

Diversidade dos fungos anamorfos no solo do pólo cerâmico do município de Santa Gertrudes, São Paulo, Brasil e tolerância de *Aspergillus terreus* Thom e *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson a sais de chumbo e de zinco

NORBERTO CARLOS SCHOENLEIN

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de Microbiologia Aplicada)

Rio Claro

Estado de São Paulo – Brasil

Dezembro- 2006

Diversidade dos fungos anamorfos no solo do pólo cerâmico do município de Santa Gertrudes, São Paulo, Brasil e tolerância de *Aspergillus terreus* Thom e *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson a sais de chumbo e de zinco

NORBERTO CARLOS SCHOENLEIN

Orientador: Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de Microbiologia Aplicada)

**Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Dezembro - 2006**

Dedico este trabalho

À minha esposa Ursula Vera, que sempre me apoiou e incentivou, entendendo minhas ausências do convívio familiar e me estimulando sempre.

À nossa filha Iracema Helena, cuja competência na área micológica e apoio incansável foram fatores decisivos para este trabalho.

Ao Creador Supremo, começo e fim de tudo, que dá sentido a este trabalho e que colocou essas pessoas maravilhosas na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Renato Corso, que além de orientador, foi um amigo compreensivo e um ser humano sábio, digno da admiração e respeito de todos, dirimindo pacientemente minhas inúmeras dúvidas. Quantas vezes fui animado com frases de incentivo, como : “Vamos por partes” e “Faz parte, professor”!

À Profa. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis pela sugestão de realizar este trabalho que, colocando-me num nível de sabedoria mais elevado, vai permitir que eu ajude na melhoria da qualidade de vida das pessoas.

Ao Prof. Dr. Edério Dino Bidoia, pelos esclarecimentos em Química e orientação em parte do trabalho.

Ao Dr. Dacio Roberto Matheus, pela orientação e fornecimento de fontes da literatura pertinentes, que ajudaram muito na confecção deste trabalho.

À Profa. Dra. Carmen Lidia A. Pires-Zottarelli, pelas inestimáveis informações e conhecimentos sobre os fungos aquáticos.

Ao Prof. Dr. Jonas Contiero, no esclarecimento e dúvidas das disciplinas constantes da Pós Graduação e dos Seminários.

À Profa. Dra. Rosely A. Piccolo Grandi, pela enorme soma de conhecimentos que dela recebi na área da Micologia.

Aos colegas de doutorado Luíza e José Ivanildo, cuja ajuda foi inestimável, quer em trabalhos no laboratório, quer na obtenção de dados científicos colhidos pacientemente na literatura científica nacional e internacional.

À Ângela Scatolin, secretária do Depto de Bioquímica e Microbiologia, sempre solícita em oferecer ajuda.

Ao técnico Roberto José Pedro (Beto), cuja competência na coleta das amostras, foi responsável pelo ótimo andamento do trabalho. Valeu mesmo!

Ao desenhista Ronaldo Bella, que colocou as suas qualidades profissionais a serviço desta tese, tornando-a mais completa em seu aspecto gráfico.

À supervisora Moema e à Cidinha, prestimosas funcionárias da Biblioteca, Campus de Rio Claro, pela inestimável ajuda prestada na pesquisa bibliográfica deste trabalho.

Às técnicas Dorotéia e Zelinda, funcionárias do Instituto de Botânica de São Paulo, que ajudaram muitas vezes na preparação de grande número de amostras, destinadas às análises.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo, que me acolheu para que pudesse realizar toda parte experimental do trabalho.

À Universidade Guarulhos, pelo seu auxílio e apoio financeiro, para que este trabalho se realizasse.

Às funcionárias da secretaria da Pós Graduação no Campus de Rio Claro, pelo atendimento gentil e pelos esclarecimentos.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, incentivaram, ajudaram, criticaram ou apoiaram de alguma maneira, o meu **Muito Obrigado.**

INDICE

		Página
	RESUMO	1
	ABSTRACT	3
1	INTRODUÇÃO	5
2	REVISÃO DA LITERATURA	9
2.1	Fungos terrestres	9
2.2	A tolerância dos fungos a metais pesados	15
3	OBJETIVOS	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1	Escolha do local-controle e dos locais de coleta	20
4.2	Coleta do solo para análise química e microbiológica.	20
4.3	Análise química e física	21
4.4	Dados metereológicos	21
4.5	Isolamento e identificação dos fungos dos solos coletados	22
4.6	Manutenção das culturas	24
4.7	Calculo do índice de similaridade	24
4.8	Comparações entre as micotas obtidas.	25
4.9	Realização dos testes de tolerância	26
4.9.1	Seleção das linhagens de fungos a serem testados.	26
4.9.2	Padronização dos inóculos para os testes	26
4.9.3	Preparo dos meios nutritivos contendo Pb e Zn	27
4.9.4	Construção das curvas de crescimento	28
4.9.5	Determinação do EC ₅₀ EC ₁₀₀	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1	Caracterização climática e química das áreas de estudo	30
5.1.1	Localização dos pontos de coleta na região de Santa Gertrudes.	31
5.1.2	Locais das coletas	32
5.1.3	Dados metereológicos	35
5.1.4	Análise do solo	36
5.2	Diversidade dos fungos	39

5.2.1	Índices de similaridade em relação ao regime pluviométrico dos fungos que cresceram com Zn	58
5.2.2	Índices de similaridade em relação ao regime pluviométrico dos fungos que cresceram com Pb	59
5.2.3	Índices de similaridade em relação aos números de fungos encontrados entre dois locais em cada grupo	60
5.2.4	Índices de similaridade em relação aos táxons que cresceram em meio de malte a 2% só com Zn, só com Pb e com os dois.	67
5.3	Teste de tolerância	75
5.3.1	Seleção das linhagens	75
5.3.2	Curvas de crescimento do <i>Aspergillus terreus</i> com sais de Pb	78
5.3.3	Curvas de crescimento do <i>A. terreus</i> com sais de Zn	80
5.3.4	Curvas de crescimento do <i>Paecilomyces lilacinus</i> com sais de Pb	82
5.3.5	Curvas de crescimento do <i>P. lilacinus</i> com sais de Zn	84
5.3.6	Variações do pH durante os testes de tolerância	87
5.3.7	Massas de proteinatos provenientes do meio Czapek com diferentes concentrações de Pb e Zn	88
6	CONCLUSÕES	92
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
	APÊNDICE	110

RESUMO

Diversidade dos fungos anamorfos no solo do pólo cerâmico do município de Santa Gertrudes, São Paulo, Brasil e tolerância de *Aspergillus terreus* Thom e de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson a sais de chumbo e de zinco.

O solo do pólo cerâmico de Santa Gertrudes tem sido poluído há décadas por diversos elementos, como Pb, Zn e outros. Foram realizadas quatro coletas de solo (duas durante a época chuvosa e duas na seca), em cinco locais, entre novembro de 2002 a junho de 2003; mediram-se temperaturas, pH, teores de Pb, Zn e umidade. Os fungos foram isolados através do método de Warcup, modificado, com a utilização de meios de extrato de malte agar (MEA) a 2%, adicionados com doses crescentes de nitrato de Zn e de Pb, sendo as colônias purificadas e identificadas. Foram obtidos 70 táxons de fungos anamorfos com 70% de similaridade entre as micotas obtidas com os dois metais. Foram isolados 43 taxons dos meios de cultura com Pb, havendo predominância de isolamentos nos teores mais elevados (500 a 1000 mg Pb/dm³). Foram obtidos 63 táxons nos meios com Zn, com teores de 200 a 500 mg /dm³. Predominaram espécies de *Trichoderma*, *Penicillium* e outras usualmente associadas a substratos em decomposição. Estabelecida a diversidade dos fungos, estudou-se a tolerância do *Aspergillus terreus* e do *Paecilomyces lilacinus* a nitratos de Pb e Zn. Foi usado o meio Czapek, com a adição de 250; 500; 750 e 1000 mg de Pb por dm³ e 1.000; 2.000; 3.000; 4.000; 6.000; 8.000 e 10.000 mg de Zn por dm³

.Com os dados obtidos, foi possível calcular o teor do metal que inibe 50% e 100% do crescimento da biomassa EC_{50} e/ou EC_{100} . Para o *A. terreus* foram encontrados: EC_{50} Pb = 489,05 mg/dm³; EC_{100} Pb = 1.049,08 mg/dm³; EC_{50} Zn = 81,26 mg/dm³; EC_{100} Zn = 6.360,98 mg/dm³. Para o *P. lilacinus* foram encontrados: EC_{50} Pb = 1.147,89 mg/dm³; EC_{100} Pb = 2.389,45 mg/dm³; EC_{50} Zn = 8.323,75 mg/dm³; EC_{100} Zn = 15.995,36 mg/dm³. Em relação à sensibilidade a Pb e a Zn, o *A. terreus* apresentou sensibilidades maiores do que o *P. lilacinus*. Constatou-se também, que a sensibilidade do *A. terreus* a Zn foi maior do que ao Pb. A tendência de obter maiores números de taxons em meios com elevados teores de Pb e Zn pode ser justificada pela existência de uma micota competitiva e tolerante às elevadas concentrações de metais pesados.

Palavras-chave – diversidade fúngica, fungos anamorfos, impacto ambiental, pólo cerâmico, tolerância a Pb e Zn.

ABSTRACT

Diversity of anamorphs in the soil of the ceramic pole in the municipality of Santa Gertrudes, São Paulo, Brasil; tolerance of *Aspergillus terreus* Thom and *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson to salts of Pb and Zn.

The soil of the ceramic pole, has been polluted since decades by several elements, mainly lead and zinc. Four soil sample collections were conducted (2 during the rainy and 2 in the dry season) at 5 sites, between november 2002 and june 2003, measuring the temperature, pH and the content of Pb, Zn and moisture in the soil. The fungi were obtained by the modified Warcup's soil plate method, using malt extract agar (2%), added of increasing dosis of Zn and Pb salts. The colonies were purified and identified. Seventy anamorphs were obtained, with 70% of similarity between the mycotas isolated from the culture media added with the metals. Fourty three taxa were isolated from the culture media with Pb, with predominance of isolations in higher Pb concentrations (500 to 1000 mg Pb per dm³). 63 taxa were obtained in the media with Zn, mainly in the concentrations between 200 and 500 mg Zn per dm³. Species of *Trichoderma*, *Penicillium* and several fungi usually found in decomposing plant debris prevailed.

After determining the diversity of fungi in the ceramic pole, *Aspergillus terreus* and *Paecilomyces lilacinus* were submitted to tests of tolerance to Pb and Zn. A modified medium Czapek was used amended with 250; 500; 750 and 1000 mg of Pb per dm³ and 1000; 2000; 3000; 4000; 6000; 8000 and 10000 for

Paecilomyces lilacinus mg of Zn per dm³ . Afterwards it was possible to calculate the effective concentrations inhibiting growth by 50% and 100% values (EC₅₀ and EC₁₀₀). Values obtained for *A. terreus*: EC₅₀ Pb = 489,05 mg/dm³ ; EC₁₀₀ Pb= 1.049,08 mg/dm³ ; EC₅₀ Zn= 81,26 mg/dm³; EC₁₀₀ Zn= 6.360,98 mg/dm³ .Values obtained for *P. lilacinus*; EC₅₀ Pb = 1.147,89 mg/dm³ ; EC₁₀₀ Pb = 2.389,45 mg/dm³ ; EC₅₀ Zn = 8.323,79 mg/dm³ ; EC₁₀₀ Zn = 15.995,36 mg/dm³ . With regards to the sensitivity to lead and zinc, *A. terreus* showed greater sensitivity than *P. lilacinus*. A greater sensitivity of *A. terreus* for zinc than lead was recorded. The tendency to obtain a higher number of taxa in the culture media with high Pb and Zn contents may be justified by the existence of a competitive mycota, which is tolerant to higher heavy metal concentrations.

Key-words – anamorphs, ceramic pole, environmental impact, fungal diversity, tolerance to Pb and Zn.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, plantas, animais, fungos e bactérias têm sido largamente utilizados como biomonitores e bioindicadores no levantamento da estabilidade ambiental do ar, solo e água, submetidos aos impactos da poluição. Como esses organismos desempenham diferentes funções nos ecossistemas, apresentam necessidades específicas em relação aos componentes físicos e biológicos do seu ambiente, respondendo criticamente às variações que ocorram nesse (SEAWARD 1995).

Esses organismos podem ser empregados para monitorar a poluição como bioindicadores, se tiverem a habilidade de responder, especificamente a uma elevação (raramente a uma queda) da concentração de um poluente e/ou acumular, um ou mais elementos, que podem ser medidos posteriormente pela análise química (SEAWARD 1995).

Os fungos vivem na matriz do solo, nos grãos de areia, silte e argila, bem como nos espaços intersticiais, contribuindo para a manutenção da fertilidade, mineralizando a matéria orgânica, sintetizando e/ou degradando substâncias húmicas, e atuando decisivamente sobre diversas características relevantes do solo, tais como a permeabilidade, o estado de agregação, a capacidade de troca catiônica, a capacidade de campo, além de muitas espécies poderem acumular material tóxico, promovendo a sua retirada do solo (CHRISTENSEN, 1989).

A presença de fungos decompositores em várias áreas sujeitas a impactos ambientais, como metais pesados e chuvas ácidas, estimulou a investigação do papel destes organismos nestes locais em condições tão desfavoráveis.

Inicialmente, os efeitos tóxicos dos metais pesados sobre os fungos despertaram interesse científico devido ao uso de elementos como cobre, chumbo e zinco na formulação de diversos defensivos agrícolas (ROSS, 1975). A elevação da quantidade e da variabilidade de poluentes a base de metais, que vem sendo gradativamente depositados no ambiente, norteou os estudos para aspectos ecológicos, relacionados com o diagnóstico da situação dos sistemas impactados, medidas de recuperação e conservação dos ecossistemas (WAINWRIGHT e GADD, 1997).

Constatou-se que várias espécies de fungos não só sobrevivem nesses locais, como ainda desenvolvem mecanismos de resistência por tolerância ou por evitação a essas condições (LEWITT, 1980).

A habilidade dos fungos sobreviverem à presença de metais tóxicos depende de diversas propriedades bioquímicas, estruturais, além de adaptações fisiológicas, morfológicas, genéticas e modificações do próprio metal com relação à especiação, disponibilidade e toxidez (GADD, 1992a).

Estes metais pesados acumulam-se no micélio, sem afetar o crescimento fúngico, por mecanismos físicos ou fisiológicos. Elementos como o chumbo, zinco e outros influenciam a atividade enzimática, pela substituição de certos íons em compostos orgânicos, modificando em conseqüência a permeabilidade da membrana plasmática, fases da cadeia respiratória, mecanismos da divisão celular, além de outros (FERNANDES e HENRIQUES, 1991; PALIT *et al.* 1994).

Com este comportamento, os fungos atuariam como verdadeiros filtros para o ambiente, no sentido de acumular metais pesados em seu interior, purificando paralelamente o ambiente em que se encontram (HASHEN, 1989; AZAB *et al.* 1990; BÅÅTH, 1991). Experimentos demonstraram que até micélios liofilizados são capazes de acumular metais pesados no seu interior (AZAB *et al.* 1990).

Com relação aos efeitos de metais sobre populações fúngicas, considera-se de forma geral, que a presença de determinados elementos pode causar a diminuição da abundância de algumas espécies ou comprometer a sua diversidade. O efeito seletivo dos metais poderia resultar na substituição de diversas espécies e no estabelecimento de uma micota terrestre resistente ou tolerante (JORDAN e LECHEVALIER, 1975). A presença de determinado metal no solo poderia representar assim, mais um parâmetro seletivo a ser levado em consideração na compreensão das interações competitivas que contribuem para a composição da micota terrestre.

Na micota terrestre geralmente há predomínio de espécies de fungos anamorfos, caracterizados pela sua permanência na fase assexuada. Entre estes há diversas espécies, tais como as de *Penicillium* e *Paecilomyces*, reconhecidamente resistentes ou tolerantes aos metais pesados (JORDAN e LECHEVALIER, 1975; TATSUYAMA et al. 1975). Estas espécies, quando isoladas de solos impactados, podem ser consideradas indicadoras de resistência ou serem utilizadas para retirar metais de efluentes, diminuindo assim a carga poluidora (LEDIN, 2000).

A região escolhida para o presente estudo, conhecida como “região dos lagos de Santa Gertrudes”, situada no pólo cerâmico deste município, é considerada de impacto para a bacia hidrográfica do córrego da Fazenda Itaqui; este córrego é um sub-afluente do rio Corumbataí e atravessa a região estudada. Os lagos não são naturais, mas resultantes de inundações de antigas cavas de extração de argila da Formação Corumbataí.

O pólo cerâmico de Santa Gertrudes é o maior do gênero no País e responsável por mais da metade da produção nacional de pisos e revestimentos cerâmicos esmaltados. Nesta área, foram dispostos resíduos das linhas de esmaltação de forma inadequada, gerando contaminação ou poluição ambiental. Com o avanço dos aterros por parte das indústrias, a paisagem tem sofrido intensas modificações (BONACIN - SILVA, 2001).

Para subsidiar medidas de recuperação da área, diversos parâmetros químicos, físico-químicos e geológicos já foram analisados, diagnosticando-se as áreas críticas e passíveis de monitoramento. O presente estudo visa

contribuir para ampliar os conhecimentos microbiológicos sobre a região fornecendo principalmente informações sobre a situação da diversidade dos fungos anamorfos presentes no solo e a tolerância de algumas linhagens representativas aos metais que ocorrem com mais frequência.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. FUNGOS TERRESTRES

Os fungos vivem na matriz do solo, nos grãos de areia, silte e argila, bem como nos espaços intersticiais, estando também agregados à matéria orgânica e concentrando-se nas camadas mais superficiais (0 - 5cm) do solo. Geralmente predominam fungos anamorfos, seguidos de Zygomycota, Ascomycota e Mastigomycota, que contribuem para a manutenção da fertilidade, mineralizando a matéria orgânica, podendo acumular materiais tóxicos, promovendo a depuração do ambiente (biorremediação), atuando sobre a permeabilidade, agregação, capacidade de troca catiônica e capacidade de campo, sintetizando e degradando substâncias húmicas (CHRISTENSEN 1989).

Fazem parte da comunidade de fungos comumente isolados no solo, as espécies de fungos anamorfos, cuja predominância é marcante na maioria dos levantamentos, geralmente atingindo mais de 50% do total de táxons isolados (UPADHYAY, 1966; BATISTA et al., 1967b; DROZDOWICZ, 1977; TAUKE e RUEGGER, 1987; SANTOS et al., 1998; NINOMIYA et al., 1993; ANTUNES et al., 1993).

Fungos como *Trichoderma* são altamente competitivos (BETTUCCI et al., 1989), bem como as espécies de *Fusarium*, amplamente distribuídas desde

regiões áridas na África (JESCHKE et al., 1990) e Austrália (MARASAS et al., 1988) até regiões sub-antárticas (RHEEDER et al., 1990).

O gênero *Paecilomyces* é representado por fungos filamentosos os quais habitam o solo, plantas decompostas e produtos alimentares sendo usualmente considerados como não patógenos; podem causar, porém, certas infecções em seres humanos e animais, quando estes são imunodeficientes (DOMSCH et al., 1980).

O gênero *Aspergillus* é representado por fungos também filamentosos e cosmopolitas; são encontrados na natureza e comumente isolados do solo, de plantas em decomposição, e no ar de ambientes fechados. O *Aspergillus terreus* é considerado menos oportunista que os demais desse gênero, (DOMSCH et al., 1980).

As vastatinas são substâncias originárias de culturas de fungos, sendo a compactina a primeira substância dessa família a ser isolada em 1976, de uma cultura de *Penicillium citrinum*. Esta revelou uma excelente ação inibidora da síntese do colesterol, mas por sua toxidez não reunia condições de emprego. Posteriormente, foi isolada a lovastatina, da cultura do *Aspergillus terreus*, com igual propriedade da substância anterior, mas com mínima toxidez, permitindo a partir daí o seu uso clínico (GIANNINI et al., 1999).

No solo, além dos fungos colaborarem para a manutenção da fertilidade (PRIMAVESI, 1990), por meio da transferência de nutrientes das folhas em decomposição para a fase terrestre (WITKAMP e AUMUS, 1975) e se distribuírem por todos os substratos no ambiente terrestre (RAO, 1986), ainda detêm a capacidade de produzirem enzimas fitolíticas (HOWSON e DAVIS, 1983).

A reconhecida importância dos fungos na fertilidade do solo (WAKSMAN, 1916; WARCUP, 1950) resultou no surgimento de diversos levantamentos de fungos em solos agrícolas (SAPPA, 1955; MUGHOGHO, 1968; GAMS e DOMSCH, 1969; MANOCH et al., 1986b).

Levantamentos de fungos de solo foram frequentes na literatura encontrando-se dados em grande número de países, como a Índia (BEHERA et al., 1991), Panamá e Costa Rica (FARROW, 1954), Inglaterra (BROWN, 1958;

WILLIAMS e PARKINSON, 1964), Argentina (GODEAS, 1975; GODEAS et al., 1985), Uruguai (BETTUCCI et al., 1989; BETTUCCI e RODRIGUES, 1989), México (FRESQUEZ, 1990; BETTUCCI et al., 1990), Estados Unidos (MILLER et al., 1957; HAMMILL, 1970; MORRALL, 1974), Africa (ABDEL-HAFEZ et al., 1989), Suécia (SÖDERSTROM e BÄÄTH, 1978), Grécia (VARDAVAKIS e LAVRENTIALES, 1982) e Cuba (HOLUBOVÁ-JECHOVA e SIERRA, 1989) entre outros.

No Brasil, os levantamentos de fungos foram conduzidos no solo do Maranhão (BATISTA et al., 1965; 1967a), Amapá (BATISTA et al., 1967b), Paraíba (BATISTA et al., 1970) e diversas regiões do norte e nordeste do país (UPADHYAY, 1966), além dos estudos sistemáticos de *Aspergillus* efetuados por Lima e Maciel (1970), Lima et al., (1971) e por Dunn et al., (1989) nos solos da Bacia do Rio Trombetas, na Amazônia. Na mesma região também foram estudadas diversas espécies de *Penicillium*.

No nordeste estudaram-se os fungos associados à rizosfera da cana-de-açúcar (SANTOS et al., 1979). Levantamentos sistemáticos dos fungos de solo também foram conduzidos no cerrado (VIÉGAS, 1943; FIDALGO et al., 1965; MILANEZ, 1968; HERINGER, 1972; CAVALCANTI, 1974; DROZDOWICZ, 1977), com o isolamento de grande diversidade de espécies.

