



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Kamilla Gobo Pessanha

Bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso e seus efeitos no metabolismo secundário e atividade antimicrobiana

**Umuarama
2026**

Kamilla Gobo Pessanha

Bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso e seus efeitos no metabolismo secundário e atividade antimicrobiana

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Graciela Iecher Faria Nunes

Umuarama
2026

Ficha Catalográfica

P475b Pessanha, Kamilla Gobo.

Bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso e seus efeitos no metabolismo secundário e atividade antimicrobiana / Kamilla Gobo Pessanha. – Umuarama: Universidade Paranaense – UNIPAR, 2026.
30 f.

Orientadora: Dr^a. Maria Graciela Iecher Farias Nunes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Vanilina. 2. Bioacumulação de ferro. 3. Cultura submersa. 4. Polyporaceae. 5. *Lentinus strigellus*. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 579.59

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

Bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso e seus efeitos no metabolismo secundário e atividade antimicrobiana

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Prof.^a Dr.^a Beatriz Cervejeira Bolanho Barros
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof.^a Dr.^a Suelen Pereira Ruiz Herrig
Universidade Paranaense – UNIPAR

Prof.^a Dr.^a Maria Graciela Iecher Faria Nunes
Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 08/05/2026

AGRADECIMENTOS

Deus, pelo sustento espiritual, pela concessão de sabedoria e pela fortaleza ao longo desta trajetória acadêmica, tornando possível a concretização deste trabalho.

À família, pelo suporte incondicional, pela formação de base e pelo estímulo permanente à qualificação acadêmica, fundamentais para a superação dos desafios inerentes a este percurso.

Agradeço, à minha orientadora, Professora Dra. Maria Graciela Iecher Faria Nunes, pela orientação cuidadosa e comprometida, pelo rigor científico adotado, pela disponibilidade e pela generosidade em compartilhar conhecimentos, além do apoio e incentivo constantes, essenciais para o desenvolvimento deste estudo.

Ao meu amor, pelo apoio contínuo, pela compreensão diante das exigências inerentes à pós-graduação e pelo incentivo constante ao longo de todas as etapas deste estudo.

À minha irmã e às minhas primas, por compartilharem comigo a trajetória do mestrado, pelo apoio constante, convivência e incentivo ao longo desta jornada, contribuindo de forma significativa para a minha formação acadêmica e para a manutenção do equilíbrio necessário ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos, pelo apoio, compreensão e incentivo, bem como pela colaboração indireta no decorrer desta trajetória.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense, pela estrutura acadêmica, pelo suporte institucional e pelas condições oferecidas para a realização desta pesquisa.

Por fim, reconhece-se, com apreço, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, tornando possível a sua concretização.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Produção do inóculo	12
2.2 Produção de biomassa e bioacumulação de ferro em diferentes concentrações	12
2.3 Preparo do extrato	13
2.4 Identificação química do extrato etanólico de <i>Panus strigellus</i> por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UHPLC-MS).	13
2.5 Atividade antimicrobiana	14
2.6 Microrganismos	14
2.7 Preparo e padronização do inóculo	14
2.8 Atividade antibacteriana dos extratos etanólico e filtrado do cultivo de <i>Panus strigellus</i> pelo método de microdiluição em caldo	15
2.9 Análise estatística	15
3 RESULTADOS	16
4 DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	25
6 AGRADECIMENTOS	26
7 REFERÊNCIAS	27

Bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso e seus efeitos no metabolismo secundário e atividade antimicrobiana

RESUMO: A anemia ferropriva constitui um relevante problema de saúde pública global, demandando estratégias alternativas que promovam maior biodisponibilidade e segurança na suplementação de ferro empregada no tratamento e na prevenção da anemia ferropriva, apresenta limitações relacionadas à biodisponibilidade e à tolerabilidade. Nesse contexto, fungos basidiomicetos apresentam elevado potencial biotecnológico para biofortificação mineral e produção antimicrobiana. O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de bioacumulação de ferro pelo basidiomiceto *Panus strigellus* em cultivo submerso, bem como investigar os efeitos desse enriquecimento sobre o metabolismo secundário e a atividade bacteriana da biomassa micelial. O fungo foi cultivado em meio extrato de malte suplementado com diferentes concentrações de ferro (0 a 100 mg/mL), utilizando sulfato ferroso como fonte mineral. A biomassa produzida foi obtida, extrato da biomassa foi analisado e o teor de ferro bioacumulado foi determinado por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). A composição química dos extratos hidroetanólicos foi analisada por cromatografia líquida de ultraeficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS), e a atividade antimicrobiana avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), utilizando o método de microdiluição em caldo. A suplementação com ferro favoreceu o crescimento micelial, com maior produção de biomassa observada na concentração de 100 mg/mL. A bioacumulação apresentou comportamento não linear, com maiores valores entre 10 e 80 mg/mL, destacando-se 42,88 µg/g na concentração de 20 mg/mL. A eficiência de bioacumulação aumentou com a disponibilidade do metal, indicando maior incorporação total de ferro na biomassa, embora o teor de ferro por unidade de massa tenha apresentado baixa correlação com o crescimento micelial. A análise química revelou a presença de compostos fenólicos, incluindo vanilina, coniferil aldeído, sinapaldeído, hidroxibenzaldeído, ácido p-cumárico e ácido nicotínico, com aumento significativo de alguns desses compostos na biomassa enriquecida com ferro, evidenciando a modulação do metabolismo secundário. Nos ensaios antimicrobianos, os extratos hidroetanólicos apresentaram atividade frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O extrato da biomassa bioacumulada com ferro apresentou CIM de 8,35 mg/mL frente a *Staphylococcus epidermidis*, enquanto o extrato sem suplementação apresentou CIM de 16,65 mg/mL frente a *Staphylococcus aureus*. Para *Escherichia coli* e *Salmonella Typhi*, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Conclui-se que *Panus strigellus* apresenta potencial para biofortificação com ferro em cultivo submerso, associado à modulação do metabolismo secundário e à produção de compostos fenólicos com atividade antimicrobiana. Esses achados destacam o potencial da biomassa micelial como uma fonte promissora para o desenvolvimento de alimentos funcionais e aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: Vanilina . Bioacumulação de ferro. Cultura submersa. Polyporaceae. *Lentinus strigellus* .

Iron bioaccumulation by *Panus strigellus* in submerged culture and its effects on secondary metabolism and antimicrobial activity

