

Composição Química e Atividade Antioxidante de *Agaricus blazei* e seu Efeito Sobre a Modulação da Mitose

Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Agaricus blazei* and its Effect on Mitosis Modulation

Taiane Caroline de Queiroz^{a*}; Jovana Silva Guedes Filizari^b; Michely Bião Quichaba^c; Eidilson Soares dos Reis Junior^b; Ana Rosa Muniz dos Reis^b; Marcela Funaki dos Reis^d

^aFaculdade Integrado de Campo Mourão, Curso de Ciências Biológicas, PR, Brasil

^bFaculdade Integrado de Campo Mourão, PR, Brasil

^cFaculdade Integrado de Campo Mourão, Curso de Biomedicina, PR, Brasil

^dCentro Universitário de Maringá, PR, Brasil

*E-mail: taianekaroline@hotmail.com

Recebido: 09 de setembro de 2015; Aceito: 04 de dezembro de 2015

Resumo

Este estudo teve como objetivo verificar a composição química e atividade antioxidante do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) e seu efeito sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. A análise da composição química revelou uma elevada concentração em compostos fenólicos (65,36 mg/EAG), ácido ascórbico (1,74mg/g), β -caroteno (384,28 μ g/mg) e licopeno (33,61 μ g/mg). A eficiência no sequestro de radicais livres do DPPH foi considerada primária (68,15%) e a análise do ciclo celular mostrou que o tratamento com *Agaricus blazei* promove atraso na fase de anáfase da mitose em células meristemáticas de *Allium cepa*. Os resultados sugerem que a composição química e antioxidante de *Agaricus blazei* pode influenciar na modulação do ciclo celular de *Allium cepa* e possivelmente reduz a taxa de mutação espontânea, por diminuir a velocidade de disjunção e migração dos cromossomos durante a mitose.

Palavras-chave: Antioxidantes. Índice Mitótico. Mitose. Aberrações Cromossômicas.

Abstract

The chemical composition and antioxidant activity of mushrooms *Agaricus blazei* and its effect on the *Allium cepa* cell cycle was investigated. Chemical analysis showed high concentration of phenolic compounds (65.36 mg/GAE), ascorbic acid (1.74 mg/g), β -carotene (384.28 μ g/mg) and lycopene (33.61 μ g/mg). The efficiency free radical DPPH scavenging activity was primary (68.15%). Analysis of cell cycle demonstrated that treatment with *Agaricus blazei* delayed the mitosis anaphase phase in meristem cells of *Allium cepa*. The results suggest that the chemical composition and antioxidant activity of *Agaricus blazei* may affect the modulation of the *Allium cepa* cell cycle, and possibly reduce the spontaneous mutation rate, by decreasing the disjunction and migration speed of chromosomes during mitosis.

Keywords: Antioxidants. Mitotic Index. Mitosis. Chromosomal Aberrations.

1 Introdução

Os cogumelos são macrofungos utilizados na alimentação humana desde a antiguidade. Por este motivo, cada vez mais, os cogumelos têm chamado à atenção de pesquisadores, interessados nas suas propriedades nutritivas e medicinais¹. No Brasil, o consumo de cogumelos vem crescendo significativamente devido à alegação de efeitos biológicos capazes de modular o sistema imune, e assim prevenir e tratar doenças². Dentre os efeitos biológicos promovidos pelo consumo de cogumelos, tem destaque a atividade antioxidante.

A atividade antioxidante de cogumelos está relacionada à presença de compostos químicos como os compostos fenólicos, vitaminas e carotenoides, que atuam na manutenção da integridade celular, protegendo estruturas compostas de proteínas, lipídios e DNA da ação danosa de radicais livres^{3,4}.

No entanto, ainda há dúvidas quanto aos benefícios ou prejuízos à saúde decorrentes do uso de cogumelos pelas populações humanas. Nesse sentido, para que um produto seja recomendado para consumo como alimento e/ou medicamento

seguro seus efeitos biológicos devem ser conhecidos e estudados. Entre os testes toxicogenéticos recomendados, o sistema teste *Allium cepa* é a técnica ideal para avaliar como um composto pode agir sobre a proliferação celular, além de detectar mutações por meio de alterações cromossômicas⁵⁻⁸.

