ITEA (2002), Vol. 98V N.° 2, 87-94

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA INICIACIÓN DE LA FRUCTIFICACIÓN DEL CHAMPIÑÓN CULTIVADO. II. FACTORES MICROBIOLÓGICOS

A. Pardo Giménez*,[1], J.A. de Juan Valero, J.E. Pardo González****

* Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), C/ Peñicas s/n, Apartado 8, 16220 Quintanar del Rey, Cuenca, España
e-mail: pardo.cies@dipucuenca.es

** Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad de Castilla-La Mancha, Campus Universitario s/n, 02071 Albacete, España

RESUMEN

La capa de cobertura, material empleado como recubrimiento superior del compost en cultivo comercial de champiñón, constituye el medio en el que se produce la modificación ecológica que supone el paso de la fase de crecimiento vegetativo del hongo a la fase reproductiva o, lo que es lo mismo, el medio en el que se produce la fructificación. La compleja interacción existente entre las diferentes características físicas, químicas y biológicas de la capa de cobertura dificultan el establecimiento de las condiciones óptimas que ésta debe reunir, por lo que resulta de especial interés el establecimiento de los diferentes factores que participan en el fenómeno de la fructificación. La iniciación y desarrollo de los carpóforos depende, además de la capacidad genética del micelio para fructificar, de factores físicos y ambientales, factores químicos y nutritivos y factores microbiológicos. En esta segunda parte del trabajo se lleva a cabo una revisión de los factores microbiológicos involucrados en la fructificación de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach.

Palabras clave: *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, Factores de la fructificación, Capa de cobertura.

SUMMARY

FACTORS INFLUENCING ON THE FRUCTIFICATION PROCESS OF THE CULTIVATED MUSHROOM. II. MICROBIOLOGICAL FACTORS

The casing layer is the material used as top covering of the compost in commercial mushroom cultivation. Here, the ecologic modification that implies the change from the vegetative to the reproductive growth phase takes place, so that it is the medium where the fructification occurs. The complex existent interaction among the different physical, chemical and biological properties of the casing layer hinders the establishment of the optimal conditions that this material should gather. So, the knowledge of the different factors that they participate in the fructification process results of special interest.

1. Persona a la que debe remitirse la correspondencia.

Among these, next to the own genetic capacity of the mycelium to fructify, physical and environmental factors, chemical and nutritional factors and microbiological factors are included. A revision of microbiological factors involved in *Agaricus bisporus* fructification is carried out in this work.

Key words: *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, Fructification factors, Casing layer.

Introducción

La fructificación del champiñón en cultivo comercial se produce sobre la denominada capa de cobertura, material empleado como recubrimiento superior del compost, con objeto de inducir el paso de la fase de crecimiento vegetativo del hongo a la fase reproductiva. Esta capa de cobertura juega, pues, un papel primordial en el cultivo del champiñón, ya que su presencia condiciona el inicio de la fructificación. En la práctica comercial, se presenta una compleja interacción entra las diversas características físicas, químicas y biológicas que dificulta la definición de las condiciones óptimas que debe reunir la cobertura (HAYES, 1981), aunque son conocidos algunos de los requisitos que debe cumplir teniendo en cuenta los factores que influyen en la fructificación. En este sentido, la iniciación y desarrollo de los carpóforos depende, además de la capacidad genética del micelio para fructificar, de factores físicos y ambientales, factores químicos y nutritivos, y factores microbiológicos (COUVY, 1972; BAZERQUE y LABORDE, 1975; FORET, 1989). En una primera parte del trabajo, publicada en esta misma revista, se llevó a cabo una revisión de los factores físicos y ambientales como son la temperatura, la humedad relativa, la concentración de dióxido de carbono o la estructura del material de cobertura, así como de los factores químicos y nutritivos, entre los que se encuentran la situación nutritiva de la cobertura, el contenido en materia orgánica, la salinidad, el efecto del carbonato cálcico, el pH y la capacidad de intercambio catiónico, factores todos ellos involucrados en la fructificación de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, mientras que en esta segunda parte se han tenido en consideración los factores microbiológicos.

