 2019). Flowers and fruits (Poletto et al., 2015).
19. *Circinotrichum* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015).
20. *Cladosporium* sp. - soil (Borges et al., 2011; Paula et al., 2017). Soil, seedlings and roots, twigs and fruits (Paula et al., 2018). Seeds (Auer &Grigoletti Junior, 2002; Souza et al., 2019, 2020; Mendes et al., 1998; Vellozo et al., 1953). Contaminating processed yerba mate (Bernardi et al., 2005).
21. *Colletotrichum* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). Soil, seedlings, roots, twigs and fruits (Paula et al., 2018). Leaves (López et al, 2020; Medrado &Mosele, 2004; Mendes et al., 1998; Bilenki Junior et al., 2021; Hörner et al., 2000). Seeds (Souza et al., 2019; Grigoletti Junior et al. 1999). Flowers and fruits (Poletto et al., 2015). Isolated (Bilenki Júnior et al., 2021).
22. *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds– Leaves (Gomes et al., 2001).
23. *Colletotrichum gloeosporioides* Pez &Sacc. – Seeds (Stammer & Tomaz, 1991).
24. *Corticium koleroga* (Cooke) Hoehnel - (Marchonatto, 1948).
25. *Curvularia* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015; Grigoletti Junior et al., 1999; Souza et al., 2019).
26. *Cylindrocladium* sp. - Soil, seedlings, roots, twigs and fruits (Paula et al., 2018).
27. *Cylindrocladium ilicicola* (Hawley) Boedijn & Reitsma – (Stammer & Tomaz, 1991).
28. *Cylindrocladium scoparium* Morgan – (Jauch, 1943). (Mendes et al., 1998). (Stammer & Tomaz, 1991). (Viégas, 1961).
29. *Cylindrocladium spathulatum* Morgan – control (Gomes et al., 2001; Grigoletti Junior & Auer, 2003). Leaves (López et al, 2020; Medrado& Mosele, 2004; Rybak et al. 2014).
30. *Dictyosporium* sp. –Seeds, flowers and fruits (Poletto et al., 2015).
31. *Doratomyces* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015).
32. *Epicoccum* sp. – Seeds (Mendes et al., 1998; Viégas, 1961). Flowers and fruits (Poletto et al., 2015).
33. *Fusarium* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). Roots (Poletto et al., 2007). Soil (Borges et al., 2011). Fruits and seeds (Oliveira et al., 2015). Soil (Paula et al., 2017). Soil, seedlings, roots, twigs and fruits (Paula et al., 2018). Flowers, fruits, seeds, seedling and substrate (Poletto et al., 2015).Control

- (Poletto et al., 2010^a; Mendes et al., 1998). Storage (Marucci et al., 2006). Contaminant in processed yerba mate (Carvalho et al., 2009; Bernardi et al., 2005) (Borges et al., 2002).
34. *Fusarium decemcellulare* Brick (*Albonectria rigidiuscula* (Berk. & Broome) Rossman & Samuels) - (Poletto et al., 2006).
35. *Fusarium graminearum* Schw. - Seeds (Souza et al., 2020).
36. *Fusarium guttiforme* Nirenberg & O'Donnell- Seeds- (Souza et al., 2020).
37. *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle- (Poletto et al., 2006; Poletto et al., 2010b; Poletto et al., 2012; Mezzomo et al., 2018a, b). Seeds (Souza et al., 2019; 2020).
38. *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wollenw. (= *Neocosmospora solani* (Mart.) L. Lombard & Crous) - Roots (Poletto et al., 2006; Poletto et al., 2010b; Poletto et al., 2012; Mezzomo et al., 2018 a, b).
39. *Fusarium tabacinum* (J.F.H. Beyma) W. Gams (= *Plectosphaerella cucumerina* (Lindf.) W. Gams) - (Poletto et al., 2006).
40. *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. - (Poletto et al., 2006).
41. *Gliocephalis* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015). This species is considered not pathogenic and because of that not included in the key below.
42. *Gliocladium* sp. - Soil (Borges et al., 2011).
43. *Graphium* sp. –Seeds (Souza et al., 2019; Grigoletti Junior et al., 1999)
44. *Leptosphaeria paraguariensis* Maubl. – (Grillo, 1936; Maublanc & Rangel, 1915; Viégas, 1961).
45. *Meliola yerbae* Speg. – (Viégas, 1961). Contaminating processed yerba mate (Bernardi et al., 2005).
46. *Mucor* sp. – Storage (Marucci et al., 2006). Seeds, Flowers and fruits (Poletto et al., 2015). This species is considered not pathogenic and because of that not included in the key below.
47. *Mycosphaerella ilicicola* (Maubl.) M. Morelet –Leaves Grillo, 1936; Viégas, 1961).
48. *Nigrospora* sp. – Seeds (Poletto et al., 2015; Souza et al., 2020).
49. *Paecilomyces* sp. - Soil (Borges et al., 2011). Flowers and fruits (Poletto et al., 2015). Seeds (Poletto et al., 2015; Souza et al., 2019). Contaminating processed yerba mate (Bernardi et al., 2005).
50. *Peckia mate* Speg. – Leaves (Stevenson, 1926). This species is considered saprophytic according to Auer & Grigoletti Júnior (2002) but Stevenson (1926) reported it as causing serious disease in Argentina.
51. *Penicillium* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). Soil (Borges et al., 2011; Paula et al., 2017). Fruits and seeds (Oliveira et al., 2015). Storage (Marucci et al., 2006). Seeds (Souza et al., 2020). Seedlings (Poletto et al., 2015). Contaminating processed yerba mate (Carvalho et al., 2009, Bernardi et al., 2005; Borges et al., 2002).
52. *Periconia* sp. – Flowers and fruits (Poletto et al., 2015).
53. *Pestalotia* sp. - Seeds (Souza et al., 2020).
54. *Pestalotia paraguariensis* Maubl. - (Grillo, 1936; Maublanc & Rangel, 1915; Viégas, 1961).
55. *Phoma* sp. - Leaves (López et al, 2020; Rybak et al. 2014). Flowers, fruits and seeds (Poletto et al., 2015).
56. *Phomopsis* sp. –Fruits and seeds (Oliveira et al., 2015). Soil (Paula et al., 2017; Rybak et al. 2014).
57. *Phyllosticta* sp. - Leaves (Grigoletti et al., 2000).
58. *Phyllosticta mate* Speg. - (Grillo, 1936; Maublanc, 1913; Spegazzini, 1908).
59. *Phyllosticta yerbae* Speg. – (Novacki, 1954; Spegazzini, 1908). Endophytic (Capellari et al., 2017).

