

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE COGUMELO-DO-SOL E DE SHIITAKE EM RESÍDUOS AGROINDÚSTRIAS*

ALINE LOPES**
NEUZA MEIRI SABAINI***
SANDRA MARIA GOMES-DA-COSTA****

O objetivo deste trabalho foi avaliar meios de cultura líquidos, economicamente viáveis, à produção de biomassa fúngica e em promover a reciclagem de resíduos agroindustriais. Verificou-se se a quantidade de biomassa produzida era suficiente para substituir meios de cultivo sintéticos e constituir inóculos à produção de matrizes, contribuindo para a melhoria da tecnologia e diminuição de custos do cultivo. A inoculação de isolados de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* foi realizada em meios líquidos de cultura, constituídos de decóctos do substrato residual do cultivo de *Pleurotus* spp e resíduo de folhas de estêvia, usando-se como controle os meios BD (batata-dextrose) e mineral, respectivamente. O meio de cultura à base de resíduo do cultivo de *Pleurotus* spp obteve o melhor desempenho na produção de biomassa micelial de *L. edodes* e desempenho semelhante ao meio mineral tradicional para *A. blazei*. Assim, o meio composto por resíduo do cultivo de *Pleurotus* spp constitui alternativa viável à produção de biomassa micelial dessas espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Agaricus blazei; Lentinula edodes; CULTURA SUBMERSA.

- * Parte da Monografia de Especialização em Botânica Aplicada às Plantas Medicinais (UEM) da primeira autora.
- ** Bolsista DTI (MCT/CNPq), Mestre em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Projeto INPA/Max-Planck, Grupo MAUA, Manaus, AM (e-mail: alopesmga@gmail.com).
- *** Docente, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR (e-mail: smgcosta@uem.br).
- **** Bióloga, Departamento de Biologia, UEM, Maringá, PR (e-mail: meiresabaine@hotmail.com).

1 INTRODUÇÃO

A demanda crescente por alimentos tem exigido a intensa busca de inovações tecnológicas que viabilizem economicamente a produção agrícola, tornando-a cada vez mais lucrativa. Entretanto, a preocupação com o meio ambiente em todos os setores da sociedade, torna necessária a busca de novas formas de desenvolvimento que conciliem crescimento econômico com conservação dos recursos naturais.

A intensificação da produção enfrenta dois limites: os efeitos ambientais e os recursos naturais disponíveis. Portanto, a reciclagem de resíduos agroindustriais é necessária para a sustentabilidade, seja ambiental ou socioeconômica. O aprimoramento dos processos de produção com a reciclagem dos resíduos, além de garantir o cumprimento de restrições ambientais legais, gera renda e trabalho (MEIRELLES e GONÇALVES, 2001).

O micélio fúngico é capaz de produzir enzimas que degradam resíduos lignocelulósicos provenientes da agroindústria, convertendo-os em nutrientes para o crescimento de cogumelos comestíveis e de vegetais (CHANG, 1998). Essa característica o torna particularmente interessante para a produção de alimentos e de medicamentos com a possibilidade de utilização de tecnologia autossustentável. São alimentos de alta qualidade nutricional e de baixa caloria (MATTILA et al., 2002).

O cogumelo do sol, *Agaricus blazei* Murril, por apresentar retorno econômico rápido, e constituir terapia complementar para várias doenças que causam imunodepressão, tornou-se fonte de interesse para produtores, pesquisadores e para a população em geral. Por ser amplamente consumido em todo o mundo devido às suas propriedades medicinais, esse cogumelo gera amplo campo de pesquisas na área de cultivo, imunologia, radioproteção e fitopatologia (FUJIMIYA et al., 1998; MIZUNO et al., 1998; NAKAJIMA et al., 2002; DIAS, CARLOS e SCHWAN, 2004; SUZUKI et al. 2004; KOPYTOWISKI-FILHO e MINHONI, 2006).

