

AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE *Aspergillus nidulans* EM MEIOS COM METAIS PESADOS

Marcos Marques Mendonça, Andressa Caroline Flores, Heloana Karoline Pin, Jean Carlos Fernando Besson, Izabel Aparecida Soares (Orientadora/UNIPAR), e-mail: marcos-18811@hotmail.com

Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus Toledo / Curso de Ciências Biológicas

Palavras-chave: Metais pesados, Biorremediação, *Aspergillus nidulans*.

Resumo:

A presença de metais pesados, compostos sintéticos, resíduos líquidos e outros poluentes na água e no solo, tem aumentado devido a grande atividade industrial. Esse aumento tem trazido à deterioração de muitos ecossistemas. Os microrganismos podem ser biorremediadores eficientes, capazes de remover os metais, através de processos ativos e passivos acumulando eficientemente os metais pesados do solo em seus compartimentos celulares. Sendo assim, avaliou-se a capacidade de sobrevivência de três linhagens do fungo *Aspergillus nidulans* em meio com metais pesados. Utilizou-se como tratamento Meio Completo contendo diferentes concentrações de FeSO_4 , ZnSO_4 e CuSO_4 , sendo a concentração $0,01\text{gr} \cdot 100\text{ mL}^{-1}$ descrita na literatura, que contem a concentração ideal para o crescimento de microrganismos. As concentrações testadas foram $0,005\text{gr} \cdot 100\text{ mL}^{-1}$ sendo a metade do recomendado, e $0,02\text{gr} \cdot 100\text{ mL}^{-1}$ o dobro recomendado por Pontecorvo (1953), o tratamento controle do experimento manteve os padrões estabelecidos na literatura, pH 6,0 e armazenados em estufa à 37C° por 05 dias para o crescimento. Após período de crescimento foi medido o diâmetro das colônias, onde os resultados obtidos confirmaram a capacidade de sobrevivência das linhagens MSE, Selvagem e do mutante CLB3 de *Aspergillus nidulans* na presença de metais pesados, apresentando algumas alterações na pigmentação dos conídios e no diâmetro das colônias em relação ao crescimento vegetativo.

Introdução

A atividade industrial tem aumentado muito nas ultimas décadas, e este crescimento traz alguns riscos como a intensificação da poluição ambiental e deterioração de alguns ecossistemas, sendo que os acidentes ambientais são alguns dos mais preocupantes, que podem ser responsáveis por grandes contaminações de solo e água, que causam problemas sociais e de saúde publica (GUELF, 2001).

A denominação “metal pesado” é aplicada a um grupo heterogêneo de elementos, incluindo metais, semi-metais e não metais que possuem número

atômico maior do que 20 ou peso específico maior que 5 g.cm^{-3} (MALAVOLTA, 1994). Os principais metais pesados presentes no solo e nos produtos utilizados na agricultura são Co, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sn e Zn (ABREU; ABREU e BERTON, 2002).

Turpeinen (2002) considera como metais os elementos Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, e Zn e relata que estes desempenham papel essencial nos processos de vida dos microrganismos, deve-se ressaltar que alguns são essenciais às plantas (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, e Zn), às bactérias fixadoras de nitrogênio e aos animais (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, e Zn).

A presença dos metais pesados nos solos pode ter origem natural ou antropogênica, sendo esta a principal razão do aumento crescente dos metais pesados nos solos, provocando, distúrbios muitas vezes de difícil recuperação para o ambiente (ABREU; ABREU e BERTON, 2002).

As atividades de mineração, fundição, utilização do lodo de esgoto para fertilização na agricultura (CHAOUÍ et al. 1997), a metalurgia (KEFALA; ZOUBOLIS e MATIS, 1999), e a indústria têxtil constituem uma das maiores fontes de contaminação da água e solo por metais pesados (WAIHUNG; CHUA e LAM, 1999).

A retenção dos metais pelo solo pode ser explicada por mecanismos de adsorção específica troca iônica e precipitação. Os metais podem estar disponíveis no solo na forma de elementos solúveis como íons livres sendo absorvidos pelas plantas e ou lixiviados pelos solos (GUILHERME; LIMA e ANDERSON, 1995).