60. *Phytophthora* sp. – (Viégas, 1961). Leaves (Grigoletti et al. 2000).
61. *Pilidium* sp. - Roots/endophytic leaves (López et al, 2020).
62. *Pseudocercospora mate* – Leaves (López et al, 2020; Rybak et al. 2014; Braun et al., 2012). As *Cercospora mate* (Speg.) Marchion (nom. ill.) = *Cercospora mate* (Speg.) Naito – Leaves (Grillo, 1936; Maublanc, 1913; Marchionatto, 1948; Viégas, 1961).
63. *Pseudocercospora yerbae* (Speg.) U. Braun – Leaves, cited as *Cercospora yerbae* Speg. (Marchionatto, 1948; Novacki, 1954). The species is reported by Spegazzini (1908) as growing on *Ilex amara*(Vell.) Loes., a synonym of *Ilex dumosa*Reisek, so the reference to *I. paraguariensis* seems to be na error.
64. *Pythium* sp. - Roots (Poletto et al., 2007). Flowers, fruits, seeds, seedlings and substrate (Poletto et al., 2015; Marchionatto, 1948; Viégas, 1961).
65. *Pythium debarianum* Hesse – (Viégas, 1961).
66. *Pythiu multimum* Trow - (Viégas, 1961).
67. *Rhinocladiella* sp. –Seeds (Poletto et al., 2015). It is considered not pathogenic, so it was not included in the key below.
68. *Rhizoctonia* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). Roots (Poletto et al., 2007). Fruits and seeds (Oliveira et al., 2015). Flowers, seeds, seedlings and substrate (Poletto et al., 2015; Marchionatto, 1948; Viégas, 1961; Rybak et al. 2014).
69. *Rhizoctonia solani* Kuhn –Leaves (Capellari et al., 2017).
70. *Rhizopus* sp. - Soil (Borges et al., 2011; Paula et al., 2017). Soil, seedlings, roots, twigs and fruits (Paula et al., 2018).Storage (Marucci et al., 2006). Seeds (Souza et al., 2019). Seedlings (Poletto et al., 2015). It is considered not pathogenic, so it was not included in the key below.
71. *Scopulariopsis* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006).
72. *Syncephalastrum* sp. – Contaminant of processed yerba mate (Bernardi et al., 2005). It is considered not pathogenic, so it was not included in the key below.
73. *Trichoderma* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). Soil (Borges et al., 2011; Paula et al., 2017). Fruits and seeds (Oliveira et al., 2015). Soil, roots, twing, fruits and seedlings (Paula et al., 2018). Seeds (Souza et al., 2019; 2020).
74. *Trichothecium* sp. – seedlings and seeds (Poletto et al., 2015).
75. *Verticillium* sp. – endophytic (Pimentel et al., 2006). Soil (Paula et al., 2017). Seedlings, Flowers, fruits and seeds (Poletto et al., 2015).

IDENTIFICATION KEY TO PHYTOPATHOGENIC FUNGI FOUND ASSOCIATED
TO YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Brown to black sclerotia formed on affected host tissues; hyphae branches forming a 90-degree angle with the main hypha..... *Rhizoctonia solani* (if basidia are formed in the hyphae it is the teleomorph = *Ceratobasidium niltonsouzanum*)
- 1.2 Sclerotia not formed; branches generally assuming smaller angles 2

- 2.1 Hyphae without septa, coenocytic..... 3
- 2.2 All hyphae septate.....4
- 3.1 Hyphae very thin, 4 to 10 μm in diameter; the antheridium fertilizing the oogonium is formed in adjacent hyphae*Pythium*
- 3.2 Hyphae larger; antheridium fertilizing the oogonium formed at its base *Phytophthora*
- 4.1 Not forming brownish or blackened mycelium directly on the epidermis of leaf, but in general attacking more internal tissues 5
- 4.2 Sooty mold fungi or similar, forming brownish to blackened mycelium superficially to the leaf 39
- 5.1 Fungi not forming asci on the plant organs, only acervula or pycnidia or only conidiophores and conidia, or conidia formed directly in the hyphae of the mycelium ...6
- 5.2 Fungi forming asci inside perithecia or cleistothecia 40
- 6.1 Conidia produced inside specialized structures, acervuli or pycnidia 7
- 6.2 Conidia produced on isolated conidiophores, not grouped into acervuli or pycnidia12
- 7.1 Conidia produced in acervuli 8
- 7.2 Conidia produced in dark pycnidia9
- 8.1 Apex of the conidia with two or three appendages *Pestalotia paraguariensis*
- 8.2 Conidia without appendices *Colletotrichum*
- 9.1 Pycnidia without dark setae, forming long and branched conidiophores *Dendrophoma* (cited as endophyte only)
- 9.2 Pycnidia with or without dark setae; conidiophores short, unbranched 10

- 10.1 Pycnidia with dark setae, opening irregularly, without ostiole; conidia globose to ellipsoid or oblong..... *Amerisporium*
- 10.2 Pycnidia with or without dark setae, opening through an ostiole; conidia of one or more types 11
- 11.1 Conidia of two types: short and ovoid and long curved or forked *Phomopsis*
- 11.2 Conidia of only one type; pycnidia without setae.... *Phyllosticta (Phoma)*
- 12.1 Conidiophores organized in sporodochium or Synnema 13
- 12.2 Conidiophores isolated or in small groups, but not forming sporodochium or Synnema..... 19
- 13.1 Conidiophores organized in Synnema 14
- 13.2 Conidiophores organized in sporodochium 15
- 14.1 Synnema with a head formed by compactly organized conidiogenous hyphae; conidia hyaline..... *Graphium*
- 14.2 Synnema with cylindrical conidiogenous region; conidia dark..... *Doratomyces*
- 15.1 Macroconidia lunate, multiseptate and hyaline..... *Fusarium*
- 15.2 Conidia muriform or lunate, unicellular.....16
- 16.1 Conidia lunate, unicellular and hyaline..... *Pilidium*
- 16.2 Conidia non-lunate, cylindrical (thin and long) to muriform and pigmented.....17
- 17.1 Conidia long and thin, hyaline, multiseptated *Pseudocercospora*
- 17.2 Conidia muriform, pigmented..... 18
- 18.1 Conidia globose to subglobose, with few irregularly arranged cells forming the conidia..... *Epicoccum*
- 18.2 Conidia ellipsoid to elongated, with many cells in various series forming the conidia *Dictyosporium*