Factores microbiológicos de la fructificación

Al igual que los factores fisico-químicos están involucrados en la transición de la fase de crecimiento vegetativo al reproductivo, los microorganismos también juegan un papel esencial en la formación de los champiñones. Numerosos trabajos confirman que la presencia de bacterias, en particular *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula, en la mezcla de cobertura, estimula la fructificación del champiñón.

Los trabajos de EGER (1961, 1962, 1963), partiendo de que la fructificación no se producía en mezclas de cobertura esterilizadas, la llevaron a postular que el estímulo de la fructificación estaba relacionado con la presencia de microorganismos. Ciertas bacterias que viven en la capa de cobertura, cuando se presentan en cantidad suficiente, son capaces de detener el crecimiento del micelio, hecho conectado con la formación de los carpóforos, existiendo además un efecto recíproco

entre el micelio y la microflora de la cobertura. A mayor número de bacterias, la inhibición del crecimiento era más fuerte, y antes se iniciaba la formación de los primordios. Bajo condiciones axénicas, la función de los microorganismos podía, sin embargo, ser sustituida por carbón activo incorporado a mezclas de cobertura estériles, observación confirmada posteriormente por LONG y JACOBS (1974), ANGELI-COUVY (1975), COUVY (1976), WOOD (1976) y PEERALLY (1979).

O'DONOGHUE (1963) asoció la iniciación con la presencia de *Actinomycetes*. URAYAMA (1967), continuando la línea de trabajo iniciada anteriormente (URAYAMA, 1961), encontró que la presencia de ciertas bacterias estimulaba la formación de esporóforos en *Psilocybe panaeoliformis* Murril y otros Agaricales, y aisló un metabolito bacteriano que inducía el desarrollo de esporóforos, entre otros, de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach.

HAYES *et al.* (1969) establecieron que la mezcla de cobertura, además de actuar como soporte mecánico para el desarrollo de los esporóforos y mantener una humedad adecuada para ellos, podría proporcionar un sustrato para las bacterias estimuladoras. La ausencia de esporóforos sobre composts sin cobertura expuestos a contaminación aérea, les llevó a pensar que las condiciones en el compost no permitían la acumulación de poblaciones efectivas de bacterias estimuladoras. Estos investigadores encontraron que entre las poblaciones de microorganismos aislados de materiales de cobertura no estéril se incluían ciertas bacterias, que cuando eran añadidas a cultivos puros, eran capaces de estimular la fructificación. Estas bacterias gram negativas, que utilizaban glucosa oxidativamente, y que producían una fluorescencia verde brillante en medio B de King, probablemente pertenecían al grupo fluorescente del género *Pseudomonas*, y fueron identificadas, utilizando técnicas diferenciadoras, como estrechamente relacionadas con *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula.

PARK y AGNIHOTRI (1969), también, demostraron que ciertas bacterias del suelo podían estimular la producción de champiñones, mediante la producción de algún o algunos metabolitos que estimularían la formación de esporóforos.

CURTO y FAVELLI (1972) observaron que el tratamiento de cultivos de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach con ciertos microorganismos se traducía en un aumento de la densidad del micelio, un aumento de la precocidad y un aumento del rendimiento.

ARROLD (1972) confirmó los trabajos de HAYES *et al.* (1969), según los cuales pseudomonas del grupo fluorescente, en concreto *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula, eran capaces de estimular la iniciación de la fructificación.

HUME y HAYES (1972), empleando diversos métodos de laboratorio en estudios para determinar las necesidades nutricionales para el desarrollo de primordios en cultivos en placa Petri, establecieron que estas bacterias, identificadas como *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula, aisladas de coberturas de cultivos comerciales, parecen necesarias para una producción repetida de gran número de primordios cuando se cultivan en asociación con *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. La irregular aparición de primordios en placas sin adición de *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula evidenciaba, sin embargo, que tal necesidad no era absoluta.

