

**Capacidade de bioacumulação de lítio por basidiomicetos - uma breve revisão**

**Lithium bioaccumulation capacity by basidiomycetes - a brief review**

**Capacidad de bioacumulación de litio por basidiomicetos - breve revisión**

Recebido: 08/12/2020 | Revisado: 16/12/2020 | Aceito: 17/12/2020 | Publicado: 19/12/2020

**Brenda Aparecida Christofole**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0071-4911>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [brenda.chr@edu.unipar.br](mailto:brenda.chr@edu.unipar.br)

**Maria Carolina Scuizato Hidalgo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2166-3981>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [maria.hidalgo@edu.unipar.br](mailto:maria.hidalgo@edu.unipar.br)

**Marcella Ribeiro da Costa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7108-9936>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [marcella.costa@edu.unipar.br](mailto:marcella.costa@edu.unipar.br)

**Marisangela Isabel Wietzikoski Halabura**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6422-911X>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [marisangela.halabura@edu.unipar.br](mailto:marisangela.halabura@edu.unipar.br)

**Zilda Cristiani Gazim**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0392-5976>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [cristianigazim@prof.unipar.br](mailto:cristianigazim@prof.unipar.br)

**Nelson Barros Colauto**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4390-8302>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [nelson.c@edu.unipar.br](mailto:nelson.c@edu.unipar.br)

**Giani Andrea Linde**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1220-2032>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [gianilindecolauto@gmail.com](mailto:gianilindecolauto@gmail.com)

**Juliana Silveira do Valle**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9463-5378>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [jsvalle@prof.unipar.br](mailto:jsvalle@prof.unipar.br)

**Suelen Pereira Ruiz**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1094-174X>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [suelenruiz@prof.unipar.br](mailto:suelenruiz@prof.unipar.br)

**Maria Graciela Iecher Faria**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7713-4320>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [gracielaiecher@prof.unipar.br](mailto:gracielaiecher@prof.unipar.br)

**Resumo**

Os sais de lítio são usados no transtorno de humor, uma vez que este elemento químico atua no sistema nervoso central. Para aumentar a biodisponibilidade deste metal, estratégias são estudadas, como a bioacumulação em basidiomicetos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a capacidade de bioacumulação de lítio *in vitro* por basidiomicetos. Artigos científicos sobre bioacumulação, lítio e basidiomicetos publicados nos anos de 1980 a 2020 foram pesquisados. Uma alternativa para o tratamento do transtorno de humor bipolar é o carbonato de lítio, porém sua faixa terapêutica é estreita, o que pode levar a intoxicação medicamentosa. A bioacumulação de lítio *in vitro* em basidiomicetos pode ajudar na redução dos efeitos colaterais e melhorar a biodisponibilidade do lítio. São escassos os estudos sobre bioacumulação de lítio em basidiomicetos, e a maioria utiliza LiCl como fonte de lítio, provavelmente pela sua alta solubilidade. O cultivo micelial dos fungos em meio líquido têm sido a melhor opção para a produção de biomassa enriquecida com lítio. Dentre os estudos analisados, *Pleurotus ostreatus* é a espécie mais estudada na bioacumulação de lítio, tanto na forma de basidiocarpo quanto na forma micelial. Outras espécies como *Agaricus subrufescens*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus crinitus*, *Pleurotus eryngii* também já foram avaliadas. A biomassa micelial bioacumulada com lítio pode ser considerada uma opção de suplementação ao tratamento contra os distúrbios de humor bipolar, ou um preventivo ao suicídio e até mesmo ao Alzheimer, existindo a necessidade de novos estudos.

**Palavras-chave:** Transtorno de humor; Fungos comestíveis; Cloreto de lítio; Micélio vegetativo.

### **Abstract**

Lithium salts are used in mood disorders, since this chemical element acts on the central nervous system. To increase the bioavailability of this metal, strategies are studied, such as bioaccumulation in basidiomycetes. Thus, the goal of project was to carry out a bibliographic review on the capacity of *in vitro* lithium bioaccumulation by basidiomycetes. Scientific articles on biocumulation, lithium and basidiomycetes published in the 1980s to 2020s were researched. An alternative for the treatment of bipolar mood disorder is lithium carbonate, but its therapeutic range is narrow, which can lead to drug intoxication. *In vitro* lithium bioaccumulation in basidiomycetes can help to reduce side effects and improve the bioavailability of lithium. Studies on lithium bioaccumulation in basidiomycetes are scarce, and most of them use LiCl as a source of lithium, probably due to its high solubility. The mycelial culture of fungi in liquid medium has been the best option for the production of lithium enriched biomass. Among the analyzed studies, *Pleurotus ostreatus* is the most studied species in lithium bioaccumulation, both in the form of basidiocarp and in the mycelial form. Other species such as *Agaricus subrufescens*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus crinitus*, *Pleurotus eryngii* have also been evaluated. Bioaccumulated mycelial biomass with lithium can be considered a supplementation option for treatment against bipolar mood disorders, or as a prevention to suicide and even Alzheimer's, and further studies are needed.