ABSTRACT: Iron deficiency anemia constitutes a significant global public health problem, requiring alternative strategies that promote greater bioavailability and safety in iron supplementation used for the treatment and prevention of iron deficiency anemia, which still presents limitations related to bioavailability and tolerability. In this context, basidiomycete fungi exhibit high biotechnological potential for mineral biofortification and antimicrobial production. The present study aimed to evaluate the iron bioaccumulation capacity of the basidiomycete *Panus strigellus* under submerged cultivation, as well as to investigate the effects of this enrichment on secondary metabolism and the antibacterial activity of the mycelial biomass. The fungus was cultivated in malt extract medium supplemented with different iron concentrations (0 to 100 mg/mL), using ferrous sulfate as the mineral source. The produced biomass was collected, and biomass extracts were obtained. The bioaccumulated iron content was determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The chemical composition of the hydroethanolic extracts was analyzed by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (UHPLC-MS/MS), and antimicrobial activity was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) using the broth microdilution method. Iron supplementation promoted mycelial growth, with the highest biomass production observed at the concentration of 100 mg/mL. Bioaccumulation exhibited a non-linear behavior, with the highest values observed between 10 and 80 mg/mL, reaching 42.88 $\mu\text{g/g}$ at the concentration of 20 mg/mL. Bioaccumulation efficiency increased with metal availability, indicating greater total incorporation of iron into the biomass, although the iron content per unit of mass showed low correlation with mycelial growth. Chemical analysis revealed the presence of phenolic compounds, including vanillin, coniferyl aldehyde, sinapaldehyde, hydroxybenzaldehyde, p-coumaric acid, and nicotinic acid, with a significant increase in some of these compounds in the iron-enriched biomass, demonstrating modulation of secondary metabolism. In antimicrobial assays, the hydroethanolic extracts showed activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The extract obtained from iron-bioaccumulated biomass presented an MIC of 8.35 mg/mL against *Staphylococcus epidermidis*, whereas the extract without supplementation showed an MIC of 16.65 mg/mL against *Staphylococcus aureus*. For *Escherichia coli* and *Salmonella Typhi*, no statistically significant differences were observed between treatments. It can be concluded that *Panus strigellus* presents potential for iron biofortification in submerged cultivation, associated with the modulation of secondary metabolism and the production of phenolic compounds with antimicrobial activity. These findings highlight the potential of mycelial biomass as a promising source for the development of functional foods and biotechnological applications.

Keywords: Yanomami. Iron bioaccumulation. Submerged culture. Polyporaceae. *Lentinus strigellus*.

CAPÍTULO I

Bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso e seus efeitos no metabolismo secundário e atividade antimicrobiana

RESUMO: A anemia ferropriva permanece como um relevante problema de saúde pública mundial, estimulando a busca por estratégias alternativas que promovam maior biodisponibilidade e segurança na suplementação de ferro. Nesse contexto, fungos basidiomicetos apresentam elevado potencial biotecnológico para biofortificação mineral e produção de metabólitos bioativos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de bioacumulação de ferro por *Panus strigellus* em cultivo submerso, bem como investigar os efeitos do enriquecimento sobre o crescimento micelial, o metabolismo secundário e a atividade antimicrobiana. O fungo foi cultivado em extrato de malte e suplementado com sulfato ferroso nas concentrações de 0 a 100 mg mL. Foram avaliados a produção de biomassa micelial, a bioacumulação de ferro, a composição mineral da biomassa, o perfil de compostos fenólicos por UHPLC-MS/MS e a atividade antimicrobiana dos extratos hidroetanólicos e filtrados de cultivo por determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A suplementação com ferro influenciou no crescimento fúngico, sendo observada maior produção de biomassa na concentração de 100 mg mL de ferro, com 1025 mg de biomassa, em comparação a 679 mg no controle. A bioacumulação apresentou comportamento não linear, com maiores valores entre 10 e 80 mg mL, destacando-se a concentração de 42,88 µg/ g obtida em 20 mg mL. A análise mineral evidenciou ausência de metais pesados e alterações nos teores de íons essenciais, incluindo redução de 71% nos níveis de potássio e aumento de até 135% na concentração de manganês. A análise química revelou a presença de aldeídos fenólicos, ácidos fenólicos, ácidos orgânicos e flavonoides, com destaque para vanilina, coniferil aldeído, sinapaldeído, hidroxibenzaldeído e ácido p-cumárico. A biomassa enriquecida com ferro apresentou aumento de 86% na concentração de vanilina e maior concentração de ácido nicotínico, indicando modulação do metabolismo secundário em resposta à disponibilidade de ferro. Os extratos apresentaram atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo observada menor CIM frente a *Staphylococcus epidermidis* para a biomassa enriquecida com ferro. Conclui-se que *P. strigellus* apresenta elevado potencial biotecnológico para processos de biofortificação com ferro, associado à indução do metabolismo secundário e à produção de compostos bioativos com atividade antimicrobiana, demonstrando aplicabilidade promissora para o desenvolvimento de alimentos funcionais e suplementos.

Palavras-chave: *Panus* sp. compostos fenólicos. Alimentos funcionais. Fenilpropanóides. Polyporaceae.

1 INTRODUÇÃO

A anemia ferropriva constitui um dos principais problemas de saúde pública global, afetando aproximadamente dois bilhões de pessoas e representando a forma mais prevalente de anemia no mundo, com impactos significativos no desenvolvimento cognitivo, na resposta imunológica e na capacidade produtiva (Kassebaum *et al.*, 2023; World Health Organization, 2023). Suplementação de ferro por via oral, embora empregada no tratamento e na prevenção da anemia ferropriva, apresenta limitações relacionadas à biodisponibilidade e à tolerabilidade (Miah *et al.*, 2024). A regulação da absorção intestinal mediada pela hepcidina pode reduzir significativamente a captação do ferro, enquanto o mineral não absorvido pode causar efeitos adversos gastrointestinais, como irritação da mucosa intestinal, inflamação e alterações na microbiota (Stoffel *et al.*, 2020).

No Brasil, a prevalência da anemia permanece elevada, atingindo aproximadamente 20,9% das crianças menores de cinco anos e cerca de 29,4% das mulheres em idade reprodutiva, com maior magnitude em populações socialmente vulneráveis e variações regionais (Nogueira-de-Almeida *et al.*, 2021). Mesmo diante da implementação de políticas públicas como o Programa Nacional de Suplementação de Ferro e a estratégia NutriSUS, persistem desafios de implementação do tratamento, aceitabilidade e baixa adesão às opções existentes (Paulino; Nishijima; Sarti, 2021). Portanto, é imprescindível buscar alternativas que otimizem a biodisponibilidade mineral, garantindo segurança e tolerabilidade ao paciente.

A biofortificação surge como uma estratégia promissora para aumentar o teor e a biodisponibilidade de micronutrientes em alimentos (Falandysz, 2022). Entre os organismos de interesse biotecnológico, os fungos basidiomicetos destacam-se pela capacidade de bioacumular minerais e convertê-los em formas organicamente complexadas, potencialmente mais biodisponíveis e menos tóxicas ao organismo humano. Adicionalmente, apresentam elevada adaptabilidade metabólica, baixo custo de cultivo e ampla aplicabilidade na produção de biomassa enriquecida para uso alimentar e farmacêutico (Scheid *et al.*, 2020; Meniqueti *et al.*, 2022; Meloni; Falandysz; Fernandes, 2022). Propriedades biológicas estendem-se também à atividade anti-inflamatória (Getha, 2024), capacidade antimicrobiana (Lysakova *et al.*, 2024), ações neuroprotetoras e antitumorais, por exemplo (Badalyan; Rapior, 2021). A bioacumulação de ferro em micélios fúngicos envolve mecanismos fisiológicos complexos, como a produção de sideróforos, a acidificação do meio e a atuação de sistemas de transporte de membrana altamente regulados, que favorecem a solubilização, captação e armazenamento intracelular do metal (Kosman, 2003; Karaffa; Fekete; Kubicek, 2021).

Além de seu papel na bioacumulação, a presença de metais no meio de cultivo pode atuar como fator modulador do metabolismo secundário fúngico (Kosman, 2003; Karaffa; Fekete; Kubicek, 2021). Estudos indicam que o estresse por metais pode induzir a ativação de vias biossintéticas, como a via dos fenilpropanoides, promovendo o aumento da produção de compostos fenólicos com atividade biológica relevante (Vázquez-Armenta *et al.*, 2022; Pinna, 2024). Esses compostos, incluindo aldeídos e ácidos fenólicos, desempenham papel importante na defesa celular e podem contribuir para a atividade antimicrobiana observada em extratos fúngicos (Lysakova *et al.*, 2024). Dessa forma, a composição mineral do meio de cultivo representa uma estratégia relevante tanto para biofortificação quanto para a obtenção de biomassa funcional com propriedades farmacológicas.

