

# CULTIVO SUBMERSO DE *GANODERMA LUCIDUM* (Curt. ex Fr.) Karst EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

Leandro da Silva Clementino\*

Fabio Rogério Rosado\*\*

**RESUMO:** Os fungos despertam grande interesse por sua capacidade biodegradadora e capacidade de bioconversão. Secretando enzimas e ácidos orgânicos no meio extracelular, os fungos degradam moléculas quimicamente complexas, propriedade esta que pode ser utilizada no tratamento de resíduos agroindustriais. *Ganoderma lucidum* é atualmente objeto de estudo no mundo todo, principalmente nos países orientais, devido às suas inúmeras propriedades medicinais. Conhecido popularmente como Reishi, é alvo de muitas pesquisas relacionadas aos seus princípios ativos no tratamento de doenças como o câncer, alergias, hipertensão arterial e outras, ou mesmo no sentido de prevenção destas doenças. Existem poucos dados sobre o cultivo submerso de *Ganoderma lucidum*. Deste modo, é de grande interesse investigar as condições necessárias para se otimizar a obtenção de substâncias de interesse farmacológico e biotecnológico produzidas por esse fungo. Este trabalho tem por objetivo avaliar fontes de carbono e nutrientes alternativos, oriundos de meios de cultivo líquidos diferentes: dextrose, melão de cana-de-açúcar e o Iodo (um subproduto do processamento da cana) na produção de biomassa e exopolissacarídeos (EPSs) por *G. lucidum*. Os meios de cultura alternativos utilizados neste trabalho são adequados para a produção de biomassa e EPSs por *G. lucidum*. A produção de biomassa e EPSs são favorecidas quando se utiliza o subproduto do processamento da cana (Iodo) na concentração de 30 g/L.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cultivo Submerso; *Ganoderma lucidum*; Biomassa; Exopolissacarídeos.

---

\* Acadêmico do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR; Bolsista do Programa de Iniciação Científica do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR/PROBIC. E-mail: leandro\_mga18@hotmail.com

\*\* Doutor em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual de Maringá – UEM; Pós doutorando do Institute de La Recherche Agronomique – INRA, France. E-mail: fabiorosado.bio@gmail.com

## SUBMERGED CULTURE OF *GANODERMA LUCIDUM* (Curt. ex Fr.) Karst IN DIFFERENT CULTURE MEDIA

**ABSTRACT:** Fungi are a highly relevant research subject because of their biodegrading ability and bioconversion capacity. Since they secrete enzymes and organic acids in an extracellular environment, fungi chemically degrade complex molecules which may be employed in the treatment of agricultural and industrial residues. *Ganoderma lucidum* is currently being studied worldwide, mainly in Eastern countries, due to its numerous medicinal properties. Popularly known as Reishi, its active chemical ingredients are being researched for treatments on cancer, allergies, hypertension and others, and even for the prevention of these diseases. Few data exist on the submerged cultivation of *Ganoderma lucidum*. It is, therefore, highly interesting to investigate the conditions necessary to optimize the production of pharmacological and biotechnological compounds produced by this fungus. Current research assesses alternative sources of carbon and nutrients derived from different liquid cultures, or rather, dextrose, cane-sugar molasses and iodine (a byproduct of sugar-cane processing) in the production of biomass and exopolysaccharides (EPSs) by *G. lucidum*. Alternative culture media employed in present investigation are suitable for the production of biomass and EPSs by *G. lucidum*. Biomass and EPSs production are favored when the byproduct of cane-processing (iodine) at a concentration of 30 g/L<sup>-1</sup> is used.

**KEYWORDS:** Submerged Cultivation; *Ganoderma lucidum*; Biomass Production; Exopolysaccharides.

### INTRODUÇÃO

*Ganoderma lucidum* é o cogumelo medicinal mais vendido no mundo, movimentando bilhões de dólares ao ano (URBEN et al., 2001). É utilizado pelos chineses há milênios devido às inúmeras propriedades terapêuticas, sem nenhum efeito colateral constatado, o que despertou o interesse pelos ocidentais nas últimas décadas (RUBEL, 2006).

Devido a seu amplo uso popular incentivou pesquisas principalmente em relação às atividades antitumorais e imunomoduladoras de *G. lucidum*. Destacam-se também sua ação antialérgica, hipotensiva, hipoglicêmica, antibacteriana e antioxidante (URBEN et al., 2001; WAGNER et al., 2003). Dentre os diversos metabólitos biologicamente ativos de *G. lucidum*, os polissacarídeos e triterpenos

são os principais responsáveis pelas atividades farmacológicas (RUBEL, 2006).