**Keywords:** Mood disorder; Edible fungi; Lithium chloride; Vegetative mycelium.

### **Resumen**

Las sales de litio se utilizan en los trastornos del estado de ánimo, ya que este elemento químico actúa sobre el sistema nervioso central. Para aumentar la biodisponibilidad de este metal se estudian estrategias, como la bioacumulación en basidiomicetos. Así, el objetivo de este trabajo fue realizar una revisión bibliográfica sobre la capacidad de bioacumulación de litio *in vitro* por basidiomicetos. Se investigaron artículos científicos sobre bioacumulación, litio y basidiomicetos publicados en los años 1980 a 2020. Una alternativa para el tratamiento del trastorno bipolar del estado de ánimo es el carbonato de litio, pero su rango terapéutico es estrecho, lo que puede provocar intoxicación por fármacos. La bioacumulación de litio *in vitro* en basidiomicetos puede ayudar a reducir los efectos secundarios y mejorar la biodisponibilidad del litio. Los estudios sobre la bioacumulación de litio en basidiomicetos

son escasos y la mayoría utiliza LiCl como fuente de litio, probablemente debido a su alta solubilidad. El cultivo micelial de hongos en medio líquido ha sido la mejor opción para la producción de biomasa enriquecida con litio. Entre los estudios analizados, *Pleurotus ostreatus* es la especie más estudiada en bioacumulación de litio, tanto en forma de basidiocarpo como en forma micelial. También se han evaluado otras especies como *Agaricus subrufescens*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus crinitus*, *Pleurotus eryngii*. La biomasa micelial bioacumulada con litio puede considerarse una opción complementaria para el tratamiento contra los trastornos bipolares del estado de ánimo, o como preventivo del suicidio e incluso del Alzheimer, siendo necesario realizar más estudios.

**Palabras clave:** Trastorno del estado de ánimo; Hongos comestibles; Cloruro de lítio; Micelio vegetativo.

## 1. Introdução

Os sais de lítio têm sido utilizados desde a década de 40 como estabilizadores de humor, uma vez que o lítio atua no sistema nervoso central agindo com esta função (Miura et al., 2014). A partir da década de 80, o uso deste elemento químico passou a ser a primeira opção de tratamento para transtorno de humor bipolar (Cipriani, Hawton, Stockton & Gueddes, 2013). Além dos indícios de que este metal pode agir como neuroprotetor contra doenças degenerativas, como o Alzheimer devido a sua ação antioxidante (Chi-Tso e Chuang, 2011), também apresenta possível prevenção contra o suicídio quando ingerido em subdoses (Ishii et al., 2015).

O transtorno afetivo bipolar é caracterizado por episódios recorrentes de distúrbios na função psicossocial e é uma doença grave que atinge em torno de 1% da população mundial, apresentando risco de vida, devido ao alto índice de suicídio associado (Dunner & Neumaier, 2000). O carbonato de lítio tem sido uma opção de tratamento desta doença psiquiátrica e, mesmo com a possibilidade de efeitos colaterais, este sal é fundamental na terapêutica (Zung, Michelon & Cordeiro, 2010). Sais como o cloreto de lítio usados no tratamento de transtorno bipolar foram descartados como opções de tratamento, devido à sua elevada solubilidade em meio aquoso associada à baixa biodisponibilidade. (Altamura, Gomeni, Sacchetti & Smeraldi, 1977). Em razão disso, estratégias para o aumento da disponibilidade deste metal são de interesse industrial, como exemplo o uso de fungos basidiomicetos (Scheid et al., 2020).

Basidiomicetos são conhecidos popularmente como cogumelos e orelhas-de-pau e são descritos como fontes de proteínas e sais minerais (Wasser, 2017), apresentam atividades

antitumoral (Bertéli et al., 2014), antimicrobiana (Abate & Abraham, 1994) e antioxidante (Umeoet al., 2015), podendo ser considerados alimentos não convencionais. Além disso, têm capacidade de bioacumular metais de interesse nutricional e farmacológico na sua forma vegetativa (De Carli Marcante et al., 2014) e reprodutiva (Silva et al., 2012).

A concentração dos elementos bioacumulados são geralmente dependentes da espécie e composição do meio de cultivo utilizado (Cocchi, Vescovi, Petrini & Petrini, 2006). Nem todos os fungos têm a mesma capacidade de bioacumulação (Cocchi et al., 2006; Silva et al., 2012; Assunção et al., 2012) sendo determinante estudar espécies e linhagens fúngicas diferentes. Assim, a bioacumulação de metais em basidiomicetos é uma estratégia interessante para controlar a solubilidade e disponibilidade de metais, que ocorre pela associação dos íons com compostos orgânicos complexos, como proteínas e polissacarídeos que são lentamente digeridos e liberam os minerais ao longo do processo de digestão (Scheid et al., 2020). Já se sabe que a bioacumulação de metais de interesse farmacológico e nutricional tem como melhor opção o cultivo micelial submerso devido ao maior controle do processo, maior rapidez de cultivo e menor chance de contaminação, já que a produção de corpos de frutificação requer mais tempo e necessita de substratos lignocelulósicos (Rathore, Prasad, Kapri, Tiwari & Sharma, 2019). A melhor opção para bioacumulação de lítio em micélio vegetativo é o carbonato de lítio, pois este sal é amplamente utilizado para o tratamento do transtorno afetivo bipolar (Bschor, 2014; Faria et al., 2018; Faria et al., 2019). Assim, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a bioacumulação de lítio *in vitro* por basidiomicetos.

## **2. Metodologia**

Foi realizado um estudo de revisão integrativa da literatura, de natureza qualitativa descritiva (Pereira, Shitsuka, Parreira & Shitsuka, 2018) sobre a bioacumulação de lítio *in vitro* em basidiomicetos, no intervalo de 1980 a 2020. Utilizou as plataformas de pesquisas Google acadêmico e Scielo, utilizando as palavras-chaves: biocumulação, lítio, basidiomicetos.

### 3. Desenvolvimento

#### 3.1 Lítio

O sal carbonato de lítio interfere no metabolismo do inositol trifosfato, responsável pela liberação do cálcio de seus depósitos intracelulares, possivelmente através da inibição de enzimas na rota de formação do inositol, tendo assim, o seu efeito (Machado-Vieira et al., 2003). A absorção do lítio se dá no trato gastrointestinal e depende do equilíbrio hidroeletrolítico, não sofre metabolização e sua excreção é renal (Macedo, Oliveira, Pereira & Magalhães, 2019). A terapia com carbonato de lítio, além de ser indicada no tratamento do transtorno de humor bipolar, é também uma opção de tratamento para depressão (Miura et al., 2014).

