

**Aceitabilidade e Efeito de Grãos Cultivados com
Cogumelo *Agaricus brasiliensis* por Aves Silvestres com
Coccídeos**

**Acceptability and Effect of Cultivated Grains with the
Mushroom *Agaricus brasiliensis* by Wild Birds with
Coccidios**

Kelly Cristina de Brito Oliveira

Departamento de Biologia – UNICENTRO – Guarapuava, PR
kellycstar@hotmail.com.br

Ewerton Luiz de Lima

Departamento de Veterinária – UNICENTRO – Guarapuava, PR
ewerton.luiz.lima@gmail.com

José Carlos Issakowicz

Departamento de Veterinária – UNICENTRO – Guarapuava, PR
josecarlosissa@hotmail.com

Flávia Donadio Pita

Departamento de Biologia – UNICENTRO – Guarapuava, PR
flaviadpita@hotmail.com

Mariane Belegriño Vieira

Departamento de Biologia – UNICENTRO – Guarapuava, PR
nanigpes@hotmail.com

Adriano de Oliveira Torres Carrasco

Departamento de Veterinária – UNICENTRO – Guarapuava, PR
adriano.carrasco@gmail.com

Marcos Vinicius Tranquilim

Departamento de Veterinária – UNICENTRO – Guarapuava, PR
tranquiveter@hotmail.com

Departamento Engenharia de Alimentos – UNICENTRO – Guarapuava, PR

Osmar Roberto Dalla Santa

Departamento Engenharia de Alimentos – UNICENTRO – Guarapuava, PR
ordallasanta@yahoo.com.br

Herta Stutz Dalla Santa

Departamento Engenharia de Alimentos – UNICENTRO – Guarapuava, PR
hdalsanta@yahoo.com.br

Resumo: O cogumelo comestível *Agaricus brasiliensis* (= *A. blazei*, *A. subrufescens*) produz polissacarídeos com importante atividade imunoestimulante e que estão presentes no corpo de frutificação, micélio e no caldo de cultivo. O objetivo deste trabalho foi verificar a aceitabilidade de grãos cultivados com micélio do cogumelo *A. brasiliensis* por aves silvestres de diferentes espécies. Um segundo objetivo foi verificar a presença de coccídeos nestas aves e o efeito da ingestão dos grãos cultivados frente a estes parasitas. Os grãos foram umedecidos, esterilizados, inoculados com suspensão de micélio e cultivados durante dezoito dias. As aves, apreendidas pela Força Verde da Polícia Militar do Paraná devido ao tráfico animal, ficaram alojadas no Serviço de Atendimento de Animais Selvagens da UNICENTRO. O grupo era composto de aves das ordens Psitaciforme (dois papagaios) e Columbiforme (um pombo) que receberam o alimento em forma de mandolates; e Passeriforme (10 aves) que ingeriram os grãos cultivados na forma moída durante dez a vinte dias. Foram verificadas excelente aceitabilidade e ingestão dos grãos cultivados com o cogumelo por todas as aves testadas. Coccídeos foram detectados em pequeno número nos passeriformes. A ingestão dos grãos fermentados durante vinte dias pelas aves resultou em pequena redução quanto ao número de coccídeos nestas aves. Novos experimentos estão sendo realizados com um número maior de aves domésticas com inoculação de coccídeos para verificar o potencial antiparasitário do cogumelo.

Palavras-chave: aceitabilidade; *Agaricus brasiliensis*; aves; coccídeos; grãos; micélio.