CRESSWELL y HAYES (1979) demostraron que el número total de bacterias en la capa de cobertura aumentaba significativamente después de aplicar la cobertura sobre compost sembrado, coincidiendo con OLIVIER y

GUILLAUMES (1979), hecho confirmado por HAYES (1981), INGRATTA y PATRICK (1987), REDDY y PATRICK (1992) y MILLER *et al.* (1995), siendo *Pseudomonas* el grupo dominante. Un primer pico de actividad bacteriana coincidía con la iniciación de la fructificación, apareciendo otro aproximadamente en la tercera florada. HAYES (1974) ya había indicado que una mayor actividad bacteriana en la cobertura previa a la cosecha implicaba un adelanto de la misma, un incremento en la formación de primordios y un aumento en el número y peso de los champiñones cosechados.

SAMSON *et al.* (1987) establecieron que las pseudomonas fluorescentes, y más concretamente *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula y *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula, pueden representar hasta el 50% del total de bacterias en muestras de cobertura, aunque DOORES *et al.* (1987) encontraron que éstas suponían únicamente un 2,1%. Los trabajos de MILLER *et al.* (1995) indicaron que la proporción de estas bacterias iban del 14% durante la fase vegetativa al 41% durante la fase reproductiva.

En otra línea, los trabajos de MADER (1943) y STOLLER (1952) emitían hipótesis relativas a la existencia de sustancias volátiles no identificadas, que se difundían a partir del micelio, e inhibían la fructificación si no eran modificadas por la capa de cobertura, o eliminadas mediante una ventilación adecuada. SCHISLER (1957; citado por ATKINS, 1974) apuntó la posibilidad de que la capa de cobertura actuara como una barrera para la liberación de un compuesto volátil imprescindible que era necesario en concentraciones críticas. Más tarde, LOCKARD y KNEEBONE (1963), TSCHIERPE y SINDEN (1965) y LOCKARD (1967) identificaron los metabolitos volátiles de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach como etanol, acetona, etileno, acetato de etilo y acetaldehído, además del dióxido de carbono. Sin embargo, LONG y JACOBS (1968) afirmaron que las sustancias volátiles, con excepción del CO_2, no jugaban ningún papel en el proceso de iniciación de los esporóforos en mezcla de cobertura no estéril.

Más tarde, EGER (1972) estableció la hipótesis de que las bacterias que inician la fructificación son capaces de utilizar los metabolitos volátiles del champiñón como única fuente de carbono, y entre éstos, la acetona jugaría un papel clave. HAYES y Nair (1976) demostraron que la presencia de *Pseudomonas* aumentaba notablemente en atmósferas enriquecidas en sustancias volátiles emitidas por el micelio creciendo sobre compost, en dióxido de carbono, y en etanol. También, se ha propuesto que la formación de primordios se podía producir mediante el uso de agentes quelantes, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), o compuestos conteniendo hierro añadidos a cultivos puros de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach en placa (HAYES, 1972), aunque WOOD (1976) fue incapaz de reproducir dicho efecto. Los estudios de HAYES (1972) permitieron postular que la actividad de las pseudomonas estaba asociada con su capacidad de solubilizar y reducir hierro en la capa de cobertura. El hierro soluble en agua, producido por el micelio y posiblemente inhibidor de su crecimiento, sería fijado por las bacterias en forma insoluble, manteniendo así niveles de hierro soluble en agua a concentraciones favorables para el crecimiento y fructificación de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach (HAYES, 1981). El efecto podría ser debido a la presencia de sideróforos, compuestos de poca masa molecular secretados por microorganismos que fijan hierro.

