

MEMÓRIA DESCRITIVA

DA

PATENTE DE INVENÇÃO

Nº 94.547 E

NOME: MAUI SHIITAKE TRADING COMPANY, INC.,
Havaiana, industrial, com sede em 295 Hiwalani
Loop, Pukalani, Maui, 96768, Estados Unidos da
América.

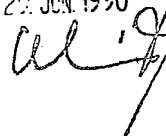
EPIGRAFE: "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE UM SUBSTRATO
PARA A CULTURA DE FUNGOS INCLUINDO O "SHIITAKE"
(LENTINUS EDODES)"

INVENTORES: Bryan Tokuichi Hiromoto

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo
4º da Convenção da União de Paris de 20 de Março de 1883.

1989/06/29; US; Nº 07/374270

22 JUN 1990

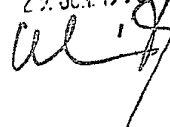


- R E S U M O -

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE UM SUBSTRATO PARA A CULTURA DE FUNGOS INCLUINDO O "SHIITAKE" (LENTINUS EDODES) "

Descreve-se um processo para a preparação de um substrato para a cultura de fungos que é essencialmente inserido de celulose, constituído por uma porção principal de grãos e porções complementares de suplementos nutritivos. O grão é parcialmente esterilizado por meio de fervura a fim de matar as bactérias, arrefecido a fim de provocar a germinação dos esporos resistentes ao calor e esterilizado a vapor antes dos esporos germinados terem amadurecido suficientemente para criarem novos esporos. O substrato pode ser utilizado para desenvolver fungos, incluindo cogumelos, especialmente "shiitake".

29 JUN 1990



1 O presente invento refere-se ao cultivo de cogumelos e outros fungos, especialmente o shiitake (*Lentinus Edodes*).

5 Desde à muito que se têm procurado um processo para cultivo rápido e eficiente de fungos, especialmente do Shiitake, devido à sua grande procura e oferta relativamente escassa.

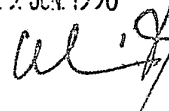
10 Geralmente, o Shiitake e outros cogumelos são cultivados em troncos ou em substratos à base de celulose. Entre os processos que utilizam um substrato com base na celulose, encontram-se os descritos nas Patente nº 4.127.965 atribuída a Mee e Patente nº 4.637.163 atribuída a Pellinen. Mee descreve igualmente a utilização de um substrato à base
15 de celulose num contentor flexível impermeável aos micro-organismos que é depois selado e esterilizado. Não obstante, conforme está descrito na Patente nº 4.674.228 atribuída a Murata, a remoção do micélio de tais contentores, causa muitas vezes danos que reduzem a produtividade. Outros processos foram também tentados. Por exemplo, a Patente nº
20 4.735.014 atribuída a Weber descreve a utilização de talos de canhamo e a Patente nº 4.741.122 atribuída a Betsy descreve a utilização de desperdícios agrícolas.

25 Existem muitos inconvenientes nos vários processos para o cultivo do Shiitake actualmente em uso. O cultivo do Shiitake sobre toros, à maneira tradicional, é lento e ineficaz. O cultivo do Shiitake em recipientes flexíveis impermeáveis a micro-organismos (geralmente conhecidos como "space bags") oferece vantagens sobre os processos tradicionais,
30 mas ainda não proporciona um ritmo de produção satisfatório.

Assim, constitui um objecto do presente invento proporcionar um processo aperfeiçoado para cultivo de fungos, especialmente o Shiitake.

35 Constitui um outro objecto deste invento, propor

22 JUN 1990



1 cionar um meio de cultura aperfeiçoado para a cultura de fun-
gos, incluindo o Shiitake.

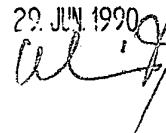
5 Constituí um outro objecto do presente invento
proporcionar um processo mais eficaz e mais rápido para se
criarem fungos, incluindo o Shiitake.

10 O presente invento é constituído por um novo sub-
trato para o crescimento de fungos, especialmente do Shiita-
ke, criado por meio da utilização de um novo processo de es-
terilização do substrato para permitir o cultivo dos fungos
desejados, sem contaminação de organismos concorrentes.

15 O novo substrato é constituído por grãos essen-
cialmente sem celulose e que foram esterilizados de acordo
com o processo aqui descrito. Conforme se indica acima, a
técnica anterior de criação de cogumelos e outros fungos,
exige o crescimento dos mesmos sobre troncos ou toros de ma-
deira, serradura ou outras substâncias que contenham uma por-
ção importante de celulose. No entanto, a celulose não é ne-
cessária para o cultivo do Shiitake. Os cogumelos Shiitake
20 têm a capacidade de decompor a celulose para alcançarem os
nutrientes essenciais, mas podem ser criados mais eficazmen-
te num substrato que contenha esses materiais numa forma já
utilizável. Similarmente, o Shiitake pode decompor a linhina,
que é um constituinte da madeira, mas uma vez mais pode ser
25 cultivado com maior eficiência se lhe forem fornecidos os pro-
dutos já decompostos em vez da linhina.

30 As referências da técnica anterior descreveram-
-nos a utilização de grãos como suplementos nutritivos num
substrato à base de celulose. Vêr, por exemplo, Han e al.
Physiology and Ecology of Lentinus Edodes (Berk) sing,
Mushroom Science XI, Proceedings of the Eleventh Internatio-
nal Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi
(1981). No entanto, o substrato do presente invento é essen-
cialmente isento de celulose e é o próprio grão que consti-
35 tui o substrato.

22 JUN 1990

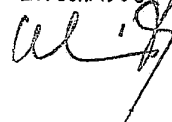


1 O substrato de grãos tem de ser esterilizado pa-
ra o cultivo dos fungos, incluindo o Shiitake. O grão não es-
terilizado contém várias bactérias e micro-organismos que
competem com os cogumelos e outros fungos e portanto redu-
zem a eficácia da produção. Além disso, as técnicas de este-
rilização a quente convencionais, tais como a esterilização
a vapor, são insuficientes para esterilizar o grão contra to-
dos os micro-organismos concorrentes. Consequentemente, o
grão convencionalmente esterilizado é inadequado como subs-
trato. De facto, uma referência da técnica anterior descre-
ve que, tendo em vista a bem estabelecida utilização de tron-
cos de árvores e a quantidade de energia necessária para es-
terilizar um substrato, "é improvável a utilização generali-
zada em larga escala de qualquer substrato esterilizado para
produzir cogumelos Shiitake". San Antonio, "Cultivation of
the Shiitake Mushroom", Hortscience, Vol. 16(2), Abril
1981.

O principal problema existente com a esteriliza-
ção a quente convencional de substratos de grão é que deter-
minadas bactérias, principalmente do género Bacillus, formam
esporos resistentes ao calor que sobreviverão a tal esterili-
zação, muito embora as próprias bactérias tenham sido mor-
tas. Consequentemente, muito embora um substrato de grãos
possa ser esterilizado convencionalmente por meio de calor,
continuará a conter esporos de bactérias Bacillus que conta-
minarão o substrato e o tornarão inadequado para a produção
de fungos, incluindo o Shiitake. O presente invento resolve
o problema da contaminação bacteriana do grão, uma vez que é
proporcionado um substrato estéril apropriado.