Existe interesse no conhecimento da diversidade dos fungos do solo, principalmente dos ecossistemas tropicais, para se avaliar o potencial microbiológico do ambiente e a potencialidade de recuperação, em casos de impactos. No Estado de São Paulo, que concentra elevada ocorrência de ecossistemas sob risco de impacto, foram realizados diversos levantamentos sistemáticos de fungos no solo. Dentre estes, destacam-se os levantamentos dos fungos de solo no cerrado de diversas localidades pontualmente visitadas (TRUFEM 1978, 1981 a;b;c), bem como os estudos sobre a micota terrestre nos municípios de Mogi-Guaçu (GRANDI, 1985), Itirapina (PIRES – ZOTTARELLI, 1990) e Corumbataí (BALDINI, 1993, RAYMUNDO JUNIOR e TAU-K-TORNISIELLO, 1997).

Na Mata Atlântica destacam-se os levantamentos conduzidos na região de Paranapiacaba, no município de Santo André, em áreas preservadas

(SCHOENLEIN-CRUSIUS e MILANEZ, 1998) e em áreas em processo de recuperação após queimada acidental (ANTUNES et al., 1993). A diversidade da mata atlântica também foi avaliada na Reserva Ecológica da Juréia-Itatins (ATTILI, 1994; GARLIPP, 1995), na Ilha do Cardoso em regiões com diferentes níveis de poluição no município de Cubatão (SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., comunicação pessoal). Acrescentam-se os estudos sobre a diversidade dos fungos em regiões litorâneas, havendo alguns dados preliminares sobre a micota da areia de algumas praias dos municípios de Santos, Guarujá e São Vicente

Na região metropolitana de São Paulo destacam-se os levantamentos de fungos de solo conduzidos na mata de planalto preservada (TRUFEM, 1990) e em áreas afetadas pelo excesso de excrementos de aves (NINOMYA et al., 1993, SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 1996) situadas no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), às margens de lagos com graus distintos de eutrofização.

Com relação a eles, foi realizado o levantamento de fungos micorrízicos (GOMES, 1997) e dos fungos filamentosos do solo, comparando a diversidade da micota terrestre da floresta de *Eucalyptus*, mata secundária e intermediária, durante a época quente e chuvosa e época fria e seca, verifica-se maior diversidade e quantidade de colônias nas vegetações de transição na Ilha dos Eucaliptos, localizada na região central da Represa do Guarapiranga (SANTOS et al., 1998).

Posteriormente, foi realizado o levantamento dos fungos associados às folhas em decomposição no ambiente terrestre e aquático às margens de diversas estações de coleta ao longo das margens da Represa. Os resultados desse estudo indicam que a influência antrópica, à qual o manancial é submetido, é bastante complexa, pois resulta principalmente dos efeitos combinados de freqüentes aplicações de algicidas às águas (sulfato de cobre), de emissões descontroladas de esgotos clandestinos e modificações drásticas da vegetação nativa (WELLBAUM et al., 1999).

Como a micota terrestre mantém relação estreita com os fatores edáficos, encontram-se freqüentemente estudos de fungos isolados sob

determinadas condições de vegetação, como sob floresta tropical úmida implantada com diferentes talhões de *Pinus* sp. (CECCATO et al., 1986) e na zona da mata de Pernambuco, antes e após a adição de vinhaça (FERNANDES e MAIA, 1987). Fazem parte destes estudos, os conduzidos no solo sob cerrado em Corumbataí tratado e não tratado com vinhaça (COSTA, 1983; TAUKE e RUEGGER, 1987; TAUKE, 1987), nos quais verificou-se que a adição acumulativa do resíduo afetou a fertilidade do solo, bem como as correlações e interações microbianas do ecossistema.

Em uma das últimas reservas de mata de planalto situadas no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga em São Paulo foram verificados os efeitos da presença de aves migratórias sobre os fungos do solo (NINOMIYA et al., 1993). A presença das aves no Parque exerceu efeito seletivo sobre os fungos do solo, elevando o número de colônias e diminuindo a diversidade das espécies terrestres. Estudo semelhante foi conduzido na Reserva de Paranapiacaba, onde foram avaliados os efeitos de uma queimada acidental sobre os fungos do solo (ANTUNES et al., 1993). Não se constataram efeitos significativos do fogo sobre os fungos terrestres, provavelmente devido à rápida recuperação do solo da mata atlântica.

O tipo de vegetação que cobre o ecossistema parece constituir um parâmetro de grande influência sobre as características do solo. A temperatura do solo apresenta-se maior na superfície, sendo diretamente influenciada pela vegetação (JEFFREY, 1963; SANTOS e GRISI, 1979).

Ceccato et al., (1986) estudaram a influência dos efeitos alelopáticos de três talhões de *Pinus taeda* L., *Pinus caribae* e mata ciliar sobre o número de fungos micorrízicos, filamentosos e basidiomicetos, observando que o número de esporos de fungos micorrízicos diminuiu nos solos cultivados, ao passo que tal influência não foi evidenciada quanto aos fungos filamentosos.

Heredia et al., (1988) compararam a micota do solo e a da rizosfera do espinafre, verificando maior diversidade de espécies nas proximidades das plantas. Em florestas de "pinyon" (*Pinus edulis* Engelm.) 63% dos fungos isolados foram semelhantes aos obtidos no solo sob vegetação de juníper [*Juniperus monosperma* (Engelm.) Sarg]. Verificou-se que a quantidade e

diversidade de fungos, se eleva conforme a fertilidade do solo (FRESQUEZ, 1990). Estes resultados geralmente foram encontrados em estudos de comparação entre a micota de solo natural e cultivado; micotas mais diversificadas estabeleceram-se em solos com maiores teores de nutrientes (MILLER et al., 1957; ELMHOLT e KJOLLER, 1989).

Levando em consideração a influência dos fatores climáticos sobre a micota terrestre (CHEREPANOVA, 1975) foram estudados os fungos de solos com baixos teores de umidade (CHEN, 1966; OGBONNA e PUGH, 1982), solos em gradientes de altitude (BETTUCCI et al., 1990), solos que apresentam temperaturas altas, entre 18 a 25° C (MANOCH et al., 1986a) ou muito baixas (zero a 10°C) (FASSATIOVA, 1969) e solos umedecidos com lodo de rio (EL-SHAROUNY et al., 1989).

Também foram estudadas as flutuações microbianas sazonais e horizontes minerais em solos podzólicos, verificando-se influência do tipo de solo sobre a diversidade da micota terrestre por meio da elevação da diversidade de colônias conforme maior disponibilidade de nutrientes (WILLIAMS e PARKINSON, 1964). A presença constante de espécies de *Trichoderma*, *Penicillium* e *Aspergillus* na grande maioria dos estudos de micota terrestre, demonstram a ubiquidade e resistência desses fungos às variações das condições do solo. Pfenning (1993) realizou o levantamento de fungos microscópicos do solo de rizosfera e de rizoplano na região leste da Amazônia.

Segundo Dianese et al., (1997), a diversidade de fungos no cerrado é representada por apenas 834 espécies publicadas por diversos autores. Sendo assim, justifica-se a necessidade de aprofundar e expandir os estudos de levantamento das espécies fúngicas nativas dos diversos ambientes do cerrado no Estado de São Paulo.

Embora muitas espécies tenham sido isoladas e descritas, os estudos sobre as potencialidades ainda são escassos, justificando-se, portanto, os levantamentos de fungos no ambiente terrestre dos diversos ecossistemas brasileiros, tanto para fins do conhecimento sobre a biodiversidade, bem como

a avaliação de determinadas potencialidades da micota para a recuperação e conservação de áreas impactadas.

Em projeto desenvolvido no município de Cubatão (Schoenlein-Crusius et al., 2006) foram obtidos mais de 2.000 isolados de fungos de amostras de folhas, de solo, de água e do ar do Vale do Rio Moji (área severamente afetada pela poluição aérea do complexo industrial) e do Vale do Rio Pilões (região menos afetada pelo mesmo tipo de poluição). Esses fungos encontram-se na Coleção de Culturas da Seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica. Verificou-se a tendência da diversidade das espécies apresentar-se maior na região mais poluída (Moji) do que naquela menos afetada (Pilões), levantando a hipótese de adaptação dos fungos às condições estressantes ou às interações microbianas que resultam neste efeito.

Os resultados mencionados na literatura demonstram que os microrganismos, principalmente os fungos, apresentam elevada capacidade de tolerância e retenção de metais pesados. Estas potencialidades poderiam subsidiar métodos alternativos para a recuperação e conservação do solo.

2.2. A tolerância dos fungos a metais pesados

Numerosos estudos de laboratório e em trabalhos de campo demonstraram os efeitos adversos de metais sobre sistemas edáficos, com a redução significativa da biomassa microbiana em solos contaminados por metais pesados, quando comparados com solos não contaminados (FRÖSTEGARD et al., 1993; FLIEßBACH et al., 1994 e LEITA et al., 1995) apud Khan e Scullion, (2.000).

Lo et al., (1999) estudaram a remoção de Pb^{++} de soluções pela adsorção por fungos filamentosos, na qual a biomassa fúngica exibiu a máxima capacidade de adsorção em pH 6,0. As isotermas de adsorção do Pb^{++} foram desenvolvidas e os dados do equilíbrio se adaptaram bem ao modelo de Langmuir. A biomassa de *Mucor roxii*, mostrou seletividade específica para o

Pb⁺⁺ ; sendo que esta linhagem fúngica pode ser aplicada para desenvolver biossorbentes potencialmente efetivos para remover chumbo de efluentes.

Rajapaksha et al., 2004, estudaram os efeitos da toxidez dos metais sobre as atividades fúngicas e bacterianas e concluíram que a atividade fúngica aumentou inicialmente com o nível da contaminação dos metais Zn e Cu, de 3 a 7 vezes mais altas do que aquelas das amostras – controle durante a primeira semana, nos níveis mais altos de adição dos metais; a atividade bacteriana diminuiu durante os primeiros dias, resultando em uma diminuição de até 90% no mais alto nível de contaminação. Esta é a primeira evidência direta de que as atividades fúngicas e bacterianas no solo são diferentemente afetadas por metais pesados.

O *Aspergillus niger* foi capaz de remover metais pesados como o chumbo, cádmio e cobre de soluções aquosas. O papel foi desempenhado por vários grupos funcionais na parede celular (KAPOOR e VIRARAGHAVAN 1997). A biomassa foi submetida a tratamentos químicos, afim de modificar os grupos funcionais carboxila, amino e fosfato, para estudar o seu papel na biossorção de íons metálicos pelo fungo. Grupos fosfato e a fração de lipídios não desempenharam um papel significativo na biossorção dos íons estudados. A biossorção do chumbo e cádmio deslocou os íons cálcio, magnésio e potássio presentes na superfície da biomassa, indicando que o processo ocorreu como resultado de uma troca iônica entre os metais.

Alguns metais são essenciais a microrganismos e, portanto exigidos, enquanto que outros são tóxicos mesmo em pequenas quantidades. A composição e atividade da microflora irá variar em resposta à disponibilidade de metal (LEDIN, 2.000).

A vida em um ambiente poluído desafia os microrganismos de muitas maneiras, o que se reflete no fato de que existe uma demanda maior por energia pelos microrganismos, para poderem lutar com a toxidez dos poluentes (LEITA et al., 1995); a habilidade de crescer em altas concentrações de metais é encontrada em muitos organismos e pode ser o resultado de mecanismos

intrínsecos ou induzidos, bem como fatores ambientais que podem reduzir a toxidez do metal (GADD, 1992b).

Gadd (1992 a) definiu *Tolerância* como a habilidade de competir com a toxidez do metal por meio de propriedades intrínsecas do organismo. Por outro lado *Resistência* seria a habilidade de sobreviver a metais tóxicos pelos mecanismos de detoxicação produzidos como resposta direta ao metal.

Vários mecanismos podem ser desenvolvidos como resposta a metais tóxicos; por exemplo, conservando ou enviando os metais para fora do organismo pela alquilação ou “bombas de efluxo”, ou transformando o metal em uma forma inócua pela produção de compostos ligantes de metais como afirmam Wodd e Wang (1985).

Em muitos ambientes, a poluição metálica é acompanhada por outras condições que são adversas a muitos microrganismos, como baixa concentração de matéria orgânica e de nutrientes, bem como valores extremos de pH.

Na região cerâmica de Santa Gertrudes, a Secretaria do Meio Ambiente (SMA) iniciou uma série de medidas para gerenciar conflitos e resolver a questão da pesada contaminação do solo. Um dos estudos que forneceu subsídios extremamente importantes para o manejo da área foi o de Bonacin-Silva, (2001).

O autor estudou o solo do ponto de vista geológico, caracterizando o grau de poluição através da análise dos teores de metais em várias amostras ao longo do perfil de profundidade do solo. Trata-se de estudo bastante detalhado, que inclui dados abióticos até a caracterização geológica da região.

O presente estudo visa contribuir para a ampliação dos conhecimentos sobre o solo dessa área, mediante o levantamento dos fungos como relevantes componentes da microbiota responsável pela fertilidade do solo e confirmar possíveis adaptações da micota nativa às condições adversas do ambiente, através da estimativa da tolerância aos metais pesados de algumas espécies representativas da região, colaborando de certo modo, com os estudos de recuperação deste local, promovido pela CETESB juntamente com as

empresas que lançam produtos considerados tóxicos para o meio ambiente.
(OKANO, et. al. 2006.)

3. OBJETIVOS

Avaliar a diversidade da micota do solo da região dos lagos de Santa Gertrudes por meio do levantamento dos fungos do solo;

Estimar a tolerância da micota aos metais pesados através da determinação das doses inibitórias de Pb e de Zn para algumas linhagens representativas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Escolha do local-controle e dos locais de coleta.

A escolha preliminar dos locais de coleta foi realizada com base na caracterização geológica e pedológica de Bonacin-Silva (2001), que apontou o chumbo e o zinco como metais presentes nas maiores proporções no solo alvo.

Quatro locais foram escolhidos na região caracterizada como severamente afetada por metais pesados e um foi escolhido como distante das primeiras, supostamente não contaminado. Os locais foram georreferenciados com o GPS (Globe Positionning System), Garmin.

. Foram conduzidas coletas de solo nos locais acima mencionados, em quatro visitas à região: 15.11.2002, (coleta 1); 18.03.2003, (coleta 2), épocas chuvosas; 28.05.2003 (coleta 3) e 30.06.2003.(coleta 4), épocas de seca.

4.2. Coleta do solo para a análise química e microbiológica

A técnica de coleta foi a seguinte: em cada local, escavaram-se três porções de aproximadamente 300 gramas de solo, com profundidade de até cinco centímetros, próximas umas das outras, colocando-as no mesmo recipiente plástico estéril; perfazendo um total de cinco amostras compostas.

Mediram-se as temperaturas do ar de cada ponto de coleta, empregando – se um termômetro de mercúrio.

As amostras de solo, coletadas de acordo com o mencionado no item acima, foram levadas à câmara de refrigeração do departamento de Bioquímica e Microbiologia do Instituto de Biociências da Unesp, Rio Claro e posteriormente à Seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica, São Paulo, para serem submetidas ao preparo e realização das análises químicas e o isolamento dos fungos.

4.3. Análise química e física

Alíquotas das amostras de solo de 200g, destinadas à análise química, foram secas na estufa a 105^o.C durante cinco dias, moídas em almofariz e pistilo, acondicionadas em sacos plásticos (condições pedidas pelo laboratório) e enviadas posteriormente ao Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo S/C Ltda (ICASA), para a determinação de Zn, Pb e matéria orgânica (em mg/dm³).

Para a determinação do **teor de umidade porcentual** empregou-se uma balança Marte ID50, com dispositivo térmico, na qual o peso seco era determinado após submeter cada amostra de solo (3 g) à temperatura de 105°C, durante 20 minutos. Massa, temperatura e duração do tempo de secagem foram sugeridas pelo fabricante da balança citada.

O **pH** de cada amostra era determinado, preparando-se uma suspensão de 40 g de solo em 100 cm³ de água destilada (GAZARINI, 1983). O líquido sobrenadante era colocado num copo de becker e media-se o seu pH em potenciômetro de bancada.

4.4. Dados meteorológicos

Alguns dados climáticos, como precipitação pluviométrica, temperatura e umidade relativa do ar, dos meses e dias das coletas foram fornecidos pela estação meteorológica de Rio Claro (CEAPLA/ IGCE – UNESP).

4.5. Isolamento e identificação dos fungos dos solos coletados

O isolamento dos fungos foi conduzido por meio da inoculação de placas de solo, de acordo com o método de Warcup (1950), modificado por uma diluição inicial do inóculo (10^{-1}). Este procedimento fez-se necessário devido ao elevado estado de coesão do solo argiloso.

A massa de 10 gramas de solo de cada amostra foi diluída com 100 cm^3 de água esterilizada em erlenmeyers de 250 cm^3 . Esses frascos foram fechados com filme de PVC e a seguir, acoplados à uma mesa agitadora, permanecendo sob agitação (regulagem a 120 rpm) por 90 minutos. Os frascos contendo as suspensões aquosas de solo foram retirados da mesa agitadora e deixados em repouso por 30 minutos.

Placas de Petri, contendo o meio de cultura (MEA a 2%) preparadas sem a presença dos metais Zn e Pb e com a presença destes (na forma de nitratos) em diferentes concentrações, como mostra o Quadro I, foram então inoculadas com 1 cm^3 da suspensão aquosa de solo dos cinco pontos de coleta. Os meios de cultura foram preparados de tal forma que a concentração dos metais em estudo fossem de 100; 200; 500 e 1000 mg/dm^3 .

O volume da suspensão a ser inoculado foi medido com uma pipeta automática Wheaton. Após a semeadura, cada placa foi agitada suave e cuidadosamente, a fim de espalhar a suspensão por toda a superfície do meio de cultivo contido na placa. As placas semeadas em duplicata foram colocadas na estufa BDO (câmara para determinação da demanda bioquímica de oxigênio), onde ficaram incubadas por sete dias, sob temperatura de 23°C .

Escolheu-se inicialmente o MEA como meio de cultura porque é um dos meios no qual menos ocorre a quelação de metais. Além disso, o crescimento das colônias nesse meio foi requisito muitas vezes exigido pelas chaves de identificação.

Nas placas inoculadas com 1 cm^3 da suspensão aquosa dos solos cresciam uma, duas ou mais colônias de fungos, pela placa inteira, formando conjuntos coloridos conforme o tipo de táxon. Com o auxílio de um fio de

platina ou de níquel-cromo esterilizados, retiraram-se pequenas amostras de cada colônia, que foram inoculadas em outras placas de Petri contendo o meio de cultura.

Após o isolamento das colônias, as mesmas foram purificadas, transferindo-se frações isoladas das mesmas para outras placas com meios de cultura. A identificação foi conduzida através da observação de estruturas micro e macroscópicas por consultas feitas a diversas chaves de identificação pertinentes a fungos anamorfos. Na etapa do estabelecimento da tolerância, no entanto, o meio de cultura utilizado foi o meio de Czapek (STANDARD METHODS, 1998) modificado, mais rico, que permitia um crescimento maior de biomassa.

Quadro 1: Composição do meio de MEA a 2% (m/V) acrescido de doses crescentes de metais para conduzir o isolamento das colônias.

Sem metais	
Extrato de malte.....	20,0 g
Agar.....	20,0 g
Água destilada.qsp.....	1,0 dm ³
Com metais	
Extrato de malte.....	20,0 g
Agar.....	20,0 g
Água destilada.qsp.....	1,0 dm ³
Zn ⁺⁺	
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O nas concentrações de.	100
	200
	500
	1000
Extrato de malte.....	20,0 g
Agar.....	20,0 g
Água destilada.qsp.....	1,0 dm ³
Pb ⁺⁺	
Pb(NO ₃) ₂ nas concentrações de.	100
	200
	500
	1000

4.6. Manutenção das culturas

Uma vez purificadas e identificadas as culturas dos fungos, estas foram submetidas ao método de preservação de Castellani, que consiste em colocar blocos das colônias em frascos de vidro com formato padrão, fechados por tampa de borracha, usados para antibióticos do tipo penicilina, contendo água destilada esterilizada, como tem sido aplicado na preservação da Coleção de culturas de fungos da Seção de Micologia e Liquenologia do Instituto de Botânica (Schoenlein-Crusius et al., 1994).

4.7. Cálculo do índice de similaridade

Para comparar as micotas obtidas nas diferentes situações, foi utilizado o **Índice de Similaridade de Sørensen** (Glossário de Ecologia, 2ª ed., Publicação ACIESP nº 103, p.311), calculado a partir da fórmula:

$$S = 2w \times (A + B)^{-1} \times 100$$

A: somatória das ocorrências de todos os fungos isolados na situação a;
B: somatória das ocorrências de todos os fungos isolados na situação b;
W: somatória das ocorrências dos fungos isolados comuns às duas situações.

Para explicar a determinação dos valores de **A**, **B** e **W** para a aplicação desta fórmula, considere-se o cálculo do índice de similaridade segundo Sørensen entre os fungos que cresceram só com chuva, só com seca e em ambos os casos. Os seguintes critérios devem ser levados em conta:

1) Para os fungos que cresceram com **chuva**, com Pb ou com Zn, contam-se aqueles que só cresceram na época da chuva (no caso, 1ª e 2ª coletas) e denomina-se **c** (situação a = chuva).

2) Para os fungos que cresceram na **seca**, com Pb ou com Zn, contam-se aqueles que só cresceram na época da seca (no caso 3ª e 4ª coletas) e denomina-se **s** (situação b = seca).

3) Para os fungos que cresceram tanto com **chuva** como na **seca**, ou com Pb ou com Zn, contam-se os fungos que apresentaram crescimento nos períodos desde a 1ª até a 4ª coletas (**c + s**) (situação a + b).

O valor de **A** é a somatória dos fungos que cresceram na época de chuva **c** e com aqueles que ocorreram tanto na época de chuva como na de seca (**c + s**). Logo: **A = c + (c + s)** ou $A = a + w$.

O valor de **B** é a somatória dos fungos que cresceram na época de seca **s** e com aqueles que ocorreram tanto na época de chuva como na de seca (**c + s**). Logo: **B = s + (c + s)** ou $B = b + w$.

4) O valor de **w** é a somatória dos fungos que ocorreram tanto na época de chuva como na de seca: **w = (c + s)** ou $w = a + b$.