Jong (1992 apud MAZEIRO, 1996) e Birmingham (1992 apud MAZEIRO, 1996) constataram atividade antibiótica, antidiabética, antitrombótica, antitumoral, antiviral, imunomoduladora, radioprotetiva e hipocolesterêmica de *G. lucidum*, sendo diversos compostos isolados polissacarídeos.

Estudos recentes mostram que o fungo *G. lucidum* apresenta um grande potencial na busca de compostos biologicamente ativos. Alguns triterpenos do tipo lanostano apresentaram atividade anti-HIV 1 e anti-HIV Protease (SANTOS et al., 2000).

Zhang e colaboradores (2000 apud SILVA et al., 2006) extraíram uma glucana do basidioma (estrutura produtora de esporos) do basidiomiceto *G. lucidum*. Após resultados das análises de metilação, oxidação pelo periodato,  $C^{13}$  RMN e espectroscopia de infravermelho, a molécula foi caracterizada como um polímero linear constituído de resíduos glucosídicos  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) ligados. Derivados sulfatados desta molécula têm apresentado atividade antitumoral contra o carcinoma de Ehrlich.

A extração de polissacarídeos de fungos basidiomicetos vem sendo estudada de longa data. Essas e outras substâncias são utilizadas como coadjuvantes no tratamento de doenças em humanos, principalmente em algumas formas de câncer. Já foi demonstrada a eficácia nas respostas do sistema imunológico em tratamentos de tumores malignos. Pesquisadores americanos e chineses têm demonstrado em seus estudos as atividades antitumorais dos polissacarídeos e triterpenóides extraídos de várias espécies do gênero *Ganoderma*. Além disso, substâncias extraídas de outras espécies de basidiomicetos são aplicadas para a diminuição do colesterol, redutores de pressão sanguínea, potencializadores do sistema imunológico e também como drogas para controle cardíaco (SILVA; COELHO, 2006).

O acúmulo de resíduos agrícolas como palha de arroz, trigo e outros cereais, e também dos resíduos agroindustriais dentre eles, tortas de algodão, soja e bagaço de cana-de-açúcar, além de serragem de madeira, muitas vezes representam problemas ambientais porque muitos destes resíduos constituem substratos orgânicos persistentes no meio ambiente. Devido à capacidade dos fungos basidiomicetes de converter lignina e celulose em gás carbônico e água, graças a sua poderosa bateria enzimática, muitas espécies podem ser utilizadas em processos biotecnológicos a fim de degradar esta classe de resíduos. Muitas vezes, estes resíduos são utilizados como substratos para a produção de cogumelos comestíveis ou ainda para produção de biomassa fúngica a ser empregada em processos industriais (SILVA; COELHO, 2006).

Os fungos de podridão branca (*White-rot fungi*), ou seja, os degradadores de

lignina têm obtido crescente êxito em pesquisas relacionadas à biodegradação de poluentes, pois estes são capazes de transformar e mineralizar contaminantes ambientais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, corantes azo, herbicidas e outros compostos tóxicos através da ação de suas enzimas extracelulares (CLEMENTE, 2002 apud SILVA et al., 2006; HICKS et al., 1990 apud MAZEIRO 1996). Pertencendo a esse grupo, *G. lucidum* é capaz de degradar componentes lignolíticos complexos; por este motivo o substrato de cultura para o desenvolvimento dos basidiomas de *G. lucidum* são os troncos de árvores constituídas por madeiras duras e serragens destas madeiras (SEO; KIRK, 2000 apud RUBEL, 2006).

O cultivo para a obtenção do basidioma desta espécie é intenso, pois os produtos de *G. lucidum* comercializados são formulados a partir da biomassa ou dos basidiomas do mesmo, na forma de cápsulas ou tabletes, extratos aquosos ou alcoólicos ou do próprio cogumelo seco (WAGNER et al., 2003).