Agaricus blazei é um cogumelo brasileiro, conhecido popularmente como Cogumelo do Sol, Cogumelo Piedade, Cogumelo de Deus e, mais recentemente, Champignon do Brasil⁹. Em termos nutricionais é composto por cerca de 90% de água, proteínas, carboidratos, fibras, aminoácidos essenciais, minerais e baixo teor calórico, além de compostos considerados medicinais¹⁰. É considerado o mais importante dos cogumelos e, portanto, uma das espécies mais populares e consumidas¹⁰, no entanto poucos são os relatos acerca dos efeitos toxicogenéticos deste cogumelo que discutem a segurança alimentar relacionada ao seu consumo. Assim, este estudo verificou a composição química e atividade antioxidante do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) e seu efeito sobre o ciclo celular de *Allium cepa*.

2 Material e Métodos

2.1 Amostra

O cogumelo *Agaricus blazei* foi obtido a partir de uma farmácia em Maringá - PR. O frasco comercializado apresentou cápsulas com 500 mg de basidioma seco e pulverizado.

2.2 Análise da composição química

2.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram estimados pelo método descrito por Singleton *et al.*¹¹ com modificações. Para cada grama da amostra, foi adicionado 1 mL do reagente de Folin - Ciocalteu. Após 3 minutos, 1 mL da solução saturada de carbonato de sódio foi adicionada à mistura e o volume ajustado para 10 mL com água destilada. A reação foi mantida na ausência de luz por 90 minutos, em seguida, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm. O ácido gálico foi utilizado para a construção da curva padrão e a concentração dos compostos fenólicos foi expressa como miligramas equivalentes de ácido gálico (mgEAG/g).

$$\beta - \text{caroteno } (\mu\text{g}/\text{mg}) = 0,216 \cdot A_{663} - 0,304 \cdot A_{505} + 0,452 \cdot A_{453} \quad (2)$$

$$\text{Licopeno } (\mu\text{g}/\text{mg}) = -0,0458 \cdot A_{663} + 0,372 \cdot A_{505} - 0,0806 \cdot A_{453} \quad (3)$$

2.3 Atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante, foi empregado o método do DPPH (2,2-difenil - 1 - picrilhidrazil) segundo Thaipong *et al.*¹⁴ e Choi *et al.*¹⁵ com modificações. Uma amostra de 5 mg foi misturada em uma solução metanólica contendo o radical DPPH (2,4% v/v). A mistura

$$\text{Sequestro RL } (\%) = (1 - \text{Abs. amostra}/\text{Abs. controle negativo}) \times 100 \quad (4)$$

2.4 Teste do *Allium cepa*

Para o teste do *A. cepa*, foi utilizada a metodologia proposta por Fiskesjo¹⁶ com modificações, onde foram utilizados cinco bulbos de cebola (*Allium cepa*) com aproximadamente 10 mm de diâmetro para cada tratamento. Para estimular o crescimento das raízes, o caule foi raspado e os bulbos colocados em água destilada por 48 horas com fotoperíodo luz/escuro para promover a sincronização da divisão celular das células meristemáticas. Em seguida, foram conduzidos os tratamentos com *A. blazei* na concentração de 150 mg, água destilada como controle negativo e sulfato de cobre (6×10^{-7} g/mL) como controle positivo. As raízes permaneceram sobre tratamento durante 24 horas. Em seguida as raízes foram aleatoriamente

$$\text{IM } (\%) = \text{n}^\circ \text{ células em mitose} / \text{n}^\circ \text{ total células} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{IF } (\%) = \text{n}^\circ \text{ células em cada fase da mitose} / \text{n}^\circ \text{ total células mitose} \times 100 \quad (6)$$

Foram também analisadas a presença de aberrações cromossômicas para detecção de danos do DNA sendo

2.2.2 Ácido ascórbico

Para a determinação da concentração de ácido ascórbico, foi utilizado o método 2,6 dicloroindofenol descrito por Pearson¹² com modificações. O ácido ascórbico foi utilizado para a construção da curva padrão e a concentração de ácido ascórbico presente em *A. blazei* foi calculada seguindo a equação,

$$\text{Ácido ascórbico } (\text{mg}/\text{g}) = \text{VitC} / \text{Pa}/\text{Vd} \quad (1)$$

onde, (VitC: ácido ascórbico na curva padrão; Pa: peso da amostra; Vd: diluição).

