

# EFEITO DA TOXICIDADE DE METAIS PESADOS NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus* e *Thamnidiums elegans*.

Isabella Galvão Luzeiro<sup>1</sup>, Dra. Ginarajadaça Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Coordenação da Graduação de Engenharia de Bioprocessos - Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica – Faculdade FUCAPI – Manaus, AM - Brasil

bella.galvao@hotmail.com

**Abstract.** *Toxic metals are not biodegradable and tend to bioaccumulate, presenting a long term risk. However, some types of microorganisms have biosorption capacity, which would be the possibility of retaining heavy metals from aqueous environments. The filamentous fungi stand out because their cell wall is considered a place where there are several metal binding sites. Thus, the objective of this experiment is to evaluate the effect of heavy metal toxicity on the mycelial growth of filamentous fungi, aiming at the possible use of such fungi for biosorption of these metals. For this, filamentous fungi were isolated from the Quarenta stream, located in Manaus-AM, and a membrane filtration method was used for isolation. The isolates were macroscopically and microscopically identified by microculture. The toxicity of the metals Zinc, Mercury, Cadmium and Lead on the mycelial growth of the isolates was tested in 50 ppm media in triplicate for each metal. The three isolates presented high mercury biosorption capacity, relative capacity in relation to zinc, but did not show growth in the presence of cadmium and lead.*

**Resumo.** *Metais tóxicos não são biodegradáveis e apresentam tendência à bioacumulação, apresentando um risco à longo prazo. No entanto, alguns tipos de microorganismos apresentam capacidade de bioissorção, que seria a possibilidade de reter metais pesados de ambientes aquosos. Os fungos filamentosos destacam-se, pois, a parede celular deles é considerada local no qual há diversos sítios de ligação de metais. Sendo assim, o objetivo deste experimento é avaliar o efeito da toxicidade de metais pesados no crescimento micelial de fungos filamentosos, visando a possível utilização de tais fungos para bioissorção destes metais. Para isto, foram isolados fungos filamentosos do igarapé do Quarenta, localizado na cidade de Manaus-AM, e utilizou-se método de filtração por membrana para isolamento. Os isolados foram identificados macroscopicamente e microscopicamente por meio de microcultivo. Testou-se a toxicidade dos metais Zinco, Mercúrio, Cádmio e Chumbo no crescimento micelial dos isolados, em meios na concentração de 50 ppm, realizados em triplicata para cada metal. Os três isolados apresentaram grande capacidade de bioissorção de mercúrio, relativa capacidade em relação ao zinco, mas não apresentaram crescimento na presença de Cádmio e Chumbo.*

**PALAVRAS – CHAVE:** biorremediação, fungos filamentosos, metais tóxicos

## INTRODUÇÃO

O aumento da atividade industrial desde a Revolução Industrial, além de ter impacto positivo na sociedade, gerando empregos e grande avanço tecnológico, também causou impactos negativos, inicialmente não previstos e mensurados. Além da falta de tratamento por parte da indústria, o crescimento populacional exacerbado também contribui para a contaminação ambiental (Santos, 2013). Isto porque juntamente com o aumento da

densidade populacional em grandes aglomerados, o consumismo dos produtos gerados pelas grandes indústrias também aumenta, mas não há conscientização por parte da população de que esses produtos necessitam de um descarte adequado (Vieira, 2012).

Esses dois fatores são os grandes contribuintes para a contaminação dos ecossistemas, que seriam o lançamento dos resíduos em rios, e o descarte inadequado de produtos que carregam espécies químicas de caráter tóxico, sendo metais pesados. Os metais pesados são os agentes tóxicos mais conhecidos, sendo que dos 80 metais conhecidos, 30 são tóxicos para o homem (Rocha, 2008). Muitos metais são essenciais para a vida, porém dependendo da dose podem ter efeitos negativos (Avila-Campos, 2003).