Para a produção de biomassa micelial enriquecida, o cultivo submerso é uma alternativa promissora por permitir menor tempo de produção em comparação ao cultivo em estado sólido e maior controle de parâmetros como pH, temperatura, aeração e disponibilidade de nutrientes (Berger *et al.*, 2022). Além disso, favorece a padronização da biomassa e a produção de metabólitos secundários (Berger *et al.*, 2022; Karaffa; Fekete; Kubicek, 2021)

O gênero *Panus* Fr. apresenta ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais (Wang *et al.*, 2020). No Brasil, a espécie *P. strigellus* destaca-se pelo consumo tradicional dos povos indígenas Yanomami na Amazônia, conforme registrado por Sanuma *et al.* (2016) e Vargas-Isla *et al.* (2015). Além de sua relevância cultural, o fungo apresenta potencial para a prospecção de novos compostos com aplicações biotecnológicas e farmacológicas. Sua composição química é caracterizada pela presença de terpenóides oligocíclicos específicos do gênero, como a panepofenantrina e a panapophenanthrin (Llanos-López *et al.*, 2023). Complementarmente, inclui-se a produção de outros metabólitos secundários de interesse, como policetonas, alcalóides, sesquiterpenos e derivados de quinonas epóxicas (Wang *et al.*, 2020).

Estudos recentes demonstram que basidiomicetos apresentam elevada capacidade de bioacumulação mineral e produção de bioativos, destacando-se como organismos promissores para aplicações biotecnológicas e nutricionais (Scheid *et al.*, 2020; Meniqueti *et al.*, 2022). Além disso, diferentes espécies fúngicas têm apresentado potencial antimicrobiano associado à produção de compostos fenólicos e outros metabólitos secundários (Lysakova *et al.*, 2024). E apesar do crescente interesse na utilização de fungos para biofortificação mineral, ainda são limitados os estudos envolvendo *Panus strigellus*, especialmente no que se refere à relação

entre bioacumulação de ferro, modulação do metabolismo secundário e atividade antimicrobiana.

Diante das limitações das terapias convencionais, o presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial biotecnológico do basidiomiceto *Panus strigellus*, avaliando sua capacidade de bioacumulação de ferro em biomassa micelial obtida por cultivo submerso, bem como a influência desse enriquecimento sobre a atividade antimicrobiana e a produção de compostos fenólicos, visando ao desenvolvimento futuro de insumos aplicáveis a alimentos funcionais e suplementos nutricionais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Produção do inóculo

Foi utilizada a espécie *Panus strigellus*, sinomínia *Lentinus strigellus*, linhagem U16-7, pertencente à coleção de culturas do laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense. O micélio do fungo foi cultivado no escuro a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 7 dias, em ágar extrato de malte (20 g/L) previamente autoclavado a $121\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ min}$. O micélio homogêneo e sem setoramento foi selecionado para o inóculo. A espécie utilizada foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de registro A42E94F.

Produção de biomassa e bioacumulação de ferro em diferentes concentrações

O meio de cultivo líquido foi composto por 100 mL de extrato de malte caldo (20 g/L), pH 6,5, adicionado de íons de ferro provenientes de sulfato ferroso nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg/mL de ferro (Meniqueti *et al.*, 2020). O meio de cultivo sem o metal foi considerado o controle. Os Erlenmeyers de 250ml, contendo os meios de cultivo e a solução estéril de ferro, foram inoculados com três discos de MEA de 5 mm de diâmetro contendo o micélio do fungo em estudo. O crescimento da biomassa micelial foi a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 21 dias, no escuro, sem agitação. Ao final do período de incubação (21º dia), os filtrados dos cultivos com e sem suplementação de ferro foram obtidos por filtração em papel Whatman nº 1, transferidos para microtubos protegidos da luz e armazenados em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos ensaios biológicos. O micélio foi centrifugado a 2900 rpm por 5 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, lavado com água

ultrapurificada três vezes e seco em estufa de circulação de ar a 60 °C até a obtenção de massa constante.

Para a extração de ferro, à biomassa micelial desidratada e macerada foi adicionada 1:12 (massa/volume) de ácido nítrico (67%) e mantida a 22 °C ± 2 °C por 72 h. A mistura foi aquecida a 100 °C e adicionada de 1:6 (massa/volume) de H₂O₂ (30%) até completa solubilização do material. A mistura obtida foi filtrada em papel de filtro (porosidade de 14 µm) lavado e o volume ajustado para 10 mL com água ultrapurificada. A concentração de íons de ferro das amostras foi determinada a partir de espectrofotometria de emissão óptica, empregando plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES) (ICAP PRO XP, Thermo Fisher). Para a análise, preparou-se uma curva de calibração (0 - 1 µg/mL de Ferro) (Leite, *et al.*, 2024). A eficiência da bioacumulação foi calculada com base em ferro (em miligramas) translocado para a biomassa total produzida em cada uma das concentrações (Meniqueti *et al.*, 2020). Para as demais análises foi consideradas a biomassa bioacumulada na presença de 80 mg/ mL/ Fe.

Além disso, foi avaliada a influência da concentração de ferro na concentração de íons metálicos da biomassa micelial. Foram avaliados Al, Se, Zn Cd, Co, Ni, Mn, Mg Cr, V, Cu, Ca, Sr, Na, Li e K através de espectrofotometria de emissão óptica, empregando plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES) (ICAP PRO XP, Thermo Fisher).

Preparo do extrato da biomassa

A biomassa micelial crescida na presença e ausência de ferro foi produzida como descrita anteriormente. Após micélio foi submetido à maceração com nitrogênio líquido a fim de obter biomassa ultrafina, foi pesado 100 mg de biomassa bioacumulada, proveniente dos cultivos contendo 80 mg/mL, em tubetes de 2,0 mL protegidos da luz a fim de preservar os compostos e adicionado de 500 µL de etanol 80:20 (Etanol/Água). Os tubetes com biomassa e solvente foram levados a banho maria durante 45 minutos a 50°C, após foi realizado centrifugação durante 10 minutos a 10°C e 6.000 rpm para obtenção do sobrenadante, esse processo foi realizado duas vezes para obtenção do extrato na concentração de 100 mg/mL (Saltarelli, *et al.*, 2009).

Identificação química do extrato etanólico de *Panus strigellus* por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-MS).