Abstract: The edible mushroom *A. brasiliensis* (= *A. blazei*, *A. subrufescens*) produces polysaccharides present in the fruiting body, mycelium and broth culture; and this molecules has important immunostimulant activity. The objective of this work was to verify the acceptability of grains cultivated with *A. brasiliensis* mycelium by different species of wild birds. The second objective was to verify the presence of coccidios in these birds and the effect of the ingestion of the cultivated grains against these parasites. The grains were wetted, sterilized, inoculated with the mycelium suspension e cultivated during 18 days. The birds, arrested by the Força Verde of Polícia Militar (the Green Police) from Paraná due animal's traffic, were hosted in the Serviço de Atendimento de Animais Selvagens (Wild Animals Service) of UNICENTRO (Centro-Oeste University). The group was composed by birds from the order of Psitaciformes (2 parrots) and Columbiforme (1 dove) which received food in tablet-form; and Passeriformes (10 birds) which ingested the cultivated grains in milled-form during 10 or 20 days. All tested birds presented excellent acceptability and ingestion of the cultivated grains. Coccidios were detected in low number in the Passeriformes birds. The ingestion of the cultivated grains during 20 days resulted in a small reduction in the coccidios number in these birds. New experiments are being carried out in a greater number of domestic birds with inoculation of coccidios to verify the antiparasitic potential of the mushroom *A. brasiliensis*.

Key words: acceptability; *Agaricus brasiliensis*; birds; coccidios; grain; mycelium.

1 Introdução

O interesse crescente em cogumelos, em especial *Agaricus brasiliensis* (= *Agaricus blazei*, *Agaricus subrufescens*) deve-se à presença de diferentes moléculas bioativas. Os polissacarídeos são encontrados no corpo de frutificação e têm importante função de estimular o sistema imunológico [1]. Do micélio, produzido por cultivo submerso ou no estado sólido, é possível extrair o intrapolissacarídeo, e a partir do caldo de cultura, obtém-se o exapolissacarídeo [2].

Em estudos experimentais realizados por nosso grupo de pesquisa, o extrato do caldo de cultura do *A. brasiliensis* foi utilizado para administração por

gavagem em columbiformes, apresentando uma redução significativa no número de coccídeos excretados, após dois dias de tratamento (dados não publicados). Coccídeos podem estar presentes em vários animais e a infecção em aves de criadouros ocorre, muitas vezes, através dos pombos de vida livre. A presença de coccídeos foi relatada em passeriformes de vida silvestre, sendo que a infecção por coccídeos promove diarreias, perda de peso e óbito [3-5].

Por outro lado, o cultivo no estado sólido para produção de micélio é uma técnica antiga, utilizada na produção da semente de cogumelo ou também denominado de *spawn* (inoculante). Pesquisas recentes foram realizadas para produção de micélio do cogumelo *A. brasiliensis* por cultivo no estado sólido em grãos de trigo, que ingeridos por camundongos, resultaram em aparente ausência de toxicidade e propiciaram atividade antitumoral de até 55% [2, 6].

Dentre as aves, os psitacíformes são as mais seletivas em relação à alimentação, pois possuem uma língua grossa e rica em papilas gustativas, fazendo com que elas tenham um paladar bem desenvolvido [3]. Este fato dificulta a aceitação de alimentos com sabor e/ou odores fortes. Ademais, esta ordem aviária apresenta uma grande dificuldade de adaptação a novos alimentos e a degradação das fontes de alimentos na natureza é uma das razões para a redução do número destas aves em vida livre. Por conseguinte, o fornecimento de grãos enriquecidos possibilita a ingestão de micélio do *A. brasiliensis*, objetivando-se a sua ação terapêutica. O cogumelo, administrado na forma de alimento, evita a necessidade da gavagem durante os experimentos, técnica invasiva que provoca estresse nos animais, além de viabilizar seu uso em escala comercial.

Diante deste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a aceitabilidade de grãos cultivados com micélio do cogumelo *A. brasiliensis* por aves silvestres de diferentes espécies, assim como verificar o efeito sobre os coccídeos detectados nestas aves.

2 Desenvolvimento

A manutenção da cepa de *A. brasiliensis* e o processo de preparação da ração contendo o micélio foram realizados no laboratório de Microbiologia de Alimentos

e de Processos do Departamento de Engenharia de Alimentos (UNICENTRO). Os testes com as aves foram realizados no SAAS (Setor de Atendimento a Animais Selvagens), em parceria com o departamento de Medicina Veterinária (DEVET/ UNICENTRO).