O interesse pelo cultivo de shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) se deve não só às suas propriedades nutricionais e medicinais, mas ao seu apreciável sabor, sendo apontado como o segundo cogumelo mais consumido no mundo (RAJARATHNAM, SHASHIREKA e BANO, 1992). Os efeitos medicinais de *L. edodes* têm sido extensivamente estudados (MIZUNO, 1995). A existência de grande colônia asiática e a divulgação de suas propriedades na mídia têm contribuído para incorporar seu consumo ao hábito alimentar brasileiro. O mercado é nitidamente comprador e a demanda do shiitake cresce dia a dia, não obstante seu preço elevado (FIDALGO e GUIMARÃES, 1985).

Considerando as características nutricionais e medicinais do cogumelo-do-sol e do shiitake e as perspectivas de mercado, este trabalho busca alternativas de composição de meios de cultura líquidos que produzam biomassa fúngica para produção de inóculo. Além disso, objetiva-se produzir matrizes economicamente viáveis que promovam a reciclagem de resíduos agroindustriais, substituindo meios de cultivo sintéticos e contribuindo para a melhoria da tecnologia e diminuição de custos do cultivo dessas espécies de cogumelos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, e as matrizes encontram-se preservadas.

Os isolados fúngicos de *A. blazei* (JUN 17) e de *L. edodes* (L10) são provenientes de basidiomas frescos, obtidos de produtor da região de Maringá e de matriz cedida pela Universidade Estadual de Londrina (Londrina, Paraná) respectivamente. Os isolados foram repicados para meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) em placas-de-petri para produção de inóculos.

Prepararam-se quatro meios líquidos de cultura: a) meio líquido mineral (MM): 10,0 g de glicose, 1,25 g KH_2PO_4 , 0,625 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,25 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,25 g CaCl_2 e 2,0 g extrato de levedura;

b) meio de batata-dextrose (BD) (BONONI et al. 1995); c) meio líquido de cultura à base de resíduo de folhas de estévia (MRS): 120 g de resíduos de folhas de estévia secos ao sol, obtidos da Steviofarma (Maringá - Pr), que após extração dos edulcorantes foram levados à decocção em 1200 mL de água deionizada, por 15 minutos. O decocto foi filtrado em tecido de algodão e acrescido de 12 g de açúcar refinado e de água deionizada até completar o volume final de 1200 mL; d) meio líquido de cultura à base do substrato residual do cultivo de *Pleurotus* spp (MRP): esse substrato, seco ao sol, foi obtido de produtores da região de Maringá, após três meses do cultivo de *Pleurotus* spp em resíduo de algodão. Procedeu-se à decocção e à preparação do meio líquido exatamente como descrito no item anterior, mas sem acrescentar o açúcar refinado. Em seguida, 50 mL de cada meio de cultura foram distribuídos em frascos de vidro com capacidade de 500 mL e levados à autoclavagem a 1,5 atm e 121°C por 30 minutos (MM e BD) e por 90 minutos (MRS e MRP). Os meios de cultura MM e BD constituíram controle para *A. blazei* e *L. edodes*, respectivamente.

Cada frasco, contendo os diferentes meios de cultura, após a esterilização, foi inoculado com cinco discos (nove milímetros de diâmetro) de meio de cultura previamente colonizado por *L. edodes* ou por *A. blazei*. As inoculações foram feitas assepticamente em Câmara de Fluxo Laminar Contínuo e as culturas incubadas aleatoriamente no escuro a 25°C por 20 dias, sendo os frascos agitados a cada três dias para que todo o meio pudesse ser utilizado pelo micélio.

O pH dos diferentes meios de cultura foi medido por meio de pHmetro digital Micronal B222, antes da inoculação (n=4) e após 20 dias de cultivo (n=10) .