No invento, o substrato é fervido para se mata-
rem as bactérias que estejam presentes. O substrato é depois
arrefecido para obrigar a germinar quaisquer esporos resis-
tentes ao calor. O substrato é depois esterilizado a vapor
após essa germinação, mas antes que as bactérias se tenham

29 JUN 1990



1 desenvolvido suficientemente para formarem esporos resistentes ao calor.

5 Evidentemente, também podem utilizar-se processos de esterilização sem aquecimento, tais como irradiação. No entanto, a irradiação do substrato exigirá uma regulamentação governamental maior e pode afectar a comercialização dos cogumelos resultantes.

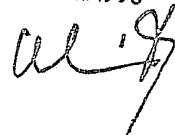
10 O substrato do invento proporciona, portanto, um meio mais eficiente para a cultura de cogumelos, incluindo o Shiitake, porque os nutrientes requeridos pelos cogumelos são fornecidos directamente, em vez de serem fornecidos sob a forma de celulose ou de linhina, que têm de ser decompostas enzimaticamente pelo cogumelo. O invento proporciona
15 igualmente um processo mais eficaz para se cultivarem cogumelos, porque os micro-organismos concorrentes, incluindo as bactérias, são eliminados da substância.

20 Uma vantagem do invento é o encurtamento dos tempos de incubação para o Shiitake. O invento encurta o tempo de incubação para a formação do micélio para 21 dias, em contraste com o cultivo em troncos, que necessita de 8 meses a 1 ano para a incubação e os substratos baseados na serradura, que necessitam de aproximadamente 80 dias para a incubação.

25 Uma outra vantagem do invento é o aumento do rendimento por quilo de substrato. 45,3 Kg (cerca de 100 libras) de substrato rendem aproximadamente 134 kg (cerca de 300 libras) de Shiitake dentro de 5 meses. Em comparação, 45,3 kg (100 libras) de troncos rendem aproximadamente 4,53
30 a 6,79 kg de Shiitake ao longo de mais de 3 anos, e 45,3 kg (100 libras) de substrato à base de serradura rendem aproximadamente 36,24 Kg (80 libras) de Shiitake ao longo de 8 meses.

35 Uma outra vantagem do invento é não ser necessário nenhum material de criação especial. O mesmo material

29 JUN 1990



1 de criação especial. O mesmo material que se usa para a fru-
tificação pode ser usado como material de criação, para se
começarem novas unidades de produção, de modo que a produção
5 possa ser imediatamente aumentada em vez de se estar à espe-
ra que cresça um novo rebento. De forma semelhante, não se
perde nenhum rebento se a produção fôr diminuída.

Ainda uma outra vantagem do invento é que as uni-
dades de produção podem ser mantidas em incubação para além
do período de 21 dias, durante até 6 meses se, por exemplo,
10 as condições do mercado forem desfavoráveis. Isto permite
igualmente o armazenamento de unidades colonizadas para gran-
des saídas de produção sazonais.

Na prática do invento, vários suplementos nutri-
tivos (incluindo proteínas, açúcares, amidos e vitaminas)
15 são fervidos em água até se dispersarem por toda a mistura.
O grão para o substrato é depois adicionado e fervido duran-
te aproximadamente uma hora a fim de matar as bactérias pre-
sentes e provocar a absorção dos suplementos nutritivos dis-
persos no grão. Deixa-se depois que o grão arrefeça para se
20 provocar a germinação de quaisquer esporos resistentes ao ca-
lor. Enquanto o grão vai arrefecendo é misturado com pós me-
lhoradores da permeabilidade, para evitar a formação de pas-
tas e é compactado para dentro de contentores esterilizados
impermeáveis a micro-organismos, tais como sacos de polipro-
25 pileno. Os sacos são então esterilizados a vapor, de acordo
com a prática convencional, antes que as bactérias germina-
das tenham tido tempo para amadurecer suficientemente para
formarem esporos.

Depois da esterilização dos sacos, a colonização
dos mesmos é executada por meio da introdução, seja de ger-
mes puros dos fungos desejados, seja de grão previamente col-
nizado. Os sacos são então sacudidos para se misturarem os
germes ou o grão previamente colonizado, a fim de se diminuir
30 o tempo de incubação. Os sacos são então incubados durante
35

22 JUN 1990



1 aproximadamente três semanas a aproximadamente 26,6° C (80
graus Fahrenheit). Durante este período, o germe digerirá a
maior parte, se não todo, do substrato para formar um micé-
lio.

5 O micélio pode então ser levado a frutificar, su-
jeitando-se os sacos a um choque frio de 4-18,3° C (40 a 65
graus Fahrenheit) durante 5 a 15 dias, sob iluminação branca
fluorescente fria. Após o choque de frio, cumpre-se a fruti-
10 ficação até à maturação por meio da remoção do micélio dos
contentores e sua exposição a uma pulverização intermitente
com água gelada, ou colocando de qualquer outra forma o micé-
lio num ambiente de elevada humidade.

15 Alternativamente, a frutificação pode ser provo-
cada utilizando-se apenas pulverização de água fria sob con-
dições de iluminação.

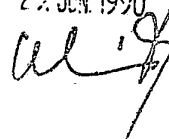
A Figura 1 é um diagrama de fluxo de um processo
preferido de preparação do substrato do presente invento.

20 A Figura 1 dos desenhos apresenta de uma forma
geral, um processo preferido de preparação do substrato do
invento.

25 Os ingredientes presentes no substrato são, de
preferência, escolhidos para proporcionarem uma nutrição óp-
tima para os fungos, sem necessidade de suplementos artifi-
ciais adicionais. Esta utilização de materiais naturais tor-
na, por isso, mais fácil a venda e a comercialização dos fun-
gos cultivados, porque lhes são aplicadas menos exigências
regulamentares. Os ingredientes preferidos, as suas variações
30 e as quantidades óptimas, são apresentados abaixo para a pre-
paração de porções do substrato.