2.1 Microrganismo

O cogumelo utilizado foi *A. brasiliensis* (= *A. blazei*, *A. subrufescens*) isolado por Fan Leifa em 2002, a partir de uma cultura comercial deste cogumelo, no Paraná. Esta cepa encontra-se depositada na micoteca do Laboratório de Cultivo de Cogumelos – DEALI – UNICENTRO.

2.2 Manutenção e repique do cogumelo

A cepa do cogumelo foi mantida em tubos de ensaio, contendo meio batata dextrose ágar – BDA, com repiques a cada trimestre. O micélio do cogumelo foi repicado em placas de Petri, contendo BDA e incubados a 30°C durante dez a quinze dias.

2.3 Preparo do inóculo

O inóculo foi cultivado em erlenmeyers com meio contendo (g.L⁻¹): glicose (20), extrato de levedura (3,95), MgSO₄.7H₂O (0,3), e K₂HPO₄.3H₂O (0,5); com pH ajustado a 6,0 (±0,2) em potenciômetro com NaOH 0,1N, esterilizado a 121°C por quinze minutos. Cinco pedaços (1cm²) de ágar com micélio do cogumelo foram inoculados em 50 mL de meio e incubados a 30°C a 120 rpm por sete dias. O micélio foi separado do caldo por filtração em tela (malha de 0,5 mm²) e com auxílio de uma espátula foi passado através da tela com 50 mL de água destilada esterilizada. Esta suspensão de micélio foi usada na concentração de 5% (v/v) para o cultivo sólido.

2.4 Cultivo sólido em grãos

O cultivo sólido foi conduzido com grãos de trigo e de painço, separadamente, previamente umedecidos por doze horas em água fria, escoados, acondicionados em sacos de polipropileno de 0,1µm de espessura (a esterilização em autoclave) com medidas de 13x20cm, em média com setecentas gramas cada. A esterilização foi a 121°C/45 min para posterior inoculação com a suspensão de micélio (5% v/p).

O substrato inoculado foi incubado a 30°C por dezoito dias, no escuro. Decorrido este prazo, o material foi seco a 45-50°C em estufa com circulação de ar [7]. O material foi dividido em duas partes, os blocos inteiros foram cortados em pedaços de 4 x 2 x 1,5 cm (comprimento x largura x espessura) semelhante a um mandolate. O restante dos grãos fermentados foram moídos a peneirado (mesh<2mm).

Amostras do trigo *in natura* e do material cultivado com micélio do cogumelo foram utilizadas para análises da composição centesimal segundo normas da A. O. A. C. [8].

2.5 Teste de aceitabilidade

Os testes de aceitabilidade dos grãos de trigo cultivados com micélio de *A. brasiliensis* foram divididos em dois experimentos. O primeiro foi feito com papagaios que receberam os mandolates de trigo fermentado, uma vez que esses preferem pegar o alimento com os pés. As espécies de psitacídeos foram *Amazona vinácea* (papagaio-de-peito-roxo) e *A. aestiva* (papagaio-verdadeiro). As aves foram alojadas em gaiolas separadas, em uma sala climatizada (20°C – 25°C), com alimento e água *ad libitum* (à vontade).

Durante os três primeiros dias estas aves receberam o mandolate para verificação da aceitabilidade do mesmo. A observação foi realizada durante uma hora, por meio de filmadora acoplada à câmara, em sala anexa de forma a não inibir ou estressar os animais. A segunda fase teve como objetivo quantificar a ingestão do material cultivado com duração de sete dias. O alimento era oferecido às aves, dentro da gaiola, durante uma hora e depois era recolhido e pesado para análise das sobras.

Uma ave da espécie *Columba livia* (pombo doméstico) também recebeu o trigo fermentado na forma de mandolates durante dez dias.