Os microrganismos são os principais agentes dos processos bioquímicos que ocorrem no meio ambiente como a decomposição de matéria orgânica, liberação de nutrientes, formação e estabilização de agregados, ciclagem de nutrientes, transformações de elementos metálicos, produção de metabólitos, degradação de pesticidas, herbicidas e alterações nas características físicas do solo (PFÜLLER, 2000).

A comunidade microbiana do solo atua em processos de imobilização, mobilização, transformação de metais por reações de precipitação extracelular, acumulação intracelular, reações de oxidação e redução, metilação e demetilação (BRIERLEY, 1991).

A partir dessas reações, as bactérias e os fungos obtêm energia para o desenvolvimento de seus processos vitais (SANTINI et al. 2000). Estas biotransformações são importantes componentes do ciclo biogeoquímico sendo, mecanismos usados por bactérias e fungos em solos contaminados por metais pesados que possam servir como meio para minimizar as consequências da contaminação do solo por cobre (GAAD, 2000).

A exposição dos microrganismos aos metais leva ao desenvolvimento da tolerância pela comunidade microbiana do solo exercendo pressão seletiva a resistência aos metais por parte de fungos e bactérias do solo (ELLIS et al. 2003). Os microrganismos apresentam condições catabólicas para degradar os contaminantes, mas para isso o contaminante tem que estar disponível para o ataque dos microrganismos e das enzimas, sendo que as condições ambientais devem ser adequadas para o crescimento e atividade da microbiota do solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas por diversos compostos orgânicos, tem-se optado por soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, tempo demandado pelo processo e menor custo (WAIHUNG; CHUA e LAM, 1999).

Com isso cresce o interesse pela utilização da biorremediação, caracterizada como uma técnica que objetiva descontaminar solo e água por meio da utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas (PIRES et al. 2003); (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

O termo biorremediação, no caso dos metais pesados, pode parecer inapropriado, já que nenhum processo pode degradar, ou eliminar elementos inorgânicos, no entanto, em alguns casos sua imobilização mediada pelos microorganismos, pode ser a única forma praticável para proteger águas subterrâneas e a cadeia alimentar de uma contaminação (SPROCATI et al. 2006).

Aspergillus nidulans é um ascomiceto filamentosos homotálico com morfogênese bem definida, que tem sido usado como um organismo modelo para estudos genéticos e de biologia celular (TELES e ROCHA, 2002). Segundo o mesmo autor, o comportamento bioquímico de um fungo ascomiceto pode contribuir para conhecer melhor a origem da grande capacidade que os fungos possuem e suas possíveis aplicações em sistemas de biorremediação. Além disso, podem nos fornecer informações a respeito do comportamento de suas principais enzimas antioxidantes.

Esta pesquisa teve como objetivo, a experimentação e a avaliação da sobrevivência das linhagens de *Aspergillus nidulans*, submetidas a meios com metais pesados, para que posteriormente este microrganismo possa ser utilizado como uma alternativa em processos de biorremediação de locais contaminados por metais pesados.

Materiais e Métodos

Para o experimento utilizou-se as linhagens MSE, Selvagem e o mutante CLB3 do fungo *Aspergillus nidulans*. O meio utilizado foi Meio Completo (MC) descrito por Pontecorvo et al. (1953), que determina os níveis ideais de nutrientes para o crescimento deste fungo. As variáveis analisadas foram as concentrações 0,005gr.100 mL⁻¹, sendo a metade do recomendado e 0,02 gr.100 mL⁻¹ sendo o dobro do recomendado dos metais pesados FeSO₄, ZnSO₄ e CuSO₄, o tratamento controle manteve os padrões descritos na literatura sendo a concentração de 0,01 gr.100mL⁻¹. Os tratamentos continham apenas um metal com o seu valor alterado, os outros testados mantinham as concentrações ideais descritas por Pontecorvo. Após o preparo os tratamentos foram estabilizados em pH 6,0 e autoclavados por 20 minutos em temperatura de 121°C. As placas inoculadas com pico no centro contendo esporos do fungo foram levadas à estufa por cinco dias a uma temperatura de 37C°. Para análise da sobrevivência do fungo foi medido o diâmetro das colônias, e analisada a pigmentação dos conídios. Para análise estatística foram feitas 9 repetições e submetidas à comparação de médias pelo teste de Scott-knott.