Devido à essa deposição inadequada de diversos componentes dos resíduos sólidos, alguns metais pesados contaminam os igarapés presentes na cidade. Uma vez que estão presentes no ecossistema aquático, afetam todos os tipos de vida e esferas, como solo, plantas, microorganismos, animais, etc. (Rodrigues, 2017). No entanto, alguns tipos de microorganismos apresentam capacidade de biossorção, que seria a possibilidade de reter metais pesados de ambientes aquosos (Naja, 2006; Silva, 2014). Tal capacidade é interessante para utilização destes microorganismos para tratamento dos efluentes contaminados, pois apresenta baixo custo, baixo gasto de energia e não necessita produtos químicos (Bueno, 2009).

Dentre os vários microorganismos que apresentam a capacidade de biossorção ou biotransformação, já são conhecidos alguns fungos filamentosos que removem metais pesados de ambientes aquosos (Fulekar, 2010; Fontes, 2015). A biossorção envolve diversos mecanismos como quelação, adsorção, ancoramento de metais em proteínas ou de outras moléculas estruturais, complexação, cristalização, entre outros, o que permite uma gama de possibilidades para a remoção dos metais pesados de áreas contaminadas (Calfa, 2007; Lemos, 2008).

Existem vários termos além de “metais pesados”, como “metais tóxicos”, “metais traço”, “elementos traço”. De acordo com Hillert (1997), o termo “metal pesado” surgiu como uma conveniência para os legisladores ao referir-se à metais com potencial tóxico. Diferente do que se pensa comumente, nem todos os metais causam danos à saúde, pois existem determinadas porções que são essenciais para os sistemas biológicos. O termo “micronutriente” é utilizado para designar esses metais em pequenas doses, como por exemplo, o zinco, magnésio, cobalto e ferro (ROCHA, 2008).

Metais pesados são elementos químicos que apresentam densidade maior que  $5\text{g/cm}^3$  (Niriagu, 1992; Egreja, 1993). Marques et al. (2002) define que, além da densidade maior que  $5\text{g/cm}^3$ , os que possuem número atômico maior que vinte também podem ser considerados metais pesados.

O fato de os metais não serem biodegradáveis e apresentarem tendência à bioacumulação faz com que representem um risco à longo prazo, permanecendo por muito tempo em diversos níveis trófico (Hec da Silva, 2011). Em humanos, o acúmulo desses metais causa problemas nos sistemas gastrointestinal, neurológico e imunológico e em diversos órgãos. De acordo com Rocha, 2008, o cádmio, o chumbo e o mercúrio são três dos principais que podem afetar o homem, conduzindo a inúmeras patologias.

O cádmio é definido como metal pesado, e raro, não ocorre na natureza na forma pura. É um metal não-essencial e com meia-vida biológica longa que é perigosa para a maioria dos organismos vivos (Shanmugaraj, 2019). De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos EUA, o Cádmio ocupa o quarto lugar dos metais pesados mais perigosos, por se transferir facilmente para a cadeia alimentar causando contaminação dos animais e seres humanos (Firme, 2014).

O chumbo é um constituinte essencial de muitos minerais, principalmente os que contêm zinco. O chumbo está presente no ar, no tabaco, nas bebidas e nos alimentos, por contaminação e na embalagem. Também pode ser encontrado na água devido aos efluentes industriais, proveniente das indústrias de baterias, tintas, tubulações e materiais de construção (Furtado, 2007). Os maiores danos causados pelo chumbo são renais e neurológicos, e por isso é apontado como um grande retardador de desenvolvimento cerebral infantil (Bueno, 2009).

Dentre os metais contaminantes, o mercúrio é o que apresenta maior potencial de toxicidade, por apresentar forma química estável na atmosfera como sua forma volátil, o vapor de mercúrio pode ser transportado afetando áreas naturais remotas. Está essencialmente presente em alimentos provenientes de lagos, rios e mares, pois acaba sendo descartado por indústrias do papel, polpa de madeira, materiais elétricos, fábricas de tintas, pesticidas agrícolas, instituições hospitalares e científicas (Rocha, 2008). Dentre os efeitos no homem, estão osteoporose, lesões cerebrais e renais, alterações psicológicas e psicomotoras (Fontes, 2015).

