

Biossorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas de *Saprolegnia subterranea* (Dissmann) R.L. Seym. e *Pythium torulosum* Coker & P. Patt. (Oomycetes)¹

José Ivanildo de Souza^{2,4}, Iracema Helena Schoenlein-Crusius², Carmen Lídia Amorin Pires-Zottarelli² e Norberto Carlos Schoenlein³

Recebido em 10/07/2006. Aceito em 24/05/2007

RESUMO – (Biossorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas de *Saprolegnia subterranea* (Dissmann) R.L. Seym. e *Pythium torulosum* Coker & P. Patt. (Oomycetes)). As biomassas secas dos fungos zoospóricos *Saprolegnia subterranea* e *Pythium torulosum* foram avaliadas quanto a biossorção de cobre, manganês e cádmio de soluções aquosas por meio da determinação dos índices “q” (mg de metal adsorvido por g de biomassa) e “R%” (remoção percentual). Os mais elevados índices q foram obtidos quando as biomassas foram colocadas em contato com elevadas concentrações de metais, enquanto que os maiores índices R% foram obtidos em condições de baixas concentrações (p<0,05). Comparativamente, a biomassa de *S. subterranea* SPC 1244 superou as demais quanto a biossorção de cobre (q = 7,48 mg/g; R% = 49,03), a biomassa de *P. torulosum* SPC 1425 foi a melhor em relação a biossorção de manganês (q = 4,13 mg/g; R% = 26,71), enquanto que a biomassa de *S. subterranea* SPC 1431 foi superior em relação a biossorção de cádmio (q = 6,75 mg/g; R% = 42,26). Este é o primeiro relato sobre a biossorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas destes fungos zoospóricos, indicando a potencialidade de removerem íons de soluções diluídas.

Palavras-chave: biossorção, metais pesados, Oomycetes, poluição

ABSTRACT – (Copper, manganese and cadmium biosorption by *Saprolegnia subterranea* (Dissmann) R.L. Seym. and *Pythium torulosum* Coker & P. Patt. (Oomycetes) biomass). Dried biomass of the zoosporic fungi *Saprolegnia subterranea* and *Pythium torulosum* was evaluated for copper, manganese and cadmium biosorption from aqueous solutions using the “q” (mg of adsorbed metal per g of biomass) and the “R%” (percent removal) indices. The highest q values were observed when the biomass was placed in contact with high metal concentrations, whereas the highest R% values were observed at low concentrations (p<0.05). *S. subterranea* SPC 1244 biomass surpassed the others for copper biosorption (q = 7.48 mg/g; R% = 49.03), *P. torulosum* SPC 1425 biomass was the best for manganese biosorption (q = 4.13 mg/g; R% = 26.71), and *S. subterranea* SPC 1431 biomass was the best for cadmium biosorption (q = 6.75 mg/g; R% = 42.26). This is the first report on copper, manganese and cadmium biosorption by the biomass of these zoosporic fungi, indicating the potential to remove ions from diluted solutions.

Key words: biosorption, heavy metals, Oomycetes, pollution

Introdução

Os metais pesados são geralmente retirados de efluentes por processos químicos e físicos tais como precipitação química, cristalização, coagulação, floculação, redução, troca iônica, ultrafiltração, eletrolise, eletrodialise, osmose reversa e adsorção a substâncias inorgânicas. Porém, quando as concentrações de metais estão entre 1 a 100 mg L⁻¹ estes métodos podem apresentar desvantagens, como

a remoção incompleta de metais, a elevada necessidade de reagentes e energia, a geração de subprodutos ou resíduos tóxicos e custos elevados (Kapoor & Viraraghavan 1995; Sağ & Kutsal 1995).

Por outro lado, a biomassa fúngica tem recebido considerável atenção devido à sua grande capacidade de fixação de metais, podendo ser usada em processos de tratamento de efluentes que podem superar as resinas de troca iônica (Wainwright 1992). Cálculos comparativos realizados com os dados de

¹ Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro Autor. Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Microbiologia Aplicada, Universidade Estadual Paulista, Av. 24-A, 1515, 13506-900 Rio Claro, SP, Brasil

² Instituto de Botânica, Av. Miguel Stefano 3687, C. Postal 3005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil

³ Universidade Guarulhos, Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, Praça Teresa Cristina 1, 07023-070 Guarulhos, SP, Brasil