O lítio está presente naturalmente no solo e na água em algumas regiões do mundo, sendo encontrado em grãos, carne e alguns vegetais. Lentilha, tomate, batata e pimenta, contêm de 0,5 a 3,4 mg/kg e a carne 0,012 mg/kg de Li (Schrauzer, 2002). Alguns países apresentam lítio naturalmente na água utilizada para consumo da população. Na Ilha de Kyushu, Japão, o nível médio de lítio na água potável é de 4,2 µg / L de água (Ishii et al., 2015). Em condados do Texas, Estados Unidos, a concentração de lítio na água pode chegar a 170 µg / L de água (Schrauzer & Shrestha, 1990). Assim, é muito provável que a maioria das pessoas acabe ingerindo pequenas doses diárias de lítio. Entretanto, as concentrações de lítio encontradas em alimentos e na água potável são baixas quando comparadas às doses diárias de tratamento terapêutico com carbonato de lítio que são por volta de 400 a 1600 mg/dia (Ishii & Terao, 2017). Sendo assim, uma opção para se ter maior concentração de lítio nos alimentos seria o enriquecimento com lítio (Faria et al., 2019).

O carbonato de lítio é tradicionalmente utilizado no tratamento do transtorno de humor bipolar, no entanto, sua faixa terapêutica é estreita, próxima da tóxica, podendo causar danos principalmente em nível de função renal (Aral & Vecchio-Sadus, 2008). Com uma concentração de lítio proveniente de carbonato de lítio de 10 mg/L no sangue, uma pessoa está levemente envenenada, com 15 mg /L apresenta confusão e dificuldade de fala, e com 20 mg/L há risco de morte (Aral & Vecchio-Sadus, 2008). Uma tentativa para melhorar a biodisponibilidade de lítio e reduzir os efeitos colaterais pode ser a bioacumulação fúngica e a associação com a biomassa (Faria et al., 2018).

Jones et al. (2011), em uma meta-análise avaliando 8 estudos, descobriram que a redução na gravidade do comportamento agressivo foi significativa para os pacientes que utilizavam lítio mantendo níveis séricos de 0,6-1 mEq / L de sangue. Schrauzer e Shrestha

(1990), verificaram que países onde as taxas de lítio na água potável são mínimas ou inexistentes, são as áreas com mais índices de crimes comparadas a países que apresentam subdoses variando de 70-170 µg/L de Li na água potável. Os resultados indicaram que traços de lítio podem ser eficazes para a prevenção do suicídio, mas estudos randomizados e controlados por placebo são necessários para se chegar a uma conclusão definitiva (Ishii et al., 2015). Além disso, é de suma importância levar em consideração características socioeconômicas, como renda e grau de instrução, além do gênero da população estudada (Ishii et al., 2015).

Em relação ao efeito do lítio e o comportamento suicida não se sabe ao certo o mecanismo de ação (Benard, Vaiva, Masson & Geoffroy, 2016). Estudos verificaram que os riscos de suicídio foram menores, em aproximadamente 80% dos pacientes bipolares, durante o tratamento com lítio por um tempo médio de 18 meses (Baldessarini et al., 2006; Benard et al., 2016). Comparando baixas doses de lítio com placebos, Cipriani et al. (2013) verificaram que pessoas em tratamento de transtorno de humor bipolar têm 30 vezes mais risco de suicídio do que a população em geral, e que quando fazem uso de lítio o risco de suicídio é reduzido.

Alimentos suplementados com lítio apresentaram efeitos neuroprotetores terapêuticos em cérebros de ratos, evidenciando que o lítio apresenta ação contra sintomas associados ao Alzheimer (Kamada, Mattar & Fontana, 2016). Estudos epidemiológicos constataram que o tratamento contínuo com lítio está associado a redução na taxa de demência na população geral (Kessing, Søndergård, Forman & Andersen, 2008). Como esse efeito não é obtido com o uso de anticonvulsivantes, antidepressivos, ou antipsicóticos, os resultados sugerem eficácia do uso do lítio para o tratamento de demência (Kessing, Forman & Andersen, 2010).

### **3.2 Basidiomicetos**

Os basidiomicetos pertencem ao Filo Basidiomycota do Reino Fungi. São fungos que produzem esporos de origem sexuada em estruturas especializadas chamadas basídios (Alexopoulos, Mims & Blackwell, 1996). Existem mais de 14.000 espécies de fungos que produzem cogumelos (Blackwell, 2011). Destas, cerca de 35 são produzidas comercialmente principalmente dos gêneros *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia*, *Agaricus*, *Flammulina*, *Coprinus*, *Agrocybe* e *Volvariella* (Royse, Baars & Tan, 2017). Há aqueles que não são populares, como fungos gelatinosos, gasteromicetos, ferrugens e carvões, esses dois últimos são patógenos devastadores de plantações de importância econômica. A maioria das espécies

é sapróbia, mas ocorrem muitas espécies parasitas obrigatórias ou facultativas, bem como micorrízicas (Kirk, Cannon, Minter & Stalpers, 1978). Os cogumelos são utilizados como alimentos, na produção de enzimas, suplementos dietéticos, compostos farmacêuticos (Elisashvili, 2012), suplementos para animais (Santos et al., 2015), produção de compostos flavorizantes (Jong & Birmingham, 1993), compostos com atividades biológicas, como antitumoral (Bertéli et al., 2014), antioxidante (Umeo et al., 2015), antimicrobiana (Abate & Abraham, 1994), e possuem capacidade de bioacumular metais (Faria et al., 2019). Os cogumelos representaram um mercado de US \$63 bilhões em 2013. Este mercado representa cogumelos medicinais (38%) e selvagens (8%) e comestíveis cultivados (54%). Em escala global, o consumo de cogumelos aumentou de 1 para 4,7 kg per capita no período de 1997 a 2013 (Royse, Baars & Tan, 2017). Espera-se que o consumo aumente ainda mais nos próximos anos, com estimativas de vendas de 34 a 60 bilhões de dólares por ano (Grimm & Wösten, 2018).

