

Controle de fungos contaminantes no cultivo do cogumelo comestível shiitake em toros de eucalipto

Meire Cristina Nogueira de Andrade^{1*} e Luiz Antônio Gracioli²

¹Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Fazenda Lageado, Cx. Postal 237, 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil. ²Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Av. Brasil, 56, Centro. Cx Postal 31, 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: andrade@fca.unesp.br

RESUMO. O presente trabalho teve como objetivo testar o efeito da cal hidratada e do fungicida benomyl no controle de fungos contaminantes durante a produção de cogumelo shiitake em toros de eucalipto. Para tanto, testou-se anteriormente *in vitro*, o efeito do benomyl nas concentrações 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ no crescimento micelial das linhagens de shiitake JAB-L; JAB-K; LE-96/17; LE-95/01 e LE-96/22. Observou-se que a única linhagem de shiitake a não sofrer qualquer efeito do benomyl foi LE-96/17, sendo a escolhida para produção em toros. O experimento em toros conteve três tratamentos: testemunha, cal hidratada e benomyl, cada qual com 60 repetições. Após a inoculação, os toros foram mantidos em um barracão de alvenaria coberto com telhado de barro, durante seis meses. Após esse período, foram realizados três choques de indução. Os principais gêneros de fungos contaminantes identificados foram *Trichoderma* e *Poria*. O melhor controle foi obtido com benomyl, porém esse tratamento apresentou médias inferiores de diâmetro do píleo, produtividade e eficiência biológica. Em todas as colheitas, não foi constatado resíduo de benomyl nos basidiomas.

Palavras-chave: *Lentinula edodes*, produção, cal hidratada, fungicida, benomyl.

ABSTRACT. Control of saprophytic fungi in the shiitake edible mushroom cultivated in eucalyptus logs. The aim of the present work is to test the effect of the moisturized whitewash and of the fungicide benomyl on the control of saprophytic fungi during the shiitake production in logs. The effect of benomyl in concentrations 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 8.0 and 16.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ in the mycelial growth of the isolates of shiitake JAB-L; JAB-K; LE-96/17; LE-95/01 and LE-96/22 was tested *in vitro*. The isolate LE-96/17 was chosen for production in logs because it was the only isolate of shiitake that was not inhibited by benomyl *in vitro*. The experiment in logs had three treatments: control, moisturized whitewash and fungicide benomyl, each with 60 repetitions. After inoculation, the logs were kept in a masonry large cabin covered with adobe roof, during six months. After this time period, three induction shocks were carried out. The main sorts of identified contaminant fungi were the *Trichoderma* and *Poria*. The best treatment was obtained with benomyl. However, this treatment presented inferior averages of basidiomes diameter, productivity and biological efficiency. In all the harvests, residue of benomyl in basidiomes was not evidenced.

Key words: *Lentinula edodes*, production, moisturized whitewash, fungicide, benomyl.

Introdução

O *Lentinula edodes* (Berk) Pegler (shiitake) é atualmente produzido de duas formas: em toros, método tradicional utilizado a mais de 900 anos e em cultivo intensivo no qual são utilizados blocos de serragem suplementada com nutrientes (Zhanxi e Zhanhua, 2001). O cultivo intensivo comparado com o cultivo em toros tem a desvantagem do alto custo de esterilização, exige um controle ambiental rigoroso, além de mão-de-obra especializada. Por isso, no Brasil, o cultivo de

shiitake por pequenos produtores tem sido realizado quase que exclusivamente em toros, e dentre as espécies arbóreas, o eucalipto tem sido o mais utilizado (Eira e Minhoni, 1996).

Durante o cultivo de shiitake em toros, algumas exigências mínimas muitas vezes são desconsideradas por parte dos produtores, comprometendo a produtividade. Entre esses fatores estão as condições climáticas (temperatura e umidade relativa), as características do toro e do inóculo (interação entre linhagem e espécie de eucalipto) e o nível de

contaminação dos toros (Przybylowick e Donoghue, 1990).