4.8. Comparações entre as micotas obtidas

Desta forma, foram comparadas as micotas nas seguintes situações:

- a) Fungos que cresceram com chuva, na seca e nas duas épocas, na presença de Pb e na presença de Zn;
- b) Número de fungos entre cada grupo de dois locais, com Pb e com Zn;
- c) Fungos que cresceram com Pb e com Zn.

4.9. Realização dos testes de tolerância

4.9.1. Seleção das linhagens de fungos a serem testados

Dentre os taxons encontrados na área de estudo, decidiu-se que seriam escolhidos dois pertencentes a dois gêneros diferentes, sendo um que tivesse uma boa regularidade de ocorrência nas coletas e outro que tivesse sido coletado poucas vezes durante todas as etapas do experimento.

Classificação taxonômica dos fungos selecionados:

Reino: Fungi

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Phylum: Ascomycota

Ordem: Eurotiales

Ordem: Eurotiales

Família: Trichocomaceae

Família: Trichocomaceae

Gênero: *Paecilomyces*

Gênero: *Aspergillus*

Espécie: *lilacinus*

Espécie: *terreus*

Autor: (Thom) Samson

Autor: Thom

4.9.2. Padronização dos inóculos para os testes

Os inóculos foram preparados a partir de colônias puras, crescidas em MEA durante sete dias; com o auxílio de um furador de rolha estéril, confeccionaram-se discos de 5 mm de diâmetro. Estes discos foram colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro), contendo 20 cm³ do meio de MEA, permanecendo incubados em câmara climatizada a 22,5 ° C durante 5 dias. Durante a operação de vazar as placas com o meio de cultura ainda líquido, teve-se o cuidado de manter as placas na horizontal, afim de que os discos de meio sólido apresentassem uma espessura homogênea.

4.9.3. Preparo dos meios nutritivos contendo Pb e Zn

Testes preliminares feitos com os fungos em estudo mostraram que o meio de Czapek modificado, devido à sua composição, fornecia uma grande quantidade de biomassa. Como o Pb seria um dos metais testados, todos os componentes originais do meio, como cloretos, fosfatos e sulfatos foram substituídos pelos nitratos e acetatos correspondentes, para evitar a precipitação daqueles íons inorgânicos.

O extrato de levedura e a peptona são substâncias de natureza protéica; durante a adição dos sais, tanto do Pb como do Zn, observou-se a formação de turvações brancas – os proteinatos de Pb e de Zn. Presumivelmente, durante a esterilização do meio na autoclave, formam-se mais precipitados volumosos de proteínas desnaturadas, que se somam aos precipitados anteriores, fazendo com que se considere um desconto dessas massas, que não passam pelo filtro e aumentam o valor da biomassa.

Por este motivo, foi realizado um experimento, no qual foi empregado o meio de Czapek modificado, adicionado das onze diferentes concentrações dos dois metais, usadas durante todos os testes de tolerância. Após a esterilização na autoclave das misturas do meio Czapek com os metais, na ausência de fungos, fez-se a filtração nos papéis de filtro previamente pesados e deixou-se secar em estufa a 60 ° C, até peso constante.

Com este procedimento, determinou-se que massa deveria ser subtraída da massa final, para obter apenas a biomassa oriunda do crescimento do fungo.

A composição básica do meio Czapek modificado foi a seguinte:

Sacarose.....	30 g
Peptona.....	1 g
Extrato de levedura	5 g
Concentrado Czapek.....	10 cm ³
Água destilada, q.s.p.....	1 dm ³

A solução do concentrado Czapek era composta por:

NaNO ₃	30,00 g
KNO ₃	7,00 g
MgAc ₂ · 4H ₂ O.....	4,40 g

Zn(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O.....	0,11 g
CuAc ₂ · H ₂ O.....	0,04 g
Fe(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O.....	0,15 g
Água destilada, q.s.p.....	100,00 cm ³
pH do meio	6,51

Nos experimentos de tolerância com nitrato de Pb reconhecidamente tóxico, foram escolhidas quatro concentrações desse sal de modo a fornecer 250; 500; 750 e 1000 mg/dm³ de Pb⁺⁺. O teste foi feito em duplicata, num total de oito amostras em cada dia de coleta. Foram sete dias de amostragem, cuja ordem foi: 2^o, 4^o, 6^o, 8^o, 12^o, 16^o e 20^o dia.

Os experimentos com nitrato de zinco, que não é considerado tóxico em pequenas quantidades, foram efetuados com quatro concentrações maiores do mesmo, de modo a fornecer 1000; 2000; 3000 e 4000 mg/dm³. de Zn⁺⁺. O teste foi feito em duplicata, oito amostras em cada dia de coleta. Foram oito dias de amostragem, cuja ordem foi: 2^o, 4^o, 6^o, 8^o, 12^o, 18^o, 24^o e 30^o dia., para o *Aspergillus terreus* e 1.000; 2.000; 3.000; 4.000; 6.000; 8.000 e 10.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺ para o *Paecilomyces lilacinus*. no mesmo período.

4.9.4. Construção das curvas de crescimento

Com a finalidade de estabelecer curvas de crescimento dos fungos selecionados, inocularam-se discos de colônias de 5 mm de diâmetro padronizados (crescidos em meio de Czapek modificado a 25°C durante sete dias) em cada um dos erlenmeyers, contendo 100 cm³ do meio de Czapek modificado, sem a adição de metais.

Os erlenmeyers assim montados foram colocados em mesas agitadoras, onde ficaram sob agitação de 120 rpm e a 25 ° C. Em intervalos de dias pré-programados, retiraram-se três amostras que eram filtradas com papéis de filtro comum previamente pesado, colocados em placas de Petri e a seguir em estufa, onde foram secados até peso constante.

Para determinar o peso médio dos discos usados como inóculos, foram separados dez discos de colônias, de cinco centímetros de diâmetro, de cada linhagem, que foram colocados sobre um vidro de relógio e dentro de estufa,

para serem secos a 60°C até peso constante. A massa de cada inóculo foi calculada através da média dos dez discos.

Os valores obtidos foram organizados em planilha de programa Excel para a elaboração da curva de crescimento, permitindo a estimativa do período de crescimento inicial, exponencial, e máximo de cada linhagem testada.

4.9.5. Determinação do EC₅₀ e do EC₁₀₀

Neste método de determinação (HARTLEY et al., 1997), a taxa de crescimento das linhagens foi estimada através da biomassa produzida em meio de cultura líquido. Foi feita uma adaptação do método empregado por *Hartley* et al. (1997) para a determinação do EC₅₀.

O teste de EC₅₀ determina a concentração tóxica de determinado agente que inibe ou prejudica 50% dos organismos testados. Neste teste, cada um dos discos de colônias (5 mm de diâmetro) foi inoculado em erlenmeyers contendo 100 cm³ de meio Czapek modificado, adicionados com diferentes concentrações de chumbo e de zinco, deixados sob agitação em mesa agitadora, a 120 rpm e a 25°C. Foi previamente determinada a média do peso dos discos das colônias. O período de agitação e incubação foi descrito no item anterior. As amostras foram filtradas em papel de filtro comum, previamente pesado, duas de cada concentração. O micélio obtido no filtro foi colocado em estufa por 60°C, até peso constante.

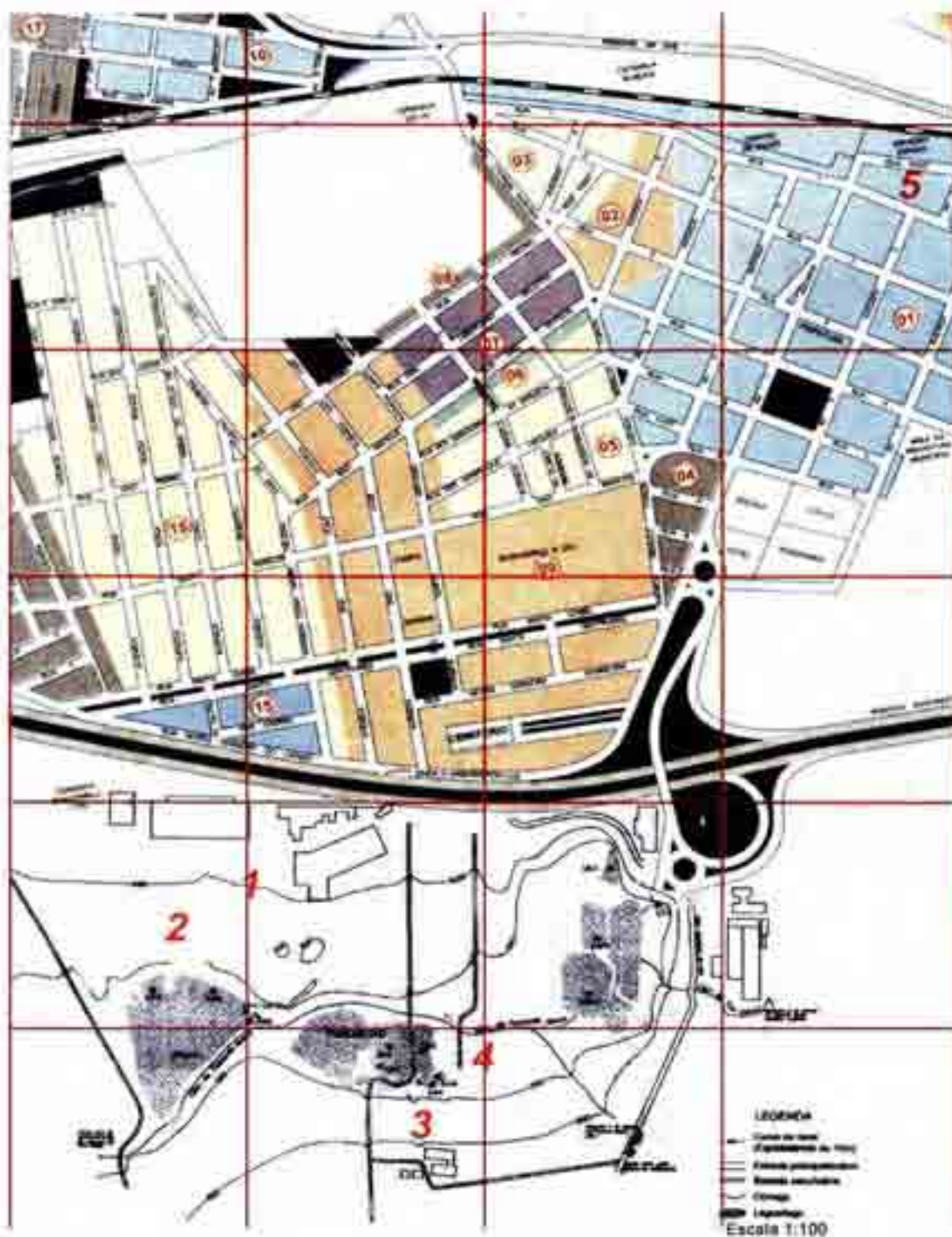
Neste trabalho, a porcentagem de inibição de 50% da taxa de crescimento dos fungos foi estimada por estatística de regressão linear; a taxa de crescimento varia em função da concentração do cátion metálico. Alguns valores das concentrações, originalmente em mg/dm³ puderam ser transformados em logaritmos decimais para linearizar valores.

Os dados foram colocados em gráficos cartesianos, com a concentração inibitória em porcentagem, em função da concentração do metal. Foram obtidas equações de retas, a partir das quais foi possível calcular as concentrações inibitórias dos metais. Assim, quando na equação da reta : $y = bx + a$, se substitui y por 50, obtém-se o valor correspondente de x para estabelecer o valor da EC₅₀.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização climática e química das áreas de estudo.

As coordenadas geográficas dos pontos de coleta foram determinadas com o uso do G.P.S. (Globe Positioning System), Garmin, sendo as seguintes: Local 1 (área com pouca vegetação e de solo pouco úmido) - 22° 27.768' S – 47° 32.488' W; Local 2 (área rica em pastagens e solo úmido e pantanoso) - 22° 27.816' S – 47° 32.540' W; Local 3 (área situada na região central em relação aos lagos) - 22° 27.959' S – 47° 32.359' W; Local 4 (região alagadiça próxima aos dois lagos pesqueiros) - S 22° 27.977' S – 47° 32.372' W e Local 5 (local fora do pólo cerâmico, localizada em jardim público no perímetro urbano de Santa Gertrudes) - 22° 27.194' S – 47° 32.657' W.



5.1.1 Localização dos pontos de coleta no município de Santa Gertrudes S.P.



5.1.2 (Foto 1). Local da coleta 1 na região dos lagos – parte alta – Pólo Cerâmico de Santa Gertrudes

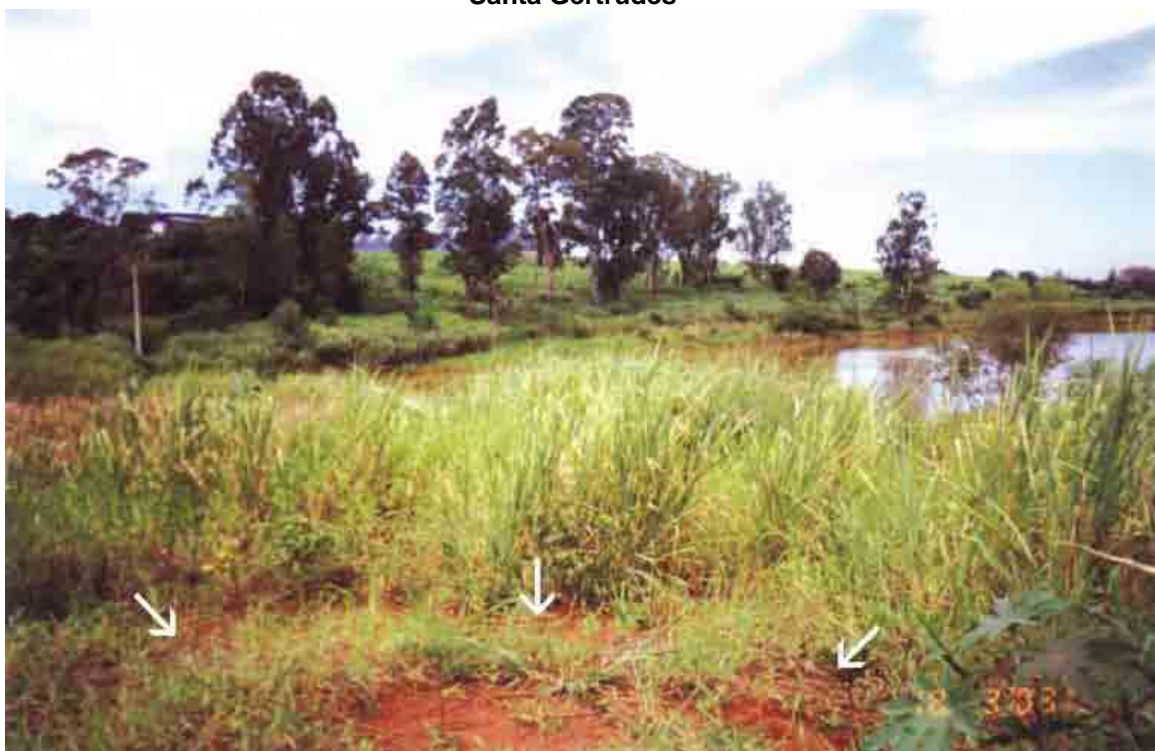


Foto 2. Local da coleta 2 na região dos lagos – parte média – Pólo Cerâmico de Santa Gertrudes – S. P.



Foto 3. Local da coleta 3 na região dos lagos – parte baixa – Pólo Cerâmico de Santa Gertrudes – S. P.



Foto 4. Local da coleta 4 na região dos lagos – parte baixa – Pólo Cerâmico de Santa Gertrudes – S. P.



Foto 5. Local da coleta 5 na região urbana de Santa Gertrudes – S. P., próximo à antiga Estação Ferroviária..



Foto 6. Local da coleta 5 na região urbana de Santa Gertrudes – S. P., próximo à antiga Estação Ferroviária..

5.1.3 Dados meteorológicos

De acordo com os dados meteorológicos, fornecidos pela estação meteorológica, as coletas de 15.11.2002 e 18.03.2003 foram realizadas em época chuvosa, sendo que nestes dias a precipitação pluviométrica correspondeu a 27,6 e 27,1 mm, respectivamente, com acúmulo de 288,2 mm de chuvas em novembro de 2002 e 96,9 mm em março de 2003. Nos dias das coletas realizadas em 28.05.2003 e 30.06.2003 não foi registrada a ocorrência de chuva, havendo o acúmulo de 45,8 mm em abril de 2003 e 15,6 mm em junho de 2003, situando estes meses em época climática seca.

Com relação à temperatura, os valores médios corresponderam a 25,23°C em 15.11.2003 (1ª. coleta), 24,88°C em 18.03.2003 (2ª. coleta), 19,75°C em 28.05.2003 (3ª. coleta) e a 20,56°C em 30.06.2003 (4ª. coleta). A umidade relativa do ar situou-se entre 70,67 e 75,00% nas três primeiras coletas, diferindo da última coleta, em 30.06.2003, na qual a umidade relativa do ar correspondeu a 57,33% (valores fornecidos pelo CEAPLA/IGCE-UNESP).

Os dados meteorológicos confirmam os dados sobre a região, já disponíveis na literatura (SALATTI, 1997), segundo a qual o clima de Santa Gertrudes é do tipo Cwa, segundo o Sistema Köppen: subtropical, seco no inverno e chuvoso no verão. O regime de chuvas é tropical, com duas estações definidas: período seco, o qual se estende de abril a setembro, com menos de 20% das precipitações totais, correspondendo às médias próximas de 250 mm em 20 dias; período chuvoso, o qual se prolonga de outubro a março, sofrendo a influência da massa tropical, com mais de 80% das precipitações anuais, que atingem a média de 1.100 mm em 60-70 dias.

5.1.4 Análise do solo

Tabela 1: Valores individuais dos teores de umidade (n = 18) e pH do solo em cada local de coleta no pólo cerâmico de Sta. Gertrudes, SP.

	1ª coleta 15/11/2002		2ª coleta 18/03/2003		3ª coleta 28/05/2003		4ª coleta 30/06/2003	
Temp.	21° C		24° C		25° C		24° C	
Local	Umidade	pH	Umidade	pH	Umidade	pH	Umidade	pH
1	—	—	16,24%	6,45	18,42%	6,50	8,94%	6,35
2	28,15%	6,03	13,84%	6,29	17,60%	6,52	7,60%	6,22
3	16,65%	6,08	13,08%	8,09	17,67%	8,65	7,83%	7,84
4	17,44%	5,00	19,43%	6,89	11,22%	7,31	4,89%	6,65
5	—	—	12,46%	6,01	8,22%	6,91	4,17%	6,64

As temperaturas do solo durante as coletas foram de 21° C na 1ª coleta, 24° C na 2ª, 25° C na 3ª e 24° C na última coleta (tabela 1). Os valores médios da umidade do solo variaram em torno de 20 % na 1ª coleta, 15 % na 2ª e 3ª coletas e 7 % na última coleta. Com relação ao pH, os valores apresentaram poucas variações, tanto entre os locais quanto entre as coletas, situando-se entre 6,0 e 7,0 (72,23% dos valores encontrados). Esses representam valores maiores do que o esperado para a região, que, segundo Bonacin-Silva, estão entre 3,5 e 4,0 (BONACIN-SILVA, 2001).

O pH neutro deve ser levado em consideração com cuidado, pois a influência deste parâmetro sobre a tolerância, resistência, ou mesmo sobre a retenção de metais é bem conhecida e depende do tipo de metal, concentração e grupo de microrganismos. Starkey, (1973) demonstrou que diversos fungos apresentam maior tolerância ao cobre em condições mais alcalinas de pH. Ledin, (2000) apresenta diversas hipóteses para explicar estas observações. Supõe-se que alguns microrganismos lancem compostos orgânicos quelantes no ambiente, ou que o pH mais elevado ocasione mudanças iônicas a nível de parede celular, permitindo a adesão de cátions metálicos ou ainda, que as

condições de pH mais elevado permitam a formação de complexos neutros ou aniônicos com menor afinidade para a superfície microbiana do que as formas livres dos metais. Nordgren et al., (1983) também observaram elevações no pH de solo podzólico em clima temperado desde que metais foram adicionados ao solo sob a forma de óxidos.

Com exceção do pH, que no presente estudo apresentou-se fracamente ácido, as características do solo condizem com os resultados obtidos no levantamento pedológico e geológico da região realizado por Bonacin-Silva, (2001). Sob ponto de vista micológico, pode-se considerar que as variações abióticas características da região situam-se na faixa de tolerância que geralmente os fungos apresentam diante das condições do ambiente terrestre (DOMSCH et al., 1980), não havendo, portanto, nenhuma limitação expressiva que possa eventualmente comprometer a sua diversidade.

Com relação aos teores de chumbo e zinco presentes no solo, os teores destes metais condizem com os anteriormente determinados por Bonacin-Silva, (2001) na superfície, sendo considerados valores elevados. Na tabela 2 são apresentados os valores orientadores para solos de uso agrícola citados pelo autor, o qual usou a CETESB como referência.

Tabela 2 Valores orientadores para solos para uso agrícola (em mg/dm³)*

Metal	Referência	Alerta	Intervenção
Chumbo*	17	50	200
Cobalto	13	25	40
Cobre	35	60	100
Zinco*	60	300	500

(*) CETESB, SMA.

Na tabela 3 são apresentados os teores de Zn, Pb e de matéria orgânica encontrados em Santa Gertrudes (S.P.) nos locais de coleta visitados nas quatro coletas.

Tabela 3. Teores de matéria orgânica (g/dm^3) e de Zn e Pb (mg/dm^3) encontrados no solo até 5 cm de profundidade na região de Santa Gertrudes, SP, nos cinco locais de coleta e durante as quatro coletas. Análises feitas pelo Instituto Campineiro de Análises de Solos e de Adubo.

Local	Gramas de Matéria orgânica por dm^3			
	1	-----	10,30	12,00
2	41,30	20,60	22,40	20,60
3	24,10	15,50	20,60	44,70
4	41,32	48,20	18,90	25,80
5	-----	39,60	43,00	48,20

Local	Miligramas de Zinco por dm^3			
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
1	----	2,44	4,48	3,00
2	22,80	0,82	1,44	0,92
3	3,80	34,20	30,60	29,20
4	10,40	23,80	25,80	35,40
5	----	5,14	6,74	5,92

Local	Miligramas de Chumbo por dm^3			
	1	----	0,73	0,68
2	45,16	1,19	2,09	1,67
3	7,42	908,40	281,00	193,92
4	58,00	206,80	340,40	323,40
5	----	3,56	3,48	5,79

O local 2 apresentou as menores concentrações de Zn durante as coletas 2, 3 e 4 e o local 1 apresentou as menores concentrações de Pb durante as coletas 2, 3 e 4. Os maiores valores de Zn foram encontrados no local 3, durante a segunda e a terceira coletas e no local 4, durante a quarta coleta. As maiores concentrações de Pb foram encontradas no local 3, durante a segunda coleta e no local 4, durante a terceira e a quarta coletas (tabela 3).