Os polissacarídeos e outros princípios ativos de *G. lucidum* podem ser encontrados e isolados a partir do basidioma e do micélio (estrutura de produção de esporos e corpo vegetativo do fungo, respectivamente). No entanto, o processo de extração destas substâncias deve ser extremamente cuidadoso e controlado, pois os extratos podem eventualmente conter toxinas ou metais pesados. O cultivo dos basidiomas através de fermentação em estado sólido pode levar de três a seis meses. Desta forma, há um recente interesse na produção de micélio em fermentação submersa, que ocupa espaços reduzidos, menos custos e diminuição das chances de contaminação, o que possibilita uma total recuperação de várias substâncias de *G. lucidum* como os endopolissacarídeos, isolados do micélio e dos exopolissacarídeos (EPSs), isolados do meio de cultura líquido (RUBEL, 2006; WAGNER et al., 2003).

A produção de EPSs é um processo mais simples em relação à produção de endopolissacarídeo, já que sua recuperação é mais fácil e não requer múltiplas etapas de extração, sendo mais atrativa para a produção em escala industrial (LEE; LEE; LEE, 1999).

Na composição do meio de cultura submerso as concentrações iniciais de açúcar, além do pH e a agitação, também atuam de forma decisiva sobre o processo fermentativo do fungo. Os carboidratos desempenham um papel importante no crescimento dos cogumelos, proporcionando energia às células e a síntese de diversas moléculas que resultam em aproximadamente metade do peso da matéria seca dos basidiomas, em carbono (RUBEL, 2006; ROSSI; MONTEIRO; MACHADO, 2001).

Considerando que a indústria canavieira no Brasil está em processo de expansão, principalmente quanto à produção de álcool, é interessante testar fontes de

nutrientes provenientes da cana-de-açúcar para o cultivo de fungos com potencial farmacológico e biotecnológico. Um exemplo é o melado de cana-de-açúcar e um subproduto conhecido como lodo resultado do processo de decantação do caldo de cana-de-açúcar, fontes ricas principalmente em carboidratos (SILVA; CESAR; SILVA, 2003; RHEE et al., 1984 apud CAMILIOS NETO et al., 2005; MOAGEM..., 2005).

Assim, fontes alternativas de açúcares produzidas em grandes quantidades, que podem ser utilizadas para a produção de biomoléculas farmacologicamente ativas, como açúcares obtidos a partir da biomassa e do filtrado cultural (EPSs), devem ser exploradas para possível utilização posterior para o cultivo em meio sólido ou cultivo submerso de *G. lucidum*.

Song e colaboradores (1987 apud ROSSI; MONTEIRO; MACHADO, 2001) mostraram que a solução aquosa de melado de cana na concentração de 30,0 g/L<sup>-1</sup> é capaz de manter o crescimento micelial vigoroso de *Lentinula edodes*. Para Zanetti e Ranal (1997 apud ROSSI; MONTEIRO; MACHADO, 2001) a glucose e a frutose são importantes fontes de energia para a atividade metabólica dos cogumelos; Wasser (2005 apud RUBEL, 2006) diz que um importante aspecto ecológico dos cogumelos em cultivo artificial é a possibilidade de propagá-los em resíduos provenientes da agroindústria e sem emissão de lixo no final do processo.

Baseado nas diversas aplicações deste fungo, o seguinte trabalho tem por objetivo avaliar fontes de carbono e nutrientes alternativos, oriundos de meios de cultivo líquidos diferentes: dextrose, melado de cana-de-açúcar e o Iodo (um subproduto do processamento da cana) na produção de biomassa e exopolissacarídeos (EPSs) por *G. lucidum*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 FUNGO

O isolado de *Ganoderma lucidum* foi cedido pelo Centro Universitário de Maringá – Coleção de Cultura de Basidiomicetes. Este foi cultivado em meio sólido BDA (batata-dextrose-ágar) por 7 dias. As culturas foram repicadas a cada 3 meses para a manutenção do vigor do fungo. Após o crescimento do micélio (conjunto de hifas que constituem o corpo vegetativo do fungo), tubos de ensaio contendo 5 mL de meio líquido BD (batata-dextrose), receberam um disco com aproximadamente 1cm de diâmetro de meio de cultura BDA recém-colonizado pelo micélio, após 7 dias de incubação, a 25°C, na ausência de luz, e incubados nas mesmas condições por 14 dias.

## 2.2 MEIOS DE CULTURA E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Para o preparo do meio de cultura líquido, 150g de batatas inglesas foram picadas e cozidas por 30 minutos em 1L de água destilada. Após o cozimento, o caldo foi coado em gaze e foram acrescentadas as fontes de carbono (dextrose, melado e lodo de cana-de-açúcar) em diferentes concentrações (10 e 30g/L<sup>-1</sup>). O pH foi ajustado para 6,0, com NaOH e ácido acético. Os meios de cultivo em erlenmeyers de 250 mL foram esterilizados em autoclave a 121°C, 1 atm., por 15 minutos. O meio BD (batata e dextrose – 20 g) foi usado como controle.