- 19.1 Conidiogenous cells surrounded by long, straight to curved pigmented setae;
conidia, curved, unicellular, hyaline *Circinotrichum*
- 19.2 Conidiogenous cells or conidiophores not associated to setae; conidia in general
not curved or if curved, non-hyaline and multicellular 20
- 20.1 Conidiophores and conidia hyaline..... 21
- 20.2 Conidiophores and/or conidia dark colored..... 31
- 21.1 Conidia single-celled..... 22
- 21.2 Conidia bi- to multicellular..... 29
- 22.1 Conidia in more or less compact heads; conidiophores simple..... *Aspergillus*
- 22.2 Conidiophores not forming compact heads; conidiophores simple or branched.... 23
- 23.1 Conidia in chains..... 24
- 23.2 Conidia not in chains 26
- 24.1 Conidia anelospore-type..... *Scopulariopsis*
- 24.2 Conidia phyalospore-type..... 25
- 25.1 Phialides divergent, loose..... *Paecilomyces*
- 25.2 Phialides erect, clustered..... *Penicillium*
- 26.1 Conidiophores verticillated and phyalospores in mucilaginous groups
..... *Verticillium*
- 26.2 Conidiophores non-verticillated and phyalospores in mucilaginous groups or not
..... 27
- 27.1 Conidiophores irregularly branched, forming conidia not aggregated in gelatin
drops. *Botrytis*
- 27.2 Conidiophores forming conidia aggregated in gelatin drops28
- 28.1 Conidiophores broom-shaped, similar to those of *Penicillium* *Gliocladium*
- 28.2 Conidiophores not broom-shaped..... *Trichoderma*

- 29.1 Apex of conidiophore forming conidia in a characteristic zigzag pattern.....
*Trichothecium*
- 29.2 Formation of conidia not following a zig-zag pattern, irregularly formed
 30
- 30.1 Conidiophores branched; conidia cylindrical..... *Cylindrocladium*
- 30.2 Conidiophores simple; conidia obovate to oblong *Arthrobotrys*
- 31.1 Conidia single-celled..... 32
- 31.2 Conidia bi- to multicellular..... 35
- 32.1 Conidiophores present, with widening at the apex*Aspergillus* or
Periconia (if without widening at the apex of the conidiophore)
- 32.2 Conidiophores absent..... 33
- 33.1 Conidia black, shiny, formed alone and apically on a flat hyaline cell
Nigrospora
- 33.2 Conidia brown to hyaline..... 34
- 34.1 Conidia of the blastospore type formed directly on the lateral side of the hyphae
 *Aureobasidium* (only *Aureobasidium melanogenum*)
- 34.2 Conidia formed on thin but evident pedicels *Asteromyces*
- 35.1 Conidia catenulated and bicellular..... *Cladosporium*
- 35.2 Conidia catenulated or not catenulated, multicellular36
- 36.1 Conidiophores grouped or fasciculated, forming long, very thin and hyaline
 conidia *Pseudocercospora*
- 36.2 Conidiophores grouped or not, but forming larger and pigmented conidia 37
- 37.1 Conidia catenulate, acropetal, with transverse and some longitudinal septa
 *Alternaria*
- 37.2 Conidia not catenulated, with only transverse septa 38

- 38.1 Conidia usually with 4 cells, curved by the uneven enlargement of the median cell
.....*Curvularia*
- 38.2 Conidia multicellular, straight or slightly curved *Bipolaris*
- 39.1 Ascospores uniseptate..... *Asterina* spp. (if ascospores pigmented) or
Mycosphaerella ilicicola (if ascospores hyaline)
- 39.2 Ascospores multiseptate..... *Capnodium* (if they have hyphopodia or
appressoria then it is *Meliolayerbae*)
- 40.1 Ascospores hat-shaped, forming inside perithecia with a rounded and black base
and a long neck that ends with 8 to 15 ostiolar hyphae*Ceratocystis fimbriata*
- 40.2 Ascospores of different shape and different perithecia or with cleistothecia... 41
- 41.1 Perithecia immersed or erumpent; ascospores hyaline to brownish, transversely
septate *Leptosphaeria paraguariensis*
- 41.2 Perithecia or cleistothecia on the substrate; ascospores hyaline to brown, non-
septate 42
- 42.1 Forming perithecia with stellate ostiole; ascospores cylindrical to bacilliform, with
7 – 10 x 1 – 1.5 µm *Peckia mate*
- 42.2 Forming perithecia or cleistothecia; ascospores ellipsoid to limoniform
..... *Chaetomium*

KEY FOR *Asterina* SPECIES FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Thyriothetium less than 100 µm in diameter *Asterina sphaerelloides*
- 1.2 Thyriothetium over 100 µm in diameter *Asterina matte*

KEY FOR *Colletotrichum* SPECIES FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE
(*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Conidia ending in sharp points *Colletotrichum acutatatum*
- 1.2 Conidia ending rounded*Colletotrichum gloeosporioides*

KEY FOR *Pseudocercospora* SPECIES FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Caespituleepiphyllus with immersed stroma, 40–100(–150) μm in diameter, in some cases hypophilic, but then not very conspicuous, with little or no stroma and 10–50 μm in diameter, substomal or intraepidermal; conidia with (12–) 20–100 \times 1.5–4 μm , hyaline or subhyaline *Pseudocercospora mate*
- 1.2 Caespitule only hypophilic, conspicuous and large, always with large stroma, 75–200 μm in diameter; conidia wider, 15–60 \times 4–6 μm , pale olivaceous
..... *Pseudocercospora yerbae*

KEY FOR THE SPECIES OF *Cylindrocladium* FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Conidia only uniseptate, with (40–)45(–55) \times (3–)4(–5) μm ; vesicles ellipsoid or piriform *Cylindrocladium scoparium*
- 1.2 Conidia uniseptate mixed with others with more than one septum; vesicles clavated to spatulate..... 2
- 2.1 Macroconidiophores only formed; conidia in general with one septum and rare some with up to 3 septa mixed.....*Cylindrocladium spathulatum*
- 2.2 Macro- and microconidiophore formed; conidia in general with 3 septa, rare with only one *Cylindrocladium ilicicola*

KEY FOR *Fusarium* SPECIES FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*) FROM STRUCTURES OBSERVED IN PDA CULTIVATING:

- 1.1 Colonies pinkish-yellow to orange; macroconidia and chlamydospores not formed *Fusarium tabacinum*
- 1.2 Colonies colored as above or different; macroconidia formed and chlamydospores formed or not 2
- 2.1 Colonies pink; macroconidia with 5 to 8 septa*Fusarium decemcellulare*
- 2.2 Colonies pink or not; macroconidia with 3 to 5 septa 3