A baixa produtividade de shiitake em toros está diretamente relacionada com a presença de fungos contaminantes e os mais prejudiciais são aqueles que têm habilidade de colonizar o interior dos toros (Przybylowick e Donoghue, 1990; Eira, 2003). Entre os principais gêneros de fungos destruidores de madeira destacam-se: *Trichoderma*; *Stereum*; *Schizophyllum*; *Stemonitis*; *Hypoxylon*; *Poria*; *Coriolus*; *Cryptoderma*; *Lenzites*; *Penicillium* e *Gliocladium* (Harris, 1993). Em toros de eucalipto foram encontrados *Hypoxylon*, *Poria*, *Trichoderma* e *Stemonitis* e, quando inoculados artificialmente, tornaram os toros improdutivos (Andrade, 1999).

No combate e prevenção dos fungos, tem sido sugerido um acurado controle do manejo (Przybylowick e Donoghue, 1990); borrifar álcool comercial (70%) ou uma solução de hipoclorito de sódio na concentração de 3:1 (água: hipoclorito) (Pascholati *et al.*, 1998) ou um banho dos toros com hidróxido de cálcio (cal hidratada), logo após a inoculação do shiitake (Eira e Minhoni, 1996; Andrade, 1999). Fungicidas têm sido utilizados, porém em cultivo intensivo (Gil, 1993; Mata e Gaitán-Hernández, 1994).

Dessa maneira, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da cal hidratada e do fungicida benomyl no controle de fungos contaminantes, que naturalmente ocorrem durante o cultivo de shiitake em toros, e seus possíveis efeitos no número de basidiomas, diâmetro do píleo, massa de basidiomas frescos, massa de basidiomas secos, produtividade e eficiência biológica. Também foi analisado o resíduo de benomyl nos basidiomas.

Material e métodos

Foram realizados dois experimentos no período de janeiro/2002 a novembro/2002, ambos conduzidos nas dependências do Departamento de Biologia e Zootecnia, Unesp, Campus de Ilha Solteira, Estado de São Paulo, de coordenadas geográficas 20°22'S e 51°22'W Gr, altitude de 335 m, temperatura anual de 23,6°C e precipitação pluviométrica anual de 1330 mm. Segundo classificação de Köppen a região é definida como tropical quente e úmida (Centurion, 1982).

No primeiro experimento, *in vitro*, foi avaliado o efeito de diferentes concentrações do fungicida benomyl no crescimento micelial de cinco linhagens de shiitake JAB-L, JAB-K, LE-96/17, LE-95/01 e LE-96/22 oriundas da Micoteca do Módulo de Cogumelos da Faculdade de Ciências Agrônomicas – Unesp, Campus de Botucatu e conservadas em meio batata-dextrose-ágar (BDA) cobertas com óleo mineral esterilizado, em geladeira a 6°C.

Em câmara de fluxo laminar, a partir do meio de cultura estoque, pequenos fragmentos foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo o meio BDA. As placas de Petri foram incubadas em BOD a 25°C, no escuro. Após a colonização de ¼ da área das placas de Petri, ou seja, quando todas as linhagens estavam com a mesma idade fisiológica, retirou-se, com o auxílio de um vazador de 4 mm, discos da periferia da colônia que foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA com o benomyl em diferentes concentrações.

Para avaliar a sensibilidade do shiitake ao fungicida benomyl (metil-1 (butilcarbamoil) 2-benzimidazol carbamato (MBC)), este foi pesado e misturado em água destilada esterilizada e adicionado ao meio BDA fundente (45–50°C), em condições assépticas, de modo a se obter concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 e 16,0 µg.mL⁻¹. Para as testemunhas foi utilizado somente o BDA.

Após a identificação, as placas foram distribuídas casualmente e mantidas na estufa incubadora a 25°C, no escuro, por oito dias. Depois deste período, foi realizada a avaliação do crescimento micelial do shiitake nos diferentes tratamentos por meio de medição do crescimento linear do fungo na superfície do meio. Com o uso de uma régua graduada em milímetros, foram feitas duas medidas em sentidos diametralmente opostos, estabelecendo-se uma média para cada uma das repetições. As médias foram comparadas com as respectivas testemunhas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x7, cujos tratamentos corresponderam às combinações das cinco linhagens de shiitake e as sete concentrações de benomyl, tendo no total 35 tratamentos. Cada tratamento constou de três repetições, sendo cada repetição correspondente a uma placa de Petri.