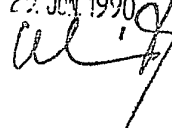
35

22 JUN 1990



35	30	25	20	15	10	5	1
Ingrediente	Variação						Quantidade Optima
Grão sorgo integral			67,9 kg-135,9 kg (150-300 lbs)			200	
Grão aveia integral			0,453-22,6 kg (0-50 lbs)			35	
Batatas Russet			2,26-9,06 kg (5-20 lbs)			10	
Grão cevada moído			0,22-6,79 kg (0,5-15 lbs)			5	
Rebentos de bordo			(0,453-6,79 kg (0-15 lbs)			5	
Levedura de cerveja			0,906-15,85 kg (2-35 lbs)			6	
Semente girassol com casca			0,453-4,531 g (0-10 lbs)			2	
Farinha de soja			0,453-1,132 kg (0-2,5 lbs)			1,5	
Alho integral			0,22-1,812 kg (0,5-4 lbs)			1,5	
Óleo de girassol			0-20 colheres de sopa			10	
Óleo de germe de trigo			0-20 colheres de sopa			10	
Melaço			0-20 colheres de sopa			6	
Água			20-35 galões			25	
Leite			0-1 galão			0,25	

22 JUN 1990



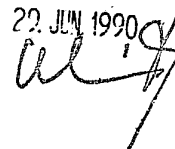
Os ingredientes de revestimento preferidos, as suas variações e o óptimo para cada duas porções do substrato acima referido são indicados abaixo:

Calcário em pó	11,32-33,97kg (25-75 lbs)	50
Gesso em pó	45,3-90,6 kg (100-200 lbs)	160
Farinha de semente de algodão	0,453-27,18 kg (0-60 lbs)	40

Os rebentos de bordo são, de preferência, deixados germinar durante 6 a 12 dias sob um sistema de pulverização. Podem igualmente ser utilizados rebentos de feijões existentes no mercado, mas com os rebentos de bordo dispõe-se de mais raízes e de maiores cotilédones.

O sorgo proporciona vitaminas, hidratos de carbono, amidos, proteínas e minerais tais como cobre, ferro, manganês, zinco e selénio. A aveia proporciona vitaminas, minerais, hidratos de carbono, amidos, proteínas e ácido salicílico. O ácido salicílico promove a frutificação do Shiitake. O grão de cevada moído proporciona vitaminas e hidratos de carbono e absorve o excesso de água. A farinha de soja proporciona uma fonte de minerais, proteínas e vitaminas. A levedura de cerveja proporciona elevadas quantidades de vitaminas, especialmente vitaminas B que promovem o crescimento do micélio. As sementes e o óleo de girassol proporcionam vitaminas, minerais, proteínas e óleos saturados e insaturados. O óleo de semente de girassol e a respectiva semente promovem igualmente um crescimento micelial secundário mais abundante.

Os rebentos de bordo promovem uma quantidade mais abundante de frutificações. Isso permite algum controlo sobre o tamanho dos cogumelos. Mais rebentos permitem que se formem mais cogumelos mas os cogumelos são mais pequenos. Menos rebentos deixam que se formem menos cogumelos mas estes

22 JUN 1990


1 são de maior tamanho. Sem se adicionarem rebentos, podem formar-se cogumelos com pesos individuais de entre 0,339 kg a 0,679 kg (3/4 de lb a 1-1/2 lbs) no substrato.

5 O alho proporciona uma acção antibacterica natural, a fim de resistir ao crescimento bacterico posterior à fervura e esterilização do substrato. Os melaços proporcionam açúcares e o óleo de germe de trigo proporciona óleos saturados e insaturados, bem como vitamina D. A farinha de glúten de milho proporciona vitaminas, minerais, proteínas e selénio. As batatas fornecem amido. O leite proporciona a caseína e o queijo pode substituir o leite.

10 Os ingredientes de revestimento desempenham funções adicionais, além de aumentarem a permeabilidade do substrato. O calcário em pó ajusta o pH do substrato para neutro (aproximadamente 7 a 8). O gesso em pó proporciona também uma manutenção ao pH a longo prazo e torna o substrato de grão solto e pulverulento. A farinha de semente de algodão proporciona proteínas e óleo.

15 Deverá notar-se que a técnica anterior descreve que, sob certas condições, o cálcio inibe a frutificação do micélio. Não obstante, o substrato do presente invento contém quantidades substanciais de cálcio do calcário e do gesso em pó.

25 O tamanho e número dos cogumelos pode ser controlado antes da colonização pela quantidade de substrato que é compactada nos sacos, com sacos maiores que contêm mais substrato a produzirem mais e maiores cogumelos. Por exemplo, sacos de oito libras ($\pm$ 3,5 kg) produzirão 1,4 a 1,7 kg (3/4 libras) de cogumelos durante aproximadamente 6 meses.

30 O tamanho e o número dos cogumelos podem igualmente ser controlados após a colonização, deixando-se as unidades colonizadas individuais entrarem em contacto umas com as outras. As unidades individuais formarão uma grande unidade

22 JUN 1990
al

1 de contínua, que formará cogumelos maiores e mais numerosos do que a unidade individual.

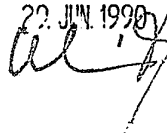
5 As unidades completamente colonizadas podem ser colocadas em estantes ou atadas em rolos para se maximizar a produção por área de unidade.

O exemplo que se segue ilustra a utilização deste invento utilizando as quantidades ótimas acima indicadas

10 EXEMPLO

15 A água é fervida numa caldeira a vapor de 190 litros (60 galões) com uma torneira de fundo. As batatas são cortadas e depois adicionadas à água a ferver, juntamente com o leite, alho, farinha de gluten de milho, óleo de germe de trigo, óleo de girassol, melãos, semente de girassol com casca, levedura de cerveja e farinha de soja. A mistura é depois fervida até todos os componentes se decomporem em pedaços pequenos. A mistura é, de preferência, agitada com um
20 misturador de tintas portátil, para ajudar a quebrar as agregações em pedaços pequenos. Adicionam-se depois os rebentos de bordo à mistura a ferver, que é agitada com uma pá grande até os rebentos estarem moles. Os grãos de aveia, cevada e sorgo são então adicionados, juntamente com água apenas
25 suficiente para cobrir os grãos. A mistura é depois fervida e agitada até o nível da água cair abaixo do nível do grão cerca de 7,5 a 10 cm (3 a 4 polegadas) e a fonte de calor é desligada. Passada aproximadamente uma hora, todo o líquido remanescente é extraído do fundo do vaso. Neste ponto o grão
30 deverá estar semicozido e semi-duro. Deixa-se depois o grão arrefecer durante aproximadamente 24 horas, altura em que é removido do recipiente.

35 Duas porções de grão são então colocadas numa lata grande chata e os calcário em pó, gesso em pó e farinha de sementes de algodão são misturados com o grão até que to-

22 JUN 1998


do o grão esteja revestido de pó. O grão deverá aparecer revestido e não deverá estar colado em coágulos. Duas porções renderão aproximadamente 544 kg (1.200 libras) de substrato preparado.

O substrato preparado é então embalado em sacos duplos de plástico polipropileno (1,5 mil.). Cada uma dessas unidades de saco duplo tem uma gola de polipropileno, uma válvula de algodão e uma folha de alumínio sobre a válvula. Os sacos de 4 porções de grão (aproximadamente 1.087 kg 2.400 libras) são então carregados numa retorta a vapor (cerca de 1,60 metros de diâmetro e 4,20 metros de comprimento) e esterilizados a vapor a 121° C (250° F), com uma pressão de vapor de 10546,08 kg/m² (15 libras por polegada quadrada) durante 7 horas. Cada carga é depois arrefecida durante 24 horas antes da sementeira.