⁴ Autor para correspondência: jisouza@yahoo.com.br

Muraleedharan *et al.* (1995) sobre a adsorção de cobre por biomassas fúngicas, mostram que o produto comercial Filtrasorb 400 foi superado em quatro vezes por biomassa de *Aspergillus niger* Tiegh. ou de *Cladosporium resinae* (Lindau) G.A. de Vries, cinco por biomassa de *Penicillium italicum* Wehmer, 1,3 por biomassa de *P. spinulosum* Thom (fungos anamórficos), 8,3 por biomassa de *Rhizopus arrhizus* A. Fisch. (Zygomycetes) e 12,7 vezes por biomassa de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (Basidiomycetes). Outro estudo comparativo mostrou que as biomassas de *Mortierella ramanniana* (A. Møller) Linnem., *Rhizopus sexualis* (G. Sm.) Callen, *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., *Zygorrhynchus heterogamus* (Vuill.) Vuill. e *Z. moelleri* Vuill. (Zygomycetes) superaram o carvão ativado, o Amberlite (Ionex) IRA-400, o carbonato de cálcio, a quitina e a celulose quanto à capacidade de adsorção de cádmio, enquanto que as biomassas de *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Pilát (Basidiomycetes), de *Aspergillus terreus* Thom, *Penicillium capsulatum* Raper & Fennell e *Penicillium* spp. (fungos anamórficos) apresentaram rendimento inferior somente em relação ao carvão ativado (Azab *et al.* 1990).

A bioissorção é um processo passivo, rápido, reversível e independente de energia metabólica, realizado tanto por biomassa viva quanto por biomassa morta, no qual atuam forças físico-químicas que promovem a atração e a ligação do íon metálico, molécula ou material particulado à biomassa (Gadd 1993; Gomes *et al.* 1998). Dentre os mecanismos envolvidos em bioissorção, destacam-se troca iônica, adsorção, complexação, precipitação e cristalização (Gadd 1993). No Brasil, tem sido realizados estudos visando a bioissorção de metais pesados pelo emprego de biomassas fúngicas (Gomes *et al.* 2002; Barros Jr *et al.* 2003; Franco *et al.* 2004) e de outros tipos de biomassas tais como: de bactérias *Micrococcus luteus* (Mesquita *et al.* 1998), de microalgas continentais (Leite *et al.* 1993; Costa *et al.* 1994), de *Sarghassum* spp. (Costa *et al.* 1996; Davis *et al.* 2000; Valdman *et al.* 2001) e de macrófitas aquáticas (Schneider *et al.* 2001).

De maneira geral, a parede celular de fungos filamentosos é composta por polissacarídeos, como β -glucano, α -glucano, quitina e glicoproteínas, lipídeos, melaninas, polímeros de D-galactosamina e poliuronídeos (Alexopoulos *et al.* 1996) e é considerada o local de prevalência de sítios de ligação de metais, tais como os grupos químicos acetamido, amido, fosfato,

amino, amina, sulfidril, carboxila e hidroxila (Gadd 1993; Volesky & Holan 1995). De acordo com Alexopoulos *et al.* (1996), a parede celular dos Oomycetes é composta principalmente por β -1,3 e β -1,6 glucano, celulose (4-20%), o aminoácido hidroxiprolina e quitina em algumas espécies integrantes da ordem Leptomitales e dos gêneros *Achlya* e *Saprolegnia* (Saprolegniales).

Os Oomycetes (Oomycota, Stramenopila), embora não sejam taxonomicamente considerados fungos verdadeiros, apresentam características ecológicas, morfológicas e fisiológicas que os colocam como importantes componentes da micota zoospórica, assim como os Chytridiomycota (Fungi) e os Plasmodiophoromycota (Protista), (Alexopoulos *et al.* 1996). Estes fungos têm sido estudados há décadas no Brasil (Beneke & Rogers 1962; Milanez 1965; 1969; 1986), principalmente sob os enfoques taxonômico, ecológico (Schoenlein-Crusius *et al.* 1992; Pires-Zottarelli & Milanez 1993; Rocha & Pires-Zottarelli 2002; Gomes *et al.* 2003; Baptista *et al.* 2004) e a distribuição geográfica (Schoenlein-Crusius & Milanez 1996). Estudos visando a bioissorção de metais pesados por biomassa destes microrganismos são escassos, salvo o relato de adsorção e bioacumulação de cádmio, chumbo e zinco por biomassas de *Pythium* sp. e *Dictyuchus* sp. (Duddridge & Wainwright 1980). Recentemente, foi realizado estudo de bioissorção de cobalto por biomassa de *Pythium* sp. de solo da região de Andaman, Índia (Pal *et al.* 2005). Em face da escassez de informações a respeito da capacidade de bioissorção de íons metálicos por biomassa de Oomycetes e, tendo em vista a constituição de parede celular diferenciada destes fungos em comparação aos demais, o objetivo deste estudo foi verificar se as biomassas de diferentes linhagens de *Saprolegnia subterranea* e de *Pythium torulosum* apresentam potencial para bioissorção de metais pesados e assim contribuir para a prospecção de novos materiais bioissorventes.