2.6 Aceitabilidade, detecção de coccídeos e efeito da ingestão de *Agaricus brasiliensis* em Passeriformes

O segundo experimento foi realizado para verificação da aceitabilidade do painço fermentado por aves silvestres, contagem de coccídeos e análise do efeito da ingestão oral do painço cultivado com o cogumelo. As aves utilizadas neste experimento pertenciam todas à ordem Passeriforme. As aves foram sorteadas e distribuídas nos grupos de acordo com o especificado na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos passeriformes silvestres utilizados nos experimentos de aceitabilidade do painço fermentado com *Agaricus brasiliensis* e de detecção de coccídeos

Grupo	Sigla	Nome científico	Nome popular
1 <i>Agaricus brasiliensis</i>	1A	<i>Saltator similis</i>	trinca ferro
	1B	<i>Sicalis flaveola</i>	canário verdadeiro
	1C	<i>Passerina brissonii</i>	azulão
	1D	<i>Sporophila caerulescens</i>	coleirinha
	1E	<i>Coryphospingus cucullatus</i>	tico tico rei
2 Controle	2A	<i>Saltator similis</i>	trinca ferro
	2B	<i>Coryphospingus cucullatus</i>	tico tico rei
	2C	<i>Carduelis spinus</i>	pintassilgo
	2D	<i>Carduelis spinus</i>	pintassilgo
	2E	<i>Passerina brissonii</i>	azulão

Os pássaros foram colocados individualmente em gaiolas e o experimento foi dividido em duas fases. Durante os primeiros cinco dias, denominado de período de adaptação, todas as aves receberam alimentação normal e foram monitorados quanto à presença de coccídeos nas fezes pelo método de Willis [4]. Em seguida iniciou-se o ensaio, com duração de vinte dias, onde o grupo Controle recebeu alimentação normal e o grupo tratamento denominado *A. brasiliensis* recebeu painço fermentado com micélio do cogumelo na forma

moída *at libitum*, além da dieta normal. A aceitabilidade foi observada durante toda duração do ensaio. A presença e contagem de coccídeos foram realizadas pelo Método de Willis nos primeiros dez dias, no 15º e 20º dias para fins de comparação e avaliação do efeito do cogumelo.

2.7 Análise estatística

As análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata. Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão (SD). O *Teste t* foi utilizado para comparação entre as médias e valores de $p \leq 0,05$ foram considerados como indicativos de significância.

3 Resultados

3.1 Trigo cultivado com *Agaricus brasiliensis*

As etapas para obtenção do trigo fermentado podem ser visualizadas na figura 1. O crescimento do micélio possibilitou um recobrimento total dos grãos de forma que, ao final dos vinte dias de cultivo, o material apresentava-se compacto em um único bloco, o que possibilitou o corte em forma retangular após a secagem. Ainda, o micélio desenvolveu-se muito bem sobre o substrato, recobrando-o em menos de três dias, o que indica que o trigo é um substrato viável e completo para produção do micélio de *A. brasiliensis*.



NOTA: 1) trigo in natura; 2) trigo umedecido durante doze h; 3) trigo cultivado por *A. brasiliensis*; 4) material cultivado após secagem

Figura 1. Etapas de preparo para obtenção de trigo fermentado com Agaricus brasiliensis

Além de carboidratos na forma de amido, nos grãos inteiros estão presentes fibras, camadas hialina-aleurona, minerais, vitaminas e outros nutrientes de valor biológico [9] que propiciam o bom desenvolvimento do micélio. Diversos estudos relatam a importância da relação C/N próxima a 30 para o bom desenvolvimento de cogumelos, assim como o grau de compactação e hidratação que influenciam diretamente na aeração do substrato [10,11]. Além disso, vários grãos têm sido utilizados para a produção de inoculante ou *spawn*, incluindo os grãos de trigo [12]. Os resultados das análises centesimais do trigo e do trigo cultivado com micélio do cogumelo estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Análise da composição centesimal de trigo in natura e trigo cultivado com micélio de *A. brasiliensis* (dados em base seca)