O extrato etanólico de *Panus strigellus* bioacumulado com 80 mg/ mL/ ferro e sem, foram analisados utilizando cromatografia líquida de ultra-eficiência, acoplada à espectrometria

de massa em tandem (UHPLC-MS/MS) (Shimadzu® modelo 8050 MS e Nexera® X2 HPLC, Kyoto, Japão), equipada com uma fonte de *electrospray ionization* (ESI). A ESI foi utilizada em modo negativo e positivo, digitalizada com o modo de monitorização de reações múltiplas (MRM). A energia de colisão foi de 15 V (positiva) e 30 V (negativa). A tensão da interface foi de 3 kV, a corrente de 7µA, a temperatura de 300°C e as taxas de fluxo do gás de nebulização e do gás de secagem foram de 3 L/min e 10 L/min, respectivamente. O argônio foi utilizado como gás de colisão a uma pressão máxima de 20 mPa. A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C18 (5 µm, 150 mm × 4,6 mm Shimadzu®). As fases móveis foram água ultrapura acidificada com ácido fórmico a 0,1% (A) e metanol grau MS (Merck®, Darmstadt, Alemanha) (B). A eluição foi realizada em gradiente linear, 1–9 min (20% B), 10–15 min (40% B) e 16–30 min (10% B), a um fluxo de 0,5 mL/min, a 40 °C. As amostras foram filtradas (membrana hidrofóbica de PVDF, tamanho de poro 0,45 µm e 25 mm de diâmetro), e o volume de injeção foi de 1 µL (Damião, *et al.*, 2024). As amostras foram filtradas (membrana hidrofóbica de fluoreto de polivinilideno - PVDF, tamanho de poro 0.45µm e 25mm de diâmetro) e o volume de injeção foi de 1 µL. Curvas analíticas (10 - 250 µg L⁻¹) foram obtidas para os seguintes compostos: catecol, morina, isovanilina, ácido gálico, quercetina, hidroxibenzaldeído, naringenina, siringaldeído, ácido clorogênico, ácido siríngico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido salicílico, vanilina, ácido ferúlico, ácido p-hidroxibenzóico, naringina, ácido p-cumárico, ácido cafeico, aldeído coniferílico, ácido sinápico, siringaldazina, catequina, sinapaldeído, luteolina, rutina, teobromina, epicatequina, baicalina, crisina, ácido quínico, ácidomálico, caempferol, cumarina, cafeína, ácido resorcílico, ácido nicotínico e ácido fumárico (Stevanato *et al.*, 2025).

Atividade antimicrobiana

Microrganismos

As espécies bacterianas usadas na pesquisa foram *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella* Typhi ATCC 19214.

Preparo e padronização do inóculo

Para os ensaios foi preparado uma diluição da massa celular bacteriana a partir do cultivo de 24 h. A concentração final de células bacterianas foi ajustada de acordo com a Escala 0,5 de McFarland (1,5 x 10⁸ UFC / mL) em solução salina estéril 0,9% e após realizada a leitura em espectrofotômetro (Spectra Max Plus) a 625 nm. A seguir foi feita diluição da suspensão

1:10 em meio da cultura Mueller Hinton Caldo obtendo-se um inóculo $1,5 \times 10^7$ UFC / mL e adicionado a microplaca .

Atividade antibacteriana dos extratos etanólico e filtrado do cultivo de *Panus strigellus* pelo método de microdiluição em caldo

A concentração inibitória mínima (CIM) de cada microrganismo frente aos extratos etanólicos e filtrados foi realizada por meio da técnica de microdiluição em série usando microplacas de 96 poços. Para cada microrganismo, foi realizada uma suspensão padronizada em solução salina conforme descrito no item anterior. A CIM foi fornecida de acordo com o método de microdiluição em caldo (CLSI, 2015) modificado para produtos naturais. Os extratos foram avaliados na faixa de concentração entre 0,048 a 50 mg/mL e o filtrado nas concentrações de 0,09% a 50%. Após a diluição seriada, 50 μ L do inóculo foi adicionado a cada poço e submetido à incubação a 35°C por 24 h. A leitura foi realizada com a adição de 20 μ L de revelador 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (Reatec®) a 1,0% em cada poço seguida de incubação das microplacas a 35° C por 20 min. A CIM foi definida pela concentração menor que resultou na inibição do crescimento visual de acordo com o revelador.

Análise estatística

Os ensaios foram realizados em triplicata, em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Após a análise de variância (ANOVA), os resultados de produção de biomassa micelial, bioacumulação e eficiência foram submetidas ao teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$), e os dados da composição química e atividade antimicrobiana ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas usando o software Sisvar versão 5.8 (Ferreira, 2014). Determinou-se o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as variáveis: biomassa micelial, ferro bioacumulado no micélio e rendimento (Mukaka, 2012).

3 RESULTADOS

A produção de biomassa micelial *in vitro* de *P. strigellus* foi afetada pelo aumento da concentração de ferro no meio de cultivo (Tabela 1). Na concentração de 100 mg/mL de ferro foi observada a maior quantidade de biomassa (1025 mg), como consequência o rendimento foi maior nesta concentração, 3,41 g de biomassa por mL de meio de cultivo utilizado. A menor bioacumulação foi no meio sem adição de ferro (679 mg/mL). As concentrações entre 10 e 90 mg/mL apresentaram quantidade intermediária de biomassa micelial.

Tabela 1. Biomassa, rendimento volumétrico, ferro bioacumulado e eficiência de *Panus strigellus* em diferentes concentrações de ferro, proveniente de FeSO₄, adicionado ao meio de cultura.

Concentração Fe adicionado ao meio de cultivo (mg/mL)	Biomassa (mg)	Rendimento volumétrico (mg/ mL)	Fe bioacumulado (µg/g)	Eficiência (µg)
0	679 ± 46 c	2,26 ± 0,15 c	29,02 ± 3,92 b	19,68 ± 1,38 b
10	846 ± 29 b	2,82 ± 0,09 b	36,85 ± 12,84 a	30,99 ± 12,48 a
20	902 ± 41 b	3,00 ± 0,01 b	42,88 ± 8,17 a	37,86 ± 7,63 a
30	897 ± 21 b	2,99 ± 0,07 b	22,81 ± 2,79 b	20,88 ± 2,47 b
40	875 ± 63 b	2,91 ± 0,21 b	28,44 ± 2,08 b	25,91 ± 2,13 b
50	905 ± 24 b	3,01 ± 0,08 b	40,16 ± 5,82 a	36,48 ± 4,77 a
60	813 ± 153 b	2,71 ± 0,51 b	35,66 ± 2,24 a	31,48 ± 1,17 a
70	887 ± 31 b	2,95 ± 0,10 b	35,57 ± 3,78 a	31,35 ± 5,16 a
80	906 ± 15 b	3,02 ± 0,05 b	39,21 ± 12,08 a	35,74 ± 10,72 a
90	938 ± 30 b	3,12 ± 0,10 b	28,42 ± 5,05 b	27,31 ± 4,8 b
100	1025 ± 69 a	3,41 ± 0,23 a	26,57 ± 6,83 b	28,56 ± 6,63 b

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão, de três repetições. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

As maiores bioacumulações de ferro foram registradas nas concentrações de 10, 20, 50, 60, 70 e 80 mg/mL de ferro (Tabela 1). Estes resultados foram aproximadamente 1,44 vezes maiores do que a quantidade bioacumulada no meio de cultivo não adicionado de ferro. Em relação à eficiência, os melhores resultados foram nas concentrações de 10, 20, 50, 60, 70, 80 mg/mL de ferro (Tabela 1).

As concentrações de ferro proveniente de FeSO_4 adicionadas ao meio de cultivo e a produção de biomassa micelial apresentam correlação moderada e valor positivo (Tabela 2), para ferro bioacumulado a correlação é fraca e valor negativo. Já para eficiência a correlação foi fraca e positiva.

Tabela 02. Coeficientes de correlação entre ferro proveniente de FeSO_4 e respostas de biomassa micelial, bioacumulação de ferro nos micélios e eficiência.