Material e métodos

Foram selecionadas culturas de *Saprolegnia subterranea* (Dissmann) R.L. Seym. e *Pythium torulosum* Coker & P. Patt., da Coleção de Culturas de Fungos do Instituto de Botânica, São Paulo, SP, que são mantidas imersas em água destilada esterilizada, dentro de frascos Wheaton, juntamente com metades de sementes de sorgo (*Sorghum* sp.), como substrato. As linhagens testadas foram *S. subterranea* SPC

1244, *S. subterranea* SPC 1431 (Pires-Zottarelli *et al.* 1996) e *P. torulosum* SPC 1425 (Pires-Zottarelli *et al.* 1995), isoladas do PEFI (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga); e *S. subterranea* Guarapiranga, isolada da Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP (Rocha & Pires-Zottarelli 2002), a única não inserida na coleção de culturas. As sementes de sorgo colonizadas pelas linhagens de *S. subterranea* foram inicialmente transferidas para placas de Petri contendo o meio de cultivo MP5 (maltose 4 g, peptona 1 g, agar 20 g e água destilada 1.000 mL) e as sementes colonizadas por *P. torulosum* foram transferidas para CMA+ppe (Corn Meal Agar 17 g, penicilina G 0,20 g, pimaricina 0,02 g, sulfato de estreptomicina 0,10 g e água destilada 1.000 mL).

Posteriormente, todas as linhagens foram transferidas para malte agar a 2% (extrato de malte 20 g, agar 15 g e água destilada 1.000 mL), sendo incubadas durante cinco dias em câmara climática a 22±0,5 °C. Foram extraídos discos de 5 mm das colônias, cada disco foi inserido em um Erlenmeyer de 250 mL contendo 150 mL de malte líquido a 2%. Os frascos foram mantidos sob agitação (90 rpm) durante cinco dias em sala escura com temperatura ambiente (20-23 °C), sendo que este procedimento foi repetido oito vezes até a obtenção de quantidades de biomassas suficientes para os ensaios. As biomassas produzidas foram filtradas em peneiras de náilon (1 mm), lavadas quatro a cinco vezes com água destilada esterilizada, autoclavadas a 121 °C e 1,5 atm por 0,5 h, secas em estufa a 60 °C por uma semana e moídas em almofariz cerâmico com pistilo.

Alíquotas de biomassas (0,04 g) foram inseridas em tubos de ensaio de 1,5×17,7 cm contendo 15 mL de soluções de CuSO₄, MnSO₄ ou CdSO₄, obtendo-se a concentração final de 2,66 g de biomassa por litro. As soluções metálicas foram preparadas com água deionizada e filtradas em membranas com 0,45 µm de poro, devido ao risco da esterilização por autoclave interferir na concentração final de metais. O pH das soluções foi o natural, variando de 4,9-5,4 (Cu), 5,7-6,0 (Mn) e 5,7-6,1 (Cd). Suspensões das biomassas em água deionizada esterilizada e de soluções de metais sem biomassas serviram como controles para os cálculos das concentrações iniciais e finais de metais, sendo os ensaios realizados em triplicata. Os tubos foram fechados com filme PVC e incubados por 18 h a 22 ± 0,5 °C. A fase líquida foi separada da biomassa por filtração em papel de filtro duplo, armazenada em frascos de polietileno e analisada por Espectrometria

de Emissão Atômica com Fonte de Plasma de Argônio Induzido (ICP-AES). Os valores das concentrações finais de metais nas soluções foram subtraídos das concentrações iniciais para o cálculo dos índices q (adaptado de Volesky & May-Phillips 1995) e R% (remoção percentual) segundo as equações:

$$q = C_i - C_f / B \quad (1)$$

$$R\% = [(C_i - C_f) 100] / C_i \quad (2)$$

Onde q é a quantidade de metal adsorvido por unidade de biomassa (mg g⁻¹), C_i é a concentração inicial de metal em solução (mg L⁻¹), C_f é a concentração final de metal em solução no equilíbrio (mg L⁻¹), e B é a quantidade de biomassa (g L⁻¹). Os tratamentos linhagens, C_i e linhagens × C_i, bem como os valores de C_f, q e R% foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), empregando-se o programa Sisvar 4.3 (Ferreira 2000), sendo escolhido o teste de Tukey para comparação de médias.