De acordo com a metodologia sugerida por MAZIERO e ZADRAZIL (1994), ao término do experimento, os meios de cultura foram filtrados em papel filtro, previamente secos em estufa a 60°C por 48 horas para obtenção do peso seco. O material retido no filtro foi levado à estufa a 60°C até atingir peso constante. A biomassa micelial seca foi obtida pela diferença entre o peso total e o peso do papel de filtro.

O experimento foi realizado em esquema fatorial 2x3 (biomassa do cogumelo x meios de cultura), com 10 repetições para cada espécie de cogumelo. Para analisar a variação entre os tratamentos utilizou-se a ANOVA unifatorial e o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) para avaliar quais tratamentos eram diferentes entre si. Após a retirada do efeito do tipo de meio utilizou-se o resíduo da equação para verificar a correlação entre a biomassa e o pH final do meio pela correlação de Pearson. As análises foram realizadas usando-se o programa estatístico SYSTAT 10.2 (SYSTAT INC., 2002).

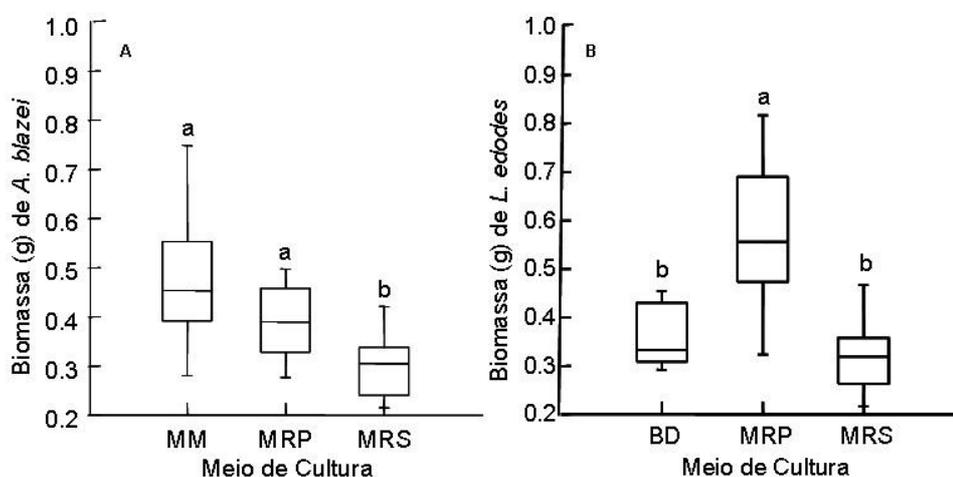
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os substratos para o cultivo de cogumelos geralmente propiciam o desenvolvimento de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (DORAN et al., 2005) que podem ser patogênicos ao homem. No presente estudo, observou-se contaminação em um único frasco contendo meio de cultura mineral três dias após a incubação de *A. blazei*. Nos frascos em que foram utilizados os meios alternativos não houve sinais de contaminação. Nenhum meio de cultura apresentou sinal de contaminação até o término do experimento nos frascos em que foi inoculado *L. edodes*. Já no experimento realizado com esse mesmo cogumelo, por ROSSI, MONTEIRO e MACHADO et al. (2000), em bagaço de cana suplementado com farelo de arroz como meio de cultura houve contaminação em diversos frascos. Isso mostra que meios alternativos, desde que adequadamente manipulados, diminuem a probabilidade de contaminação da cultura e podem fornecer produto adequado ao consumo humano.

A ausência de contaminação é muito importante, pois a produção de matéria-prima para as indústrias alimentícias e farmacêuticas requer cuidados que garantam produto final de alta qualidade, viabilizando seu consumo (FLEET e MIAN, 1987; DORAN et al., 2005).