O zinco é essencial para os organismos, pois é um componente estrutural de muitas proteínas. No entanto, pode provocar a coagulação do muco sobreposto às brânquias dos peixes, causando asfixia. Esta é uma das causas mais frequentes de intoxicação de peixes em rios de zonas agrícolas. (Marcantonio, 2005). A toxicidade do zinco depende de condições físicas e químicas do meio e do organismo.

A bioadsorção consiste na absorção de metais tóxicos por microorganismos (biomassa) vivos ou mortos (Colla, 2012). Pode ocorrer de duas maneiras, uma independente de energia e atividade metabólica que chamamos de adsorção ou captação passiva, e outra, dependente de energia e do metabolismo, a absorção (Pallu, 2006). Dentre os mecanismos envolvidos em bioadsorção, destacam-se a troca iônica, adsorção, complexação, precipitação e cristalização (Souza, 2008). A bioadsorção depende de parâmetros como pH, tipo de metal, concentração do íon, concentração de biomassa, volume, temperatura e estado fisiológico da cultura (Del Rio, 2004). De maneira geral, a parede celular de fungos filamentosos é considerada o local no qual há diversos sítios de ligação de metais, pois é composta por polissacarídeos, como  $\beta$ -glucano,  $\alpha$ -glucano, quitina e glicoproteínas, lipídeos, melaninas, polímeros de D-galactosamina e poliuronídeos (Souza, 2008).

O presente trabalho teve como objetivo a identificação de fungos filamentosos presentes em águas com histórico de contaminação por metais pesados, que tenham capacidade de realizar bioadsorção destes tóxicos, por meio de teste de efeito de toxicidade dos metais sobre o crescimento micelial dos fungos.

## 1. MATERIAIS E MÉTODOS

## 1.1 AMOSTRAGEM

Os fungos foram isolados do igarapé do Quarenta, localizado na região Sul da cidade de Manaus – AM, que percorre vários bairros da cidade. Foram realizadas quatro coletas, duas no período da cheia e duas no período da seca. As coletas foram feitas em duas localidades diferentes, sendo o primeiro ponto no bairro Japiim, e o segundo ponto no bairro da Betânia. Utilizou-se para coleta dois frascos reagente em vidro boro de 500 mL previamente esterilizados em autoclave, coletando-se aproximadamente 500 mL. Para controle de viagem utilizou-se outro frasco com 500 mL de água estéril aberto durante o tempo de recolhe das amostras, para controle de possível contaminação durante a coleta (Faia, 2011). Após coleta, os fracos foram mantidos em temperatura ambiente armazenados em isopor, e transportados para o laboratório de Bioprocessos, da faculdade FUCAPI.

## 1.2 MÉTODO DE FILTRAÇÃO POR MEMBRANA

Montou-se um sistema de filtração em polisulfona, e posicionou-se a membrana no suporte de filtro com auxílio de uma pinça estéril. A água da coleta (120 mL por membrana) foi adicionada ao sistema, sendo filtrada em seguida. Utilizou-se uma bomba de vácuo para agilizar o processo. Todo o procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar, e para assegurar a esterilidade da amostra, foi mantido um bico de Bunsen aceso durante as filtrações. Foram utilizadas membranas estéreis com porosidade de 0,45 µm (Vale, 2007; Faia, 2011).

## 1.3 ISOLAMENTO DOS FUNGOS FILAMENTOSOS

O filtro contendo os fungos filamentosos foram transferidos para placas de Petri com auxílio de uma pinça estéril, diretamente sobre meio ASD (Sabouraud Dextrose Agar). Para o crescimento dos fungos, as placas foram incubadas a 30 °C durante 7 dias em incubadora BOD, na presença de luz. Após este período, as placas foram conservadas em 4 °C em geladeira, devidamente vedadas para retardar o crescimento fúngico. As colônias morfológicamente semelhantes foram isoladas por repicagens sucessivas, no qual cada fungo foi transferido para uma nova placa de petri com meio de cultura SDA.

## 1.4 IDENTIFICAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA

Após 7 dias de crescimento dos fungos realizou-se a identificação macroscópica. Características como cor e textura dependem da perspectiva do observador, tornando-as subjetivas.