Depois dos sacos de substrato terem sido esterilizados, são, de preferência, semeados em condições estéreis sob coberturas com um fluxo de ar laminar. A sementeira é efectuada por meio da introdução de germes puros ou, de preferência, grão colonizado oriundo de processos de produção anteriores. Aproximadamente 5 a 10 colheres de sopa de grão colonizado são adicionadas a cada saco de cerca de 900 grs (2 libras). Cada um dos sacos é então agitado para misturar o grão colonizado por toda a nova unidade. Esta mistura completa do grão anteriormente colonizado com o substrato, reduz consideravelmente o tempo normal de incubação. Assim, um saco de 0,906 kg (2 libras) estará geralmente totalmente colonizado passadas aproximadamente 3 semanas de incubação a 26,6° C (80° F). Geralmente 15 novas unidades de 0,906 kg (2 libras) podem ser iniciadas a partir de cada unidade de 0,906 kg (2 libras) colonizada. O tamanho preferido do saco é de cerca de 3,6 kg (8 libras) devido ao número desproporcionadamente maior de rebentos por saco de 3,6 kg (8 libras) quando se compara com os sacos de 0,906-1,812 kg (2 e 4 li-

22 JUN 1990



1 bras.

5 Passadas aproximadamente 3 semanas, o substrato de grão estará maioritariamente ou totalmente digerido, deixando apenas micélio no saco. O saco pode ser mantido na fase micelial durante aproximadamente 3 a 4 meses, para remessa e armazenamento. Quando for desejada a produção de cogumelos, os sacos que contêm o micélio são sujeitos a um choque de frio, por meio de arrefecimento a ($4,44-18,33^{\circ}\text{C}$) (40 a 65°F) durante 5 a 15 dias sob luz fluorescente branca fria de 25 a 100 lux. O choque frio preferido é a uma temperatura de $7,22^{\circ}\text{C}$ (45°F) durante 7 a 9 dias, embora um banho de água fria durante 24 a 48 horas também possa ser utilizado.

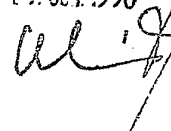
15 Os sacos podem ser embarcados num contentor refrigerado durante esta fase de choque a frio.

20 Como alternativa ao processo de choque frio para provocar a frutificação, o micélio pode ser removido dos sacos e exposto a uma pulverização fina intermitente de água fria. Prefere-se que a pulverização tenha lugar durante as horas de luz diurna e também durante um período de 2 horas durante a noite. A água utilizada para pulverizar é arrefecida até 10°C a $23,88^{\circ}\text{C}$ (50 a 75°F) e a pulverização ocorre durante 2 a 120 segundos, a intervalos de 2 a 10 minutos, durante 6 a 15 horas, durante o período de dia. Aproximadamente 10 a 20 dias depois do micélio ser exposto à pulverização, os cogumelos Shiitake podem ser colhidos. As sementeiras subsequentes dos sacos podem ter lugar com 20 a 30 dias de intervalo. A humidade relativa no ambiente da pulverização tem de ser de pelo menos 80%.

30 Como alternativa para a pulverização intermitente com a água gelada, o micélio pode ser removido dos sacos e deixado frutificar por meio de métodos já conhecidos.

35 Depois do substrato ter sido gasto, pode ser

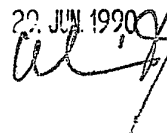
22 JUL 1990



1 utilizado para outros fins, tais como composto para alimentação animal, composto de cogumelos ou alimentação para insectos.

5 Depois da formação de micélio, mas antes da frutificação, o micélio pode também ser utilizado como alimento para animais ou para seres humanos. Elementos bioquímicos úteis pode igualmente ser extraídos do micélio.

10 Embora o invento acima tenha sido descrito com algum pormenor, a título de ilustração e exemplo para fins de clareza e compreensão, torna-se evidente que algumas modificações ou alterações podem ser praticadas dentro do âmbito do invento, conforme se descreve nas reivindicações. Por exemplo e sem intuitos limitativos, o substrato aqui descrito
15 é adequado para se criarem muitas espécies de cogumelos, inclusivé os listados na Lista de Cogumelos 1, que aqui se junta e se incorpora como referência. Muitos desses fungos são úteis devido às suas propriedades bioquímicas e outras. Assim, o substrato pode ser usado para se criarem o bolor
20 da penicilina, os bolores das algas, leveduras e cogumelos medicinais. Consequentemente, não deve incerir-se qualquer limitação escepto as apresentadas pelas reivindicações.

22 JUN 1990


1

LISTA DE COGUMELOS 1

5

Nome CientíficoNome Vulgar

Agaricus arvensis

Cogumelo cavalo

Agaricus augustus

O principe

Agaricus bernardii

10

Agaricus bisporus

Agaricus bitorquis

Agaricus campestris

Cogumelo vulgar dos
campos

15

Zgaricus excellans

Agaricus langei

Agaricus macrosporus

Agaricus silvaticus

20

Agaricus silvicola

Cogumelo do bosque

Agaricus vaporarius

Agrocybe aegerita

Cinturão castanho

25

Armillaria Caligata

Armillaria ponderosa

Armillariella mellea

30

Armillariella tabescens

Auricularia polytricha

Orelha do bosque

Auricularia auricula

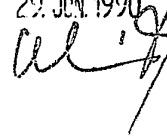
Orelha do bosque

35

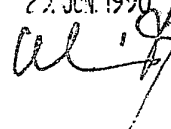
Calvatis craniiformis

Juba de lobo

62.445

22 JUN 1990


1	Calvatia gigantes	
	Clitocybe geotropa	
5	Coorinus comatus	Chapeu preto peludo
	Dictyphoza duplicata	Corno com picos
	Flammulina velutipes	Enoky
10	Galerina mutabilis	----
	Ganoderma lucidum	Reishi
	Grifola Frondosa	Galinha do bosque
	Grifola umbellata	Zhu Ling
15	Hericium coralloides	Pom Pom
	Hericium erinaceus	---
	Laetiporus sulphureus	Sulfur Polypore (poliporo enxofre)
20	Lentinus edodes	Shiitake
	Lepiota naucina	Lepiata liso
	Lepiota prucera	Cogumelo Guarda Sol
25	Lepiota rachodes	Lapiota escarnoso
	Lecista nuda	Blevite dos bosques
	Leucopaxillus giganteus	---
30	Lycoperdon gemmatus	Bafo de lobo joia
	Lycoperdon pyriforme	Bafo de lbo em forma de pera
35	Lyophyllum cecastes	Honshimeji



1	Lyophyllum ulmarium	
	Macrolepiota procera	Guarda Sol
5	Marasmius oreades	Anel das fadas
	Morchella augusticeos	Erva Moura Negra
	Morchella deliciosa	
	Morchella esculenta	Erva Moura Branca
10	Morchella conica	Erva Moura cônica
	Morchella crassipes	Erva Moura de pé grosso
	Morchella elata	
	Morchella semilibera	
15	Morchella vulgaris	Erva Moura vulgar
	Panellus serotinus	
	Panus sp.	
20	Pholiota adiposa	Foliota gordo
	Pholiota nameko	Nameko
	Pleurotus columbinus	Ostra Azul
25	Pleurotus cornucopiae	Canário
	Pleurotus cystidiosus	Abalone
	Pleurotus eryngii	---
	Pleurotus flabellatus	Ostra Rosa
30	Pleurotus florida	Ostra da Florida
	Pleurotus ostreatus	Ostra
	Pleurotus sajor-caju	Foenix
	Pleurotus salmoneus stramineus	---
35	Sparassia crispa	Couve-flor

