



**EMERSON TOKUDA MARTOS**

**ESTUDOS DE CAMADA DE COBERTURA E  
INDUÇÃO DA FRUTIFICAÇÃO DO  
COGUMELO *Agaricus subrufescens***

**LAVRAS-MG  
2013**

**EMERSON TOKUDA MARTOS**

**ESTUDOS DE CAMADA DE COBERTURA E INDUÇÃO DA  
FRUTIFICAÇÃO DO COGUMELO**  
*Agaricus subrufescens.*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias

Co-orientador

Prof. Dr. Romildo da Silva

**LAVRAS – MG**

**2013**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Martos, Emerson Tokuda.

Estudos de camada de cobertura e indução da frutificação do cogumelo *Agaricus subrufescens* / Emerson Tokuda Martos. – Lavras: UFLA, 2013.

82 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Eustáquio Souza Dias.

Bibliografia.

1. Cogumelo do sol. 2. Produtividade. 3. Manejo de cogumelos. 4. Cultivo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.8

**EMERSON TOKUDA MARTOS**

**ESTUDOS DE CAMADA DE COBERTURA E INDUÇÃO DA  
FRUTIFICAÇÃO DO COGUMELO**  
*Agaricus subrufescens.*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 24 de maio de 2013.

Prof. Dr. Whasley Ferreira Duarte

Prof. Dr. Romildo da Silva

Prof. Dr. Félix Gonçalves de Siqueira

Prof. Dr. Diego Cunha Zied

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias

Orientador

**LAVRAS-MG**

**2013**

Primeiramente a Deus, por estar presente em todos os momentos de minha vida.

Ao meu orientador, por possibilitar minha formação desde a graduação até esta etapa acadêmica.

Aos meus pais, José Martos *in memoriam*

e Kazuko Tokuda Martos.

Aos meus grandes amigos.

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

A toda minha família, pela confiança e apoio durante toda vida acadêmica.

Aos Professores Eustáquio Souza Dias e Romildo da Silva, pelas orientações, críticas e sugestões, oportunizando, a realização de diversas pesquisas, incluindo este trabalho.

A todos os professores do programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola, pelo apoio, amizade, convívio e ensinamentos nas disciplinas necessárias a minha formação.

A todos os professores do departamento de Biologia que auxiliaram de maneira direta ou indireta o desenvolvimento deste trabalho.

Ao “Mané” e aos motoristas do setor de transportes, por disponibilizar os veículos, permitindo a coleta dos substratos necessários para efetuar as pesquisas.

Ao Paulinho, Rose, Cidinha e Ivani, por me auxiliarem sempre que necessário.

Aos amigos do setor de Fisiologia Vegetal, Joel, Odorengo, Tanhã, Evaristinho, Tina, Lena e Barrinha.

Aos amigos do programa de pós-graduação: Pedro Paulo, Thales, Débora, Victor, Fernanda Andrade, Fernanda Monteiro, Fernanda Carvalho, Cibelli, Raul, Vinicius, William, Euziclei, Mariana Rabelo, Mariana Lino, Mariana Dias, Angélica, Manuela, Monique, Luciana, Maiara Paparele, Maiara Andrade, Noelly, Cintia, Jessé, Claudia Puerari, Claudia Auler, Janaira, Andreia, Gabriela, Alenir, Kelly, Beatriz, Silvino, Karla, Igor, Gilberto, Aline, Monica, Kedma, Amanda, Alcilene, Suzana e todos os demais que me acompanharam, formando uma grande equipe de pesquisa, pois sem ela nenhum resultado seria possível.

Aos amigos de diversos setores da UFLA; Sandra, João Batista, Eula, Rafaela, Magda, Pedrão, Edmar, Walter.

À dona Cleonice, Rodrigo, Renato e Romildo Júnior, pela amizade.

À Karina pela ajuda, sugestões, companheirismo, paciência e compreensão em todos os momentos.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuições para o trabalho.

A CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Ao Instituto Federal de Minas Gerais campus Bambuí, por abrir as portas da Instituição, permitindo aprimorar minha experiência na docência.

A todos os colegas não citados, pelo convívio e pela colaboração direta ou indireta para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO GERAL

A globalização permitiu acesso fácil às informações, favorecendo a procura por uma alimentação saudável através do consumo de alimentos naturais e com propriedades medicinais, dentre os quais, cogumelos comestíveis. No Brasil, o cogumelo *A. subrufescens* é cultivado em pequenas propriedades e com estruturas rústicas, com baixo controle ambiental, resultando em baixa produtividade. Considerando as condições de baixa tecnologia do produtor brasileiro, é importante um desenvolvimento tecnológico que se adeque melhor a esta realidade. No presente trabalho, foram abordados alguns aspectos tecnológicos básicos para o cultivo deste cogumelo, visando maior facilidade no manejo e maiores rendimentos pelos produtores. No primeiro trabalho foram testadas camadas de cobertura alternativas e diferentes temperaturas para indução da frutificação do cogumelo. No segundo trabalho foi avaliada a utilização do inseticida Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> como defensivo para controle de nematoides micetófagos, contaminantes da camada de cobertura. No primeiro trabalho, observou-se a necessidade de utilização adição de até 30% de calcário para a obtenção dos melhores resultados, alcançando 16,66% de produtividade. Dentre as diferentes camadas de cobertura avaliadas, a mistura de areia com substrato a base de fibra de coco, proporcionou a maior produtividade (19,24%). Na avaliação do efeito de temperatura, não foram observadas diferenças significativas entre as mesmas, mas apenas para as linhagens testadas. Para o controle de nematoides na camada de cobertura, o inseticida Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> apresentou eficiência no controle quando utilizado a partir da concentração de 8 ppm na camada de cobertura. A partir da concentração de 16 ppm, observou-se uma tendência de queda da produtividade do cogumelo.

Palavras-chave: Cogumelo do sol; *Agaricus subrufescens*; camada de cobertura; indução da frutificação.



## GENERAL ABSTRACT

The globalization has allowed an easy access to information, promoting the demand for a healthy diet by eating natural foods with medicinal properties, among which, edible mushrooms. In Brazil, the mushroom *A. subrufescens* is cultivated on small farms in rustic structures with low control of environmental conditions, resulting in low productivity. Considering the outdated technology conditions of Brazilian farmers, it is important a technological development that fits better to this reality. In this study, we discuss some basic technological aspects for the cultivation of this mushroom, aiming a greater ease in management and higher incomes for farmers. In the first study we tested alternatives casing layers and different temperatures to induce fruiting bodies of the mushroom. In the second study, we evaluated the use of the insecticide Fipronil / Regent WG<sup>®</sup> as a defensive to control nematodes, contaminants of the casing layer. In the first study, there was a need to use the addition of 30% limestone to obtain the best results, which increasing 16.66% of the productivity. Among the various casing layers evaluated, mixing sand with substrate based on coconut fiber resulted in the highest yield (19.24%). When it was evaluated the effect of temperature, there were no significant differences between them, but only for the strains tested. For the control of nematodes in the casing layer, the insecticide Fipronil / Regent WG<sup>®</sup> was efficient when used at the concentration of 8 ppm. In concentrations from 16ppm and above, there was a declining trend in productivity of the mushroom.

**Keywords:** Himematsutake, *Agaricus subrufescens*, casing layer, induction of fruiting, mushrooms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Produtividade do cogumelo <i>A. subrufescens</i> em função da concentração de calcário (%) na camada de cobertura .....42
Figura 2	Eficiência biológica, do cogumelo <i>A. subrufescens</i> , por fluxo produtivo, em função dos tratamentos de camada de cobertura... ..45
Figura 3	Médias mensais de temperaturas máxima e mínima durante o período de cultivo, desde a inoculação do composto até o final da colheita, no cultivo do cogumelo <i>A. subrufescens</i> .....45
Figura 4	Eficiência biológica total, em função dos tratamentos de camada de cobertura no cultivo do cogumelo <i>A. subrufescens</i> .....46
Figura 5	Produtividade das linhagens ABL 49 e CS 12 de <i>A. subrufescens</i> , em cada fluxo produtivo .....54
Figura 6	Produtividade da linhagem CS 12 de <i>A. subrufescens</i> , em função dos diferentes períodos de choque térmico, durante os fluxos de produção.....54
Figura 7	Produtividade da linhagem ABL 49 de <i>A. subrufescens</i> , em função dos diferentes períodos de choque térmico, durante os fluxos de produção .....55
Figura 8	Massa média dos cogumelos colhidos (g) a cada fluxo de produção, referente à linhagem CS12 de <i>A. subrufescens</i> .....59
Figura 9	Massa média dos cogumelos colhidos (g) a cada fluxo de produção, da linhagem ABL 49 de <i>A. subrufescens</i> .....59
Figura 10	Média de temperatura mensal durante o período de cultivo do cogumelo <i>A. subrufensces</i> , desde a inoculação até o final da colheita.....72
Figura 11	Produtividade do cogumelo <i>A. subrufescens</i> , em função dos tratamentos com aplicação de Fipronil/Regent WG <sup>®</sup> , a cada fluxo de cultivo .....74
Figura 12	Comparativo entre as médias observadas e as estimadas de produtividade para cada tratamento com adição de Fipronil/Regent WG <sup>®</sup> .....78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Percentual de calcário dolomítico adicionado à camada de cobertura e os valores de pH resultantes de cada tratamento.....	36
Tabela 2	Características e/ou formulação de cada substrato utilizado na composição da camada de cobertura utilizada no cultivo do cogumelo <i>A. subrufescens</i> .....	37
Tabela 3	Formulação dos diferentes tratamentos de camada de cobertura para o cultivo do cogumelo <i>A. subrufescens</i> .....	38
Tabela 4	Características de cada tratamento do experimento com redução da temperatura momentos antes do início de cada fluxo produtivo no cultivo de <i>A. subrufescens</i> .....	40
Tabela 5	Produtividade e eficiência biológica do cultivo de <i>Agaricus subrufescens</i> CS1, tendo como variável a saturação de bases em diferentes percentuais de calcário dolomítico no Latossolo Vermelho distroférrico usado como camada de cobertura.....	42
Tabela 6	Relação da colheita do primeiro cogumelo de cada tratamento em função de dias após a indução da frutificação.....	43
Tabela 7	Eficiência biológica (EB) e produtividade (P) do cogumelo <i>A. subrufescens</i> em função da camada de cobertura.....	44
Tabela 8	Número médio e massa média de cogumelos por parcela experimental.....	48
Tabela 9	Valores de pH, condutividade elétrica e salinidade dos tratamentos de camada de cobertura utilizados no cultivo do cogumelo <i>A. subrufescens</i> .....	51
Tabela 10	Tempo de início da frutificação do cogumelo <i>A. subrufescens</i> , em função dos tratamentos de choque térmico .....	53
Tabela 11	Eficiência biológica (EB) e produtividade (P) do cogumelo <i>A. subrufescens</i> em função do choque térmico.....	57
Tabela 12	Tempo decorrido após a indução da frutificação de <i>A. subrufescens</i> , até o início da colheita em função de cada tratamento .....	73
Tabela 13	Eficiência biológica (EB) e produtividade (P) do cogumelo <i>A. subrufescens</i> em função da concentração do inseticida Fipronil/Regent WG <sup>®</sup> na camada de cobertura.....	76
Tabela 14	Equação de regressão e derivada em relação à eficiência biológica, e produtividade em função da concentração do inseticida/nematicida Fipronil/Regent <sup>®</sup> .....	76
Tabela 15	Médias observadas e estimadas de produtividade de acordo com cada concentração de Fipronil/Regent <sup>®</sup> presente na camada de cobertura, em função da análise de regressão .....	77

## SUMÁRIO

	<b>CAPITULO 1</b>	<b>Introdução geral.....</b>	<b>14</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<i>Agaricus subrufescens .....</i>	<b>16</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	Compostagem.....	<b>17</b>	<b>17</b>
<b>2.3</b>	Camada de cobertura e indução da frutificação.....	<b>18</b>	<b>18</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>23</b>	<b>23</b>
	<b>CAPITULO 2</b>	<b>PRODUÇÃO DO COGUMELO</b>	<b>Agaricus</b>
		<b>subrufescens EM FUNÇÃO DO CHOQUE DE TEMPERATURA E</b>	
		<b>DIFERENTES TIPOS DE CAMADA DE COBERTURA .....</b>	<b>27</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>29</b>	<b>29</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>	<b>33</b>
<b>2.1</b>	Preparo do inóculo de <i>Agaricus subrufescens</i> .....	<b>33</b>	<b>33</b>
<b>2.2</b>	Inoculação e colonização do composto.....	<b>33</b>	<b>33</b>
<b>2.3</b>	Camada de cobertura e indução da frutificação.....	<b>34</b>	<b>34</b>
<b>2.4</b>	Cálculo da eficiência biológica e produtividade.....	<b>34</b>	<b>34</b>
<b>2.5</b>	Experimento I: Efeito da concentração de calcário/pH .....	<b>35</b>	<b>35</b>
<b>2.6</b>	Experimento II: Efeito de diferentes componentes da camada de cobertura.....	<b>36</b>	<b>36</b>
<b>2.7</b>	Experimento III: Efeito do choque de temperatura sobre a frutificação.....	<b>38</b>	<b>38</b>
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>	<b>40</b>
<b>3.1</b>	Experimento I: Efeito da concentração de calcário na camada de cobertura.....	<b>40</b>	<b>40</b>
<b>3.2</b>	Experimento II: Efeito de diferentes componentes da camada de cobertura.....	<b>42</b>	<b>42</b>
<b>3.3</b>	Experimento III: Efeito do choque de temperatura sobre a frutificação.....	<b>51</b>	<b>51</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>	<b>59</b>

	<b>CAPITULO III CONTROLE DE NEMATOIDES MICETÓFAGOS NO CULTIVO DO COGUMELO <i>Agaricus subrufescens</i>.....</b>	<b>64</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>69</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>

## CAPITULO I

### Introdução geral

#### 1 INTRODUÇÃO

O cultivo de cogumelos é uma prática com amplo potencial de expansão no Brasil, devido à melhora do poder aquisitivo do brasileiro e à busca por alimentação saudável. No entanto, ainda há certo preconceito em relação a seu consumo, já que, na maioria das vezes, a população erroneamente associa cogumelos a produtos alucinógenos e/ou venenosos. Por outro lado, a globalização permitiu maior acesso às informações e, aos poucos, essa cultura vem sendo quebrada e substituída por conhecimentos sobre os benefícios dos cogumelos comestíveis e medicinais à saúde.

Atualmente, no Brasil, existem poucos produtores de cogumelos, constituídos na sua maioria de pequenos produtores. Pesquisas voltadas a esse perfil de produtores são escassas e, por isso, é necessário adaptar tecnologias utilizadas por grandes indústrias, geralmente tecnologias de cultivo consolidadas em outros países e para condições de larga escala. Como consequência, muitos fatores ambientais, bem como a disponibilidade de substratos, são diferentes, resultando, conseqüentemente, em produtividade baixa e irregular ano a ano.

Dentre as espécies de cogumelos comestíveis e medicinais cultivadas no Brasil, o cogumelo *Agaricus subrufescens* alcançou uma posição de destaque nos últimos anos, graças a uma grande demanda do mercado japonês e, posteriormente, graças ao crescimento também do mercado interno. Uma das grandes vantagens do cultivo deste cogumelo pelo pequeno produtor é a característica de frutificação em temperatura mais elevada, em relação ao

*Agaricus bisporus* (“champignon”). Apesar dessa facilidade de manejo, vários aspectos relacionados à frutificação do cogumelo ainda precisam ser mais bem elucidados.

Dentre esses aspectos, existem ainda controvérsias acerca da necessidade ou benefícios de choque térmico (baixa temperatura) para a frutificação e que precisa ser definida. Outro aspecto de grande importância é o manejo da camada de cobertura, tanto com respeito aos tipos de materiais que podem ser utilizados, bem como à quantidade exata de calcário ou o pH ideal para a camada de cobertura.

Além desses aspectos, resta ainda no Brasil uma grande necessidade de definição da utilização de defensivos agrícolas, uma vez que, além dos problemas sérios de contaminação do cogumelo com pesticidas, não há também uma regulamentação acerca deste assunto, fazendo com que o pequeno produtor sofra por não poder contar com uma assistência técnica oficial. Diante disso, o produtor sofre prejuízos por não receber recomendações adequadas e acaba por utilizar defensivos com base na experiência de outros produtores, o que, não raro, acaba acontecendo de maneira abusiva.