Parâmetros	Ferro
Biomassa micelial	0,759
Ferro bioacumulado no micélio	-0,087
Eficiência	0,193

A influência da suplementação com ferro sobre a composição mineral da biomassa micelial foi avaliada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), permitindo a quantificação dos íons metálicos Al, Se, Zn, Cd, Co, Ni, Mn, Mg, Cr, V, Cu, Ca, Sr, Na, Li e K. Dentre os elementos analisados, potássio, magnésio e manganês apresentaram concentrações superiores a $1 \mu\text{g/g}$ na biomassa micelial (Tabela 3). Observou-se redução progressiva nos teores de potássio com o aumento da concentração de ferro no meio de cultivo, alcançando diminuição de até 71% em relação ao controle. Em contrapartida, o manganês apresentou aumento de até 135% nas concentrações intermediárias de ferro, enquanto o magnésio manteve relativa estabilidade entre os tratamentos. Os que apresentaram concentrações consideráveis acima de $1 \mu\text{g/g}$ do metal na biomassa se encontram na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração de outros íons metálicos ($\mu\text{g/g}$) na biomassa de *Panus strigellus* influenciado por diferentes concentrações de ferro, proveniente de FeSO_4 , adicionado ao meio de cultura.

Concentração Fe adicionado ao meio de cultivo (mg/mL)	K ($\mu\text{g/g}$)	Mg ($\mu\text{g/g}$)	Mn ($\mu\text{g/g}$)
0	40,75 \pm 18,80 a	5 \pm 4,17 a	2,47 \pm 0,55 c
10	26,60 \pm 1,31 b	3,66 \pm 2,48 a	4,08 \pm 0,36 c
20	22,52 \pm 2,32 c	4,85 \pm 3,30 a	4,06 \pm 0,32 c
30	34,63 \pm 0,25 a	4,67 \pm 1,85 a	3,66 \pm 0,19 c
40	14,25 \pm 0,03 d	6,52 \pm 4,78 a	5,45 \pm 0,49 b
50	15,26 \pm 0,13 d	6,75 \pm 3,27 a	5,48 \pm 0,38 b
60	14,95 \pm 1,96 d	4,74 \pm 3,19 a	3,81 \pm 0,23 c
70	23,42 \pm 0,38 c	7,40 \pm 5,39 a	5,80 \pm 0,75 a
80	11,71 \pm 0,19 d	1,80 \pm 1,64 a	4,98 \pm 0,56 b
90	19,24 \pm 1,73 c	5,44 \pm 2,81 a	3,58 \pm 0,36 d
100	12,47 \pm 3,07 d	7,90 \pm 0,29 a	2,51 \pm 0,38 d

Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão, de três repetições. Concentração de íons metálicos potássio, manganês, magnésio. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Também foi avaliada a influência da suplementação com ferro sobre a composição de compostos fenólicos presentes no extrato hidroetanólico da biomassa micelial produzida na ausência e na presença de 80 mg/mL de FeSO_4 (Tabela 4). Embora as concentrações de 10, 20, 50, 60, 70 e 80 mg/mL de FeSO_4 tenham apresentado valores estatisticamente semelhantes para bioacumulação e eficiência de incorporação de ferro, a concentração de 80 mg/mL foi selecionada para as análises subsequentes por reunir características favoráveis de crescimento micelial, rendimento volumétrico e enriquecimento mineral. A identificação dos metabólitos revelou a presença de aldeídos fenólicos, ácidos fenólicos, ácidos orgânicos e flavonoides. Entre os compostos identificados, a vanilina apresentou a maior concentração definida, com aumento de 87% na biomassa enriquecida com ferro em relação ao controle sem suplementação mineral. Também foram observados aumentos nas concentrações de coniferil aldeído, sinapaldeído, hidroxibenzaldeído, ácido p-cumárico e ácido nicotínico na biomassa

bioacumulada. Destaca-se ainda a presença de ácido quínico, ácido p-cumárico e coniferil aldeído, compostos relacionados à rota biossintética da vanilina. O ácido nicotínico também apresentou concentração elevada na biomassa suplementada com ferro, atingindo 54,83 µg/g. Esses resultados sugerem que a disponibilidade de ferro atua como moduladora do metabolismo secundário de *P. strigellus*, favorecendo a biossíntese de compostos fenólicos associados à resposta antioxidante e à atividade antimicrobiana. (Tabela 4)

Tabela 4. Concentração de compostos fenólicos (µg/g) presentes no extrato hidroalcoólico (80%) da biomassa de *Panus strigellus* crescida na presença e na ausência de ferro.

Composto	Biomassa sem adição de ferro	Biomassa bioacumulada com ferro (80 mg/mL)
Aldeídos Fenólicos		
Vanilina	37,26 ± 1,71 bB	69,66 ± 0,26 aA
Isovanilina	<0,25	<0,25
Coniferil aldeído	12,13 ± 0,28 bC	15,68 ± 0,34 aC
Sinapaldeino	0,64 ± 0,01 bH	1,16 ± 0,06 aG
Hidroxibenzaldeído	1,85 ± 0,18 bG	3,36 ± 0,03 aE
Ácidos fenólicos		
Ac. protocatecuico	6,43 ± 0,13 aD	5,93 ± 0,20 aD
Ac. p-hidroxibenzóico	2,95 ± 0,18 aF	2,64 ± 0,22 aF
Ac. resorcílico	6,33 ± 0,09 aD	5,48 ± 0,01 aD
Ac. p-cumarico	3,87 ± 0,30 bE	5,27 ± 0,08 aD
Ac. quinico	>75	>75
Ácidos orgânicos		
Ac. nicotínico	45,16 ± 0,19 bA	54,83 ± 0,86 aB
Ac. málico	>75	>75
Ac. fumárico	>75	>75
Flavonoides		
Rutina	0,32 ± 0,03 aH	0,31 ± 0,08 aH

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão, de três repetições. Letras minúsculas na mesma linha indicam valores estatisticamente diferentes e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Por fim, foi avaliado a CIM do extrato etanólico do micélio bioacumulado na presença de 80 mg/ mL de ferro e na ausência de ferro e do filtrado resultante destes cultivos frente a 4 espécies de bactérias (Tabela 5). O extrato etanólico da biomassa bioacumulada apresentou

melhor resultado frente a *S. epidermidis* (8,35 mg/mL) e o extrato da biomassa crescida sem adição de ferro apresentou melhor ação contra *S. aureus* (16,65 mg/mL). Também é importante ressaltar que os dois extratos apresentaram resultados estatisticamente iguais contra as bactérias Gram-negativas avaliadas, *E. coli* e *S. Typhi* (Tabela 5). Os filtrados resultantes do cultivo também apresentaram ação antibacteriana contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. Typhi*, sendo o melhor resultado do filtrado sem a presença de ferro contra *S. aureus* (12,5%).

Tabela 5. Concentração inibitória mínima (CIM) de extrato proveniente do micélio bioacumulado de *Panus strigellus* bioacumulado nas presenças de 80 µg/ mL e ausência de ferro e do filtrado resultante destes cultivos.

Amostra (mg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>
Extrato biomassa com Ferro	27,75 ± 9,61 b	8,35 ± 0 a	11,1 ± 4,80 a	8,35 ± 0 a
Extrato biomassa sem Ferro	16,65 ± 0 a	16,65 ± 0 b	5,54 ± 2,40 a	8,35 ± 0 a
Amostra (%)	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhi</i>
Filtrado com Ferro	25 ± 0 a	50 ± 0 a	> 50	25 ± 0 a
Filtrado sem Ferro	12,5 ± 0 b	> 50	> 50	25 ± 0 a

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão, de três repetições. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna, em separado para o extrato etanólico e para o filtrado, indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram que a suplementação de ferro no meio de cultivo exerce influência significativa na produção de biomassa, na bioacumulação e na eficiência de incorporação desse elemento em *P. strigellus*. De modo geral, observou-se aumento do crescimento micelial em relação ao controle, especialmente em concentrações intermediárias e elevadas de ferro, sugerindo a atuação desse metal como cofator essencial em processos metabólicos associados à formação de biomassa (El-Sayed, 2022). Entretanto, em concentrações mais elevadas, verificaram-se oscilações no crescimento e nas concentrações de outros íons metálicos, indicando possíveis mecanismos de regulação relacionados à homeostase do ferro e ao equilíbrio iônico intracelular (Scheid et al., 2020; El-Sayed, 2022).

