

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

EFEITO DE FUNGOS CONTAMINANTES NA PRODUTIVIDADE DE DOIS ISOLADOS DE *AGARICUS BLAZEI* EM DUAS FORMULAÇÕES DE COMPOSTO

M.C.N. de Andrade^{1*}, M.T.A. Minhoni¹, D.C. Zied¹, C. Sales-Campos², J. Kopytowski Filho³

¹Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Departamento de Produção Vegetal/ Defesa Fitossanitária, Módulo de Cogumelos, Rua José Barbosa de Barros, 1780, CEP 18610-307, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: mcnandrade@hotmail.com

RESUMO

O efeito dos fungos contaminantes *Trichoderma* sp. e *Chaetomium olivacearum* foi avaliado no cultivo dos isolados ABL 99/30 e ABL 04/49 de *A. blazei*, em duas formulações de composto, à base de palhas de tyfton (*Cynodom dactylon*) e aveia (*Avena sativa*). O delineamento experimental foi em esquema fatorial 2 x 2 x 3, inteiramente casualizado, com 6 repetições cada. A unidade experimental constou de 12 - 12,5 kg de composto úmido. Nos tratamentos envolvendo o *Trichoderma* sp. e o *C. olivacearum* durante a inoculação do *A. blazei*, foram adicionados 150 g de inóculo de cada um destes fungos contaminantes no momento da inoculação do *A. blazei*. O experimento foi conduzido em câmara climatizada, com umidade relativa entre 75-90% e temperatura média de 28 °C. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que as médias de produtividade do isolado ABL 99/30 de *A. blazei* foram superiores às do isolado ABL 04/49; os fungos contaminantes *C. olivacearum* e *Trichoderma* sp. influenciaram negativamente na produção do *A. blazei* e os diferentes compostos (à base de palha de tyfton e aveia) não influenciaram na produção de basidiomas.

PALAVRAS-CHAVE: Cogumelos, fungos contaminantes, isolados, composto.

ABSTRACT

EFFECT OF CONTAMINANT ON THE PRODUCTIVITY OF TWO *AGARICUS BLAZEI* ISOLATES IN TWO COMPOST FORMULATIONS. The effect of the contaminant fungi *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* on the cultivation of the ABL 99/30 and ABL 04/49 isolates of *A. blazei* in two compost formulations made up with tyfton (*Cynodom dactylon*) and oat (*Avena sativa*) was evaluated. The experimental design was a totally randomized 2 x 2 x 3 factorial design with 6 repetitions. The experimental unit consisted of 12-12.5 kg of wet compost. During the spawning, 150 g of *Trichoderma* sp. and *C. olivacearum* were added to the compost. The experiment was carried out in a climatized room, with humidity between 75-90% and temperature of 28° C. The productivity averages of the ABL 99/30 isolate of *A. blazei* were higher than those of ABL 04/49 and *Trichoderma* sp. and *C. olivacearum* negatively influenced the production of *A. blazei*. The different composts (based on tyfton and oat straw) did not influence the production of basidiomata.

KEY WORDS: Edible mushrooms, contaminants fungi, compost.

A influência de fungos contaminantes no cultivo de fungos comestíveis vem sendo estudada há alguns anos (CHEN; MOY, 2004; OEI, 2005; COUTINHO *et al.*, 2006; JANDAÍK *et al.*, 2004; ANDRADE; GRACIOLLI, 2005; FIGUEIREDO; MUCCI, 1985). Entretanto, para o cultivo de *Agaricus blazei*, poucos trabalhos avaliaram o efeito destes fungos na produção de basidiomas (ANDRADE *et al.*, 2007a; NASCIMENTO; EIRA, 2003) e alguns são relatos de ocorrência e/

ou características morfológicas destes fungos (COUTINHO *et al.*, 2006).

Existem inúmeras formulações de compostos que podem ser utilizadas no cultivo de agaricáceos e essas são comumente determinadas pela disponibilidade e custos dos materiais (SÁNCHEZ; ROYSE, 2001). No Brasil, tem-se utilizado diversas palhas (braquiária, coast-cross, tyfton, trigo, arroz, cevada, entre outras) no processo de compostagem de cogumelos agari-

*Bolsista de Pós-Doutorado - CAPES, UNESP, Botucatu-SP.