Quanto à matéria orgânica disponível, pode-se observar que os locais 1 e 2 foram os que tiveram menores teores, sendo que os locais 3, 4 e 5 apresentaram quantidades mais altas. Segundo Primavesi (1990), o aumento da concentração de íons, (no presente caso, os locais 3 e 4) pode acarretar a

complexação de metais pesados. Gadd et al., (2001) constataram que o aumento de matéria orgânica na forma de fonte de carbono disponível diminuía a toxidez aparente dos metais. O local 5 é normalmente rico em matéria orgânica por se tratar de uma área com densidade de vegetação mais alta.

O jardim público no perímetro urbano de Santa Gertrudes (local 5), por se achar fora e longe das cerâmicas do município, havia sido escolhido para servir como provável referência de solo, isento de metais (como altas concentrações de Zn e de Pb). Os resultados das análises químicas do solo, porém, mostraram que as concentrações, tanto de Zn como de Pb deste local eram um pouco maiores que as concentrações achadas nos locais 1 e 2 (dentro do pólo cerâmico).

Apesar de serem valores abaixo dos valores de referência da CETESB que preconiza limite de 60 mg/dm^3 para o Zn e 17 mg/dm^3 para o Pb, pode-se considerar que os locais 1 e 2 se encontram situados em um nível mais elevado do que os locais 3 e 4, tendo possivelmente sofrido um processo de lixiviação no decorrer do tempo, enquanto o local 5, dentro do perímetro urbano, pode ter recebido um tipo de solo oriundo daquela região já com estes metais, enriquecido ainda por contaminantes que vieram pelo ar ou pelas enxurradas das ruas e avenidas do município de Santa Gertrudes. Os locais 3 e 4 não atingiram o valor referência para o Zn, mas o ultrapassaram no caso do Pb, indicando grande interferência antropogênica naquela região..

5.2. Diversidade dos fungos

Durante o período do estudo foram obtidas 1600 culturas de fungos terrestres. Dentre estes, foram identificados 70 táxons de fungos anamorfos, isolados em MEA, acrescido tanto de Pb como de Zn (tabelas 4 a 13).

Na literatura são encontrados alguns estudos semelhantes sobre fungos de solos impactados, nos quais o número de táxons apresentou-se menor do que o obtido no solo do município de Santa Gertrudes. Por exemplo, em áreas afetadas por poluição (área em Cubatão), foram obtidos 43 táxons de fungos mitospóricos (SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2006) e em levantamentos dos

fungos terrestres às margens da Represa do Guarapiranga, na cidade de São Paulo, foram obtidos em torno de 60 táxons, em áreas severamente afetadas por influência da poluição por sulfato de Cu e outras atividades antrópicas (SANTOS et al., 1998).

Os meios de cultura sem adição de Pb ou de Zn foram considerados controles, sendo que a baixa diversidade dos fungos isolados nestas condições pode ser considerada surpreendente (tabelas 4 a 13). Durante o isolamento observou-se intensa proliferação de colônias de bactérias de coloração azulada, coloração branca leitosa, leveduras (possivelmente *Candida* spp.), colônias de *Absidia* spp. e *Mucor* spp. (Zygomycota). Entre os fungos anamorfos verificou-se a ocorrência de *Trichoderma aureoviride* Rifai, *Trichoderma pseudokoningii* Rifai, *Trichoderma viride* Pers. Ex Gray e *Cladosporium herbarum* (Pers.) link. Ex. S. F. Gray, predominantemente nas amostras procedentes das coletas conduzidas na época seca.

Tendo em vista a pouca presença de colônias de microrganismos nos meios controle, considerou-se interessante obter culturas de todos, mesmo que poucas. Quando as colônias de bactérias e de leveduras, porém, foram transferidas para outros meios, o crescimento das mesmas não evoluiu, impossibilitando a obtenção de culturas.

As culturas de espécies pertencentes a Zygomycota foram isoladas em "Synthetic Mucor Agar" e foram incluídas em um levantamento específico deste grupo taxonômico no solo da mesma região, cujos resultados deverão constar em outro trabalho (José Ivanildo de Souza, Instituto de Botânica, São Paulo – comunicação pessoal, 2006).

O índice de similaridade de Sørensen, comparando a micota obtida nos meios de cultura acrescido de doses de Pb e a obtida nos meios acrescidos de Zn, ficou entre 60 a 80%, valor que pode ser considerado alto. Christensen, (1989), considera índices acima de 60% relativamente elevados para ecossistemas nos quais a biodiversidade é elevada, como geralmente ocorre nos trópicos.

O total de 43 táxons foi obtido no isolamento dos fungos em meios de cultura adicionados com doses crescentes de Pb (Tabela 15). Entre estes foi

obtido *Penicillium decumbens* Thom, cujas características taxonômicas condizem com a descrição original da espécie. Também foi obtida linhagem da mesma espécie, porém com algumas características morfológicas atípicas, as quais precisarão ser analisadas criteriosamente para confirmar se a mesma é uma variedade, forma ou ecótipo, tendo em vista que foi isolada de ambientes impactados e de meio de cultura acrescido de 1000 mg de Pb/dm³. A tabela 16 apresenta os 63 fungos isolados em meios de cultura adicionados com doses crescentes de Zn.

As tabelas de 4 a 13 relacionam os fungos encontrados em cada um dos cinco locais de coleta, indicando em que concentrações do sal de Pb ou de Zn cresceram no laboratório e de qual coleta (indicada pelos números de 1 a 4 nas colunas da direita) é a amostra.

Vale salientar que as amostras que cresceram sem metais foram incluídas nas tabelas dos fungos que cresceram com Zn. Esta inclusão foi aleatória, não obedecendo a qualquer critério pré-estabelecido.

Foram determinadas as ocorrências dos táxons em cada um dos locais durante as quatro coletas (tabelas 4 a 13). Pode-se observar que o local 3 foi o único que não teve fungo crescendo na ausência de metal (tabelas 6 e 11). Em todos os casos, o número de fungos que cresceram com Zn (tabelas 4 a 8) foi maior do que o número daqueles que cresceram com Pb (tabelas 9 a 13).

Os locais 1 e 3 apresentaram maior quantidade de fungos (33) que cresceram com Zn (tabelas 4 e 6). Em relação ao Pb, foi o local 2 (tabela 10) que apresentou um número maior (26).

Condições de crescimento	Locais de coleta/Número de taxons				
	1	2	3	4	5
Sem metais	3	3	—	2	2
Com Zn em diferentes conc.	33	29	33	22	23
Com Pb em diferentes conc.	23	26	11	14	14

Tabela 4. Fungos que cresceram com Zn no local 1

Local 1 (33 Táxons)	Concentrações em mg / dm ³ .				
	S/M	100	200	500	1000
<i>Acremonium larvarum</i>	—	—	—	3	—
<i>Alternaria alternata</i>	—	4	—	—	—
<i>Aspergillus fumigatus</i>	—	3	—	—	4
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	—	—	4	—	—
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	—	—	—	3,4	—
<i>Cladosporium herbarum</i>	—	—	4	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	2,4	4	—	4	4
<i>Fusarium sambucinum</i>	—	—	—	4	—
<i>Fusarium solani</i>	—	—	3	3	4
<i>Geotrichum candidum</i>	—	—	—	—	4
<i>Paecilomyces carneus</i>	—	—	3	2,4	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	4	4	3,4	4
<i>Paecilomyces variotii</i>	—	—	2	—	—
<i>Penicillium brevicompactum</i>	—	2	—	—	—
<i>Penicillium canescens</i>	—	—	4	4	—
<i>Penicillium citreonigrum</i>	—	—	3,4	—	—
<i>Penicillium corylophilum</i>	—	—	4	4	—
<i>Penicillium decumbens</i>	—	—	3	—	—
<i>Penicillium griseofulvum</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium griseoroseum</i>	—	—	—	2,4	4
<i>Penicillium hirsutum</i>	—	—	4	—	—
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	—	2,4	2,3
<i>Penicillium miczinskii</i>	—	—	4	—	—
<i>Penicillium pinophilum</i>	—	—	3	—	—
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	4	4	2,4	—
<i>Penicillium restrictum</i>	—	4	4	3,4	4
<i>Penicillium rugulosum</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium variabile</i>	—	3	3	2	—
<i>Penicillium viridicatum</i>	—	—	—	4	4
<i>Phoma tropica</i>	—	—	4	—	—
<i>Trichoderma aureoviride</i>	3	4	—	—	3
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	3	—	—	—	—
<i>Trichoderma viride</i>	—	3	—	4	4

Tabela 5. Fungos que cresceram com zinco no local 2

Local 2	Concentrações em mg / dm ³ .				
	S/M	100	200	500	1000
Fungos que cresceram com zinco (29 táxons)					
<i>Acremonium larvarum</i>	—	—	—	2	—
<i>Aspergillus flavus</i>	—	—	—	—	2
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	—	—	3	2	—
<i>Cladosporium herbarum</i>	—	—	3	—	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	—	—	2	—
<i>Penicillium citrinum</i>	—	1	—	—	—
<i>Penicillium corylophilum</i>	—	—	3	—	—
<i>Penicillium dangeardii</i>	—	—	—	1	—
<i>Penicillium decumbens</i>	—	1	2	1	—
<i>Penicillium expansum</i>	—	—	3	—	—
<i>Penicillium fellutanum</i>	—	—	—	1	—
<i>Penicillium griseofulvum</i>	—	1	2	—	—
<i>Penicillium griseoroseum</i>	—	1	—	—	—
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	—	3	—
<i>Penicillium minioluteum</i>	—	—	—	2	—
<i>Penicillium oxalicum</i>	—	—	—	1	—
<i>Penicillium puberulum</i>	—	—	—	3	—
<i>Penicillium purpurogenum</i>	2	3	3	3	3
<i>Penicillium restrictum</i>	—	3	3	1,3	—
<i>Penicillium rugulosum</i>	—	—	3	1,3	—
<i>Penicillium variabile</i>	—	3	—	—	3
<i>Penicillium verruculosum</i>	—	—	3	3	—
<i>Phoma jolyana</i>	—	—	—	2	—
<i>Phoma tropica</i>	—	—	3	—	—
<i>Trichoderma aureoviride</i>	—	—	3	—	—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	3	1	1	—	—
<i>Trichoderma viride</i>	3	3	—	—	—
<i>Verticillium albo-atrum</i>	—	—	—	2	—
<i>Verticillium lecani</i>	—	—	3	—	3

Tabela 6. Fungos que cresceram com zinco no local 3

Local 3 – (33 táxons)	Concentrações em mg / dm ³ .				
Fungos que cresceram com zinco	S/M	100	200	500	1000
<i>Acremonium larvarum</i>	—	—	—	3	—
<i>Alternaria alternata</i>	—	—	4	—	—
<i>Aspergillus candidus</i>	—	—	—	1	—
<i>Aspergillus japonicus</i>	—	4	—	4	—
<i>Aspergillus terreus</i>	—	1	—	1	—
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	—	4	4	—	—
<i>Cladosporium herbarum</i>	—	—	4	—	—
<i>Curvularia androgonis</i>	—	—	4	—	—
<i>Curvularia harveyi</i>	—	4	—	—	—
<i>Curvularia lunata</i>	—	—	4	—	—
<i>Curvularia palescens</i>	—	4	—	—	—
<i>Drechlera ravenelli</i>	—	—	4	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	—	—	4	4	—
<i>Fusarium sambucinum</i>	—	—	4	—	2
<i>Fusarium solani</i>	—	—	—	2	4
<i>Geotrichum candidum</i>	—	—	—	—	4
<i>Nigrospora oryzae</i>	—	4	—	—	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	—	2	1	4
<i>Penicillium camemberti</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium citreonigrum</i>	—	3	—	—	—
<i>Penicillium dangeardii</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium decumbens</i>	—	1,3	—	—	—
<i>Penicillium expansum</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium griseofulvum</i>	—	2	—	—	—
<i>Penicillium hirsutum</i>	—	—	—	—	2
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	2	—	—	—
<i>Penicillium oxalicum</i>	—	—	—	2	—
<i>Penicillium raistrickii</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium restrictum</i>	—	1,4	—	4	3
<i>Penicillium rugulosum</i>	—	3	—	—	—
<i>Penicillium variable</i>	—	3	3	2	—
<i>Penicillium viridicatum</i>	—	—	—	4	—
<i>Trichoderma viride</i>	—	—	4	—	1

Tabela 7. Fungos que cresceram com zinco no local 4

Local 4	Concentrações em mg / dm ³ .				
	S/M	100	200	500	1000
Fungos que cresceram com zinco (22 taxons)					
<i>Aspergillus flavus</i>	—	—	4	—	—
<i>Aspergillus terreus</i>	—	1	—	1	—
<i>Fusarium nivale</i>	—	—	3	4	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	—	3	3,4	—	—
<i>Fusarium sambucinum</i>	2	3	—	—	—
<i>Fusarium solani</i>	—	—	4	—	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	3	—	—	—
<i>Penicillium coryophilum</i>	—	—	3	1	4
<i>Penicillium decumbens</i>	—	—	4	—	—
<i>Penicillium expansum</i>	—	—	1	—	—
<i>Penicillium fellutanum</i>	—	3	—	—	—
<i>Penicillium implicatum</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	1	—	—
<i>Penicillium javanicum</i>	—	3	—	—	—
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	—	—	1	—
<i>Penicillium raistrickii</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium restrictum</i>	—	—	—	3,4	—
<i>Penicillium viridicatum</i>	—	—	—	4	—
<i>Penicillium waksmanii</i>	—	3	—	—	2
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	—	3	—	4	—
<i>Trichoderma viride</i>	2,3	1,3	4	—	—
<i>Verticillium lecanii</i>	—	—	3	3	—

Tabela 8. Fungos que cresceram com zinco no local 5

Local 5 Fungos que cresceram com zinco (23 taxons)	Concentrações em mg / dm ³ .				
	S/M	100	200	500	1000
<i>Alternaria alternata</i>	—	—	—	4	—
<i>Aspergillus alutaceus</i>	—	—	—	3	—
<i>Ciliindrocladium scoparum</i>	—	—	4	—	—
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	—	—	3	—	—
<i>Cladosporium herbarum</i>	—	—	—	3	—
<i>Curvularia lunata</i>	—	—	3	—	—
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	—	—	2	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	4	—	2	—	—
<i>Fusarium solani</i>	—	—	—	4	—
<i>Geotrichum candidum</i>	—	—	—	—	4
<i>Gliocadium roseum</i>	—	4	—	—	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	—	3	3,4	3,4
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	—	3	—
<i>Penicillium oxalicum</i>	—	—	4	—	—
<i>Penicillium puberulum</i>	—	—	—	3	—
<i>Penicillium restrictum</i>	—	—	—	3	—
<i>Penicillium rugulosum</i>	—	—	—	3	—
<i>Phoma tropica</i>	—	—	3	—	—
<i>Trichoderma aureoviride</i>	2	3	—	—	2
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	—	—	3	—	—
<i>Trichoderma viride</i>	—	3	3	—	—
<i>Verticillium albo-atrum</i>	—	—	2	—	—
<i>Verticillium lecanii</i>	—	—	4	—	—

Tabela 9. Fungos que cresceram com chumbo no local 1

Local 1	Concentrações em mg / dm ³ .			
	100	200	500	1000
Fungos que cresceram com chumbo (23 taxons)				
<i>Alternaria alternata</i>	—	—	4	4
<i>Aspergillus niger</i>	—	—	—	4
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	4	—	4	—
<i>Cladosporium herbarum</i>	4	—	—	4
<i>Curvularia lunata</i>	4	—	—	—
<i>Fusarium sambucinum</i>	4	—	—	—
<i>Geotrichum candidum</i>	2	—	—	—
<i>Nigrospora oryzae</i>	—	—	4	—
<i>Paecilomyces carneus</i>	—	—	—	2
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	—	—	4
<i>Penicillium citreonigrum</i>	—	—	—	4
<i>Penicillium decumbens</i>	—	—	2	3
<i>Penicillium. decumbens</i> atípico	—	—	—	2
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	3	2,4
<i>Penicillium pinophilum</i>	—	3	—	—
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	3	—	—
<i>Penicillium restrictum</i>	—	—	—	2
<i>Penicillium variabile</i>	3	2,3	—	2,3
<i>Penicillium vulpinum</i>	—	—	—	4
<i>Penicillium waksmanii</i>	—	—	—	2
<i>Trichoderma aureoviride</i>	—	2,3	—	—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	3	—	4	—
<i>Trichoderma viride</i>	3,4	3,4	3,4	4

Tabela 10. Fungos que cresceram com chumbo no local 2

Local 2 Fungos que cresceram com chumbo (26 taxons)	Concentrações em mg / dm ³ .			
	100	200	500	1000
<i>Aspergillus terreus</i>	—	—	—	2
<i>Cladosporium herbarum</i>	—	—	—	2
<i>Curvularia lunata</i>	—	—	—	2
<i>Curvularia palescens</i>	—	—	—	3
<i>Paecilomyces carneus</i>	—	—	3	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	—	—	3
<i>Penicillium citreonigrum</i>	—	—	—	2
<i>Penicillium corylophilum</i>	—	—	—	1
<i>Penicillium decumbens</i>	—	—	—	1
<i>Penicillium fellutanum</i>	—	—	1	—
<i>Penicillium griseofulvum</i>	—	—	1	—
<i>Penicillium islandicum</i>	—	—	3	—
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	1	1	1
<i>Penicillium minioluteum</i>	—	—	2	—
<i>Penicillium oxalicum</i>	1	—	—	—
<i>Penicillium puberulum</i>	—	—	3	—
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	—	2	1,3
<i>Penicillium restrictum</i>	—	—	3	3
<i>Penicillium rugulosum</i>	—	—	3	—
<i>Penicillium variabile</i>	—	—	3	1,3
<i>Phoma tropica</i>	—	—	2	2
<i>Trichoderma aureoviride</i>	3	—	2,3	—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	3	3	—	2
<i>Trichoderma viride</i>	3	2,3	3	2
<i>Verticillium albo-atrum</i>	2	—	—	2
<i>Verticillium tenerum</i>	—	1	—	—

Tabela 11. Fungos que cresceram com chumbo no local 3

Local 3 (11 táxons)	Concentrações em mg / dm ³ .			
	100	200	500	1000
Fungos que cresceram com chumbo				
<i>Cladosporium herbarum</i>		—	—	4
<i>Curvularia lunata</i>	—	—	—	4
<i>Geotrichum candidum</i>	4	—	—	—
<i>Penicillium griseoroseum</i>	—	—	—	2
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	—	4
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	2	—	—
<i>Penicillium restrictum</i>	—	2	—	—
<i>Penicillium variabile</i>	—	—	3	3
<i>Trichoderma aureoviride</i>	3	3	—	—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	2,3	2,3,4	4	—
<i>Trichoderma viride</i>	3	3,4	3	—

Tabela 12. Fungos que cresceram com chumbo no local 4

Local 4 (14 táxons)	Concentrações em mg / dm ³ .			
	100	200	500	1000
Fungos que cresceram com chumbo				
<i>Fusarium oxysporum</i>	—	1,3	—	—
<i>Fusarium sambucinum</i>	—	1	1	—
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	3	—	1
<i>Penicillium corylophilum</i>	—	—	3	—
<i>Penicillium dangeardii</i>	—	—	—	2
<i>Penicillium decumbens</i>	—	—	—	3
<i>Penicillium echinulatum</i>	—	—	1	—
<i>Penicillium implicatum</i>	—	—	1	—
<i>Penicillium oxalicum</i>	—	—	1	1
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	—	2	2
<i>Penicillium variabile</i>	—	—	3	3
<i>Trichoderma aureoviride</i>	3	2		—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	4	3	3	—
<i>Trichoderma viride</i>	3,4	3,4	3	—

Tabela 13. Fungos que cresceram com chumbo no local 5

Local 5 Fungos que cresceram com chumbo (14 taxons)	Concentrações em mg / dm ³ .			
	100	200	500	1000
<i>Alternaria alternata</i>	—	—	3	4
<i>Aspergillus niger</i>	—	3	—	3
<i>Curvularia lunata</i>	—	—	3,4	3,4
<i>Nigrospora sphaerica</i>	—	—	—	2
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	—	—	—	3
<i>Penicillium decumbens</i>	—	—	3	—
<i>Penicillium janthinellum</i>	—	—	4	4
<i>Penicillium oxalicum</i>	—	—	4	—
<i>Penicillium purpurogenum</i>	—	—	2	2
<i>Penicillium variabile</i>	—	—	—	3
<i>Penicillium verruculosum</i>	—	—	—	3
<i>Trichoderma aureoviride</i>	3	3	3	—
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	—	3	3	4
<i>Trichoderma viride</i>	3,4	3,4	—	—

Tabela 14 Relação entre os taxons isolados em Meio de MEA 2% sem metais e acrescidos de Zn e de Pb nos inóculos de solo da região do pólo cerâmico de Santa Gertrudes, S.P.

Local	Nº Taxons	Zinco %	Nº Taxons	Chumbo %	Nº Taxons	Sem Metais %	Total de Taxons no local
1	33	55,00	23	38,34	4	6,66	60
2	29	50,00	26	44,82	3	5,17	58
3	33	75,00	11	25,00	0	0	44
4	22	59,46	14	37,83	3	7,69	39
5	23	58,97	14	35,89	2	5,13	39

Pela tabela acima verifica-se que os microrganismos isolados desta região já estão adaptados às concentrações elevadas, tanto de Zn como de Pb, pois cresceram predominantemente em meios contendo estes metais; o meio de MEA a 2% sem os metais, poderia ser considerado um meio “pobre” em termos de nutrientes, pois nas placas, que só continham o mesmo, o número de colônias foi reduzido. Dentre os metais estudados, o Zn demonstra ter menor influência em dificultar o crescimento, que foi mais de 50% em praticamente todos os locais de coleta, enquanto o Pb, aparentemente bloqueia parte do crescimento, permitindo que em média cerca de 36% dos fungos se desenvolvam.