Por conseguinte, este trabalho teve como objetivos estudar os fatores ambientais e de camada de cobertura visando à frutificação do cogumelo *Agaricus subrufescens*, de forma a se permitir o estabelecimento de uma série de recomendações técnicas para o pequeno produtor de cogumelos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Agaricus subrufescens*

O cogumelo *Agaricus subrufescens* Peck é sinônimo de *A. blazei* Murril (*sensu* Heinemann) ou, também, *A. brasiliensis* (WASSER et al., 2002). Atualmente, a classificação aceita é *A. subrufescens*, pois pesquisas em função de análises taxonômicas e moleculares, comprovaram a similaridade com a espécie, que foi descrita primeiramente por Charles Horton Peck em 1893, em Nova Iorque (KERRIGAN, 2005).

O grande apelo comercial do *A. subrufescens*, primeiramente, deve-se ao fato de ser nativo também do Brasil, possuir propriedades medicinais e terapêuticas, contribuindo para sua valorização comercial. Kopytowski Filho, Minhoni e Rodriguez (2006) relataram que as propriedades medicinais estão relacionadas a polissacarídeos, como a  $\beta$ -glucana, que inibem atividade de formação de tumores carcinogênicos e melhora o sistema imune humano. Sendo assim, este cogumelo apresenta excelente potencial a ser explorado internacionalmente, sendo os Estados Unidos, Canadá e Japão os principais países consumidores (WASSER et al., 2002).

O cultivo do cogumelo *A. subrufescens* é relativamente recente, quando comparado a outras espécies de cogumelos. Conseqüentemente, tecnologias de produção surgiram por meio de adaptações do cultivo, principalmente de *Agaricus bisporus* (ZIED; MINHONI, 2009). Quando se compara a produtividade em relação ao *A. bisporus*, observa-se que a mesma é ainda muito baixa. Em consequência de sua baixa produtividade, os custos de produção tornam-se muito elevados, comprometendo, sobremaneira, os lucros do pequeno produtor. Evidentemente, os elevados custos traduzem-se também em preço de



mercado elevado, restringindo em muito o seu consumo. Diante disso, sua demanda no mercado nacional é considerada baixa, quando comparada ao “Champignon” (*A. bisporus*), apesar da ampla divulgação das suas propriedades medicinais, ficando restrita a pessoas em tratamento contra o câncer, principalmente. Certamente, a elevação da produtividade poderia contribuir bastante para a prática de preços mais baixos no mercado nacional, permitindo inclusive que este cogumelo fosse explorado também como alimento (DIAS, 2010).

## 2.2 Compostagem

O substrato para o cultivo de cogumelos do gênero *Agaricus* é produzido através do processo de semicompostagem, que, por definição, é um processo aeróbico, de transformação dos resíduos orgânicos em produtos estáveis, através de fermentação, decomposição e transformação promovida por microrganismos (KULCU; YALDIZ, 2004). A compostagem tem sido uma metodologia amplamente utilizada com a finalidade de redução da deposição de resíduos orgânicos industriais e agrícolas, tendo como finalidade a transformação do resíduo em um produto nobre, ocasionando agregação de valor. Este processo de semicompostagem utilizada em cultivo de cogumelos é um processo curto (Fase I), com duração de aproximadamente 15 dias, quando comparada à compostagem tradicional, que tem duração próxima de três meses. Após o processo de semicompostagem, o composto é submetido à pasteurização/condicionamento (Fase II) e inoculação e colonização (Fase III). Os principais substratos que compõem o composto de *A. subrufescens* são resíduos agroindustriais, como palhadas e esterco. A formulação comumente utilizada é a mistura de palha de trigo, cama de frango e gesso, nas proporções

de 62%, 35% e 3%, respectivamente. A grande limitação no preparo do composto de cultivo é a liberação de forte odor de amônia, impossibilitado ou dificultando sua elaboração em locais próximos a centros urbanos. A amônia que não sofreu o processo de volatilização é transformada por microrganismos em proteínas e aminoácidos, devendo-se ressaltar que, caso isso não ocorra e o composto permaneça com elevado teor de amônia no momento da inoculação do *A. subrufescens*, sua colonização será prejudicada, podendo até impossibilitar o desenvolvimento micelial (DIAS, 2010). É necessária a adição de gesso agrícola e superfosfato simples como suplemento no processo de compostagem, pois estes reduzem consideravelmente a volatilização da amônia no composto e facilitam a assimilação por microrganismos (PROCHNOW, et. al., 1995).

### **2.3 Camada de cobertura e indução da frutificação**

Para cultivar cogumelos do gênero *Agaricus*, é necessário adicionar uma camada de cobertura sobre o composto colonizado, para induzir a formação de primórdios. Essa cobertura promove o estresse sobre o micélio do fungo, induzindo a formação de cogumelos, além de atuar como suporte aos corpos de frutificação e redução da perda de água para o ambiente e de proteger o composto contra futuras contaminações por microrganismos contaminantes. Por essa razão, é imprescindível utilizar materiais de qualidade para a camada de cobertura, livre de contaminantes e patógenos, permitindo, assim, o desenvolvimento de corpos de frutificação saudáveis, em menor tempo e com incidências reduzidas de doenças e pragas no decorrer do cultivo (FLEGG et al., 1985).

Para o cultivo de *A. subrufescens*, a adição da camada de cobertura sobre o composto já é caracterizada como parte do processo de indução da frutificação. Para o cultivo de *A. bisporus*, a indução da frutificação depende da redução da temperatura do ambiente de 25° C para 17 a 19° C, enquanto que, para *A. subrufescens*, esse manejo não é considerado necessário (DIAS, 2010).

A adição da camada de cobertura promove mudanças ambientais sobre o composto colonizado, ocasionando estresse ao micélio fúngico, induzindo assim a formação de corpos de frutificação (NOBLE et al., 2003). Geralmente, para o cultivo de *A. bisporus*, o material utilizado como camada de cobertura é a turfa de musgo, a qual é amplamente encontrada em alguns países de clima temperado, embora, este seja um recurso não renovável, sendo prevista a sua escassez no futuro. A preocupação com esta possível escassez já tem levado cientistas em países como a Espanha a estudar alternativas ao uso da turfa, bem como a sua combinação com outros materiais, com o objetivo de se estabelecer uma utilização mais racional deste recurso natural (PARDO et al., 2004).

Em condições brasileiras, sua extração na maioria das vezes não é permitida, limitando a sua utilização, tornando necessária a substituição por materiais alternativos, como solo de horizonte B, areia, resíduo de carvão vegetal, calcário e outras combinações (DIAS, 2010; EIRA, 2003). Atualmente, diversos trabalhos vêm sendo realizados, buscando aprimorar a qualidade de todo o processo produtivo, principalmente em relação à qualidade da camada de cobertura, e como consequência, ocasionando a melhoria da produtividade (CAVALCANTE et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2009; ZIED; MINHONI 2009; ZIED et. al., 2010; ZIED et. al., 2012).

Diferentes substratos vêm sendo relatados como ingredientes de camada de cobertura, em misturas tendo como base solo de horizonte B. Dentre esses materiais destacam-se: areia lavada, carvão vegetal, casca de arroz, fibra de

coco, vermiculita, serragem de eucalipto, composto colonizado, resíduos de produção de chá (*Cammelia sinensis*), etc (RANGEL et al., 1996; GÜLSER; PEKSEN, 2003; MINHONI et al., 2005; MINHONI et al., 2006; ZIED et al., 2006; PARDO; PARDO, 2008; SIQUEIRA et al., 2009; COLAUTO et al., 2010).

Segundo Siqueira et al. (2009), a adição de 30% de carvão vegetal à camada de cobertura melhora a distribuição do tamanho das partículas, diminui a compactação e favorece as trocas gasosas, o que é considerado por alguns autores como fatores importantes para uma melhor produção (COLAUTO et al. de 2010; LARGETEAU et al., 2011).

A determinação da melhor composição da camada de cobertura para as condições brasileiras é uma tarefa difícil. Zied et al. (2011), correlacionaram positivamente a linhagem 04/49 com a quantidade de silte e a capacidade de retenção de água e negativamente com a quantidade de argila e densidade do solo, entretanto, o número de cogumelos e o rendimento médio foram correlacionados diferentemente com as propriedades da camada de cobertura. Esses resultados demonstram a dificuldade de estabelecer correlações claras entre as propriedades da camada de cobertura e os valores de produtividade e número de cogumelos, em função ainda das diferentes linhagens comerciais utilizadas.

A camada de cobertura é um ambiente não estéril, o que permite que microrganismos nativos possam desempenhar importante papel na aceleração da frutificação de cogumelos. Por isso, a esterilização da camada de cobertura resulta numa quebra de equilíbrio podendo permitir a contaminação por microrganismos oportunistas e patógenos (SILVA et al. 2007; COLAUTO; EIRA, 1998; CRESSWELL; HAYES, 1979). Algumas espécies de microrganismos estão presentes na camada de cobertura, atuando como

competidores (*Penicillium* sp., *Aspergillus* sp.), ao passo que outras espécies agem como parasitas, atacando o micélio ou o corpo de frutificação como, por exemplo, *Trichoderma* sp. e *Pseudomonas tolaasii*. Por isso, é essencial conhecer a procedência da terra, evitando, principalmente, os solos agrícolas.

Por outro lado, algumas espécies podem apresentar efeito benéfico para o cultivo, havendo relatos de que a formação de corpos de frutificação em *Agaricus bisporus* depende da presença de *Pseudomonas putida* (MOHAMMAD; SABBA, 2013). O exato mecanismo ainda não foi elucidado, porém, foi sugerido que o micélio do fungo produz compostos de autoinibição que, em seguida, são degradados pela bactéria (RAINEY, 1991). Posteriormente, verificou-se também que *Pseudomonas putida* acelera o desenvolvimento micelial e formação de corpos de frutificação em *Pleurotus ostreatus* (CHO et al., 2003). Silva et al. (2007) isolaram diferentes espécies de bactérias presentes na terra utilizada como cobertura para o cultivo do cogumelo *A. subrufescens*, dentre elas, algumas potencialmente patogênicas, como *Shigella* sp., *Yersinia* sp. e *Salmonella* sp. Segundo os autores, mesmo quando a terra foi submetida a diferentes tratamentos de desinfestação como o uso de formol ou vapor de água, essas bactérias continuaram presentes. Foram isoladas algumas espécies do gênero *Pseudomonas*, tais como *P. fluorescens*, *Pseudomonas cepacia* e *P. aeruginosa*, entretanto, a espécie *P. putida*, relatada como importante na indução da frutificação do cogumelo *A. bisporus*, não foi isolada a partir de nenhum dos solos estudados.

Depois de adicionada a camada de cobertura sobre o composto, ocorre o início do desenvolvimento micelial sobre a camada de cobertura e em aproximadamente 20 dias, inicia-se a formação de primórdios. Para os cogumelos do gênero *Agaricus*, no Brasil, a colheita é realizada no estágio de primórdio, isto é, antes de iniciar a abertura do píleo. É importante ressaltar

que é imprescindível respeitar as condições ambientais necessárias para a formação de corpos de frutificação durante todo o período de colheita de cogumelos, pois uma simples alteração dessas variáveis pode ocasionar a redução da produtividade. A umidade relativa do ar na casa de cultivo deve permanecer acima de 70%, e a camada de cobertura deve ser mantida úmida, porém, deve-se ter cautela para que, no momento da irrigação, não sejam molhados os primórdios, pois pode facilitar o desenvolvimento de bactérias no corpo de frutificação, ocasionando aborto (DIAS, 2010). A redução da temperatura para o cultivo de cogumelos da espécie *Agaricus subrufescens*, mesmo após a formação dos primórdios, ocasiona redução na velocidade de desenvolvimento do corpo de frutificação e, conseqüentemente, atraso no ciclo produtivo. A oferta de oxigênio durante essa etapa também é importante, pois teores acima de 1000ppm de CO<sub>2</sub> ocasionam o estiolamento da estirpe, deformando o corpo de frutificação e reduzindo seu valor comercial. A escolha de um ambiente em que seja permitida a oferta de oxigênio para o substrato é imprescindível, permitindo a formação de cogumelos com morfologia padrão, facilitando, com isso, sua comercialização.

## REFERÊNCIAS

CAVALCANTE, J. L. R. et al. Cultivation of *Agaricus blazei* in the environmental protection area of the Baturité region under three types of casing soils. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 513-517, 2008.

CHO, Y. S. et al. Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 218, n. 2, p. 271-276, 2003.

COLAUTO, N. B.; EIRA, A. F. Avaliação quantitativa da comunidade bacteriana na camada de cobertura de *Agaricus bisporus*. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 15-26, 1998.

COLAUTO, N. B. et al. Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 2, p. 712-716, Jan. 2010.

CRESSWELL, P. A.; HAYES, W. A. Further investigation on the bacterial ecology of the casing layer. **Mushroom Science**, Washington, v. 10, p. 347-359, 1979.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 795-803, jul./ago. 2010.

EIRA, A. F. **Cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (Murril) ss. Heinemann ou *Agaricus brasiliensis* (Wasser et al.)**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2003. 390 p.

FLEGG, P. B.; WOOD, D. A. Growth and fruiting. In: \_\_\_\_\_. **Biology and technology of the cultivated mushroom**. New York: J. Wiley, 1985. p. 141-177.

GÜLSER, C.; PEKSEN, A. Using tea waste as a new casing material in mushroom (*Agaricus bisporus* (L.) Sing.) cultivation. **Bioresource Technology**, Essex, v. 88, n. 2, p. 153-156, June 2003.

KERRIGAM, R. W. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. **Mycologia**, New York, v. 97, n. 1, p. 12-24, Jan./Feb. 2005.

KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M. T. A.; RODRIGUEZ, E. A. *Agaricus blazei* “the Almond Portobello”: cultivation and commercialization. **Mushroom News**, Washington, n. 54, p. 22-28, 2006.

KULCU, R.; YALDIZ, O. Determination of aeration rate and kinetics of composting some agricultural wastes. **Bioresource Technology**, Essex, v. 93, n. 1, p. 49-57, May 2004.

LARGETEAU, M. L. et al. The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: biology, cultivation and non-medicinal valorization. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 92, n. 5, p. 897-907, Dec. 2011.

MINHONI, M. T. A. et al. Avaliação de diferentes métodos de desinfestação da camada de cobertura no cultivo do cogumelo *Agaricus blazei* Murrill ss. Heinemann. In: FERTBIO, 22., 2006, Bonito. **Anais...** Bonito: Fertbio, 2006. 1 CD-ROM.

MINHONI, M. T. A.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; ANDRADE, M. C. N. **Cultivo de *Agaricus blazei* Murrill ss. Heinemann**. 3. ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2005. 141 p.

MOHAMMAD, A. O.; SABAA, A. E. Impact of some *Pseudomonas* spp. isolated from casing soil on the hyphal growth of *Agaricus bisporus*. **Canadian Journal on Computing in Mathematics, Natural Sciences, Engineering and Medicine**, Toronto, v. 4, n. 1, p. 45-48, 2013.



NOBLE, R. et al. Primordia initiation of mushroom (*Agaricus bisporus*) strains on axenic casing materials. **Mycologia**, New York, v. 95, n. 4, p. 620-629, July/Aug. 2003.

PARDO, A. et al. Assessment of different casing materials for use as peat alternatives in mushroom cultivation: evaluation of quantitative and qualitative production parameters. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 2, n. 2, p. 267-272, June 2004.

PARDO, A. G.; PARDO, J. E. G. Evaluation of casing materials made from spent mushroom substrate and coconut fibre pith for use in production of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 6, n. 4, p. 683-690, Dec. 2008.

PROCHNOW, L. L. et al. Controlling ammonia losses during manure composting with the addition of phosphogypsum and simple superphosphate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 346-349, May/Aug. 1995.

RAINEY, P. B. Effect of *Pseudomonas putida* on hyphal growth of *Agaricus bisporus*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 6, p. 699-704, 1991.

RANGEL, J. I. H. et al. Utilization of rice hulls as casing material for mushroom (*Agaricus*) production. **Micologia Neotropical Aplicada**, Toluca de Lerdo, v. 9, p. 29-41, Nov. 1996.

SILVA, V. A. et al. Isolation and identification of bacteria present in the casing layer utilized to the cultivation of the mushroom *Agaricus blazei* Murril. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1364-1373, set./out. 2007.