Os basidiomicetos possuem grande aparato enzimático utilizado nas indústrias farmacêutica, alimentícia, e de cosméticos. Além disso, este aparato enzimático também é aplicado em processos de degradação de compostos xenobióticos, na biorremediação de solos e tratamento de efluentes contaminados (Bononi, 1998). *Pleurotus ostreatus* e *Lentinus sajor-caju*, são capazes de produzir grande quantidade de enzimas ligninolíticas, como a lacase e manganês peroxidase (Rosolen, Monteiro, Dellamatrice & Kamida, 2004). *Lentinus crinitus* (L.) Fr. tem ampla atividade ligninolítica e capacidade de produzir enzimas como lacases e proteases (Valle et al., 2014; Marim, Avelino, Linde, Colauto & Valle, 2018), também apresenta atividade antioxidante, além de já ter descrita sua capacidade de bioacumular metais (Umeo et al., 2015).

*Agaricus subrufescens* (*Agaricus blazei*; *Agaricus brasiliensis*) têm um alto valor nutricional além de apresentar atividades antitumoral (Mourão et al., 2009), antioxidante (Delmanto et al., 2001), antiinflamatória, antimutagênica (BRAGA et al., 1998) e imunomoduladora (Firenzuoli, Gori & Lombardo, 2008), também é conhecido por sua capacidade de bioacumulação de metais (Mantovani, 2008). Assim, os basidiomicetos tornam-se uma opção para o desenvolvimento de estudos de bioacumulação de lítio para a prevenção de transtornos mentais.

### **3.3 Bioacumulação**



Uma possibilidade de controlar a solubilidade e biodisponibilidade de metais é feita pela associação com compostos orgânicos, como proteínas ou ainda pela bioacumulação em fungos. Para que estas substâncias tenham uma maior disponibilidade e menor efeito colateral, diversos estudos vêm sendo realizados com bioacumulação em fungos basidiomicetos (Aida, Shuhaimi, Yazid & Maaruf, 2009; Assunção et al., 2012; Nunes, Cardoso, Luz & Kasuya, 2014; Almeida et al., 2015). Os basidiomicetos têm capacidade de bioacumular metais, característica primeiramente observada na natureza quando esses fungos retiravam substâncias do substrato onde se encontravam, bioacumulando-as (Cocchi et al., 2006). A complexa ação química destes fungos nos solos ainda é um fenômeno não compreendido: captação, transporte e acúmulo de vários elementos químicos nos cogumelos (Falandysz & Borovička, 2012). Assim começaram os estudos *in vitro* de bioacumulação de metais.

Também já se sabe que a bioacumulação micelial de metais de interesse farmacológico e nutricional possui vantagens em relação à produção de cogumelos, como o controle da presença de metais pesados e agrotóxicos que podem bioacumular-se no basidiocarpo, cultivo realizado em menor tempo e com menor número de etapas, possibilitando um ambiente mais controlado (Chang, Chen & Mau, 2001; Rathore et al., 2019). O cultivo micelial dos fungos em meio líquido têm sido a melhor opção para a produção de biomassa enriquecida com minerais em detrimento ao corpo de frutificação. A bioacumulação micelial possibilita classificar as alterações da morfologia do fungo, que acontece perante às grandes concentrações dos sais empregados (Faria et al., 2018). A concentração dos elementos que são bioacumulados geralmente depende da espécie, composição do meio de cultivo utilizado e o gradiente de concentração formado intra e intercelularmente (Čurdová, Vavrušková, Suchánek, Baldrian & Gabriel, 2004; Cocchi et al., 2006).

Alguns fungos como *Agaricus subrufescens* têm a capacidade de bioacumular zinco no micélio e no cogumelo (Mantovani, 2008). *Pleurotus ostreatus* tem capacidade de bioacumular ferro em micélio, sendo um possível suplemento alimentar para pacientes que apresentam anemia (Almeida et al., 2015; Meniqueti et al., 2020).

São escassos os estudos sobre bioacumulação de lítio em basidiomicetos (Tabela 1) e a maioria utiliza LiCl como fonte de lítio, provavelmente pela sua alta solubilidade (Assunção et al., 2012; Nunes et al., 2014; Nunes, Cardoso, Luz & Kasuya et al., 2015). O carbonato de lítio depende do pH da solução para uma melhor solubilização (Faria et al., 2019).

**Tabela 1** - Bioacumulação de lítio *in vitro* por basidiomicetos

Sal de lítio	Fungo	Parte do fungo	Avaliação	Referência
LiCl	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Corpo de frutificação	Bioacumulação	Assunção et al., 2012
LiCl	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Corpo de frutificação	Bioacumulação, atividade antioxidante e compostos fenólicos	Vieira et al., 2013
LiCl	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Micélio vegetativo	Crescimento micelial e bioacumulação	Nunes et al., 2014
Li <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e LiCl	<i>Ganoderma subamboinense</i> ; <i>Grifola frondosa</i> ; <i>Hericium erinaceus</i> ; <i>Lentinula edodes</i> ; <i>Pleurotus eryngii</i> ; <i>Pleurotus djamor</i> e <i>Pholiota nameko</i>	Micélio vegetativo	Crescimento micelial e bioacumulação	Nunes et al., 2015
Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> COOLi	<i>Ganoderma lucidum</i>	Corpo de frutificação	Produção de alimentos biofortificados e bioacumulação	Mleczek et al., 2016
CH <sub>2</sub> COOLi e LiCl	<i>Agrocybe cylidracea</i> e <i>Hericium erinaceus</i>	Corpo de frutificação	Crescimento do cogumelo e bioacumulação	Rzymiski et al., 2017
LiCl e Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Micélio vegetativo	Crescimento micelial (biomassa) e bioacumulação	Faria et al., 2018
LiCl e Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	<i>Lentinus crinitus</i>	Micélio vegetativo	Crescimento micelial (biomassa) e bioacumulação	Faria et al., 2019

Fonte: Autores.