Erlenmeyers de 250 mL contendo 150 mL meio de cultura líquido estéril com diferentes concentrações de dextrose, melado e Iodo de cana-de-açúcar foram inoculados com 5 mL de cultura líquida (um tubo de inóculo líquido, após 14 dias de crescimento) sobre condições estéreis em Câmara de Fluxo Laminar Vertical.

A incubação foi realizada em agitador mecânico rotatório (Shaker) com velocidade de 100 rpm durante 7 dias com temperatura média de 26°C ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ), e mais 7 dias sobre cultura estática à temperatura ambiente. Durante o cultivo, a luminosidade constituiu de 12 horas no claro intercaladas com 12 horas no escuro. Os frascos foram tamponados com algodão (para aeração adequada), para o crescimento dos fungos em cultura submersa.

## 2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

### 2.3.1 Separação da biomassa

Após o período de incubação, a biomassa foi separada por filtração (com auxílio de funil de porcelana contendo papel de filtro Whatman n° 1). O peso seco da biomassa foi obtido com o auxílio de balança analítica usando uma bomba de vácuo, após secagem do material em estufa a 100°C, por 8 horas.

### 2.3.2 Precipitação de polissacarídeos

Os polissacarídeos foram precipitados adicionando-se etanol resfriado ao filtrado cultural (2:1, v.v) e separados por filtração com auxílio de funil de porcelana contendo papel de filtro previamente pesados, usando uma bomba de vácuo.

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial

3x2 (3 substratos versus 2 concentrações). Cada tratamento foi repetido 3 vezes. Os dados foram analisados por análise de variância e as médias entre tratamentos comparados pelo teste de Scott Knott a 5%. Para a análise foi utilizado o programa Sisvar da Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

### 3 RESULTADOS

A cultura em meio líquido comportou-se de maneira semelhante quando realizada estaticamente ou sob agitação. No desenvolvimento do inóculo com agitação contínua, o crescimento iniciou-se de modo submerso, onde uma massa miceliana de consistência gelatinosa foi produzida. Houve formação de depósitos no fundo do frasco de cultivo e o restante do meio permaneceu límpido, dando a essa massa um aspecto nebuloso. Somente após o sexto dia é que alguns pontos começaram a aparecer na superfície do meio, quando o fungo busca maior concentração de oxigênio. Durante o período sem agitação o desenvolvimento ocorreu principalmente na superfície, formando um tapete branco de base coriácea e superfície lisa.

Pode ser observado que o tratamento com Iodo de cana-de-açúcar proporcionou maior valor de biomassa do fungo *G. lucidum* após 14 dias de cultivo. Este valor foi diferente estatisticamente dos encontrados nos tratamentos com dextrose e melado de cana-de-açúcar. Entre as concentrações foi detectada que a maior concentração de Iodo ( $30 \text{ g/L}^{-1}$ ) favoreceu o crescimento micelial do fungo. Não houve diferença estatística entre os tratamentos com dextrose e melado (Tabela 1).

**Tabela 1** Valores médios de biomassa (g) de *Ganoderma lucidum* após 14 dias de cultivo em diferentes tratamentos.

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÕES	
	10 g/L	30 g/L
Dextrose	0,4040 aA	0,4690 bA
Melado de cana-de-açúcar	0,3734 aA	0,5140 bA
Iodo de cana-de-açúcar	0,4694 aB	0,6948 aA

\*Letras minúsculas iguais nas colunas representam tratamentos iguais estatisticamente.

\*Letras maiúsculas iguais nas linhas representam concentrações iguais estatisticamente.

Na produção de EPSs obteve-se maior valor no tratamento com Iodo de cana-de-açúcar em maior concentração ( $30 \text{ g/L}^{-1}$ ). Não houve diferença estatística

ca entre os tratamentos com dextrose e melado (Tabela 2).

**Tabela 2** Valores médios de EPS(g) de Ganoderma lucidum após 14 dias de cultivo em diferentes tratamentos.

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÕES	
	10 g/L	30g/L
Dextrose	0, 0069 aA	0, 0230 bA
Melado de cana-de-açúcar	0, 0056 aA	0, 0170 bA
Iodo de cana-de-açúcar	0, 0077 aB	0, 0610 aA

\*Letras minúsculas iguais nas colunas representam tratamentos iguais estatisticamente.