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil.

³Hamakua Heritage Farm, Laupahoechoe, HI, EUA.

cáceos (MINHONI *et al.*, 2005). No entanto, poucos trabalhos científicos têm comparado a eficiência destes materiais na produtividade de isolados de *A. blazei* (KOPYTOWSKI FILHO, 2006).

A formulação do composto é crucial para o processo de compostagem, sendo fundamental na obtenção de um balanço adequado entre os nutrientes, especialmente carbono e nitrogênio (WOOD; SMITH, 1987). O crescimento micelial pode ser influenciado pela redução ou excesso na concentração de nutrientes, produção de metabólitos secundários e o pH, o que pode comprometer a produção de basidiomas (RAMÍREZ *et al.*, 2001).

A escolha do isolado é outro fator de fundamental importância para se obter sucesso no cultivo de fungos comestíveis, pois, ela pode diferir quanto à velocidade de crescimento, resistência a fungos contaminantes, temperatura e umidades ótimas de "frutificação", incubação, tamanho, aspecto dos basidiomas e produtividade (ANDRADE *et al.*, 2007b; KOPYTOWSKI FILHO, 2006; CAMPBELL; RACJAN, 1999).

Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do *Trichoderma* sp. e do *C. olivacearum* na produção dos isolados ABL 99/30 e ABL 04/49 de *A. blazei*, em compostos à base de tyfton e aveia.

O experimento foi conduzido nas dependências do Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, SP.

Na produção de matriz secundária de *A. blazei*

foram utilizadas culturas puras (matriz primária) dos isolados ABL 99/30, de procedência desconhecida, e do isolado ABL 04/49 procedente de Mogi das Cruzes, SP, reisolada de material coletado em cultivo do Município de São José do Rio Preto, SP, ambas conservadas no banco de matrizes do Módulo de Cogumelos Departamento de Produção Vegetal, Defesa Fitossanitária, FCA/UNESP.

O substrato utilizado para a produção da matriz terciária e inóculo foi à base de grãos de sorgo, gesso e calcário. Inicialmente, os grãos foram cozidos em água, por 40 minutos após o início da fervura. Após o escoamento do excesso de água, adicionou-se 20 g kg⁻¹ de calcário calcítico e 160 g kg⁻¹ de gesso, em relação ao peso dos grãos.

Para a obtenção da matriz terciária, 400 g de substrato foram dispostos em frascos de vidro (800 mL), com papel de filtro nas tampas. Na produção do inóculo, 1.200 g do substrato foram colocados em sacos de polietileno de alta densidade (PEAD), com filme Tyvek® na parte superior. Nos dois casos, o substrato foi autoclavado a 121° C por 3 horas.

Após resfriamento até temperatura ambiente, os frascos foram inoculados, em câmara de fluxo laminar, com a matriz secundária (2% em relação ao peso úmido) e dispostos em BOD a 28 ± 1° C por 20 dias. Após este período, a matriz terciária foi utilizada para inocular os pacotes de PEAD sob as mesmas condições assépticas. Foi utilizado cerca de 1% de matriz terciária (em relação à massa fresca do substrato). Após 30 dias de incubação a 28 ± 1° C, os

Tabela 1 - Teores de umidade (U), carbono (C), nitrogênio (N) e relação C/N dos ingredientes utilizados na formulação dos compostos à base de palhas de tyfton e aveia.

Ingredientes	U*	C	N	C/N
	(%)	(%)	(%)	
Bagaço de cana-de-açúcar	50,0	53,3	0,5	115,9
Palha de tifton	13,0	49,5	1,6	30,9
Palha de aveia	13,0	49,2	1,3	38,7
Farelo de soja	10,0	45,0	7,0	6,4
Ureia	0,0	27,0	45,0	0,6

Tabela 2 - Formulação dos compostos à base de palha de tyfton e aveia.

Ingredientes, kg	Composto			
	Tifton		Aveia	
	UM	MS	UM	MS
Bagaço de cana-de-açúcar	600,0	300,0	600,0	300,0
Palha de tifton	280,0	243,6		
Palha de aveia			280,0	243,6
Farelo de soja	90,0	81,0	100,0	90,0
Ureia	4,0	4,0	4,0	4,0
Massa total do composto, kg	974,0	628,6	984,0	637,6
Massa total de carbono, kg		318,1		321,4
Massa total de nitrogênio, kg		12,8		12,6
Relação C/N inicial		24,9		25,6

MU= massa úmida e MS= massa seca.

substratos já estavam colonizados pelo fungo, sendo então denominados inóculo.