Resultados e Discussão

Os resultados indicaram que as linhagens de *A. nidulans* foram capazes de crescer em todos os meios testados. A figura 1 mostra que a linhagem MSE e a linhagem Selvagem obtiveram maior crescimento vegetativo em meio acrescido de FeSO_4 , e menor crescimento vegetativo acrescido de ZnSO_4 e o mutante CLB3 mostrou-se sensível ao CuSO_4 , obtendo maior crescimento vegetativo em meio deficiente de CuSO_4 , e menor crescimento vegetativo em meio acrescido de CuSO_4 .

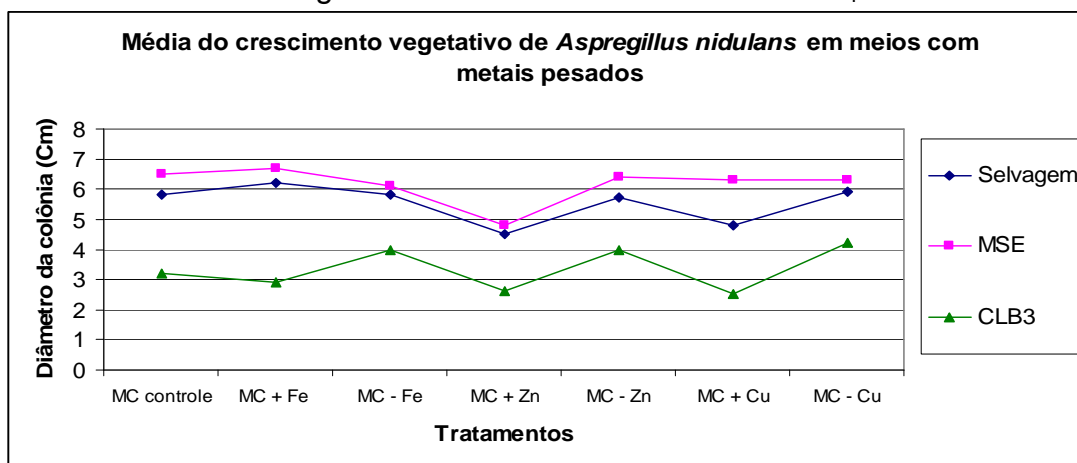


Figura 1. Média do crescimento vegetativo das linhagens MSE, Selvagem e CLB3 de *Aspergillus nidulans* à exposição dos metais pesados FeSO_4 , ZnSO_4 e CuSO_4 em diferentes tratamentos.

Essa deficiência de crescimento vegetativo das linhagens pode ser explicada como sendo um excesso desses metais, pois segundo Bääth, (1989), o cobre é um elemento essencial para a sobrevivência das bactérias e fungos do solo, mas pode se tornar tóxico quando a concentração exceder de 750 mg.g^{-1} .

Cooley et al. (1986) observou que o metal pesado cádmio em dosagens maiores causou efeitos deletérios sobre o metabolismo celular e progressiva inibição e esporulação do fungo *Aspergillus nidulans*.

Segundo Granjeiro et al. (2004) e Turpeinen (2002) para que o microrganismo consiga sobreviver em ambientes na presença de metais é necessário que este possua mecanismos para o transporte de metais pesados e determinadas proteínas que protegem o organismo dos efeitos tóxicos do metal, ligando-o a enzimas específicas. Podendo ocorrer o transporte do metal através de gradiente quimiosmótico pela membrana citoplasmática de bactérias e fungos, diminuindo seu potencial tóxico, (NIES, 1999).