\*Letras maiúsculas iguais nas linhas representam concentrações iguais estatisticamente.

No tratamento com dextrose obteve-se maior variação do pH, considerando a diferença do pH no início do cultivo (pH=6,0) ao pH no final do cultivo (pH=5,0). A maior variação detectada ocorreu na maior concentração de dextrose (30g/L) (Tabela 3).

**Tabela 3** Valores médios de pH de Ganoderma lucidum após 14 dias de cultivo em diferentes tratamentos.

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÕES	
	10 g/L	30 g/L
Dextrose	5,20 bA	5,00 cB
Melado de cana-de-açúcar	5,47 aA	5,40 bA
Iodo de cana-de-açúcar	5,43 aA	5,53 aA

\*Letras minúsculas iguais nas colunas representam tratamentos iguais estatisticamente.

\*Letras maiúsculas iguais nas linhas representam concentrações iguais estatisticamente.

#### **4 DISCUSSÃO**

Diferentes fontes de carbono têm sido estudadas, entretanto a glucose e a sacarose são as mais utilizadas para a produção de exopolissacarídeos fúngicos (BARBOSA et al., 2004).



Tang e Zhong (2002) relatam que altas concentrações iniciais de glicose e de sacarose em meio de cultura submerso aumentam a produção de EPSs de *G. lucidum*, mas diminuíram drasticamente a produção de biomassa. A produção de EPS atingiu  $0,87 \pm 0,05 \text{ g/L}^{-1}$  e  $0,75 \pm 0,05 \text{ g/L}^{-1}$ .

Já para Rubel (2006) a maltase foi mais eficiente na produção de EPSs do que a sacarose. E a lactose, como fonte de carbono, foi importante no crescimento micelial, mas não de EPSs.

Yang e Liao (1998) obtiveram um bons resultados na produção de EPSs (concentração atingiu  $1,6 \text{ mg/mL}^{-1}$ ) no cultivo submerso de *G. lucidum* num pH de 4,0 a 4,5, temperatura de 30 a 35 °C e agitação à 150 rpm em 7 dias de cultivo. No entanto, a agitação teve efeito negativo sobre o crescimento micelial.

Qing-Hua e Jian-Jiang (2002) observaram que o extrato de peptona como única fonte de nitrogênio não permitiu o crescimento micelial de *G. lucidum*. No entanto, uma combinação de  $5 \text{ g/L}^{-1}$  de extrato de levedura e  $5 \text{ g/L}^{-1}$  de peptona foi ideal para o crescimento celular na produção de EPSs. A concentração inicial de glicose no âmbito  $20\text{-}65 \text{ g/L}^{-1}$  também afetou fortemente o crescimento celular e biossíntese produto. A produção do EPSs foi notavelmente melhorada a uma alta concentração inicial de glicose.

O melaço de cana-de-açúcar, utilizado para o cultivo do fungo, é uma rica fonte de açúcares, possuindo no mínimo 60% de açúcares totais sendo o principal a sacarose, além de 15% de açúcares redutores, glicose e frutose (SILVA; CESAR; SILVA, 2003). O melaço de cana-de-açúcar é um subproduto da indústria do açúcar, apresenta uma alta concentração de sacarose, além de outras substâncias importantes para processos fermentativos (RHEE et al., 1984 apud CAMILIOS NETO et al., 2005.).

De acordo com Tan e Wahab (1997 apud SILVA et al., 2006), os fungos de podridão branca exibem baixa atividade celulolítica relativa no estágio anamórfico ou assexuado, pois se desenvolvem, principalmente, em substratos altamente lignificados como a madeira e a serragem, além de produzirem enzimas ligadas à polimerização da lignina. Provavelmente, este fator pode ter influenciado negativamente o crescimento do fungo.

O resultado do processo de decantação do caldo de cana-de-açúcar forma um subproduto conhecido como lodo. Como esse lodo possui altas concentrações de açúcares, palha, terra, cera e outros resíduos provenientes do processo de moagem, o caldo que fica da decantação passa por um filtro rotativo com placas que retêm a passagem desses resíduos, formando uma massa chamada de Torta (MOAGEM..., 2005). A presença da palha e outros resíduos do processo de moagem presentes no Iodo podem ter contribuído para uma melhor produção de biomassa e EPSs pelo fungo testado em relação às outras fontes de carbono

(Tabela 1 e 2).