Según ANGELI-COUVY (1975) y WOOD (1976), la acción de los microorganismos sobre la iniciación fructífera sería una acción negativa, en cuanto estos últimos en lugar de

producir sustancias inductoras, contribuirían a la eliminación de eventuales sustancias inhibidoras de la fructificación emitidas por el propio micelio, que lo mantienen en estado vegetativo; la fructificación del champiñón en medio axénico se promueve por carbón activo, material utilizado por sus propiedades adsorbentes respecto a compuestos orgánicos de bajo peso molecular. WOOD y BLIGHT (1982) identificaron compuestos adsorbidos por "capas de cobertura" de carbón activo en cultivos axénicos de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, entre los que se encontraban xileno, tolueno, benzaldehído, alcohol bencílico, hexanal, isovaleraldehído, 1,2,4,5-tetracloro-3,6-dimetoxibenceno, 1-octen-3-ol, octanal, 3-octanona, fenol, fenilacetaldehído y acetato de etilo. En cuanto a su efecto, 1-octen-3-ol inhibió la formación de primordios pero no el crecimiento miceliano; el alcohol bencílico estimuló el número de primordios, mientras el resto de compuestos inhibían tanto el crecimiento miceliano como la formación de primordios, o no tuvieron efecto. A pesar de no estar determinados los procesos involucrados directamente en la iniciación de los esporóforos, la disminución por debajo de un determinado umbral del nivel de los compuestos autoinhibidores producidos por el micelio parece probablemente necesaria para conseguir altos niveles de iniciación (FLEGG y WOOD, 1985).

Los efectos del carbón activo como adsorbente han sido sin embargo cuestionados por STOLLER (1979), según el cual el carbón activo podría actuar reduciendo quinonas inhibidoras de la fructificación. También han sido cuestionados por VERBEKE y OVERSTYNS (1991), para los cuales estos inhibidores orgánicos específicos podrían no existir, y la base del efecto fisiológico del carbón activo sería, además de aumentar la oxidación de Fe^{2+}, afectar las reacciones del CO_2 en el agua de la capa de cobertura. O'DONOGHUE-MAGUIRE y RYAN (1991) relacionan la fructificación con un estímulo externo debido a sustancias volátiles y no volátiles difundidas por diversas especies de microorganismos a las que era muy sensible el micelio vegetativo de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach.

INGRATTA y PATRICK (1987) estimaron que el principal estímulo para la iniciación de los esporóforos se relaciona con la intensificación de la actividad microbiana en la capa de cobertura, como resultado de una base nutritiva limitada en la misma y un incremento en la fungistasis. El rápido aumento de las bacterias residentes en la cobertura en la proximidad de las hifas, estimulado por los nutrientes que se difunden desde el micelio, conduce a la inhibición del crecimiento miceliano. En cuanto a las bacterias responsables de la fructificación, estos mismos autores observaron que la mayoría de las bacterias presentes en la cobertura antes de ser colonizada por el micelio no estimulaban la fructificación. La mayoría de las que presentaban un efecto positivo se obtenían de la cobertura en el momento de la fructificación y de la hifosfera en la proximidad de los esporóforos. De los diez aislamientos más activos, cinco fueron especies de pseudomonas fluorescentes, uno parecía pertenecer a una pseudomona no fluorescente, y el resto correspondía a otras especies.

Observaciones mediante microscopía electrónica han confirmado la existencia de interacciones entre *Pseudomonas* sp. y *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach durante la formación de primordios (MASAPHY *et al.*, 1987). Las delgadas hifas de micelio del compost están rodeadas de cristales de oxalato cálcico, dispuestos más o menos tangencialmente a su superficie, dándole un aspecto similar a una escobilla (WHITNEY y ARNOTT, 1987). Estos cristales no aparecen en la cobertura, donde las hifas son más

gruesas y se agrupan formando hebras, y donde diversos tipos de bacterias estaban presentes en el ambiente de las hifas, algunas de las cuales se adherían a éstas mediante estructuras filamentosas, lo que podría ser importante en la estimulación de la iniciación fructífera. Es probable que los cristales de oxalato cálcico interfieran con la formación de hebras, etapa inicial de la formación de primordios. Fotografías realizadas mediante microscopio electrónico muestran a los primordios como un conjunto de hifas entrelazadas libres de cristales (MASAPHY *et al.*, 1987). Estos mismos autores apuntan la posibilidad de que las hifas exuden metabolitos que causen que las bacterias sean atraídas por quimiotaxia hacia su superficie y se multipliquen allí, comportamiento que pueden presentar *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula y *P. putida* (Trevisan) Migula. Podría crearse un gradiente nutritivo al que podrían responder bacterias que presentan quimiotactismo, que se moverían hacia estas fuentes nutritivas (principalmente compuestos termoestables de bajo peso molecular) obteniendo ciertas ventajas de supervivencia y que ayudaría también a la colonización del micelio (GREWAL y RAINEY, 1991).