Na produção do inóculo dos fungos contaminantes *Trichoderma* sp. e *C. olivacearum* seguiu-se os mesmos procedimentos adotados no preparo do inóculo dos isolados de *A. blazei* (conforme item anterior). Os fungos contaminantes foram coletados em propriedade rurais situadas nos municípios de Atibaia e Botucatu no Estado de São Paulo, respectivamente (COUTINHO *et al.*, 2006), e armazenados na Micoteca do Módulo de Cogumelos - FCA/UNESP.

Os ingredientes utilizados na formulação dos compostos foram previamente analisados no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos - FCA/UNESP (Tabela 1) e, a partir destes dados, foram formulados dois tipos de compostos à base de palha de tyfton (*Cynodom dactylon*) e aveia (*Avena sativa*) (Tabela 2).

A fase I da compostagem foi realizada em barracão coberto, com piso de cimento, laterais abertas e ventilação natural. Previamente à montagem das leiras, todas as palhas foram umedecidas e reviradas a cada dois dias, totalizando oito dias de umedecimento das palhas.

A montagem das leiras (1,8 m de altura e de 1,8 m de largura) foi iniciada com camadas alternadas de palha e bagaço de cana-de-açúcar (20 cm de altura) com a adição de farelo de soja e ureia equitativamente entre as camadas das leiras. Adicionou-se água manualmente para manter a umidade em torno de 70-75%. Os compostos foram revirados a cada dois dias, adicionando-se água sempre que necessário. No total, foram feitas seis reviradas, totalizando 12 dias de fase I.

Na fase II, os compostos foram transferidos para caixas treliçadas, de polipropileno, com dimensões de 56,5 x 46,5 x 28,5 cm (comprimento, largura e altura). A seguir, foram dispostas ao acaso no interior de câmara Dalsem, para pasteurização e condicionamento dos compostos. A pasteurização foi realizada por 6 h a $61 \pm 1^\circ\text{C}$ e o condicionamento por 11 dias a $48 \pm 1^\circ\text{C}$.

Ao final das fases I e II da compostagem, foram coletadas ao acaso três amostras de cada composto, que foram desidratadas em estufa a 65°C por 48h e trituradas em moinho de facas com peneira 30 mesh. Os teores de carbono, nitrogênio, relação C/N e pH das amostras de composto foram determinados no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos - FCA/UNESP (Tabela 3).

A inoculação dos compostos foi feita manualmente, adicionando-se 1,5 g de inóculo de *A. blazei* por quilo de massa úmida de composto. Para tanto, os compostos foram transferidos parceladamente para outras caixas, menores, de polietileno, revestidas internamente com filme plástico de polietileno transparente com orifícios de 1 cm na parte inferior. Simultaneamente, o inóculo dos isolados de *A.*

blazei foi colocado e homogeneizado manualmente, juntamente com 15 g do inóculo de cada um dos fungos contaminantes por caixa, de acordo com cada tratamento. Repetiu-se este procedimento até que a massa úmida dos compostos atingisse de 12 - 12,5 kg. Após a inoculação, as caixas foram dispostas, ao acaso, em câmara climatizada (Dalsem Mushroom) para incubação por 13 dias e com a temperatura ambiente mantida a $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

Tabela 3 - Teores de umidade (U), carbono (C), nitrogênio (N), relação C/N e pH dos compostos à base de tyfton e aveia ao final das fases I e II da compostagem.