As médias de crescimento micelial dentro de cada linhagem de shiitake entre as diferentes concentrações de benomyl (fator quantitativo) foram comparadas através de gráficos de regressão, após análise de variância. Já a comparação das médias de crescimento micelial entre as linhagens de shiitake (fator qualitativo) dentro de cada concentração de benomyl foram feitas através do teste de Tukey a 5% de significância.

O segundo experimento, em toros, teve como objetivo avaliar o efeito do benomyl e da cal hidratada no controle de fungos contaminantes. O manejo dos toros foi baseado na metodologia proposta por San Antônio (1981) e Bononi e Trufem (1986), com algumas adaptações:

Matriz primária

Das cinco linhagens de shiitake testadas no experimento *in vitro* optou-se pela LE-96/17.

Inóculo

O substrato base para a produção do inóculo constituiu-se de serragem de *Eucalyptus urophylla*, passada em malha de 3 mm, com teor de umidade ajustada para 60% e suplementada com farelo de arroz na proporção de 4:1(v/v). A mistura foi distribuída em sacos de polipropileno. Cada saco plástico, contendo 600 g do substrato úmido, foi selado deixando uma pequena abertura que foi vedada com algodão e, em seguida, autoclavado a 120°C durante 90min. Após o resfriamento à temperatura ambiente, os sacos foram inoculados, em câmara de fluxo laminar, com um disco (10 x 10 mm) de diâmetro da matriz primária do shiitake, tomando-se o cuidado para que a parte colonizada estivesse voltada para baixo. Após 30 dias de incubação a 25°C no escuro, todo substrato estava colonizado e pronto para ser inoculado nos toros.

Obtenção dos toros

Os toros utilizados foram de árvores de *Eucalyptus urophylla*, primeiro corte, com dez anos de idade, cultivadas na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Unesp, localizada no município de Selvíria, Estado de Mato Grosso do Sul, em Latossolo Vermelho-escuro de textura argilosa, originalmente coberta com vegetação de cerrado. As árvores foram cortadas com o auxílio de uma moto serra, com o cuidado de não causar danos na casca. Foram selecionados 180 toros medindo 1 m de comprimento e diâmetro em torno de 12 cm. Após o corte, os toros foram transportados para as dependências do Departamento de Biologia e Zootecnia (FE-Unesp) onde foram colocados em posição horizontal, até a inoculação no dia seguinte;

Inoculação dos toros

Foi realizada no dia 16/01/02. Inicialmente foram abertos orifícios alinhados em sentido longitudinal ao toro, em um padrão de “zig-zag”, com auxílio de uma furadeira elétrica e broca de aço para madeira de 12 mm de diâmetro e 20 mm de profundidade. O número total de orifícios foi equivalente a quatro vezes o diâmetro do toro, em média 48 orifícios, dispostos em filas paralelas, distanciados cerca de 5 cm entre linhas e cerca de 15 cm entre orifícios de uma mesma linha. Imediatamente após a realização dos orifícios, os mesmos foram preenchidos com o inóculo, utilizando-se uma inoculadora manual, de modo que cada orifício recebesse a mesma quantidade. Em seguida, com o auxílio de um bastão com esponja de aço na extremidade, os orifícios foram vedados com parafina, fundida a 115°C, contendo 20% de breu para melhor aderência.

Incubação

Os toros inoculados foram dispostos em três pilhas de 60 toros, sendo cada pilha composta de 10 camadas de seis toros, espaçados em torno de 5 cm entre si e dispostas perpendicularmente às camadas subjacentes. A primeira camada da pilha foi colocada sobre tijolos, distanciada 30 cm da superfície do solo. A incubação ocorreu em um

barracão de alvenaria coberto com telha de barro e piso recoberto com areia grossa e pedregulhos. As paredes laterais estavam dotadas de pequenas aberturas a fim de serem fechadas quando necessário para melhor controle da luminosidade, ventilação e umidade. A irrigação foi diária, com auxílio de mangueira de jardim, sendo a umidade relativa do ar mantida entre 70% e 80%, por meio de microaspersores instalados em todo o barracão, com vazão de 5 litros por hora. Os toros permaneceram nessas condições por seis meses. Para que houvesse crescimento uniforme nesse período, foi feito o remonte das pilhas a cada dois meses, invertendo-se as camadas de toros na pilha. As camadas superiores foram transferidas para as camadas inferiores e vice-versa. Além disso, a posição dos toros sofreu um giro de 180°.