Tabela 16 (continuação)

Coletas	Concentração de Zinco (mg/dm ³)																				
	Época chuvosa					2 ^a coleta					3 ^a coleta					Época seca					
	1SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	
<i>Paecilomyces lilacinus</i> Thom				3, 4				3	2				4, 5	1, 5	5		1	1	1, 5	1, 3, 4	5
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainer							1														
<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx							1														
<i>Penicillium camemberti</i> Thom																			3		
<i>Penicillium canescens</i> Sopp																		1	1		
<i>Penicillium citreonigrum</i> Dierckx											3	1						1			
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	2																				
<i>Penicillium corylophilum</i> Dierckx													2					1, 4	1		
<i>Penicillium dangeardii</i>				2															3		
<i>Penicillium decumbens</i> Thom	2, 3	4	2				2				3	1									
<i>Penicillium expansum</i> Link											4	2							3		
<i>Penicillium fellutanum</i> Biourge				2																4	
<i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx	2					3	2													1	
<i>Penicillium griseoroseum</i> Dierckx	2								1											1	1
<i>Penicillium hirsutum</i> Dierckx										3								1			
<i>Penicillium implicatum</i> Biourge			4																		
<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge						3		3	1	1	4		2, 5	1					1		
<i>Penicillium javanicum</i> (Friederichs & Bally) Brown & Smith											4		4								
<i>Penicillium miczinskii</i> K.M.Zalesky																		1			
<i>Penicillium minioluteum</i> Dierckx									2												
<i>Penicillium oxalicum</i> Currier & Thom				2					3									5			
<i>Penicillium pinophilum</i> Hedgecock												1									
<i>Penicillium puberulum</i> Bainer														2, 5							
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll				4		2			1		2	2	2	2	2		1	1	1		3, 4
<i>Penicillium raistrickii</i> G.Sm.																					
<i>Penicillium restrictum</i> J.C.Gilman & E.V. Abbott.	3			2							2	2	1, 2, 4	3		1, 3	1	1, 3, 4	1		

Tabela 16 (continuação)

Coletas	Concentração de Zinco (mg/dm ³)																								
	Época chuvosa									Época seca															
	1 ^a coleta			2 ^a coleta			3 ^a coleta			4 ^a coleta			1000			500			1000						
SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	SM	100	200	500	1000	
<i>Penicillium rugulosum</i> Thom			2																					1	
<i>Penicillium variabile</i> Sopp							1, 3					1, 2, 3	1, 3	2						2					
<i>Penicillium verruculosum</i> Peyronel																									
<i>Penicillium viridicatum</i> Westling																									1, 3, 4
<i>Penicillium waksmanii</i> K.M. Zalesky									4			4													
<i>Phoma jolyana</i> Pirozynski & Morgan-Jones								2																	
<i>Phoma tropica</i> Schneider & Boerema																									
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai						5			5						1	5	2			1					
<i>Trichoderma pseudokoningii</i> Rifai		2	2												1, 2	4	5								4
<i>Trichoderma viride</i> Pers ex Gray		4				3				4					2, 4	1, 2, 4	5							3, 4	1
<i>Verticillium albo-atrum</i> Reinke & Berthold																									
<i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viégas							5	2									2, 4	4		2				5	

5.2.1 Índices de similaridade segundo Sørensen, em relação ao regime pluviométrico, nos fungos que cresceram em meio de MEA 2% com diferentes concentrações de Zn.

Fungos exclusivos isolados na época de **chuva** em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Zn : 10 fungos : *Aspergillus candidus* ; *A . terreus* ; *Fusarium chlamydosporum* ; *Paecilomyces variotii* ; *Penicillium brevicompactum* ; *P. citrinum* ; *P. implicatum* ; *P. minioluteum* ; *Phoma jolyana* e *Verticillium albo-atrum*.

Fungos exclusivos isolados na época de **seca** em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Zn : 30 fungos : *Alternaria alternata* ; *Aspergillus alutaceus* ; *A .fumigatus* ; *A . japonicus* ; *Cladosporium herbarum* ; *Curvularia andropogonis* ; *C.harveyi* ; *C. lunata* ; *C. pallescens* ; *Cylindrocladium scoparium* ; *Drechslera ravenelli* ; *Fusarium nivale* ; *Geotrichum candidum* ; *Gliocadium roseum* ; *Nigrospora oryzae* ; *Penicillium canescens* ; *P. citreonigrum* ; *P. corylophilum* ; *P. expansum* ; *P. miczinskii* ; *P. pinophilum* ; *P. rastrickii* ; *P. verruculosum* ; *P. viridicatum* ; *P. javanicum* ; *P. camenberti* ; *P. puberulum* ; *Phoma tropica* e *Verticillium lecanii*.

Fungos comuns isolados na época de **chuva e de seca** em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Zn : 24 fungos : *Acremonium larvarum* ; *Aspergillus flavus* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *Fusarium oxysporum* ; *F. sambucinum* ; *F. solani* ; *Paecilomyces carneus*; *P. lilacinus*; *Penicillium griseofulvum* ; *P. decumbens* ; *P. dangeardii* ; *P. griseoroseum* ; *P. hirsutum* ; *P. janthinellum* ; *P. oxalicum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. rugulosum* ; *P. variabile* ; *P. waksmanii* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*

No cálculo do Índice de similaridade para os fungos que cresceram com **Zn** tem-se:

Com chuva = 10

Com chuva e seca = 24 $S = \frac{2 \times 24}{(10 + 24) + (29 + 24)} \times 100 = 55,17\%$

Com seca = 29

O índice de similaridade (segundo Sørensen) para fungos tratados com **Zn**, considerando-se o seu comportamento em relação ao regime pluviométrico, é de **55,17%** (de similaridade entre as estações).

5.2.2 Índices de similaridade segundo Sørensen, em relação ao regime pluviométrico, nos fungos que cresceram em meio de MEA 2% com diferentes concentrações de Pb.

Fungos exclusivos isolados na época de **chuva** (1^a e 2^a coleta) em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Pb : 14 fungos : *Aspergillus terreus* ; *Nigrospora sphaerica* ; *Penicillium dangeardii*; *P. griseofulvum* ; *P. decumbens atípico* ; *P. echinulatum* ; *P. fellutanum* ; *P. griseoroseum* ; *P. implicatum* ; *P. minioluteum* ; *P. waksmanii* ; *Phoma tropica* ; *Verticillium albo-atrum* e *V. tenerum*.

Fungos exclusivos isolados na época de **seca** (3^a e 4^a coleta) em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Pb : 12 fungos : *Alternaria alternata* ; *Aspergillus niger* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarum* ; *Curvularia pallescens* ; *Nigrospora oryzae* ; *Penicillium islandicum* ; *P. pinophilum* ; *P. puberulum* ; *P. rugulosum* ; *P. verruculosum* e *P. vulpinum*.

Fungos comuns isolados na época de **chuva e de seca** (1^a à 4^a coleta) em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Pb : 17 fungos : *Curvularia lunata* ; *Fusarium oxysporum* ; *F. sambucinum* ; *Penicillium citreonigrum* ; *P. corylophilum* ; *P. decumbens* ; *P. janthinellum* *P. oxalicum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Consultando a lista dos fungos que cresceram em **Pb**, verifica-se que:

Com chuva	= 14
Com chuva e seca	= 17
Com seca	= 12

O índice de similaridade (segundo Sørensen) para fungos tratados com Pb, considerando-se o seu comportamento em relação ao regime pluviométrico, é de **56,66%** (de similaridade entre as estações.)

5.2.3 Índices de similaridade segundo Sørensen, em relação aos números de fungos encontrados entre dois locais em cada grupo.

Para se realizar esse cálculo, é necessário determinar antes o número de **fungos exclusivos**, isto é, entre dois locais, são aqueles que ocorrem apenas em um dos locais de coleta, esses serão os valores atribuídos a **a** para o primeiro local e **b** para o segundo local, em seguida deve-se determinar o número de **fungos comuns** aos dois locais e que será atribuído o valor **W**

Fungos exclusivos de cada local isolados em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Zn.

Local 1 – 7 fungos : *Aspergillus fumigatus* ; *Paecilomyces carneus*; *P. variotii*; *Penicillium brevicompactum* ; *P. canescens*; *P. miczinskii* ; *P. pinophilum*.

Local 2 – 4 fungos: *Penicillium citrinum*; *P. minioluteum*; *P. verruculosum* e *Phoma jolyana*.

Local 3- 8 fungos: *Aspergillus candidus* ; *A. japonicus* ; *Curvularia andropogonis* ; *C. harveyi* ; *C. palescens* ; *Drechslera ravenelli* ; *Nigrospora oryzae* e *Penicillium camembertii*.

Local 4 – 4 fungos : *Fusarium nivale*; *Penicillium implicatum* ; *P. javanicum*; *P. waksmanii*.

Local 5 - 3 fungos : *Aspergillus alutaceus* ; *Fusarium chlamydosporum* e *Gliocadium roseum*.

Fungos comuns à dois locais isolados em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Zn

Local 1 – 2 17 fungos : *Acremonium larvarum* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarium* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium corylophilum* ; *P. decumbens* ; *P. griseofulvum* ; *P. griseoroseum* ; *P. janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. rugulosum* ; *P. variabile* ; *Phoma tropica* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 1 – 3 19 fungos : *Acremonium larvarum* ; *Alternaria alternata* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarium* ; *Fusarium oxysporum* ; *F. sambucinum* ; *F. solani* ; *Geotrichum candidum* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium citreonigrum* ; *P. decumbens* ; *P. griseofulvum* ; *P. hirsutum* ; *P. janthinellum* ; *P. restrictum* ; *P. rugulosum* ; *P. variabile* ; *P. viridicatum* e *Trichoderma viride*.

Local 1 - 4 12 fungos : *Fusarium oxysporum* ; *F. sambucinum* ; *F. solani* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium corylophilum* ; *P. decumbens* ; *P. janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. viridicatum* ; *Trichoderma pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 1 - 5 15 fungos: *Alternaria alternata* ; *Cylindrocladium scoparium* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarum* ; *Fusarium oxysporum* ; *F. solani* ; *Geotrichum candidum* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. resctricum* ; *P. rugulosum* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* ; *T. viride*.

Local 2 - 3 14 fungos : *Acremonium larvarum* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarum* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium dangeardii* ; *P. decumbens*; *P. expansum* ;

P. griseofulvum ; *P. janthinellum* ; *P. oxalicum* ; *P. restrictum* ; *P. rugulosum* ; *P. variabile* e *Trichoderma viride*.

Local 2 - 4 12 fungos : *Aspergillus flavus* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium corylophilum* ; *P. decumbens* ; *P. expansum* ; *P. fellutanum* ; *P. janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *Trichoderma pseudokoningii* ; *T. viride* e *Verticillium lecanii*.

Local 2 - 5 14 fungos : *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarum* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. oxalicum* ; *P. puberulum* ; *P. restrictum* ; *P. rugulosum* ; *Phoma tropica* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* ; *T. viride* ; *Verticillium albo-atrum* e *V. lecanii*.

Local 3 - 4 11 fungos : *Aspergillus terreus* ; *Fusarium oxysporum* ; *F. sambucinum* ; *F. solani* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium expansum* ; *P. janthinellum* ; *P. raistrickii* ; *P. restrictum* ; *P. viridicatum* e *Trichoderma viride*.

Local 3 - 5 12 fungos: *Alternaria alternata* ; *Cladosporium cladosporioides* ; *C. herbarum* ; *Fusarium oxysporum* ; *F. solani* ; *Geotricum candidum* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. oxalicum* ; *P. restrictum* ; *P. rugulosum* e *Trichoderma viride*.

Local 4 - 5 8 fungos : ; *Fusarium oxysporum* ; *F. solani* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. restrictum* ; *Trichoderma pseudokoningii* ; *T. viride* e *Verticillium lecanii*.

Tabela 17 Dados necessários às determinações dos Índices de similaridade segundo Sørensen em relação ao número de fungos em meio com concentrações de 0; 100; 200; 500 e 1000 mg/dm³ de **Zn**, encontrados em cada local de coleta.

Locais a - b	Exclusivos		Comuns (w)	Não comuns		Nº Total	
	a	b	a b	a	b	a	b
1 - 2	7	4	17(a e b)	9	8	33	29
1 - 3	7	8	19(a e b)	7	6	33	33
1 - 4	7	4	12(a e b)	14	6	33	22
1 - 5	7	3	15(a e b)	11	5	33	23
2 - 3	4	8	14(a e b)	11	11	29	33
2 - 4	4	4	12(a e b)	13	6	29	22
2 - 5	4	3	14(a e b)	11	6	29	23
3 - 4	8	4	11(a e b)	14	7	33	22
3 - 5	8	3	12(a e b)	13	8	33	23
4 - 5	4	3	8(a e b)	10	12	22	23

Convenção:

a = locais designados com número menor

b = locais designados com número maior

Tabela 18 Índice de similaridade de Sørensen (S) entre os fungos anamorfos isolados do solo em meio contendo concentrações de 0; 100; 200; 500 e 1000 mg/dm³ de **Zn**, nos locais pesquisados do pólo cerâmico do município de Santa Gertrudes, São Paulo

Pto.coleta	Local 1	Local 2	Local 3	Local 4	Local 5
Local 1	100,00	—	—	—	—
Local 2	75,55	100,00	—	—	—
Local 3	69,09	70,00	100,00	—	—
Local 4	68,57	75,00	64,70	100,00	—
Local 5	75,00	80,00	68,57	69,56	100,00

Fungos exclusivos de cada local isolados em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Pb

Local 1 – 6 fungos : *Cladosporium cladosporioides* ; *Nigrospora oryzae* ; *Penicillium decumbens atípico* ; *P. pinophilum*; *P. vulpinum* ; *P. waksmanii*.

Local 2 – 11 fungos: *Aspergillus terreus* ; *Curvularia pallescens* ; *Penicillium griseofulvum* ; *P. fellutanum* ; *P. islandicum* ; *P. minioluteum* ; *P. puberulum* ; *P. rugulosum* ; *Phoma tropica* ; *Verticillium albo-atrum* e *V. tenerum*.

Local 3 - 1 fungo: *Penicillium griseoroseum*.

Local 4 – 4 fungos: *Fusarium oxysporum*; *P. dangeardii*; *Penicillium echinulatum* e *P. implicatum*.

Local 5 - 2 fungos: *Nigrospora sphaerica* e *Penicillium verruculosum* .

Fungos comuns à dois locais isolados em meio MEA 2% e com diferentes concentrações de Pb

Local 1 – 2 13 fungos: *Cladosporium herbarum* ; *Curvularia lunata* ; *Paecilomyces carneus* ; *P. lilacinus* ; *Penicillium citreonigrum* ; *P. decumbens* ; *P. janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 1 – 3 9 fungos: *Cladosporium herbarum* ; *Curvularia lunata* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 1 – 4 8 fungos: *Fusarium sambucinum* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium decumbens* ; *P. purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 1 – 5 11 fungos: *Alternaria alternata* ; *Aspergillus niger* ; *Curvularia lunata* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium decumbens* ; *P. janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 2 – 3 9 fungos: *Cladosporium herbarum* ; *Curvularia lunata* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. restrictum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 2 – 4 9 fungos : *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium corylophilum* ; *P. decumbens* ; *P.oxalicum* ; *P. purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 2 – 5 10 fungos: *Curvularia lunata* ; *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium decumbens* ; *P. janthinellum* ; *P. oxalicum* ; *P. purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 3 – 4 5 fungos: *Penicillium purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 3 – 5 7 fungos: *Curvularia lunata* ; *Penicillium janthinellum* ; *P. purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Local 4 – 5 8 fungos: *Paecilomyces lilacinus* ; *Penicillium decumbens* ; *P. oxalicum* ; *P. purpurogenum* ; *P. variabile* ; *Trichoderma aureoviride* ; *T. pseudokoningii* e *T. viride*.

Tabela 19 Dados necessários às determinações dos Índices de similaridade segundo Sørensen em relação ao número de fungos em meio com concentrações de 0; 100; 200; 500 e 1000 mg/dm³ de **Pb**, encontrados em cada local de coleta.

Locais	Exclusivos		Comuns (W)	Não comuns		Nº Taxons	
	a	b		a	b	a	B
1 - 2	6	11	13(a e b)	4	2	23	26
1 - 3	6	1	9(a e b)	8	1	23	11
1 - 4	6	4	8(a e b)	9	2	23	14
1 - 5	6	2	11(a e b)	6	1	23	14
2 - 3	11	1	9(a e b)	6	1	26	11
2 - 4	11	4	9(a e b)	6	1	26	14
2 - 5	11	2	10(a e b)	5	2	26	14
3 - 4	1	4	5(a e b)	5	5	11	14
3 - 5	1	2	7(a e b)	3	5	11	14
4 - 5	4	2	8(a e b)	2	4	14	14

Tabela 20 Índice de similaridade de Sørensen entre os fungos anamorfos isolados do solo em meio contendo concentrações de 0; 100; 200; 500 e 1000 mg/dm³ de **Pb**, nos locais pesquisados do pólo cerâmico do município de Santa Gertrudes, São Paulo

Pto.coleta	Local 1	Local 2	Local 3	Local 4	Local 5
Local 1	100,00	—	—	—	—
Local 2	60,46	100,00	—	—	—
Local 3	62,06	60,00	100,00	—	—
Local 4	61,53	54,54	66,66	100,00	—
Local 5	73,33	60,60	82,35	72,72	100,00

Os índices de similaridade de Sørensen, quando se compara a micota obtida nos meios de cultura acrescidos de doses de Zn e a obtida nos meios acrescidos por Pb, correspondem entre 60 e 80 % aproximadamente, valores que podem ser considerados altos, indicando que espécies semelhantes ocorrem tanto nos meios acrescidos com Zn como nos acrescidos com Pb.

5.2.4 Índices de similaridade segundo Sørensen, em relação aos táxons que cresceram em meio de MEA 2% só com Zn, só com Pb e os que cresceram com Zn e com Pb.

Tabela 21 Relação entre taxons, metais e ocorrências

Nº	Relação dos taxons	S/M	Zn	Pb	Zn/Pb
01	<i>Acremonium larvarum</i> (Petch) W. Gams	—	Z/03	—	—
02	<i>Alternaria alternata</i> (Fr) Keissler	—	Z/03	P/04	X
03	<i>Aspergillus alutaceus</i> Berk. & Curt	—	Z/01	—	—
04	<i>Aspergillus candidus</i> Link ex Link	—	Z/01	—	—
05	<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray	—	Z/02	—	—
06	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres	—	Z/02	—	—
07	<i>Aspergillus japonicus</i> Saito	—	Z/02	—	—
08	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	—	—	P/03	—
09	<i>Aspergillus terreus</i> Thom	—	Z/04	P/01	X
10	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries	—	Z/07	P/01	X
11	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers) ex S.F. Gray	—	Z/04	P/04	X
12	<i>Curvularia andropogonis</i> (Zimm.) Boedijn	—	Z/01	—	—
13	<i>Curvularia harveyi</i> .Shipton	—	Z/01	—	—
14	<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn	—	Z/02	P/07	X
15	<i>Curvularia pallescens</i> Boedijn	—	Z/01	P/01	X
16	<i>Cylindrocladium scoparium</i> Morgan	—	Z/02	—	—
17	<i>Drechslera ravenelli</i> (Curt.) Subram. & Jain	—	Z/01	—	—
18	<i>Fusarium clamydosporum</i> Wollenw. & Reinking	—	Z/01	—	—
19	<i>Fusarium nivale</i> (Fr.) Ces	—	Z/02	—	—
20	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. Emenden Snyd & Hans	S/03	Z/09	P/02	X
21	<i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel	S/01	Z/04	P/03	X
22	<i>Fusarium solani</i> (Mart.)Appel & Wollenw.Emend.S.& H	—	Z/07	—	—
23	<i>Geotrichum candidum</i> Link & Leman	—	Z/03	P/02	X
24	<i>Gliocadium roseum</i> Bain	—	Z/01	—	—
25	<i>Nigrospora oryzae</i> Hudson	—	Z/01	P/01	X
26	<i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) Mason	—	—	P/01	—
27	<i>Paecilomyces carneus</i> (Duché & Heim) Brown & Smith	—	Z/03	P/02	X
28	<i>Paecilomyces lilacinus</i> (thom.) Samson	—	Z/17	P/05	X
29	<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	—	Z/01	—	—
30	<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx	—	Z/01	—	—
31	<i>Penicillium camemberti</i> Thom	—	Z/01	—	—
32	<i>Penicillium canescens</i> Sopp	—	Z/02	—	—
33	<i>Penicillium citreonigrum</i> Dierckx	—	Z/03	P/02	X
34	<i>Penicillium citrinum</i> Thom	—	Z/01	—	—
35	<i>Penicillium corylophyllum</i> Dierckx	—	Z/04	P/02	X
36	<i>Penicillium dangeardii</i> Pitt	-----	Z/02	P/01	X
37	<i>Penicillium decumbens</i> Thom	—	Z/07	P/05	X
38	<i>Penicillium decumbens atípico</i> Thom	—	—	P/01	—
39	<i>Penicillium echinulatum</i> Fassat	—	—	P/01	—
40	<i>Penicillium expansum</i> Link	—	Z/03	—	—
41	<i>Penicillium fellutanum</i> Biourge	—	Z/02	P/01	X
42	<i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx	—	Z/04	P/01	X
43	<i>Penicillium griseoroseum</i> Dierckx	—	Z/04	P/01	X
44	<i>Penicillium hirsutum</i> Dierckx	—	Z/02	—	—
45	<i>Penicillium implicatum</i> Biourge	—	Z/01	P/01	X
46	<i>Penicillium islandicum</i> Soop	—	—	P/01	—

47	<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge	—	Z/08	P/09	X
48	<i>Penicillium javanicum</i> (Friedrichs & Bally) Brown & Smith	—	Z/01	—	—
49	<i>Penicillium miczinskii</i> K.M. Zalesky	—	Z/01	—	—
50	<i>Penicillium minioluteum</i> Dierckx	—	Z/01	P/01	X
51	<i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom	—	Z/03	P/04	X
52	<i>Penicillium pinophyllum</i> Hedgcock	—	Z/01	P/01	X
53	<i>Penicillium puberulum</i> Bainier	—	Z/02	P/01	X
54	<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	S/01	Z/09	P/09	X
55	<i>Penicillium raistrickii</i> G. Sm	—	Z/02	—	—
56	<i>Penicillium restrictum</i> J.C.Gilman & E.V.Abbott	—	Z/6	P/04	X
57	<i>Penicillium rugulosum</i> Thom	—	Z/06	P/01	X
58	<i>Penicillium variabile</i> Sopp	—	Z/08	P/13	X
59	<i>Penicillium verruculosum</i> Peyronel	—	Z/02	P/01	X
60	<i>Penicillium viridicatum</i> Westling	—	Z/04	—	—
61	<i>Penicillium vulpinum</i> (Cooke & Masee) Seifert & Samson	—	—	P/01	—
62	<i>Penicillium waksmanii</i> K.M. Zalesky	—	Z/02	P/01	X
63	<i>Phoma jolyana</i> Pirozynski & Morgan-Jones	—	Z/01	—	—
64	<i>Phoma tropica</i> Schneider & Boerema	—	Z/03	P/02	X
65	<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	S/02	Z/05	P/12	X
66	<i>Trichoderma pseudokoningii</i> Rifai	S/02	Z/05	P/17	X
67	<i>Trichoderma viride</i> Pers. Ex Gray	S/03	Z/11	P/25	X
68	<i>Verticillium albo-atrum</i> Reinke & Berthold	—	Z/02	P/02	X
69	<i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viégas	—	Z/05	—	—
70	<i>Verticillium tenerum</i> (Nees ex Pers.) Link	—	—	P/01	—

Observações:

Cresceram:

Ocorrências:

com sal de Zn (Z):	27 taxons – 38,58%	com sal de Zn	221
com sal de Pb (P):	07 taxons --10,00%	com sal de Pb	160
com o Zn e Pb (X):	36 taxons – 51,42%	com sais de Zn e Pb	305
sem metais (S):	06 taxons.		