SIQUEIRA, F. G. et al. Cultivation of *Agaricus blazei* ss. Heineman using different soils as source of casing materials. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 6, p. 827-830, Nov./Dec. 2009.

WASSER, S. P. et al. Is a widely cultivated culinary-medicinal Royal Sun Agaricus (the Himematsutake Mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murrill. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, Redding, v. 4, n. 4, p. 267-290, 2002.

ZIED, D. C. et al. Characterization, feasibility and optimization of *Agaricus subrufescens* growth based on chemical elements on casing layer. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 19, n. 3, p. 343-347, July 2012.

\_\_\_\_\_. Medicinal mushroom growth as affected by non-axenic casing soil. **Pedosphere**, Bethesda, v. 21, n. 2, p. 146-153, Apr. 2011.

\_\_\_\_\_. Preparo e utilização de camadas de cobertura na região de São José do Rio Preto/ SP para o cultivo de *Agaricus blazei*. In: AMOSTRA CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2., 2006, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2006. 1 CD-ROM.

\_\_\_\_\_. Production of *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) on different casing layers and environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 26, n. 10, p. 1857-1863, Oct. 2010.

ZIED, D. C.; MINHONI, M. T. A. Influência do ambiente de cultivo na produção do cogumelo *Agaricus blazei* SS. Heinemann (*A. brasiliensis*). **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 24, n. 1, p. 17-34, 2009.

## CAPITULO 2

### PRODUÇÃO DO COGUMELO *AGARICUS SUBRUFESCENS* EM FUNÇÃO DO CHOQUE DE TEMPERATURA E DIFERENTES TIPOS DE CAMADA DE COBERTURA

#### RESUMO

Produtores de *Agaricus subrufescens* enfrentam dificuldades em uniformizar e/ou manter ótimos rendimentos em produtividade, mesmo produzindo ou adquirindo compostos de qualidade, visto que o sucesso do cultivo está relacionado à qualidade da camada de cobertura e da qualidade genética da linhagem utilizada. Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes variações do pH da camada de cobertura e a influência da temperatura sobre a frutificação de duas linhagens do cogumelo *A. subrufescens*. Foram realizados três experimentos: I- Efeito da concentração de calcário dolomítico na camada de cobertura; II- Efeito de diferentes combinações de camada de cobertura, utilizando latossolo, areia, Biofibra<sup>®</sup> e Bioplant Prata HT<sup>®</sup> (substratos para produção de mudas); III- Efeito da temperatura para indução da frutificação de duas linhagens de *A. subrufescens*. Os resultados demonstraram que o aumento da concentração de calcário proporcionou maior produtividade até 30% da massa total da camada de cobertura (pH 6,3), com uma produtividade de 16,7%. Para as combinações de camada de cobertura, o melhor resultado foi obtido com a combinação de areia e Biofibra<sup>®</sup> na proporção de 1:1 (v:v), com uma produtividade 19,2%. Não se observou efeito da temperatura de 16° C para indução da frutificação do cogumelo, para nenhuma das linhagens testadas, entretanto, observou-se que a linhagem ABL-49 apresentou maior produtividade do que a linhagem CS12 em todos os tratamentos. Os resultados obtidos demonstraram a importância do manejo adequado da camada de cobertura, bem como da utilização de materiais que permitam as características físico-químicas adequadas para a frutificação. Além disso, a utilização de uma linhagem de boa qualidade genética é essencial para o sucesso do cultivo, uma vez que a diferença de produtividade pode chegar a mais de 100% de uma linhagem para outra.

Palavras-chave: *Agaricus subrufescens*, cogumelo do sol, camada de cobertura, indução da frutificação.

## ABSTRACT

Producers of *Agaricus subrufescens* face difficulties in standardizing and/or maintain high yields in productivity, even producing or obtaining high quality composts, since the cultivation success is related to the quality of the casing layer and the genetic of the strain used. This study aimed to evaluate different pH variations of the casing layer and the influence of temperature on fruiting of two strains of the mushroom *A. subrufescens*. Three experiments were conducted: I-Effect of concentration of limestone in the casing layer; II-Effect of different combinations of the following casing layers: Oxisol, sand, Biofibra<sup>®</sup> and Bioplant Prata HT<sup>®</sup> (substrate for seedlings), III-Effect of temperature to induce fruiting bodies of two strains of *A. subrufescens*. The results show that the increasing concentration of limestone, up to 30% of the total weight of the casing layer (pH 6.3), provided the greatest yield of 16.7%. For the combinations of casing layer, the best result was obtained with the combination of sand and Biofibra<sup>®</sup> in the ratio of 1:1 (v: v) with a 19.2% yield. There was no effect of the temperature (16° C) to induce mushroom fruiting bodies on the strains tested, however, it was observed that the strain ABL-49 showed a higher productivity than the strain CS12 in all treatments. The results showed the importance of proper management of the casing layer, as well as the use of materials that allow the physicochemical characteristics suitable for fruiting. Furthermore, the use of a strain with great genetic quality is essential for a successful cultivation, since the difference in yield can reach more than 100% from a strain to another.

**Keywords:** *Agaricus subrufescens*, Himematsutake, casing layer, induction of fruiting.

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo do cogumelo *Agaricus subrufescens* é relativamente recente quando comparado ao *Agaricus bisporus*, o qual é cultivado há séculos. Em virtude disso, o cultivo de *A. subrufescens* foi estabelecido a partir da tecnologia de cultivo do cogumelo *A. bisporus*, uma vez que são espécies com ciclos de vida semelhantes (DIAS, 2010). Apesar disso, são espécies diferentes que evoluíram em regiões de climas diferentes e, por isso, a produtividade do cogumelo *A. subrufescens* é bastante inferior àquela obtida no cultivo de *A. bisporus*.

Dentre diferentes fatores que afetam o cultivo, sabe-se que, para atingir elevada produtividade, é necessário um substrato de qualidade colonizado por uma linhagem de boa qualidade genética, camada de cobertura adequada e manter as condições ambientais controladas de acordo com as necessidades da linhagem cultivada (OEI, 2003; PARDO; JUAN; PARDO, 2003; COLAUTO et al., 2011). Portanto, o sucesso do cultivo depende basicamente da combinação desses quatro fatores (linhagem, composto, camada de cobertura e ambiente de cultivo), uma vez que, se um deles não for atendido, a produção sofrerá perdas ou poderá ser comprometida completamente.

A camada de cobertura mais utilizada e recomendada para o cultivo de *Agaricus bisporus* é a turfa de musgo, utilizada desde o século XVII (CARON, 1987), principalmente na Europa e América do Norte. Entretanto, a turfa é um recurso não renovável, estando sujeita à exaustão, enfatizando que, sua extração descontrolada pode ocasionar sérios impactos ambientais (RANGEL et al., 2006; RANGEL et al., 1996). No Brasil, a extração de turfa é limitada por leis ambientais, havendo também poucos estudos sobre sua utilização como camada de cobertura para cultivo de cogumelos (COLAUTO et al., 2010b), o que limita

ainda mais a sua utilização, uma vez que não se conhece a sua qualidade para este propósito, por se tratar de material de origem completamente diferente da turfa de musgo. A falta de padronização da camada de cobertura é, provavelmente, uma das principais causas dos baixos rendimentos alcançados por produtores brasileiros, uma vez que não se tem ainda um substituto ideal para a turfa de musgo (MINHONI; KOPYTOWSKI FILHO; ANDRADE, 2005; FERMOR et al., 2000). Devido a isso, é importante buscar alternativas de substratos para serem utilizados como camada de cobertura, não somente para o Brasil como também para os demais países produtores de cogumelos, visto que, sua escassez é iminente por se tratar de um recurso não renovável (PARDO, 2004).

A busca por materiais alternativos deve levar em conta as propriedades desejáveis para garantir a indução da frutificação. O material utilizado como camada de cobertura deve ser atóxico, possuir boa aeração, boa capacidade de retenção de água, pH entre 6,5 e 7,5, elevada CTC (capacidade de troca catiônica), baixa concentração de sais solúveis, ausência de material orgânico não decomposto e ausência de organismos competidores e patógenos (EIRA, 2003; PARDO et al., 2003; ZIED et al., 2006).

O substituto imediato para a turfa é o solo, uma vez que este material foi utilizado como camada de cobertura no cultivo de *A. bisporus* antes do advento da turfa. Entretanto, existe grande diversidade de solos, com variadas características físico-químicas e biológicas, o que tem levado à necessidade de investigações na avaliação de diferentes tipos de solos e manejo (ZIED, et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2009). A principal limitação para o uso do solo é a dificuldade de padronizar sua qualidade em função desta grande variação encontrada. Portanto, o ideal seria determinar algum material inerte que, adicionado a qualquer tipo de solo ou areia, pudesse garantir melhorias nas

características da camada de cobertura. Por isso, diferentes materiais já foram testados como componentes da camada de cobertura, tais como composto pós-cultivo, resíduos do processamento de chá, adição de casca de pínus, moinha de carvão vegetal, além da adição de fontes de cálcio (PARDO et al., 2010).

Além de uma camada de cobertura de qualidade, é importante também controlar as variantes ambientais para o cultivo de *A. bisporus*, é necessário manter a temperatura em torno de 18°C durante toda a etapa de frutificação (LARGETEAU et al., 2011), enquanto que, para o cultivo de *A. subrufescens* não há, por enquanto, um consenso acerca do manejo de temperatura. Tem sido prática comum manter a mesma temperatura utilizada durante a colonização do composto também para a fase de frutificação. Entretanto, alguns autores recomendam um choque térmico para a indução da frutificação, com uma redução de 4 a 8° C durante um período de 3 a 4 dias (MINHONI et al. 2005; GREGORI et al. 2008; KOPYTOWSKI FILHO et al., 2008). Outros autores, entretanto, apenas recomendam que se mantenha a temperatura entre 21 e 27° C (MENDONÇA et al. 2005; CHANG, 2008; COLAUTO et al. 2010a). Segundo LARGETEAU et al. (2011), temperaturas abaixo de 20°C e acima de 35°C inibem o crescimento micelial de *A. subrufescens* e, acima de 45°C, acarreta morte micelial, ao passo que temperaturas abaixo de 4°C por um longo período pode também ocasionar a morte micelial. Essa grande variação na recomendação de temperatura para a indução da frutificação pode estar relacionada às adaptações das diferentes linhagens de *A. subrufescens* e, por isso, requer a condução de estudos mais detalhados e conclusivos para a definição do manejo correto da temperatura ideal para a frutificação do cogumelo.

Portanto, este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito da variação de pH utilizando diferentes concentrações de calcário dolomítico na camada de cobertura; avaliar o efeito da redução da temperatura sobre a indução da

frutificação de duas linhagens de *Agaricus subrufences* e avaliar o uso dos substratos comerciais Biofibra® e Bioplant Prata HT® como componentes da camada de cobertura, em combinação com Latossolo Vermelho Distroférico ou areia grossa.



## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Preparo do inóculo de *Agaricus subrufescens***

As culturas de *Agaricus subrufescens* foram reativadas e mantidas em meio de cultura BDA, com incubação a 26°C, a fim de obter a matriz primária. A matriz secundária (*spawn*) foi preparada em substrato contendo 90% de arroz em casca e 10% de farelo de trigo, suplementado com 2% de gesso agrícola e 2% de calcário calcítico, tendo como base o peso total da mistura dos ingredientes principais (arroz e farelo de trigo). Primeiramente, o arroz foi pré-cozido em água por 30 minutos e, após drenar o excesso de água, foi misturado ao farelo de trigo contendo 65% de umidade e previamente autoclavado a 121°C por 30 minutos. Após adicionar o gesso e o calcário, a mistura foi acondicionada em frascos com capacidade para 200 mL, tampados e autoclavados por 2 horas, duas vezes, com intervalo de 24 horas. Os frascos, após atingirem temperatura ambiente, foram inoculados com fragmentos do meio BDA colonizados por *A. subrufescens* em câmara de fluxo laminar.

### **2.2 Inoculação e colonização do composto**

O composto foi produzido segundo procedimentos convencionas (Fase I e Fase II), formulado a partir da metodologia descrita por Siqueira et al. (2011), utilizando concentração inicial de nitrogênio a 1,5%, inoculado com aproximadamente 3% da matriz secundária, a qual foi misturada ao composto para permitir a colonização rápida e uniforme. Em seguida, foi acondicionado em caixas plásticas, as quais foram mantidas tampadas e incubadas a temperatura ambiente (18-28°C) por 30 dias, até o composto apresentar-se

totalmente colonizado. Após, foram retiradas amostras aleatórias, pesadas e incubadas em estufa de ventilação forçada a 65°C para determinar o teor de umidade do substrato colonizado (amostra seca ao ar), para o cálculo posterior da eficiência biológica.

### **2.3 Camada de cobertura e indução da frutificação**

A partir do momento em que se completou a colonização, o composto foi nivelado e coberto com cinco centímetros de camada de cobertura, de acordo com cada tratamento. Após a colonização da camada de cobertura, a concentração de CO<sub>2</sub> foi mantida abaixo de 1000 ppm durante todo o ciclo produtivo, além de manter a umidade sempre acima de 70%, deixando a temperatura variar naturalmente, com exceção do experimento de avaliação do choque de temperatura, quando a mesma foi controlada de acordo com cada tratamento. Os cogumelos foram colhidos sempre que apresentaram tamanho máximo antes de iniciar a abertura do píleo. O excesso de terra de cada cogumelo colhido foi removido com auxílio de um pincel, e os cogumelos foram contados e pesados, para posterior cálculo da eficiência biológica ( $EB = [\text{massa de cogumelos frescos}/\text{massa de composto desidratado}] \times 100$ ), produtividade ( $P = [\text{massa de cogumelos frescos}/\text{massa de composto úmido}] \times 100$ ) e definição dos fluxos de produção.

### **2.4 Cálculo da eficiência biológica e produtividade**

A eficiência biológica foi determinada considerando a razão da massa de cogumelos frescos colhidos, pelo peso do composto desidratado, em percentual.

A produtividade foi calculada de forma semelhante, porém, considerando-se a razão da produção de cogumelos frescos, por composto úmido.

## **2.5 Experimento I: Efeito da concentração de calcário/pH**

A camada de cobertura para este experimento foi o Latossolo Vermelho distroférico de horizonte B com textura franco-arenosa (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 1999). A terra foi seca ao sol e peneirada para eliminar raízes e torrões de tamanho maior que um centímetro. Após este processo, foram coletadas 20 amostras simples, as quais foram misturadas para formar uma amostra composta, que foi submetida à análise de solo, permitindo assim calcular a quantidade de calcário dolomítico a ser adicionado em cada tratamento. Através do resultado de análise do solo, foram determinadas cinco concentrações de calcário dolomítico, constituindo assim os tratamentos em função da concentração de calcário dolomítico: T1 (controle – sem adição de calcário), T2 (10%), T3 (20%), T4 (30%) e T5 (40%), os quais, após o período de incubação, resultaram nos valores de pH descritos na Tabela 1. O tempo de incubação utilizado para ocorrer completa reação do calcário com o solo foi de 90 dias (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ; 1999; RAIJ, et al., 1997) e, somente, após esse período os tratamentos foram utilizados para a indução da frutificação.

Todos os procedimentos de manejo foram feitos conforme descrito anteriormente. Cada tratamento foi composto de cinco repetições, totalizando 25 parcelas experimentais em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos ao teste estatístico de Scott-Knott com 5% de probabilidade, utilizando o software Sisvar<sup>®</sup> (FERREIRA, 2011).

Tabela 1 Percentual de calcário dolomítico adicionado à camada de cobertura e os valores de pH resultantes de cada tratamento.

Tratamentos	Calcário dolomítico (%)	pH do solo após adição do calcário
T <sub>1</sub>	0	4,5
T <sub>2</sub>	10	5,5
T <sub>3</sub>	20	6,0
T <sub>4</sub>	30	6,3
T <sub>5</sub>	40	6,7

## 2.6 Experimento II: Efeito de diferentes componentes da camada de cobertura

Os materiais utilizados neste experimento, bem como as suas características, estão descritas na Tabela 2, enquanto que as diferentes combinações de solo ou areia com os substratos comerciais estão descritos na Tabela 3. Foi utilizado o mesmo solo descrito no item anterior, seguindo-se também os mesmos procedimentos para a sua obtenção.