Utilizou-se técnica de microcultivo estabelecida pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para detecção e identificação de fungos. Deste modo, colocou-se sobre uma lâmina esterilizada, colocada em uma placa de petri estéril, dois cubos do meio de ASD. O fungo foi semeado sobre estes cubos, a partir de repique recente, e foram recobertos com lamínula esterilizada. Adicionou-se água destilada estéril à um chumaço de algodão posicionado dentro da placa, para evitar a dessecação do meio, durante o crescimento do fungo. A placa foi tampada e deixada em temperatura ambiente por 3 dias, e retirou-se a primeira lamínula para visualização em microscopia, e após 6 dias retirou-se a segunda lamínula para comparação das estruturas fúngicas, baseando-se em atlas micológico, disponível no laboratório de Microbiologia do CBA (Centro de

Biotecnologia da Amazônia), onde foi realizada esta análise. A identificação foi realizada verificando-se as estruturas microscópicas, tais como tipos de hifa, disposição e formação de esporos.

## 1.5 SOLUÇÕES DE METAIS

As soluções de metais foram preparadas de acordo com as metodologias a seguir, baseadas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd edition*. Após preparo das soluções, utilizou-se método de filtração por membrana para esterilização.

### 1.5.1 MERCÚRIO

A solução de mercúrio foi preparada dissolvendo-se 0,667 g de cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ) em 350 mL de água destilada, misturando a solução em um béquer com auxílio de um bastão. Adicionou-se 5 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) concentrado, e então diluiu-se para 500 mL de água destilada, em balão volumétrico.

### 1.5.2 CHUMBO

Para chumbo, dissolveu-se 0,799 g de nitrato de chumbo em uma quantidade mínima de 1:1 de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) em um béquer. Para agilizar a dissolução, utilizou-se chapa agitadora. Após completa dissolução, adicionou-se 50 mL de ácido nítrico concentrado e diluiu-se para 500 mL de água destilada, em balão volumétrico.

### 1.5.3 CÁDMIO

Com auxílio de uma lima, fragmentou-se o cádmio sólido até obter 0,500 g. Dissolveu-se esta massa em 20 mL de ácido nítrico concentrado, em um béquer. Após completa dissolução, adicionou-se 40 mL de ácido nítrico e diluiu-se a solução para 500 mL de água destilada, transferindo-a para balão volumétrico.

### 1.5.4 ZINCO

Para preparo de ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ) 1+1, adicionou-se 50 mL de água destilada a 50 mL de  $\text{HCl}$  em um béquer. Em seguida, dissolveu-se 0,500 g de zinco metálico em 100 mL da solução 1+1 de ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ). Após dissolução, diluiu-se a mistura para 500 mL de água destilada, em balão volumétrico.

## 1.6 PREPARO DO MEIO DE CULTURA CONTENDO SOLUÇÕES DE METAIS

Para o preparo do meio de cultura contendo solução de metal a 50 ppm, preparou-se meio ASD. Pesou-se 12,35 g de meio para cada 190 mL de água destilada, adicionando 0,80 g de ágar. A mistura preparada em béquer de 500 mL foi homogeneizada por aumento de temperatura, esquentando-a em micro-ondas. Após homogeneização, transferiu-se para frasco reagente de vidro boro para esterilização em autoclave, por 15 min, a 120 °C. Após retirada do meio da autoclave, adicionou-se 10 mL de solução de metal ao frasco, com auxílio de proveta esterilizada em autoclave. As soluções de metal foram esterilizadas pelo mesmo método de filtração de membrana explicado anteriormente. Após resfriamento parcial, verteu-se em placas de petri o meio contendo solução de metal, mantidos em capela de fluxo laminar até gelatinização, para então serem mantidos em geladeira até sua utilização.

## 1.7 EFEITO DA TOXICIDADE NO CRESCIMENTO MICELIAL

Retirou-se um disco de micélio com auxílio de bisturi, de uma placa previamente inoculada com crescimento micelial abundante. Posicionou-se tal disco em uma placa contendo meio de cultura ASD e solução de metal. Tal procedimento foi realizado em triplicata para cada fungo vs. metal, sendo 10 placas por metal e 12 por fungo, além das placas de controle. Foi utilizada uma placa de controle para cada fungo, consistindo em meio de cultura sem solução de metal.