No que é relativo à bioacumulação de ferro, os maiores valores foram registrados nas concentrações de 10, 20, 50, 60, 70 e 80 mg/ml. Essa não linearidade pode ser atribuída aos mecanismos regulatórios inerentes aos basidiomicetos, que incluem a secreção de sideróforos, a acidificação do meio e a redução do ferro férrico (Fe^{3+}) a ferroso (Fe^{2+}), estratégias que elevam a biodisponibilidade do metal. Entretanto, esses mecanismos possuem limites fisiológicos, resultando em saturação em concentrações mais elevadas (Scheid *et al.*, 2020). De acordo com Scheid *et al.* (2020), o acúmulo de ferro em micélios de basidiomicetos depende tanto das características fisiológicas de cada espécie quanto da disponibilidade do metal no meio de cultivo, mostrando que o potencial de bioacumulação e a eficiência de aproveitamento do ferro são características específicas de cada espécie.

A eficiência de bioacumulação indica que os processos fisiológicos de captação e regulação de ferro em basidiomicetos são responsivos à disponibilidade externa desse elemento. Tal comportamento é compatível com a atuação de mecanismos especializados, como a produção de sideróforos, os quais apresentam alta afinidade por Fe^{2+} e outros cátions metálicos, favorecendo sua solubilização, transporte e internalização celular. Dessa forma, variações na concentração de ferro no meio podem resultar em respostas metabólicas que influenciam diretamente a eficiência de assimilação e utilização do metal pelo micélio (Zelaya-Molina *et al.*, 2025).

Em contrapartida, a baixa correlação observada entre o teor de ferro bioacumulado e a biomassa micelial ($r = -0,087$) indica que o acúmulo do metal não está diretamente associado ao crescimento fúngico, mas sim à influência dos íons metálicos sobre vias metabólicas específicas, bem como à indução da secreção de ácidos orgânicos capazes de modificar o pH do meio e, conseqüentemente, a biodisponibilidade do ferro. Tais alterações no microambiente

químico contribuem para uma dinâmica complexa de absorção e armazenamento, na qual o acúmulo de ferro pode ocorrer independentemente do incremento de biomassa. Além disso, esse padrão pode refletir um equilíbrio fisiológico entre a demanda metabólica por ferro e a necessidade de mitigação de estresse oxidativo, fenômeno descrito em estudos sobre o metabolismo fúngico sob exposição a metais (Karaffa; Fekete; Kubicek, 2021).

A suplementação de ferro no meio de cultivo promoveu alterações na composição mineral da biomassa de *P. strigellus*, evidenciadas principalmente pela redução dos teores de potássio nas concentrações entre 40 e 100 mg/ mL de FeSO₄, nas quais foram observados os menores valores desse íon. Em contrapartida, o manganês apresentou aumento nas concentrações intermediárias de ferro, com maiores valores registrados entre 40 e 80 mg/ mL, destacando-se a concentração de 70 mg/ mL, que apresentou 5,80 µg /g. Já o magnésio manteve-se relativamente estável entre os tratamentos avaliados. Esses resultados sugerem a ocorrência de interações competitivas entre íons metálicos e mecanismos fisiológicos de adaptação à disponibilidade de ferro no meio de cultivo. (Kosman, 2003; Karaffa; Fekete; Kubicek, 2021).

Os resultados obtidos para os compostos fenólicos em *P. strigellus* cultivados *in vitro* evidenciam padrões compatíveis com achados recentes descritos para basidiomicetos. A detecção de concentrações elevadas de vanilina, hidroxibenzaldeído e ácido p-cumárico encontra respaldo em estudos que relatam a presença de compostos fenólicos bioativos em espécies do gênero *Phellinus*, incluindo atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Vázquez-Armenta et al., 2022). Segundo os autores, compostos fenólicos isolados apresentaram concentrações inibitórias mínimas variando entre 1 e 16,7 µg/ mL contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Embora os valores de CIM observados para os extratos de *P. strigellus* tenham sido superiores, os resultados demonstram atividade antibacteriana relevante, especialmente frente a *Staphylococcus epidermidis*, cuja menor CIM foi de 8,35 mg/mL na biomassa enriquecida com ferro. Esses achados sugerem que os compostos fenólicos identificados podem contribuir de forma sinérgica para a atividade antimicrobiana observada nos extratos fúngicos.

Adicionalmente, a suplementação com ferro promoveu aumento na produção de compostos fenólicos no extrato hidroetanólico da biomassa, com destaque para a vanilina, evidenciando o papel desse elemento como modulador do metabolismo secundário. Importante ressaltar que o ácido nicotínico, também identificado, não se enquadra na classe dos compostos fenólicos, sendo um derivado da piridina, o que sugere que a disponibilidade de ferro impacta múltiplas rotas metabólicas além da via dos fenilpropanóides. A indução dessa via, responsável

pela biossíntese de aldeídos e ácidos fenólicos, pode estar associada ao estresse oxidativo decorrente do aumento da concentração intracelular de ferro, favorecendo a geração de espécies reativas de oxigênio e, conseqüentemente, a ativação de mecanismos de defesa celular. A presença de ferro pode favorecer a formação de espécies reativas de oxigênio, ativando mecanismos de defesa celular que resultam no acúmulo de metabólitos com reconhecida atividade antioxidante e potencial antimicrobiano (Pinna, 2024; Vázquez-Armenta *et al.*, 2022).

De forma complementar, a revisão conduzida por Lysakova *et al.* (2024) destaca que extratos de basidiomicetos obtidos com solventes polares, como o etanol, frequentemente apresentam atividade antimicrobiana tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Os autores ressaltam ainda que as concentrações inibitórias mínimas (CIM) de metabólitos fenólicos isolados podem variar consideravelmente, com valores reportados entre 1 e 16,7 µg/ml.

Os resultados obtidos para os compostos fenólicos do micélio cultivado *in vitro* evidenciaram teores elevados de vanilina, hidroxibenzaldeído e ácido p-cumárico, corroborando achados recentes descritos para basidiomicetos. A detecção de vanilina e ácido p-cumárico também está de acordo com o perfil fenólico previamente relatado para *Panus strigellus* por Ribeiro (2024). Compostos fenólicos com relevante atividade biológica também foram descritos em espécies do gênero *Phellinus*, incluindo atividade antimicrobiana frente a *E. coli* e *S. aureus* (Vázquez-Armenta *et al.*, 2022). O aumento desses compostos na biomassa bioacumulada sugere que a suplementação com ferro atuou como moduladora do metabolismo secundário fúngico, favorecendo a biossíntese de moléculas bioativas relacionadas à atividade antibacteriana observada e à resposta ao estresse oxidativo (Pinna, 2024; Lysakova *et al.*, 2024).

Para essas espécies, CIMs variando entre 3,86 e 31,25 µg/mL foram descritas frente a patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (Lysakova *et al.*, 2024). Tais achados estão em consonância com estudos recentes que investigam a capacidade biossintética de basidiomicetos cultivados em sistemas submersos, nos quais a produção e secreção de compostos bioativos demonstram seletividade frente a diferentes microrganismos patogênicos (Lysakova *et al.*, 2024; Lysakova *et al.*, 2025).