Cada um desses materiais foram utilizados puros ou combinados, assim definidos: I- Latossolo Vermelho distroférico 100% (Testemunha); II- Latossolo Vermelho distroférico 50% + Bioplant Prata HT<sup>®</sup> 50%; III- Latossolo Vermelho distroférico 50% + Biofibra<sup>®</sup> 50%; IV- areia grossa 50% + Bioplant Prata HT<sup>®</sup> 50%; V- areia grossa 50% + Biofibra<sup>®</sup> 50%, VI- Bioplant Prata HT<sup>®</sup> 100%; VII- Biofibra<sup>®</sup> 100% (Tabela 3). Cada experimento foi composto por quatro repetições delineadas inteiramente ao acaso, totalizando 28 parcelas experimentais, sendo posteriormente avaliado o rendimento através do Teste de

Tukey a 5% de probabilidade, com o auxílio do software Sisvar<sup>®</sup> (FERREIRA, 2011).

TABELA 2 Características e/ou formulação de cada substrato utilizado na composição da camada de cobertura utilizada no cultivo do cogumelo *A. subrufescens*.

Substrato	Composição
Biofibra <sup>®*</sup>	Fibra e pó de coco, agregantes e nutrientes
Bioplant Prata HT <sup>®*</sup>	Casca de Pinus carbonizada, agregantes, fibra de coco, vermiculita, casca de arroz e nutrientes
Areia lavada	Areia lavada com granulometria entre 0,2 a 2 mm
Latossolo <sup>**</sup>	Latossolo vermelho distroférico, com adição de 25% de moinha de vegetal e 5% de calcário calcítico

\*Dados fornecidos pela empresa Bioplant Agrícola Ltda

\*\* Metodologia segundo Siqueira et al. (2009).

Tabela 3 Formulação dos diferentes tratamentos de camada de cobertura para o cultivo do cogumelo *A. subrufescens*.

Substrato	Latossolo	Biofibra <sup>®</sup>	Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	Areia
Tratamento 1	100%	0%	0%	0%
Tratamento 2	50%	50%	0%	0%
Tratamento 3	50%	0%	50%	0%
Tratamento 4	0%	0%	50%	50%
Tratamento 5	0%	50%	0%	50%
Tratamento 6	0%	0%	100%	0%
Tratamento 7	0%	100%	0%	0%

### **2.7 Experimento III: Efeito do choque de temperatura sobre a frutificação**

Para este experimento, foram utilizadas duas linhagens de *A. subrufescens* (CS12, pertencente à Coleção de Fungos do Laboratório de Cogumelos Comestíveis da Universidade Federal de Lavras e ABL 49, pertencente à coleção do Módulo de Cogumelos Comestíveis da Universidade Estadual Paulista de Botucatu. O composto colonizado foi acondicionado em caixas plásticas (20 kg/caixa), nivelado e coberto com cinco centímetros de camada de cobertura constituída por Latossolo Vermelho distroférico de horizonte B, com textura franco-arenosa (EMBRAPA, 1999), adicionado com 5% de calcário calcítico e 25% de moinha de carvão vegetal como camada de cobertura. A temperatura foi mantida entre 21-26°C durante 15 dias, até a camada de cobertura apresentar-se completamente colonizada. Após a colonização, as caixas foram transferidas para uma sala com temperatura controlada de 16°C e umidade acima de 70%, por diferentes períodos de tempo (4, 6 e 8 dias). Como controle foram utilizadas parcelas mantidas à temperatura de 21-26°C durante todo o ciclo de cultivo. Logo após o tratamento de temperatura, as caixas foram novamente transferidas para a sala de cultivo, juntamente com o tratamento controle. A concentração de CO<sub>2</sub> foi mantida sempre abaixo de 1000 ppm durante todo o cultivo. Cada fluxo de produtividade durou 30 dias, totalizando cinco fluxos e, antes do início de cada fluxo, os tratamentos foram repetidos pelos mesmos períodos de tempo. O delineamento estatístico foi conduzindo em esquema fatorial 2x4 (duas linhagem de cogumelo e quatro períodos de tempo a 16°C), com seis repetições, totalizando 48 parcelas experimentais (Tabela 4).

Os resultados de cada parcela foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade com o auxílio do software Sisvar<sup>®</sup> (FEREIRA, 2011).

Tabela 4 Características de cada tratamento do experimento com redução da temperatura momentos antes do início de cada fluxo produtivo no cultivo de *A. subrufences*.

Tratamento	Linhagem	Redução da temperatura a 16°C (dias)
1	CS12	0 dias
2	CS12	4 dias
3	CS12	6 dias
4	CS12	8 dias
5	ABL 49	0 dias
6	ABL 49	4 dias
7	ABL 49	6 dias
8	ABL 49	8 dias

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Experimento I: Efeito da concentração de calcário na camada de cobertura**

A adição de calcário ao solo utilizado como camada de cobertura afetou positivamente a produtividade do cogumelo *A. subrufescens*, observando-se uma resposta de produtividade em concentrações crescentes de calcário até o valor de 30% (Tabela 5). Segundo Zied et al. (2012), a correção prévia do pH do solo utilizado como camada de cobertura é necessária para o sucesso do cultivo. Entretanto, a maioria dos produtores não faz a correção do pH com base na análise do solo, adotando proporções de calcário sem levar em conta as características do solo utilizado. Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a adição de calcário deve ser feita de forma a elevar a saturação de bases para valores próximos ou superiores a 50% e o pH para valores acima de 6,0. De modo geral, a literatura cita o pH 7,0 como ideal para a camada de cobertura (COLAUTO et al., 2010b), entretanto, a produtividade máxima, neste trabalho, foi obtida quando atingiu-se o pH 6,3. Conforme demonstrado na Figura 1, observou-se uma resposta crescente na produtividade do cogumelo até a concentração de 30%, quando verificou-se uma tendência de estabilização da produtividade.





Figura 1 Produtividade do cogumelo *A. subrufescens* em função da concentração de calcário (%) na camada de cobertura.

É provável que o pH ideal seja dependente do tipo de solo utilizado, de modo que trabalhos futuros deverão ser conduzidos para avaliar este parâmetro em diferentes tipos de solo.

Tabela 5 Produtividade e eficiência biológica do cultivo de *Agaricus subrufescens* CS1, tendo como variável a saturação de bases em diferentes percentuais de calcário dolomítico no Latossolo Vermelho distroférico usado como camada de cobertura.

Concentração de calcário (%)	pH do solo após adição do calcário	Produtividade (%)	Eficiência Biológica (%)
0	4,5	11,4 b	37,9 b
10	5,5	12,1 b	40,1 b
20	6,0	13,8ab	45,9 ab
30	6,3	16,7 a	55,5 a
40	6,7	16,8 a	56,1 a

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

### 3.2 Experimento II: Efeito de diferentes componentes da camada de cobertura

O tempo observado para o início da formação dos corpos de frutificação variou de 27 a 42 dias (Tabela 6). O início da frutificação ocorreu mais cedo nos tratamentos que receberam o substrato Bioplant Prata HT<sup>®</sup>, para os quais a frutificação ocorreu 27 dias após a adição da camada de cobertura. A frutificação foi mais tardia nos tratamentos que receberam o substrato Biofibra<sup>®</sup>, os quais variaram de 29 a 42 dias. É importante observar, entretanto, que quando o substrato Biofibra<sup>®</sup> foi utilizado puro como camada de cobertura, a frutificação iniciou-se com 29 dias da adição da mesma sobre o composto, ou seja, com um tempo estatisticamente idêntico ao substrato Bioplant Prata HT<sup>®</sup>.

Tabela 6 Relação da colheita do primeiro cogumelo de cada tratamento em função de dias após a indução da frutificação

Tratamento	Dias após indução da frutificação
Areia + Biofibra <sup>®</sup>	42 B
Areia + Bioplant	27 A
Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	27 A
Latossolo + Biofibra <sup>®</sup>	56 C
Latossolo + Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	27 A
Latossolo	39 B
Biofibra <sup>®</sup>	29 A
CV* (%)	9,4

\*As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade. \*\* Coeficiente de Variação.

Em contrapartida, apesar de apresentarem frutificação tardia, a combinação areia + Biofibra<sup>®</sup> apresentou o melhor resultado de produção de cogumelos, destacando-se de todos os demais tratamentos, com uma produtividade de 19,2% (Tabela 7). As colheitas foram separadas em quatro

fluxos, sendo que cada fluxo foi definido com o intervalo de 30 dias (Figura 2). Para os dois primeiros fluxos, foram observadas temperaturas máximas entre 25 e 30° C, enquanto que, para os dois últimos fluxos, as temperaturas máximas ficaram abaixo de 25° C e temperaturas mínimas abaixo de 15° C. Apesar de temperaturas mínimas muito baixas, a oscilação de temperatura entre 11 e 23° C (Figura 3), permitiu ao tratamento areia+Biofibra<sup>®</sup> um último fluxo de produção praticamente idêntico aos primeiros (Figura 2). Os tratamentos com a combinação de areia+Biofibra<sup>®</sup> e Latossolo+Biofibra<sup>®</sup>, que apresentaram frutificação mais tardia, não produziram cogumelos no primeiro fluxo (Figura 2). É possível que este substrato apresente algum componente com efeito inibitório, não permanente, do processo de frutificação.

Tabela 7 Eficiência biológica (EB) e produtividade (P) do cogumelo *A. subrufescens* em função da camada de cobertura.

Tratamentos	EB (%)	P (%)
Areia + Biofibra <sup>®</sup>	48,04 A*	19,2 A
Areia + Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	23,23 B	9,3 B
Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	14,90 B	6,0 B
Latossolo + Biofibra <sup>®</sup>	9,81 B	3,9 B
Latossolo + Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	9,14 B	3,7 B
Latossolo (controle)	8,73 B	3,5 B
Biofibra <sup>®</sup>	8,05 B	3,2 B
DMS**	24,31	9,7

\*As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. \*\*Diferença média significativa.

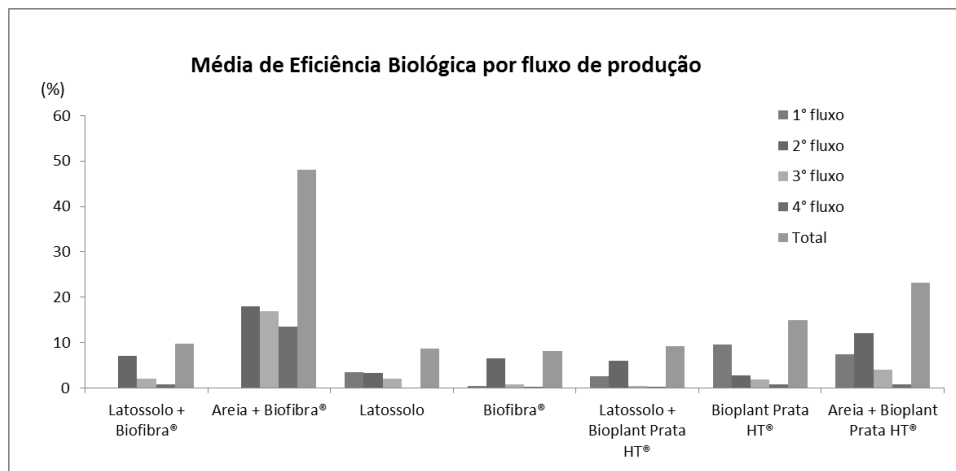


Figura 2 Eficiência biológica do cogumelo *A. subrufescens*, por fluxo produtivo, em função dos tratamentos de camada de cobertura.

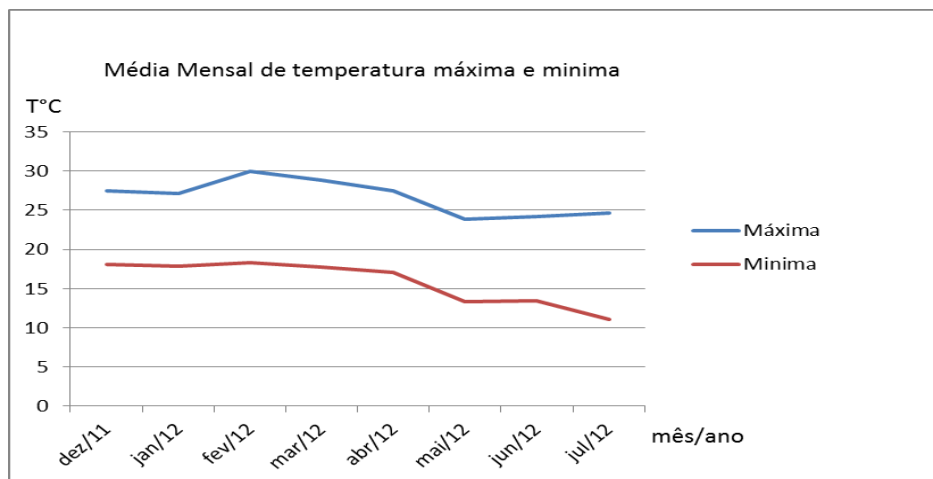


Figura 3 Médias mensais de temperaturas máxima e mínima durante o período de cultivo, desde a inoculação do composto até o final da colheita, no cultivo do cogumelo *A. subrufescens*.

O segundo melhor resultado de produtividade e eficiência biológica do cogumelo *A. subrufescens* foi obtido com o tratamento areia + Bioplant Prata

HT<sup>®</sup>. Embora as diferenças não tenham sido significativas em relação aos demais tratamentos, esse resultado sugere que a areia é um bom componente para ser utilizado na camada de cobertura, provavelmente, por favorecer a porosidade da mesma. Entretanto, quando os substratos Biofibra<sup>®</sup> e Bioplant Prata HT<sup>®</sup> foram utilizados como únicos componentes da camada de cobertura, não foram obtidos bons resultados de produtividade (Figura 4). Portanto, esses substratos comerciais agregam valor à camada de cobertura, entretanto, quando utilizados puros, os mesmos não possuem todas as características físico-químicas necessárias à camada de cobertura. Normalmente, a produtividade do cogumelo *A. subrufescens* situa-se entre 10 e 15% (SIQUEIRA et al., 2011; COLAUTO et al., 2010a; ZIED et al., 2010), mas, neste trabalho, foi obtida uma produtividade de 19,24% quando foi utilizada a mistura de areia e Biofibra<sup>®</sup>.

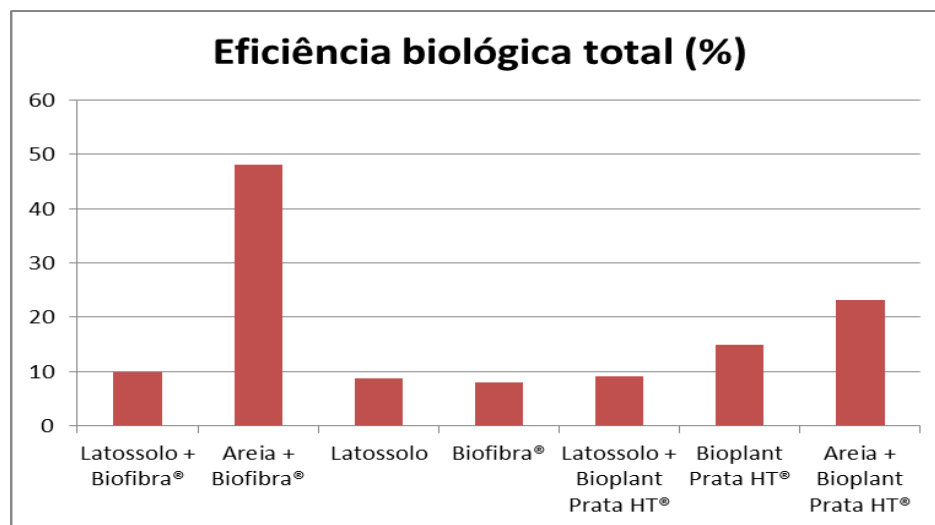


Figura 4 Eficiência biológica total, em função dos tratamentos de camada de cobertura no cultivo do cogumelo *A. subrufescens*.