- 3.1 Colonies violet in the center and whitish on the edges; macroconidia with 3 septa *Fusarium oxysporum* (if only whitish colonies it is *Fusarium guttiforme*)
- 3.2 Colonies of other colors; macroconidia with more than 3 septa 4
- 4.1 Colonies pinkish-gray to yellowish; macroconidia with 3 to 5 septa ... *Fusarium tricinctum*
- 4.2 Colonies of other colors or macroconidia with more than 5 septa (but in general 3 to 5 septa) 5
- 5.1 Colonies forming concentric rings, cream colored to bluish green; thick and slightly curved macroconidia, most often with up to 5 septa *Fusarium solani*
- 5.2 Colonies with other colors; macroconidia with up to 7 septa..... *Fusarium graminearum*

KEY FOR *Phyllosticta* SPECIES FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Perithecia with 90 – 100 µm in diameter; ascospores 3-4 x 1-1.5 µm.....*Phyllosticta mate*
- 1.2 Perithecia with 80-160 µm in diameter; ascospores obovate to elliptical, 10-12 x 5-7µm *Phyllosticta yerbae*

KEY FOR *Pythium* SPECIES FOUND ASSOCIATED WITH YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*):

- 1.1 Forming one or two typically sessile and curved antheridia per oogonium *Pythium ultimum*
- 1.2 Antherida in general 4 per oogonium, rarely 1 or more *Pythium debaryanum*

Conclusion

The survey on fungi reported as occurring in *Ilex paraguariensis* resulted in 71 species associated, but with 45 really pathogenic to this economic important tree. The proposition of an identification key will be useful to attract more scientists to this task

and to identify more species associated. It is expected to find more species as is being revealed from recent publications.

References

ALVARENGA, A. A. A. et al. Presencia de hongos filamentosos em yerba mate compuesta y eficiencia de medios de cultivo para el aislamiento de *Aspergillus*. **Investigación Agraria**, v. 18, n. 1, p. 49-55, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.18004/investig.agrar.2016.junio.49-55>

AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Doenças da erva-mate. **Summa Phytopathologica**, v. 21, n. 3-4, p. 195-198, 1995.

AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Associações de fungos com *Ilex* spp. **Boletim de Pesquisas Florestais**, v.45, p.109–124,2002.

BERNARDI, E.; CALDEIRA, M. F.; NASCIMENTO, JS. Identificação de fungos filamentosos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). **Arq. Inst. Biol.**, v.72, n.4, p.489-493, 2005.

BILENKI JUNIOR, V.; AUER, C. G. & WOLF II, N. I. Características morfológicas e fisiológicas de isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose da erva-mate. **BIOFIX Scientific Journal**, v.6, n.2, p. 120-126. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/biofix.v6i2.78851>.

BONFATTI, E. A.; LENGOWSKI, E. C. & LUDKA JÚNIOR, A. Mapeamento do processo produtivo de erva-mate. **Revista Internacional de Ciências**, v.8, n.1, p. 82-98, 2018. DOI: <https://doi.org/10.12957/ric.2018.32500>.

BORGES, L.R. et al. Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.9, n.2, p.185-194,2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v9i2.11786>.

BORGES, L. R.; PIMENTEL, I. C.; BEUX, M. R. & TALAMINI, A. Contagem de fungos no controle de qualidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos. **B. CEPPA**, v.20, n.1, p. 103-110. 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v20i1.1139>

BORGES, L. R.; PIMENTEL, I. C.; BEUX, M. R.; TALAMINI, A. Isolamento de fungos potencialmente micotoxigênicos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: Congresso Sul-Americano Da Erva Mate, 2., **Reunião Técnica Da Erva Mate**, 3., 2000, Porto Alegre, Anais.... Porto Alegre: UFRGS/FEPAGRO.155-157, 2000.

BRAUN, U.; RYBAK, M.; RYBAK, R.; CABRERA, M.G. Foliar diseases on tea and mate in Argentina caused by *Pseudocercospora* species. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 2, n.2, p.103–110, 2012. Doi 10.5943/ppq/2/2/2

BRITO, N.M.; DUARTE, H. S. S.; BÜHNER, C. B.; AUER, C. G.; SANTOS, A. F. 2021. Morphophysiological characterization of *Ceratocystis fimbriata* isolates from yerba mate. **Ciência Rural**, v.51, n.3, e20200579. DOI: <http://doi.org/10.1590/0103-8478cr2020057>

BUDDENHANGE, I. W. & YOUNG, R. A. A leaf and twig disease of English Holly caused by *Phytophthora ilicis* n. sp. **Phytopathology**, v.47, n.2, p. 95 – 101,1957.

CANNON, P.F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S. *Colletotrichum*– current status and future directions. **Studies in Mycology**, v.73, p.181-213, 2012.

CAPELLARI, P. L. et al. **Yerba mate, reseña histórica y estadística, producción en el siglo XXI**. Buenos Aires: Consejo Federal de Inversiones. 310p. p.9-10,2017.

CARVALHO S, STUART RM, PIMENTEL IC, DALZOTO PR, GABARDO J, ZAWADNEAK MAC. Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e ervamate. **RevInst Adolfo Lutz**, v.68, n. 1, p.91-95, 2009.

CHECHI, L. A.; SCHULTZ, G.; FERRONATO, E. M. O. & MONTAGNER, J. Ativos territoriais e desenvolvimento: estudo da articulação pela indicação geográfica da ervamate no polo ervateiro alto Taquari-RS. **Revista Estratégia e Desenvolvimento**, v.1, n. 1, p. 16-34, 2017.

CORREA, V.G., GONÇALVES, G.A., SÁ-NAKANISHI, B.D., FERREIRA, I.C.F., BARROS, L., DIAS, M.I., KOEHNLEIN, E.A., SOUZA, C.G.M., BRACHT, A., & PERALTA, R.M. Effects of *in vitro* digestion and *in vitro* colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.Hil.) beverages. **Food Chemistry**, v. 237, p. 453-460, 2017. DOI: [10.1016/j.foodchem.2017.05.125](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.125)

FAOSTAT. Maté: **World list, area harvest, yield, production**. Acesso em 10 abr, 2021.

FLORES, S.E. R. Identificación de enfermedades de la yerba mate. Cerro Azul: Estación Experimental Agropecuaria Misiones. **Miscelánea**, v.7, p.38, 1983.

GOMES, N.S.B.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G. Seleção de antagonistas para o controle de *Cylindrocladium spathulatum* em erva-mate. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n.43, p.123-138,2001.