62.445

22 JUN 1990

al'g

1	<i>Stropharia rugosoannulata</i>	Estrofaria Vermelho Vinho
5	<i>Tremella fusciformis</i>	Geleia Branca
	<i>Tricholomopsis rutilans</i>	
	<i>Volvariella bakerii</i>	---
	<i>Volvariella Bombycina</i>	---
10	<i>Volvariella volvaces</i>	Falta de almofada

Mod. 71-10000 ex. 89/07

15

20

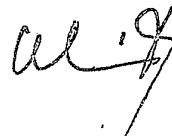
25

30

35

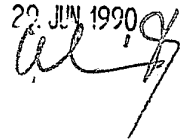
22 JUN 1990
LISTA DE FUNGOS 2Lista de géneros de fungos que podem desenvolver-se no
substrato

	Abortiporus	Amylostereum
	Absidis	Anomoporia
10	Achlya	Antrodia
	Acremonium	Apiotrichum
	Acrophialophora	Arachnomycetes
15	Acrospeira	Armillariella
	Actinomucor	Arthrini
	Agaricus	Arthrobotrys
	Agrocybe	Arthrographis
20	Aleurodiscus	Ascotricha
	Allescheria	Ashbya
	Alternaria	Aspergillus
	Alysidium	Athelia
25	Amanita	Aureobasidium
	Amauroascus	Auricularia
	Amylomyces	
30	Backusella	Boletus
	Beauveria	Bondarzewis
	Bispora	Botryodiplodia
	Bjerkandera	Botryotrichum
35	Blakeslea	Botrytis



1	Blastomyces	Byssochlamys
	Cadophora	Coccospora
5	Calbovista	Cochliobolus
	Calcarisporium	Colletotrichum
	Caldariomyces	Collybia
	Calocera	Conidiobolus
10	Calonectria	Coniella
	Calvatia	Coniophora
	Camarops	Coniothyrium
	Candida	Canoplea
15	Cantharellus	Coprinus
	Celphalosporium	Corcyceps
	Cephaliophora	Coridus
20	Cephaloascus	Coriolus
	Ceratocystis	Corticium
	Cercospora	Cortinarius
	Cerinomyces	Coryne
25	Ceriosporopsis	Corynespora
	Cerrena	Coryneum
	Chaetomella	Craterellus
	Chaetomium	Craterellus
30	Chalara	Crebothecium
	Chalaropsis	Cryphonectria
	Choanephora	Cryptococcus
	Chondrostereum	Cryptoporus
35	Chroogomphus	Cryptosporiopsis

22 JUL 1990

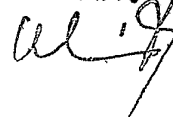


1	Circinella	Curvularia
	Cladosportium	Custingophora
	Clavariadelphus	Cyanthus
5	Claviceps	Cylindrocarpon
	Clavicornia	Cylindrocephalum
	Clavispora	Cylindrocladium
10	Clavulina	Cystostereum
	Clitocybe	Cytospora
	Clitopilus	Cytospora
15	Dacrymyces	Dictyostelium
	Dacryopinax	Diheterospora
	Dactylimum	Diplocarpon
	Daedalea	Diplodia
20	Debaryomyces	Discina
	Dekkera	Discula
	Dendryphion	Ditiola
	Dentinum	Doratomyces
25	Dermaloma	Dothistroma
	Dichomitus	Drechslera
	Echinodontium	Epicoccum
30	Elsinoe	Eupenicillium
	Emericella	Eutypa
	Emericellopsis	Exophiala
35	Entoloma	

22 JUN 1990

al. 8

1	/Favolus	Flammulina
	Femsjonia	Fomes
	Filobasidium	Fomitopsis
5	Fistulina	Fusarium
	Flammula	Fuscoboletinus
	Ganoderma	Gnomonia
10	Geotricum	Gomphidium
	Gerlachia	Gomphus
	Gibberella	Grandinia
	Gilmaniella	Graphium
15	Gliocladium	Grifola
	Gliomastrix	Guepiniopsis
	Gloeophyllum	Gymnopilus
	Gelooporus	Gyrodon
20	Gloeosporium	Gyromitra
	Glomerella	Gyroporus
	Hanseniaspora	Humicola
25	Hansenula	Humicolopsis
	Haploporous	Hyalodendron
	Helicostylum	Hydnum
	Helminthosporium	Hygrophoropsis
30	Hervella	Hygrophorus
	Hendersonuma	Hymenochaete
	Heridium	Hyphopichia
35	Heterobasidion	Hypomyces
	Hirschioporus	Hypomyces



1	Hormodendrum	Hypoxylon
	Incrustoporia	Irpex
5	Inocybe	Isaris
	Inonotus	Ishnoderma
	Kloeckera	Kluyveromyces
10	Laccaria	Lenzites
	Lactarius	Leptosphaerulina
	Laetisaria	Leucopaxillus
	Laurilia	Libertella
15	Leccinum	Linderina
	Lentinellus	Lipomyces
	Lentinula	Lycoperdon
	Lentinus	Pyophyllum
20	Lentodium	
	Macrophomina	Monascus
	Mammaria	Monilinia
25	Marasmiellus	Monochaetia
	Marasmius	Monodictus
	Melanconium	Monosporium
30	Melanoleuca	Mortierella
	Memnoniella	Mucor
	Meruliopsis	Myceliophythora
	Merulius	Mycene
35	Merulius	Mycocentrospora

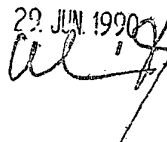
62.445

22 JUN 1990

al. 9

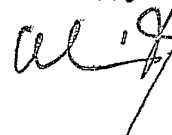
1	Merulius	Mycocentrospora
	Metarrhizium	Mycrosphaerella
	Metschnikowia	Myriococcum
5	Micronectriella	Myrothecium
	Mollisia	
	Naematoloma	Neurospora
10	Nectria	Nodulisporium
	Naccosmaspora	Nomuraoa
	Odontia	Oosporidium
15	Oedocephalum	Ophiostoma
	Oidiodendron	Osmoporus
	Omphalotus	Ostenia
	Onnia	Oudemansiella
20	Pachybasium	Phylloporus
	Pachysolen	Physarum
	Paecilomyces	Phytophthora
25	Panellus	Pichia
	Panus	Piptoporus
	Papularia	Piricularia
	Papulaspora	Pithomyces
30	Pellicularia	Pleurocybella
	Penicillium	Pleurotus
	Peniophora	Plicatura
	Perenniporia	Plateus
35	Periconia	Podospora