2.2.3 β -Caroteno e licopeno

Para a determinação dos carotenoides, foi utilizado o método de Nagata e Yamashita¹³. Foi adicionado 1g de *A. blazei* em uma solução de acetona - hexano (4:6 v/v) sobre agitação vigorosa por 1 minuto. Em seguida a mistura foi filtrada e, posteriormente, o filtrado foi empregado na leitura da absorbância nos comprimentos de onda 453, 505 e 663 nm e a concentração de β -caroteno e licopeno calculada de acordo com as equações,

foi mantida no escuro até a estabilidade da descoloração do radical DPPH. Em seguida as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm com água destilada como controle negativo e a catequina e o BHT (hidroxitolueno butilado) como controles positivos. A atividade sequestrante dos radicais do DPPH foi expressa como:

cortadas, lavadas em água destilada e fixadas em Carnoy (álcool etílico-ácido acético, 3:1, v/v). Para a análise citogenética foi empregado o método de esmagamento¹⁷. As raízes foram hidrolisadas em HCl 1 M durante 8 minutos a 60 °C, lavadas com água destilada e coradas comorceína acética a 2% (v/v). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico com aumento de 100 vezes pela técnica de varredura. Foram contadas 1.000 células meristemáticas por lâmina, totalizando 5.000 células por tratamento. As células meristemáticas foram classificadas de acordo com o estágio do ciclo celular em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Estes dados foram utilizados para calcular o índice mitótico (IM) e o índice de fase da mitose (IF), segundo as fórmulas propostas por Roa *et al.*¹⁸:

observada a presença de pontes cromossômicas e cromossomos soltos na anáfase.

2.5 Análise estatística

As análises referentes à composição química e à atividade antioxidante foram realizadas em triplicata. Todos os resultados foram expressos como média e desvio padrão, sendo submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando o programa SISVAR versão 7.0.

3 Resultados e Discussão

A composição química e a atividade antioxidante de

A. blazei são apresentadas no Quadro 1. Os compostos fenólicos foram os compostos bioativos com maior concentração em *A. blazei* e, comparando com outros estudos, também apresentou concentração superior aos resultados encontrados por Carvajal *et al.*¹⁹ (38,70 µg/mg) e Carneiro *et al.*²⁰ (31,98 mg EAG/g). Este resultado é relevante, uma vez que os compostos fenólicos estão relacionados a atividades biológicas importantes e atribuídas aos cogumelos como a antitumoral, antimutagênica, anti-inflamatória, antibacteriana e a antioxidante²¹.

Quadro 1: Composição química e atividade antioxidante de *A. blazei*

Composição Química <i>A. blazei</i>		Sequestro do DPPH (%)		
	Concentração	<i>A. blazei</i>	Catequina	BHT
Compostos fenólicos (mgEAG/g)	65,36±0,10	68, 15±0,66 ^a	83,75±0,94 ^a	85,50±0,52 ^a
Ácido ascórbico (mg/g)	1,74±0,22			
β-caroteno (µg/g)	384,28±4,65			
Licopeno (µg/g)	33,61±1,01			

^a Letras seguidas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

Com relação ao ácido ascórbico, *A. blazei* apresenta este composto em concentração superior a outros cogumelos do mesmo gênero, incluindo *A. bisporus* (0,01mg/g)²² e *A. sylvaticus* (12,65mg/100g)²³. A presença e concentração do ácido ascórbico em *A. blazei* são importantes, uma vez que este composto é necessário para síntese de colágeno e um antioxidante com efeito anti-inflamatório correlacionado a redução da incidência de câncer^{24,25}.

A concentração de carotenoides superou os valores encontrados em *A. bisporus* (0,519 02 µg/g de β-caroteno e 0,374 µg/g de licopeno)²⁶ e *Agaricus silvicola* (3,02 µg/g de β-caroteno e 1,14 µg/g de licopeno)²⁷. Os carotenoides são importantes antioxidantes sugeridos como protetores contra patologias relacionadas aos radicais livres, como as doenças cardiovasculares, neurológicas e da visão, além de diferentes tipos de câncer²⁸.

