

EFEITO DE EXTRATOS AQUOSOS DOS COGUMELOS *Lentinula edodes* E *Pleurotus ostreatoroseus* SOBRE O DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO DE *Aspergillus nidulans*

THE EFFECT OF WATER EXTRACTS OF THE MUSHROOMS *Lentinula edodes* AND *Pleurotus ostreatoroseus* ON THE VEGETAL DEVELOPMENT OF *Aspergillus nidulans*

Marcela Funaki dos Reis ⁽¹⁾

¹ Centro Universitário Cesumar – Unicesumar, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde.
Endereço para correspondência: Marcela Funaki dos Reis. Av. Guedner, 1610, Jd. Aclimação, CEP: 87050-900, Maringá – Paraná, Telefone: (44) 3027-6360, marcela.reis@unicesumar.edu.br.

Carmem Lúcia M. S. C. da Rocha ⁽²⁾

² Universidade Estadual de Maringá-UEM, Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada.

RESUMO

Os cogumelos são alimentos funcionais que promovem efeitos biológicos nos organismos por meio de ação sobre a expressão gênica. Este estudo teve por objetivo analisar os efeitos de extratos aquosos dos cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinula edodes* sobre o desenvolvimento vegetativo de *Aspergillus nidulans*. Foi verificado que estes extratos promovem a aceleração de cada fase de germinação do conídio por meio da ativação do metabolismo, estabelecimento e manutenção do crescimento polarizado da hifa. Também foi notado que os extratos apresentam efeito pró-apoptótico em conídios malformados, estímulo ao crescimento radial da colônia e aumento de biomassa micelial. As análises indicam que estes extratos são capazes de modular a expressão de genes responsáveis pelo desenvolvimento vegetativo em *Aspergillus nidulans*. E ao comparar os cogumelos analisados, constatou-se de que *Pleurotus ostreatoroseus* promove efeito biológico sobre *Aspergillus nidulans* de maneira superior a *Lentinula edodes* nos parâmetros testados. Estes resultados são promissores e contribuem com a popularização de *Pleurotus ostreatoroseus*, incentivando a produção comercial, o consumo e pesquisas que determinam as propriedades biológicas deste cogumelo.

Palavras-Chave: Shimegi rosa; Expressão gênica; Germinação de conídios; Desenvolvimento da colônia; Biomassa micelial.

ABSTRACT

Mushrooms are functional food that enhances biological effects in organisms through their activities on the genic expression. Current study analyzes the effects of water extracts of the mushrooms *Pleurotus ostreatoroseus* and *Lentinula edodes* on the vegetal development of *Aspergillus nidulans*. Extracts accelerate each germination phase of the conidium by activating metabolism, establishment and maintenance of the hypha's polarized growth. Further, extracts have a pro-apoptotic effect in malformed conidia, stimulus to the colony's radial growth and increase of mycelial biomass. Results show that extracts are capable of modulating genes which cause vegetal development in *Aspergillus nidulans*. When the mushrooms are compared, it has been verified that *Pleurotus ostreatoroseus* has a biological effect on *Aspergillus nidulans* which is higher than that by *Lentinula edodes* within the tested parameters. The above results are highly promising and contribute towards the popularization of *Pleurotus ostreatoroseus*, triggering commercial production, consumption and research that determine the biological properties of the mushroom.

Key Words: Oyster pink; Genic expression, Germination of conidia, Golony development; Mycelial biomass.

INTRODUÇÃO

Os cogumelos são tradicionalmente utilizados na alimentação humana devido as suas propriedades organolépticas, gastronômicas e nutricionais (1). O crescente interesse em cogumelos é justificado pela procura por alimentos que possam beneficiar a saúde. Nesse sentido, estudos mostram que alguns cogumelos são alimentos funcionais e produtos nutracêuticos que consumidos de maneira regular podem beneficiar a saúde (2-5).

Estes cogumelos possuem compostos bioativos como os polifenóis e flavonoides, carotenoides, β -glucanos e ácidos fenólicos (6-9). Estes compostos bioativos são responsáveis pela promoção de efeitos biológicos antioxidantes e antimutagênicos, aumento na função celular e humoral do sistema imune e antitumoral (10-13).

Pleurotus ostreatoroseus Singer, conhecido popularmente como shimegi rosa é um cogumelo comestível nativo no Brasil, encontrado em remanescentes da Mata Atlântica. Este cogumelo é produzido para fins comerciais, e neste caso apresenta características que favorece seu cultivo quando comparado a outros cogumelos. É capaz de colonização rápida e vigorosa com potencial de competição e resistência contra outros fungos e bactérias, além de garantir fluxos de produção, com eficiência biológica e rendimento superior a outras espécies (14). Embora o gênero *Pleurotus* seja reconhecido como medicinal pouco é conhecido sobre os efeitos biológicos de *Pleurotus ostreatoroseus*.