Resultados e discussão

De modo geral, houve diferenças significativas (p < 0,05) na bioissorção dos três metais pelas biomassas das linhagens acompanhando o aumento das concentrações iniciais. A capacidade de bioissorção (q) foi maior em relação às concentrações iniciais mais elevadas, enquanto que em relação à remoção percentual (R%), os maiores índices foram correlacionados às menores concentrações iniciais. Embora tenham ocorrido os maiores índices de bioissorção nas concentrações de metais mais elevadas, os teores remanescentes de metais em solução (C_f) foram proporcionalmente maiores, resultando em menores taxas de remoção percentual. Barros *et al.* (2003) observaram comportamento similar a este em relação à bioissorção de cádmio por biomassa de *Aspergillus niger*, houve aumento na capacidade de bioissorção e concomitante diminuição na capacidade de remoção percentual em relação ao aumento da concentração inicial do metal.

Em relação à bioissorção de cobre (Tab. 1), não houve diferença significativa no índice q entre as linhagens nos dois primeiros e no 4º nível de concentração inicial (15,07, 38,67 e 133,00 mg L⁻¹, respectivamente). No 3º nível de concentração inicial (84,23 mg L⁻¹) houve diferença altamente significativa entre as linhagens, de modo que o melhor desempenho bioissorativo foi exibido por *S. subterranea* SPC 1244 e *S. subterranea* SPC 1431 (7,48 e 6,47 mg g⁻¹, respectivamente). Quanto ao R%, houve diferença

Tabela 1. Bioissorção de cobre por biomassas de *Saprolegnia subterranea* e de *Pythium torulosum*. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas representam a análise horizontal das linhagens para cada nível de concentração inicial e maiúsculas representam a análise vertical das concentrações para cada linhagem. ** - diferenças altamente significativas; * - diferenças significativas. Ci - concentração inicial; q - quantidade de metal adsorvido; R% - remoção percentual.

Ci mg L ⁻¹	<i>S. subterranea</i> Guarapiranga		<i>S. subterranea</i> SPC 1244		<i>S. subterranea</i> SPC 1431		<i>P. torulosum</i> SPC 1425	
	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%
15,07	1,71aA**	30,18a*B*	2,77aA**	49,03b*C**	2,60aA**	46,11b*C**	2,35aA**	41,50ab*B**
38,67	2,54aAB**	17,51a*A*	4,15abA**	28,63ab*B**	4,71bAB**	32,50b*B**	4,29abA**	29,57ab*B**
84,23	4,64ab**B**	14,68aA*	7,48c**B**	23,70aAB**	6,47bc**BC**	20,50aAB**	4,22a**A**	13,37aA**
133,00	7,12aC**	14,29aA*	8,00aB**	16,04aA**	8,27aC**	16,59aA**	7,12aB**	14,29aA**

significativa entre as linhagens no 1º e 2º níveis de concentrações iniciais, sendo que os índices mais elevados também foram expressos pelas biomassas de *S. subterranea* SPC 1244 (49,03%) e de *S. subterranea* SPC 1431 (46,11%) no 1º nível de concentração inicial. As biomassas íntegras de *Aspergillus niger* e *Mucor rouxii* removeram, respectivamente, 1,78 e 2,61 mg g⁻¹ de cobre a partir de uma solução com 63,54 mg L⁻¹ (Mullen *et al.* 1992). Brady *et al.* (1994) relataram que uma coluna cromatográfica preenchida com a biomassa granular de *Saccharomyces cerevisiae* removeu cumulativamente até 10,6 mg g⁻¹ de cobre de uma solução com 100 mg L⁻¹. Wilhelmi & Duncan (1995), complementando o estudo, observaram que para a concentração inicial de 200 µM L⁻¹ (12,71 mg L⁻¹) a coluna com a biomassa da levedura reteve até 1,77 mg g⁻¹ de cobre. Com base nas informações citadas e nos resultados observados aqui, considera-se que a capacidade de bioissorção de cobre apresentada pelas biomassas das linhagens estudadas variou de compatível a superior às capacidades das biomassas de outros fungos. Contudo, a capacidade de bioissorção de metais pode ainda ser otimizada por alterações em fatores tais como as condições experimentais, a constituição de

biomassa, tratamentos químicos e físicos, dentre outros (Gadd 1993; Brady *et al.* 1994).

Os maiores índices de bioissorção de manganês foram obtidos com a biomassa de *P. torulosum* SPC 1425 (4,13 mg g⁻¹) e as biomassas de *S. subterranea* SPC 1244 e SPC 1431 (3,50 mg g⁻¹) no 4º nível de concentração inicial (119,67 mg L⁻¹), não havendo diferenças significativas entre os valores observados. Por outro lado, os valores mais elevados de R% foram exibidos pelas biomassas de *S. subterranea* SPC 1244 (39,75%) e de *S. subterranea* SPC 1431 (33,96%) (Tab. 2). Relatos de bioissorção de manganês por biomassa fúngica são escassos. Porém, muitos autores abordaram a relação deste elemento com os fungos, estudando os mecanismos de transporte e de toxidez celular (Hockertz *et al.* 1987; Hashem & Khaliel 1992; Blackwell *et al.* 1998). Tobin *et al.* (1984) afirmaram que a máxima capacidade de bioissorção de manganês calculada para a biomassa de *Rhizopus arrhizus* foi de 0,22 mM (12 mg g⁻¹). Em artigo de revisão, Volesky & Holan (1995) informaram que *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* removeram respectivamente, 44 e 38 mg g⁻¹ de manganês. Comparativamente, as linhagens aqui estudadas exibiram capacidade de bioissorção de manganês moderada em relação à