Componente	Trigo in natura (%)	Trigo cultivado com micélio (%)
Proteína bruta	15,38 ± 0.11 ^a	22,42 ± 0.27 ^b
Extrato etéreo	2,15 ± 0.88 ^a	2,75 ± 0.20 ^a
Matéria fibrosa	2,89 ± 0.08 ^a	4,05 ± 0.38 ^b
Material mineral	1,86 ± 0.03 ^a	2,74 ± 0.06 ^b

* Valores com letras diferentes, na mesma linha, diferem significativamente entre si para $p \leq 0,05$ de acordo Teste t de Student.

3.2 Teste de aceitabilidade

Os testes de aceitabilidade, monitorados com a câmera filmadora, possibilitaram observação do comportamento e alimentação das aves sem interferência ou estresse para os animais. Durante o primeiro dia, os psitacídeos não se interessaram pelos mandolates. No segundo e terceiro dias, as aves comeram pequena parte do alimento oferecido durante em média cinco minutos. Confirmada a aceitação do trigo fermentado pelas aves, passou-se para segunda fase do experimento. A quantidade de trigo fermentado ingerida pelas aves foi aumentando progressivamente ao longo dos dias, de forma que no sétimo dia

restavam 5 a 10% do alimento nas gaiolas. Diante desse resultado, optou-se em continuar com o ensaio por mais quinze dias. As aves deram preferência a este alimento em detrimento às frutas ou à ração que recebem habitualmente, ou seja, o trigo fermentado era sempre o primeiro alimento a ser consumido.

Neste primeiro experimento, optou-se em testar a aceitabilidade com dois papagaios, pois os psitacídeos são extremamente seletivos quanto ao paladar [3]. As aves se encontravam sob cuidados do SAAS, sendo provenientes de tráfico animal, apreendida pelo destacamento Força Verde da Polícia Militar do Paraná. Apesar de serem apenas duas aves testadas nesse experimento, o resultado foi considerado promissor, pois a ingestão voluntária do trigo cultivado por aves seletivas quanto ao paladar poderia ser indicativo de aceitação deste alimento por outras aves, sem necessidade de gavagem.

Quanto ao pombo, foi verificado que ele ingeriu todo o trigo fermentado desde o primeiro dia e durante todos os dias do experimento. Este resultado confirmou a excelente aceitabilidade do trigo fermentado, mesmo sabendo-se que columbiformes são aves de grande capacidade de adaptação e baixa exigência alimentar.

3.6 Aceitabilidade, detecção de coccídeos e efeito da ingestão de *Agaricus brasiliensis* em Passeriforme

Os passeriformes também eram provenientes de apreensão da Força Verde. A estadia dos animais silvestres no SAAS tende a ser curta, apenas o tempo necessário para cuidados e recuperação destes animais, para, em seguida, as aves serem liberadas em parques ecológicos. Normalmente, animais submetidos ao comércio ilegal, quando trazidos aos centros de recuperação, encontram-se feridos, doentes, com o sistema imunológico deprimido em função do grande estresse sofrido. Em ambiente natural, as aves têm coccídeos em baixo número; porém, aquelas provenientes de apreensão do tráfico animal, muitas vezes, apresentam aumento no número destes parasitas, podendo levar inclusive à morte [5].

A aceitabilidade dos grãos cultivados com cogumelo pelo grupo Tratamento foi considerada muito boa, com ingestão diária em grande quantidade pelas aves. Os resultados da presença de coccídeos nas aves silvestres ao longo do tempo estão relatados na tabela 3.

Tabela 3. Detecção de coccídeos em passeriformes silvestres, contagem durante período de adaptação e ensaio para verificar efeito da ingestão oral do cogumelo *Agaricus brasiliensis*.