Para avaliar os efeitos biológicos dos cogumelos podem ser utilizados diferentes ensaios, nesse sentido o fungo filamentoso *Aspergillus nidulans* é um eficiente modelo para análise e monitoramento *in situ*. *A. nidulans* apresenta características que favorece sua utilização para estudos de efeitos biológicos como um ciclo de vida curto, haploidia e morfogênese definida (15). Assim, o estudo da germinação e crescimento da colônia pode fornecer informações sobre compostos com ação antifúngica, a promotora de germinação do conídio e desenvolvimento da colônia,

contribuindo com informações sobre efeitos biológicos de compostos bioativos de interesse.

Nesse sentido o presente estudo é o primeiro relato da utilização do cogumelo brasileiro *Pleurotus ostreatoroseus* com efeito biológico sobre um sistema-teste. E para comparar os efeitos biológicos foi utilizado o cogumelo *Lentinula edodes* visto que suas propriedades medicinais são reconhecidas. Assim, este estudo analisou os efeitos de extratos aquosos dos cogumelos *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinula edodes* sobre o desenvolvimento vegetativo de *Aspergillus nidulans*.

MATERIAL E MÉTODOS

Cogumelos e extratos

Os basidiomas foram adquiridos frescos em mercado local e em seguida foram fracionados e liofilizados. O pulverizado (2,5g) foi colocado em 100 mL de água destilada para extração dos compostos solúveis, durante 2 horas, em repouso, a temperatura ambiente. Cada extrato foi filtrado duas vezes em papel filtro, e em seguida em filtro Millipore com poro de 20 μ m de diâmetro. Os extratos foram nomeados como extrato aquoso de *L. edodes* (EAL), e extrato aquoso de *P. ostreatoroseus* (EAP).

Linhagens de *Aspergillus nidulans*

Foram utilizadas as linhagens *biA1methG1* e MSE normais para o desenvolvimento vegetativo e os mutantes CLB3 (mutante para crescimento, esporulação e ciclo sexual) e G422UV (mutante para crescimento, esporulação e para sistema de reparo por excisão de bases).

Meios de cultura

O meio de cultura utilizado para *A. nidulans* foi o Meio Completo (MC) líquido e sólido, preparados segundo Pontecorvo et al. (16), Clutterbuck (17) e Rocha (18).

Tratamentos

As concentrações dos extratos EAL e EAP foram estabelecidas segundo proposto por Reis e Rocha (19), evitando uma possível atividade antifúngica, mas possibilitando efeitos biológicos sobre *A. nidulans*. Assim, foi utilizada a concentração de 0,16 % (v / v) de extrato em 100 µL de MC líquido para a análise da germinação. Para as análises de desenvolvimento da colônia e biomassa micelial foi utilizada a concentração de 0,24 % (v / v) de extrato em 20 mL de MC sólido. Foi considerado controle (CO) a cultura sem extratos.

Análise da germinação

A germinação *A. nidulans* foi avaliada em lâmina por meio da preparação de conídios dormentes suspensos em solução de Tween 80 a 0,01 % (v / v), filtrada em lâmina de vidro e inoculada (1×10^6) sobre 100 µL dos respectivos tratamentos. As lâminas foram transferidas para câmara úmida e incubadas a 37°C durante 8 horas. Posteriormente a leitura foi realizada em intervalos de 2 horas, sendo as lâminas de cada tratamento analisadas ao microscópio óptico. Em cada leitura foram analisados 200 conídios e calculados as porcentagens de conídios em cada fase da germinação (conídio dormente, embebido, com botão germinativo e tubo germinativo).

Análise do desenvolvimento da colônia

O desenvolvimento da colônia de *A. nidulans* foi determinado por meio da inoculação por picada de conídios dormentes no centro de placas de Petri com MC sólido de acordo com os tratamentos, e crescimento em estufa a 37°C durante 5 dias. A avaliação do crescimento micelial consistiu na determinação do diâmetro das colônias (cm) de cada linhagem/tratamento usando-se a média de 4 leituras efetuadas em dois sentidos diametralmente opostos utilizando régua milimetrada.

Análise da biomassa micelial

Conídios dormentes de *A. nidulans* foram inoculados no centro de placas de Petri sob um recorte de membrana de diálise colocada sobre o meio MC sólido. Após 10 dias de incubação a 37°C foi verificado o diâmetro da colônia e a biomassa micelial determinada pela diferença entre o peso da colônia subtraindo o peso da membrana de diálise antes da inoculação.

Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em duplicata, sendo as lâminas e placas de Petri com tratamentos considerados uma unidade experimental. Aos resultados foram aplicadas a análise de variância (ANOVA), e as médias agrupadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) utilizando o programa SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram investigados os efeitos biológicos de extrato aquoso de *L. edodes* (EAL) e *P. ostreatoroseus* (EAP) sobre o desenvolvimento vegetativo de linhagens normais e mutantes de *A. nidulans*, para tanto foram analisados os parâmetros de germinação, diâmetro da colônia e biomassa micelial. Estes parâmetros foram utilizados, pois as espécies de *Aspergillus* apresentam uma variedade de enzimas que degradam polímeros do substrato transformando-os em moléculas que podem ser utilizadas como nutrientes (20), assim possibilitando o emprego destes fungos para analisar o efeito biológico de extratos de cogumelos.

O efeito biológico de EAL e EAP na germinação dos conídios de *A. nidulans* foi analisado em intervalos de 2 horas (02, 04, 06 e 08 horas). Foi observado que os extratos EAL e EAP na concentração testada não inibiram a germinação dos conídios, embora cada linhagem respondeu de maneira diferente aos tratamentos, como mostra a Figura 1. Quando analisada a germinação dos conídios da linhagem *biA1MethG1* foi verificado que EAL e EAP promovem estímulo no estabelecimento da polaridade da hifa (fase de botão germinativo) em 04 horas e aceleração do processo de formação do tubo germinativo

de maneira significativa a 06 horas de germinação pelo tratamento com EAL.

A germinação dos conídios da linhagem mutante CLB3 apresentou aceleração no processo de embebição à 02 horas, com diferença significativa entre os tratamentos e CO, com EAP apresentando efeito biológico de estímulo superior a EAL. À 04 horas de germinação foi observado que o extrato EAP acelera de maneira significativa o processo de formação do botão germinativo. Às 06 horas de germinação foi observado que os tratamentos com EAL e EAP estimulam a formação e manutenção do crescimento polarizado da hifa.

Na germinação da linhagem normal MSE à 04 horas foi detectado estímulo a formação de botão germinativo de maneira significativa pelo tratamento com EAL. E às 06 e 08 horas de germinação foi observado que o tratamento com EAP estimula o crescimento e manutenção do crescimento polarizado da hifa.

Com relação ao efeito biológico dos tratamentos EAL e EAP sobre a linhagem mutante G422UV, foi observado que não ocorre estímulo a germinação, embora é possível afirmar que aqueles conídios que ainda não germinaram estão mortos.

Nesse sentido na linhagem mutante G422UV foi observado em todas as fases da germinação elevado número de conídios dormentes, sendo que este número é superior com o tratamento com os extratos EAL e EAP. É possível que os cogumelos atuem na indução de apoptose de conídios malformados.

A germinação do conídio dormente é iniciada pelo reconhecimento de uma fonte de carbono e água, e se torna visível à 02 horas de germinação quando os conídios absorvem água aumentando o seu volume sendo chamado de conídio embebido. Segundo Oh et al. (20), nesta fase ocorre a ativação de um amplo grupo de proteínas envolvidas com o metabolismo de síntese e transcrição, modificações pós-transcricionais, e aquelas relacionadas a própria organização celular e

biogênese, estresse e defesa. Nossos resultados sugerem que os extratos dos cogumelos, principalmente EAP, atuam na ativação de genes como *dewA* e *fluG* relacionados a ativação metabolismo do conídio durante a germinação (21). A 04 horas de germinação, a análise da morfologia do conídio permite visualizar o estabelecimento do crescimento polarizado, neste momento o conídio recebe o nome de botão germinativo, pois ocorre dilatação de uma única região no conídio. Para o desenvolvimento desta morfologia, é necessária a ativação do ciclo celular, que em *A. nidulans* é dependente da quinase NIMA e progressão da fase S de modo que quando estes fatores são estimulados o crescimento polarizado acompanha esta estimulação (22-23). O crescimento polarizado da hifa é controlado por genes responsáveis em estabelecer um local no conídio onde será iniciado o crescimento da hifa (24-25). Neste estudo o extrato EAP estimulou o desenvolvimento do botão germinativo nas linhagens *biA1methG1* e CLB3, e EAL na linhagem MSE. Estes resultados sugerem que estes extratos EAL e EAP atuam na expressão da quinase A que regula o início do crescimento polarizado da hifa (26). À 06 horas de germinação é confirmada a manutenção do crescimento polarizado pelo alongamento da hifa (27), nesta fase o gene *sidB* promove o alongamento do tubo germinativo (28). Após 08 horas de germinação se inicia o desenvolvimento do micélio, e os conídios dormente encontrados nesta fase podem ser considerados mortos. Logo o elevado número de conídios encontrados nesta fase, neste estudo revela ação de EAL e EAP como indutores de efeito pró-apoptótico. O efeito pró-apoptótico sugerido é observado nos cogumelos *Ganoderma lucidum*, *L. edodes*, *P. sajor-caju* que apresentam atividade de indução de apoptose em células tumorais em mamíferos (29-30).