Nota: Como todos os táxons que cresceram sem metais também cresceram com o Zn e com o Pb, os 6 S/M estão incluídos nos 36 taxons; quanto às 12 ocorrências S/M, estão nas 305 acima citadas.

Índices de similaridade

Pelos dados encontrados, o Índice de similaridade entre os taxons que cresceram com Zn, com Pb e com ambos será:

Com Zn	= 27	
Com Pb	= 07	S = 67,92%
Com Zn e Pb	= 36	

O índice de similaridade para a ocorrência dos taxons que cresceram com Zn, com Pb e com ambos será:

Com Zn	= 221	
Com Pb	= 160	S = 61,55%
Com Zn e Pb	= 305	

O índice de similaridade (segundo Sörensen) para os taxons que cresceram com Zn e com Pb e com ambos, considerando-se o seu comportamento em relação a apenas estes fatores conferem um grau de similaridade nesta região de 67,92% e em termos de ocorrências em torno de 61,55%.

Tabela 23 Relação dos taxons que cresceram sem a adição de metais e que também ocorreram nos cultivos aos quais se adicionaram Zn e Pb.

Nº	Relação dos táxons	Local	coleta
1	<i>Fusarium oxysporum</i>	1	2,4
		5	4
2	<i>Trichoderma aureoviride</i>	1	3
		5	2
3	<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	1	3
		2	3
4	<i>Trichoderma viride</i>	2	3
		4	2,3
5	<i>Fusarium sambucinum</i>	4	2
6	<i>Penicillium purpurogenum</i>	2	2

A tabela 23 mostra quais fungos cresceram sem metais (6) , de que locais foram retirados (1, 2, 3, 4 e 5) e em que coleta (2, 3 e 4). Foram 6 taxons em 12 ocorrências.

Gêneros que ocorreram: *Trichoderma* (3) *Fusarium* (2) *Penicillium* (1)

Número de ocorrências: 7 4 1

Porcentual de ocorrências 58,34% 33,33% 8,33%

Pode-se verificar que de um total de 70 taxons isolados desta região apenas 6 taxons (8,57%) obtiveram sucesso em crescer em meio de MEA 2% sem a adição de metais.

As maiores ocorrências destacaram-se para *Trichoderma viride* Pers ex Gray (39 registros), *Trichoderma pseudokoningii* Rifai (24 registros), *Penicillium variable* (21 registros), *Trichoderma aureoviride* Rifai (19 registros), *Penicillium purpurogenum* Stoll (19 registros) e *Penicillium janthinellum* Biourge (17 registros). Na primeira coleta foram obtidos 23 táxons, na segunda 35, na terceira 35 e na última 46 táxons. O número total de táxons obtidos nas duas coletas realizadas na época chuvosa foi 43 e nas duas coletas realizadas na época seca foi 56, o que poderia expressar uma influência discreta dos fatores climáticos sobre a micota terrestre. Na época chuvosa, porém, foram obtidos 14 táxons, 27 na época seca e 29 foram registrados nas duas épocas climáticas. O índice de similaridade de Sørensen entre as duas micotas correspondeu a 58,58%. De acordo com Christensen (1989), este índice pode ser considerado baixo, indicando a existência de diferenças qualitativas na composição das micotas, apesar das semelhanças quantitativas no número de táxons.

Com relação à influência das doses crescentes de Pb nos meios de cultura em todas as coletas, verificou-se a ocorrência dos maiores números de táxons nos meios de cultura com concentrações mais elevadas de Pb, isto é, entre 500 e 1000 mg/dm³ (Tabela 15). Os maiores números de táxons, correspondentes a 17, 10 e 9 foram registrados nos meios de cultura adicionados de 1000 mg Pb/dm³, além dos 14 táxons isolados em meio de cultura acrescido de 500 mg Pb/dm³. A observação de que algumas espécies tais como *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries, *Nigrospora sphaerica* (Sacc.) Mason, *Penicillium citreonigrum* Dierckx, *Penicillium griseoroseum* Dierckx e *Penicillium waksmanii* K. M. Zalesky foram isolados somente nos meios de cultura com acréscimo das concentrações máximas de Pb reforçam esta tendência de crescer com altas concentrações de Pb.

O número de táxons registrados nos locais de coleta, em ordem decrescente dos teores dos metais presentes no solo foi a seguinte: 11 táxons (local 3); 14 táxons (local 4); 26 táxons (local 2); 14 (local 5) e 23 (local 1). Os índices de similaridade entre as micotas obtidas nos cinco locais de coleta foram altos, situando-se entre 60 e 82,35%, havendo diversos táxons que ocorreram somente em determinado local de coleta. Por exemplo, *Penicillium griseoroseum* Dierckx ocorreu somente no local 3, quatro táxons ocorreram somente no local 4, dois táxons foram registrados somente no local 5, seis no local 1 e

onze táxons, que corresponde ao maior número de táxons exclusivos no local 2, cujos teores de Pb no solo situam-se em situação intermediária. No campo, portanto, a tendência de associar a presença do fungo em concentrações extremas de Pb, não é tão nítida como nos meios de cultura. Estes resultados são comuns na literatura, de acordo com Wainwright e Gadd (1997), levando-se em consideração que no campo, as interações microbianas, além da influência de diversos fatores abióticos, atuam sobre o comportamento da micota, minimizado nas condições de laboratório.

Ao estudar os problemas ambientais e impactos sociais provocados pela atividade ceramista no município de Santa Gertrudes, (SP), Levighin (2005), também cita a presença de Pb, Zn e B, como fatores que colaboram para a poluição daquela região.

As concentrações de Pb utilizadas no presente estudo superaram as determinadas por Bonacin-Silva (2001), cujos resultados variaram de 108 a 529 ppm. Isto pode indicar que os fungos obtidos no presente estudo estão bem adaptados ao gradiente de concentração de Pb no solo, o que por sua vez se reflete sobre a diversidade, representada por espécies fúngicas tolerantes e resistentes às condições do solo.

O Pb não constitui um elemento essencial aos microrganismos (ROSS, 1975). A sua presença no solo ou em meios de cultura acrescidos com o mesmo, é mais conhecida como causa da inibição de crescimento ou redução da diversidade microbiana do que o contrário.

Na comparação dos efeitos tóxicos de metais sobre fungos e bactérias, Rajapaksha et al. (2004) verificaram que o comportamento desses grupos microbianos era distinto, corroborando a hipótese dos fungos serem mais resistentes aos metais do que as bactérias. Após ter acrescentado novas doses de metais, a atividade dos fungos elevou-se inesperadamente.

O total de 63 táxons foi obtido no isolamento dos fungos em meios de cultura adicionados com doses crescentes de Zn (Tabela 15). As maiores ocorrências foram para *Trichoderma viride* Pers ex Gray (25 registros), *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (17 registros), *Penicillium restrictum* J. C. Gilman & E. V. Abbott (16 registros), *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend Snyder & Hans. (12 registros) e *Penicillium purpurogenum* Stoll (10 registros). Na primeira coleta foram obtidos 14 táxons, na segunda, 21, na terceira 22 e na última, 15 táxons. (Fazer uma pizza com os dados acima !)

O número total de táxons obtidos correspondeu a 34 nas duas coletas realizadas na época chuvosa e a 54 nas coletas realizadas na época seca. O predomínio dos fungos na época seca também se refletiu sobre a ocorrência exclusiva de espécies em

determinada época, pois 10 táxons foram obtidos exclusivamente na época chuvosa e 29 na época seca. O índice de similaridade de Sørensen entre as micotas isoladas em épocas climaticamente distintas correspondeu a 55,17%, indicando baixa semelhança na composição das mesmas.

Com relação à influência das doses crescentes de Zn nos meios de cultura verificou-se que os maiores números de táxons (23 e 25) ocorreram nas concentrações de 200 e 500 mg Zn/dm³. A tendência dos fungos ocorrerem em diversas concentrações apresentou-se mais acentuada nos meios contendo Zn do que nos adicionados com Pb. Somente *Geotrichum candidum* Link ex Lemm foi isolado exclusivamente em meio com concentração máxima de Pb (1000 mg Pb/ dm³).

O número de táxons registrados nos locais de coleta, em ordem decrescente dos teores dos metais presentes no solo foi a seguinte: 33 táxons (local 3), 22 táxons (local 4), 29 táxons (local 2), 23 (local 5) e 33 (local 1). Os índices de similaridade entre as micotas obtidas nos cinco locais de coleta foram altos, situando-se entre 64,7 e 80%, havendo diversos táxons que ocorreram somente em determinado local de coleta. Oito táxons ocorreram exclusivamente no local 3, quatro táxons ocorreram somente no local 4, quatro no local 2, três táxons foram registrados somente no local 5 e sete no local 1.

Os resultados indicam que a diversidade dos fungos provavelmente é menos afetada pela presença de Zn do que de Pb. Nas concentrações inferiores a 100 µM, o Zn é considerado elemento essencial para o crescimento de fungos (ROSS, 1975). A partir desta dosagem, o Zn geralmente causa efeitos prejudiciais acentuados sobre a vegetação e a microbiota (JORDAN e LECHEVALIER, 1975).

As concentrações de Zn acrescentadas aos meios de cultura foram mais elevadas do que o valor citado por Bonacin-Silva (2001), que corresponde a 77,2 ppm, o que por sua vez indica que os fungos devem apresentar elevada tolerância à presença do metal no solo das áreas estudadas.

Os táxons obtidos no presente estudo, fazem parte de uma micota cosmopolita, presentes em praticamente todos os ambientes terrestres. Táxons como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* e a predominância de *Penicillium* são considerados comuns no solo (DOMSCH et al., 1980). No solo estudado, verifica-se que há poucas espécies raras ou diferentes, o que pode indicar que a micota nativa pode estar sendo composta por espécies cosmopolitas altamente resistentes às diferentes condições ambientais, tornando-se predominante ao longo do tempo em que o solo foi submetido ao impacto causado pela presença dos metais na sua composição.

Efeitos restritivos do Cu e do Zn sobre a biomassa fúngica e taxa de respiração do solo foram verificados por Nordgren et al., (1983) próximo a uma região de mineração em Gusum no sul da Suécia, devido às mudanças acentuadas na composição das micotas, com acréscimo em abundância de algumas espécies como *Paecilomyces* e *Geomyces*. Posteriormente os mesmos autores verificaram acentuados decréscimos na frequência de isolamento de algumas espécies típicas de solo sob floresta de coníferas, seguida pela substituição de algumas espécies por outras, usualmente raras na região, como principal resultado dos efeitos da presença dos metais no solo, os quais superaram significativamente a influência dos fatores abióticos (NORDGREN et al., 1985).

Além da diversidade dos fungos, o presente trabalho teve por objetivo verificar a influência dos metais pesados sobre a qualidade da micota natural pré-existente no local.

Na análise dos resultados dos levantamentos em áreas poluídas, devem ser levadas em consideração as limitações e seletividade impostas pelas técnicas de isolamento, concentrações dos metais e nível de adaptabilidade dos microrganismos aos metais. Não é surpreendente, portanto, que na literatura haja resultados conflitantes. Carter, (1978 in NORDGREN et al., 1983) reportou, por exemplo, uma modificação significativa na estrutura da comunidade microbiana em locais contaminados com elevados níveis de Ni, enquanto Freedman e Hutchinson (1980), estudando o mesmo tipo de contaminação na mesma área, não verificaram efeito algum, variando somente o tempo do estudo. Deve-se levar em consideração, relativamente ao período de estudo, que os efeitos de determinados metais no solo podem ser acumulativos, modificando indiretamente diversas características relevantes do solo.

A avaliação dos fungos anamorfos no solo do município de Santa Gertrudes, SP, revela a existência de uma micota diversificada, com representantes cosmopolitas. À elevada habilidade saprofítica competitiva dos fungos cosmopolitas pode ter-se somado a crescente tolerância aos metais pesados, tornando a micota bastante competitiva e bem estabelecida, justificando a tendência de terem sido isoladas diversas espécies em meios de cultura acrescidos de elevadas doses de Zn e de Pb (GARRETT 1963).

A presença das espécies de *Cladosporium*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *Phoma* e *Alternaria*, comumente associadas a substratos vegetais em decomposição, ao lado de espécies de *Trichoderma* com reconhecida habilidade para decompor substâncias à base de celulose e hemicelulose, indica que a micota ainda conta com importantes decompositores da matéria orgânica. De acordo com Paul e Clark (1996), 30 a 60% do material vegetal, é composto por celulose, sendo que a sua decomposição é essencial

para o ciclo do carbono. Havendo comprometimento da diversidade dos fungos que promovem a decomposição da matéria orgânica, os efeitos prejudiciais dos metais pesados poderiam ser potencializados (HENDRICKS, 1996).

Quando se estuda a diversidade a partir de alguns gramas de solo (KIRK et al 2004) tiram-se conclusões sobre a comunidade microbiana que eventualmente está presente naquele local; segundo Trevors, (1998); contudo, a dificuldade consiste em se afirmar se aquela heterogeneidade não é inerente de uma população pré existente, ou uma população que se adaptou àquele local.

Franklin e Mills 2003, usaram múltiplas escalas espaciais, com intervalos de amostragem variando de 2,5 cm a 11 m, para estudar a heterogeneidade espacial das comunidades microbianas do solo. Em um solo agrícola, eles relataram que comunidades microbianas podem ter diversos níveis de organização e que elas poderiam ser dependentes de diferentes propriedades do solo, ou de grupos de propriedades modificadas do solo.

A adaptação microbiana constitui um mecanismo importante nas respostas à presença dos contaminantes terrestres e pode resultar na compensação de determinado efeito adverso pela elevação da atividade da microbiota remanescente ao longo do tempo (DUXBURY e BICKNELL 1983). Por mais cuidadosos, circunscritos e abrangentes os levantamentos de microrganismos terrestres sejam conduzidos, os resultados obtidos expressam apenas uma parte da história de determinado poluente no solo. A caracterização da micota terrestre nativa como bem diversificada, em solos altamente impactados, deve ser considerada sómente um indicativo de que ainda há condições favoráveis para a recuperação e conservação da região estudada.

5.3. Teste de tolerância

5.3.1. Seleção das linhagens

Classificação taxonômica dos fungos selecionados

Reino: Fungi	Reino: Fungi
Phylum: Ascomycota	Phylum: Ascomycota
Ordem: Eurotiales	Ordem: Eurotiales
Família: Trichocomaceae	Família: Trichocomaceae
Gênero: <i>Paecilomyces</i>	Gênero: <i>Aspergillus</i>
Espécie: <i>lilacinus</i>	Espécie: <i>terreus</i>
Autor: (Thom) Samson	Autor: Thom

Dentre os taxons isolados, foram escolhidos dois para o teste de tolerância aos metais Zn e Pb; um que tivesse boa regularidade de presença nas amostras colhidas e um que tivesse aparecido muito pouco.

Deste modo, foram escolhidos o ***Aspergillus terreus*** Thom (que ocorreu 22 vezes) e o ***Paecilomyces lilacinus*** (Thom) Samson (que ocorreu apenas cinco vezes).

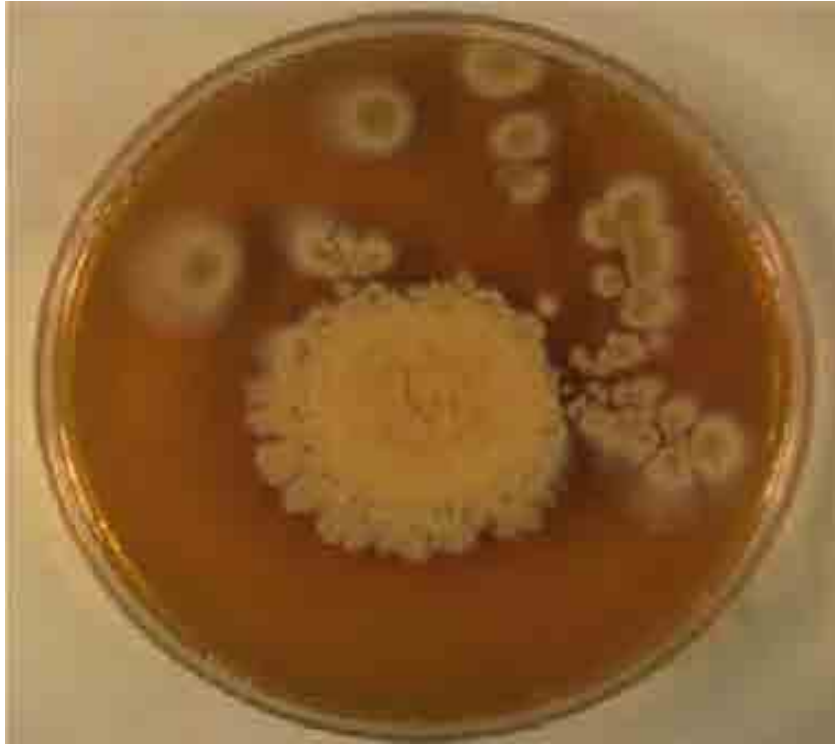


Foto 7: *Aspergillus terreus* (colônia). <http://microbiology.mtsinai.on.ca>

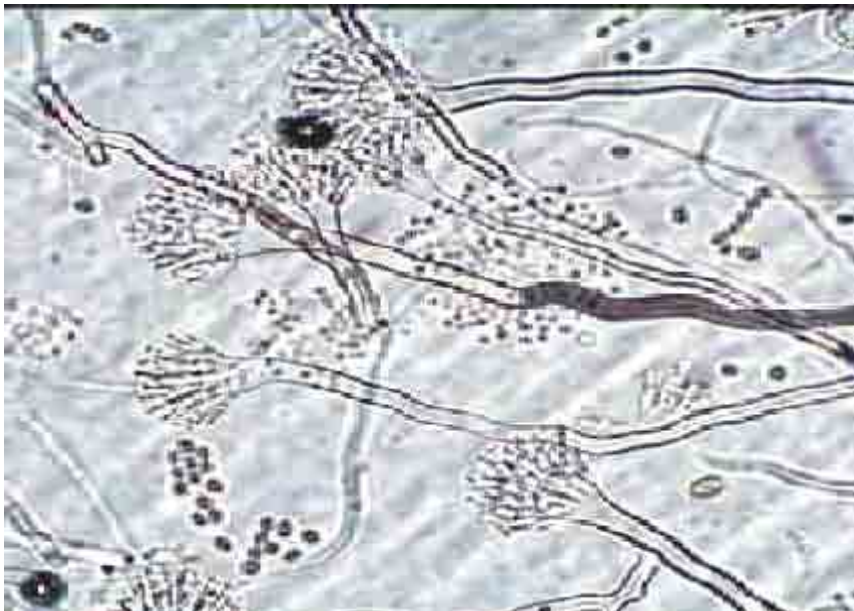


Foto 8 *Aspergillus terreus* microscopia óptica. <http://www.doctorfungus.org>



Foto 9 : *Paecilomyces lilacinus* (colônia). <http://microbiology.mtsinai.on.ca>



Foto 10 *Paecilomyces lilacinus* (microscopia óptica). <http://www.doctorfungus.org>

5.3.2 Curvas de crescimento do *Aspergillus terreus*

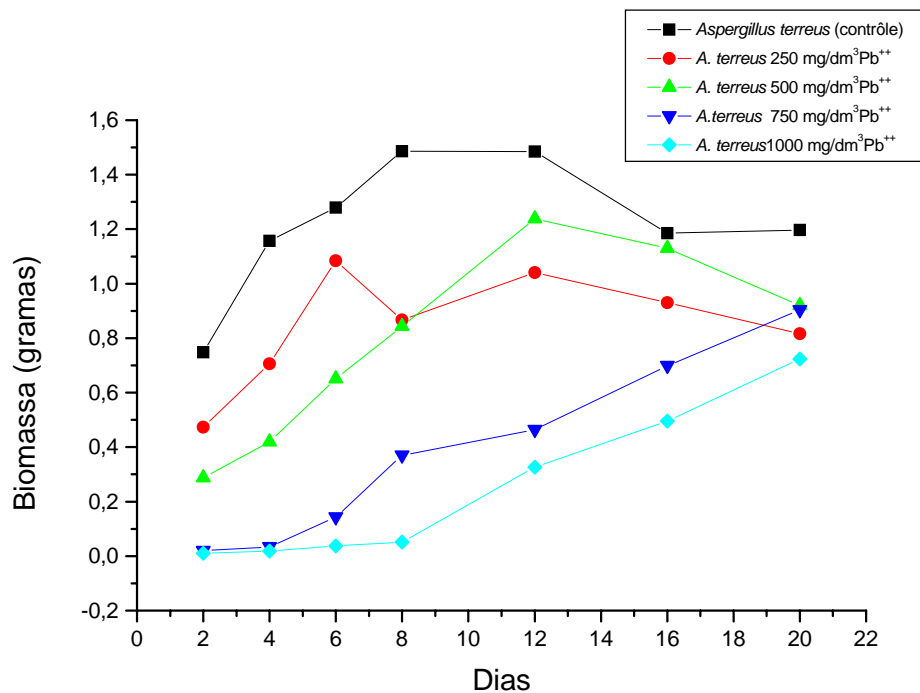


Figura 1: Curvas de crescimento do *Aspergillus terreus* em meio Czapek modificado a 25° C sem a adição dos metais testados (contrôle) e em diferentes concentrações de sais de chumbo.