Os polissacarídeos constituem uma importante porcentagem da biomassa fúngica. A parede hifal, por exemplo, contém mais de 75% deste tipo de biomolécula. Além de atuarem como elemento de suporte para as hifas, alguns polissacarídeos constituem uma capa extracelular ao redor do micélio, proporcionando um suporte para adesão das enzimas excretadas e participando na degradação da lignina, como uma fonte indireta de peróxido de hidrogênio. Estas biomoléculas podem contribuir para manter o pH ótimo para as enzimas ligninolíticas, além de impedirem a desidratação das hifas e de regularem a concentração de glucose extracelular. Essas moléculas ficam parcialmente dissolvidas no meio de cultivo quando o fungo cresce em meio líquido (GUTIÉRREZ et al., 1996 apud SILVA, et al., 2006).

Reginato (1992 apud SILVA et al., 2006) relatou que flutuações ou oscilações nas atividades enzimáticas durante o crescimento de um microrganismo podem ser devido a diversos fatores, tais como: a variação do pH pode causar inativação de algumas enzimas e estimular a secreção de outras; algumas formas de enzimas podem sofrer ataque proteolítico preferencial; durante o crescimento do microrganismo estas enzimas podem ser adsorvidas pelos substratos insolúveis e serem liberadas após a exaustão da celulose.

Segundo Louguercio-Leite (2000 apud NUNES, 2001), a maioria dos fungos parece crescer melhor a níveis de pH de 4,0 a 7,0. Observou-se, de modo geral, que quanto maior a concentração inicial de glicose disponível no meio, maior foi a produção de biomassa. A glicose é uma fonte de carbono amplamente utilizada. A maioria dos fungos testados atualmente mostram-se capazes de utilizar a glucose como única fonte de carbono e energia, por essa razão é o material de escolha quando se deseja desenvolver um meio de rotina para crescimento rápido (GRAFFIN, 1994 apud NUNES, 2001).

Lee, Lee e Lee (1999) verificaram que o pH controlado definitivamente afeta o crescimento micelial e da produção de EPSs no cultivo submerso de *G. lucidum*. Eles definiram uma técnica onde é mantido e na fase inicial do cultivo um pH=3 e aumentado exponencialmente até 6,0 no final do cultivo, o que aumentou a produção de EPS de 2,01 g/L<sup>-1</sup> para 4,1 g/L<sup>-1</sup> além de promover baixa viscosidade do caldo de cultura. Isso se deve porque o pH=3,0 favorece o crescimento micelial e o pH=6,0 promove a produção de EPSs.

A agitação também influi significativamente no cultivo submerso de *G. lucidum*. A produção de EPSs fúngico é diretamente proporcional ao tempo de agitação do meio de cultura; já, em condições estáticas, o crescimento micelial é favorecido (RUBEL, 2006).

Wagner e colaboradores (2003) sugeriram a existência de uma relação entre as

alterações morfológicas e fisiológicas observadas com *G. lucidum* em fermentação submersa. Após 15 dias de cultivo ocorre a fragmentação dos pellets e é somente então que a glucose do meio passa a ser consumida. A produção ou liberação de polissacarídeos extracelulares parece ser influenciada por estas alterações, pois a sua presença no caldo aumenta de forma proporcional à biomassa somente após o 15º dia de fermentação. O fungo prefere se desenvolver sobre suportes sólidos que deem sustentação para as hifas. Esta sugestão é também apoiada pelos experimentos que demonstraram, ao introduzir esponjas de poliuretano no meio de cultivo sob agitação, que todo o micélio se aderiu às esponjas e o crescimento sobre este suporte foi maior que o observado em suspensão (YANG et al., 2000 apud WAGNER et al., 2003).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, a produção de biomassa e EPSs são favorecidas quando se utiliza o subproduto do processamento da cana (Iodo) na concentração de 30 g/L<sup>-1</sup>, em relação aos outros meios de cultura testados.

Apesar alta concentração de sacarose, além de outras substâncias importantes para processos fermentativos, o melaço não promoveu uma melhor produção de biomassa e EPSs por *G. lucidum* em relação à dextrose.

O meio de cultura com o Iodo, por conter resíduos lignocelulósicos em sua composição, pode ter influenciado positivamente permitindo a formação de um ambiente favorável ao desenvolvimento do fungo e a atuação de suas enzimas, levando a uma maior produção de EPSs.