Adicionalmente, observou-se que a maior atividade inibitória contra *S. aureus* ocorreu nos extratos provenientes de biomassas sem bioacumulação de ferro. Esse resultado pode ser explicado pela elevada dependência de ferro por parte dessa bactéria Gram-positiva, que utiliza o metal como nutriente essencial para o crescimento e para a expressão de fatores de virulência (Cassat; Skaar, 2013). Em condições de baixa disponibilidade de ferro, os basidiomicetos

tendem a secretar sideróforos e outros metabólitos quelantes que sequestram o ferro residual do meio, inibindo o desenvolvimento bacteriano por meio de um mecanismo de privação nutricional (Marchetti *et al.*, 2020). Por outro lado, a presença de ferro bioacumulado no extrato pode ter atuado como um fator atenuante da atividade antimicrobiana para essa linhagem específica, ao fornecer o metal necessário para a manutenção do metabolismo bacteriano. Chen *et al.* (2023) avaliaram os mecanismos de ação da vanilina frente a *E. coli*; após o tratamento, foram observados danos ao sistema de membranas, despolarização da membrana e vazamento de ácido nucléico e proteína. Já em bactérias Gram-positivas, como por exemplo, *S. aureus* e *S. epidermidis*, o provável mecanismo de ação da vanilina e seus derivados é a inibição da síntese do DNA microbiano (Hussain *et al.*, 2019).

Os resultados obtidos reforçam o elevado potencial biotecnológico da biomassa de *Panus strigellus*. A suplementação com sulfato ferroso indica que o ferro não apenas intensifica a atividade antimicrobiana, mas também atua como indutor do metabolismo secundário fúngico. Esses achados contribuem para o avanço do conhecimento sobre a exploração de basidiomicetos como fontes de metabólitos bioativos de interesse farmacológico.

5 CONCLUSÃO

Panus strigellus apresenta potencial biotecnológico para processos de biofortificação, demonstrando uma capacidade de bioacumular ferro em sua biomassa micelial quando cultivado em cultivo submerso. A suplementação do mineral no meio de cultura, na forma de sulfato ferroso, favorece o crescimento fúngico, sendo que a maior produção de biomassa ocorre na concentração de 100 mg/ml de ferro.

Além do enriquecimento mineral, a presença do ferro modula significativamente o metabolismo secundário do fungo, induzindo a biossíntese de compostos fenólicos e ácidos orgânicos. Esse incremento em moléculas como a vanilina e o ácido nicotínico reforça o valor nutricional e o potencial funcional da biomassa obtida.

No âmbito da atividade biológica, os extratos de *Panus strigellus* apresentaram atividade antibacteriana seletiva frente a patógenos de relevância clínica, sendo modulada pela composição do meio de cultivo. O enriquecimento com ferro intensificou a atividade antimicrobiana contra determinadas linhagens, enquanto a ausência do mineral favoreceu a inibição de outras, indicando que a composição da biomassa micelial exerce influência direta sobre a expressão de propriedades bioativas. Esses resultados evidenciam que o controle das condições de cultivo constitui uma estratégia relevante para direcionar a produção de metabólitos com atividade farmacológica específica.

6 AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Paranaense (UNIPAR), à Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e concessão de bolsas, fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Sandra M. et al. Iron bioaccumulation in mycelium of *Pleurotus ostreatus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 195–200, 2015.

ALVES, Maria João et al. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 3, p. 466-475, 2012.

ANKE, Timm. The antimicrobial potential of fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 3221-3235, 2020.

BADALYAN, S. M.; RAPIOR, S. Health-promoting properties of mushrooms. In: AGRAWAL, D. C.; DHANASEKARAN, M. (eds.). *Medicinal Mushrooms: recent progress in research and development*. Singapore: Springer Nature, p. 223-249, 2021.

BAMISI, O. et al. Antimicrobial resistance and fungal metabolites. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 2, 2024.

BERGER, Ralf G. et al. Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungi — A comparison of metabolites. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, p. 1379, 2022.

BHAMBRI, Anne et al. Mushrooms as potential sources of active metabolites and medicines. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 837266, 2022.

CASTRO, Teresa Gontijo de et al. Anemia e deficiência de ferro em pré-escolares da Amazônia Ocidental brasileira: prevalência e fatores associados. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 1, p. 131–142, 2011.

CASSAT, James E.; SKAAR, Eric P. Iron in infection and immunity. **Cell host & microbe**, v. 13, n. 5, p. 509-519, 2013.

CHEN, Peiyao et al. Antibacterial mechanism of vanillin against *Escherichia coli* O157: H7. **Heliyon**, v. 9, n. 9, 2023.

CLSI - CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*, 7th. Approved standard M7-A10, 2015.

DAMIÃO, Victor Hugo Borsuk et al. Diferentes métodos de extração para obtenção de metabólitos na planta jovem nim (*Azadirachta indica*) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Observatório de La Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 1, p. 4372-4386, 2024.

EL-SAYED, M. T. Iron stress response and bioaccumulation potential of three fungal strains isolated from sewage-irrigated soil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 3, p. 1936–1953, 2022.

FABROS, J. A. et al. A review on the nutritional value and biological activities of the genus *Lentinus*. **Studies in Fungi**, v. 7, n. 1, 2022.

- FARIA, Maria Graciela Iecher et al. Lithium bioaccumulation in *Lentinus crinitus* mycelia grown in media with different lithium sources and pH values. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 87519–87526, 2022.
- FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, 2014.
- GALVÃO, Vitória Ingrid P.; KOROIVA, Ricardo; WARTCHOW, Felipe. A new species of *Panus* (Polyporales) from Paraíba, Brazil. **Phytotaxa**, v. 584, n. 1, 2023.
- GETHA, K. Basidiomycetes species as a rich source of secondary metabolites with a diverse range of pharmacological properties. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 36, n. 2, p. 174–188, 2024
- GETHA K, P. Antimicrobial compounds from basidiomycetes. **Mycology Research**, v. 45, n. 1, p. 12–25, 2023.
- GRESSLER, M.; LÖHR, N. A.; SCHÄFER, T.; LAWRIKOWITZ, S.; SEIBOLD, P. S.; HOFFMEISTER, D. Mind the mushroom: natural product biosynthetic genes and enzymes of Basidiomycota. **Natural Product Reports**, v. 38, p. 702–722, 2021.
- GRIMM, D.; WÖSTEN, H. A. Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p. 7795–7803, 2018.
- GUIMARÃES, Juliana et al. Taxonomy and phylogeny of the genus *Panus*. **Journal of Fungal Biology**, v. 12, n. 2, 2024.
- GUIMARÃES, R. et al. Phylogenomic analysis of *Panus* species: expanding the genetic framework. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1203456, 2024.
- HERSHKO, Chaim; CAMASCHELLA, Clara. How I treat unexplained refractory iron deficiency anemia. **Blood**, v. 123, n. 3, p. 326–333, 2014.
- HUSSAIN, Mumtaz et al. Synthesis, antibacterial activity and molecular docking study of vanillin derived 1, 4-disubstituted 1, 2, 3-triazoles as inhibitors of bacterial DNA synthesis. **Heliyon**, v. 5, n. 11, 2019.
- KARAFFA, L.; FEKETE, E.; KUBICEK, C. P. The role of metal ions in fungal organic acid accumulation. **Microorganisms**, v. 9, n. 6, p. 1267, 2021.
- KARUNARATHNA, Samantha C. et al. Exploring the antimicrobial properties of *Ganoderma*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, 2025.
- KASSEBAUM, Nicholas J. et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. **Blood**, v. 123, n. 5, p. 615–624, 2014.
- KASSEBAUM, Nicholas J. et al. Prevalence and trends in anaemia burden, 1990–2021. **The Lancet Haematology**, v. 10, n. 9, p. e713–e734, 2023.