GOMES, N.S.B.; JÚNIOR, A.G.; AUER, C.G.; WIELEWSKI, P.; VALLE, G.M. Patogenicidade de *Colletotrichum acutatum* em folhas destacadas de erva-mate. **Boletim de Pesquisas Florestais**, v.43, p.151-154, 2001.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G. Efeito de fungicidas no controle da pinta-preta da erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.46, p.91-96, 2003.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G.; SANTOS, A. F. 2000. Mancha de *Phyllosticta* (*Phyllosticta* sp.) e *Cercosporiose* (*Cercospora* sp.) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Anais do II Congresso sul-americano da erva-mate e III Reunião Técnica da erva-mate**, p. 311-313, 2000.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; ZANON, A.; AUER, C. G. & FOWLER, J.A. P. Efeito de fungicidas aplicados nas sementes, na emergência de plântulas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, v.39, p. 31-39. 1999.

GRILLO, H. V. S. Lista preliminar dos fungos assinalados em plantas do Brasil. **Rodriguésia**, v.2, p.39 – 96, 1936.

HENNINGS, P. Fungi Fluminenses a. cl. E. UleCollecti. **Hedwigia**, v.43, p.78-95, 1904.

HÖRNER, L. de A.; AUGUSTIN, L.; FORCELINI, C. A.; MIELKE, M. S.; SUZIN, M.; DENARDIN, N. D. Estudo do desenvolvimento e identificação dos agentes contaminantes da erva-mate cultivada in vitro. In: **Congresso Sul-Americano Da Erva Mate, 2.; Reunião Técnica Da Erva Mate, 3.**, 2000, Encantado. Anais... Porto Alegre: Universidade do Rio Grande do Sul; Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, a. p. 453-456, 2000.

LIMA, N. B. KRYVENKI, M.; CONFORTO, E.; SERRI, D.; KRAMER, R.; ROCA, M.; GIL, S. V. FIRST report of white thread blight caused by *Ceratobasidium nitonsouzanum* on yerba mate in Argentina. **Plant Disease**, v.104, n.2, p. 572, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1603-PDN>.

LÓPEZ, A. C.; ALVARENGA, A. E.; ZAPATA, P. D.; LUNA, M.F.; VILLALBA, L. L. Aislamiento e identificación de hongos asociada *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista de Ciencia y Tecnología**, v.33, n.1, p. 20–26, 2020. DOI: <https://doi.org/10.36995/j.recyt.2020.33.003>.

MARCHIONATTO, J. B. **Tratado de Fitopatologia**. Buenos Aires. Libreria del Colégio. 537 pp., 1948.

MARUCCI, R. S.; JERKE, G.; NAIDICH, A.; KNASS, P. Micoflora presente en yerba mate envasada comercializada en ciudad de Posadas provincia de Misiones, Argentina. In: **Congreso Sul-Americano da Erva Mate, 2, Reunião Técnica da Erva Mate, 3**, 2000, Porto Alegre, Anais... Porto Alegre: UFRGS/FEPAGRO, p.166-168, 2000.

MARUCCI, R. S., KANZIG, R. G., & SARTORI, P. Evaluación de la flora fúngica presente en la yerba mate estacionada en galpones calefaccionados. **Revista de CienciayTecnología**, v.8, n.1, p.35–38, 2006.

MAUBLANC, A. & RANGEL, E. Alguns fungos do Brasil novos ou mal conhecidos. **Boletim da Agricultura**, vol.16, n.4, p.310–328, 1915.

MAUBLANC, A. Rapport sur lés maladies observées sur lés Laboratoire Du Phytopathologie du Museu Nationaldu Rio de Janeiro. **BulletinMensuel des ResegnementsAgricoles et des Maladies des Plantes**, v.4, n.7, p.876–879, 1913.

MEDRADO, M. J. S. & MOSELE, S. H. O futuro da investigação científica com erva-mate. **EMBRAPA série Documentos**, v. 92, p.1-64, 2004.

MENDES, M. A. S. SILVA, V. L.; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N.; URBEN, A. F. **Fungos em Plantas no Brasil**. EMBRAPA – SPI, EMBRAPA-CENARGEM. 569pp. 1998.

MEZZOMO, R.; ROLIM, J.M.; POLETTO, T.; OLIVEIRA, M.B.; LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B. Mycelial growth and sporulation of *Fusarium* spp. Pathogenic to *Ilex paraguariensis* in different culture media and under exposure to different light levels. **Scientia Agraria**, v.19, n.1, p.14-19,2018a. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v19i1.55844>.

MEZZOMO, R.; ROLIM, J.M.; POLETTO, T.; ROSENTHAL, V. C.; SAVIAN, L. G.; REINIGER, L. R. S.; MUNIZ, M. F. B. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. pathogenic to *Ilex paraguariensis*. **Cerne**, v.24, n.3, p.209-218, 2018b.

MUSSI-DIAS, V. **Fitopatologia no Estado do Rio de Janeiro: histórico, índice de doenças de plantas e 15 anos de atividades da Clínica Fitossanitária da UENF**. Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 299 pp.,2011.

NOVACKI, M. J. Alguns fungos parasitas de erva mate (*Ilex* sp.) no Paraná. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.9, n.6, p.83–89,1954.

OLIVEIRA, E.; MACIEL, C.G.; CAMPAGNOLO, K. Qualidade sanitária de sementes de ervamate. **Unoesc & Ciência-ACET**, v.6, n.2, p.231-238, 2015. PAULA, S. et al. Incidência de fungos em solos cultivados com erva-mate no Alto Uruguai gaúcho. **Summa Phytopathologica**, v.47, p.10-16, 2017.

PAULA, S.; WOLF, K. R.; MARTÍNI, A. F.; MILANESI, P. M. Incidência de fungos em solos cultivados com erva-mate no Alto Uruguai gaúcho. **Summa Phytopathologica**, v.47, p.10-16, 2017.

PAULA, S.; WOLF, K. R.; MARTÍNI, A. F.; MILANESI, P. M. Doenças fúngicas em erva-mate. Fungal disease in "erva-mate". **ScientificElectronicArchives**, v.11, n.2, p.27-34, 2018.

PENNA, E.B.S. **Microrganismos endofíticos em erva-mate (*Ilexparaguariensis* St. Hil.) e variabilidade genética em *Phyllosticta* sp. por RAPD**. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

PIASSETTA, R. R. L.; MIKOS, A. P.; AUER, C. G. Doenças fúngicas da cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no Brasil. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 6 n. 2 p. 153-159,2021.DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/biofix.v6i2.80320>.

PIMENTEL, I. C.; KUCZKOWSKI, F. R.; CHIME, M. A.; AUER, C. G. & JUNIOR, A. G. Fungos endofíticos em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Floresta**, v.36, n.1, p.123–128, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rf.v36i1.5597>.