Aliadas à qualidade do produto final, as indústrias buscam métodos altamente rentáveis e sustentáveis em longo prazo. O meio de cultura preparado com folhas de estévia apresentou menor produção de biomassa de *A. blazei*. Houve diferença de produção de biomassa ($F_{(2,26)} = 7.917$, $p = 0.002$) entre os meios, sendo que o MRP (média de $0,435 \pm 0,188$) apresentou quantidade de biomassa semelhante ao MM (média de $0,477 \pm 0,131$) para essa espécie (Figura 1a). Apesar do MM produzir maiores valores de biomassa, a variação da biomassa cultivada nesse meio foi maior que a da cultivada em MRP. Portanto, o MRP apresenta maior previsibilidade de resultado, característica importante para a produção comercial em grande escala. Além disso, MRP é elaborado com o resíduo da produção de *Pleurotus* spp o que possibilita o cultivo combinado de ambos os cogumelos, contribuindo à reciclagem de materiais e permitindo maior margem de lucro ao agricultor.

FIGURA 1 - BIOMASSA MICELIAL DE (A) *Agaricus blazei* E (B) *Lentinula edodes* PRODUZIDA EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA



MM = Meio mineral; MRP = Meio à base do substrato residual do cultivo de *Pleurotus* spp; MRS = Meio à base de resíduo de estévia (MRS); BD = Batata-dextrose (BD). Letras diferentes indicam diferença significativa ($\alpha=0.05$) entre os tratamentos.

Os meios de cultura mostraram-se muito eficientes à produção de biomassa de *A. blazei*, pois os valores encontrados foram bastante superiores aos de outros estudos. DONINI, BERNARDI e NASCIMENTO (2006) utilizaram meios alternativos (soja, trigo arroz e milho) como suplementos do meio de cultura de *A. blazei*. O meio que produziu maior quantidade de biomassa, após 6 dias de avaliação, foi o suplementado com 20% de milho com média de 0,019 g. A projeção desse valor para 20 dias resultaria em 0,063 g de biomassa, muito inferior a 0,435 g produzida pelos resíduos de *Pleurotus* spp no presente estudo.

Houve também diferença de biomassa de *L. edodes* ($F_{(2,27)} = 9,58$, $p = 0,001$) entre os meios, sendo que o preparado com resíduo do cultivo de *Pleurotus* spp apresentou em média biomassa maior que os outros meios testados (Figura 1b). O MRP produziu 67,88% de biomassa a mais que o BD. Esses resultados indicam grande potencial do MRP para substituir os meios comumente utilizados, com melhor aproveitamento e menores custos de cultivo dessa espécie de cogumelo.

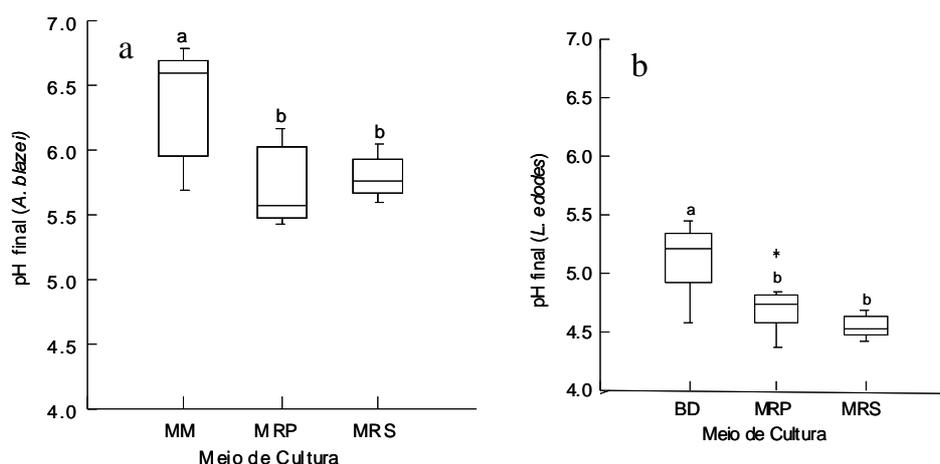
Todos os meios inoculados com *L. edodes* apresentaram pequena diminuição de pH (Tabela 1). Na Figura 2(a) pode-se observar que o pH final do MRS apresentou valores estatisticamente semelhantes ao MRP, e menores que o BDA ($F_{(2,27)} = 20,713$; $p < 0,001$). Quando se retira o efeito do meio e se analisa a relação entre o pH final e a biomassa, observa-se tendência negativa de correlação entre esses fatores, embora não seja estatisticamente significativa ($R = -0,33$, $p = 0,075$). Por outro lado, os meios inoculados