62.445

22 JUN 1990


1	Pestalotia	Polyozellus
	Pestalotiopsis	Polyporus
	Peziza	Poria
5	Phaeocoriolellus	Potebniamyces
	Phaeolus	Preussia
	Phanerochaete	Psathyrella
	Phellinus	Pseudeurotium
10	Phialomyces	Psuedofusarium
	Phialophora	Pseudohydnum
	Phlebia	Pseudospiropes
15	Phlogiotis	Ptychogaster
	Pholiots	Pulcherricium
	Phoma	Pycnoporus
	Phoma	Pyrenochaeta
20	Phomopsis	Pyrenophora
	Phycomyces	Pythium
	Radulodon	Rhizopus
25	Ramaria	Rhizopus
	Ramaria	Rhodosporidium
	Ramaricium	Rhodotorula
	Resinicium	Rigdoporus
30	Retinocyclus	Robillarda
	Rhinocladiella	Rosellinia
	Rhizoctonia	Russula
35	Rhizomucor	

Mod. 71-10000 ex. 89/07

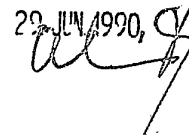


1	Saccharomyces	Sphaceloma
	Saccharomycopsis	Spicaria
	Sacodon	Spiroidium
5	Saprolengnia	Sondylocladium
	Sarcosphaera	Spongipellus
	Schizophyllum	Sporidesmium
	Schizosaccharomyces	Sporidiobolus
10	Schwanniomyces	Sporobolomyces
	Sclerotinia	Sporothrix
	Sclerotium	Sporotrichum
15	Sclolecobasidium	Stachybotrys
	Scopulariopsis	Staurophoma
	Scytalidium	Steccherinum
	Scytinostroma	Stemphylium
20	Sebacina	Stereum
	Sepedonium	Stibella
	Steptomyxa	Strobilomyces
	Septoria	Stromatinis
25	Seroula	Suillus
	Sirodesmium	Syncephalastrum
	Sistotrema	Syringospora
	Sordaria	
30	Talaromyces	Tricellua
	Taphrina	Trichocladium
	Termicomycetes	Trichoderma
35	Tetracladium	Tricholoma

1	Thaminidium	Trichophyton
	Thamnostylum	Trichosporon
	Thanatephorus	Trichothecium
5	Thermoascus	Trichurus
	Thermomyces	Tridentaria
	Thielavia	Trigonopsis
	Thielaviopsis	Truncatella
10	Torulaspora	Tuber
	Torulopsis	Tympanis
	Trametes	Tyromyces
	Tremella	
15		
	Ulocladium	Utilago
	Valsa	Verticicladiella
20	Valsaria	Verticillium
	Vararia	Volucrispora
	Verpa	Volutella
25	Wallemia	Whetzelinia
	Wardomyces	Whetzelinia
	Xeromphalina	Xylobolus
30	Xylaria	Xylogone
	Yarrowia	Yeasts
	Zalerion	Zygosaccharomyces
35	Zygodesmus	Zygosporium
	Zygorhynchus	Zythia

- R E I V I N D I C A Ç Õ E S -

1ª - Processo para a preparação de um substrato para a cultura de fundos, caracterizado por compreender:

22 JUN 1990, CV


preparação de uma mistura de grãos por meio da mistura de água, a aproximadamente uma parte e um quarto, em peso, por parte de uma mistura seca que contém uma porção principal de grão e porções menores de amido, proteína e fontes de nutrientes;

fervura da referida mistura de grãos durante um tempo suficiente para permitir a dispersão dos referidos amido, proteína e fontes de nutrientes na referida mistura de grãos;

Arrefecimento da referida mistura de grãos durante um período de tempo suficiente para permitir que os esporos de qualquer bactéria resistente ao calor germinem; e esterilização da referida mistura de grãos antes dos referidos esporos germinados amadurecerem suficientemente para produzir mais esporos.

2ª - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de compreender ainda:

drenagem dos referidos grão e água após o referido passo de fervura.

3ª - Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo facto de compreender ainda:

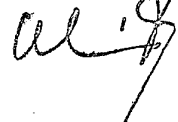
mistura de um aditivo aperfeiçoado da permeabilidade na referida mistura de grãos.

4ª - Processo de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo facto de os referidos amido, proteína e suplementos alimentares serem pré-seleccionados para preencherem as necessidades nutricionais dos referidos fundos.

5ª - Processo para a preparação de um substrato para a cultura de fundos de acordo com as reivindicações anteriores, caracterizado por compreender:

fervura de aproximadamente 94,6 litros (25 galões) de água numa caldeira de vapor de 227 litros (60 galões de capacidade;

Adição de aproximadamente 4,53 kg (10 libras de batatas Russet cortadas em fatias, 2,718 kg de pó de levedura de cerveja, um quarto de leite, 0,906 kg de semente de girassol descascada, 0,679 kg de farinha de soja, 0,679 kg



1 de alho integral, 0,679 kg de farinha de gluten de milho, 10
colheres de sopa de óleo de hirassol, 6 colheres de sopa de
melaços para se formar uma mistura intermediária;

5 fervura da referida mistura intermediária utili-
zando-se uma fonte de calor;

agitação da referida mistura intermediária para
se desfazerem quaisquer agregados em pedaços pequenos;

10 adição de aproximadamente 2,265 kg (5 libras)
de rebentos de bagas de bordo;

agitação da referida mistura intermediária até
os referidos rebentos ficarem moles;

15 adição de aproximadamente 90,6 kg (200 libras)
de grão de soro integral, e 2,265 kg (5 libras) de grão de
cevada enrolado para formar uma mistura de grãos;

adição de uma quantidade de água suficiente pa-
ra cobrir a referida mistura de grãos;

20 fervura e agitação da referida mistura de grãos
apenas até o nível de água cair abaixo do referido nível da
mistura de grãos, cerca de 7,5 cm a 10,0 cm (3 a 4 polega-
das);

remoção da referida fonte de calor;

25 drenagem da referida mistura de grãos aproxima-
damente uma hora depois da remoção da referida fonte de ca-
lor;

30 mistura da referida mistura de grãos com aproxi-
madamente 11,325 kg (25 libras) de calcário em pó, 36,24 kg
(80 libras) de pó em gesso e 9,06 kg (20 libras) de farinha
de sementes de algodão até a referida mistura de grãos se en-
contrar completamente revestida aproximadamente 8 a 24 horas
depois do referido passo de drenagem:

35 introdução de porções medidas da referida mistu-



1 ra de grãos em recipientes impermeáveis a micro-organismos;
e

esterilização a vapor dos referidos recipientes
5 impermeáveis a micro-organismos, esterilizáveis.