Pode-se observar que a medida que se aumenta a concentração de Pb⁺⁺ no meio de cultivo ocorre um efeito inibitório na produção de biomassa. Para os cálculos de tolerância segundo o método de Hartley, 1997b o oitavo dia para o controle representa o tempo necessário para se atingir o máximo na produção de biomassa nestas condições.

Tabela 24 Valores médios da biomassa de *Aspergillus terreus* em crescimento no meio Czapek modificado, acrescido de nitrato de chumbo.

		Biomassa			
Dias	Sem Metais	250 mg/dm ³	500 mg/dm ³	750 mg/dm ³	1000 mg/dm ³
2	0,7478	0,4738	0,2873	0,0211	0,0116
4	1,1566	0,7956	0,4188	0,0342	0,0213
6	1,2790	1,0837	0,6577	0,1427	0,0412
8	1,4858	0,8670	0,8428	0,3704	0,0511
12	1,4850	1,0403	1,2376	0,4644	0,3261
16	1,1855	0,9308	1,1306	0,6992	0,4959
20	1,1971	0,8162	0,9200	0,9036	0,7233

A seqüência dos valores das biomassas obtidas no oitavo dia, com os diferentes valores das concentrações do nitrato de chumbo (elemento muito tóxico), revelou-se coerente com o que era esperado (diminuição da biomassa com o aumento da concentração do sal) como indicam os testes de tolerância a seguir.

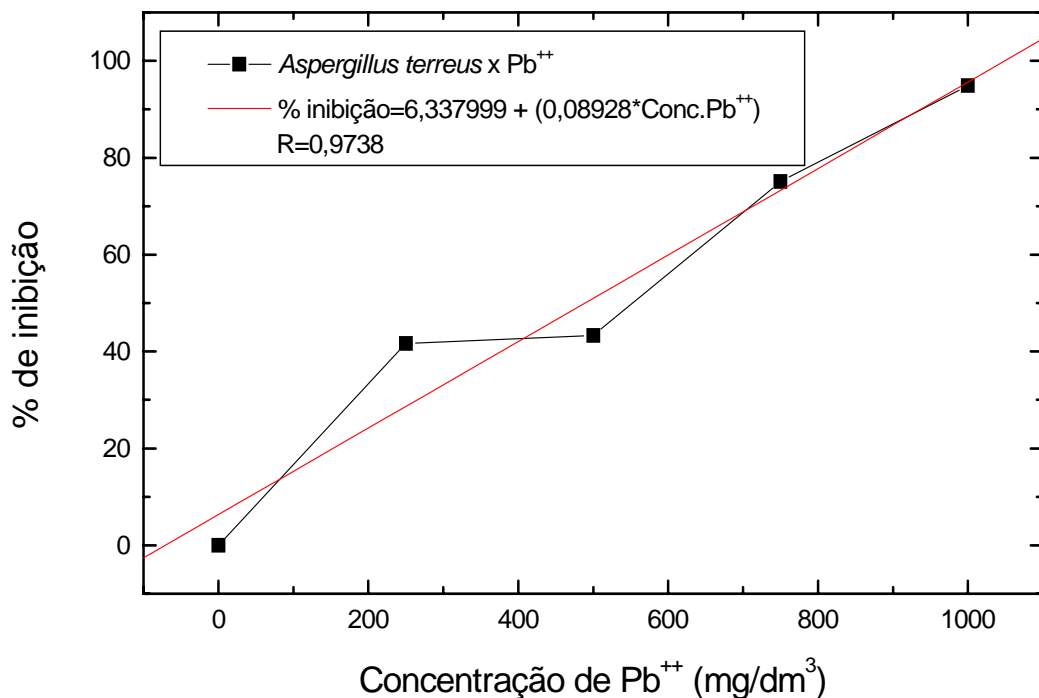


Figura 2 Teste de tolerância entre o *Aspergillus terreus* e diferentes concentrações de Pb⁺⁺ referente ao 8^o dia de cultivo (Método de Hartley 1997b)
 $EC_{50} = 489,05 \text{ mg/dm}^3$ de Pb⁺⁺ e $EC_{100} = 1.049,08 \text{ mg/dm}^3$ de Pb⁺⁺

Os resultados com massa zero de Pb foram considerados como controle. À medida que a concentração do Pb aumenta (de zero a 1.000 mg/dm^3) aumenta a inibição (de zero a 94,98%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,4858 a 0,0511g). O cálculo feito pela regressão linear do teste de tolerância deu os valores de EC_{50} e EC_{100}

5.3.3. Curvas de tolerância do *Aspergillus terreus* a sais de zinco

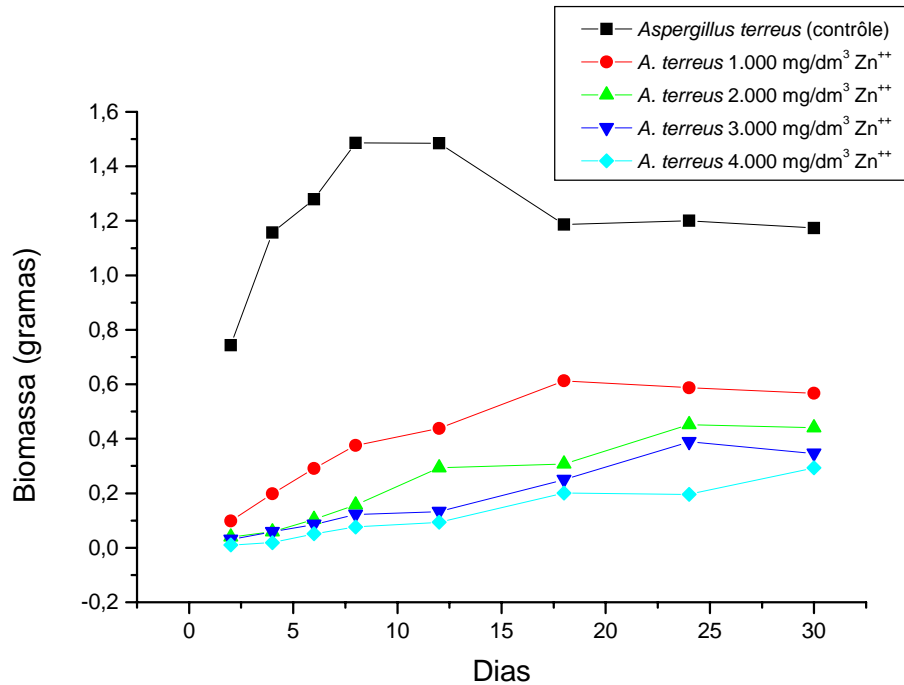


Figura 3: Curvas de crescimento do *Aspergillus terreus* em meio Czapek modificado a 25° C sem a adição dos metais testados (contrôle) e em diferentes concentrações de sais de zinco.

Tabela 25 Valores médios da biomassa de *Aspergillus terreus* em crescimento no meio Czapek modificado, acrescido de nitrato de zinco.

Dias sem metal	Biomassa				
	1000 mg/dm ³	2000 mg/dm ³	3000 mg/dm ³	4000 mg/dm ³	
2°	0,7438	0,0986	0,0411	0,0342	0,0112
4°	1,1566	0,1984	0,0589	0,0584	0,0187
6°	1,2790	0,2912	0,1047	0,0859	0,0512
8°	1,4858	0,3758	0,1569	0,1215	0,0757
12°	1,4850	0,4379	0,2930	0,1330	0,0932
18°	1,1870	0,6127	0,3071	0,2495	0,2005
24°	1,2009	0,5869	0,4526	0,3882	0,1959
30°	1,1732	0,5676	0,4403	0,3468	0,2929

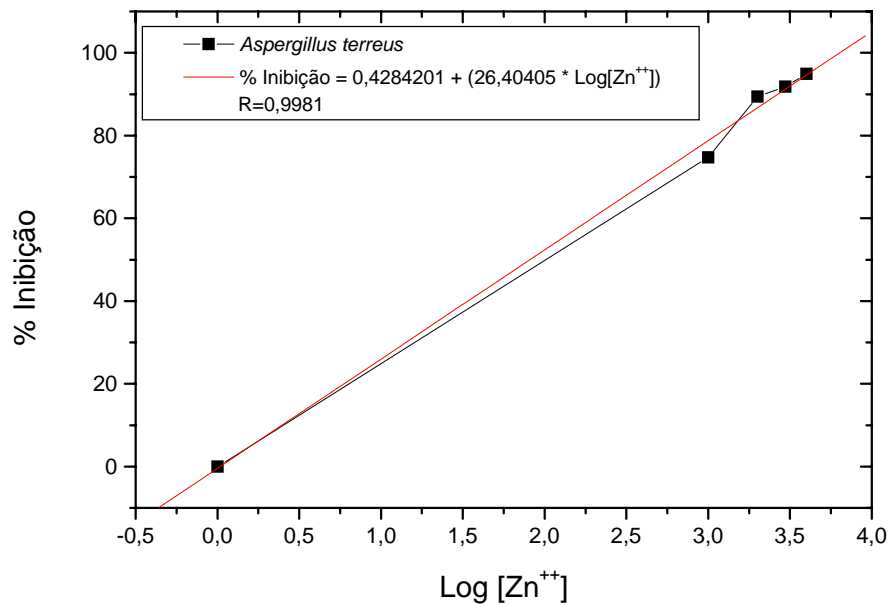


Figura 4 Teste de tolerância entre *Aspergillus terreus* e diferentes concentrações de Zn^{++} referente ao 8^o dia de cultivo. (Método de Hartley 1997).

EC₅₀ = 1,909875 (log) 81,26 mg/dm³
 EC₁₀₀ = 3,803524 (log) 6.360,98 mg/dm³

Os resultados com massa zero de zinco foram considerados como controle do crescimento. À medida que a concentração do zinco aumenta (de zero a 4.000 mg/dm³) aumenta a inibição (de zero a 94,91%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,4858 g para 0,0757g) O cálculo feito pela regressão linear do teste de tolerância deu os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀ (Tabela 11 A apêndice).

5.3.4 Curvas de crescimento do *Paecilomyces lilacinus* com sais de chumbo

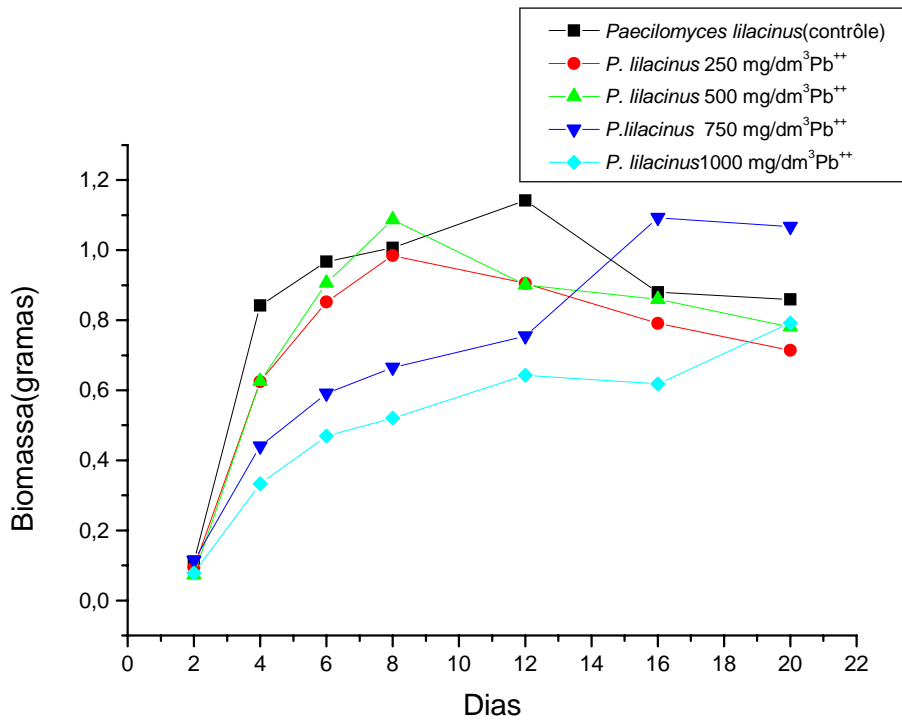


Figura 5: Curvas de crescimento do *Paecilomyces lilacinus* em meio Czapek modificado a 25° C sem a adição dos metais testados (contrôle) e em diferentes concentrações de sais de chumbo.

Aqui também pode-se observar que a medida que se aumenta a concentração de Pb⁺⁺ no meio de cultivo ocorre um efeito inibitório na produção de biomassa. Para os cálculos de tolerância segundo o método de Hartley, 1997b o décimo segundo dia para o controle representa o tempo necessário para se atingir o máximo na produção de biomassa nestas condições.

Tabela 26 Valores médios da biomassa de *Paecilomyces lilacinus* em crescimento no meio de Czapek modificado, acrescido de nitrato de chumbo.

Dias	250 mg/dm ³	500 mg/dm ³	750 mg/dm ³	1000 mg/dm ³
2 ^o	0,0933	0,0724	0,1141	0,0781
4 ^o	0,6248	0,6254	0,4402	0,3334
6 ^o	0,8524	0,9062	0,5906	0,4694
8 ^o	0,9848	1,0869	0,6651	0,5205
12 ^o	0,9054	0,9007	0,7540	0,6429
16 ^o	0,7913	0,8595	1,0929	0,6180
20 ^o	0,7140	0,7113	1,0668	0,7917

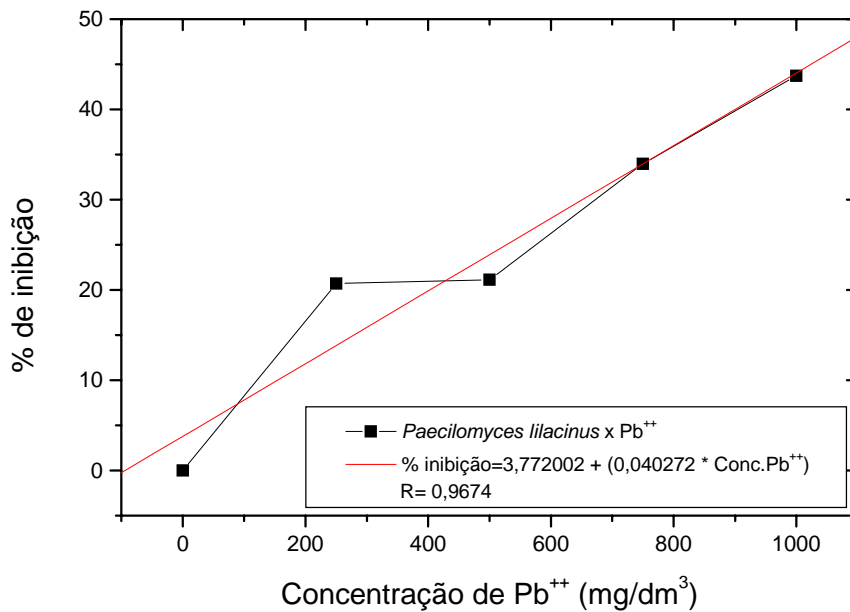


Figura 6 Teste de tolerância entre *Paecilomyces lilacinus* e diferentes concentrações de Pb⁺⁺ referente ao 12º dia de cultivo (Método de Hartley 1997) .
 $EC_{50} = 1.147,89$ e $EC_{100} = 2.389,45$ mg/dm³

Os resultados com massa zero de Pb foram considerados como controle do crescimento. À medida que a concentração do Pb aumenta (de zero a 1.000 mg/dm³) aumenta a inibição (de zero a 43,71%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,1420 g para 0,6429 g) (Tabela 17A apêndice). O cálculo feito pela regressão no teste de tolerância e deu os valores de EC_{50} e EC_{100}

5.3.5 Curvas de crescimento do *Paecilomyces lilacinus* a sal de zinco

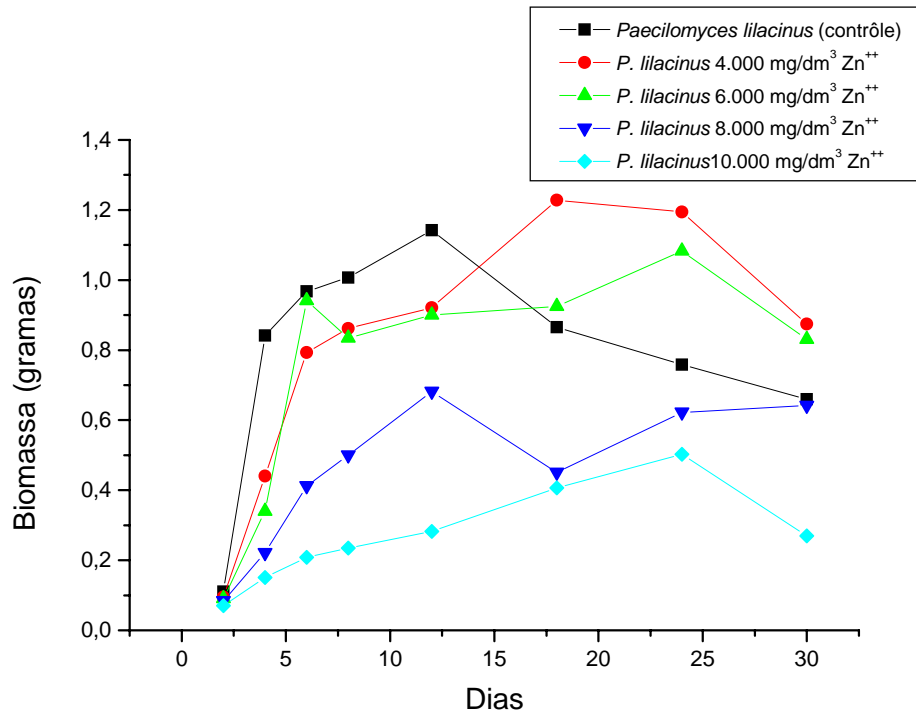


Figura 7: Curvas de crescimento do *Paecilomyces lilacinus* em meio Czapek modificado a 25° C sem a adição dos metais testados (contrôle) e em diferentes concentrações de sais de zinco.

Tabela 27 Valores médios da biomassa de *Paecilomyces lilacinus* em crescimento no meio Czapek modificado, acrescido de nitrato de zinco (em mg/dm³).

Dia Sem metal	1.000	2.000	3.000	4.000	6.000	8.000	10.000
2°	0,1107	0,1638	0,1116	0,1069	0,0952	0,0905	0,0703
4°	0,8420	0,7506	0,6897	0,5691	0,4430	0,3402	0,1560
6°	0,9675	0,8921	0,8838	0,6035	0,7931	0,9415	0,2080
8°	1,0069	1,1969	1,1690	0,9293	0,8621	0,8424	0,2415
12°	1,1420	1,0850	1,0529	0,9213	0,9210	0,9084	0,2821
18°	0,8654	1,2887	1,2931	1,2068	1,2881	0,9247	0,4067
24°	0,7584	1,2769	1,3090	1,2068	1,1948	1,0833	0,5022
30°	0,6594	1,2567	1,2718	1,1652	0,8747	0,8308	0,2693

Observação: os valores de 1000 a 10000 da tabela 27 correspondem às concentrações do cátion Zn²⁺ no meio usado e utilizado para os efeitos de cálculos de acordo com o método de Hartley 1997, contudo para a confecção da Figura 7 foram utilizadas as concentrações mais representativas, isto é 4.000, 6.000, 8.000 e 10.000 mg/dm³ de Zn²⁺

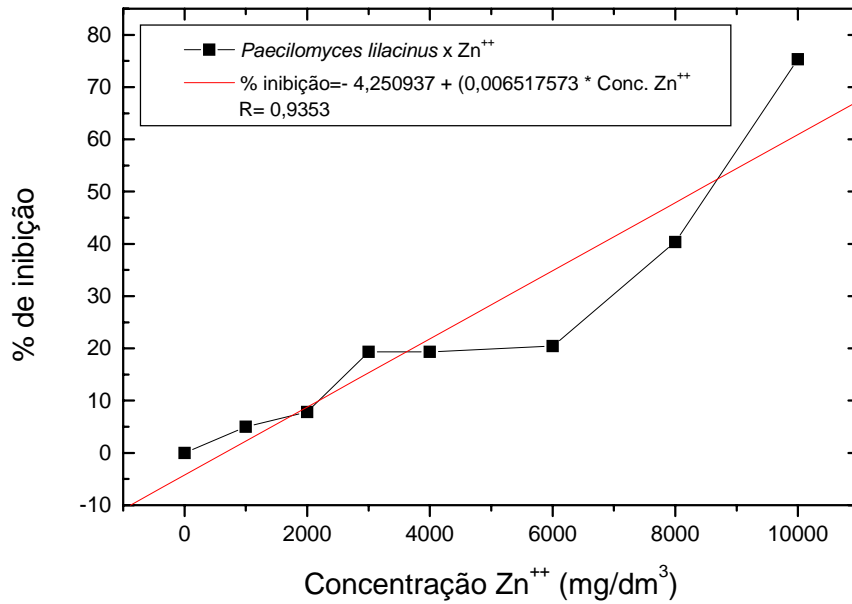


Figura 8 Teste de tolerância entre *Paecilomyces lilacinus* e diferentes concentrações de Zn⁺⁺ referentes ao 12^o dia de cultivo (Método de Hartley 1997)

$$EC_{50} = 8.323,79 \text{ mg/dm}^3$$

$$EC_{100} = 15.995,36 \text{ mg/dm}^3$$

O meio de cultura isento de Zn foi considerado como controle.. À medida que a concentração do Zn aumenta (de zero a 10.000 mg/dm³) aumenta a inibição (de zero a 75,30%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,1420 g para 0,2821 g) (tabela 25 A apêndice)). O cálculo feito pela regressão linear do teste de tolerância deu os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀

Tabela 28 Estudo comparativo entre os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀ das linhagens escolhidas para o teste de tolerância.