Tabela 2. Bioissorção de manganês por biomassas de *Saprolegnia subterranea* e de *Pythium torulosum*. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas representam a análise horizontal das linhagens para cada nível de concentração inicial e maiúsculas representam a análise vertical das concentrações para cada linhagem. ** - diferenças altamente significativas; * - diferenças significativas. Ci - concentração inicial; q - quantidade de metal adsorvido; R% - remoção percentual.

Ci mg L ⁻¹	<i>S. subterranea</i> Guarapiranga		<i>S. subterranea</i> SPC 1244		<i>S. subterranea</i> SPC 1431		<i>P. torulosum</i> SPC 1425	
	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%
16,10	1,00aAB	16,56a**B**	2,40aAB**	39,75c**B**	2,05aAB**	33,96bc**B**	1,61aA**	26,71b**B**
30,73	0,00a*A	0,00a**A**	1,54b*A**	13,34b**A**	1,68b*A**	14,54b**A**	0,25ab*A**	2,13a**A**
79,20	1,29a**AB	4,34aA**	3,75b**B**	12,63aA**	3,92b**C**	13,22aA**	3,43b**B**	11,53aA**
119,67	1,50a**B	3,34aA**	3,50b**B**	7,80aA**	3,50b**BC**	7,80aA**	4,13b**B**	9,19aA**

biomassa de *R. arrhizus* e inferior aos índices observados em estudos com biomassas bacterianas.

O mais elevado índice de bioissorção de cádmio ($6,75 \text{ mg g}^{-1}$) foi observado para a biomassa de *S. subterranea* SPC 1431 no 4º nível de concentração inicial (107 mg L^{-1}), apresentando diferenças altamente significativas em relação aos índices observados para as demais biomassas e outros níveis de concentrações iniciais estudados. Em contrapartida, o melhor desempenho de R% (57,12%) foi atingido pela biomassa de *S. subterranea* SPC 1244 no 1º nível de concentração inicial ($8,57 \text{ mg L}^{-1}$), com diferenças altamente significativas tanto na comparação entre as demais linhagens quanto na análise entre os outros níveis de concentrações iniciais (Tab. 3). A máxima capacidade de bioissorção de cádmio calculada para a biomassa de *Rhizopus arrhizus* foi de $0,27 \text{ mM}$ (30 mg g^{-1} ; Tobin *et al.* 1984). Holan & Volesky (1995) observaram que, sob diferentes condições experimentais, a capacidade de bioissorção de cádmio por biomassa de *Penicillium chrysogenum* variou de 8 a 44 mg g^{-1} . A biomassa de *S. cerevisiae* removeu até $4,19 \text{ mg/g}$ de cádmio de uma solução com $200 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$ ($22,48 \text{ mg L}^{-1}$; Wilhelmi & Duncan 1995) e, em outro relato, a biomassa do cogumelo comestível *Volvariella volvacea* removeu cerca de $4,80 \text{ mg g}^{-1}$ do cádmio de uma solução com concentração inicial de $10,12 \text{ mg L}^{-1}$ (Osman & Bandyopadhyay 1996). Os valores de bioissorção de cádmio observados variaram de compatíveis a moderados em relação aos índices detectados para as biomassas de outros fungos.

Em recente estudo sobre a bioissorção de cobalto por biomassas de diferentes gêneros de fungos filamentosos (Pal *et al.* 2005), a biomassa de *Pythium* sp. removeu $670,6 \text{ } \mu\text{M g}^{-1}$ ($39,52 \text{ mg g}^{-1}$; 16,76%) do metal a partir de uma solução com concentração inicial de 4 mM L^{-1} ($235,73 \text{ mg L}^{-1}$). Em comparação aos mais elevados índices de bioissorção de Cu, Mn e Cd

obtidos com as biomassas das linhagens de *S. subterranea* e de *P. torulosum* no presente estudo, pode-se supor que a biomassa de *Pythium* sp. estudada por estes autores tenha especial afinidade para a bioissorção de cobalto, embora a taxa de remoção percentual tenha sido relativamente baixa. Por outro lado, sabe-se que o fenômeno de bioissorção de metais pode ser muito variável no que diz respeito às diferentes biomassas fúngicas estudadas, às condições experimentais empregadas (Gadd 1993) e mesmo entre diferentes linhagens de mesma espécie (Gardea-Torresdey *et al.* 1996; Gomes *et al.* 2002). A biomassa de *S. subterranea* Guarapiranga, por exemplo, apresentou a menor capacidade de bioissorção de Cu, Mn e Cd em contraste com as biomassas das demais linhagens estudadas.