Como ya mencionamos anteriormente, bacterias del género *Pseudomonas*, a las que se considera responsables del proceso de iniciación fructífera (HAYES *et al.*, 1969), están presentes en la capa de cobertura en el momento de producirse ésta (CRESSWELL y HAYES, 1979), pudiendo ser estimulada por su unión a las hifas. Además, esta unión también da origen a la desaparición de los cristales de oxalato cálcico, lo que puede ayudar a la formación de hebras. El oxalato podría ser usado en ciertas circunstancias por las bacterias. En experimentos más recientes (MASAPHY, datos no publicados; citado por MASAPHY *et al.*, 1987), bacterias adheridas a las hifas fueron aisladas y cultivadas, y fueron capaces de estimular la iniciación cuando se inoculaban en mezcla de cobertura estéril. Continuando con el estudio de esta interacción, COCHET *et al.* (1992) reinciden en la idea de que el micelio es capaz de emitir sustancias volátiles que podrían ser asimiladas por las bacterias y que podrían aumentar su crecimiento, mientras las bacterias de la cobertura podrían actuar sobre el micelio de dos maneras, indirectamente por emisión de metabolitos volátiles, o directamente al observarse crecimiento de micelio a costa de las bacterias. El microscopio electrónico mostró que, inmediatamente después de cubrir, el micelio estaba rodeado de cristales, probablemente de oxalato cálcico, que posteriormente no se observaban en los agregados de hifas, sobre cuya superficie se detectó la presencia de bacterias. Estos cristales ejercerían una función protectora durante la incubación, protección que disminuiría progresivamente durante el proceso de cultivo. Posteriormente, se ha confirmado que pseudomonas fluorescentes se adhieren rápida y firmemente a las paredes de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach de forma específica, probablemente por fuerzas electrostáticas (RAINEY, 1991; MILLER *et al.*, 1995). La producción de diversos exopolisacáridos por parte de pseudomonas fluorescentes asociadas a la producción de champiñón podría, por otro lado, proteger a las bacterias de condiciones climáticas adversas y mediar también en la adherencia de las bacterias al micelio del hongo (FETT *et al.*, 1995). La importancia de la presencia de polisacaridos y material fibrilar sobre la superficie de *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula y *Pseudomonas tolaasii* Paine en la rápida y firme adherencia a la superficie del micelio de *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach había sido indicada previamente por RAINEY (1991).

Bibliografía

ANGELI-COUVY J., 1975. La fructification de l'*Agaricus bisporus* (Lange) Sing. (*Psalliota hortensis* Cke) sur milieu aseptique en présence de charbon actif. C. R. Acad. Sc. Paris, 280, Série D, 2101-2103.

ARROLD N.P., 1972. Confirmation of the ability of *Pseudomonas putida* to cause fruiting of the cultivated mushroom. MGA Bull., 269, 200-201.

ATKINS F.C., 1974. Casing materials and casing. In: Guide to Mushroom Growing, 58-62. Ed. Faber and Faber. London, UK.

COCHET N., GILLMAN A., LEBEAULT J.M., 1992. Some biological characteristics of the casing soil and their effect during *Agaricus bisporus* fructification. Acta Biotechnol., 12(5), 411-419.

COUVY J., 1976. La fructification d'*Agaricus bisporus* en milieu aseptique: un modèle experimental pour l'étude des substances impliquées dans l'initiation fructifère. Mushroom Sci., 9(1), 157-164.