Teores	Composto	
	Tifton	Aveia
	Final da fase I	
U*	71.13	74.74
C	44.67	44.67
N	2.05	2.18
C/N	21,82	20,46
Ph	6.00	6.13
	Final da fase II	
U*	71.52	70.70
C	40.33	43.33
N	2.17	2.44
C/N	18.59	17.74
Ph	6.83	6.60

Como camada de cobertura foi utilizada terra roxa de textura média da Fazenda Lageado (FCA/UNESP). Para elevação do pH próximo a 7,0, foram adicionados 30 kg de calcário calcítico por m^3 de terra. A seguir, foi umedecido com água a 60% e deixado em repouso por 20 dias. Posteriormente, foi adicionado 30% de carvão vegetal, com 1 a 2 cm de espessura, seguido de pasteurização a 62°C durante 8 horas. A adição da camada de cobertura sobre o composto foi feita manualmente. Cada caixa recebeu cerca de 15 kg da camada de cobertura, espessura de aproximadamente 4 cm. Finalmente foi recoberto o composto com plástico e incubado por 15 dias, em câmara, à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

Após a colonização da camada de cobertura, as caixas foram dispostas ao acaso em prateleiras, no interior de uma câmara Dalsem Mushrooms mantidas à temperatura média de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 75 e 90%. O umedecimento da camada de cobertura foi feita de forma manual.

O número (NB) e a massa fresca de basidiomas (MFB) foram determinados diariamente durante a fase de colheita. A produtividade (P) foi determinada pela relação entre a massa fresca de basidiomas (MFB) ao final do ciclo produtivo e a massa fresca do composto (MFC) ao final da fase II, segundo a equação: $P = \text{MFB} / \text{MFC} \times 100$. A eficiência biológica (EB) foi determinada ao final do período de colheita, conforme a equação: $\text{EB} = \text{MFB} / \text{MSC} \times 100$, onde

MSC corresponde à massa seca do composto ao final da fase II.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, 2x2x3 (2 isolados de *A. blazei* x 2 tipos de composto x 2 tipos de fungos contaminantes + 1 testemunha), com 6 repetições, cada qual correspondendo a uma caixa com 12 - 12,5 kg de composto úmido. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (SNEDECOR; COCHRAN, 1972), utilizando-se o software Sisvar 5.0 desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras, MG (UFLA).

Na Tabela 4, encontram-se os valores de F obtidos na análise de variância dos dados de número de basidiomas, massa fresca de basidiomas, produtividade e eficiência biológica dos isolados ABL 99/30 e ABL 04/49 de *A. blazei*. Houve efeito significativo do isolado e do contaminante nas médias de todas as variáveis analisadas.

A média do número de basidiomas do isolado ABL 99/30 foi 106% superior a do isolado ABL 04/49 (Tabela 5), independentemente do tipo de composto utilizado, estando de acordo com os resultados

obtidos por KOPYTOWSKI FILHO (2006), que também obteve produtividades superiores do isolado ABL 99/30 em relação à ABL 04/49.

Os tratamentos testemunha e *Trichoderma* sp. obtiveram as maiores médias de número de basidiomas. Já o tratamento *C. olivacearum* obteve a menor média, se comparado aos demais tratamentos avaliados (Tabela 6). Possivelmente, isto tenha ocorrido devido à competição estabelecida entre o *A. blazei* e o fungo contaminante (*C. olivacearum*), ocorrendo uma elevação de temperatura dos compostos durante o período de colonização, resultando assim numa queda significativa de produção de basidiomas. Entretanto, ANDRADE *et al.* (2007a) observaram que, em compostos previamente colonizados pelo *A. blazei*, a inoculação superficial do composto com inóculo dos contaminantes *Trichoderma* sp. e *C. olivacearum* não afetou a produção de basidiomas.

O isolado ABL 99/30 obteve as maiores médias de número de basidiomas, massa, produtividade e eficiência biológica independente do tipo de substrato de cultivo utilizado (Tabela 5), estando de acordo com os resultados obtidos por KOPYTOWSKI FILHO (2006).

Tabela 4 - Valores de F obtidos na análise de variância de número de basidiomas (NB), massa fresca de basidiomas (MFB), produtividade (P) e eficiência biológica (EB) das linhagens ABL 99/30 e ABL 04/49 de *Agaricus blazei*, em função do tipo de fungo contaminante inoculado, cultivados em três tipos de compostos à base de palhas de tyfton e aveia.

Fator de variação	NB	MFB	P	EB
Linhagem (L)	45,70**	26,42**	27,22**	27,32**
Palha (P)	0,90 ^{NS}	0,29 ^{NS}	0,29 ^{NS}	0,75 ^{NS}
Contaminante (C)	17,32**	33,99**	34,17**	34,21**
L x P x C	0,54 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0,06 ^{NS}	0,05 ^{NS}

**significativo ao nível de 1%, NS: não significativo.

Tabela 5 - Comparação dos valores totais médios do número de basidiomas, massa, produtividade e eficiência biológica de *Agaricus blazei* em função do isolado.