com *A. blazei* sofreram pequeno aumento de pH (Tabela 1). A Figura 2 (b) ilustra a diferença entre a média dos pH finais nos diferentes meios testados, evidenciando que o MRP e o MRS apresentaram em média pH final mais baixo que o MM ($F_{(2,27)} = 15,2, p < 0,001$).

TABELA 1 - MÉDIA DOS VALORES DE pH INICIAL E FINAL DOS MEIOS DE CULTURA

	Meio de cultura	pH inicial	pH final
<i>A. blazei</i>	MM	5,73	6,41
	MRS	5,62	5,79
	MRP	5,67	5,73
<i>L. edodes</i>	BD	6,32	5,14
	MRS	5,62	4,56
	MRP	5,67	4,73

FIGURA 2 - pH FINAL DOS MEIOS DE CULTURA



MM = Meio mineral; MRB = Meio à base do substrato residual do cultivo de *Pleurotus* spp.; MRS = Meio à base de resíduo de estêvia; BD = Batata-dextrose (BD) após o cultivo de: a) *A. blazei*; b) *L. edodes*.

Letras diferentes indicam diferença significativa ($\alpha=0.05$) entre os tratamentos.

Quando se retira o efeito do meio de cultura e se analisa somente a relação entre o pH final e a biomassa, não se verifica correlação significativa ($R = 0,282, p = 0,13$). A diminuição do pH ocorre devido à liberação de ácidos fracos durante a degradação do substrato e, por isso, espera-se que nos meios com pH final mais ácido ocorra melhor aproveitamento desse pelo micélio com maior produção de biomassa.

As potencialidades econômicas do cultivo de *A. blazei* com *L. edodes* em razão das características nutricionais e medicinais do micélio são inúmeras, assim como os estudos de suas propriedades medicinais. SORIMACHI et al. (2001a) compararam os estratos aquosos extraídos do micélio e do basidioma de *A. blazei* e afirmaram que ambos ativaram a macrofagia, resultando na indução de citoquina. SORIMACHI et al. (2001b), em outro estudo, observaram a ação antiviral do extrato aquoso do micélio de *A. blazei* em encefalite equina (*Western equine encephalitis virus*).

Citam-se em relação à *L. edodes*, os polissacarídeos que podem ser extraídos do seu micélio, como o KS-2 que apresenta atividade antitumoral em ratos concomitante à indução de interferon e ativação de macrófagos (SUZUKI, OKUMURA e HIRAI, 1979) e o LEM (glicoproteína) extraído do micélio após sua maceração com o meio sólido no qual o fungo cresceu vegetativamente. Compostos do LEM e duas frações extraídas do mesmo, denominadas Lap e EP, apresentaram atividade anticarcinogênica em animais e humanos, ativando o sistema imune do hospedeiro (SUGANO *et al.*, 1982).

Pesquisas que levem à produção em larga escala de biomassa micelial em substituição ao uso do basidioma em meios líquidos, produzidos por decocção de resíduos agroindustriais, possibilitariam a produção de alimento funcional em biorreatores e portanto, assépticos. Os biorreatores reduziriam o tempo de produção e, possivelmente, os custos ao consumidor final, podendo-se utilizar o meio de cultura para extração de polissacarídeos com qualidades medicinais (MIZUNO, 1995).