CRESSWELL P.A., HAYES W.A., 1979. Further investigation on the bacterial ecology of the casing layer. Mushroom Sci., 10(1), 347-359.

CURTO S., FAVELLI F., 1972. Stimulative effect of certain micro-organisms (bacteria, yeasts, microalgae) upon fruit-body formation of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Mushroom Sci., 8, 67-74.

DOORES S., KRAMER M., BEELMAN R., 1987. Evaluation and bacterial populations associated with fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). In: Developments in Crop Science 10: Cultivating Edible Fungi, P.J. Wuest, D.J. Royse, R.B. Beelman (eds), 283-294. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York, NY, USA.

EGER G., 1961. Untersuchungen über die funktion der dekschicht bei der fruchtkörperbildung des kulturchampignons, Psalliota bispora Lge. *Archiv für Mikrobiologie*, 39, 313-334.

EGER G., 1962. The 'Halbschalentest', a simple method for testing casing materials. *M.G.A.* Bull., 148, 159-168.

EGER G., 1963. Untersuchungen zur fruchtkörperbildung des kulturchampignons. Mushroom Sci., 5, 314-320.

EGER G., 1972. Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus*. Mushroom Sci., 8, 719-725.

FETT W.F., WELLS J.M., CESCUTTI P., WIJEY C., 1995. Identification of exopolysacharides produced by fluorescent pseudomonads associated with commercial mushroom (*Agaricus bisporus*) production. Appl. Environ. Microbiol., 61(2), 513-517.

FLEGG P.B., WOOD D.A., 1985. Growth and fruiting. In: The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom, P.B. Flegg, D.M. Spencer, D.A. Wood (eds), 141-177. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, UK.

GREWAL S.I.S., RAINEY P.B., 1991. Phenotypic variation of *Pseudomonas putida* and *P. tolaasii* affects the chemotactic response to *Agaricus bisporus* mycelial exudate. J. Gen. Microbiol., 137, 2761-2768.

HAYES W.A., 1972. Nutritional factors in relation to mushroom production. Mushroom Sci., 8, 663-674.

HAYES W.A., 1974. Micro-biological activity in the casing layer and its relation to productivity and disease control. In: The Casing Layer, W.A. HAYES (ed), 37-47. Mushroom Growers' Association, W.S. Maney & Son Ltd. Leeds, UK.

HAYES W.A., 1981. Interrelated studies of physical, chemical and biological factors in casing soils and relationships with productivity in commercial culture of *A. bisporus*. Mushroom Sci., 11(2), 103-129.

HAYES W.A., RANDLE P.E., LAST F.T., 1969. The nature of the microbial stimulus affecting sporophore formation in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Ann. appl. Biol., 64, 177-187.

HAYES W.A., NAIR N.G., 1976. Effects of volatile metabolic by-products of mushroom mycelium on the ecology of the casing layer. Mushroom Sci., 9(1), 259-268.

HUME D.P., HAYES W.A., 1972. The production of fruit-body primordia in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. on agar media. Mushroom Sci., 8, 527-532.

INGRATTA F.J., PATRICK Z.A., 1987. Influence of microorganisms and fungistasis on sporophore initiation in *Agaricus brunnescens*. In: Developments in Crop Science 10: Cultivating Edible Fungi, P.J. Wuest, D.J. Royse, R.B. Beelman (eds), 27-40. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York, NY, USA.

LOCKARD J.D., 1967. Metabolic gases of the cultivated mushroom. Mushroom Sci., 6, 157-164.

LOCKARD J.D., KNEEBONE L.R., 1963. Investigation of the volatile metabolic gases produced by *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Mushroom Sci., 5, 281-299.

LONG P.E., JACOBS L., 1968. Some observations on CO_2 and sporophore initiation in the cultivated mushroom. Mushroom Sci., 7, 373-384.

LONG P.E., JACOBS L., 1974. Asepting fruiting of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Trans. British Mycol. Soc., 63, 99-107.