Depois de inoculadas com os discos de micélio, as placas foram incubadas a 32 °C, com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação do crescimento micelial foi feita pela medição com auxílio de um paquímetro, a cada 24 horas, registrando-se o diâmetro em milímetros das colônias, em posição ortogonal, durante sete dias, a partir do momento em que foram colocados os discos de micélio contendo o isolado. Os dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme a equação 1 (Polltronieri, 2013):

$$IVCM = \frac{\Sigma (D - Da)}{N}$$

Sendo:

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial;

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação

## 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 4 coletas realizadas, foram obtidas 20 placas com fungos isoladas, no entanto escolheu-se apenas 3 para prosseguir com o experimento, devido à sua incidência e rápido crescimento micelial. Tais fungos foram identificados macroscopicamente e por meio de microcultivo, sendo estes *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus* e *Thamnidiums elegans*.

Dentre estes 3 isolados, o que se apresentou mais abundante foi *Rhizopus stolonifer*, sendo encontrado nos dois períodos de coleta, nos dois pontos e nas primeiras três realizadas. *Mucor racemosus* e *Thamnidiums elegans* também foram encontrados nos dois pontos de coletas, no entanto foram isolados apenas no primeiro período de coleta, na época da cheia.

O *Rhizopus stolonifer* é amplamente conhecido como “fungo da podridão do pão”. Apresenta relevo crateriforme, textura farinácea, de cor branca até tons de verde escuro com verso pardo, micélio abundante e borda radial (Figura1).



Figura 1 – Crescimento de *Rhizopus stolonifer* na presença de mercúrio, zinco, e a placa de controle, respectivamente.

Fawzy (2017) testou *R. stolonifer* para remediar chumbo, cádmio e zinco nas concentrações de 1-100 ppm, e dentre todos os fungos testados, este foi o que apresentou maior capacidade de bioissorção. No presente experimento, nenhum dos fungos testados apresentou capacidade de adsorção do chumbo e cádmio. No entanto, deve-se levar em consideração que o experimento de Fawzy foi realizado na temperatura de 25 °C, enquanto o presente experimento foi realizado em temperatura de 32 °C, pois esta é a temperatura média da região em que os fungos foram isolados.

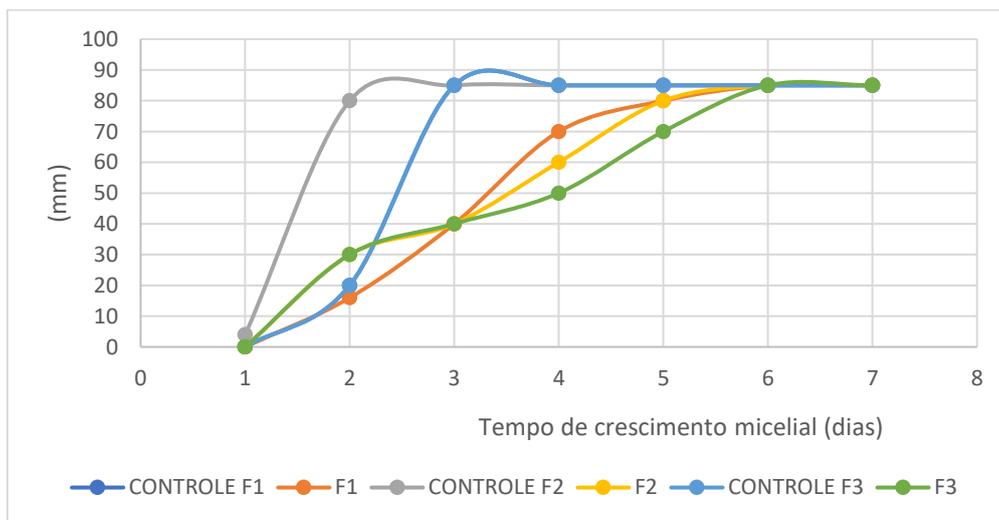


Figura 2 – Crescimento micelial (mm/dias) frente à presença de 50 ppm de mercúrio. F1: *Rhizopus stolonifer* ; F2: *Mucor racemosus* ; F3: *Thamnidium elegans*.