Isolados	Nº de basidiomas	Massa (g)	Produtividade (%)	Eficiência biológica (%)
ABL-99/30	128,8 A	1669 A	13,7 A	47,3 A
ABL-04/49	62,3 B	1042 B	8,5 B	29,3 B

Médias seguidas de letras distintas, em cada coluna, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 6 - Comparação dos valores totais médios do número de basidiomas, massa, produtividade e eficiência biológica de *Agaricus blazei* em função do fungo contaminante inoculado.

Contaminantes inoculados	Nº de basidiomas	Massa (g)	Produtividade (%)	Eficiência biológica (%)
Testemunha (sem adição de contaminante)	127,1 A	1902,8 A	15,6 A	53,9 A
<i>Trichoderma</i> sp.	102,3 A	1475,1 B	12,0 B	41,6 B
<i>Chaetomium olivacearum</i>	57,2 B	688,79 C	5,6 C	19,5 C

Médias seguidas de letras distintas, em cada coluna, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos nos diferentes tratamentos experimentais, em termos de massa fresca de basidiomas e produtividade, diferiram entre si, sendo as menores médias observadas no tratamento *C. olivacearum* (Tabela 6). O efeito de fungos contaminantes no cultivo de cogumelos comestíveis já vem sendo relatado por vários autores (ANDRADE; GRACIOLLI, 2005; ANDRADE *et al.*, 2007a; MINHONI *et al.*, 2005). No entanto, por tratar-se de fungos competidores, o efeito negativo na produção é comumente observado quando estes fungos oportunistas colonizam substratos antes do fungo de interesse (ANDRADE, 1999). Já em substratos previamente colonizados pelo micélio do cogumelo, este efeito é insignificante (ANDRADE *et al.*, 2007a). De acordo com HARVEY (1982), *Chaetomium* spp. são bons decompositores de lignina e celulose, bem como de substâncias tóxicas liberadas durante o crescimento deste contaminante, as quais inibem o desenvolvimento micelial dos cogumelos.

CHEN *et al.* (2003), adicionando suspensão do *Trichoderma aggressivum* no momento da inoculação dos compostos para a produção de *A. bisporus*, verificaram diferenças de 26% a 99% de redução de produtividade em relação à testemunha dependendo do isolado utilizado no estudo. Neste experimento, observou-se uma redução de produtividade de 23% e 64%, para os tratamentos *Trichoderma* sp. e *Chaetomium olivacearum*, respectivamente (Tabela 6).

A produção de metabólitos pelo próprio micélio do cogumelo pode também ser um agente positivo ou negativo para o desenvolvimento de *Trichoderma* (CHEN *et al.*, 2003).

Os tratamentos experimentais obtiveram médias de número de basidiomas, massa, produtividade e eficiência biológica distintas entre si. No tratamento *Trichoderma* sp. e *C. olivacearum* estas médias foram inferiores ao da testemunha, confirmando o efeito negativo destes contaminantes nas condições de cultivo propostas (Tabela 6).

CONCLUSÕES

As médias de produção do isolado ABL 99/30 de *A. blazei* foram superiores as do isolado ABL 04/49.

Os fungos contaminantes *C. olivacearum* e *Trichoderma* sp. influenciaram negativamente na produção do *A. blazei*.

Os diferentes compostos (à base de palha de tyfton e aveia) não influenciaram na produção de basidiomas.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, F.A. *Efeitos de fungos contaminantes na produção de shiitake (Lentinula edodes (Berk) Pegler) em*

toras de Eucalyptus saligna Sm. 1999. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

ANDRADE, M.C.N.; GRACIOLLI, L.A. Controle de fungos contaminantes no cultivo do cogumelo comestível shiitake em toros de eucalipto. *Acta Scientiarum Agronomy*, v.27, n.2, p.293-299, 2005.

ANDRADE, M.C.N.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M.T.A.; COUTINHO, L.N.; FIGUEIREDO, M.B. Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushroom grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.38, p.243-247, 2007a.