A areia pura não é considerada um substrato adequado como camada de cobertura por não possuir boa capacidade de retenção de água, a qual é um fator de grande importância na formação de corpos de frutificação. A água acumulada na camada de cobertura é extremamente importante para o desenvolvimento dos cogumelos e, quando a mesma não é retida de forma eficiente, tornam-se necessárias irrigações mais frequentes e, ao mesmo tempo, aumenta a probabilidade de encharcamento do substrato de cultivo, favorecendo a condição de anaerobiose no composto, a qual é desfavorável à manutenção das propriedades físico-químicas do composto de cultivo (COLAUTO, et al., 2010a). Portanto, a adição de substratos à base de fibra de coco aumenta a capacidade de absorção e retenção de água e, quando combinado com areia, alcança elevada porosidade, tendo como resultado uma camada de cobertura de excelente qualidade, com alta capacidade de retenção de água e elevada porosidade. A produtividade de 19,2% obtida pela mistura desses dois ingredientes, provavelmente foi obtida pela combinação desses dois fatores, os quais dificilmente poderiam ser encontrados apenas em solos naturais ou nos substratos comerciais. Pardo-Gimenez, Pardo-González e Zied (2011), relataram a utilização de uma mistura de fibra de coco, casca de pinus e composto pós-cultivo de cogumelo com solo, concluindo que os melhores resultados foram obtidos na mistura de solo com a fibra de coco, sendo, portanto, recomendada para o cultivo comercial do Champignon. Em experimento similar, Pardo et al. (2004) afirmou que o uso da fibra de coco combinados com outros substratos pode ocasionar rendimentos similares à turfa de musgo, permitindo assim sua substituição sem restrições. Ainda, os experimentos de Ram e Kumar (2010), também empregando resíduos de coco combinados à turfa para o cultivo de *A. bisporus*, mostraram produtividades próximas de 30%, originando assim camadas de cobertura com qualidades equivalentes ao uso de turfa de musgo pura.

O tratamento constituído da mistura de Areia e Biofibra® não apresentou o maior número de cogumelos por parcela, entretanto, apresentou massa média de cogumelos maior, quando comparado aos demais tratamentos, resultando em maior produção e melhor qualidade dos cogumelos. Esses resultados são interessantes, uma vez que o mais comum é que os tratamentos com maior produtividade apresentem maior número de cogumelos, porém, com massa média menor. Portanto, além de apresentar maior produção, a combinação de areia com Biofibra® resultou também em cogumelos de melhor qualidade, uma vez que cogumelos maiores possuem valor de mercado superior. A média em massa para cada cogumelo colhido foi de 24,1g para este tratamento, quando comparado ao tratamento controle Latossolo Vermelho distroférico, em que se obteve massa média de 15,18 gramas (Tabela 8).

Tabela 8 Número médio e massa média de cogumelos por parcela experimental, no cultivo do cogumelo *A. subrufescens*.

Tratamento	Número de Cogumelos (unidades)	Massa média de cogumelos (g)
Areia + Biofibra®	26,00 A	24,10 A
Areia + Bioplant Prata HT®	28,50 A	13,91 B
Bioplant®	22,50 A	11,88 B
Latossolo+Biofibra®	10,50 B	23,16 A
Latossolo+Bioplant Prata HT®	13,75 B	13,74 B
Latossolo	11,00 B	15,18 B
Biofibra®	10,50 B	14,82 B
CV** (%)	27,03	31,30

As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade. \* Coeficiente de variação em percentual.

Pardo-Gimenez, Pardo-González e Zied (2011) utilizaram fibra de coco e casca de pinus misturados a solo mineral como camada de cobertura para o

cultivo de *A. bisporus* (Champignon) e observaram maior eficiência biológica quando utilizaram cada um desses aditivos misturados ao solo (3 partes de solo: 1 parte do aditivo). Ao contrário dos resultados obtidos pelos autores, no presente trabalho não foi observado efeito positivo da adição do Biofibra® ou Bioplant Prata HT® ao Latossolo Vermelho distroférico. Essa diferença pode ter ocorrido em função da proporção utilizada ou pelas diferenças físico-químicas entre os substratos e/ou tipos de solo. A camada de cobertura composta de areia + Bioplant Prata HT® proporcionou a segunda melhor produtividade (9,29%), entretanto, esse valor não foi diferente estatisticamente dos demais tratamentos. Apesar disso, pode-se afirmar que os melhores valores de produtividade foram obtidos com areia combinada com Biofibra® ou Bioplant Prata HT®, o que sugere que a utilização de um material inerte pode ser mais interessante para a combinação com aditivos ricos em matéria orgânica. Deve-se observar também que a menor produtividade foi obtida quando se utilizou apenas Biofibra® como camada de cobertura. Resultados semelhantes foram obtidos por Rangel et al. (2006) quando utilizaram fibra de coco não processada como camada de cobertura. De acordo com os autores, os melhores resultados foram obtidos com uma mistura de 75% de fibra de coco não processada com solo preto, em volume, atingindo produtividade de 25% a mais do que o tratamento que utilizou somente solo preto.

Dentre as características ideais de uma camada de cobertura, apontam-se a elevada capacidade de retenção de água e a alta porosidade, as quais são excludentes para a maioria dos tipos de solo, uma vez que, quanto maior o teor de argila de um solo, maior é a sua capacidade de retenção de água e menor é a sua porosidade e vice-versa. Isso poderia explicar o sucesso da mistura entre dois substratos que, quando utilizados separadamente, não funcionam bem como camada de cobertura, como é o caso da Biofibra® e da areia. Quando se utilizou Biofibra® pura como camada de cobertura, ocorreu uma colonização mais



intensa, formando uma camada micelial densa sobre a camada de cobertura, tornando-a impermeável, e reduzindo também as trocas gasosas. Esse efeito pode justificar a produtividade inferior obtida pelo tratamento, entretanto, outros fatores podem estar envolvidos, como o teor de sais solúveis presentes. Segundo Hayes (1981), é aceito que os substratos utilizados como camada de cobertura devem possuir baixa condutividade elétrica, isto é, baixa concentração de sais solúveis, caracterizando assim um substrato pobre em minerais facilmente assimiláveis. Rangel et. al. (2006) verificaram que a condutividade elétrica da fibra de coco é de  $2.940\mu/\text{cm}$ , sendo muito alta quando comparada à turfa de musgo, que possui condutividade elétrica próxima a  $490\ \mu/\text{cm}$ . Este elevado teor de sais encontrado na fibra de coco, cujos dados foram também confirmados por Pardo, Juan e Pardo (2003), é uma característica negativa para uma camada de cobertura. Portanto, além de ser rica em matéria orgânica, a fibra de coco também é rica em sais solúveis. Devido a isso, quando utilizada de forma pura, em vez de gerar o estresse ambiental necessário para a frutificação do cogumelo, acaba por ser utilizada pelo fungo como um substrato de crescimento micelial, o que é evidenciado pela intensa colonização da camada de cobertura. Essas informações sugerem que a Biofibra® deve ser misturada com um material inerte para garantir a redução da quantidade de sais solúveis e, conseqüentemente, empobrecer nutricionalmente a camada de cobertura. Isso poderia explicar a razão de a areia funcionar melhor como material base para a camada de cobertura do que o Latossolo Vermelho distroférico (Tabela 9).

Tabela 9 Valores de pH, condutividade elétrica e salinidade dos tratamentos de camada de cobertura utilizados no cultivo do cogumelo *A. subrufescens*.

Tratamento	pH	Condutividade elétrica ( $\mu\text{s}$ )	Salinidade (ppm)
Areia + Biofibra <sup>®</sup>	7,5	267	196
Areia + Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	7,0	852	478
Bioplant <sup>®</sup>	6,5	1380	685
Latossolo + Biofibra <sup>®</sup>	7,3	242	115
Latossolo + Bioplant Prata HT <sup>®</sup>	6,5	880	477
Latossolo	6,8	55,8	32,3
Biofibra <sup>®</sup>	7,2	300	200

Segundo Pardo (2004), valores de condutividade elétrica acima de  $1.600\mu/\text{cm}$ , na camada de cobertura, promovem redução substancial no rendimento de cogumelos. As combinações de camada de cobertura utilizadas no presente trabalho estiveram em valores de condutividade elétrica inferior a  $1.600\mu/\text{cm}$  em todos os tratamentos (Tabela 5). Pardo-Giménez, Pardo-González e Zied (2011), avaliando a possibilidade de adição de substrato exaurido de cogumelo na camada de cobertura, observaram que, quanto maior a proporção de substrato exaurido adicionado, maior será a condutividade elétrica, relatando também que menores rendimentos produtivos ocorreram após a condutividade elétrica da camada de cobertura ser verificada acima de  $1600\mu/\text{cm}$ . Cavalcante e Gomes (2005) utilizaram Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 1999) como substrato base em combinação com fibra de coco, vermiculita e carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) na proporção 20:10:10:0,3. Este solo caracteriza-se por apresentar grande quantidade de areia, por isso, os autores utilizaram vermiculita e fibra de coco com o objetivo de aumentar a capacidade de retenção de água e manter a porosidade da camada de cobertura. Entretanto, a maior produtividade obtida foi de 6,5% em cultivo a céu aberto, portanto, inferior à produtividade obtida no presente trabalho quando se utilizou areia combinada com Biofibra<sup>®</sup>. Vários fatores podem ter contribuído para uma

produtividade aquém do esperado no trabalho dos autores, tais como a qualidade do composto, a linhagem selecionada e falta de controle do ambiente de cultivo. É possível também que a utilização de um solo, ainda que arenoso, em vez de areia lavada, tenha contribuído para a baixa produtividade, uma vez que o resultado obtido pelos autores tenha sido semelhante ao obtido neste trabalho quando se utilizou Bioplant Prata HT<sup>®</sup>, o qual resultou em produtividade de 5,96% (Tabela 7).

A utilização de areia lavada grossa em mistura com Biofibra<sup>®</sup> representa um grande avanço no cultivo do cogumelo *A. subrufescens*, uma vez que os dois materiais são de fácil obtenção e relativamente padronizados. Para o produtor, esse resultado é de relevância, uma vez que a utilização de solo sempre requer cuidado redobrado para não ocasionar grandes variações, as quais podem comprometer o sucesso do cultivo.

### **3.3 Experimento III: Efeito do choque de temperatura sobre a frutificação**

Através de informações referentes à data da primeira colheita após a indução da frutificação, já foi possível verificar a influência das linhagens e a redução da temperatura momentos antes a cada início de fluxo produtivo sobre o rendimento de *A. subrufescens*. De maneira geral, percebe-se nitidamente maior precocidade e produtividade pela linhagem ABL 49 em comparação com a linhagem CS12, visto que a linhagem ABL 49 já apresentou cogumelos para a colheita após o 21<sup>o</sup> dia da indução da frutificação, exceto no tratamento com redução de temperatura por oito dias. Ao avaliar a linhagem CS12, a colheita somente iniciou após o 46<sup>o</sup> dia, quando submetida aos tratamentos de redução da temperatura (Tabela 10). Ao comparar os fluxos produtivos, essa afirmação torna-se mais evidente, confirmando que a linhagem CS12 é tardia e menos

produtiva comparada à ABL 49; isto é, em praticamente todos os fluxos produtivos, o rendimento da linhagem ABL 49 foi visualmente superior e, conseqüentemente, o rendimento final foi muito maior (Figura 5). Evidencia-se também que, em ambas as linhagens, os melhores rendimentos ocorreram no segundo e quinto fluxos produtivos, demonstrando que o período de colheita para *A. subrufescens* pode ser estendido por até cinco meses, caso não haja infestação por pragas e doenças.

Tabela 10 Tempo de início da frutificação do cogumelo *A. subrufescens*, em função dos tratamentos de choque térmico.

<b>Redução de temperatura a 16°C</b>	<b>Linhagem</b>	<b>Dias após indução da frutificação</b>
0 dias	CS12	29 B*
4 dias	CS12	46 C
6 dias	CS12	47 C
8 dias	CS12	56 D
0 dias	ABL 49	29 B
4 dias	ABL 49	21 A
6 dias	ABL 49	21 A
8 dias	ABL 49	45 C
CV** (%)		10,9

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade. \*\* Coeficiente de Variação.

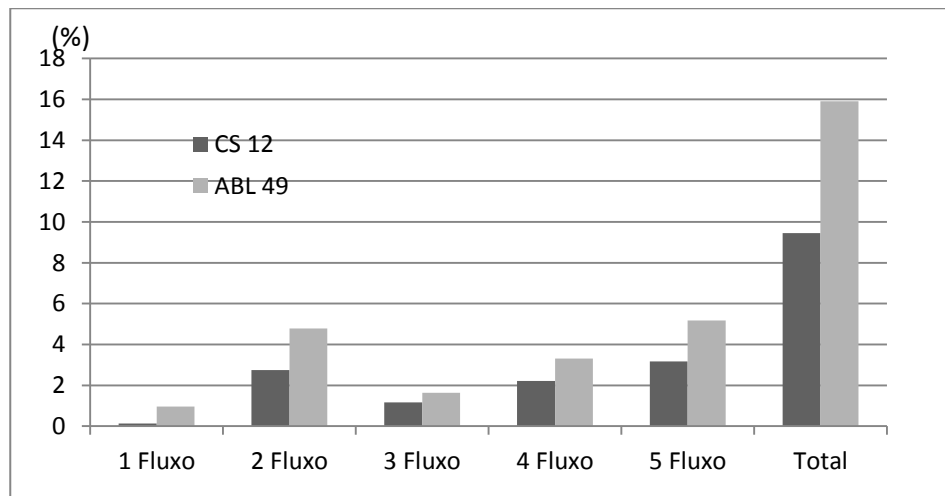


Figura 5 Produtividade das linhagens ABL 49 e CS 12 de *A. subrufescens*, em cada fluxo produtivo.

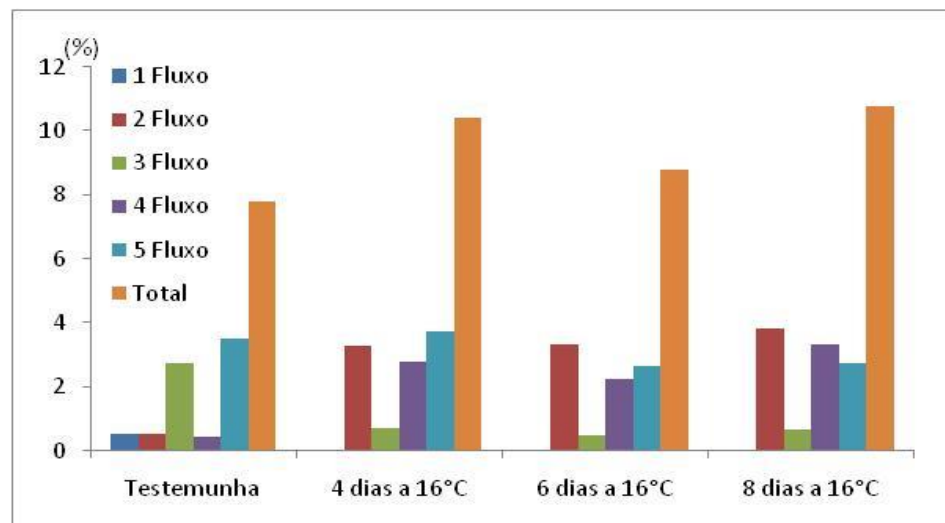


Figura 6 Produtividade da linhagem CS12 de *A. subrufescens*, em função dos diferentes períodos de choque térmico, durante os fluxos de produção.

Os diferentes tratamentos de choque de temperatura, em relação aos períodos de tempo, não interferiram na produtividade e eficiência biológica final

do cogumelo *A. subrufescens*, (Figuras 5 e 6; Tabela 11). Entretanto, para ambas as linhagens, observou-se um pico de produção no segundo fluxo (Figuras 6 e 7), o que poderia indicar uma possibilidade de um ciclo de cultivo mais curto, em relação ao controle. Ao se comparar os resultados da linhagem ABL 49, evidenciou-se, no tratamento controle, uma produtividade crescente a cada fluxo produtivo, o que não ocorreu nos tratamentos a 16° C, que alternou picos de produção com fluxos menos produtivos. Praticamente todos os tratamentos apresentaram um pico produtivo durante o segundo fluxo de colheita, demonstrando que os tratamentos de redução de temperatura podem ser capazes de induzir a frutificação mais rapidamente em *A. subrufences*. Essa tendência foi mais evidente no tratamento de 8 dias a 16° C (Figura 6 e 7).