Conforme Alexopoulos *et al.* (1996), os Oomycetes possuem características peculiares de parede celular em relação aos demais fungos. Dietrich (1973; 1975) encontrou evidências da existência de quitina na parede celular de *Saprolegnia* spp. e *Pythium* spp., observando que os representantes do primeiro gênero têm maior conteúdo de quitina. O maior conteúdo de quitina pode ter contribuído para que as biomassas de *S. subterranea* SPC 1244 e SPC 1431 tenham superado a biomassa de *P. torulosum* quanto a adsorção de metais, uma vez que o biopolímero quitina é considerado potente na capacidade de adsorção de metais (Kapoor & Viraraghavan 1995; Sağ & Kutsal 1995), assim como a celulose e o glucano (Holan & Volesky 1995).

No presente estudo, foi nas menores concentrações iniciais que ocorreram os índices de remoção percentual (R%) mais elevados, o que pode indicar que as biomassas das linhagens analisadas têm maior capacidade para bioissorção de metais pesados de soluções diluídas. Esta característica pode ser importante, visto que a concentração média de

Tabela 3. Bioissorção de cádmio por biomassas de *Saprolegnia subterranea* e de *Pythium torulosum*. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas representam a análise horizontal das linhagens para cada nível de concentração inicial e maiúsculas representam a análise vertical das concentrações para cada linhagem. ** - diferenças altamente significativas; * - diferenças significativas. Ci - concentração inicial; q - quantidade de metal adsorvido; R% - remoção percentual.

Ci mg L ⁻¹	<i>S. subterranea</i> Guarapiranga		<i>S. subterranea</i> SPC 1244		<i>S. subterranea</i> SPC 1431		<i>P. torulosum</i> SPC 1425	
	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%	q (mg g ⁻¹)	R%
8,57	0,60aA*	18,79a**AB**	1,84aA**	57,12c**C**	1,36aA**	42,26b**B**	0,65aA**	20,19a**BC**
27,17	2,44aB*	23,93a*B**	3,84aB**	37,67b*B**	3,43aB**	33,62ab*B**	2,64aB**	25,89a*C**
61,47	1,84ab**AB*	7,97a*A**	3,34bc**AB**	14,48ab*A**	4,57c**B**	19,80b*A**	1,26a**AB**	5,48a*A**
107,00	3,10a**B*	7,73aA**	4,81b**B**	11,99aA**	6,75c**C**	16,82aA**	4,81b**C**	11,99aAB**

10 mg L⁻¹ é normalmente encontrada em águas residuais (Solari *et al.* 1996), o que torna oneroso e difícil o tratamento destes poluentes por meio de técnicas convencionais (Osman & Bandyopadhyay 1996). Diversos autores consideram que a bioissorção de metais pesados por biomassas fúngicas é promissora, de modo que esta técnica pode ser utilizada na etapa final de tratamento de efluentes (polimento) em adição às tecnologias existentes, no sentido de se reduzir os custos finais de tratamento de efluentes contendo metais e atender às exigências das legislações ambientais em diversos países (Gadd 1993; Kapoor & Viraraghavan 1995; Tobin & Roux 1998; Barros Jr. *et al.* 2003). Em conclusão, as biomassas de *S. subterranea* SPC 1244 e *S. subterranea* SPC 1431 apresentaram os melhores desempenhos quanto à bioissorção dos três metais analisados.

Agradecimentos

Aos Dr. Cláudio José Barbedo e Nelson Augusto dos Santos Jr., Seção de Sementes e Melhoramento Vegetal do Instituto de Botânica, pela ajuda nas análises estatísticas através do Sisvar e importantes sugestões; à CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Referências bibliográficas

- Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W. & Blackwell, M. 1996. **Introductory Mycology**. New York, John Wiley and Sons.
- Azab, M.S.; Peterson, P.J. & Young, T.W.K. 1990. Uptake of cadmium by fungal biomass. **Microbios** **62**: 23-28.
- Baptista, F.R.; Pires-Zottarelli, C.L.A.; Rocha, M. & Milanez, A.I. 2004. The genus *Pythium* Pringsheim from Brazilian cerrado areas, in the state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** **27**: 281-290.
- Barros Jr., L.M.; Macedo, G.R.; Duarte, M.M.L.; Silva, E.P. & Lobato, A.K.C. 2003. Biosorption of cadmium using the fungus *Aspergillus niger*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering** **20**: 229-239.
- Beneke, E.S. & Rogers, L. 1962. Aquatic Phycomycetes isolated in the States of Minas Gerais, São Paulo and Paraná, Brazil. **Rickia** **1**: 181-193.
- Blackwell, K.J.; Tobin, J.M. & Avery, S.V. 1998. Manganese toxicity towards *Saccharomyces cerevisiae*: dependence on intracellular and extracellular magnesium concentrations. **Applied Microbiology and Biotechnology** **49**: 751-757.
- Brady, D.; Stoll, A. & Duncan, J.R. 1994. Biosorption of heavy metal cations by non-viable yeast biomass. **Environmental Technology** **15**: 429-438.
- Costa, A.C.A.; Teles, E.M.F. & Leite, S.G.F. 1994. Accumulation of cadmium from moderately concentrated cadmium solutions by *Chlorella* and *Scenedesmus* strains. **Revista de Microbiologia** **25**: 42-45.
- Costa, A.C.A.; Mesquita, L.M.S. & Tornovsky, J. 1996. Batch and continuous heavy metals biosorption by a brown seaweed from a zinc-producing plant. **Minerals Engineering** **9**: 811-824.
- Davis, T.A.; Volesky, B. & Vieira, R.H.S.F. 2000. *Sarghassum* seaweed as biosorbent for heavy metals. **Water Research** **34**: 4270-4278.
- Dietrich, S.M.C. 1973. Carbohydrates from the hyphal walls of some Oomycetes. **Biochimica et Biophysica Acta** **313**: 95-98.
- Dietrich, S.M.C. 1975. Comparative study of hyphal wall components of Oomycetes: Saprolegniaceae and Pythiaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** **47**: 155-162.
- Duddridge, J.E. & Wainwright, M. 1980. Heavy metal accumulation by aquatic fungi and reduction in viability of *Gammarus pulex* fed Cd²⁺ contaminated mycelium. **Water Research** **14**: 1605-1611.
- Ferreira, D.F. 2000. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas (versão 4.3)**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Exatas.
- Franco, L.O.; Maia, R.C.C.; Porto, A.L.F.; Messias, A.S.; Fukushima, K. & Campos-Takaki, G.M. 2004. Heavy metal biosorption by chitin and chitosan isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). **Brazilian Journal of Microbiology** **35**: 243-247.
- Gadd, G.M. 1993. Interactions of fungi with toxic metals. **New Phytologist** **124**: 25-60.
- Gardea-Torresdey, J.L.; Cano-Aguilera, I.; Webb, R.; Tiemann, K.J. & Gutiérrez-Corona, F. 1996. Copper adsorption by inactivated cells of *Mucor rouxii*: effect of esterification of carboxyl groups. **Journal of Hazardous Materials** **48**: 171-180.
- Gomes, A.L.; Pires-Zottarelli, C.L.A.; Rocha, M. & Milanez, A.I. 2003. Saprolegniaceae de áreas de cerrado do estado de São Paulo, Brasil. **Hoehnea** **30**: 95-110.
- Gomes, N.C.M.; Mendonça-Hagler, L.C.S. & Savvaidis, I. 1998. Metal bioremediation by microorganisms. **Revista de Microbiologia** **29**: 85-92.
- Gomes, N.C.M.; Rosa, C.A.; Pimentel, P.F.; Mendonça-Hagler, L.C.S. 2002. Uptake of free and complexed silver ions by different strains of *Rhodotorula mucilaginosa*. **Brazilian Journal of Microbiology** **33**: 62-66.
- Hashem, A.R. & Khaliel, A.S. 1992. Manganese toxicity to *Candida albicans* isolated from Saudi Arabia. **Geobios** **19**: 280-284.
- Hockertz, S.; Schmid, J. & Auling, G. 1987. A specific transport system for manganese in the filamentous fungus *Aspergillus niger*. **Journal of General Microbiology** **133**: 3513-3519.
- Holan, Z.R. & Volesky, B. 1995. Accumulation of cadmium, lead and nickel by fungal and wood biosorbents. **Applied Biochemistry and Biotechnology** **53**: 133-146.
- Kapoor, A. & Viraraghavan, T. 1995. Fungal biosorption - an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. **Bioresource Technology** **53**: 195-206.
- Leite, S.G.F.; Pinto, G.A.S. & Costa, A.C.A. 1993. The effect of alginic matrix on cadmium uptake by an immobilized green microalgae. **Revista de Microbiologia** **24**: 179-181.