ANDRADE, M.C.N. CALONEGO, F.W.; MINHONI, M.T.A.; SEVERO, E.T.D.; KOPYTOWSKI FILHO, J. Avaliação do crescimento micelial de linhagens de shiitake, da produção em toras de eucalipto e de alterações físicas da madeira. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.29, n.1, p.23-27, 2007b.

CAMPBELL, A.C.; RACJAN, M. The commercial exploitation of the white rot fungus *Lentinula edodes* (shiitake). *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.43, p.101-107, 1999.

CHEN, A.W.; MOY, M. Mushroom cultivation: building mold contamination. In: ROMAINE, C.P.; KEIL, C.B.; RINKER, D.L., ROYSE, D.J. (Ed.). *Science and cultivation of edible and medicinal fungi*. Mushroom Science XVI. Penn State University, University Park, USA, p.625-632, 2004.

CHEN, X.; OSPINA-GIRALDO, M.D.; WILKINSON, V.; ROYSE, D.J.; ROMAINE, C.P. Resistance of Pre- and Post-epidemic Strains of *Agaricus bisporus* to *Trichoderma aggressivum f. aggressivum*. *Plant Disease*, v.87, n.12, p.1457-1461, 2003.

COUTINHO, L.N.; ANDRADE, M.C.N.; FIGUEIREDO, M.B.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M.T.A. Mildio em cogumelos cultivados (*Agaricus blazei*) no estado de São Paulo. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 29., 2006. Botucatu, SP. *Anais*. Botucatu, 2006. p.21.

FIGUEIREDO, M.B.; MUCCI, E.S.F. *Doenças e pragas do cogumelo comestível (Agaricus campestris L.)*. O Biológico, São Paulo, v.51, n.4, p.93-111, 1985.

HARVEY, C.L.; WUEST, P.J.; SCHISLER, L.C. Diseases, weed molds, indicator molds, and abnormalities of the commercial mushroom. In: WUEST, P.J.; BENGSTON, G.D. (Ed.). *Penn State handbook for commercial mushroom growers*. Penn State University, University Park, USA, 1982. p.19-33.

JANDAİK, S.; GULERIA, D.S.; PARMAR, Y.S. Effect of *Cladobotryum dendroides* on the yield of *Agaricus bisporus*: Inoculum factors and timing of infection. In: ROMAINE, C.P.; KEIL, C.B., RINKER, D.L.; ROYSE, D.J. (Ed.). *Science and cultivation of edible and medicinal fungi – Mushroom Science XVI*. Penn State University, University Park, USA, 2004. p. 503-505.

KOPYTOWSKI FILHO, J. *Produtividade e eficiência biológica de Agaricus blazei (Murrill) Heinemann, em diferentes condições de cultivo*. 2006. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)–Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

MINHONI, M.T.A.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; ANDRADE, M.C.N. *Cultivo de Agaricus blazei Murrill ss. Heinemann*. Botucatu: FEPAF, 2005. 141p.

NASCIMENTO, J.S.; EIRA, A.F. Occurrence of the false truffle (*Diehlomyces microsporus* Gilkey) and damage on the himematsutake medicinal mushroom (*Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al.). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, v.5, n.1, p.87-94, 2003.

OEL, P. *Mushroom cultivation*. 3.ed. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers, 2005. 429p.

RAMÍREZ, L.; MUEZ, V.; ALFONSO, M.; BARRENECHEA, A.G.; ALFONSO, L.; PISABARRO, A.G. Use of molecular markers to differentiate between commercial strains of the button mushroom *Agaricus bisporus*. *FEMS Microbiology Letters*, v.198, p.45-48, 2001.

SÁNCHEZ, J.E.; ROYSE, D.J. Adapting substrate formulas used for shiitake for production of brown *Agaricus bisporus*. *Bioresource Technology*, v.77, p.65-69, 2001.

SNEDECOR, G.W.E.; COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6.ed. Ames: Iowa State University Press, 1972.

WOOD, D.A.; SMITH, J.F. The cultivation of mushrooms. In: NORRIS, J.R.; PETTIPHER, G.L. (Ed.). *Essays in agricultural and food microbiology*. Avon: The Bath Press, 1987. p.309-343.

Recebido em 31/7/09

Aceito em 20/4/11