Com relação a atividade antioxidante, expressa como eficiência no sequestro de radicais do DPPH, o resultado, embora semelhante a catequina e o BHT ($p > 0,05$), foi superior ao cogumelo *Agaricus bresadolamus* (24,70%)²⁹ e comparável a *A. bisporus* (60%)³⁰. De acordo com Li *et al.*³⁰, o valor de sequestro de radicais livres do DPPH apresentado por *A. blazei* pode ser considerado um efeito antioxidante do tipo primário. No entanto, é reconhecido que antioxidantes são eficientes no sequestro de radicais livres, neutralizando possíveis efeitos danosos sobre os componentes celulares. Figueira *et al.*³¹ sugeriram que a suplementação com este cogumelo pode ser eficaz para o

tratamento de infecção por HVI, por melhorar a função antioxidante em pacientes. A atividade antioxidante é efeito biológico particularmente importante em um alimento, pois atua na prevenção dos danos causados por radicais livres diariamente, assim como aumenta a função natural de macrófagos e células *natural killer*, e como resultado, secundariamente a reação imune suprime o crescimento tumoral³².

No Quadro 2 são apresentados os efeitos de *A. blazei* sobre o ciclo celular e o índice mitótico (IM) de células meristemáticas de *A. cepa*. O índice mitótico mostrou que *A. blazei* não apresenta efeito antiproliferativo ou citotóxico sobre as células meristemáticas de *A. cepa*. O índice mitótico reflete o número total de células em mitose e geralmente é utilizado para indicar efeito antiproliferativo e citotóxico de compostos quando este índice no tratamento é inferior ao controle negativo. É possível observar que *A. blazei* aumenta o índice mitótico das células meristemáticas de *A. cepa* ($p > 0,05$) quando comparado ao controle negativo. Resultados semelhantes de aumento no índice mitótico foram encontrados por Liman *et al.*³³ analisando o extrato aquoso de *Linaria genistifolia*. Embora interessante, este resultado deve ser analisado com cautela e comparativamente as aberrações cromossômicas, pois o índice mitótico superior ao controle negativo pode ser prejudicial as células meristemáticas conduzindo a uma proliferação desordenada que pode refletir no aumento no número de mutações e no processo de tumorização em seres vivos³⁴.

Quadro 2: Efeito de *A. blazei* sobre o ciclo celular e índice mitótico de células meristemáticas de *Allium cepa*

Tratamento	Total de células	Células intérfase	Células mitose	IM (%)
Controle (-)	5000	4973	27	0,54 ± 0,62 ^a
Controle (+)	5000	4926	74	1,48 ± 1,56 ^b
<i>A. blazei</i>	5000	4922	78	1,56 ± 1,40 ^b

^{a,b} Letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes entre si segundo o teste de Tukey ($p > 0,05$). Controle (-): Água Destilada e Controle (+): Sulfato de Cobre.

Fonte: Dados da pesquisa.

O Quadro 3 apresenta o efeito de *A. blazei* sobre o índice de fases da mitose e alterações cromossômicas em *A. cepa*. A análise do índice de fases do ciclo celular das células

meristemáticas de *A. cepa* permitiu observar que embora não tenha sido observada redução do índice mitótico, o tratamento com *A. blazei* atrasou a fase de anáfase da mitose ($p < 0,05$).

Quadro 3: Efeito de *A. blazei* sobre o índice de fases na mitose e alterações cromossômicas em *Allium cepa*

Tratamento	Fases da Mitose				Aberrações Cromossômicas	
	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	Pontes	Cromossomos soltos
Controle (-)	3,2 ± 4,08 ^a	1,0 ± 1,50 ^a	0,8 ± 1,41 ^a	0,4 ± 0,57 ^a	Nd	1,8 ± 0,87 ^a
Controle (+)	2,0 ± 3,00 ^a	2,6 ± 5,25 ^{a,b}	1,4 ± 1,70 ^a	Nd	3,4 ± 4,71 ^b	5,4 ± 8,88 ^b
<i>A. blazei</i>	3,4 ± 4,42 ^a	4,0 ± 4,76 ^b	5,2 ± 6,13 ^b	1,0 ± 1,25 ^a	0,4 ± 0,57 ^a	1,6 ± 1,82 ^a

^{a,b} Letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes entre si segundo teste de Tukey ($p < 0,05$), Nd: não apresentou mutações. Controle (-): Água destilada e Controle (+): sulfato de cobre.

Fonte: Dados da pesquisa.