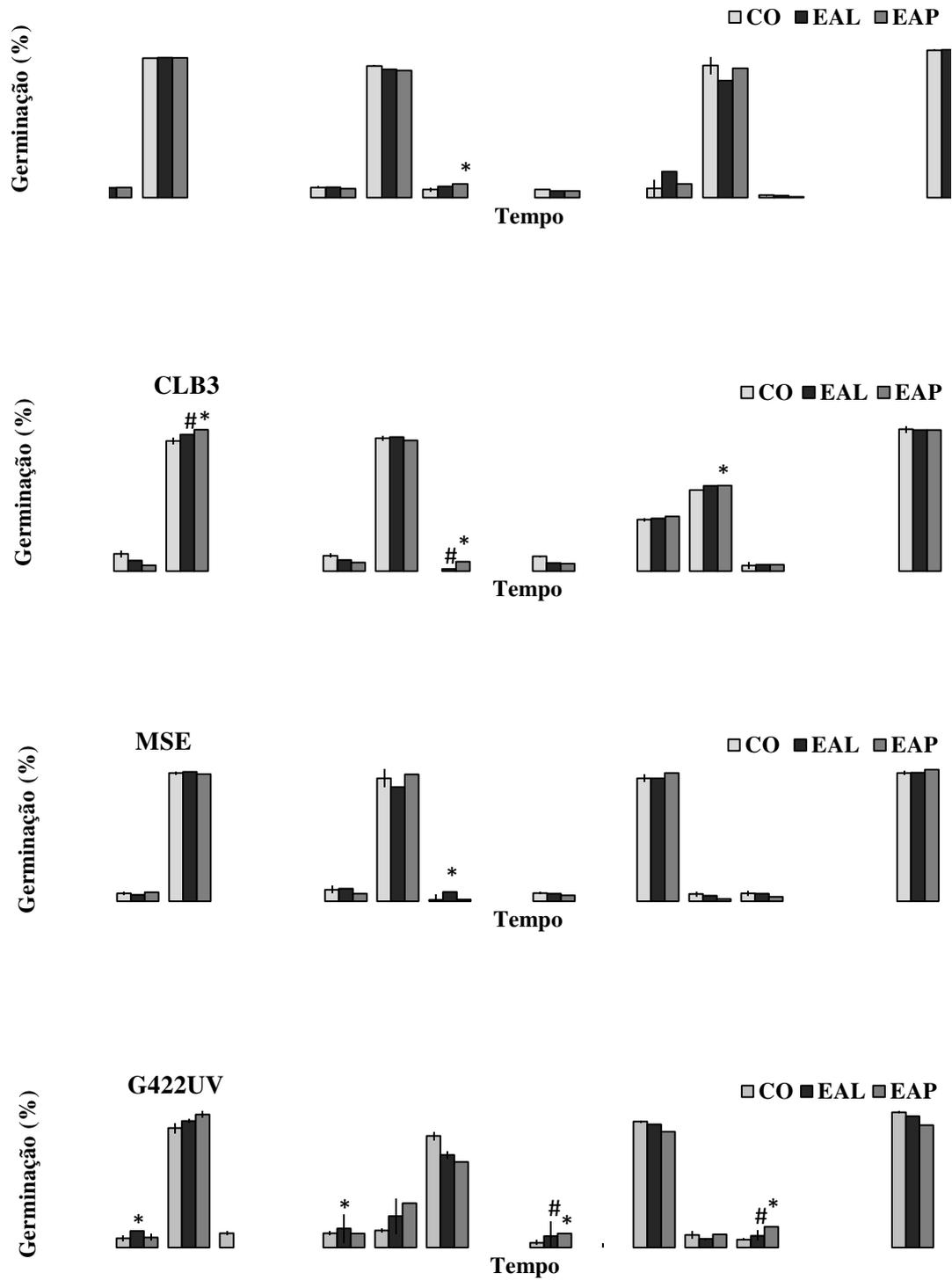


Figura 1. Germinação de conídios de *A. nidulans* tratados com extrato de *L. edodes* (EAL), *P. ostreatoroseus* (EAP) e controle (CO). Fases da germinação: A: conídio dormente; B: conídio embebido; C: SaBios: Rev. Saúde e Biol., v.11, n.2, p.42-52, mai./ago., 2016
ISSN:1980-0002

conídio com botão germinativo; D: conídio com tubo germinativo. Os dados foram expressos como média da porcentagem da germinação \pm desvio padrão. Trios de colunas marcados são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$): * para diferença entre tratamento e controle, # para diferença entre os tratamentos.