Tratamento dos toros com benomyl e cal hidratada

Cada pilha com 60 toros correspondeu a um tratamento, tendo no total três tratamentos: benomyl, cal hidratada e testemunha. A aplicação do benomyl foi quinzenal e a partir da inoculação do shiitake nos toros, sendo que a indução da frutificação foi sempre quinze dias após a aplicação do benomyl. A concentração de benomyl, misturado em água, foi definida em função dos resultados do experimento *in vitro*. Foi aplicado um volume de 15 litros da solução, o que foi suficiente para irrigar todos os toros com o auxílio de um pulverizador costal. Para a avaliação do efeito protetor da cal hidratada, os toros foram banhados com cal hidratada (8 kg de cal/60 litros de água) logo após a vedação dos orifícios e após cada choque de indução.

Indução da frutificação

Após o período de incubação, a frutificação foi estimulada artificialmente. Para isso, os toros foram transferidos para o tanque de imersão e presos ao fundo com o auxílio de uma corrente para que não flutuassem. Em seguida, os toros foram recobertos com água fria mantida a uma temperatura entre 5 a 10°C abaixo da temperatura ambiente, pela adição de gelo à água do tanque de imersão, por um período de doze horas. Ainda para estimular a frutificação, após os choques de indução hídrica e térmica, os toros sofreram um choque de indução mecânica por meio de sua queda livre em posição vertical, de uma altura de 30 cm, em superfície de concreto. No total foram realizados três choques de indução por tratamento;

Frutificação

A cada choque de indução os toros foram dispostos no mesmo barracão, onde permaneceram em posição vertical inclinada, com espaçamento de 10 cm entre eles. Os toros foram mantidos úmidos, através de irrigação diária, até o aparecimento dos primórdios. O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar, dentro do barracão, foram feitos por meio de termômetro de bulbo seco e bulbo úmido. A umidade relativa do ar foi mantida

elevada devido às regas nas paredes, no chão e no telhado do barracão e quando necessário as pequenas aberturas existentes nas paredes foram fechadas para manter a temperatura entre 25°C e 30°C e umidade entre 70% e 80%.

Colheita

Os basidiomas foram colhidos quando o píleo apresentou abertura em torno de 80%, que ocorreu entre o quinto e o sétimo dia após cada choque de indução. Porém, no oitavo dia todos foram colhidos, mesmo os que não alcançaram abertura de 80%. Depois da colheita, os toros foram novamente empilhados e submetidos à irrigação diária até o próximo choque de indução.

A ocorrência natural de contaminações foi avaliada mensalmente. Para isso, os toros foram removidos das pilhas, um a um, atribuindo valor 1 quando constatadas colônias, esporulações ou corpos de frutificação de fungos contaminantes, e valor 0 quando não constatado. Ao final desse período, além desse levantamento, fez-se também a identificação dos principais contaminantes e analisou-se a área ocupada pelos mesmos, levando-se em consideração apenas a superfície da casca. Esse mesmo procedimento foi repetido por mais duas vezes, antecedendo o segundo e terceiro choque de indução. A porcentagem da área contaminada por um ou mais contaminantes foi determinada com auxílio de um paquímetro para medir o diâmetro dos toros; um elástico, que dividia imaginariamente cada toro em duas faces no sentido longitudinal, e uma régua graduada em milímetros. Ainda para facilitar a localização das colônias fúngicas, cada face do toro foi subdividida em cinco setores de 20 cm. Cada setor foi analisado individualmente, levantando-se os fungos encontrados e anotando o diâmetro médio (d) de ocupação destes no toro, para posteriormente calcular a área (A) ocupada por cada fungo contaminante por meio da fórmula: $A = \pi/4 \cdot d^2$.