MADER E.O., 1943. Some factors inhibiting the fructification and production of the cultivated mushroom *Agaricus campestris*. Phytopathology, 33, 1134-1145.

MASAPHY S., LEVANON D., TCHELET R., HENIS Y., 1987. Scanning electron microscope studies of interactions between *Agaricus bisporus* (Lang) Sing hyphae and bacteria in casing soil. Appl. Environ. Microbiol., 53(5), 1132-1137.

MILLER N., GILLESPIE J.B., DOYLE O.P.E., 1995. The involvement of microbiological components of peat based casing material in fructification of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.*, 14(1), 313-321.

O'DONOGHUE D.C., 1963. New light on fruit body initiation. Mushroom Sci., 5, 247-249.

O'DONOGHUE -MAGUIRE D.C., RYAN J.P., 1991. Influences of a wide range of bacteria, actinomycetes and fungi on mycelial growth of *Agaricus bisporus* (Lange), Sing and the special fruiting requirement of *A. bisporus*. Mushroom Sci., 13(2), 753-759.

OLIVIER J.M., GUILLAUMES J., 1979. Évolution microbiologique des terres de gobetage. Bull. FNSACC, 1, 9-16, 2, 27-43.

PARK J.Y., AGNIHOTRI V.P., 1969. Bacterial metabolites trigger sporophore formation in *Agaricus bisporus*. Nature, 222, 984.

PEERALLY A., 1979. Sporophore initiation in *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitorquis* in relation to bacteria and activated charcoal. Mushroom Sci., 10(1), 611-639.

RAINEY P.B., 1991. Phenotypic variation of *Pseudomonas putida* and *P. tolaasii* affects attachment to *Agaricus bisporus* mycelium. J. Gen. Microbiol., 137, 2769-2779.

REDDY M.S., PATRICK Z.A., 1992. Effect of bacteria associated with mushroom compost & casing material on basidiomata formation in *Agaricus bisporus*. Mushroom News, 40(5), 23-31.

SAMSON R., HOUDEAU G., KHANNA P., GUILLAUMES J., OLIVIER J.M., 1987. Variability of fluorescent *Pseudomonas* populations in composts and casing soils used for mushroom cultures. In: Developments in Crop Science 10: Cultivating Edible Fungi, P.J. Wuest, D.J. Royse, R.B. Beelman (eds), 19-25. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York, NY, USA.

STOLLER B.B., 1952. Studies on the function of the casing for mushroom beds. Part I. The relation of the abnormal growth of the cultivated mushroom to fructification and casing soil. MGA Bulletin, 34, 289-297.

STOLLER B.B., 1979. Synthetic casing for mushroom beds. Mushroom Sci., 10(2), 187-216.

TSCHIERPE H.J., SINDEN J.W., 1965. Ueber leicht flüchtige produkte des aeroben und anaeroben stoffwechsels des kulturchampignons, *Agaricus campestris* var. *bisporus* (L.) Lge. Archiv für Mikrobiologie, 52, 231-241.

URAYAMA T., 1961. Stimulative effect of certain specific bacteria upon mycelial growth and fruit body formation of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Bot. Mag. Tokyo, 74, 56-59.

URAYAMA T., 1967. Initiation of pinheads in *Psilocybe panaeoliformis* caused by certain bacteria. Mushroom Sci., 6, 141-156.

VERBEKE M.N., OVERSTYNS A., 1991. Interrelationships between activated charcoal, carbon dioxide, oxalate and iron chemistry for fructification of *Agaricus bisporus*. Mushroom Sci., 13(2), 737-746.

WHITNEY K.D., ARNOTT H.J., 1987. Calcium oxalate crystal morphology and development in *Agaricus bisporus*. Mycologia, 79(2), 180-187.

WOOD D.A., 1976. Primordium formation in axenic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. J. Gen. Microbiol., 95, 313-323.

WOOD D.A., BLIGHT M., 1982. Sporophore initiation in axenic culture. Report of GCRI, *1981*, 140.

(Aceptado para publicación el 27 de noviembre de 2001)