Com relação análise de aberrações cromossômicas, estas alterações ocorreram durante as fases de metáfase e anáfase e foram representadas por pontes anafásicas e cromossomos soltos, indicando falhas por não disjunção e migração cromossômica, que podem ser promovidos por compostos com ação aneugênicas e clastogênicas³⁵. De acordo com as condições analisadas, não é possível atribuir à *A. blazei* a atividade antimutagênica, pois os resultados do tratamento são semelhantes ao controle negativo. Silva *et al.*³⁶ apontam que o tratamento contínuo com o *A. blazei* apresenta atividade desmutagênica na clastogenicidade induzida pela radiação ultravioleta em cultura de células CHO-K1. Já no trabalho de Rodrigues *et al.*³⁷, o extrato aquoso de *A. blazei* diminuiu a frequência de mutação espontânea caracterizando efeito foi antimutagênico.

Neste trabalho, não foi possível inferir a atividade antimutagênica para *A. blazei*, uma vez que as médias de alterações cromossômicas foram semelhantes ao controle negativo, embora inferiores ao controle positivo. Neste sentido, apesar de *A. blazei* não apresentar efeito antimutagênico, como mostraram os estudos já citados, este cogumelo atrasa a fase de anáfase, portanto pode possivelmente reduzir a taxa de mutação espontânea, uma vez que diminui a velocidade de disjunção e migração dos cromossomos e evita a ocorrência de danos durante a metáfase e anáfase.

4 Conclusão

Os resultados encontrados neste estudo revelaram que *A. blazei* apresenta elevada concentração em compostos

fenólicos, ácido ascórbico e carotenoides e uma atividade antioxidante primária capaz de sequestrar os radicais livres do DPPH. Foi observado que o tratamento com este cogumelo atua no atraso da fase de anáfase da mitose e possivelmente reduz a taxa de mutação espontânea, por diminuir a velocidade de disjunção e migração dos cromossomos. São necessários estudos adicionais para confirmar estas afirmações e contribuir com novas informações a respeito dos mecanismos de ação de *A. blazei* sobre a proteção celular.

Referências

- Silva AC, Jorge N. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde 2011;13:375-84.
- Fortes RC, Novaes MRCG. Efeitos da suplementação dietética com cogumelos *Agaricales* e outros fungos medicinais na terapia contra o câncer. Rev Bras Cancerol 2006;52(4):363-71.
- Jaworska G, Pogón K, Skrzypczak A, Bernas E. Composition and antioxidant properties of wild mushrooms *Boletus edulis* and *Xerocomus badius* prepared for consumption. Int J Food Sci Tech 2015;52(12):7944-53.
- Zheng LP, Zou T, Ma YJ, Wang JW, Zhang YQ. Antioxidant and DNA Damage Protecting Activity of Exopolysaccharides from the Endophytic Bacterium *Bacillus Cereus* SZ1. Molecules 2016;21(174):1-15.
- Fachinnetto JM, Bagatini MD, Durigon J, Silva ACF, Tedesco SB. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Rev Bras Farmacog 2007;17(1):49-54.
- Fachinnetto JM, Tedesco SB. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera*