- Mesquita, L.M.S.; Gonçalves, M.M.M. & Leite, S.G.F. 1998. Influence of the maintenance method on the cadmium biosorption capacity of *Micrococcus luteus*. **Revista de Microbiologia** **29**: 40-43.
- Milanez, A.I. 1965. *Achlya brasiliensis*, a new species from Brazil. **Rickia** **2**: 183-189.
- Milanez, A.I. 1969. Occurrence of *Achlya radiosa* in the Americas. **Rickia** **4**: 41-46.
- Milanez, A.I. 1986. Saprolegniaceae no Brasil. **Rickia** **13**: 127-131.
- Mullen, M.D.; Wolf, D.C.; Beveridge, T.J. & Bailey, G.W. 1992. Sorption of heavy metals by the soil fungi *Aspergillus niger* and *Mucor rouxii*. **Soil Biology and Biochemistry** **24**: 129-135.
- Muraleedharan, T.R.; Iyengar, L. & Venkobachar, C. 1995. Screening of tropical wood-rotting mushrooms for copper biosorption. **Applied and Environmental Microbiology** **61**: 3507-3508.
- Osman, M.S. & Bandyopadhyay, M. 1996. Cadmium removal from water environment by a fungus *Volvariella volvacea*. **Bioprocess Engineering** **14**: 249-254.
- Pal, A.; Ghosh, S. & Paul, A.K. 2005. Biosorption of cobalt by fungi from serpentine soil of Andaman. **Bioresource Technology** **97**: 1253-1258.
- Pires-Zottarelli, C.L.A. & Milanez, A.I. 1993. Fungos zoospóricos da represa do Lobo ("Broa"). Novas citações para o Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **16**: 205-220.
- Pires-Zottarelli, C.L.A.; Milanez, A.I.; Schoenlein-Crusius, I.H. & Lohmann, L.G. 1996. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos, 4: Saprolegniales. **Hoehnea** **23**: 39-66.
- Pires-Zottarelli, C.L.A.; Milanez, A.I.; Schoenlein-Crusius, I.H. & Lohmann, L.G. 1995. Criptógamos do Parque Estadual das fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Fungos, 3: Peronosporales (Pythiaceae). **Hoehnea** **22**: 125-133.
- Rocha, M. & Pires-Zottarelli, C.L.A. 2002. Chytridiomycota e Oomycota da represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. **Acta Botanica Brasilica** **16**: 287-309.
- Sağ, Y. & Kutsal, T. 1995. Copper(II) and nickel(II) adsorption by *Rhizopus arrhizus* in batch stirred reactor in series. **The Chemical Engineering Journal** **58**: 265-273.
- Schneider, I.A.H.; Rubio, J. & Smith, R.W. 2001. Biosorption of metals onto plant biomass: exchange adsorption or surface precipitation? **International Journal of Mineral Processing** **62**: 111-120.
- Schoenlein-Crusius, I.H. & Milanez, A.I. 1996. Diversity of aquatic fungi in Brazilian ecosystems. Pp.31-48. In: C.E.M. Bicudo & N.A. Menezes (eds.). **Biodiversity in Brazil: a first approach**. São Paulo, CNPq.
- Schoenlein-Crusius, I.H.; Pires-Zottarelli, C.L.A. & Milanez, A.I. 1992. Aquatic fungi in leaves submerged in a stream in the Atlantic rainforest. **Revista de Microbiologia** **23**: 167-171.
- Solari, P.; Zouboulis, A.I.; Matis, K.A. & Stalidis, G.A. 1996. Removal of toxic metals by biosorption onto nonliving sewage sludge. **Separation Science and Technology** **31**: 1075-1092.
- Tobin, J.M. & Roux, J.C. 1998. *Mucor* biosorbent for chromium removal from tanning effluent. **Water Research** **32**: 1407-1416.
- Tobin, J.M.; Cooper, D.G. & Neufeld, R.J. 1984. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. **Applied and Environmental Microbiology** **47**: 821-824.
- Valdman, E.; Erijman, L.; Pessoa, F.L.P. & Leite, S.G.F. 2001. Continuous biosorption of Cu and Zn by immobilized waste biomass *Sarghassum* sp. **Process Biochemistry** **36**: 869-873.
- Volesky, B. & Holan, Z.R. 1995. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress** **11**: 235-250.
- Volesky, B. & May-Phillips, H.A. 1995. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology** **42**: 797-806.
- Wainwright, M. 1992. Fungi in environmental biotechnology. Pp. 81-101. In: M. Wainwright (ed.). **An Introduction to Fungal Biotechnology**. Chichester, John Wiley and Sons.
- Wilhelmi, B.S. & Duncan, J.R. 1995. Metal recovery from *Saccharomyces cerevisiae* biosorption columns. **Biotechnology Letters** **17**: 1007-1012.