Após cada colheita, fez-se a análise de correlação entre o número de basidiomas por toro (NB/T); diâmetro do píleo (DP); massa média de basidiomas frescos (MBF); massa média de basidiomas secos (MBS); produtividade (P) obtida a partir dos dados de produção em gramas de cogumelo seco por gramas de toro seco (MTS),

conforme a fórmula: $P(\%) = (MBS/MTS) \times 100$ e eficiência biológica calculada pela fórmula: $EB(\%) = (MBF/MTS) \times 100$, em função da área contaminada por fungos. A densidade da madeira considerada foi de 0,541 cm³, cujo cálculo foi feito de acordo com a metodologia proposta por Brasil (1983). A análise do resíduo de benomyl nos basidiomas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, empregando coluna de fase reversa, fase móvel composta de metanol: solução aquosa 1% de fosfato ácido de potássio (65:35) e detecção e quantificação na faixa ultravioleta visível a 286 nm (Navickiene e Ribeiro, 2000).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos (testemunha, cal hidratada e benomyl) e 60 repetições por tratamento, sendo que a unidade experimental correspondeu a um toro. Após análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e discussão

Vários experimentos já foram realizados na tentativa de selecionar fungicidas para o controle de fungos contaminantes no cultivo de cogumelos. No entanto, a grande maioria desses trabalhos está relacionada com *Agaricus bisporus* (Challen e Elliott, 1985; Eiker, 1987; Coutinho *et al.*, 1996).

Recentemente, *in vitro*, foi testado o efeito do benomyl no crescimento micelial do shiitake e de vários fungos contaminantes isolados do cultivo tradicional em toros (Queiroz, 2000). Os resultados mostraram uma baixa sensibilidade da linhagem JAB-K ao benomyl, mesmo em altas concentrações (100 µg.mL⁻¹). Resultados semelhantes foram obtidos no presente experimento, não apenas com a linhagem JAB-K (Figura 1), mas também com as linhagens LE-95/01 (Figura 2), LE-96/22 (Figura 3) e JAB-L (Figura 4). A única linhagem a não sofrer qualquer efeito das concentrações de benomyl foi a LE-96/17.

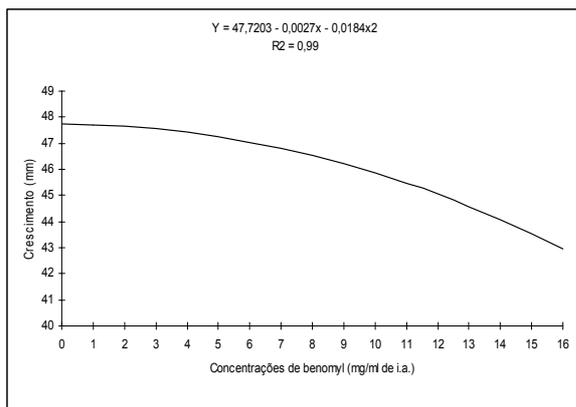


Figura 1. Efeito *in vitro* do fungicida Benomyl no crescimento micelial da linhagem JAB-K

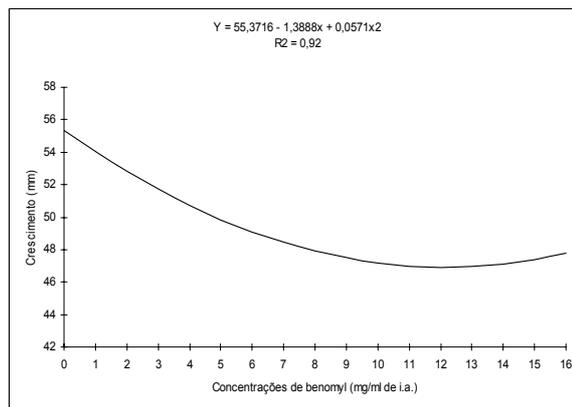


Figura 2. Efeito *in vitro* do fungicida Benomyl no crescimento micelial da linhagem LE-95/01

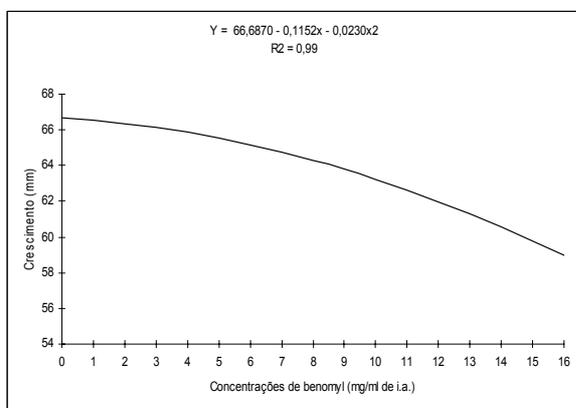


Figura 3. Efeito *in vitro* do fungicida Benomyl no crescimento micelial da linhagem LE-96/22.