Porém alguns desses elementos, como o cobre e o zinco são nutrientes essenciais e são usados como catalisadores de reações bioquímicas, estabilizadores de proteínas e mantenedores de equilíbrio osmótico da célula (JI e SILVER, 1995).

Sumita et al. (2007) analisou a interação de *Chromobacterium violaceum* com metais traços Zinco, Alumínio, Cobre e Mangânes, concluindo que houve interação entre os diferentes metais testados e interferência no crescimento de *C. Violaceum*, sendo o Zinco o metal que mais influenciou nesta variável.

Em relação à sobrevivência de microrganismos em ambientes inóspitos, Wenzel (2006), isolou e caracterizou o fungo *Paecilomyces javanicus* presente em peças anatômicas conservadas em formol a 10%, avaliando quanto ao seu potencial biorremediador em concentrações que variavam de 0,3 a 1,5 g.L⁻¹ de óleo diesel e gasolina. O estudo demonstrou que o fungo foi capaz de manter o crescimento vegetativo até a última concentração testada, porém apresentou crescimento reduzido em concentrações superiores a 0,5 g.L⁻¹, tanto para gasolina quanto para óleo diesel em Meio Mínimo Modificado (MMM).

Tabela 1. Tabela de Análise de variância segundo o teste Scott-Knott.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Meio	6	120.77	20.12	3.101	0.006
Linhagem	2	168.52	84.26	12.981	0.002
Meio*Linhagem	12	126.70	10.55	1.627	0.088
residuo	168	1090.55	6.49		
Total	188	1506.560000			
CV (%) =	14,03				

Tabela 2. Comparação de médias segundo teste Scott-knott.

Tratamentos	Linhagens		
	Selvagem	MSE	CLB3
Controle	5,8 B a	6,5 B a	3,2 B b
MC 0,02 gr.100 mL ⁻¹ de FeSO ⁴	6,2 B a	6,7 B a	2,9 B b
MC 0,005 gr.100 mL ⁻¹ de FeSO ⁴	5,8 B a	6,1 B a	4,0 B b
MC 0,02 gr.100 mL ⁻¹ de ZnSO ⁴	4,5 A a	4,8 A a	2,6 A b
MC 0,005 gr.100 mL ⁻¹ de ZnSO ⁴	5,7 B a	6,4 B a	4,0 B b
MC 0,02 gr.100 mL ⁻¹ de CuSO ⁴	4,8 A a	6,2 A a	2,5 A b
MC 0,005 gr.100 mL ⁻¹ de CuSO ⁴	5,9 C a	6,3 C a	4,2 C b

Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais segundo o teste Scott-knott ao nível de 5% de significância. Sendo as letras maiúsculas correspondentes a comparação entre os tratamentos e as letras minúsculas correspondentes a comparação entre as linhagens.

Quando se estabelece a comparação das médias das linhagens, observa-se que a linhagem CLB3 se mostra estatisticamente diferente das demais, e em relação ao tratamento, o meio MC 0,005 gr.100 mL⁻¹ de CuSO⁴ apresentou-se estatisticamente diferente aos demais favorecendo o um maior crescimento das colônias (tabela 2).

De acordo com a figura 2, pode ser observado que a linhagem MSE apresentou alteração na pigmentação dos conídios e hifas aéreas em meios contendo concentração alterada de FeSO₄ e em meio acrescido de ZnSO₄, a

linhagem Selvagem apresentou alteração na pigmentação dos conídios em meios acrescidos com CuSO_4 , ZnSO_4 , e deficientes em CuSO_4 e o mutante CLB3 apresentou alteração na pigmentação dos conídios em meios deficientes em FeSO_4 , ZnSO_4 e CuSO_4 .

Este resultado vem colaborar com Gaad (2000) que relata que os fungos apresentam grande capacidade de adaptação à presença de metais pesados no solo, sendo este mecanismo explicado por mutações genéticas e adaptações fisiológicas dos fungos em contato com o metal, pois a capacidade de um organismo sobreviver em condições adversas depende da rapidez de suas respostas fisiológicas as condições ambientais.