Vieira et al. (2013), produziram *P. ostreatus* em cascas de café adicionado de uma solução de cloreto de lítio (500 mg/kg) obtendo 37,50 mg/kg de Li no corpo de frutificação, relataram que a presença de lítio não influenciou na atividade antioxidante quando comparado ao controle sem o lítio.

Nunes et al. (2014), realizaram um *screening* do crescimento micelial de várias espécies de basidiomicetos como *P. ostreatus*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus ostreatus* var. *roseus*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Grifolla* sp., *Grifolla frondosa*, *Ganoderma subamboinense* var. *laevisporum*, *Pleurotus eryngii*, *Hericiium erinaceus*, *Lyophillum shimeji* e *Lentinula edodes* na presença de Li, e verificaram que *P. ostreatus* foi a espécie mais tolerante a presença de LiCl (1,65 g L<sup>-1</sup>), sendo um candidato promissor para a bioacumulação de lítio. Nunes et al. (2015), verificaram que sulfato de lítio e cloreto de lítio foram os sais menos tóxicos para o crescimento de *Ganoderma subamboinense*, *Grifola frondosa*, *Hericiium erinaceus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor* e *Pholiota nameko*. Na presença de LiCl o basidiocarpo de *P. ostreatus* foi capaz de bioacumular aproximadamente 200 µg g<sup>-1</sup> de Li. (Assunção et al., 2012). Os basidiocarpos de *P. ostreatus* e *Ganoderma lucidum* enriquecidos com lítio proveniente de Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e CH<sub>3</sub>COOLi para produção de alimentos biofortificados, apresentaram bons resultados para o *G. lucidum*, tanto para produção de cogumelos quanto para bioacumulação no basidiocarpo - 70 mg kg<sup>-1</sup> de Li proveniente Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e 25 mg kg<sup>-1</sup> de Li proveniente de CH<sub>3</sub>COOLi (Mleczek et al., 2016).

A biomassa micelial de *P. ostreatus* e *L. crinitus* apresentou alta capacidade de bioacumular Li proveniente de Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1575,29 e 574,72 µg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Essas concentrações foram maiores do que quando avaliados na presença de LiCl, onde *P. ostreatus* bioacumulou 549.63 µg g<sup>-1</sup> e *L. crinitus* 267 µg g<sup>-1</sup> (Faria et al., 2018; Faria et al., 2019).

O crescimento, a acumulação e o conteúdo mineral dos cogumelos *Agrocybe cylindracea* e *Hericiium erinaceus* foram analisados quando cultivados em substratos suplementados com 0,25-1,0 mM de Li proveniente de acetato ou cloreto. A suplementação com LiCl produziu resultados mais satisfatórios, não alterou a biomassa, nem a aparência, forma ou tamanho do cogumelo, independentemente da concentração de lítio. Resultados mais favoráveis foram encontrados para *H. erinaceus*. Cálculos demonstraram que o consumo de 100 g de corpos de frutificação obtidos do cultivo com 1,0 mM de Li (na forma de acetato ou cloreto) constituiria 69% da ingestão diária recomendada de lítio, fixada em 1,0 mg. Sendo

assim, destaca-se que *H. erinaceus* pode ser selecionado para estudos futuros em alimentos enriquecidos que digam respeito à biodisponibilidade do Li a partir de cogumelos, sua segurança e atividade em modelos experimentais animais e, eventualmente, estudos em humanos (Rzymiski et al., 2017).

A importância biológica da bioacumulação para os basidiomicetos ainda não é clara, mas essa característica pode ser considerada, em teoria, como sendo atribuível à uma forma de defesa do fungo ao ambiente onde se encontra (Boyd, 2007). Acredita-se que os sideróforos estariam envolvidos na bioacumulação de metais, inclusive de lítio. Sideróforos são compostos microbianos quelantes de ferro férrico específicos e os fungos sintetizam principalmente sideróforos do tipo hidroxamato (Philpott, 2006) os quais, mesmo sendo específicos para o ferro, conseguem também transportar outros metais (Haas, 2003).

#### **4. Conclusão**

A bioacumulação de lítio pode ser uma estratégia interessante para controlar a solubilidade e disponibilidade do metal. Observa-se que maiores concentrações bioacumuladas acontecem em biomassa micelial sendo o carbonato de lítio a melhor opção para bioacumulação de lítio, pois já é utilizado para o tratamento do transtorno afetivo bipolar. A biomassa micelial bioacumulada com lítio é considerada um potencial alimento funcional ou nutracêutico, podendo ser uma suplementação ao tratamento contra os distúrbios de humor bipolar, ou um preventivo ao suicídio e até mesmo ao Alzheimer.

Mais estudos sobre a bioacumulação de lítio são necessários, já que esses são escassos na literatura. É de suma importância avaliar a capacidade de bioacumulação de outras espécies basidiomicetos e até mesmo de diferentes linhagens, além de estudos de biodisponibilidade *in vitro* e *in vivo* e toxicidade.

#### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de

Nível Superior - Brasil (CAPES) - código financeiro 001 -, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária.

## Referências

Abate, D., & Abraham, W. (1994). Antimicrobial metabolites from *Lentinus crinitus*. *The Journal of Antibiotics*, 47(11), 1348-1350. doi: 10.7164/antibiotics.47.1348

Aida, F., Shuhaimi, M., Yazid, M., & Maaruf, A. (2009). Mushroom as a potential source of prebiotics: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(11-12), 567-575. doi: 10.1016/j.tifs.2009.07.007

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology* (No. Ed. 4). John Wiley and Sons.

Almeida, S. M., Umeo, S. H., Marcante, R. C., Yokota, M. E., Valle, J. S., Dragunski, D. C., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2015). Iron bioaccumulation in mycelium of *Pleurotus ostreatus*. *Braz. J. Microbiol.* v. 46, n. 1, p.195-200. doi: 10.1590/S1517-838246120130695

Altamura, A. C., Gomeni, R., Sacchetti, E., & Smeraldi, E. (1977). Plasma and intracellular kinetics of lithium after oral administration of various lithium salts. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 12(1), 59-63. doi: 10.1590/S1517-838246120130695

Aral, H., & Vecchio-Sadus, A. (2008). Toxicity of lithium to humans and the environment— A literature review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3), 349-356. doi: 10.1016/j.ecoenv.2008.02.026

Assunção, L. S., Luz, J. M., Silva, M. C. S., Vieira, P. A., Bazzolli, D. M., Vanetti, M. C., & Kasuya, M. C. (2012). Enrichment of mushrooms: An interesting strategy for the acquisition of lithium. *Food Chemistry*, 134(2), 1123-1127. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.03.044

Baldessarini, R. J., Tondo, L., Davis, P., Pompili, M., Goodwin, F. K., & Hennen, J. (2006). Decreased risk of suicides and attempts during long-term lithium treatment: A meta-analytic

review. *Bipolar Disorders*, 8(5p2), 625-639. doi: 10.1111/j.1399-5618.2006.00344.x

Benard, V., Vaiva, G., Masson, M., & Geoffroy, P. (2016). Lithium and suicide prevention in bipolar disorder. *L'Encéphale*, 42(3), 234-241. doi: 10.1016/j.encep.2016.02.006

Bertéli, M. B., Umeo, S. H., Bertéli, A., Valle, J. S., Linde, G. A., & Colauto, N. B. (2014). Mycelial antineoplastic activity of *Agaricus blazei*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(8), 2307-2313. doi: 10.1007/s11274-014-1656-6

Blackwell, M. (2011). *The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species?*. United States: American journal of botany.

Braga, G. C., Eira, A. F., Celso, P. G., & Colauto, N. B. (1998). Manual do cultivo de *Agaricus blazei* Murril "Cogumelo-do-sol". *Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais*.

Bononi, V. L. (org.). (1998). *Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos*. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 181p.

Boyd, R. S. (2007). The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: Status, challenges and new directions. *Plant and Soil*, 293(1-2), 153-176. doi: 10.1007/s11104-007-9240-6

Bschor, T. (2014). Lithium in the Treatment of Major Depressive Disorder. *Drugs*, 74(8), 855-862. doi: 10.1007/s40265-014-0220-x

Chang, H., Chao, G., Chen, C., & Mau, J. (2001). Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorata* and *Cordyceps militaris* mycelia. *Food Chemistry*, 74(2), 203-207. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00127-3

Chi-Tso, C. H. I. U., & Chuang, D. M. (2011). Neuroprotective action of lithium in disorders of the central nervous system. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central*

*South University. Medical sciences*, 36(6), 461. doi: 10.3969 / j.issn.1672-7347.2011.06.001

Cipriani, A., Hawton, K., Stockton, S., & Geddes, J. R. (2013). Lithium in the prevention of suicide in mood disorders: Updated systematic review and meta-analysis. *Bmj*, 346 (Jun 27 4). doi: 10.1136/bmj.f3646

Cocchi, L., Vescovi, L., Petrini, L. E., & Petrini, O. (2006). Heavy metals in edible mushrooms in Italy. *Food Chemistry*, 98(2), 277-284. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.068

de Carli Marcante, R., Meniquetti, A., Pascotto, C. R., Gazin, Z. C., Magalhães, H. M., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2014). Bioacumulação de zinco em micélio de *Agaricus subrufescens*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 17(4). doi: 10.25110/arqvet.v17i4.5025

Delmanto, R. D., Lima, P. L., Sugui, M. M., Eira, A. F., Salvadori, D. M., Speit, G., & Ribeiro, L. R. (2001). Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murrill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 496(1-2), 15-21. doi: 10.1016/S1383-5718(01)00228-5

Dunner, D. L., & Neumaier, J. F. (2000). Chapter 24 Lithium use in clinical practice. *Biological Psychiatry Principles of Medical Biology*, 569-583. doi: 10.1016/S1569-2582(00)80026-4

Elisashvili, V. I. (2012). Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products. *International journal of medicinal mushrooms*, 14(3). doi: 10.1615 / IntJMedMushr.v14.i3.10

Falandysz, J., & Borovička, J. (2012). Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: Health benefits and risks. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(2), 477-501. doi: 10.1007/s00253-012-4552-8

Faria, M. G., Valle, J. S., Lopes, A. D., Gonçalves, A. C., Dragunski, D. C., Colauto, N. B., &

Linde, G. A. (2018). Bioaccumulation of Lithium (Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) in Mycelia of the Culinary-Medicinal Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(9), 901-907. doi: 10.1615 / IntJMedMushrooms.2018027343