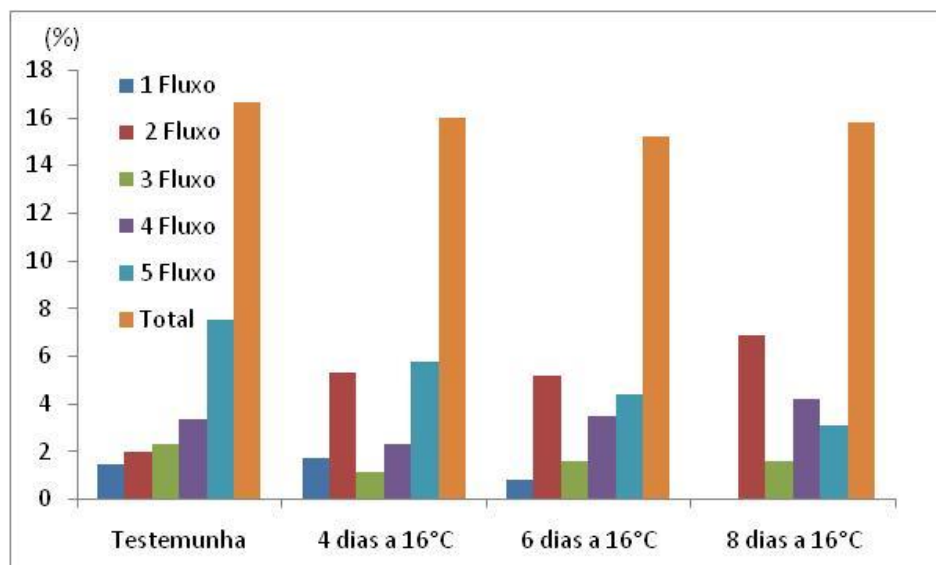


Figura 7 Produtividade da linhagem ABL 49 de *A. subrufescens*, em função dos diferentes períodos de choque térmico, durante os fluxos de produção.

O tratamento a 16° C por 8 dias implica maior gasto de energia, sendo um procedimento ainda inviável para as condições brasileiras, mas, por outro

lado, esses resultados indicam que é possível alcançar um ciclo de cultivo mais curto para esta espécie, a qual apresenta como grande limitação em relação ao *A. bisporus*, um ciclo de cultivo muito longo, favorecendo o surgimento de pragas e doenças, além de reduzir o número de ciclos durante o ano. Considerando os resultados obtidos no tempo de 8 dias a 16° C, poderia-se trabalhar com a possibilidade de apenas dois fluxos de boa produção. Para isso, novos estudos precisarão ser conduzidos, com outras linhagens e diferentes temperaturas.

Os resultados obtidos neste trabalho contrariam, em parte, a afirmação de Kopytowski e Minhoni (2007), de que o choque térmico favorece a indução da frutificação e, conseqüentemente, aumenta a produtividade do cogumelo *A. subrufescens*, uma vez que a produtividade final obtida neste trabalho foi semelhante em todos os tratamentos de redução de temperatura. Braga, Montini e Salibe (2006) avaliaram diferentes ambientes de cultivo (estufa plástica, ambiente rústico de bambu e câmara climatizada) e verificaram que o melhor rendimento do cogumelo ocorreu em estufas plásticas. De acordo com os autores, os resultados obtidos podem ser explicados pelo fato de que na estufa plástica ocorre uma maior oscilação de temperatura, levando a uma maior amplitude térmica, a qual poderia ser responsável pela indução da frutificação. Segundo os autores, a variação de temperatura foi de 2°C no ambiente climatizado, enquanto que, na casa de cultivo construída com bambu, a temperatura foi praticamente a mesma do ambiente externo. Conseqüentemente, na estrutura de bambu, a amplitude térmica também foi menor em relação à estufa de plástico, uma vez que, nesta, foram observadas temperaturas máximas maiores durante o dia.

Tabela 11 Eficiência biológica (EB) e produtividade (P) do cogumelo *A. subrufescens* função do choque térmico.

Linhagem	Produtividade (%)		Eficiência Biológica (%)	
	CS12	ABL 49	Comercial	ABL 49
Dias frios				
0 dias a 16°C	7,8 Ab	16,6 Aa	19,4 Ab	41,7 Aa
4 dias a 16°C	10,4 Ab	16,0 Aa	26,6 Ab	40,0 Aa
6 dias a 16°C	8,8 Ab	15,2 Aa	21,6 Ab	38,0 Aa
8 dias a 16°C	10,8 Ab	15,8 Aa	26,6 Ab	39,6 Aa
CV = 26,11%				

As médias seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Em experimento similar, Zied e Minhoni (2009) avaliaram a produção do cogumelo em ambiente totalmente controlado em comparação com uma estufa plástica rústica e observaram que o cultivo em estufa rústica proporcionou 19,2% a mais de produtividade, em relação ao ambiente controlado. Esses resultados, a princípio, contrariam a premissa de que ambientes totalmente controlados sejam os ideais para o cultivo de cogumelos. Entretanto, eles podem também indicar que as condições ideais de temperatura, umidade e ventilação para a produção deste cogumelo ainda precisam ser mais bem definidas. O fato de melhores resultados serem obtidos em ambientes não totalmente controlados parece indicar que um manejo diferenciado de temperatura durante todo o ciclo de cultivo seja necessário para se alcançar produtividade máxima. Com este propósito, foi avaliado no presente trabalho, o uso do choque térmico a cada fluxo de produção, em vez de um único choque térmico inicial. Apesar disso, os resultados de produção total não foram afetados, indicando a necessidade de se



avaliar períodos mais curtos ao longo de todo o ciclo de cultivo, como, por exemplo, a redução a 16°C durante o período noturno, e a elevação da temperatura para 28°C durante o período diurno, visto que o cultivo em estufas plásticas permite grande oscilação térmica em relação à temperatura diurna e noturna. Os estudos futuros deverão ser conduzidos com um número maior de linhagens, uma vez que características diferentes podem responder de forma diferenciada ao ambiente (KERRIGAN, 2005).

A seleção de uma linhagem mais produtiva é, portanto, fundamental para estudos futuros para a determinação das condições ideais de temperatura, umidade e ventilação. Para este trabalho foi utilizada a linhagem ABL 49, relatada em outros trabalhos como uma linhagem de boas características genéticas, em comparação com a linhagem CS12, a qual foi obtida de um cultivo comercial da cidade de Patos de Minas. Os resultados obtidos demonstraram que a linhagem utilizada pelo produtor não é a melhor opção para o cultivo comercial, uma vez que a mesma apresentou desempenho inferior àquela obtida com a ABL 49. Hernández et.al. (2013), caracterizaram geneticamente oito isolados de *A. subrufescens*, sendo três isolados europeus, quatro brasileiros e um híbrido. Os autores relataram que há grande distância genética entre os isolados, sendo que cada isolado possui uma temperatura ótima de desenvolvimento, a qual variou de 25,8 a 30,2°C e a produtividade variou de 4,1% a 22,73%.

Com relação à qualidade do cogumelo, observou-se uma tendência de queda da massa média dos cogumelos a cada fluxo produtivo. Esse comportamento normalmente é observado em função também da queda de qualidade do composto de cultivo, o qual se torna mais pobre nutricionalmente e em consequência, os cogumelos formados perdem vigor em seu desenvolvimento. Essa observação teve como exceção somente o tratamento

com permanência de 8 dias a 16°C com a linhagem comercial e os tratamentos com 6 e 8 dias para a ABL 49. Isso pode ser explicado pelo fato de esses tratamentos terem um rendimento inferior nos primeiros fluxos produtivos, mantendo por maior período um composto mais rico em nutrientes necessários ao desenvolvimento dos cogumelos (Figuras 8 e 9).

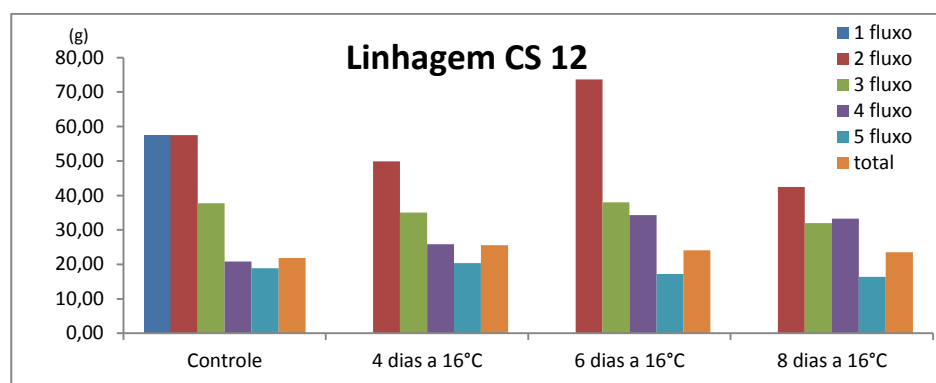


Figura 8 Massa média dos cogumelos colhidos (g) a cada fluxo de produção, referente à linhagem CS12 de *A. subrufescens*.

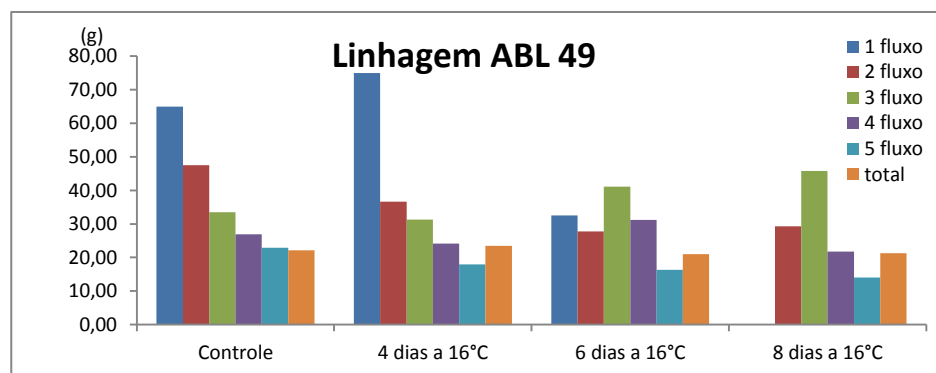


Figura 9 Massa média dos cogumelos colhidos (g) a cada fluxo de produção, da linhagem ABL 49 de *A. subrufescens*.

## REFERÊNCIAS

BRAGA, G. C.; MONTINI, R. M. C.; SALIBE, A. B. Parâmetros da produção de *Agaricus blazei* sob diferentes condições ambientais de cultivo. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Candido Rondon, v. 5, n. 1, p. 47-56, 2006.

CARON, M. Peat moss as casing in the mushroom industry. **Mushroom News**, Washington, v. 35, p. 5-7, Dec. 1987.

CAVALCANTE, J. L. R.; GOMES, V. F. F. Cultivation of *Agaricus blazei* (Murrill) in Ceará State. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 255-261, 2005.

CHANG, S. T. Overview of mushroom cultivation and utilization as functional foods. In: CHEUNG, P. C. K. (Ed.). **Mushrooms as functional foods**. New York: J. Wiley, 2008. p. 1-29.

COLAUTO, N. B. et al. Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 2, p. 712-716, Jan. 2010a.

\_\_\_\_\_. Pasteurização de turfa brasileira para o cultivo de *A. brasiliensis*. **Ciências Agrárias**, Teresina, v. 31, n. 1, p. 1331-1336, 2010b. Suplemento.

\_\_\_\_\_. Production flush of *Agaricus blazei* on Brazilian casing layers. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 616-623, Apr./June 2011.

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 795-803, jul./ago. 2010.

EIRA, A. F. **Cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (Murril) ss. Heinemann ou *Agaricus brasiliensis* (Wasser et al.)**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2003. 390 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, 1999. 412 p.

FERMOR, S. et al. Microbiological properties of casing. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONGRESS ON THE CULTIVATION OF EDIBLE FUNGI: MUSHROOM SCIENCE, 1., 2000, Rotterdam. **Proceedings...** Rotterdam: Balkema, 2000. p. 447-454.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GREGORI, A. et al. Influence of carbon dioxide, inoculum rate, amount and mixing of casing soil on *Agaricus blazei* fruiting bodies yield. **Acta Agriculturae Slovenica**, Ljubljana, v. 91, n. 2, p. 371-378, Nov. 2008.

HAYES, W. A. Interrelated studies of physical, chemical and biological factors in casing soils and relationships with productivity in commercial culture of *A. bisporus*. **Mushroom Science**, Washington, v. 11, p. 103-129, 1981.

HERNÁNDEZ, C. R. L. et al. Optimization of the cultivation conditions for mushroom production with European wild strains of *A. subrufescens* and Brazilian cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 93, n. 7, p. 1649-1659, May 2013.

KERRIGAM, R. W. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. **Mycologia**, New York, v. 97, n. 1, p. 12-24, Jan./Feb. 2005.

KOPYTOWSKI FILHO, J. et al. Effect of compost supplementation (soybean meal and Champfood) at different phases (spawning and before casing) on

productivity of *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*). **Mushroom Science**, Washington, n. 17, p. 260-270, May 2008.

KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M. T. A. Produtividade e eficiência biológica da linhagem ABL 99/30 de *Agaricus blazei* em três tipos de compostos e em dois tipos de ambientes de cultivo. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 22, n. 4, p. 65-78, 2007.

LARGETEAU, M. L. et al. The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: biology, cultivation and non-medicinal valorization. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 92, n. 5, p. 897-907, Dec. 2011.

MENDONCA, M. et al. *Agaricus blazei* cultivation for a living in Brazil. In: \_\_\_\_\_. **Mushroom grower's handbook 2, Shiitake cultivation**. Seul Korea: MushWorld, 2005. p. 247-257.

MINHONI, M. T. A.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; ANDRADE, M. C. N. **Cultivo de *Agaricus blazei* Murrill ss. Heinemann**. 3. ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2005. 141 p.

OEI, P. **Mushroom cultivation**. 3<sup>rd</sup> ed. Leiden: Backhuys, 2003. 429 p.

PARDO, A. Estudio de variabilidad de los substrates empleados como cobertura para cultivo de champiñón em Castilla-La Mancha. **Cuadernos de Fitopatologia**, La Rioja, n. 82, p. 117-125, oct./dic. 2004.

PARDO, A. et al. Modelling the effect of the physical and chemical characteristics of the materials used as casing layers on the production parameters of *Agaricus bisporus*. **Archives of Microbiology**, New York, v. 192, n. 2, p. 1023-1030, Dec. 2010.

PARDO, A.; JUAN, A.; PARDO, E. Characterization of different substrates for possible use as casing in mushroom cultivation. **Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 1, p. 107-114, Jan. 2003.

PARDO-GIMÉNEZ, A.; PARDO-GONZÁLEZ, J. E.; ZIED, D. C. Evaluation of harvested mushrooms and viability of *Agaricus bisporus* growth using casing materials made from spent mushroom substrate. **International Journal of Food Science & Technology**, London, v. 46, n. 4, p. 787-792, Apr. 2011.

RAIJ, P. et al. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAM, R. C.; KUMAR, S. Agricultural wastes used as casing mixtures for production of button mushroom. **Indian Journal of Scientific Research**, Varanasi, v. 1, n. 1, p. 21-25, July 2010.

RANGEL, J. I. et al. Coconut fiber as casing material for mushroom production. **Terra Latinoamericana**, Chapingo, v. 24, n. 2, p. 207-213, 2006.

RANGEL, J. I. H. et al. Utilization of rice hulls as casing material for mushroom (*Agaricus*) production. **Micologia Neotropical Aplicada**, Toluca de Lerdo, v. 9, p. 29-41, Nov. 1996.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359 p.

SIQUEIRA, F. G. et al. Biological efficiency of *Agaricus brasiliensis* cultivated in compost with nitrogen concentrations. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 157-161, jun. 2011.

\_\_\_\_\_. Cultivation of *Agaricus blazei* ss. Heineman using different soils as source of casing materials. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 66, n. 6, p. 827-830, Nov./Dec. 2009.

ZIED, D. C. et al. Characterization, feasibility and optimization of *Agaricus subrufescens* growth based on chemical elements on casing layer. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 19, n. 3, p. 343-347, July 2012.

\_\_\_\_\_. Preparo e utilização de camadas de cobertura na região de São José do Rio Preto/ SP para o cultivo de *Agaricus blazei*. In: AMOSTRA CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2., 2006, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2006. 1 CD-ROM.

\_\_\_\_\_. Production of *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) on different casing layers and environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 26, n. 10, p. 1857-1863, Oct. 2010.

ZIED, D. C.; MINHONI, M. T. A. Influência do ambiente de cultivo na produção do cogumelo *Agaricus blazei* SS. Heinemann (*A. brasiliensis*). **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 24, n. 1, p. 17-34, 2009.