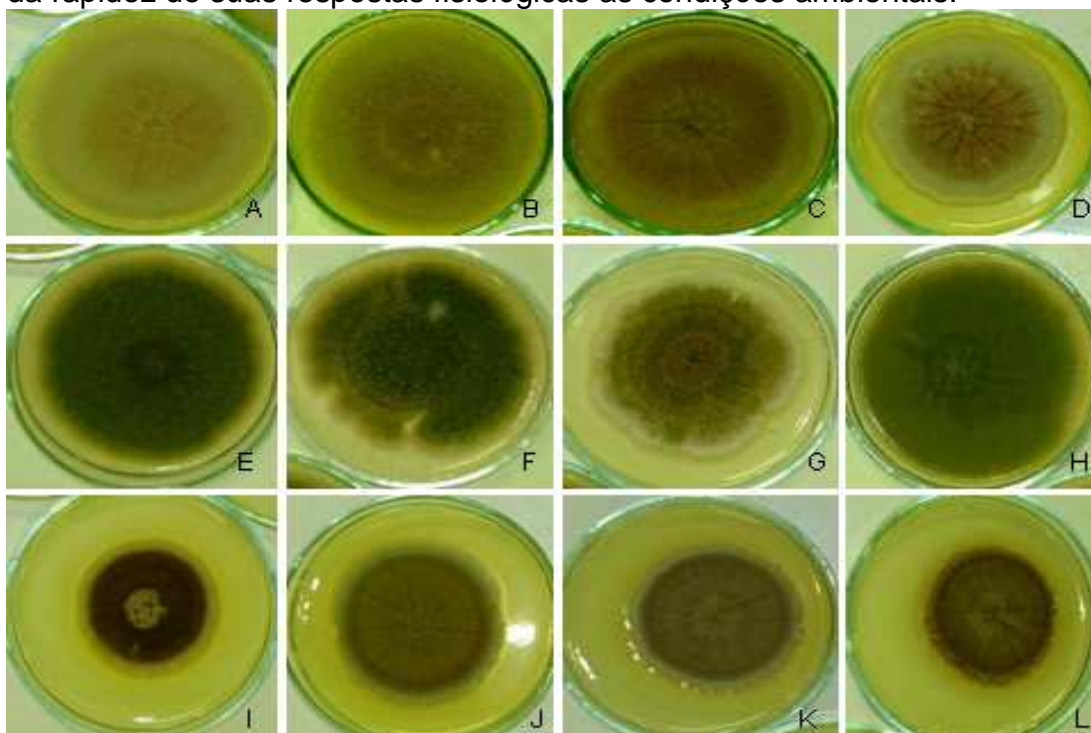


Figura 2. Alterações observadas na pigmentação dos conídios nas linhagens MSE, Selvagem e CLB3 de *Aspergillus nidulans* em resposta a exposição a meios com concentrações alteradas de metais pesados.

A) MSE controle; B) MSE na concentração $0,02 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de FeSO_4 ; C) MSE na concentração $0,005 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de FeSO_4 ; D) MSE na concentração $0,02 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de ZnSO_4 ; E) Selvagem controle; F) Selvagem na concentração $0,02 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de CuSO_4 ; G) Selvagem na concentração $0,02 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de ZnSO_4 ; H) Selvagem na concentração $0,005 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de CuSO_4 ; I) CLB3 controle; J) CLB3 na concentração $0,005 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de CuSO_4 ; K) CLB3 na concentração $0,005 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de FeSO_4 ; L) CLB3 na concentração $0,005 \text{ gr.}100 \text{ mL}^{-1}$ de ZnSO_4 .

Essa diferença de morfologia apresentada pelas linhagens pode ser devido à expressão de genes envolvidos no processo de diferenciação celular (FLORES, A. C. et al. 2008)

Entretanto, Silva et al. (2005) em resultados preliminares com o metal cobre, mostraram que os fungos respondem de maneira diferenciada à medida que se adiciona cobre ao meio de desenvolvimento. Isto foi evidenciado com o fungo Pt 116 e o fungo Pt 24 onde apresentaram maior desenvolvimento no meio com cobre, sendo o crescimento do fungo Pt 24 aumentado com o aumento das doses de cobre e os *Suillus* 2.8, *Suillus* 128 e *Scleroderma* 124 apresentaram menor desenvolvimento com o aumento

das doses de cobre, não sendo indicados para programas de biorremediação de solo contaminado por cobre.