POLETTO, I.; KUCZKOWSKI, F.R.; CHIME, M.A.; AUER, C.G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Zoneamento e identificação de *Fusarium* spp. causadores de podridão de raízes em plantios de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) na região do vale do Taquarí, RS. **Ciência Florestal**, v.16, n.1, p.1-10, 2006.

POLETTO, I.; MUNIZ, M.F.B.; CECONI, D.E.; WEBER, M.N.D.; BLUME, E. Primeira ocorrência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. causando podridão-de-raízes em ervais no Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v.17, n.1, p.65-69, 2007.

POLETTO, I.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E.; CECONI, D.E. Efeito da aplicação de NPK e calcário sobre a podridão-de-raízes em mudas de erva-mate. **Floresta**, v.40, n.3, p.1-15, 2010.

POLETTO, I.; MUNIZ, M.F.B.; CECONI, D.E.; MEZZOMO, R.; RODRIGUES, J. Influência da inoculação de *Fusarium* spp. e níveis de sombreamento no crescimento e desenvolvimento da erva-mate. **Ciência Florestal**, v.20, n.3, p.513-521, 2010.

POLETTO, I.; LUPATINI, M.; MUNIZ, M.F.B.; ANTONIOLLI, Z.I. Caracterização e patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. causadores de podridão-de-raízes da ervamate. **Floresta**, v.42, n.1, p.95-104, 2012.

POLETTO, I.; MUNIZ, M.F.B.; CECONI, D.E.; POLETTO, T. Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Ciência Florestal**, v.25, n.2, p.281-291, 2015.

RYBAK, M.; RYBAK, R.; CABRERA, M.G.; ALVAREZ, R.E. **Enfermedades de Yerba Mate y Té en Misiones y Norte de Corrientes - Argentina**. INTA EEA Cerro Azul (Misceláneas° 66), p. 1-32, 2014.

SAATKAMP, K. E.; PIMENTEL, I. C.; GABARDO, J.; BORGES, L. R.; BEUX, M. R. Comparação entre meios de cultura para contagem de fungos no controle microbiológico da erva-mate. In: **Congresso Sul-Americano Da Erva Mate, 2., Reunião Técnica da Erva Mate**, 3., 2000, Porto Alegre, Anais... Porto Alegre: UFRGS/FEPAGRO, p.186-188, 2000.

SANTOS, A.F., FERREIRA, M.A.; AUER, C.G.; BUHRER, C.B.; BRITO, N.M.SCREMIN, R.M.; MIRESKI, M.C. First report of yerba mate wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. **Plant Disease**, v.102, n.11, p. 1-2. 2018.

SOUZA, G. F.; OLIVEIRA, L. M.; AGOSTINETTO, L.; PUCHALE, L. Z. & SÁ, A. C. Efeito da estratificação em substrato esterilizado na qualidade sanitária de sementes de *Ilex paraguariensis*. **Ciência Florestal**, v.29, n.2, p.854-862, 2019. DOI: [10.5902/1980509833194](https://doi.org/10.5902/1980509833194).

SOUZA, G. F.; OLIVEIRA, L. M.; CASA, R.T.; AGOSTINETTO, L.; SOUZA, A.C. Detection Methods of Fungi in *Ilex paraguariensis* Seeds. *Floresta e Ambiente* 27 (3): e20170983,2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.098317>.

SPEGAZZINI, C. Hongos de La yerba-mate. *Anales del Museo Nacional de Buenos Aires*, v.10, p.111-141, 1908.

STAMMER, E. E. & TOMAZ, R. **Ocorrência de fungos e bactérias fitopatogênicas no estado do Paraná**. Curitiba: Secretaria do Estado da Agricultura e Abastecimento. DEFIS. 91 pp., 1991.

STEVENSON, J. A. **Foreign plant diseases – a manual of economic plant diseases which are new to or not widely distributed in the United States**. Washington, Government Printing Office. 198 pp., 1926.

THE FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Non-Wood News**. No. 14,2007. Acesso em: 03. Ago. 2021. <<http://www.fao.org/3/a0917e/a0917e00.pdf>>

VIÉGAS, A. P. **Índice de Fungos da América do Sul**. Campinas – SP. Instituto Agrônômico. 921 pp., 1961.

WILLS, W. H. & LAMBE, R. C. Patogenicity of *Thielaviopsis basicola* from Japanese holly (*Ilex crenata*) to some other host plants. **Plant Disease Reporter**, v.62, n.12, p. 1102–1106, 1978.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo ampliam o conhecimento acerca de quais espécies fúngicas estão associados ao resíduo de erva-mate. A verificação da presença de 12 patógenos viáveis no resíduo final, mesmo após todo o processo de beneficiamento da erva-mate e utilização pelo consumidor, demanda que este resíduo tenha um destino adequado, de maneira a evitar sua utilização como adubo ecológico, pois os patógenos encontrados não são exclusivos de erva-mate, e podem afetar diversas outras culturas se descartados de maneira negligente.

As amostras com detecção de fitopatógenos que receberam Spawn de *Pleurotus* e após crescimento micelial foram inoculadas em BDA, apresentaram resultados negativos, ou seja, não houve nenhum isolamento das espécies patogênicas originalmente encontradas, o que demonstra que a espécie de cogumelo comestível apresenta a habilidade de eliminar fungos fitopatógenos da erva-mate, sendo uma boa alternativa no tratamento do resíduo de erva-mate antes deste ser descartado

Além disso, o estudo também mostrou que a utilização da erva-mate como substrato para o crescimento do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatoroseus* é viável, desde que esta seja enriquecida por serragem de eucalipto, preferencialmente na porcentagem 70%.

Os resultados positivos na utilização de colmos de bambu como recipiente para o substrato e cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* demonstram que este material tem potencial para ser uma alternativa ao uso de sacos plásticos, sendo uma opção ecologicamente sustentável e menos poluidora ao meio-ambiente.

O trabalho também contribui ao tornar mais acessível a identificação das espécies associadas patogenicamente à erva-mate, através da disponibilização de uma Lista e Chave de Identificação para tais espécies.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, Ana Maria *et al.* Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack: Fr). **Cienc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 2, 2007.

ANPC- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE COGUMELOS. **Cogumelos no Brasil**. 2018. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>>. Acesso em: 26. jan. 2021

ARAÚJO, Nelma Lopes *et al.* Produção de biomassa micelial e enzimas lignocelulolíticas de *Pleurotus* spp. em meio líquido. **Research, Society and Development**, v.10, n.1, 2021.