Faria, M. G., Avelino, K. V., Valle, J. S., Silva, G. J., Gonçalves, A. C., Dragunski, D. C., Colauto, N. B., Linde, G. A. (2019). Lithium bioaccumulation in *Lentinus crinitus* mycelial biomass as a potential functional food. *Chemosphere*, 235, 538-542. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.06.218

Firenzuoli, F., Gori, L., & Lombardo, G. (2008). The Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murrill: Review of Literature and Pharmacotoxicological Problems. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(1), 3-15. doi: 10.1093/ecam/nem007

Grimm, D., & Wösten, H. A. (2018). Mushroom cultivation in the circular economy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(18), 7795-7803. doi: 10.1007/s00253-018-9226-8

Haas, H. (2003). Molecular genetics of fungal siderophore biosynthesis and uptake: The role of siderophores in iron uptake and storage. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62(4), 316-330. doi: 10.1007/s00253-003-1335-2

Ishii, N., Terao, T., Araki, Y., Kohno, K., Mizokami, Y., Shiotsuki, I., Hatano, K., Makino, M., Komada, K., Iwata, N. (2015). Low Risk of Male Suicide and Lithium in Drinking Water. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 76(03), 319-326. doi: 10.4088/JCP.14m09218

Ishii, N., & Terao, T. (2017). Trace lithium and mental health. *Journal of Neural Transmission*, 125(2), 223-227. doi: 10.1007/s00702-017-1824-6

Jones, R. M., Arlidge, J., Gillham, R., Reagu, S., Bree, M. V., & Taylor, P. J. (2011). Efficacy of mood stabilisers in the treatment of impulsive or repetitive aggression: Systematic review and meta-analysis. *British Journal of Psychiatry*, 198(2), 93-98. doi: 10.1192/bjp.bp.110.083030



Jong, S. C., & Birmingham, J. M. (1993). Mushrooms as a source of natural flavor and aroma compounds. *Mushroom biology and mushroom products*, 345, 366.

Kamada, M., Mattar, A. G., & Fontana, M. P. (2016). Uso do lítio no tratamento do Alzheimer. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, v. 14, n. 1, p. 63 - 66.

Kessing, L. V., Forman, J. L., & Andersen, P. K. (2010). Does lithium protect against dementia? *Bipolar Disorders*, 12(1), 87-94. doi: 10.1111/j.1399-5618.2009.00788.x

Kessing, L. V., Søndergård, L., Forman, J. L., & Andersen, P. K. (2008). Lithium Treatment and Risk of Dementia. *Archives of General Psychiatry*, 65(11), 1331. doi: 10.1001 / archpsyc.65.11.1331

Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; Minter, D.W., & Stalpers, J.A. (n.d.). *Dictionary of the Fungi*. CABI.Lithium Intoxication. Report of 23 cases and review of 100 cases from the literature. (1978). *QJM: An International Journal of Medicine*. doi: 10.1093/oxfordjournals.qjmed.a067533

Macedo, J. L., Oliveira, A. S. D. S. S., Pereira, I. C., & Magalhães, M. D. J. S. (2019). Eficácia da utilização do lítio no tratamento da doença de Alzheimer: evidências científicas. *Research, Society and Development*, 8(3), 40. doi: 10.33448/rsd-v8i3.832

Machado-Vieira, R., Schwartzhaupt, A. W., Frey, B. N., Lenadro, J. J., Ceresér, K. M. M., Silveira, L. N. D., Zanatta, L. M., Garcia, P. F., Pollet, P., Gauer, G., & Ceresér Jr, V. H. (2003). Neurobiologia do transtorno de humor bipolar e tomada de decisão na abordagem psicofarmacológica. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, 25, 88-105. doi: 10.1590/S0101-81082003000400010

Mantovani, T. R. D. (2008). *Criopreservação de fungos lignocelulósicos e otimização de substratos a partir de resíduos agroindustriais* (Dissertação de mestrado). Universidade Paranaense – UNIPAR. Umuarama, PR, Brasil.

Marim, R. A., Avelino, K. V., Linde, G. A., Colauto, N. B., & Valle, J. S. (2018). *Lentinus crinitus* strains respond differently to cultivation pH and temperature. *Genetics & Molecular Research*, 17(1). doi: 10.4238 / gmr16039885

Meniqueti, A. B., Ruiz, S. P., Faria, M. G., Valle, J. S., Jr, A. C., Dragunski, D. C., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2020). Iron-enriched mycelia of edible and medicinal basidiomycetes. *Environmental Technology*, 1-7. doi: 10.1080/09593330.2020.1824023

Miura, T., Noma, H., Furukawa, T. A., Mitsuyasu, H., Tanaka, S., Stockton, S., Salanti, G., Motomura, K., Shimano-Katsuri, S., Leucht, S., Cipriani, A., Guedes, J. R., & Kanba, S. (2014). Comparative efficacy and tolerability of pharmacological treatments in the maintenance treatment of bipolar disorder: A systematic review and network meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*, 1(5), 351-359. doi: 10.1016/S2215-0366(14)70314-1

Mleczek, M., Siwulski, M., Rzymiski, P., Budzyńska, S., Gąsecka, M., Kalač, P., & Niedzielski, P. (2016). Cultivation of mushrooms for production of food biofortified with lithium. *European Food Research and Technology*, 243(6), 1097-1104. doi: 10.1007/s00217-016-2823-9

Mourão, F., Linde, G.A., Messa, V., Cunha Jr., P.L., Silva, A.V., Eira, A.F., & Colauto, N.B. (2009). Antineoplastic activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. *Braz. J. Microbiol.* 40 (4), 901-905. doi: 10.1590/S1517-83822009000400022

Nunes, M. D., Cardoso, W. L., da Luz, J. E. M., & Kasuya, M. C. (2014). Lithium chloride affects mycelial growth of white rot fungi: Fungal screening for Li-enrichment. *African Journal of Microbiology Research*, 8(21), 2111-2123. doi: 10.5897/AJMR2014.6619

Nunes, M. D., Cardoso, W. L., Luz, J. E. M., & Kasuya, M. C. (2015). Effects of lithium compounds on the growth of white-rot fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 9(34), 1954-1959. doi: 10.5897/AJMR2015.7529

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. B. & Shitsuka, R. (2018, dezembro 14).