De acordo com Coelho (2015), desde 1980 há relatos de *Rhizopus stolonifer* ter capacidade de biorremediação. Dentre os quatro metais testados, demonstrou grande capacidade de adsorção de mercúrio, com IVCM de 12,14 mm/dia (Figura 2).

Adsorção é o processo pelo qual moléculas são retidas na superfície através de interações de natureza química. Diversas biomoléculas na parede celular dos fungos apresentam-se como ligantes de metais, e devido à sua presença, a adsorção é induzida (Farias, 2014).

Em relação ao zinco, os fungos apresentaram baixa capacidade, de acordo com o seu índice de velocidade de crescimento micelial, sendo o maior índice do *Rhizopus stolonifer*, com 2,85 mm/dia (Figura 3). O controle de *T. elegans* teve a mesma média de crescimento de *R. stolonifer*. *M. racemosus* e *T. elegans* não cresceram na presença de zinco, por isso não apresentam curvas de crescimento na Figura 3.

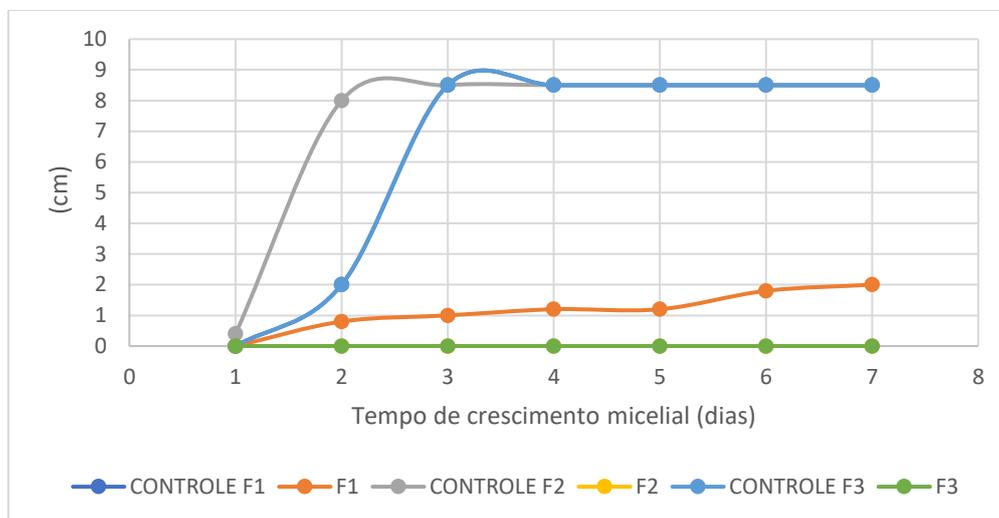


Figura 3 – Crescimento micelial (cm/dias) frente à presença de 50 ppm de zinco. F1: *Rhizopus stolonifer* ; F2: *Mucor racemosus* ; F3: *Thamnidiums elegans*.

*Mucor racemosus* apresenta relevo apiculado, textura penugenta, cor amarelo pardo, micélio abundante e borda radial (Figura 4). Kappor (1995) afirma que *M. racemosus* é capaz de captar altas concentrações de cádmio em soluções aquosas. No entanto, Fontes (2015) caracteriza o cádmio como fator de inibição fúngica, pois testou 340 isolados e nenhum conseguiu esporular. Em relação aos outros metais, apresentou grande capacidade de remediar mercúrio, com IVCm de 12,14 mm/dia (Figura 2).



Figura 4 – Crescimento de *Mucor racemosus* na presença de mercúrio, zinco, e a placa de controle, respectivamente.