### CAPITULO 3

#### CONTROLE DE NEMATOIDES MICETÓFAGOS NO CULTIVO DO COGUMELO *AGARICUS SUBRUFESCENS*.

##### RESUMO

A produtividade de cogumelos do gênero *Agaricus* é influenciada por todas as fases de cultivo, desde o processo de compostagem até o momento da colheita, e mesmo um composto de excelente qualidade pode atingir baixas produtividades ou até tornar-se improdutivo, caso a qualidade dos materiais utilizados para a camada de cobertura seja baixa ou apresente contaminação por patógenos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento da camada de cobertura contaminada por nematoides micetófagos, utilizando-se o defensivo Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> concentrações de 0, 4, 6, 8, 16 e 32 ppm. Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado, totalizando 24 parcelas experimentais. O aumento da concentração de Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> na camada de cobertura resultou numa produtividade crescente até a concentração de 8ppm, quando a produtividade tendeu a se estabilizar e depois declinar a partir da concentração de 32ppm. De acordo com os resultados de análise de regressão, a concentração ideal do defensivo foi de 20ppm, a mesma concentração recomendada para o controle de sciarídeos. Entretanto, observou-se que, dentre os tratamentos utilizados, a maior produtividade foi obtida na concentração de 8ppm, com 14,7% de produtividade. Apesar disso, observou-se também que nesse tratamento foi detectada a presença de nematoides e o composto não apresentava mais sinais de colonização. Portanto, pesquisas futuras devem ser realizadas utilizando concentrações intermediárias entre 8 e 20ppm, permitindo, assim, determinar a concentração ideal para o controle de nematoides micetófagos.

**Palavras-chave:** *Agaricus subrufescens*, Cogumelo do sol, camada de cobertura, nematoides, Fipronil.



## ABSTRACT

The productivity of mushrooms of the genus *Agaricus* sp. is influenced by all cultivation stages, since the composting process until the time of harvest, and even if an excellent quality compost can achieve low productivity and even become unproductive when the quality of material used for the casing layer is bad or present contamination by pathogens. This study aimed to evaluate the treatment of the casing layer contaminated by nematodes, using the defensive Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> in the concentrations of 0, 4, 6, 8, 16 and 32 ppm. For each treatment there were four replications in a completely randomized design, totaling 24 experimental plots. The increased concentration of Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> in casing layer resulted in an increasing productivity in the concentrations up to 8ppm, when productivity tended to stabilize and then decline from the concentration of 32ppm. According to the results of the regression analysis, the optimal defensive concentration was 20ppm, the same concentration to control sciarids. However, it was observed that among the treatments, the highest yield was obtained at a concentration of 8ppm, with 14.7% of productivity. Nevertheless, it was also observed that in this treatment was detected the presence of nematodes and the compost had no further signs of colonization. Therefore, future research should be conducted using intermediate concentrations between 8 to 20 ppm, thus allowing us to determine the optimal concentration to control nematodes.

**Keywords:** *Agaricus subrufescens*, royal sun mushroom, casing layer, control of nematodes, Fipronil.

## 1 INTRODUÇÃO

No cultivo de *A. subrufescens*, várias etapas são necessárias, sendo a camada de cobertura uma das mais importantes, pois é o momento em que ocorrerá uma variação ambiental necessária para a mudança fisiológica no comportamento do micélio, induzindo assim a formação de corpos de frutificação (COLAUTO et al., 2010; EIRA, 2003). As principais características que influenciarão a qualidade da camada de cobertura são: boa capacidade de retenção de água; porosidade; resistência à compactação. Todas essas características contribuem para um rápido desenvolvimento micelial e, conseqüentemente, início da frutificação (HAYES, 1981). A camada de cobertura também deve possuir boa qualidade biológica, isto é, conter microrganismos importantes para a indução da frutificação e baixa infestação de pragas e doenças (MOHAMMAD; SABAA, 2013; CHU et al., 2012). Por isso, é interessante tratar o material a ser utilizado como camada de cobertura, eliminando assim possíveis patógenos e pragas. Por outro lado, alguns tratamentos drásticos podem também eliminar microrganismos benéficos para a formação de primórdios dos cogumelos (SILVA et al., 2007). Além dos microrganismos patogênicos, o solo utilizado como camada de cobertura pode estar infestado com ovos e larvas de insetos, bem como de nematoides micetófagos. A infestação da camada de cobertura ou do composto por nematoides micetófagos podem trazer grandes prejuízos ou, até mesmo, a perda total da produtividade (NAGHESH; REDDY, 2000), pois algumas espécies de insetos têm nos cogumelos a sua única dieta (MOREIRA et al., 2010).

Em função desses problemas, no cultivo de *A. bisporus* é realizado inicialmente um tratamento da camada de cobertura com inseticidas que possuem como princípio ativo formalina, diflubenzuron e prochloraz, para controlar a infestação de pragas (PARDO-GIMÉNEZ et al., 2012). Para o

controle de nematoides, diferentes produtos já foram testados, entretanto, apesar de proporcionar excelente controle, resíduos dos pesticidas podem ser detectados nos cogumelos (SHARMA; THAPA; NATHA, 1981). Além disso, dependendo do nematicida utilizado, podem ocorrer perdas significativas na produção do cogumelo, isto é, a presença do nematicida pode inibir a formação de corpos de frutificação (GREWAL; SOHI, 1987).

A maior preocupação no controle de pragas em cultivo de cogumelos está relacionada à infestação por dípteros, cujo controle é feito com o uso de inseticidas com diversos princípios ativos como diazinon, pirazol e fipronil, que, devido ao seu uso regular, possivelmente controlam paralelamente os nematoides micetófagos que, conseqüentemente, não são diagnosticados durante o processo produtivo. Os produtores realizam aplicações padronizadas de defensivos durante as etapas de compostagem e produção dos cogumelos (SHAMSHAD; CLIFT; MANSFIELD, 2009; JESS; KILPATRICK, 2000). Devido a esse uso sistemático, geralmente realizado por grandes produtores, dificilmente ocorrem relatos relacionados com infestação de nematoides em cultivo de cogumelos do gênero *Agaricus*, principalmente na Europa e América do Norte, em que há registro de inseticidas para esse fim (SHAMSHAD, 2010). No Brasil, entretanto, não há registro de inseticidas para o controle de pragas para o cultivo de cogumelos, visto que o custo para as empresas fabricantes efetuarem esses registros é alto e, atualmente, há poucos produtores de cogumelo, quando comparado aos produtores de grandes culturas agrícolas brasileiras, como o feijão, soja e milho. Conseqüentemente, por não haver grande demanda de inseticidas pelos fungicultores, não há interesse por parte das empresas produtoras de defensivos a sua regulamentação para uso no cultivo de cogumelos. Apesar disso, os produtores brasileiros fazem uso de inseticidas registrados e recomendados em outros países, em decorrência da necessidade de controle de pragas.

Quando nematoides micetófagos (*Ditylenchus myceliophagus*, *D. dispsaci*, *Aphelencoides composticola*) estão presentes na camada de cobertura, em pequena quantidade ou em estágio juvenil, estes migram para o composto, onde, devido à presença de grande quantidade de micélio do cogumelo, alimentam-se e se multiplicam rapidamente, consumindo totalmente o micélio, acarretando perda do vigor do composto inicialmente colonizado, tornando-o improdutivo. Para evitar que o material utilizado como camada de cobertura apresente-se infestado por pragas e doenças, adota-se, preferencialmente, a desinfestação com formol ou outros processos, como a pasteurização e solarização (COLAUTO et al., 2010; EIRA, 2003). Entretanto, Silva et al. (2007) relataram que esses processos de desinfestação atualmente utilizados não eliminam completamente a biota presente no substrato de cobertura, permitindo inclusive a permanência de espécies indesejáveis. E, de fato, o que gerou este trabalho foi o diagnóstico de perda total de uma produção comercial de *A. subrufescens* em função da contaminação da terra de cobertura por nematoides, apesar de o produtor de cogumelos ter realizado o tratamento da terra com formol.

Por outro lado, espécies microbianas benéficas poderiam também permanecer e contribuir para uma melhor produtividade do cogumelo (COLAUTO; EIRA, 1998, KURTZMAN JÚNIOR, 1995). O grande problema é que, após iniciar o cultivo, as espécies que resistiram ao processo de desinfestação poderão se multiplicar mais facilmente em virtude da redução de competição entre os organismos e, caso sejam patogênicos, possivelmente destruirão completamente o micélio do composto e o da camada de cobertura. Diante dessas observações, este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a utilização do inseticida Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> para o controle de nematoides micetófagos presentes na camada de cobertura utilizada.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O composto utilizado foi adquirido da Fazenda São Gabriel, situada no município de Patos de Minas-MG, utilizando concentração inicial de nitrogênio de 1,5%. Para a inoculação do composto foi utilizada a linhagem CS10 de *A. subrufescens*. Após, o composto foi acondicionado em caixas plásticas com capacidade para cinco quilos de composto. Todos os demais procedimentos de manejo foram feitos conforme descrito por Siqueira et al. (2011).

Como camada de cobertura foi utilizado solo contaminado com nematoide micetófago, obtido igualmente da Fazenda São Gabriel, onde foi relatada perda total da produção da safra de 2011, em função do uso deste solo com a referida infestação por nematoides do gênero *Ditylenchus*. Para o preparo deste material, o produtor realizou tratamento com formol, conforme recomendado por Eira (2003). Parte desse material, após a constatação da infestação por nematoides foi transportado para a Universidade Federal de Lavras, onde foi realizado o experimento.

Como tratamentos, foram utilizadas diferentes concentrações do inseticida Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> (BASF CHEMICAL COMPANY, 2010) com quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado, sendo as concentrações testadas: 0; 4; 6; 8; 16 e 32 ppm ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ), totalizando 24 parcelas experimentais. A aplicação do defensivo iniciou-se com o tratamento de menor concentração para a maior, momentos antes da adição da camada de cobertura sobre composto. A terra utilizada como camada de cobertura foi espalhada em uma superfície previamente limpa, misturando-se o defensivo com auxílio de uma enxada, iniciando-se com pequeno volume de terra (aproximadamente 500g) misturado ao defensivo e acrescentando gradativamente maiores quantidades de terra, até completar o volume necessário para cada tratamento. Cada parcela foi constituída de cinco quilos de composto colonizado úmido,

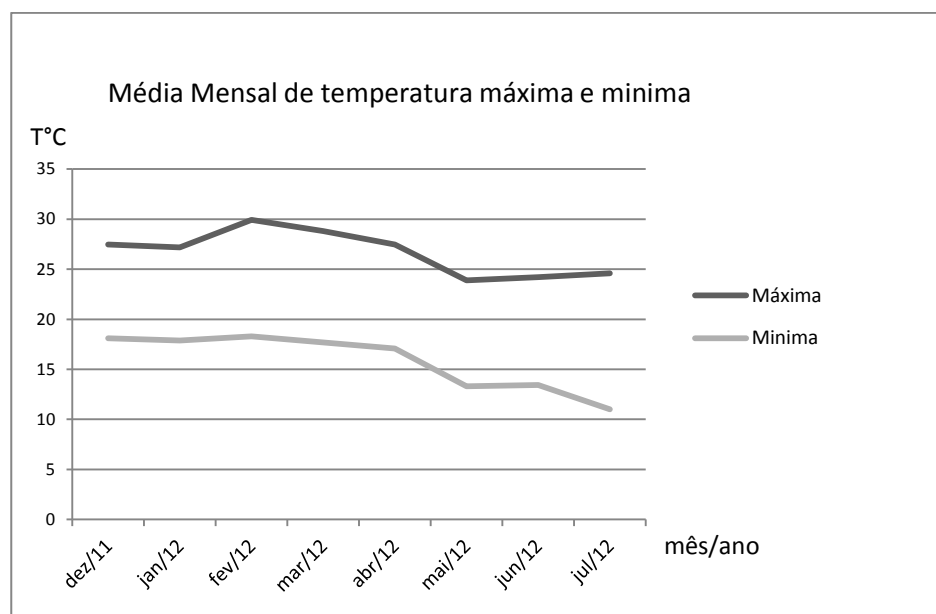
coberto com cinco centímetros de camada de cobertura infestada por nematoides do gênero *Ditylenchus* e previamente tratada com Fipronil/Regent WG®, de acordo com a concentração de cada tratamento.

O início do experimento ocorreu em março de 2012, conduzido em casa de cultivo em alvenaria, com umidade do ar controlada (acima de 70%) e temperatura ambiente 11-30°C (mínima e máxima, respectivamente) e regas diárias, mantendo assim a umidade da camada de cobertura. Os cogumelos produzidos foram pesados e quantificados para a determinação do rendimento em relação à produtividade e eficiência biológica de cada parcela experimental e, após, os resultados foram submetidos à análise de regressão, com auxílio do software Sisvar® (FERREIRA, 2011) a 5% de probabilidade.

Ao final do ciclo de cultivo, foram coletadas amostras da camada de cobertura e do composto pós-cultivo de todas as parcelas experimentais. Estas foram suspendidas em água destilada esterilizada na proporção de 2:1 (duas partes de água para uma parte da amostra), analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópio, com objetivo de verificar a presença de nematoides.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura de cultivo variou entre 11-18°C (mínima) e 24-30°C (máxima), respectivamente (Figura 10), a qual é uma variação considerada ideal para o cultivo de *A. subrufescens* (ZIED; MINHONI, 2009; EIRA, 2003; BRAGA; EIRA, 1999).



**FIGURA 10** Média de temperatura mensal durante o período de cultivo do cogumelo *A. subrufescens*, desde a inoculação até o final da colheita.

Com as observações das datas de colheita, foi possível determinar o início da frutificação de cada tratamento, permitindo verificar a influência da concentração do defensivo sobre a precocidade de cultivo e, conseqüentemente, o rendimento produtivo. Os tratamentos com produção mais precoce foram os com concentrações de 4 e 6 ppm, em que a primeira colheita já ocorreu entre o 27° e 29° dia, após indução da frutificação, seguido pelo tratamento controle

(sem defensivo) com a primeira colheita no 46° dia. Nos demais tratamentos, a primeira colheita ocorreu somente após o 60° dia, indicando uma possível inibição da frutificação dos cogumelos, em função das concentrações mais elevadas do inseticida (Tabela 12).

Tabela 12 Tempo decorrido após a indução da frutificação de *A. subrufescens*, até o início da colheita dos cogumelos, em função de cada tratamento.

Tratamento	Dias após indução da frutificação*
Testemunha	46 B
4 ppm	27 A
6 ppm	29 A
8 ppm	61 C
16 ppm	67 D
32 ppm	67 D
CV** (%)	4,86

\*As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade. \*\* Coeficiente de Variação.

O atraso ocasionado pelas maiores concentrações do inseticida evidenciou que tratamentos com concentrações acima de 6ppm não apresentaram colheita no primeiro fluxo de cultivo, visto que foi efetuada uma divisão dos fluxos a cada 30 dias após a primeira colheita do tratamento mais precoce (Figura 11). Este atraso pode ter ocorrido devido ao efeito residual deste defensivo, havendo relatos na literatura de que, em condições aeróbicas em solo, os microrganismos conseguem degradá-lo lentamente, sendo sua meia vida, em solos com textura argilo-arenosa, de 122 a 128 dias e, quando este solo é exposto à luz, sua meia vida cai para 34 dias (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA, 1996). Devido a isso, é possível que tratamentos com concentrações acima de 8ppm precisem de um tempo maior para eliminar o efeito residual do inseticida. O efeito positivo do Fipronil/Regent



WG<sup>®</sup> começou a ser evidenciado pelo aumento da produção no primeiro fluxo nos tratamentos com 4 e 6 ppm do inseticida. A partir de 8 ppm, não se observou mais o primeiro fluxo, entretanto, a produção foi compensada nos fluxos seguintes. Portanto, apesar do efeito residual que provocou o atraso no início da produção, o controle de nematoides foi mais eficiente, resultando em maior produção. Para o tratamento com 32ppm, observou-se menor produção, ocasionada provavelmente pela elevada concentração do Fipronil/Regent WG<sup>®</sup>, a qual apresentou efeito inibitório sobre o *A. subrufescens*.