O meio de cultura à base de resíduo do cultivo de *Pleurotus spp* mostrou-se viável à produção das duas espécies estudadas. Esse meio, além de proporcionar o reaproveitamento de resíduo do próprio produtor de cogumelos, contribuindo para a redução do resíduo final de produção poderia ser implementado como cultura complementar rentável ao produtor. No entanto, outros estudos devem ser realizados com medições temporais da produção de biomassa durante período maior de tempo para avaliar a eficiência do meio. Além disso, são necessários estudos para observar o comportamento e desenvolvimento do basidioma de cogumelo-do-sol e de shiitake a partir dessas matrizes em meios líquidos.

4 CONCLUSÃO

O meio de cultura líquido composto por resíduo do cultivo de *Pleurotus spp* mostrou-se altamente eficiente para a produção de biomassa de *L. edodes* e de *A. blazei*, além de evitar contaminações comuns em meios sintéticos.

ABSTRACT

BIOMASS PRODUCTION OF SUN-MUSHROOM AND SHIITAKE IN LIQUID CULTURE MEDIA WITH AGRO-INDUSTRIAL RESIDUES

The objective of this work was to evaluate economically feasible liquid culture media for the production of fungal biomass and to promote recycling of agro-industrial wastes. It was verified if the amount of biomass produced was sufficient to substitute synthetic culture media and constitute inoculum for matrices production, therefore improving the technology and reducing the costs of culture processing. The inoculation *Lentinula edodes* and *Agaricus blazei* isolates was performed in liquid culture, media constituted by decocts of the residual substrate of *Pleurotus spp.* culture and residue of stevia leaves, employing as controls PD media (potato-dextrose) and mineral media, respectively. The liquid culture media from residual substrate of *Pleurotus spp.* showed the best behavior in the production of mycelial biomass of *L. edodes* and similar performance to the traditional mineral media for *A. blazei*. Therefore, the media consisted of *Pleurotus spp.* culture residue is a viable alternative for the production of mycelial biomass of both fungal species.

KEY-WORDS: *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes*, SUBMERSE CULTURE.

REFERÊNCIAS

- 1 BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M.; TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Icone Editora, 1995. 206 p.
- 2 CHANG, S.T. **A global strategy for the bioconversion of lignocellulosic biomass – a challenge of a “non-green revolution”**. 1998. Disponível em <<http://www.zeri.uniosnabrueck.de/nongreeneng.htm>> Acesso em: 15 jan. 2005.