*Thamnidiums elegans* apresenta relevo apiculado, textura farinácea, cor amarelo pardo, micélio abundante e borda radial (Figura 5). Ao final dos 7 dias de experimento, apresentou crescimento micelial abundante, porém dentre os três fungos testados foi o que apresentou menor crescimento até o sexto dia (Figura 2). Akar (2013) relata que *T.*

*elegans* apresenta alta performance de bio sorção, no entanto na presença de chumbo e cádmio, sua performance diminui, mas ainda ocorre. No presente experimento, não houve crescimento na presença destes dois metais.



Figura 5 – Crescimento de *Thamnidiums elegans* na presença de mercúrio, zinco, e a placa de controle, respectivamente.

Dentre os metais utilizados, o mercúrio é o que apresenta o nível mais elevado de toxicidade (Sinha, 2013), e foi o único que possibilitou um crescimento abundante dentre os fungos inoculados na sua presença. No trabalho de Fontes (2015), o teste com o mercúrio resultou em um crescimento menor dos isolados desde o primeiro dia de testes. É importante ressaltar que o Cádmio, Mercúrio e o Chumbo são metais sem função metabólica conhecida, e podem causar doenças e tem capacidade de se acumular nos organismos vivos (Melquiades, 2014). Deve-se levar este fato em consideração se for estudado o tipo de mecanismo de retirada do metal do meio pelos fungos testados.

### 3. CONCLUSÃO

Faz-se necessário estudar a biodiversidade da região para prospectar novos microorganismos com aplicações biotecnológicas. A população microbiana que habita locais poluídos pode ter a capacidade para resistir a concentrações muito mais altas, visto que estes microorganismos apresentam capacidade de sobrevivência e mecanismo de resistência, e talvez retenção deste metal. Basta saber se são eficientes para retenção deste metal através da superfície da parede celular ou outro mecanismo.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAR, T. Effective decolorization potential of *Thamnidium elegans*: Biosorption optimization, modelling, characterization and application studies. **Chemical Enigeering Journal**. Oxford, UK. V. 221. N1. P. 461-468. Apr. 2013.

ANVISA. Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica. 2004.

AVILA-CAMPOS, M. J. Metais Pesados: um perigo eminente. 2003.

BUENO, B.M. Remoção de Pb (II) de soluções aquosas por Bio sorção em *R. opacus*. **Rem: Rev. Esc. Minas**, Ouro Preto, Brasil. V. 62. N. 4. P. 487-494, Dec. 2009.

CALFA, B. A. *Uso de Biomassas em Processo Combinado Biossorção/Flotação para Remoção de Metais Pesados*. 2007. 77 f. Relatório de Atividades do Projeto de Iniciação Científica - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Brasil. 2007.

COELHO, R.N.M. A importância do uso de fungos na biorremediação de solos: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Biodiversidade e Biotecnologia**. Piauí, Brasil. 2015.

COLLA, L. M. et al. Biossorção de cádmio e produção de biossurfactantes por fungos filamentosos em fermentação submersa. **Revista CIATEC – UFP**. Passo Fundo, V.4. N.1. p.1-10, Ago 2012.

DEL RIO, D. T. *Biossorção de Cádmio por Levedura Saccharomyces cerevisiae*. 2004. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

EGREJA FILHO, F.B. *Avaliação da ocorrência e distribuição dos metais pesados na compostagem de lixo domiciliar urbano*. 1993. 176 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, Brasil. 1993.

FARIAS, Y.M.M. *Biossorção de metais pesados pelo fungo Penicilium corylophilum*. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, Brasil. 2014.

FAWZY, E. M. et al. Biosorption of heavy metals onto different eco-friendly substrates. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences**. Aswan, Egypt. V.9. N.5. p.35-44, Mai. 2017.

FIRME, P.L. et al. Solo contaminado com cádmio: extratibilidade do metal e cinética química de degradação da matéria orgânica de torta de filtro. **Química Nova**. São Paulo, Brasil. V. 37, N. 6, P. 956-963, Jun 2014.

FONTES, Lívia de Carvalho. *Isolamento e seleção de fungos com potencial para biorremediação a partir de ambientes aquáticos com histórico de contaminação por metais pesados*. 2015. 92. Tese (Doutorado) – Programa de pós-graduação em microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

FULEKAR, M.H. **Bioremediation technology**: recent advances. 1 Ed. New Delhi, Springer Netherlands, 2010.