6ª. - Processo, de acordo com as reivindicações
anteriores em que o substrato para a cultura de fungos e
constituído por:

aproximadamente 50% de grãos de soro;

10 aproximadamente 26,6% de água;

aproximadamente 1% de levedura em pó;

aproximadamente 1,67% de batatas;

15 aproximadamente 0,3% de alho;

aproximadamente 0,3% de cevada em grão;

aproximadamente 4,2% de calcário em pó; e

aproximadamente 16% de gesso em pó;

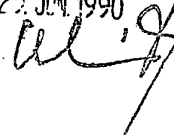
20 e é caracterizado pelo facto dos referidos grão de sorgo,
água, levedura em pó, batatas, alho e grão de cevada serem
preparados por meio de:

fervura durante um período de tempo suficiente
25 para matar quaisquer micro-organismos e para formar uma mis-
tura intermediária;

arrefecimento da referida mistura intermédia du-
rante um período de tempo suficiente para permitir que ger-
minem quaisquer esporos; e

30 esterilização ao calor da referida mistura inter-
mediária antes dos referidos esporos germinados terem amadu-
recido suficientemente para formarem novos esporos.

35 7ª. - Processo de acordo com a reivindicação 6,
caracterizado pelo facto de o referido calcário em pó e o
referido gesso em pó serem misturados com a referida mistura



intermediária depois do referido passo de arrefecimento.

8ª. - Processo de acordo com a reivindicação 6, para matar os esporos das bactérias Bacillus num meio de cultura caracterizado por compreender:

o aquecimento do referido meio de cultura durante aproximadamente 1 hora para matar as células das bactérias Bacillus:

arrefecimento do referido meio de cultura durante aproximadamente 8 a 24 horas para provocar a germinação dos esporos; e

morte dos referidos esporos germinados por meio da esterilização do referido meio de cultura.

9ª. - Processo de acordo com as reivindicações anteriores, para a cultura de cogumelos das árvores, caracterizado por compreender:

preparação de uma mistura de grãos por meio da mistura de água, a aproximadamente uma a uma parte e um quarto em peso por parte de uma mistura seca contendo uma porção principal de grão e porções menores de amido, proteína e fontes de nutrientes;

fervura da referida mistura de grãos durante aproximadamente 1 hora;

arrefecimento da referida mistura de grãos durante aproximadamente 8 a 24 horas;

introdução da referida mistura de grãos num recipiente esterilizável impermeável a micro-organismos;

esterilização do referido recipiente e da referida mistura de grãos;

introdução de germes de cogumelos das árvores na referida mistura de grãos;

agitação do referido recipiente para misturar os



1 árvores por toda a referida mistura de grãos;

5 incubação dos referidos germes de cogumelos das árvores dentro do referido recipiente durante aproximadamente 21 dias, para permitir que os referidos germes de cogumelos das árvores consumam a referida mistura de grãos e formem micélio;

10 arrefecimento do referido recipiente e dos referidos micélios durante 7 a 9 dias, a uma temperatura de aproximadamente 20° C (45° F); remoção do referido micélio dos referidos recipientes; e aspersão do referido micélio com água gelada até se desenvolverem cogumelos das árvores do tamanho desejado.

15 10ª. - Processo de acordo com a reivindicação 9, para o cultivo de cogumelos das árvores, caracterizado por compreender

20 preparação de uma mistura de grãos, por meio da mistura de água numa proporção de aproximadamente uma a uma parte e um quarto em peso por parte de uma mistura seca que contem uma porção principal de grãos e porções menores de amido, proteína e fontes de nutrientes;

25 fervura da referida mistura de grãos durante aproximadamente 1 hora;

arrefecimento da referida mistura de grãos durante aproximadamente 8 a 24 horas;

introdução da referida mistura de grãos num recipiente esterilizável impermeável para micro-organismos;

30 esterilização do referido recipiente e da referida mistura de grãos;

introdução de germes de cogumelos das árvores na referida mistura de grãos;

35 agitação do referido recipiente para misturar os referidos germes de cogumelos das árvores com a referida

22 JUN 1990



1 mistura de grãos;

5 incubação dos referidos germes de cogumelos das árvores no referido recipiente durante aproximadamente 21 dias, para permitir que os referidos germes de cogumelos das árvores consumam a referida mistura de grãos e formem micélio; e

indução da frutificação do referido micélio.

10 11ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por compreender ainda:

mistura de um aditivo aperfeiçoador da permeabilidade na referida mistura de grãos durante o referido passo de arrefecimento.

15 12ª. - Processo de acordo com as reivindicações 9 a 10 caracterizado por o referido grão compreender sorgo em grão.

20 13ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de:

a referida proteína compreender rebentos de bagas de bordo.

25 14ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de:

o referido passo de esterilização ser levado a efeito por meio de esterilização a vapor do referido recipiente e da referida mistura a uma temperatura de aproximadamente + 119° C (250° F) e uma pressão de aproximadamente 1.05460020 Kc cm² (15 libras por polegadas quadrada), durante aproximadamente 7 horas.

30 15ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de:

35 o referido passo de indução ser executado por meio da remoção do referido micélio dos referidos recipientes

22 JUN 1990



1 tes e exposição do referido micélio a um orvalho intermitente de água fria.

5 16ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de o referido orvalho intermitente de água fria ser executado por meio da utilização de água arrefecida a $\pm 23,8$ a $35,7^{\circ}$ C (50 a 75° F) durante 2 a 120 segundos a intervalos de 2 a 10 minutos, durante 6 a 15 horas durante o dia e durante 2 horas de noite.

10 17ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de:

os referidos amido, proteína e fontes de nutrientes serem pré-seleccionados para preencherem as necessidades nutricionais dos referidos cogumelos.

15 18ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de compreender ainda a adição de alho integral à referida mistura da grãos antes do referido passo de fervura.

20 19ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de:

os referidos germes de cogumelos das árvores serem germes de cogumelos "shiitake".

25 20ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de:

os referidos germes de cogumelos serem germes de cogumelo ostra.

30 21ª. - Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por os referidos germes de cogumelos das árvores compreenderem grão que foi previamente colonizado com os germes e por os referidos germes serem germes de cogumelos morel.

35 22ª. - Processo de acordo com as reivindicações 9 a 21, para o cultivo de cogumelos, caracterizado por com-



1 preender:

fervura de entre 94,6 e 132,5 litros (25 e 35 galões) de água;

5 adição de entre 2,718 kg e 9,06 kg (5 e 20 libras) de batatas Russet, entre 0,906 kg e 15,8 kg (2 e 35 libras) de levedura de cerveja em pó entre 0,226 kg e 1,812 kg (1/2 e 4 lbs) de alho para formar uma mistura intermediária;

10 fervura da referida mistura intermediária utilizando uma fonte de calor;

agitação da referida mistura intermediária para quebrar agregações em pedaços pequenos:

15 adição de entre 67,95 kg e 135,9 kg (150 e 300 libras) de sorgo em grão integral e entre 0,226 kg e 6,79 kg (1/2 e 15 libras) de grão de cevada enrolado para se formar uma mistura de grãos:

20 adição de uma quantidade suficiente de água para mergulhar a referida mistura de grãos;

fervura e agitação da referida mistura de grãos apenas até o nível de água baixar abaixo do nível da referida mistura de grãos;

25 remoção da referida fonte de calor;

aproximadamente uma hora depois da remoção da referida fonte de calor, drenagem da referida mistura de grãos;

30 aproximadamente 8 a 24 horas depois do referido passo de drenagem, mistura da referida mistura de grãos com entre 5,433 kg e 16,761 kg (12 a 37 libras) de calcário em pó e 22,65 a 45,3 kg (50 a 100 libras) de gesso em pó, até que a referida mistura de grãos esteja completamente revestida;

35 Introdução de porções medidas da referida mistu-



1 ra de grãos em recipientes esterilizáveis impermeáveis a micro-organismos;

5 esterilização dos referidos recipientes esterilizáveis impermeáveis a micro-organismos e da referida mistura de grãos;

introdução de germes de cogumelos das árvores na referida mistura de grãos;

10 mistura dos referidos germes de cogumelos na mistura de grãos referida;

15 incubação dos referidos germes de cogumelos no referido recipiente durante aproximadamente 21 dias, para permitir que os referidos germes de cogumelo consumam a referida mistura de grãos e formem micélio; e

indução da frutificação do referido micélio.