No tratamento onde ocorreu maior produção de EPSs e biomassa (cultura com Iodo) houve pouca variação do pH no meio de cultivo no final do processo fermentativo (após 14 dias de incubação).

Materiais alternativos como o lodo e o melaço provenientes da indústria canavieira, assim como outros tipos de materiais de baixo custo e alta disponibilidade, podem ser utilizados para a produção de moléculas de interesse farmacológico em cultura submersa, sendo necessários estudos complementares relacionados às fontes de nutrientes, produtividade e atividade biológica destas moléculas.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, Aneli M. et al. Produção e aplicações de exopolissacarídeos fúngicos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 29-42, jan./jun. 2004.

CAMILIOS NETO, Doumit et al. Otimização da produção de etanol por *Zymomonas mobilis* na fermentação do melão de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 17-22, jan./jun. 2005.

LEE, Kyu Min; LEE, Shin Young; LEE, Hyeon Yong. Bistage control of pH for improving exopolysaccharide production from mycelia of *Ganoderma lucidum* in an air-lift fermentor. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Chunchon, v. 88, p. 646-650, 1999.

MAZEIRO, Rosana. **Produção de exopolissacarídeos por basideomicetos em cultura submersa: “screening”, caracterização química preliminar e estudo de produção utilizando *irpex lacteus(fr.:fr.) fr.*** 1996. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP: USP, 1996.

MOAGEM: a transformação da cana em riqueza. **Revista Rural**, São Paulo, n. 86, abr. 2005. Disponível em:<[http://www.revistarural.com.br/Edicoes/2005/artigos/rev86\\_moagem.htm](http://www.revistarural.com.br/Edicoes/2005/artigos/rev86_moagem.htm)>. Acesso em: Jan. 2008.

NUNES, Estela de Oliveira. **Influência do pH e concentração inicial de glicose na produção de biomassa do fungo *ganoderma australe (fr.) pat.*** 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro Tecnológico Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC: UFSC, 2001.

QING-HUA, Fang; JIAN-JIANG, Zhong. Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites-ganoderic acid and polysaccharide. **Biochemical Engineering Journal**, Shanghai, v. 10, p. 61-65. fev. 2002.

ROSSI, Ivan H.; MONTEIRO, Antonio C.; MACHADO, José O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e

suplementação do substrato. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 36, n. 6, p. 887-891, 2001.

RUBEL, Rosália. **Produção de compostos bioativos de *Ganoderma lucidum* por fermentação em estado sólido: avaliação da ação antitumoral, imunomoduladora e hipolipidêmica**. 2006. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR: UFPR, 2006.

SANTOS, Djalma A. P. et al. Estudo químico do fungo ganoderma lucidum. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23, 2000. **Anais Eletrônico...** Disponível em: <<http://www.sbq.org.br/ranteriores/23/resumos/0309/>>. Acesso em: Maio 2008.

SILVA, Fábio C. da; CESAR, Mario A. A.; SILVA, Carlos A. B. **Pequenas indústrias rurais de cana-de-açúcar: melado, rapadura e açúcar mascavo**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnologia, 2003.

SILVA, Maria de Lourdes C. et al. Caracterização química de glucanas fúngicas e suas aplicações biotecnológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 85-92, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422006000100017&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000100017&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: Maio 2008.

SILVA, Ricardo R.; COELHO, Glauciane D. **Fungos principais grupos e aplicações biotecnológicas**. 2006. Tese (Doutorado em Micologia e Liquenologia) - Instituto de Botânica, São Paulo, 2006.

TANG, Ya-Jie; ZHONG, Jian-Jiang. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 20-28, July 2002.

URBEN, Arailde F. et al. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. [S. l.]: Embrapa, 2001. (Recursos genéticos e biotecnologia).

WAGNER, Ricardo et al. Alterações morfológicas de *Ganoderma lucidum* em fermentação submersa. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14, 5-8 Ago. 2003, Florianópolis, SC. **Anais Eletrônico...** Disponível em: <[http://www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos\\_completos/t143.doc](http://www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos_completos/t143.doc)>. Acesso em: Maio 2008.

YANG, Fan-Chiang; LIAU, Chun-Bun. The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 5, p. 547-553, 1998.

*Recebido em: 01 Dezembro 2009*

*Aceito em: 08 Abril 2010*