Para analisar o efeito biológico de EAL e EAP no desenvolvimento vegetativo de *A. nidulans* foi observado diariamente o diâmetro da colônia (Figura 2). Os extratos não promoveram efeito biológico morfológicamente visível no diâmetro da colônia da linhagem *biA1methG*, quando comparado ao controle. E, embora este resultado possa sugerir que os extratos possam inibir o crescimento radial da colônia, é relevante lembrar que a conidiogênese e o ciclo sexual ocorrem a partir de um tempo de crescimento vegetativo, simultaneamente com a continuidade do desenvolvimento vegetativo da colônia. Neste caso, Timberlake e Clutterbuck (15) afirmam que o crescimento vegetativo é desacelerado, quando é iniciado o ciclo assexual, a conidiogênese. Se os extratos EAL e EAP podem promover efeito biológico de promoção da conidiogênese, isto pode explicar porque a linhagem *biA1methG* não foi responsiva no parâmetro diâmetro da colônia.

As linhagens CLB3, MSE e G422UV quando tratadas com os extratos EAL e EAP apresentaram desenvolvimento da colônia superior ao controle de maneira significativa ($p < 0,05$), mas não entre os extratos. A linhagem CLB3 é um mutante para crescimento vegetativo, mas quando tratada com EAL e EAP supera esta deficiência, apresentando desenvolvimento da colônia superior e significativo ao controle nos dois primeiros dias de tratamento com o extrato de cogumelos. A linhagem MSE respondeu aos tratamentos com EAL e EAP completando o desenvolvimento da colônia em tempo inferior quando comparado ao controle de maneira significativa ($p < 0,05$). E G422UV respondeu ao tratamento com EAL e EAP de maneira significativa em relação ao controle ($p < 0,05$), mas não entre os tratamentos.

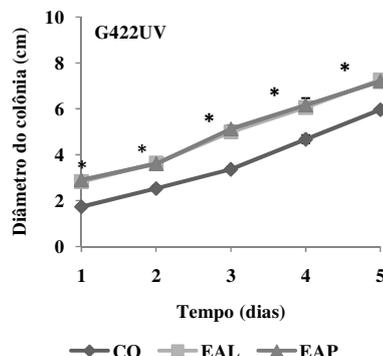
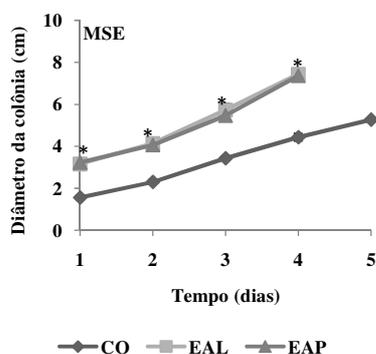
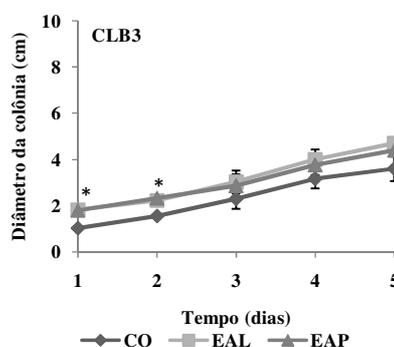
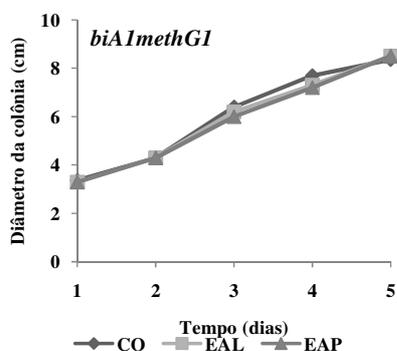


Figura 2. Desenvolvimento de colônias de *A. nidulans* tratadas com os extratos de *L. edodes* (EAL), *P. ostreatoroseus* (EAP) e controle (CO). O diâmetro da colônia foi expresso como média \pm desvio padrão. * para significativo pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os resultados sugerem que EAL e EAP promovem efeito biológico sobre a colônia de *A. nidulans*, estimulando o crescimento radial do micélio, principalmente em linhagens mutantes. Este mecanismo em *A. nidulans* esta relacionado ao gene *acoD* que controla a ativação do gene *brlA* nos casos em que o crescimento vegetativo é limitado (31). Neste estudo os resultados sugerem que os EAL e EAP sejam capazes de ativar a expressão do gene *acoD* promovendo o crescimento do diâmetro da colônia de maneira superior ao controle.