Metodologia da pesquisa científica [recurso eletrônico [eBook]]. Santa Maria. Ed. UAB / NTE / UFSM. Recuperado de: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_MetodologiaPesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_MetodologiaPesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1)

Philpott, C. C. (2006). Iron uptake in fungi: A system for every source. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1763(7), 636-645. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.05.008

Rathore, H., Prasad, S., Kapri, M., Tiwari, A., & Sharma, S. (2019). Medicinal importance of mushroom mycelium: Mechanisms and applications. *Journal of Functional Foods*, 56, 182-193. doi: 10.1016/j.jff.2019.03.016

Royse, D. J., Baars, J., & Tan, Q. (2017). Current overview of mushroom production in the world. *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications*, 5-13. doi: 10.1002/9781119149446.ch2

Rosolen, L. A., Monteiro, R. T., Dellamatrice, P. M., & Kamida, H. M. (2004). Biodegradação de efluente têxtil e nove corantes técnicos utilizando fungos basidiomicetos. *Revista Química Têxtil*, 76, 44-52.

Rzymiski, P., Niedzielski, P., Siwulski, M., Mleczek, M., Budzyńska, S., Gąsecka, M., & Poniedziałek, B. (2017). Lithium biofortification of medicinal mushrooms *Agrocybe cylindracea* and *Herichium erinaceus*. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8), 2387-2393. doi: 10.1007/s13197-017-2679-4

Santos, M. P., Marcante, R. C., Santana, T. T., Tanaka, H. S., Funari, J. P., Alberton, L. R., Faria, E. V., Valle, J. S., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2015). Oyster Culinary-Medicinal Mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes), Growth in Grain-Based Diet Improves Broiler Chicken Production. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(2), 169-178. doi: 10.1615 / IntJMedMushrooms.v17.i2.80

Scheid, S. S., Faria, M. G., Velasquez, L. G., Valle, J. S., Gonçalves, A. C., Dragunski, D. C., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2020). Iron biofortification and availability in the mycelial biomass of edible and medicinal basidiomycetes cultivated in sugarcane molasses. *Scientific Reports*, 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-69699-0

Schrauzer, G. N., & Shrestha, K. P. (1990). Lithium in drinking water and the incidences of crimes, suicides, and arrests related to drug addictions. *Biological Trace Element Research*, 25(2), 105-113. doi: 10.1007/BF02990271

Schrauzer, G. N. (2002). Lithium: Occurrence, Dietary Intakes, Nutritional Essentiality. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(1), 14-21. doi: 10.1080/07315724.2002.10719188

Silva, M. C., Naozuka, J., Luz, J. M., Assunção, L. S., Oliveira, P. V., Vanetti, M. C., Bazzolli, D. M., & Kasuya, M. C. (2012). Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushrooms with selenium in coffee husks. *Food Chemistry*, 131(2), 558-563. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.09.023

Umeo, S. H., Souza, G. P. N., Rapachi, P. M., Garcia, D. M., Paccola-Meirelles, L. D., Valle, J. S., Colauto, N. B., & Linde, G. A. (2015). Short Communication Screening of basidiomycetes in submerged cultivation based on antioxidant activity. *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 9907-9914. doi: 10.4238/2015

Valle, J. S., Vandenberghe, L. P. S., Santana, T. T., Almeida, P. H., Pereira, A. M., Linde, G. A., Colauto, N. B., & Soccol, C. R. (2014). Optimum conditions for inducing laccase production in *Lentinus crinitus*. *Genetics and Molecular Research*, 13(4), 8544-8551. doi: 10.4238/2014

Vieira, P. A., Gontijo, D. C., Vieira, B. C., Fontes, E. A., Assunção, L. S., Leite, J. P., Oliveira, M. G. A., & Kasuya, M. C. (2013). Antioxidant activities, total phenolics and metal contents in *Pleurotus ostreatus* mushrooms enriched with iron, zinc or lithium. *LWT - Food Science and Technology*, 54(2), 421-425. doi: 10.1016/j.lwt.2013.06.016

Wasser, S. P. (2017). Medicinal Mushrooms in Human Clinical Studies. Part I. Anticancer, Oncoimmunological, and Immunomodulatory Activities: A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 19(4), 279-317. doi: 10.1615 / IntJMedMushrooms.v19.i4.10

Zung, S., Michelon, L., & Cordeiro, Q. (2010). O uso do lítio no transtorno afetivo bipolar. *Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo*, v. 55, n. 1, p. 30-37.

Čurdová, E., Vavrušková, L., Suchánek, M., Baldrian, P., & Gabriel, J. (2004). ICP-MS determination of heavy metals in submerged cultures of wood-rotting fungi. *Talanta*, 62(3), 483-487. doi: 10.1016/j.talanta.2003.08.030

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Brenda Aparecida Christofole – 10%

Maria Carolina Scuizato Hidalgo –10%

Marcella Ribeiro da Costa – 10%

Marisangela Isabel Wietzikoski Halabura – 10%

Zilda Cristiani Gazim – 10%

Nelson Barros Colauto – 10%

Giani Andrea Linde – 10%

Juliana Silveira do Valle – 10%

Suelen Pereira Ruiz – 10%

Maria Graciela Iecher Faria – 10%