Fase	Dia	Grupo 1					Grupo 2						
		1A	2A	3A	4A	5A	1B	2B	3B	4B	5B		
Adaptação	1	3	5	4	2	1	5	3	0	8	4		
	2	3	3	6	2	7	3	6	2	5	6		
	3	1	7	7	1	4	4	25	0	7	3		
	4	12	12	10	26	22	12	17	24	18	16		
	5	2	5	12	3	7	3	7	5	6	4		
Início	Agaricus brasiliensis					Média ± DV	Controle					Média ± DV	
Ensaio	1	1	4	4	1	7	3,4 ± 2,5 ^a	0	3	0	4	3	2,0 ± 1,9 ^a
	2	2	0	3	2	3	2,0 ± 1,2 ^a	3	4	1	4	5	3,4 ± 1,5 ^a
	3	4	3	3	1	5	3,2 ± 1,5 ^a	7	3	4	2	5	4,2 ± 1,9 ^a
	4	3	2	1	0	3	1,8 ± 1,3 ^a	4	3	0	3	2	2,4 ± 1,5 ^a
	5	3	1	1	1	2	1,6 ± 0,9 ^a	2	3	1	1	2	1,8 ± 0,8 ^a
	6	2	4	3	1	3	2,6 ± 1,1 ^a	2	3	0	2	6	2,6 ± 2,2 ^a
	7	2	5	1	6	5	3,8 ± 2,2 ^a	9	5	5	2	5	5,2 ± 2,5 ^a
	8	9	5	2	3	3	4,4 ± 2,8 ^a	1	1	3	14	0	3,8 ± 5,8 ^a
	9	4	4	2	3	2	3,0 ± 1,0 ^a	2	4	2	6	3	3,4 ± 1,7 ^a
	10	1	3	0	2	2	1,6 ± 1,1 ^a	12	7	3	4	10	7,2 ± 3,8 ^b
15	1	0	0	1	1	0,6 ± 0,5 ^a	2	1	1	2	2	1,6 ± 0,5 ^b	
20	4	3	1	4	3	3,0 ± 1,2 ^a	3	2	1	2	3	2,2 ± 0,8 ^a	

* Valores com *letras diferentes, na mesma linha*, diferem significativamente entre si para $p \leq 0,05$ de acordo Teste t de Student. Passeriformes do experimento: trinca ferro; canarinho verdadeiro, azulão; coleirinha; tico-tico rei; pintassilgo.)

Durante o período de adaptação, foi observado que as aves apresentavam baixo número de parasitas, com quatro coccídeos na média geral, com exceção do 4º dia, quando foi observado um discreto aumento para todas as aves. Isto pode ter ocorrido devido à redução brusca da temperatura que ocorreu naquele dia, chegando a 13°C durante a noite, o que pode ter ocasionado um estresse nas aves. Na manhã seguinte foi colocado um aquecedor na sala de permanência das aves e a temperatura voltou a ficar próxima a 22°C. A presença de coccídeos em aves silvestres também foi relatada por outros pesquisadores, que detectaram número de coccídeos semelhantes aos aqui relatados em aves da ordem Passeriforme [5].

A presença do cogumelo promoveu pequena redução no número de coccídeos com diferença significativa ($p \leq 0,05$) no 10º e 15º dias. É importante salientar que foram utilizadas todas as aves presentes no SAAS/UNICENTRO, na época do experimento. Os resultados indicam que, apesar do reduzido número de aves, é possível que a ingestão de grãos cultivados com micélio do cogumelo do sol apresente ação antiparasitária.

Além disso, novos experimentos com outras dosagens e verificação de outros possíveis efeitos biológicos, ou de maior duração, não foram possíveis de serem executados com esse grupo de aves, pois, logo após o término do experimento, estas foram levadas para reintegração à vida livre.

Os resultados obtidos nesse experimento podem estar relacionados com a capacidade imunoestimulante do trigo fermentado já evidenciado em experimentos com camundongos [1]. Em função disso, novos experimentos estão sendo realizados por esse grupo de pesquisa com aves de criação e inoculação de coccídeos para verificar uma efetiva atividade antiparasitária do cogumelo.