- (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. Rev Bras Plantas Med 2009;11(4):360-7.
7. Frescura VDS, Laughinghouse DH, Tedesco SB. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium Cepa* cell cycle. Caryologia G Citol Citosistemática Citogenet 2012;65(1):27-33.
 8. Rossato LV, Tedesco SB, Laughinghouse HD, Farias JG, Nicoloso FT. Alterations in the mitotic index of *Allium cepa* induced by infusions of *Pluchea sagittalis* submitted to three different cultivation systems. An Acad Bras Ciênc 2010;82(4):857-60.
 9. Amazonas MAL, Siqueira P. Champignon do Brasil (*Agaricus brasiliensis*): ciência, saúde e sabor. Documento n.85. Colombo: Embrapa Florestas; 2004.
 10. Firenzouli F, Gori L, Lombardo G. The medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murril: review of literature and pharmacotoxicological problems. eCAM 2008;5(1):3-15.
 11. Singleton VL, Rossi Jr. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am J Enol Viticult 1965;16:144-58.
 12. Pearson D. The chemical analysis of foods. New York: Chemical Public; 1971.
 13. Nagata M, Yamashita I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish 1992;39:925-8.
 14. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. J Food Compos Anal 2006;19:669-75.
 15. Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chem 2006;99:381-7.
 16. Fiskesjo G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 1985;102:99-112.
 17. Guerra M, Souza MJ. Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Fundação Norte-Rio-Grandense de Pesquisa e Cultura; 2002.
 18. Roa O, Yeber MC, Venegas W. Genotoxicity and toxicity evaluations of ECF cellulose bleaching effluents using the *Allium cepa* L. Test. Braz J Biol 2012;72(3):471-7.
 19. Carvajal AESS, Koehnlein EA, Soares AA, Eler GJ, Nakashima ATA, Bracht A, Peralta RM. Bioactives of fruiting bodies and submerged culture mycelia of *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei*) and their antioxidant properties. LWT 2012;46(2):493-9.
 20. Carneiro AAJ, Ferreira, ICFR, Dueñas M, Barros L, Silva R, Gomes E, Santos-Buega C. Chemical composition and antioxidant activity of dried powder formulations of *Agaricus blazei* and *Lentinus edodes*. Food Chem 2013;138(4):2168-73.
 21. Tsai SY, Huang SJ, Lo SH, Wu TP, Lian PY, Mau JL. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. Food Chem 2009;113:578-84.
 22. Vanamu E. Determination of antioxidant and antimicrobial properties of *Agaricus bisporus* from Romanian markets. Versita 2012;23(1):47-52.
 23. Orsine JVC, Novaes MRCG, Asquieri ER. Nutritional value of *Agaricus sylvaticus*; mushroom grown in Brazil. Nutr Hosp 2012;27(2):449-55
 24. Barrita JLS, Sánchez MDSS. Antioxidant Role of Ascorbic Acid and His Protective Effects on Chronic Diseases. In: Morales-González JA. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants. Rejeka Intech; 2013. p.449-84.
 25. Vanamu E. Determination of antioxidant and antimicrobial properties of *Agaricus bisporus* from Romanian markets. Ovidius Univ An Chem 2012;23(1):47-52.
 26. Robaszekiewicz A, Bartosz G, Ławrynowicz M, Soszyński M. The role of polyphenols, -carotene, and lycopene in the antioxidative action of the extracts of dried, edible mushrooms. J Nutr Metab 2010;2010(2010):1-9.
 27. Barros L, Falcão S, Baptista P, Freire C, Vilas-Boas M, Ferreira ICFR. Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. Food Chem 2008;11(2008):61-66.
 28. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. Nutrients 2014;6:466-488.
 29. Kalyoncu F, Oskay M, Kayalar H. Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species. Mycology 2010;1(3):195-9.
 30. Li HJ, Chen HY, Fan LL, Jiao ZH, Chen QH, Jiao YC. In Vitro Antioxidant Activities and in Vivo Anti-Hypoxic Activity of the Edible Mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Chaidam. Molecules 2015;20:17775-8.
 31. Figueira MS, Sá LA, Vasconcelos AS, Moreira, DR, Laurindo PSOC, Ribeiro DRG, Santos RS, Guzzo P, Dolabela MF, Percario S. Nutritional supplementation with the mushroom *Agaricus sylvaticus* reduces oxidative stress in children with HIV. Can J Infect Dis Med Microbiol 2014;25(5):257-64.
 32. Gu Y. Antioxidant activity and anti-tumor immunity by *Agaricus*, Propolis and *Paffia* in mice. Universit Med Sci 2005;1-17.
 33. Liman R, Gokçer UG, Akyl D, Eren Y, Konuk M. Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of aqueous extract from aerial parts of *Linaria genistifolia* subsp. *genistifolia*. Rev Bras Farmacog 2012;22(3):541-8.
 34. Leme DM, Marin-Morales MA. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutat Res 2009;682(1):71-81.
 35. Ventura-Camargo BC, Maltempo PPP, Marin-Molares MA. The use of the Cytogenetic to Identify Mechanisms of Action of an Azo Dye in *Allium Cepa* Meristematic Cells. J Environment Analytic Toxicol 2011;1(3):1-12.
 36. Silva AF, Oliveira RJ, Matuo R, Ribeiro LR, Mantovani MS. Efeitos do *Agaricus blazei* na clastogenicidade induzida pela radiação ultravioleta em cultura de células CHO-K1. Semina Ciênc Biol Saúde 2005;26(2):131-40.
 37. Rodrigues SB, Jabor IAS, Marques-Silva GG, Rocha CLMSC. Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) no sistema *methG1* em *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans*. Acta Sci Agron 2003;25(2):513-7.