23ª. - Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo facto de os referidos germes de cogumelos serem germes de cogumelos "shiitake".

20 24ª. - Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo facto de os referidos germes de cogumelo serem germes de cogumelos ostra.

25 25ª. - Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo facto de os referidos germes de cogumelo serem germes de cogumelos botão.

26ª. - Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo facto de os referidos germes de cogumelo serem germes de cogumelo de palha almofadada.

30 27ª. - Processo de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo facto de os germes de cogumelos serem germes de cogumelo "enoki".

35 28ª. - Processo de acordo com as reivindicações anteriores, para a esterilização de um meio de cultura con-

tendo micro-organismos capazes de esporulação, caracterizado por compreender:

primeiro, a esterilização do referido meio de cultura para matar os referidos micro-organismos;

segundo, indução da germinação de quaisquer esporos existentes no referido meio de cultura para formarem esporos germinados; e

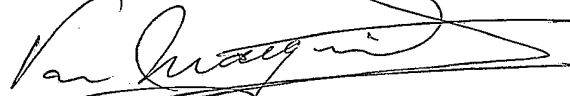
terceiro, esterilização do referido meio de cultura para matar os referidos esporos germinados, antes que os mesmos tenham amadurecido o suficiente para poderem formar mais esporos.

29ª. - Processo de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo facto de o referido primeiro passo de esterilização ser executado por meio de fervura do referido meio da cultura, em água, durante aproximadamente uma hora, em que o referido passo de indução é levado a efeito por meio de arrefecimento do referido meio de cultura durante um período de entre 8 e 24 horas e em que o referido terceiro passo de esterilização é levado a efeito por meio de esterilização a vapor do referido meio de cultura a aproximadamente $\pm 119^{\circ} \text{C}$ (250°F) durante aproximadamente sete horas.

Lisboa, 29 de Junho de 1990

Por MAUI SHIITAKE TRADING COMPANY, INC.

O AGENTE OFICIAL



VASCO MARQUES LEÃO

Agente Oficial
da Propriedade Industrial
Cartório - Arco da Condição, 3, 1.º - 1100 Lisboa

22 JUN 1990

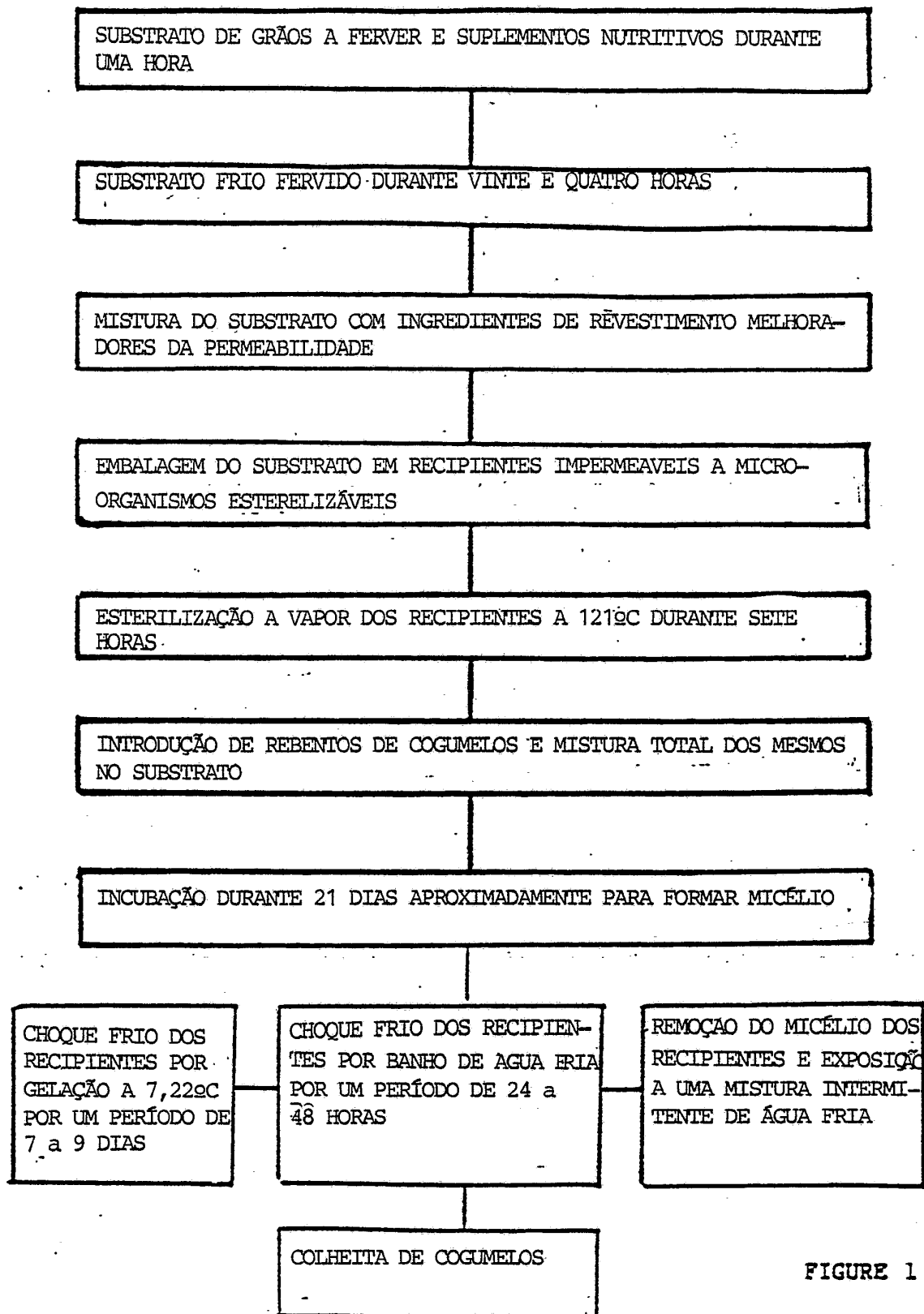


FIGURE 1