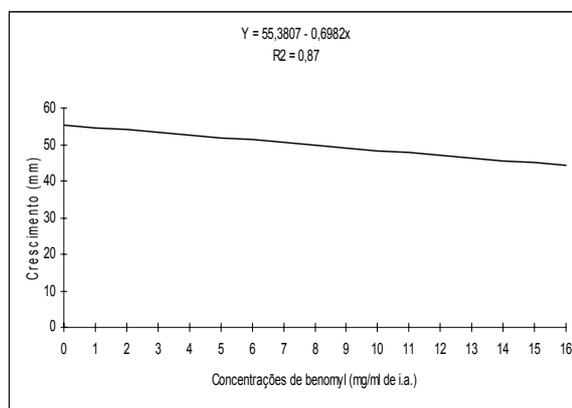


Figura 4. Efeito *in vitro* do fungicida Benomyl no crescimento micelial da linhagem JAB-L.

Os contaminantes que apareceram em maior quantidade na superfície dos toros foram *Poria* e *Trichoderma*. Esses contaminantes já foram relatados em toros de eucalipto (Andrade, 1999).

Quanto à porcentagem média da área colonizada por esses fungos, em cada tratamento, antes de cada choque de indução, verificou-se que os tratamentos com cal hidratada e benomyl foram eficientes no controle desses fungos.

Enquanto que para o tratamento testemunha, as médias de área contaminada ao longo do ciclo de produção foram 3,1%, 5,9% e 14,4%, para o tratamento cal hidratada foram 0,7%, 0,0% e 0,1%, e para o tratamento benomyl foram 0,5%, 0,0% e 0,1%. Índices menores de contaminação, em toros tratados com cal hidratada, também foram observados por Andrade (1999).

Após cada choque de indução, fez-se a análise de correlação entre as variáveis de produção em função da área contaminada pelos fungos (Tabela 1).

Verificou-se que no tratamento benomyl a área ocupada pelos contaminantes não teve qualquer

influência nas variáveis de produção (Tabela 1). No entanto, os valores totais médios do diâmetro do píleo, produtividade e eficiência biológica nesse tratamento foram significativamente inferiores aos demais (Tabela 2).

Considerando que as condições ambientais foram semelhantes em todos os tratamentos, possivelmente isso tenha ocorrido devido ao efeito do fungicida benomyl no desenvolvimento do shiitake. De acordo com Picinini (1994), o benomyl controla os fungos por afetar processos essenciais à sobrevivência e reprodução, entre os quais, o crescimento do micélio. Portanto, mesmo que o experimento *in vitro* tenha demonstrado que o crescimento micelial da linhagem LE-96/17 não sofreu qualquer influência do benomyl, é possível que nos toros o shiitake tenha adquirido sensibilidade a esse fungicida e, conseqüentemente, reduzido seu desenvolvimento.

Tabela 1. Correlação das variáveis de produção das três colheitas do shiitake: produtividade (P), eficiência biológica (EB), massa de basidiomas frescos (MBF), massa de basidiomas secos (MBS) e número de basidiomas por toro (NB/T), em função da área contaminada

(AC), nos tratamentos testemunha, cal hidratada e benomyl.