Vale a pena ressaltar que microrganismos têm sido isolados de ambientes diversos como o relatado por Silva et al. (1999), fungos capazes de degradar fungicidas, taxa de degradação de até 66,21% em apenas dois dias, Ying et al., (2005) solo contaminado com óleo, bactéria Gram negativa com morfologia em bastonete, de coloração amarela e flagelo polar, *Sphingomonas paucimobilis*.

Mas de acordo com Gray et al. (2000), é necessário utilizar microrganismos capazes de degradar a substância em questão, pois nem todos os microrganismos possuem as mesmas habilidades em degradar os mesmos compostos. Pois segundo Mora et al. (2006), a acumulação de metais pesados reduz a biomassa microbiana, a atividade de várias enzimas e a estrutura da comunidade microbiana do solo diminuindo também a diversidade funcional dos microrganismos menos tolerantes aos metais pesados.

Dessa forma, como os fungos apresentam grande capacidade de adaptação à presença de metais pesados no solo, (GAAD, 2000), a utilização e o estudo das interações entre microrganismos e metais podem auxiliar no conhecimento das relações tóxicas de metais com organismos superiores, como plantas e animais e alguns sistemas microbianos de tolerância ao metal poderiam ser utilizados em processos de biorremediação (Cervantes et al. 2006).

Conclusões

Frente aos resultados encontrados de intensa resposta a exposição de metais pesados, conclui-se que as linhagens: Selvagem, MSE e CLB3 do fungo *Aspergillus nidulans* apresentam capacidade de sobrevivência em meios contendo concentrações alteradas de metais pesados. Esses resultados mostraram a possibilidade da utilização destas linhagens como uma alternativa no processo de biorremediação de ambientes contaminados por tais poluentes.

Referências

- Abreu, C. A.; Abreu, M. F.; Berton, R. S. Análise química de solo para metais pesados. In: Alvarez, V. V. H.; Schaefer, C. E. G. R.; Barros, N. F.; Mello, J. W. V.; Costa, L. M. Tópicos em Ciência do Solo. v. 2, p. 645-692. Viçosa, 2002.
- Accioly, A. M. A.; Siqueira, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: Novais, R. F.; Alvarez V., V. H.; Schaefer, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo. v. 1. p. 299-352. Viçosa, 2000.
- Bäath, E. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (areview). Water, Air e Soil Pollution: Focus. v. 47, n. 5, p. 335-379, 1989.

Brierley, C. L. Bioremediation of metal-contaminated surface and groundwaters. *Geomicrobiology Journal*. v. 8, p. 201-233, 1991.

Cervantes, C. et al. Microbial interaction with heavy metals. *Revista Latinoamericana Microbiologia*, vol. 48, n.2, p. 203-10, 2006.

Chaoui, A. et al. Effects of cadmium-zinc interactions on didroponically grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science*, v.126, p.21-28, 1997.

Cooley, R. N. et al. Molecular mechanisms of heavy-metal tolerance in *Aspergillus nidulans*. *Heredity*, v.57, p.133-134, 1986.

Ellis, R. J. et al. Cultivation dependant and independent approache for determining bacterial diversity in heavy-metal contaminated soil. *Applied Environmental Microbiology*. v. 69, p. 3223-3230, 2003.

Flores, A. C. et al. Efeito da temperatura na melanização de linhagens de *Aspergillus nidulans*. In: Anais do IX Encontro Paranaense de Genética, 2008.

Gaad, G. M. Bioremedial potential of microbial mechanism of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology*. v. 11, p. 271-279. 2000.