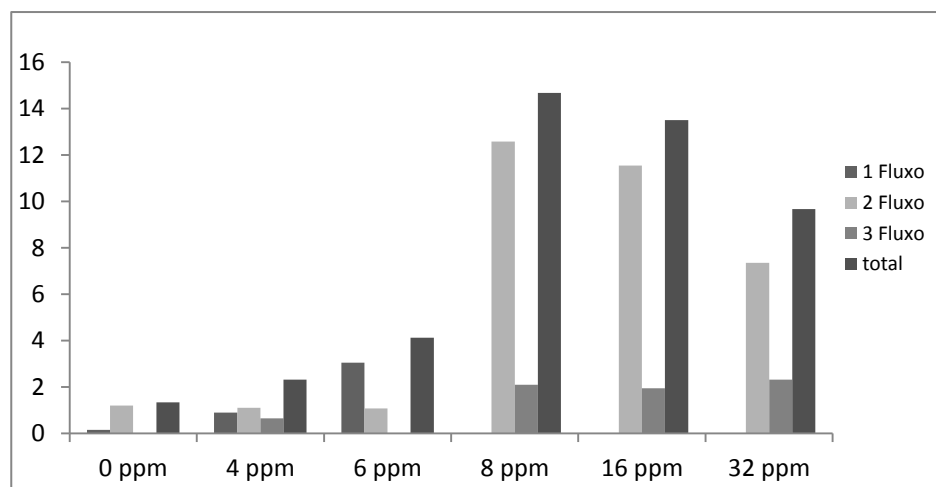


Figura 11 Produtividade do cogumelo *A. subrufescens*, em função dos tratamentos com aplicação de Fipronil/Regent WG<sup>®</sup>, a cada fluxo de cultivo.

Com o objetivo de avaliar as características da colonização micelial de *A. subrufescens*, foi realizada uma análise visual e do cheiro do composto, em função da presença do inseticida na camada de cobertura. Diante disso, observou-se que o composto não apresentou sinais de colonização ao final do ciclo produtivo para os tratamentos com 0, 4, 6 e 8 ppm de Fipronil/Regent WG<sup>®</sup>, indicando que essas concentrações não foram eficientes para a erradicação dos nematoides, permitindo o consumo total do micélio pelos

nematoides. Para os tratamentos com as concentrações de 16 e 32 ppm, o composto ainda apresentou forte colonização e o odor característico do cogumelo. Esses resultados foram confirmados por meio da análise do composto com auxílio do microscópio estereoscópio, a qual revelou que os tratamentos com 0, 4, 6 e 8 ppm apresentaram nematoides vivos, enquanto que, para os tratamentos de 16 e 32 ppm, observou-se ausência total de nematoides, tanto na camada de cobertura quanto no composto, demonstrando a eficiência do inseticida sobre o controle de nematoides. É importante enfatizar, entretanto, que, para o tratamento com 8 ppm de Fipronil/Regent WG<sup>®</sup>, mesmo com a presença de nematoides e o composto não apresentar mais sinais de colonização, foi observada produtividade equivalente ao tratamento com 16 ppm do inseticida (Tabela 13). Esses resultados indicam que, mesmo não eliminando por completo os nematoides, a concentração de 8 ppm permitiu o controle do crescimento dos nematoides o suficiente para garantir o ciclo de cultivo até o fim. Entretanto, para o cultivo comercial, pode ser arriscado sugerir essa concentração, uma vez que esses resultados podem depender da população inicial de nematoides na camada de cobertura.

Em números absolutos, os tratamentos de 8 e 16 ppm apresentaram a maior produtividade (Tabela 13), entretanto, a análise de regressão sugere uma concentração ótima de 20 ppm (Tabelas 14 e 15). Por isso, será importante conduzir novos estudos para se avaliar concentrações intermediárias (entre 6 e 20 ppm), uma vez que foi constatado o efeito tóxico do inseticida sobre o cogumelo, conforme também relatado anteriormente para o cogumelo *A. bisporus* (GREWAL; SOHI 1987). Além disso, deve-se levar em conta a possibilidade de bioacumulação do defensivo no corpo de frutificação, prejudicando a sua qualidade como alimento funcional.

A análise de regressão dos dados obtidos (Tabela 14) sugere que os resultados tendem à equação quadrática, isto é, ao aumentar a concentração de inseticida, aumentou-se também o rendimento dos cogumelos, demonstrando eficiência no controle de nematoides até a concentração de 20ppm, acima dessa concentração, a produtividade tende a cair, devido à toxicidade do defensivo no cultivo de *A. subrufescens*.

Tabela 13 Eficiência biológica (EB) e produtividade (P) do cogumelo *A. subrufescens* em função da concentração do inseticida Fipronil/Regent® na camada de cobertura.

Fipronil/Regent® (ppm)	EB (%)	P (%)
0	3,363	1,345
4	5,813	2,325
6	10,313	4,125
8	36,688	14,675
16	33,750	13,500
32	24,188	9,675

Tabela 14 Equação de regressão e derivada em relação à eficiência biológica, e produtividade em função da concentração do inseticida Fipronil/Regent®

<b>Equação de regressão</b>	
<b>Eficiência biológica</b>	<b>Produtividade</b>
$Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2^2$	$Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2^2$
$Y = - 0,5317 + 3,7378X_1 - 0,0927X_2^2$	$Y = - 0,2127 + 1,4951X_1 - 0,0371X_2^2$
<b><math>X_2 = 20,16</math> ppm</b>	<b><math>X_2 = 20,15</math> ppm</b>
$R^2 = 70,26\%$	$R^2 = 70,26\%$

Tabela 15 Médias observadas e estimadas de produtividade de acordo com cada concentração de Fipronil/Regent<sup>®</sup> presente na camada de cobertura, em função da análise de regressão.

<b>Concentração (ppm)</b>	<b>Médias observadas (%)</b>	<b>Médias estimadas (%)</b>
<b>0</b>	1,345	-0,213
<b>4</b>	2,325	5,175
<b>6</b>	4,125	7,423
<b>8</b>	14,675	9,375
<b>16</b>	13,500	14,218
<b>32</b>	9,675	9,666

Em pesquisa sobre o controle de sciarídeos, Shamshad et al. (2008) relataram que a concentração de 20ppm de Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> seria a ideal para o tratamento da camada de cobertura. Porém, os autores concluíram que, para um eficiente controle dessas pragas em regiões com grandes infestações, é necessário incorporar o inseticida tanto no processamento do composto, como na camada de cobertura. A concentração de 20ppm, relatada por estes autores, está, portanto, de acordo com o valor definido pela análise de regressão do presente trabalho, indicando que seu uso, além de controlar a infestação de sciarídeos, também controlam eficientemente nematoides micetófagos no cultivo do cogumelo *A. subrufescens* (Figura 12).

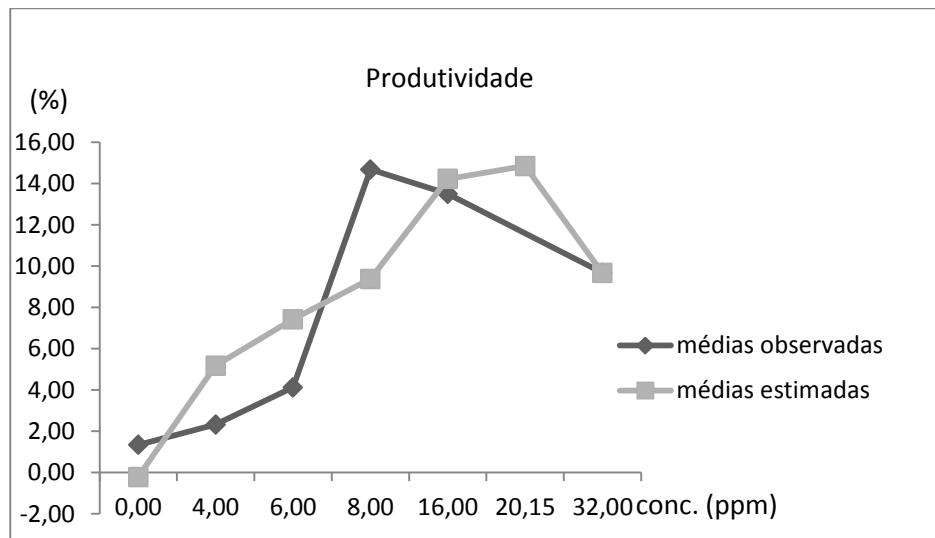


Figura 12 Comparativo entre as médias observadas e as estimadas de produtividade para cada tratamento com adição de Fipronil/Regent WG<sup>®</sup>.

Deve-se ressaltar que o Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> possui registro desde março de 1996 para uso em cultivos de cogumelos comestíveis na Austrália, apresentando comprovações na eficiência do tratamento de camada de cobertura para o controle de *Lycoriella mali* e *Megaselia halterata*, com dose recomendada de 20mg.kg<sup>-1</sup> de solo ou 20ppm (SHAMSHAD, 2010). Embora seja registrado como inseticida/acaricida, o Fipronil/Regent WG<sup>®</sup> não possui registro no Brasil para o controle de nematoide em nenhuma cultura agrícola. Apesar disso, já existem relatos de sua capacidade para controle secundário dessa praga, havendo recomendações para uso combinado com outros defensivos no controle de nematoides em cana-de-açúcar (MIRANDA, 2001).

Além da toxicidade deste defensivo sobre o fungo a ser cultivado, deve-se levar em consideração a toxicidade do pesticida sobre a saúde humana, uma vez que os cogumelos possuem uma grande facilidade de bioacumulação de pesticidas e metais pesados presentes no substrato de cultivo. Em virtude disso,

deve-se buscar trabalhar com substratos de qualidade, sem resíduos de pesticidas e, quando necessário, fazer uso dos mesmos de forma cautelosa (NAGHESH; REDDY, 2000). Assim, a análise da presença de Fipronil/Regent WG® nos cogumelos produzidos será fundamental para permitir uma indicação segura para a sua utilização no cultivo de cogumelos. Chun e Kang (2003) avaliaram a concentração de pesticidas em diversos alimentos consumidos pela população coreana e, em cogumelos, perceberam a acumulação dos princípios ativos de Endosulfan para *Lentinula edodes*; Cypermethrin para *Pleurotus ostreatus*; e Carbendazin para *A. bisporus*. Nogaim, et al. (2011) avaliaram a presença de resíduos de 17 pesticidas comumente utilizados no cultivo de cogumelos do gênero *Agaricus* no Egito, e verificaram a presença de resíduos de defensivos somente com os princípios ativos de Malathion e Lindane, porém ambos com teores abaixo dos limites aceitáveis pela legislação local. Esses resultados sugerem que os defensivos podem ser utilizados, nas concentrações e períodos de carência recomendadas pelos órgãos internacionais, sem comprometer a qualidade dos cogumelos. Entretanto, ainda faltam estudos no Brasil para se avaliar a qualidade dos cogumelos produzidos neste quesito e, por isso, não se conhece os níveis residuais de pesticidas nos cogumelos produzidos.

A grande vantagem do uso de defensivos à base de fipronil, em relação aos nematicidas existentes no mercado, para utilização em cultivos de cogumelos, é o fato de esse inseticida possuir amplo espectro de controle, permitindo o controle de ácaros micetófagos, sciarídeos, pragas frequentemente relatadas em cultivos de cogumelos (BABAR, et al., 2012; SHAMSHAD, 2010) e, conforme demonstrado neste trabalho, também nematoides.

## REFERÊNCIAS

BABAR, M. H. et al. Efficacy of different insecticides against mushroom phorid Fly, *Megaselia halterata* (Wood) in Punjab, Pakistan. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, Victoria, v. 4, n. 4, p. 183-188, Apr. 2012.

BASF CHEMICAL COMPANY. **Regent 800 WG: fipronil**. São Paulo, 2010. 9 p.

BRAGA, G. C.; EIRA, A. F. Efeitos da camada de cobertura, da massa do substrato e do ambiente de cultivo, na produtividade de *Agaricus blazei* Murril. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 39-51, 1999.

CHU, J. N. et al. Improvement of productivity and polysaccharide-protein complex in *Agaricus blazei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 96-102, jan. 2012.

CHUN, O. K. K.; KANG, H. G. Estimation of risks of pesticide exposure, by food intake, to Koreans. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 41, n. 8, p. 1063-1076, Aug. 2003.

COLAUTO, N. B. et al. Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 2, p. 712-716, Jan. 2010.

COLAUTO, N. B.; EIRA, A. F. Avaliação quantitativa da comunidade bacteriana na camada de cobertura de *Agaricus bisporus*. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 15-26, 1998.

EIRA, A. F. **Cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (Murril) ss. Heinemann ou *Agaricus brasiliensis* (Wasser et al.)**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2003. 390 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GREWAL, P. S.; SOHI, H. S. Studies on the different pesticides on the growth of *Agaricus bisporus* (Lange) Singer and *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Mushroom Journal for the Tropics**, Tokyo, v. 7, p. 25-29, 1987.

HAYES, W. A. Interrelated studies of physical, chemical and biological factors in casing soils and relationships with productivity in commercial culture of *A. bisporus*. **Mushroom Science**, Washington, v. 11, p. 103-129, 1981.

JESS, S.; KILPATRICK, M. An integrated approach to the control of *Lycoriella solani* (Diptera:Sciaridae) during production of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*). **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, p. 477-485, 2000.

KURTZMAN JUNIOR, R. H. *Agaricus bisporus* (Lge.) Imb. Casing layer, II: porosity, the most important character. **International Journal of Mushroom Science**, Redding, v. 1, n. 1, p. 11-17, 1995.

MIRANDA, L. L. D.; MENEGATTI, C. C.; PIVETTA, J. P. Eficiência de nematicidas aplicados no plantio da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 171-174, 2001.

MOHAMMAD, A. O.; SABAA, A. E. Impact of some *Pseudomonas* spp. isolated from casing soil on the hyphal growth of *Agaricus bisporus*. **Canadian Journal on Computing in Mathematics, Natural Sciences, Engineering and Medicine**, Toronto, v. 4, n. 1, p. 45-48, 2013.

MOREIRA, G. F. et al. Occurrence and characterization of injuries caused by *Mycotretus apicalis* Lacordaire, (Coleoptera: Erotylidae) on cultivation of *Pleurotus sajor-caju*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 573-575, Mar. 2010.



NAGESH, M.; REDDY, P. P. Status of mushroom nematodes and their management in India. **Integrated Pest Management Reviews**, Heidelberg, v. 5, n. 3, p. 213-224, Sept. 2000.

NOGAIM, Q. et al. Occurrence of chemical contaminants in Egyptian Edible Mushroom. **Pakistan Journal of Life and Social Sciences**, Lahore, v. 9, n. 2, p. 134-139, 2011.

PARDO-GIMÉNEZ, A. et al. Sustratos de cobertura y suplementación del compost en cultivo de champiñón. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 8, p. 1125-1132, ago. 2012.

SHAMSHAD, A. The development of integrated pest management for the control of mushroom sciarid flies, *Lycoriella ingenua* (Dufour) and *Bradysia ocellaris* (Comstock), in cultivated mushrooms. **Pest Management Science**, Sussex, v. 66, n. 4, p. 1063-1074, Apr. 2010.

SHAMSHAD, A.; CLIFT, A. D.; MANSFIELD, S. Effect of compost and casing treatments of insecticides against the sciarid *Bradysia ocellaris* (Diptera: Sciaridae) and on the total yield of cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*. **Wiley Interscience**, New York, v. 65, n. 4, p. 375-380, Apr. 2009.

\_\_\_\_\_. Toxicity of six commercially formulated insecticides and biopesticides to third instar larvae of mushroom sciarid, *Lycoriella ingenua* Dufour (Diptera: Sciaridae), in New SouthWales, Australia. **Australian Journal of Entomology**, Melbourne, v. 47, n. 3, p. 256-260, Aug. 2008.

SHARMA, N. K.; THAPA, C. D.; NATH, A. Pathogenicity and identity of myceliophagous nematodes infesting *Agaricus bisporus* (Long) Sing. in India. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v. 11, p. 230-231, 1981.

SILVA, V. A. et al. Isolation and identification of bacteria present in the casing layer utilized to the cultivation of the mushroom *Agaricus blazei* Murril. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1364-1373, set./out. 2007.

SIQUEIRA, F. G. et al. Biological efficiency of *Agaricus brasiliensis* cultivated in compost with nitrogen concentrations. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 157-161, jun. 2011.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **New pesticide fact sheet**. Washington, 1996. 10 p.

ZIED, D. C.; MINHONI, M. T. A. Influência do ambiente de cultivo na produção do cogumelo *Agaricus blazei* SS. Heinemann (*A. brasiliensis*). **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 24, n. 1, p. 17-34, 2009.