O diâmetro da colônia é um parâmetro que precisa ser analisado com atenção, pois um aumento ou diminuição de diâmetro não é obrigatoriamente proporcional ao crescimento micelial. Por este motivo,

análise de desenvolvimento vegetativo de colônias deve levar em consideração os parâmetros peso úmido ou peso seco (biomassa micelial).

Foi analisada a biomassa micelial (Tabela 1) de colônias de *A. nidulans* tratadas com extratos EAL e EAP. O tratamento da linhagem *biA1MethG1* com EAL e EAP não proporcionou aumento de biomassa micelial da colônia quando comparado ao controle. As linhagens CLB3 e MSE quando tratadas com os extratos EAL e EAP apresentaram aumento significativo de biomassa da colônia quando comparada ao controle. E para a linhagem G422UV quando tratada com os extratos houve aumento de biomassa micelial significativa quando comparada ao controle ($p < 0,05$), mas sem diferenças entre os tratamentos.

Tabela 1. Biomassa Micelial de *A. nidulans* tratada com EAL e EAP

	Linhagens de <i>A. nidulans</i>			
	<i>biA1MethG1</i>	CLB3	MSE	G422UV
CO	1,88 \pm 0,01 ^a	0,76 \pm 0,01 ^b	0,93 \pm 0,15 ^b	0,74 \pm 0,05 ^c
EAL	1,38 \pm 0,53 ^a	0,96 \pm 0,01 ^a	1,76 \pm 0,12 ^a	0,82 \pm 0,00 ^a
EAP		0,91 \pm 0,02 ^a	1,82 \pm 0,03 ^a	0,85 \pm 0,02 ^b

Biomassa Micelial de *A. nidulans* tratada com extrato aquoso de *L. edodes* (EAL), *P. ostreatoroseus* (EAP) e controle (CO). Valores de biomassa micelial foram expressos como média \pm desvio Padrão. ^{a,b,c} Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Ao analisar o efeito dos extratos EAL e EAP sob o desenvolvimento vegetativo é possível afirmar que estes promovem crescimento de biomassa de *A. nidulans*. É possível que os extratos dos cogumelos também atuem ativando a expressão de genes que controlam esta etapa de desenvolvimento de *A. nidulans*. Em *A. nidulans* foi observado que o gene *phaA* atua sob a produção da biomassa micelial, pois quando suprimido diminui o peso do micélio, porém não interfere no crescimento da colônia (32). Já a proteína expressa nesta fase do desenvolvimento de *A. nidulans* é a Translationally Controlled Tumor Protein (TCTP) que controla a ramificação normal das hifas durante o desenvolvimento

vegetativo (33). Já a overexpression de *pkaB* aumenta a proliferação de hifas e recupera os defeitos causados pela proteína Delta *pkaA* indicando que esta proteína desempenha um papel relevante no crescimento vegetativo (34). Estudos relatam a atividade de cogumelos em elevar ou reduzir os níveis de expressão gênica de proteínas relacionadas a modulação do sistema imune e atividade anti-tumoral. Nesse sentido foi discutido que *Agaricus blazei* apresenta atividade de modulação do sistema imune diminuindo a expressão de interleucinas e interferon e *Pholiota adiposa* eleva os níveis de expressão da enzima antioxidante superóxido dismutase (35). Já o extrato aquoso de *Clitocybe nuda* e o composto grifolina isolado de *Albatrellus*

confluens atuam sobre a expressão gênica de proteínas relacionadas a progressão do ciclo celular (36-37).

Estes resultados mostram que os extratos de *L. edodes* e *P. ostreatoroseus* promovem efeitos biológicos sobre a expressão gênica de *A. nidulans*, acelerando cada fase de germinação do conídio e favorecendo o desenvolvimento da colônia e biomassa micelial, além de indução a apoptose. Estes resultados são promissores, pois apontam que *P. ostreatoroseus* é capaz de promover efeitos biológicos superior a *L. edodes*.

Pouco são os estudos que relatam os efeitos biológicos de *P. ostreatoroseus*, mas é sugerido que este cogumelo atue na inibição da conidiogênese a favor na entrada do ciclo sexual em *A. nidulans*, além da composição química sugerir uma potente atividade antioxidante (38-39).