ARRIETA, M. P.; PEPONI, L.; LÓPEZ, D.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Recovery of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue for the development of PLA-based bionanocomposite films. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 317–328, 2018.

ATILA, F. Evaluation of Suitability of Various Agro-Wastes for Productivity of *Pleurotus djamor*, *Pleurotus citrinopileatus* and *Pleurotus eryngii* Mushrooms. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 17, n. 5, p. 1-11, 2017.

AUER, C G.; GRIGOLETTI JÚNIOR., A; MASCHIO, L. M. A. Doenças fúngicas em erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Colombo: Embrapa – CNPF, 1995. 2p.

AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Associação de fungos com *Ilex* spp. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 45, p. 109-124, 2002.

AUER, C.G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Doenças da erva-mate. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 21, n. 3-4, p. 195-198, 1995.

BELLETTINI, Marcelo Barba *et al.* Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, p. 633-646, 2019.

BERNARDI, E. *et al.* Utilização de diferentes substratos para a produção de inoculo de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n.1, p. 84-89, 2007.

BERNARDI, E. *et al.* Cultivo e características nutricionais de *Pleurotus* em substrato pasteurizado. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 4, p. 901-907, 2009.

BERNARDI, E.; CALDEIRA, M. F.; NASCIMENTO, J. S. Identificação de fungos filamentosos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 489-493, 2005.

BERNARDO, P. E. M. *et al.* Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – Uma Revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, n. 1, p. 1-11, 2015.

BILENKI JUNIOR, V.; AUER, C. G.; WOLF II, N. I. Características morfológicas e fisiológicas de isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose da erva-mate. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 6, n. 2, p. 120-126, 2021.

BOA E. Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. **FAO**, Rome. 2004. 148 p.

BORGES, Larissa Rolim *et al.* Contagem de fungos no controle e qualidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 20, n.1, p. 103-110, 2002.

BRITO, Nicolas Manarim de *et al.* Morphophysiological characterization of *Ceratocystis fimbriata* isolates from yerba mate. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 51, n.3, p. 1-5, 2021.

CABRERA, M. G.; DIRCHWOLF, P. Enfermedades: Conociendo los enemigos microscópicos. In: CAPELLARI, P. L. *et al.* **Yerba mate, reseña histórica y estadística, producción e industrialización en el siglo XXI**, 1 ed., Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Consejo Federal de Inversiones, 2017. 310 p.

CARDOSO, Natalia de Lima *et al.* Cultivo e consumo do cogumelo shimeji em Mogi das Cruzes: estudo dos custos do produtor ao consumidor local. **Revista Científica UMC**, p. 1-4, 2019.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas de usos múltiplos na Região Sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 1.; 1994, Porto Velho. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1994. p. 289-320.

CARVALHO, Suzana *et al.* Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva-mate. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n.1, p. 91-95, 2009.

CORREA, Vanessa Gesser *et al.* Effects of in vitro digestion and in vitro colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) beverages. **Food Chemistry**, v. 237, p. 453-460. 2017.

DANIEL, O. **Erva-mate**: sistema de produção e processamento industrial. Dourados, MS: UFGD; UEMS, 2009. 288p.

DELADINO, Lorena *et al.* Corn starch systems as carriers for yerba mate (*Ilex paraguariensis*) antioxidants. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 463-472. 2015.

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

ELISASHVILI, Vladimir *et al.* Physiological Peculiarities of Lignin-Modifying Enzyme Production by the White-Rot Basidiomycete *Coriolopsis gallica* Strain BCC 142. **Microorganisms**, v. 5, n. 73, p. 1-13, 2017.

EMBRAPA. **Erva-mate**. Agência de Informação Embrapa. 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/florestas/transferencia-de-tecnologia/erva-mate>>. Acesso em: nov. 2020.

ESTRADA, A. E.; PECCHIA, J. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In: ZIED, D. C.; PARDO-GIMENÉZ, A. **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**, John Wiley & Sons Ltd. 1 ed., p. 339-360, 2017.

FAN, L.; SOCCOL, C. R.; PANDEY, A. Produção de cogumelo comestível *Pleurotus* em casca de café e avaliação do grau de detoxificação do substrato. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 01, 2000, Poços de Caldas. **Resumos** [...]. Poços de Caldas: SPCB, 2000. p. 687-690.

GRIGOLETTI JUNIOR, A. *et al.* Efeito de fungicidas aplicados nas sementes, na emergência de plântulas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 39, p. 31-39, 1999.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G.; MASCHIO, L. M. A. Doenças em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) na região sul do Brasil. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 32-33, p.43-51, 1996.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; DOS SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Doenças da erva-mate no Brasil. In: I Congresso Sul-Americano da Erva-Mate. Reunião Técnica do Cone Sul sobre a cultura da Erva-Mate, 2. Curitiba, **Anais**. Colombo. Documentos 33, p. 359-369, 1997.

GRIGOLETTI JÚNIOR., A.; AUER, C. G. **Doenças da erva-mate: identificação e controle**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1996, 18p. (EMBRAPA-CNPQ, Circular Técnica, 25)

GRIGOLETTI JÚNIOR., A.; AUER, C. G.; ALFENAS, A. C.; CROUS, P. W. Mancha foliar, desfolha e morte de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) causada por *Cylindrocladium spathulatum*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.21, n.1, p.56, 1995.

GRIGOLETTI JÚNIOR., A.; AUER, C.G.; MASCHIO, L.A.M.; TAVARES, F.R. Levantamento preliminar de fungos associados a cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A ERVAMATE, 1., 1992, Porto Alegre. **Programas e resumos**. Porto Alegre, 1992. p.57.

GRILLO, H. V. S. Lista preliminar dos fungos assinalados em plantas do Brasil. **Rodriguésia**, v. 2, p. 39- 96. 1936.

GULLÓN, Beatriz *et al.* Yerba mate waste: A sustainable resource of antioxidant compounds. **Industrial crops and products**, v. 113, p. 398-405, 2018.

HE, Mao-Qiang *et al.* Notes, outline and divergence times of Basidiomycota. **Fungal Diversity**, v. 99, p. 105-367, 2019.

HENRIQUE, F.A. **Caracterização físico-química da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. -Hil) e infusão, comercializada no sul do Brasil propondo critérios de confiabilidade do produto**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Produção. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2018.

IBRAMATE – Instituto Brasileiro de Erva-mate. **Diagnóstico da Cadeia Produtiva da Erva-mate no estado do Rio Grande do Sul**. Ilópolis, v. 1., p. 1-23, 2018.