Colheitas	Variável	Variável	Testemunha	Cal	Benomyl
1ª Colheita	AC	P	-0.1243 ^{NS}	-0.2386*	0.0949 ^{NS}
	AC	EB	-0.1481 ^{NS}	-0.2416*	0.1286 ^{NS}
	AC	MBF	-0.1179 ^{NS}	-0.2290*	0.2024 ^{NS}
	AC	MBS	-0.0864 ^{NS}	-0.2277*	0.1581 ^{NS}
	AC	NB/T	-0.1139 ^{NS}	-0.1949 ^{NS}	0.1856 ^{NS}
2ª Colheita	AC	P	-0.3180**	-0.2013 ^{NS}	-0.1203 ^{NS}
	AC	EB	-0.3190**	-0.1870 ^{NS}	-0.1249 ^{NS}
	AC	MBF	-0.3205**	-0.1781 ^{NS}	-0.1165 ^{NS}
	AC	MBS	-0.3196**	-0.1987 ^{NS}	-0.1120 ^{NS}
	AC	NB/T	-0.3504**	-0.1371 ^{NS}	-0.1243 ^{NS}
3ª Colheita	AC	P	-0.1352 ^{NS}	-0.1596 ^{NS}	0.0325 ^{NS}
	AC	EB	-0.1279 ^{NS}	-0.1591 ^{NS}	0.0343 ^{NS}
	AC	MBF	-0.0853 ^{NS}	-0.1591 ^{NS}	0.0959 ^{NS}
	AC	MBS	-0.0965 ^{NS}	-0.1600 ^{NS}	0.0959 ^{NS}
	AC	NB/T	-0.1077 ^{NS}	-0.1487 ^{NS}	0.0929 ^{NS}

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade; *Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{NS}Não significativo.

Tabela 2. Valores totais médios do número de basidiomas por toro (NB/T); do diâmetro do píleo (DP); da massa de basidiomas frescos (MBF) e secos (MBS); da produtividade (P) e eficiência biológica (EB), nos três choques de indução*.

Tratamento	NB/T	DP (cm)	MBF (g)	MBS (g)	P (%)	EB (%)
Testemunha	24 a	4,61 a	233,27 a	33,53 a	0,82 a	5,66 a
Cal	23 a	4,30 b	202,37 a	31,89 a	0,71 a	4,60 a
Benomyl	18 a	3,57 c	170,16 a	23,42 a	0,51 b	3,69 b

*Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

No tratamento cal hidratada foi constatado influência da área contaminada, na primeira colheita, para as variáveis MBF, MBS, P e EB (Tabela 1). Como conseqüência, verificou-se, na análise total de produção, que o diâmetro do píleo dos basidiomas desse tratamento foi inferior ao da testemunha (Tabela 2). É possível que a cal hidratada também tenha prejudicado a qualidade dos basidiomas, mesmo não sendo considerado um agrotóxico, já que a influência dos contaminantes só foi significativa na primeira colheita do shiitake (Tabela 1). Os toros de madeira utilizados no cultivo de shiitake caracterizam-se por relação C/N/P alta (Teixeira, 2000). Com a aplicação superficial da cal hidratada nos toros ocorre alteração de pH, o que pode provocar mudanças na proporção desses nutrientes como, por exemplo, fixar o fósforo disponível e, conseqüentemente, prejudicar o desenvolvimento do shiitake.

A área contaminada pelos fungos, no tratamento testemunha, teve influência em todos os parâmetros de produção apenas na segunda colheita (Tabela 1). Porém, essa influência não refletiu nos dados finais de produção (Tabela 2). Não foi constatado resíduo de benomyl nos basidiomas.

Recentemente, foi observado resíduo de benomyl em shiitake, acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira, porém o fungicida foi aplicado diretamente nos

basidiomas, antes de serem colhidos (Gracioli *et al.*, 2002).

Conclusão

1. Das linhagem testadas, a LE-96/17 foi a única que não sofreu influência do benomyl *in vitro*.

2. Os principais fungos contaminantes identificados foram *Trichoderma* spp. e *Poria* spp.

3. O tratamento com cal hidratada reduziu a área contaminada por fungos, porém diminuiu o diâmetro dos basidiomas.

4. O melhor controle de fungos contaminantes nos toros foi obtido com o benomyl, porém o diâmetro do píleo, a produtividade e a eficiência biológica foram inferiores quando comparados com a testemunha e cal hidratada.

5. Os basidiomas produzidos nos toros tratados com benomyl não apresentaram resíduos do fungicida.

Referências

ANDRADE, F.A. *Efeitos de fungos contaminantes na produção de shiitake (Lentinula edodes (Berk) Pegler) em toros de Eucalyptus saligna Sm.* 1999. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

BONONI, V.L.R.; TRUFEM, S.F.B. *Cogumelos comestíveis.* São Paulo: Ícone, 1986.