- 3 DIAS, E.S.; CARLOS, A.; SCHWAN, R.F. Truths and myths about the mushroom *Agaricus blazei*. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 5, p. 545-549, 2004.
- 4 DONINI, P.L.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. Desenvolvimento *in vitro* de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n. 6, p. 995-999, 2006.
- 5 DORAN, G.; SHERIDAN, F.; DELAPPE, N.; O'HARE, C.; ANDERSON, W.; CORBETT-FEENEY, G.; CORMICAN, M. *Salmonella enterica* serovar Kedougou contamination of commercially grown mushrooms. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 51, p. 73-76, 2005.
- 6 FIDALGO, O.; GUIMARÃES, S. A situação do cogumelo comestível no Brasil e no exterior. In: ENCONTRO NACIONAL DE COGUMELOS COMESTÍVEIS, 1985, Mogi das Cruzes (SP). **Anais...** Mogi das Cruzes: Instituto de Botânica, 1985. p. 7-23.
- 7 FLEET, G.H.; MIAN, M.A.A. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 4, p. 145-155, 1987.
- 8 FUJIMIYA, Y.; SUZUKI, Y.; OSHIMAN, K.; KOBORI, H.; MORIGUCHI, K.; NAKASHIMA, H.; MATUMOTO, Y. Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extracted from the basidiomycete, *Agaricus blazei* Murill, mediated via natural killer cell activation and apoptosis. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 46, n. 3, p. 147-59, 1998.
- 9 KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M.T.A. *Agaricus blazei* the Almond Portobello: cultivation and commercialization. **Mushroom News**, v. 54, p. 22-27, 2006.
- 10 MATTILA, P.; SALO-VAANANEN, P.; KONKO, K.; ARO, H.; JALAVA, T. Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 6419-6422, 2002.
- 11 MAZIERO, R.; ZADRAZIL, F. Effects of different heat pre-treatments of wheat straw on its microbial activity and colonization by different tropical and sub-tropical edible mushrooms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 10, p. 374-380, 1994.
- 12 MEIRELLES, A.M.; GONÇALVES, C.A. O que é estratégia: histórico, conceito e analogias. In: GONÇALVES, C.A.; REIS, M.T.; GONÇALVES, C. (ed.). **Administração estratégica: múltiplos enfoques para o sucesso empresarial**. Belo Horizonte: UFMG/CEPEAD, 2001, p. 21-33.
- 13 MIZUNO, T. Shiitake, *Lentinus edodes*: functional properties for medicinal and food purposes. **Food Reviews International**, v. 1, p.111-128, 1995.
- 14 MIZUNO, M.; MORIMOTO, M.; MINATO, K.; TSUCHIDA, H. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 62, n. 3, p. 434-437, 1998.
- 15 NAKAJIMA, A.; ISHIDA, T.; KOGA, M.; TAKEUCHI, M. Effect of water from *Agaricus blazei* Murrill on antibody-producing cells in mice. **International Immunopharmacology**, v. 2, n. 8, p. 1205-1211, 2002.
- 16 RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKA, M.N.; BANO, Z. Biopotentialities of the basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**, v. 37, p. 233-361, 1992.
- 17 ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 6, p. 887-891, jun. 2001.
- 18 SORIMACHI, K.; AKIMOTO, K.; IKEHARA, Y.; INAFUKU, K.; OKUBO, A.; YAMAZAKI, S. Secretion of TNF-alpha, IL-8 and nitric oxide by macrophages activated with *Agaricus blazei* Murill fractions *in vitro*. **Cell Structure and Function**, v. 26, n. 2, p. 103-108. 2001a.
- 19 SORIMACHI, K.; IKEHARA, Y.; MAEZATO, G.; OKUBO, A.; YAMAZAKI, S.; AKIMOTO, K.; NIWA, A. Inhibition by *Agaricus blazei* Murill fractions of cytopathic effect induced by western equine encephalitis (WEE) virus on VERO cells *in vitro*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 65, n. 7, p.1645-1647, 2001b.
- 20 SUGANO, N.; HIBINO, Y.; CHOJI, Y.; MAEDA, H. Anticarcinogenic actions of water-soluble and alcohol insoluble fractions of culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. **Cancer Letters**, v. 17, p.109-114, 1982.
- 21 SUZUKI Y.; OKUMURA, M.; HIRAI, M. Relaxation of 2p excitons and F center formation in picosecond range in RbBr, RbI and KBr. **Journal of Physical Society of Japan**, v. 47, p. 184-192, 1979.
- 22 SUZUKI, T.; MIKI, Y.; MORIYA, T.; SHIMADA, N.; ISHIDA, T.; HIRAKAWA, H.; OHUCHI, N.; SASANO, H. Estrogen-related receptor alpha in human breast carcinoma as a potent prognostic factor. **Cancer Research**, v. 64, p. 4670-4676, 2004.
- 23 SYSTAT SOFTWARE INC. **SYSTAT® statistics**. Versão 10.2. Richmond, 2002. CD-ROOM.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá, PR, que através do Curso de Pós-graduação *lato senso* Botânica Aplicada às Planta Medicinaiis financiou essa pesquisa. À Dra. Luzia D.P. Meireles (UEL) pela cessão da matriz de *Lentinula edodes*; ao MSc. Robson Robrigues (UEM) pelo auxílio na coleta de dados e a Dra. Maria Teresa F. Piedade (INPA) pela correção do abstract.