KENDRICK, B. **Fungi: Ecological Importance and Impact on Humans**. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. p. 1-5. 2011.

- KNOP, D.; YARDEN, O.; HADAR, Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 1025-1038, 2015.
- LÓPEZ, Ana C. *et al.* Aislamento e identificación de hongos asociados a *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista de Ciencia Y Tecnología**, v. 33, n. 1, p. 20-26, 2020.
- MADAN, M.; VASUDEVAN, P.; SHARMA, S. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on Different Wastes. **Biological Wastes**, v. 22, p. 241-250, 1987.
- MANDEEL, Q. A.; AL-LAITH, A. A.; MOHAMED, S. A. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 601-607, 2005.
- MARCHIONATTO, J. B. **Tratado de Fitopatologia**. Buenos Aires. Libreria del Colégio. 1948. 537 p.
- MARTINS, Olivia Gomes *et al.* Sobra de alimentos como alternativa para a formulação de novos substratos para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycota, Fungi). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 11, n. 2, p. 505-518, 2018.
- MAUBLANC, A.; RANGEL, E. Alguns fungos do Brasil novos ou mal conhecidos. **Boletim da Agricultura**, v.16, n. 4, p. 310-328. 1915.
- MAUBLANC, M. A. Rapport sur les maladies observées au Laboratoire de Phytopathologie du Museu National de Rio de Janeiro. **Bulletin Mensuel des Renseignements Agricoles et des Maladies des Plantes**, Roma, v. 4, n. 7, p. 876-879, 1913.
- MENEZES, C. R.; BARRETO, A. R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v.19, n. 2, p. 1365-1391, 2015.

MEZZOMO, Ricardo *et al.* Molecular characterization and vegetative compatibility groups of *Fusarium* spp. Pathogenic to *Ilex paraguariensis* A. St. -Hil. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 2, p. 846-862, 2021.

OLIVEIRA, E.; MACIEL, C. G.; CAMPAGNOLO, K. Qualidade sanitária de sementes de erva-mate. **Unoesc & Ciência – ACET Joaçaba**, v. 6, n. 2, p. 233-240, 2015.

PAULA, Samuel de *et al.* Doenças fúngicas em erva-mate. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n. 2, p. 27-34, 2018.

PAZZA V. A; ZARDO, C; MARTINS K. R; SCHUHLI DA C. T; MIOTTO B. D. Composição nutricional e propriedades funcionais fisiológicas de cogumelos comestíveis. **FAG Journal of Health**, v. 1, n. 3, p. 240-265, 2019.

PÉREZ, María Laura *et al.* Diversity of endophytic fungal and bacterial communities in *Ilex paraguariensis* grown under field conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 4, p. 1-15, 2016.

PÉREZ-CHÁVEZ, A. M.; MAYER, L.; ALBERTÓ, E. Mushroom cultivation and biogás production: A sustainable reuse of organic resources. **Energy for Sustainable Development**, v. 50, p. 50-60, 2019.

PERLA, H.O. Guía alfabética de especies de hongos publicadas por Carlos Luis Spegazzini. ProBiota. **Facultad de Ciencias Naturales y Museo**, Universidad Nacional de La Plata – Serie Documentos nº 34. 2014.

PIASSETA, R. R. L.; MIKOS, A. P.; AUER, C. G. Doenças fúngicas da cultura da erva-mate. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 6, n. 2, p. 153-159, 2021.

PIMENTEL, Ida Chapaval *et al.* Fungos endofíticos em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **FLORESTA**, Curitiba, v. 36, n. 1, 2006.

POLETTO, Igor *et al.* Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Ciência Florestal**, v. 25, n. 2, p. 281-291, 2015.

POLETTO, Igor *et al.* Primeira ocorrência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. causando podridão-de-raízes em ervais no Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 1, p. 65-69, 2007.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Cogumelos no Brasil: Fungos Agaricales s. l.** São Gabriel, Editora Lupagraf, 2019. 380 p.

RABUSKE, Elisa Regina *et al.* Substratos alternativos para o cultivo do cogumelo comestível ostra salmão: *Pleurotus djamor*. **Caderno de Pesquisa**, Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 2, p. 22-29, 2019.

RACHWAL, M. F. G.; CARVALHO, P. E. R.; WITHERS, L. H. de O. Roteiro de educação ambiental no arboreto da Embrapa Florestas. Documentos 137. **Colombo: Embrapa Florestas**, 2006.

RAMAN, Jegadeesh *et al.* Cultivation and Nutritional Value of Proeminent *Pleurotus* spp.: An Overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 1-14, 2021.

RAMPINELLI, Jamile Rosa *et al.* Valor nutricional de *Pleurotus djamor* cultivado em palha de bananeira. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 197-202, 2010.

RAVINDRAN, Rajeev *et al.* A Review on Bioconversion of Agro-Industrial Wastes to Industrially Important Enzymes. **Bioengineering**, v. 5, n. 93, p. 1-20, 2018.

ROCHA, J.; MENDES, A. P. Materiais em contacto com os alimentos – plástico na alimentação: Uma ameaça?. **Acta Portuguesa de Nutrição**, v. 17, p. 28-33, 2019.

RONCERO-RAMOS, I.; DELGADO-ANDRADE, C. The beneficial role of edible mushrooms in human health. **Current Opinion in Food Science**, v.14, p. 122–128. 2017.

SANTOS, A. F. *et al.* First report of Yerba Mate wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 11, p. 2381, 2018.

SANTOS, Jânio Sousa. *et al.* A new analytical concept based on chemistry and toxicology for herbal extracts analysis: From phenolic composition to bioactivity. **Food Research International**, v. 132, p. 1-12, 2020.

SEAPDR – SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO RURAL. **Cadeia produtiva de erva-mate movimentada mais de um bilhão de dólares ao ano**. 2020. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/cadeia-produtiva-de-erva-mate-movimentada-mais-de-um-bilhao-de-dolares-ao-ano>> Acesso em: nov. 2020.

SEKAN, Alona S. *et al.* Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology. **PeerJ**, p. 1-27, 2019.

SILVA, M. C.S. *et al.* Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushroom with selenium in coffee husks. **Food Chemistry**, v. 131, p. 558-563, 2012.

SOUZA, Gabriela Fernanda *et al.* Detection Methods of Fungi in *Ilex paraguariensis* Seeds. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 3, p. 1-7, 2020.

SOUZA, Gabriela Fernanda *et al.* Efeito da estratificação em substrato esterilizado na qualidade sanitária de sementes de *Ilex paraguariensis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 854-862, 2019.

YILDIZ, Sibel *et al.* Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 3, 301–306, 2002.