- BRASIL, M.A.M. *Varição da densidade básica da madeira entre e dentro de procedências de Eucalyptus urophylla*. S. T. Blake. 1983. Tese (Livre Docência)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1983.
- CENTURION, J.F. Balanço hídrico da região de Ilha Solteira. *Cientifica*, Jaboticabal, v. 10, n. 1, p. 57-61, 1982.
- CHALLEN, M.P.; ELLIOTT, T.J. The *in vitro* responses to a range of fungicides of two strains of the mushroom *Agaricus bisporus* and the pathogen *Verticillium fungicola*. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 90, n. 1, p. 161-164, 1985.
- COUTINHO, L.N. *et al.* Taxonomia, viabilidade e patogenicidade do *Verticillium* causador de doença no cogumelo comestível (*Agaricus bisporus*), no estado de São Paulo. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 63, n. 1, p. 61-76, 1996.
- EIKER, A.A. report on the use of prochloraz-manganese complex for controlling of major fungal pathogens of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in the South Africa. *J. S. Afr. Bot.*, New Lands, Cape Province, v. 53, n. 1, p. 345-348, 1987.
- EIRA, A.F. *Cultivo do cogumelo medicinal Agaricus blazei (Murrill) ss. Heinemann*. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003.
- EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. *Cultivo de cogumelos comestíveis*. Botucatu: ELO/Instituto de Economia Associativa, 1996.
- GIL, F.H. Introducción al cultivo de shiitake (*Lentinula edodes*). In: *JORNADAS TÉCNICAS DEL CHAMPIÑÓN Y OTROS HONGOS COMESTIBLES EM CASTILLA-LA MANCHA*, 1., 1993, Castilla-la Mancha, *Anais...* Cuenca: Consejería de Agricultura y Medio Ambiente, 1993. p. 143-149.
- GRACIOLLI, L.A. *et al.* Análise de resíduos de benomyl em shiitake (*Lentinula edodes*) por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção espectrofotométrica (CLAE-UV). In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NA ALIMENTAÇÃO, SAÚDE, TECNOLOGIA E MEIO AMBIENTE NO BRASIL*, 1, 2002, Brasília, *Anais...* Brasília: Embrapa, 2002, p. 189.
- HARRIS, B. *Growing shiitake commercially*. 2. (Ed.) Tennessee: Foundation Publications, 1993, v. 2, 71 p.
- MATA, G.; GAITÁN-HERNÁNDEZ, R. Avances en el cultivo del shiitake em pulpa de café. *Revista Ibero-Americana de Micología*, Castilla-la Mancha, v. 11, n. 1, p. 90-91, 1994.
- NAVICKIENE, S.; RIBEIRO, M.L. Procedimento simplificado de extração para análise de resíduos de carbendazim em uva por cromatografia a líquido de alta eficiência. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, Curitiba, v. 10, n. 1, p. 23-30, 2000.
- PASCHOLATI, S.F. *et al.* *Cogumelos: cultivo e comercialização (shiitake e cogumelo do sol)*. Cuiabá: Sebrae/MT, 1998.
- PICININI, E.C. Fungicidas benzimidazoles. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo fundo, v. 2, n. 1, p. 357-407, 1994.
- PRZYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. *Shiitake grower's handbook: the art and science of mushroom cultivation*. Dubuque: Kendall, 1990.
- QUEIROZ, D.R. *Efeitos de fungicidas "in vitro" sobre o crescimento micelial do shiitake e de fungos contaminantes isolados do cultivo tradicional em toros*. 2000. Monografia (Graduação) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2000.
- SAN ANTONIO, J.P. Cultivation of the shiitake mushroom. *Hortscience*, Alexandria, v. 16, n. 2, p. 151-156, 1981.
- TEIXEIRA, E.M. *Caracterização e avaliação de linhagens de shiitake (Lentinula edodes (Berk) Pegler) inoculadas em Eucalyptus grandis, E. urophylla, E. saligna, cultivadas em clima cwa subtropical, em função da produtividade e qualidade dos basidiomas*. 2000. Tese (Doutorado)-Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
- ZHANXI, L.; ZHANHUA, L. *Juncao technology*. China: China Agricultural Sciencetech Press, 2001.

Received on August 20, 2004.

Accepted on April 06, 2005.