Nesse sentido, estes resultados contribuem com a popularização de *P. ostreatoroseus* impulsionando o cultivo comercial e consumo, além de incentivar a pesquisa sobre a composição química

funcional, efeitos biológicos e propriedades medicinais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível observar que os extratos aquosos dos cogumelos *L. edodes* e *P. ostreatoroseus* apresentam efeito biológico sobre o desenvolvimento vegetativo de *A. nidulans* acelerando cada fase de germinação por ativação o metabolismo do conídio, e estabelecimento e manutenção do crescimento polarizado da hifa. Foi observado que os extratos apresentam possível efeito pró-apoptótico em conídios mal formados. Com relação ao desenvolvimento da colônia de *A. nidulans* foi observado que os extratos dos cogumelos podem estimular o crescimento vegetativo e biomassa micelial nas linhagens mutantes superando a deficiência genética destas linhagens. Assim, são necessários estudos futuros que analisem o efeito destes extratos aquosos sob a expressão gênica em *A. nidulans*.

REFERÊNCIAS

- (1) WANG, C.R., *et al.* Effects of Adenosine Extract from *Pholiota adiposa* (Fr.) Quel on mRNA Expressions of Superoxide Dismutase and Immunomodulatory Cytokines. *Molecules*, v.18, n.2, p: 1775-1782, 2013.
- (2) SOARES, A.A., *et al.* Hepatoprotective Effects of Mushrooms. *Molecules*, v. 18, n.7, p. 7609-7630, 2013.
- (3) WONG, W.L., *et al.* Hepatoprotective effects of *Panus giganteus* (Berk.) Corner against Thioacetamide- (TAA-) induced liver injury in rats. *eCAM*, v. 2012, 10 p., 2012.
- (4) PERALTA, R.M., *et al.* Functional properties of edible and medicinal mushrooms. *Curr. Trends Microbiol.*, n. 4, p. 45-60, 2008.
- (5) CHANG, S.T.; BUSWELL, J.A. Medical mushrooms-A prominent source of nutraceuticals for the 21st century. *Curr. Top. Nutr. Res.*, v. 1, n. 4, p: 257-280, 2003.
- (6) JEONG, S.C., *et al.* Antioxidant and immunomodulating activities of exo-and endopolysaccharide fractions from submerged mycelia cultures of culinary-medicinal mushrooms. *Int. J. Med. Mushrooms*, v. 15, n. 3, p: 251-266, 2013.
- (7) ATRI, N., *et al.* Nutritional and nutraceutical composition of five wild culinary-medicinal species of genus *Pleurotus* (higher Basidiomycetes) from northwest India. *Int. J. Med. Mushrooms*, v.15, n.1, p: 49-56, 2013.
- (8) RAHAR, S., *et al.* Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, v.2, n.2, p: 94-103, 2011.
- (9) IWALOKUN, B.A., *et al.* Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *African J. Biotech.*, v.6, n.15,

- p: 1732-1735, 2007.
- (10) VANAMU, E. Antioxidant Properties of Mushroom Mycelia Obtained by Batch Cultivation and Tocopherol Content Affected by Extraction Procedures. *Research International*, v. 2014, n.2015, 8p. 2014.
- (11) RODRIGUES, S.B., *et al.* Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) no sistema *methG1* em *Aspergillus (=Emericella) nidulans*. *Acta Sci. Biol. Sci.*, v. 25, n.2, p: 513-517, 2003.
- (12) ALONSO, E.N., *et al.* Genes related to suppression of malignant phenotype induced by Maitake D-Fraction in breast cancer cells. *J. Med. Food*, v.16, n.7, p: 602-617, 2013.
- (13) YAMAMOTO, K., *et al.* Anti-angiogenic and Anti-metastatic Effects of b-1,3-D-Glucan Purified from Hanabiratake, *Sparassis crispa*. *Biol. Pharm. Bull.*, v.32, n.2, p: 259-263, 2009.
- (14) REIS, M.F., *et al.* Análise de substratos alternativos para cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida*. *Rama*, v.3, n.2, p: 79-91, 2010.
- (15) TIMBERLAKE, W.E.; CLUTTERBUCK, A.J. Genetic regulation of conidiation. In: Martinelli S.D., Kinghorn J.R., editor. *Aspergillus 50 years on*. New York: Elsevier, 1994. p. 383-327.
- (16) PONTECORVO, G., *et al.* The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in Genetics*, v.5, p.141-238, 1953.
- (17) CLUTTERBUCK, A.J. *Aspergillus nidulans*. In: King R.C. editor. *Handbook of Genetics*. New York: Plenum Publishing, 1974. p.447-510.
- (18) ROCHA, C.L.M.S.C.R. Caracterização citológica, genética e molecular de um mutante para a conidiogênese em *Aspergillus nidulans*. 1997. 203f. Tese. (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.
- (19) REIS, M.F.R., ROCHA, C.L.M.S.C. Análise citológica do efeito dos extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatoroseus* sobre os ciclos de desenvolvimento de *Aspergillus (=Emericella) nidulans*, *SaBios: Rev. Saúde e Biol.*, v.9, n. 1, p.100-107, 2014.
- (20) OH, T.Y., *et al.* Proteomic analysis of early phase of conidia germination in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genet. Biol.* v.47, n.3, p.246-253, 2010.
- (21) BREAKSPEAR, A.; MOMANY, M. *Aspergillus nidulans* Regulated in Early Vegetative Growth Are Differentially *stuA*, and *fluG*, *dewA* Conidiation Genes. *Eukaryotic Cell.*, v.6, n.9, p.1697-1700, 2007.
- (22) D'ENFERT, C. Fungal spore germination: insights from the molecular genetics of *Aspergillus nidulans* and *Neurospora crassa*. *Fungal Genet. Biol.*, v.21, n.2, p. 163-172, 1997.
- (23) HARRIS, S.D. Branching of fungal hyphae: regulation, mechanisms and comparison with other branching systems. *Mycologia*, v.100, n.6, p.823-832, 2008.
- (24) MOMANY, M.; WESTFALL, P.J.; ABRAMOWSKY, G. *Aspergillus nidulans swo* mutants show defects in polarity establishment, polarity maintenance and hyphal morphogenesis. *Genetics*, v.151, n.2, p.557-567, 1999.
- (25) MOMANY, M. Polarity in filamentous fungi: establishment, maintenance and new axes. *Curr. Opin. Microbiol.*, v.5, n.6, p.580-585, 2002.
- (26) OSMANI, A.H., *et al.* Functional Characterization of a New Member of the Cdk9 Family in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic Cell.*, v.9, n.12, p.1901-1912, 2010.
- (27) LIN, X.; MOMANY, M. The *Aspergillus nidulans swoC1* mutants shows defects in growth and development. *Genetics*, v.165, n.2, p.543-554, 2003.
- (28) ESLAMI, L., *et al.* Down-Regulation of *sidB* Gene by Use of RNA Interference in *Aspergillus nidulans*. *Iran. Biomed.*, v.18, n.1, p.55-59, 2014.
- (29) FENG, L., *et al.* Anti-Lung cancer activity through enhancement of immunomodulation and induction of cell apoptosis of total triterpenes extracted from *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. *Molecules*, v.18, p. 9966-9981, 2013.