Gray, M. R. et al. Protocols to Enhance Biodegradation of Hydrocarbon Contaminants in Soil, *Bioremediation journal*, v. 4, p. 249-257, 2000.

Granjeiro, T. B. et al., Transport genes of *Chromobacterium violaceum*: an overview. *Genetics and Molecular Research*, v. e. n. 1, p. 117-133, 2004.

Guelfi, A. Respostas das enzimas antioxidantes em linhagens do fungo *Aspergillus sp.* na presença do metal pesado cádmio. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2001.

Guilherme, L. R. G.; Lima, J. M.; Anderson, S. J. Efeito do fósforo na adsorção de cobre em horizontes A e B de Latossolos do Estado de Minas Gerais. In: Anais do XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. p. 316-318. Viçosa. 1995.

Jl, G.; Silver, S. Bacterial resistance mechanism for heavy metals of environmental concern. *Journal Industry Microbiology*. v. 14, p. 61-75, 1995.

Kefala, M.I.; Zouboulis, A.I.; Matis, K.A. Biosorption of cadmium of by actinomycetes and separation by flotation. *Environmetal pollution*, v.104, p.283-293, 1999.

Malavolta, E. Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados: mitos, mistificação e fatos. *Produquímica*. São Paulo. 1994.

Mora et al. Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendmets. *Soil Biology and Biochemistry*. v. 38, n. 2, p. 327-341, 2006.

Moreira, F.; Siqueira, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. UFLA, Lavras, 2002.

Nies, D. H. Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology Biotechnology*. v. 51, p. 730-750, 1999.

Pfüller, E. População Microbiana de um solo sob dois sistemas de plantio e dois sistemas de rotação de culturas. Dissertação de mestrado em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2000.

Pires, F.R. et al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. Planta daninha, May/Aug. vol.21, no.2, p.335-341. 2003.

Pontecorvo, G. et al., The genetics of *Aspergillus nidulans*. Advances in Genetics, v. 5, p. 141-238, San Diego, 1953.

Santini, J. M. et al.; A new chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacterium isolated from a gold-mine: phylogenetic, physiological, and preliminary biochemical studies. Applied Environment Microbiology. v. 66, p. 92-97, 2000.

Silva, C. M. de S. et al. Isolamento de fungos degradadores de Carbendazim. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 34, p. 1255-1264. Brasília, 1999.

Silva, R. F. et al. Seleção de fungos ectomicorrízicos tolerante a cobre em meio de cultura. 2005. Disponível em: http://w3.ufsm.br/ppgcs/congressos/CBCS_RECIFE/BIOLOGIA.pdf. Acesso: em 06 jun. 2008.

Sprocati, A. et al., Investigating heavy metals resistance, bioaccumulation and metabolic profile of a metallophile microbial consortium native to an abandoned mine. Science of the total environment. v.366, p. 649–658, 2006.

Sumita, T. T. et al., Avaliação da interação de Zinco, Alumínio, Cobre e Manganês em *Chromobacterium violaceum*. Revista Ambi-Água, v. 2, n. 3, p. 44-43. Taubaté, 2007.

Teles, L. M. F.; ROCHA, C. L. M. S. Análise Genética Do Desenvolvimento Do Ciclo Sexual Em *Emericella (Aspergillus) Nidulans*. In Anais do XI Encontro Anual de Iniciação Científica - de 1 a 4/10/2002 - Maringá – PR, Maringá, 2002.

Turpeinen, R. Interactions between metals, microbes and plants - ioremediation of arsenic and lead contaminated soils. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Ciência Ambiental – University of Helsinki, Lahti, 2002.

Ying X. et al., Isolation and Characterization of phenanthrene-degrading. *Sphingomonas paucimobilis* strain ZX4. Biodegradation, v 16, p. 393-402, 2005.

Waihung, L.; Chua, H.; Lam, K. H. A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass. Chemosphere, v.39. p. 2723-2736, 1999.

Wenzel, J. B. Identificação do potencial de um fungo filamentoso isolado de peças anatômicas conservadas em formol 10%. Monografia de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Paranaense, Toledo, 2006.