FURTADO, J.G. F. *Estudo de impactos ambientais causados por metais pesados em água do mar na baía de são marcos: correlações e níveis background*. 2007. 74. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, Brasil. 2007.

HILLERT, M. **ICME (INTERNATIONAL COUNCIL ON METALS AND THE ENVIRONMENT)**. Newsletter. Vol. 5. N.4. Ottawa, Canada. 1997.

KAPOOR, A. Et al. Fungal Biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. **Bioresource Technology**. Saskatchewan, Canada. V. 53. N.3. P.195-206. 1995.

MARCATONIO, A.S. *Toxicidade do Sulfato de Cobre e do Sulfato de Zinco para rã-touro, Rana catesbeiana Shaw, 1802: Toxicidade aguda e crônica e parâmetros hematológicos*. 2005. 107 f. Tese (Doutorado) – Programa de pós-graduação em aquicultura de águas continentais, Universidade Estadual Paulista. São Paulo, Brasil. 2005.

MARQUÈS, A.M. Effect of pH on the biosorption of nickel and other heavy metals by *Pseudomonas fluorescens* 4F39. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Barcelona, Espanha. V. 24, P. 146–51. Dez, 1999.

NRIAGU, J. Mercury pollution in Brazil. **Nature**. Rio de Janeiro, Brasil. V.356. [S.N]. P.389-396. Abr. 1992.

LEMO, J. L.S. Revisão acerca da utilização de microorganismos na biorremediação de rejeitos industriais contendo metais pesados. **Série Tecnologia Ambiental**. Rio de Janeiro, Brasil. 2008.

PALLU, A. P. S. *Biossorção de cádmio por linhagens de Aspergillus sp.* 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil. 2006.

POLLTRONIERI, T.P.S et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados de frutos de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Summa Phytopathologica**. Rio de Janeiro, Brasil. V. 39, N.4, P. 281-285. Out. 2013.

RODRIGUES, F.T. A ação dos metais pesados originários de rejeitos de mineração sobre a saúde humana e seu impacto ao meio ambiente. **Revista Semioses**. Rio de Janeiro, Brasil. V.11. N.02. P. 82-87. 2017.

SANTOS, L.R. et al. A exploração do meio ambiente e o crescimento populacional: desenvolvimento sustentável como alternativa. **Revista Nativa**. Mato Grosso, Brasil. [S.V]. [S.V]. 2013.

SHANMUGARAJ, B.M. Et al. Cadmium Stress and Toxicity in Plants: An Overview. **Elsevier**. Coimbatore, India. P. 1-17. Jan. 2019.

SILVA, J.L.C.B. Et al. Biossorção de metais pesados: Uma revisão. **Revista Saúde e Ciência**. Paraíba, Brasil. V.3. N.3. p. p.137-149. Set-dez 2014.

SINHA. A. et al. Biochemical Basis of Mercury Remediation and Bioaccumulation by *Enterobacter* sp. EMB21. **Appl. Biochem. Biotechnol**. New Delhi, India. V.169. P.256-267, 2013.

SOUZA, J.I. et al. Biossorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas de *Saprolegnia subterranea* (Dissmann) R.L. Szym. E *Pythium torulosum* Coker & P. Patt. (Oomycetes). **Acta. Bot. bras.** São Paulo, Brasil. V.22. N.1. p. 217-223. Mai. 2008.

VALE, M.S. Efeito da toxicidade de Cr (VI) e Zn (II) no crescimento do fungo filamentosso *Aspergillus niger* isolado de efluente industrial. **Eng Sanit Ambient.** Rio de Janeiro, Brasil. V. 16. N.3. P. 237-244. Jul- Set. 2011.

VIEIRA, F.C.B.V. et al. Educação Ambiental: Uma análise da poluição e contaminação dos igarapés urbanos na cidade de Manaus. **Bacias Hidrográficas, Planejamento e Gestão dos Recursos Hídricos.** Manaus, Brasil. V.8. N.2. P.360-372. 2012.