- (30) FINIMUNDY, T. C., *et al.* Aqueous extracts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus sajor-caju* exhibit high antioxidant capability and promising in vitro antitumor activity, *Nutr. Res.*, v.33, n.1, p.76-84, 2013.
- (31) ADAMS, T.H., *et al.* Isolation of a Gene Required for Programmed Initiation of Development by *Aspergillus nidulans*. *Mol. Cell. Biol.*, v.12, n.9, p.3827-3833, 1992.
- (32) SEO, J.A.; YU, J.H. The Phosducin-Like Protein PhnA Is Required for G $\gamma\beta$ -Mediated Signaling for Vegetative Growth, Developmental Control, and Toxin Biosynthesis in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic Cell.*, v.5, n.2, p.400-410, 2006.
- (33) OH, Y.T., *et al.* *Aspergillus nidulans* translationally controlled tumor protein has a role in the balance between asexual and sexual differentiation and normal hyphal branching. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.343, n.1, p.20-25, 2013.
- (34) NI, M., *et al.* The pkaB gene encoding the secondary protein kinase A catalytic subunit has a synthetic lethal interaction with pkaA and plays overlapping and opposite roles in *Aspergillus nidulans*, *Eukaryotic Cell.*, v.4, n.8, p.1465-1476, 2005.
- (35) WANG, H.; FU, Z., HAN, C. The medicinal values of culinary-medicinal royal sun mushroom (*Agaricus blazei* Murrill). *eCAM*, 2013, 6 p., 2013. doi: 10.1155/2013/842619.
- (36) CHEN, M.H., *et al.* *Clitocybe nuda* Activates Dendritic Cells and Acts as a DNA Vaccine Adjuvant. *eCAM*, v. 2013, 15p. 2013.
- (37) YEA, M., *et al.* Grifolin, a potential antitumor natural product from the mushroom *Albatrellus confluens*, induces cell-cycle arrest in G1 phase via the ERK1/2 pathway. *Cancer Lett.*, v. 47, n.2, p.316-325, 2007.
- (38) REIS, M.F. Determinação da atividade antioxidante de extratos de *Pleurotus ostreatoroseus* Singer e seus efeitos sobre o desenvolvimento de *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans*. 77f. Tese (Doutorado em Biologia Comparada) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014.
- (39) CORRÊA, R.C.G., *et al.* Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* Singer. *Food Funct.*, v.6, n.7, p. 2155-2164, 2015.

Enviado: 20/01/2016

Aceito: 11/07/2016

Publicado: 31/08/2016