4 Conclusão

Os grãos de trigo cultivados com micélio de *A. brasiliensis* foram ofertados na forma de mandolates aos psitacíformes (papagaios) e columbíformes (pombo doméstico) e painço fermentado na forma moída para passeríformes e resultaram em excelente aceitabilidade e ingestão, assim como preferência frente a outros alimentos habituais como frutas ou ração.

A presença de coccídeos foi detectada nas dez aves silvestres passeríforme, com quatro oocistos em média por ave. Um aumento dos parasitas foi detectado em função da redução de temperatura no ambiente, possivelmente relacionado ao estresse que as aves sofreram. A ingestão de grãos fermentados com o cogumelo *A. brasiliensis* durante vinte dias pelas aves promoveu um possível efeito antiparasitário com redução no número de coccídeos nestas aves. Novos experimentos estão sendo realizados com um número maior de aves e com inoculação de coccídeos para verificar o potencial antiparasitário do cogumelo.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem ao prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol por gentilmente doar a cepa do cogumelo *A. brasiliensis*, e à UNICENTRO pela estrutura disponível.

6 Referências

- [1] DALLA SANTA, H. S. Efeitos no metabolismo e ação imunomoduladora em camundongos do micélio de *Agaricus brasiliensis* produzido por cultivo no estado sólido. Tese de doutorado em Processos Biotecnológicos, UFPR: Saúde Humana e Animal, 2006.
- [2] DALLA SANTA, H. S. et al. Seleção de cepas e estudos de diferentes parâmetros na produção de biomassa e extração de exa e intra polissacarídeos de *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei*, *A. subrufescens*). In: *Anais do IX ERSCTA – IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Curitiba, (2007) CDROM.
- [3] GUIMARÃES, M. B. Passeriformes (pássaro, canário, saíra, gralha). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. *Tratado de animais selvagens*. São Paulo: Roca, 2006. p. 324-337.
- [4] HOFFMANN, R. P. *Diagnóstico de parasitismo veterinária*. Porto Alegre: Sulina, 1987.
- [5] MARIETTO-GONÇALVES, G. A. et al. Prevalência de endoparasitas em amostras fecais de aves silvestres e exóticas examinadas no laboratório de ornitopatologia e no laboratório de enfermidades Parasitárias da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP. *Ciência Animal Brasileira* v. 10, p. 349-354, 2009.
- [6] DALLA SANTA, H. S. et al. Kidney function indices in mice after long intake of *Agaricus brasiliensis* mycelia (= *Agaricus blazei*, *Agaricus subrufescens*) produced by solid state cultivation. *OnLine J Biol Sci* v. 9, p. 21-28, 2009.
- [7] FONSECA, G. G. et al. Protein enrichment and digestibility of soft rush (*Juncus effusus*) and rice residues using edible mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *World J Microbiol Biotechnol* v. 25, p. 449-456, 2009.
- [8] A. O. A. C. *Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis*. 7. ed. Washington, 2000.

[9] DI LENA, G.; PATRONI, E.; QUAGLIA, G. B. Improving the nutritional value of wheat bran by a white rot fungus. *Int J Food Sci Technol* v. 32, p. 513-519, 1997.

[10] BREYER, C. A.; PAZ, M. F.; GIOVANN, R. N. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em Bagaço de Maçã pela Técnica Jun-Cao. In: SIMPOSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS SINAFERM, 16., 2007, Curitiba. *Anais...* Curitiba: , 2007, CDROM.

[11] MANTOVANI, T. R. A. *Criopreservação de fungos lignocelulósicos e otimização de substratos a partir de resíduos agroindustriais*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia aplicada a Agricultura). Universidade Paranaense, 2008, Umuarama.

[12] BERNARDI, E. et al. Use of different substrate for inoculum production of *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. *Rev Ciênc Agron* v. 38, p. 84-89, 2007.