KOSMAN, D. J. Molecular mechanisms of iron uptake in fungi. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 1, p. 79-92, 2003.

LEITE, E. C. et al. Biodisponibilidade de metais em sedimentos e peixes em áreas agrícolas e urbanas do rio Pirapó: toxicidade potencial e monitoramento ambiental. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 20, p. 17-29, 2024.

LIMA, Cristiane U. J. O.; GRIS, Eliana F.; KARNIKOWSKI, Margô G. O. Antimicrobial properties of *Agaricus blazei*: integrative review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 6, p. 780–786, 2016.

LLANOS-LÓPEZ, Natalia A. et al. Panepophenanthrin, a rare compound from *Panus strigellus*. **Metabolites**, v. 13, n. 7, p. 848, 2023.

LOPES ARAUJO, N. et al. Produção de enzimas por basidiomicetos cultivados em bagaço de cana-de-açúcar. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, e6810111406, 2021

LYSAKOVA, V.; KRASNOPOLSKAYA, L.; YARINA, M.; ZIANGIROVA, M. Antibacterial and Antifungal Activity of Metabolites from Basidiomycetes: A Review. **Antibiotics (Basel)**, v. 13, n. 11, p. 1026, 2024.

LYSAKOVA, V.; STRELETSKIY, A.; SINEVA, O.; ISAKOVA, E.; KRASNOPOLSKAYA, L. Screening of basidiomycete strains capable of synthesizing antibacterial and antifungal metabolites. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 19, p. 9802, 2025.

MACHADO, Ísis Eloah et al. Prevalência de anemia em adultos e idosos brasileiros. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, supl. 2, 2019.

MARCHETTI, Marialaura et al. Iron metabolism at the interface between host and pathogen: from nutritional immunity to antibacterial development. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 6, p. 2145, 2020.

MELONI, Davide; FALANDYSZ, Jerzy; FERNANDES, Ângela. Metal uptake and accumulation in mushrooms. **Environmental Research**, v. 212, p. 113170, 2022.

MENIQUETI, Adriano Borges et al. Iron-enriched mycelia of basidiomycetes. **Environmental Technology**, v. 43, n. 8, p. 1248–1254, 2020.

MENIQUETI, Adriano Borges et al. Iron bioaccumulation in *Lentinus crinitus*. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, p. 4965–4974, 2021.

MENIQUETI, A. B. et al. Iron-enriched mycelia of edible and medicinal basidiomycetes. **Environmental Technology**, v. 43, n. 8, p. 1248–1254, 2022.

MIAH, M. M. Z. et al. Iron-deficiency anemia treatment with ferric carboxymaltose. **Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology**, v. 14, n. 1, p. 12–15, 2024.

MUKAKA, M. J. Statistics corner: a guide to appropriate use of correlation in medical research. **Malawi Medical Journal**, v. 24, n. 3, p. 69-71, 2012.

- MSHANDETE, Anthony M.; MGONJA, Jehova R. Submerged fermentation of basidiomycetes. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 4, n. 6, p. 1–13, 2009.
- NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, Carlos A. et al. Prevalence of childhood anaemia in Brazil. **Public Health Nutrition**, v. 24, n. 14, p. 2171–2184, 2021.
- OLIVEIRA, R. S. et al. Exploring the Bioactive Potential of *Pisolithus* (Basidiomycota). **Microorganisms**, v. 12, n. 3, p. 450, 2024.
- PANKAVEC, Stanislav et al. Bioaccumulation of elements in fungi. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 10, 2021.
- PAULINO, Camila T. da Silva; NISHIJIMA, Marislei; SARTI, Flávia Mori. Iron supplementation programs in Brazil. **Nutrients**, v. 13, n. 5, p. 1524, 2021.
- PINNA, Cecilia et al. NATURE-INSPIRED COMPOUNDS AS MULTI-TARGET DIRECTED LIGANDS. 2024.
- RAHI, Praveen; MALIK, Aamir. *Fungal Biotechnology: principles and applications*. [S.l.]: Springer, 2016.
- RIBEIRO, B. M. Atividades biológicas da biomassa micelial de *Panus strigellus* com aplicações em produtos cosméticos. 2024. 120 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura) – Universidade Paranaense, Umuarama, 2024.
- RITOTA, Mena; MANZI, Pamela. *Pleurotus spp.* cultivation on agri-food by-products. **Sustainability**, v. 11, n. 18, p. 5049, 2019.
- SALTARELLI, R. et al. Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 143-149, 2009.
- SANUMA, Oscar Ipoko et al. *Enciclopédia dos alimentos Yanomami: cogumelos*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2016.
- SANTANA, Thiago Teodoro. Cultivo de *Panus strigellus* em diferentes condições. 2024. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Paranaense, Umuarama, 2024.
- SCHEID, Simone Schenkel et al. Iron biofortification in mycelial biomass. **Scientific Reports**, v. 10, p. 12875, 2020.
- SI-XIAN, W. A. N. G. et al. New meroterpenoid compounds from the culture of mushroom *Panus lecomtei*. **Chinese journal of natural medicines**, v. 18, n. 4, p. 268-272, 2020.
- STOFFEL, Nicole U. et al. Oral iron supplementation: how much and how often? **Molecular Aspects of Medicine**, v. 75, p. 100865, 2020.
- UMEO, Suzana Harue et al. Iron and zinc bioaccumulation in *Agaricus subrufescens*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 6, p. 2513–2522, 2019.

VARGAS-ISLA, Ruby, et al. "Relationship between *Panus lecomtei* and *P. strigellus* inferred from their morphological, molecular and biological characteristics." **Mycoscience** 56.6: 561-571. (2015)

VARGAS-ISLA, R. et al. Climate change implications for fungal growth and metabolism: perspectives for biotechnological applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 5193–5206, 2015.

VÁZQUEZ-ARMENTA, F. J. et al. Phenolic compounds of *Phellinus spp.* with antibacterial and antiviral activities. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 1187-1197, 2022.

WELCH, Ross M.; GRAHAM, Robin D.; CAKMAK, Ismail. Linking agriculture to nutrition: a global priority. Rome: FAO, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Food fortification and micronutrients. Geneva: WHO, 2023.

YOKOTA, M. E. et al. Iron translocation in *Pleurotus ostreatus*. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, 2016.

ZELAYA-MOLINA, L. X. et al. Microbial metallophores and chelation mechanisms influencing metal uptake by fungi. **Metals**, Basel, v. 16, n. 3, p. 67, 2025.

ZHENG, W. et al. Global, regional, and national anemia burden among women of reproductive age (15–49 years) from 1990 to 2021: an analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. **Frontiers in Nutrition**, v. 12, art. 1588496, 2025.

STEVANATO, Natalia et al. Green extraction of valuable compounds from the byproduct of oil extraction from forage radish seed. **Industrial Crops and Products**, v. 224, p. 120257, 2025.

SI-XIAN, W. A. N. G. et al. New meroterpenoid compounds from the culture of mushroom *Panus lecomtei*. **Chinese journal of natural medicines**, v. 18, n. 4, p. 268-272, 2020.