<i>Aspergillus terreus</i>				<i>Paecilomyces lilacinus</i>			
Pb ⁺⁺		Zn ⁺⁺		Pb ⁺⁺		Zn ⁺⁺	
EC ₅₀	EC ₁₀₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
489,05	1.049,08	81,26	6.360,98	1.147,89	2.389,45	8.323,79	15.995,36

A comunidade fúngica é grandemente afetada pela poluição de metais pesados, sendo que muitas delas desaparecem, enquanto outras se tornam dominantes nos locais poluídos. Nordgren et al., (1985), relatou que o *Paecilomyces farinosus* foi um fungo que teve grande ocorrência em locais poluídos.

Membros deste gênero têm sido facilmente relatados como tolerantes a metais pesados. Tatsuyama et al. (1975), descobriu que o *Paecilomyces lilacinus* era bastante resistente ao Cd, e Jordan e Lechevalier (1975), encontraram *Paecilomyces* spp tolerante a altas concentrações de Zn. Jensen (1977) relata que houve um grande aumento da ocorrência de *Paecilomyces lilacinus*, depois que houve um derramamento de óleo em um solo agrícola. Posteriormente verificou-se que este solo estava contaminado com Pb.

Os dados ora apresentados revelaram que o *Aspergillus* é mais sensível a estes metais do que o *Paecilomyces*, tanto para o Zn como para o Pb, fato este que explica de certo modo a razão da pouca ocorrência de um e da grande ocorrência do outro nas coletas efetuadas.

Quanto à ocorrência de *Paecilomyces lilacinus* em solo contaminado por Pb, Zucconi et. al. (2003), relatam que o mesmo consegue crescer em concentrações de até 1.437 mg/dm³, valor próximo a este que encontramos para o EC₅₀ 1.147,89 mg/dm³. Os mesmos autores, chegam a sugerir que estas linhagens de *Paecilomyces lilacinus* adaptadas a este tipo de poluente possam vir a ser utilizadas em processos biotecnológicos para remediar locais contaminados por Pb.

Volesky e Holan, 1995, indicam além do *Paecilomyces lilacinus*, outras linhagens de fungos como o *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus nigricans* e *Absidia orchidis* como sendo outros taxons que conseguem biosorver o Pb destes ambientes contaminados.

5.3.6. Variações do pH durante os testes de tolerância

Tabela 29 Variações do pH durante os testes de tolerância realizados nos meios Czapek acrescidos com diversas concentrações de Pb e Zn e sem estes, para o *Aspergillus terreus* e para o *Paecilomyces lilacinus*.

Concentrações Mg/dm ³	pH inicial	<i>Aspergillus terreus</i> pH final	<i>Paecilomyces</i> <i>lilacinus</i> – pH final
Sem metais	6,51	7,86	8,55
250/Pb	5,89	7,91	9,04
500/Pb	5,40	7,36	8,71
750/Pb	5,31	5,96	7,98
1000/Pb	5,27	4,43	7,03
1.000/Zn	5,27	5,67	7,70
2.000/Zn	5,13	5,22	7,28
3.000/Zn	5,00	5,04	7,27
4.000/Zn	5,00	5,17	6,93
6.000/Zn	4,88	--	6,51
8.000/Zn	4,86	--	6,16
10.000/Zn	4,77	--	5,80

Foram medidos os valores de pH iniciais dos meios de cultura Czapek com e sem os sais de Pb e de Zn. Os valores de pH iniciais foram menores do que os valores finais. A única exceção ocorreu com a amostra com 1.000 mg/dm³ de Pb com o *Aspergillus terreus* cujo pH detectado foi de 4,43 e pela tendência apresentada pelos outros valores, deveria estar acima de 5,27 (tabela 29).

Outra inversão ocorreu com as amostras de *Aspergillus terreus* de concentrações de 3.000 e 4.000 mg/dm³ de Zn que mostraram pouca diferença entre os valores de pH inicial e final em cada concentração. Todos os outros valores mostraram coerência de um modo geral e acham-se na tabela 29. À medida que a biomassa dos dois fungos cresce, o pH do meio alcaliniza-se, como é o caso do *Aspergillus* que passa a 7,86 e o *Paecilomyces* a 8,55.

A coluna dos valores de pH iniciais (sentido vertical descendente) revela que ao receber sal de Pb ou de Zn, o meio Czapek, com valor inicial de 6,51, adquire valores

mais ácidos. A coluna também mostra que, quanto maior a concentração do cátion, maior a concentração de protons e menor o pH (tanto para o Pb como para o Zn).

Fazem parte do meio Czapek modificado, o MEA e a peptona, ambas de natureza protéica. Quando se adicionam os sais de Pb e de Zn, estes deslocam os protons dos grupos sulfidrilas – S-H livres da cisteína, formando os complexos organo-metálicos (ou proteínatos), enquanto os protons passam para a solução, abaixando o pH do meio. O pH será conseqüentemente, tanto mais baixo, quanto maior for a quantidade de Pb ou Zn introduzida no meio Czapek, o que mostram as colunas das concentrações e pH inicial da Tabela 29.

No caso dos valores de pH finais, observa-se que para o *Aspergillus terreus*, quando tratado com Pb, ocorre uma absorção maior de protons nas concentrações de 250 e 500 mg/dm³ que nas concentrações 750 e 1.000 mg/dm³. No caso do *Paecilomyces lilacinus*, a captação de protons foi inversamente proporcional à concentração de Pb. A elevação do pH em ambos os casos, provavelmente se deve ao consumo de nutrientes e à formação de metabólitos que consomem os protons residuais.

5.3.7 Massas de proteínatos provenientes do meio Czapek que se originaram de diferentes concentrações dos metais Zn⁺⁺ e Pb⁺⁺

Tabela 30 Massas de proteínatos provenientes do meio Czapek modificado que se originaram de diferentes concentrações dos metais Zn⁺⁺ e Pb⁺⁺ nos testes de tolerância com os fungos selecionados *Aspergillus terreus* e *Paecilomyces lilacinus*.

Metal	Conc.mg/dm ³	Proteínatos g
Chumbo	250	----
	500	----
	750	0,0226
	1.000	0,0177
Zinco	1.000	----
	2.000	0,0116
	3.000	0,0124
	4.000	0,0047
	6.000	0,0063
	8.000	0,0156
	10.000	0,0139

Os dados apresentados na Tabela 30, dizem respeito às concentrações de proteínatos em mg/dm^3 que interfeririam nas análises das biomassas, uma vez que eles aparecem quando as proteínas, no caso peptona e extrato de malte, do meio, que em presença dos metais sofrem uma certa precipitação e que foi descontada do valor da biomassa fúngica que cresceu neste meio.

Considerações finais

As características do solo na região de Santa Gertrudes, indicam que, as concentrações de Zn, de um modo geral não atingiram limites preocupantes nos nossos locais de coleta; porém, no que diz respeito ao Pb, várias coletas atingiram limites superiores aos que a CETESB denomina de valores de intervenção (200 mg/dm^3), onde o local 1 apresentou menores concentrações de Pb durante as coletas 2,3 e 4 e o local 2 apresentou as menores concentrações de Zn, também nestas coletas. Os maiores valores de Zn foram encontrados no local 3, durante a segunda e a terceira coletas e no local 4 durante a quarta coleta. As maiores concentrações de Pb foram encontradas no local 3, durante a segunda coleta e no local 4, durante a quarta coleta. Quanto à matéria orgânica, os locais 1 e 2 foram os que tiveram os menores teores, sendo que os locais 3, 4 apresentaram quantidades mais altas. Os locais 1 e 2 se encontram situados em um nível mais elevado do que os locais 3 e 4, tendo possivelmente sofrido processo de lixiviação no decorrer do tempo, o que viria explicar a baixa concentração de metais nestes locais.

A diversidade dos fungos, isolados de inóculos procedentes daquela região, variou, dependendo do local de coleta: Do local 1 cresceram 33 táxons em meio com Zn, 23 táxons em meio com Pb e apenas 4 táxons em meio sem metais; do local 2 cresceram 29 táxons em meio com Zn, 26 em meio com Pb e 3 táxons sem metais; do local 3 cresceram 33 táxons em meio com Zn, 11 táxons em meio com Pb e nenhum sem metais; do local 4 cresceram 22 táxons em meio com Zn, 14 táxons em meio com Pb e 1 taxon sem metais e do local 5, 23 táxons em meio com Zn, 14 táxons em meio com Pb e 2 táxons sem metais. Por estes resultados pode-se concluir que a maioria deles já está adaptada a este meio poluído, pois o desenvolvimento só foi possível quando se usou MEA 2%, um meio considerado “pobre”, acrescido de Zn (mais de 50% cresceram neste meio) e em média mais de 36% cresceram em meio contendo Pb.

Dos 70 taxons isolados ocorreram cerca de 33 pertencentes ao gênero *Penicillium*, 7 ao gênero *Aspergillus*, 5 ao gênero *Fusarium*, 4 ao gênero *Curvularia*, 3 ao gênero *Paecilomyces*, 3 ao gênero *Trichoderma*, 3 ao gênero *Verticillium*, 2 ao gênero *Phoma*, 2 ao gênero *Cladosporium*, 2 ao gênero *Nigrospora*, e 1 representante dos gêneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Cylindrocladium*, *Drechslera*, *Geotricum*, *Gliocadium*.

O índice de similaridade (segundo Sørensen) para os fungos tratados com os metais Zn e Pb, considerando-se o seu comportamento em relação ao regime pluviométrico, foi de 54,54% entre os fungos tratados com Zn e de 56,66% entre os fungos tratados com o Pb.

O índice de similaridade entre os fungos que ocorreram nos diferentes locais de coleta em relação ao Zn variou de 64,70% à 80,00% e em relação ao Pb variou de 54,54% à 82,35%, valores esses que podem ser considerados altos, indicando que espécies semelhantes ocorrem tanto nos meios acrescidos com zinco como nos acrescidos com Pb.

Apesar de promover uma indução no crescimento dos fungos no solo das cerâmicas durante o processo de isolamento, os metais em questão estavam adicionados a um meio relativamente pobre (MEA 2%), o que indica que o aumento da concentração de nitrogênio via nitrato presente, encobriria o efeito tóxico do Zn e do Pb; porém no processo do estudo da tolerância, em meio "rico" de Czapek, verificou-se que a medida em que se aumenta a concentração dos metais presentes a biomassa produzida vai diminuindo, indicando que estes metais estão provocando níveis específicos de inibição durante a primeira fase do crescimento, isto é, até o 8^o para o *Aspergillus terreus* e 12^o dias para o *Paecilomyces lilacinus*, provocado pelos metais; contudo, após estes períodos, verifica-se que os fungos iniciam uma fase de crescimento devido à uma provável complexação dos metais por metabólitos fúngicos, que provocam uma diminuição da toxidez do meio, permitindo um desenvolvimento mesmo mais lento e por um prazo mais longo.

Quanto ao grau de tolerância dos microrganismos selecionados, pode-se verificar que o *Aspergillus terreus* apresenta um EC₅₀ de 489,05 mg/dm³ para o Pb e um EC₅₀ de

81,26 mg/dm³ para o Zn e é bem mais sensível, tanto em termos de resistência ao Zn como também ao Pb, evidenciando a razão de sua baixa ocorrência naquela região; já o *Paecilomyces lilacinus* apresenta um alto grau de tolerância a estes metais, pois seu EC₅₀ é de 1.147,89 mg/dm³ para o Pb e um EC₅₀ de 8.323,79 mg/dm³ para o Zn, o que justifica sua ocorrência elevada dentre as linhagens isoladas no pólo cerâmico de Santa Gertrudes.

As variações dos valores de pH entre as duas linhagens selecionadas, indicam que aumentando-se a concentração dos metais, ocorre concomitantemente um abaixamento do pH, tanto nas amostras iniciais como nos valores finais de cultivo.

Comparativamente, para cada concentração de metal, verifica-se que o *Aspergillus terreus* altera menos os valores do pH que o *Paecilomyces lilacinus*.

A pesquisa mostra que os microrganismos têm sensibilidade aos metais Zn e Pb e que pode ter alterado a microbiota do solo na região.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os limites estabelecidos pela CETESB, aquela região está acima da concentração permitida de Pb^{++} e a concentração de Zn^{++} apesar de não atingir limites preocupantes, também é razoavelmente alta.

As concentrações dos metais variaram, dependendo do local da coleta, os locais 1 e 2 são menos poluídos que os locais 3 e 4 devido provavelmente ao nível de altitude do terreno; o 1 e 2 estão mais elevados que os outros dois e portanto mais sujeitos à lixiviação.

Dos 70 táxons isolados cerca de 33 são pertencentes ao gênero *Penicillium*, 7 ao gen. *Aspergillus*, 5 ao gen. *Fusarium*, 4 ao gen. *Curvularia*, 3 ao gen. *Paecilomyces*, 3 ao gen. *Trichoderma*, 3 ao gen. *Verticillium*, 2 ao gen. *Phoma*, *Cladosporium* e *Nigrospora* e 1 representante dos gen. *Acremonium*, *Alternata*, *Cylindrocladium*, *Drechslera*, *Geotricum* e *Gliocadium*.

O índice de similaridade entre os fungos que ocorreram nos diferentes locais de coleta em relação ao Zn, foi de 64,70% a 80,00% e em relação ao Pb foi de 54,54% a 82,35%, em ambos os casos podem ser considerados altos indicando que espécies semelhantes ocorrem em ambientes com alto de Zn e de Pb.

Quanto ao grau de tolerância dos microrganismos selecionados, pode-se verificar que o *Aspergillus terreus* apresenta um EC^{50} de 489,05 mg/dm^3 para o Pb e 81,26 mg/dm^3 para o Zn, e é bem mais sensível, tanto em termos de resistência ao Zn como ao Pb, evidenciando a razão de sua baixa ocorrência, naquela região. Já o *Paecilomyces lilacinus* apresenta alto grau de tolerância a estes metais, pois seu EC^{50} é de 1.147,89 mg/dm^3 para o Pb e 8.323,79 mg/dm^3 para o Zn, o que justifica sua ocorrência elevada entre as linhagens isoladas no pólo cerâmico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAFEZ S. I. I.; MOHAMED, S. M.; EI-SAID, A. H. M. Seasonal fluctuations of soil fungi of Wadi Qena. **Acta Mycologica**, Varsovia, v.24, n. 1, p. 113-125, 1989.

ANTUNES, M.F.R.; NINOMYIA, A.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. Efeitos de queimada sobre a micota de solo na mata atlântica na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, SP. **Hoehnea**, São Paulo, v.20, n.1/2, p.1-8, 1993.

ATTILI, D.S. **Isolamento, identificação e ecologia de fungos celulolíticos do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, SP.** 1994. 148 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1994.

AZAB, M. S.; PETERSON, P. J.; YOUNG, T.W.K. Uptake of cadmium by fungal biomass. **Microbes**, Cambridge, v. 62, p.63 – 28, 1990.

BÅÅTH, E. Tolerance of copper by entomogenous fungi and the use of copper-amended media for the isolation of entomogenous fungi from soil. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, p.1140 – 1152, 1991.

BALDINI, S. M. **Fungos filamentosos encontrados, em latossolo vermelho-amarelo textura média sob vegetação de cerrado, no município de Corumbataí, SP.** Rio Claro, 50 f.. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Ciências Biológicas) Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1993.

BATISTA, A. C. ; BARROS, F.A C.; SILVA, J. O; CASTRILLON, A. ;MACIEL, M.J.P. Espécies fúngicas do solo do Estado do Maranhão. **Atas do Instituto de Micologia**, Recife, v.2, p. 309-317, 1965.

BATISTA, A C.; SILVA, O J.; LIMA,J. A . Curiosas espécies de penicilia dos solos florestais do noroeste do Maranhão. **Atas do Instituto de Micologia**, Recife, v.4, p.191-201, 1967 a.

BATISTA, A .C.; SILVA, O. J.; PERES, M. M. J.; LIMA, J. A . A micropopulação fúngica dos solos do território federal do Amapá. **Atas do Instituto de Micologia**, Recife, v. 4, p.117-121,1967 b .

BATISTA, A C.; FARIAS-SOBRINHO, J. R.; MORAIS, J. O ; BATISTA, O C. ;SILVA ,E.; CORDEIRO-NETO, F. Micromicetos e *Streptomyces* da região da caatinga litorânea do Estado da Paraíba, assinalados 44 perfis de solos. **Publicação do Instituto de Micologia**, Recife, n.529, 1970.

BEHERA , N.; PATI, D. P.; BASU, S. Ecological studies of soil microfungi in a tropical forest soil of Orissa, Índia. **Tropical Ecology**, Varanasi, v. 32, n.1, p. 136-143, 1991.

BETTUCI, L.; RODRIGUES, C. Composition and organization of the *Penicillia* and its teleomorphs taxocene of two soils in Uruguai. **Mycologia**, Lancaster, v.10, n.2, p.107-116, 1989.

BETTUCI L.; LUPO, S.; SILVA, S. Distribution des populations de *Trichoderma* dans deux sols de paturage em Uruguay. **Bulletin de la Société Française de Mycologie Medicale**, Paris, v.105, n.4, p. 309-312, 1989.

BETTUCI, L.; RODRIGUEZ, C.; ROQUEBERT, M. F. Fungal communities of volcanic ash soils along an altitudinal gradient in Mexico, 3. Seasonal variation. **Pedobiologia**, Jena, v. 34, n.1, p. 61-67, 1990.

BONACIN-SILVA, A. L. 2001. **Caracterização ambiental e estudo do comportamento do chumbo, zinco e boro em área degradada por indústrias cerâmicas – região dos lagos de Santa Gertrudes, São Paulo**, 2001. 230 f. Dissertação (Mestrado em Geologia) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001

BROWN, J.C. Soil fungi of some british sand dunes in relation to soil type and succession. **Journal of Ecology**, London, v. 46, p. 641-663, 1958.

CAVALCANTI, L. H. **Mixomicetos corticolas do cerrado de Emas (Pirassununga S.P)** São Paulo. 1974. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1974.

CECCATO, S. R.; ATTILI, D. S.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; TAUKE, S.M. Aspectos da microbiota fúngica de solo cultivado com *Pinus* no município de Rio Claro, SP. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v.10, p. 227-230, 1986.

CHEN, A.W. Soil physical factors and ecology of fungi. Further studies in relatively dry soils. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.49, p. 419-426, 1966.

CHEREPANOVA, N. P. Effects of environmental conditions on the production of fruit bodies by species of *Chaetomium*. **Mikologia Fitopatologica**, Varsovia, v.9, p. 391-396, 1975.

CHRISTENSEN, M. A view of fungal ecology. **Mycologia**, New York, v.81, p.1-19, 1989.

COSTA, S. M. G. **Efeito da adição de vinhaça na dinâmica da microflora do solo de cerrado de Corumbataí, SP.** Rio Claro, 1983. 128 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista., 1983.

DIANESE, J. C.; MEDEIROS, R. B.; SANTOS, L. T. P. Biodiversity of microfungi found on native plants of Brazilian cerrado. In HYDE, K. D. (Ed) **Biodiversity of Tropical Microfungi**, Hong Kong, University Press, p. 367-409, 1997.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi.**, New York, Academic Press, USA, 1980.

DROSDOWICZ, A . Equilíbrio microbiológico dos solos de cerrado. In. Ferri, M.G. (coord). **Simpósio sobre o cerrado: bases para a utilização agropecuária**, Belo Horizonte, Ed Itatiaia, SP, Ed. Universidade de São Paulo. p.233-245 ,1977.

DUNN, P. H.; REYNOLDS, D.R.; BARROS, S. Brazilian *Aspergilli* and other fungi from River Trombetas basin soils. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi série Botânica**, Belém, v. 5, n. 2, p.163-173, 1989.

DUXBURY, T.; BICKNELL, B. Metal-tolerant bacterial populations from natural and metal-polluted soils. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v. 15, p. 243-250, 1983.

ELMHOLT, S.; KJOLLER, A. A comparison of the occurrence of the saprophytic soil fungi in two differently cultivated fields soils. **Agriculture and Horticulture**, Herfordshire, v.6, p.229-239, 1989.

EL-SHAROUNY, H. M. M.; MOUBASHER, A . H.; BADRAN, R. A. Cellulose inhabiting fungi in the Nile mud receiving city refuses in upper Egypt. **Acta Mycologica**, Varsovia, v.25, n.1, p.131-139, 1989.

FARROW, W. M. Tropical soil fungi. **Mycologia**, Lancaster, v. 46, p.632-646, 1954.

FASSATIOVA, O. Bodenmikromyceten im Gerbirge Zdanick (Steinitzer Wald) und in der Steppe bei Pouzdrany, Pausran. **Ceska Mycologica**, Praga, v. 23, p. 243-252, 1969.

FERNANDES, J.C.; HENRIQUES, F.S. Biochemical, physiological and structural effects of excess of copper in plants. **The Botanical Review**, New York, v. 57 p. 246 – 273, 1991.

FERNANDES, M. J. S.; MAIA, L. C. População fúngica de solos da zona da mata de Pernambuco, antes e após a adição de vinhaça. In **38º Congresso Nacional de Botânica**, São Paulo, Resumos, Sociedade Botânica do Brasil v.38, p. 296, 1987.

FIDALGO, O; FIDALGO, M. E. P.; FURTADO, J. S. Fungi of the “cerrado”region of São Paulo. **Rickia**, São Paulo, v.2, p.55-71, 1965.

FLIEßBACH, A.; MARTENS, R.; REBER, H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soil treated with heavy metal contaminated sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, New York., v.26, p.1201-1205,1994.

FRANKLIN, R. B.; MILLS, A. L., Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia agricultural field. **FEMS Microbiology Ecology**, New York, v. 44, n.3, p. 335-346, 2003.

FREEDMAN, B.; HUTCHINSON, I. C. Effects of smelter pollutant on forest leaf litter decomposition near a nickel-copper smelter at Sudbury. **Canadian Journal of Botany**, Ontario, Canada, v. 58, p.1722-1736, 1980.

FRESQUEZ, P. R. Fungi associated with soils collected beneath and between pinyon and juniper canopies in New Mexico. **Great Basin Naturalist**, Provo, v.50, n. 2 p. 167-172, 1990.

FRÖSTEGARD, A.; TUNLID, A.; BÅÅTH, A. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. **Applied and Environmental Microbiology** , Washington, v. 59, p.3605-3617,1993.

GADD, G. M. Metals and microorganisms: a problem of definition. **FEMS Microbiological Letters**, Amsterdam, v. 100, p. 197-204, 1992a .

GADD, G. M. Microbial control of heavy metal pollution. In: **Symposium of the Society for General Microbiology**, Cardiff Proceedings,. Cambridge University Press, v.48, p. 59- 88, 1992b .

GADD, G. M.; RAMSAY, L.; CRAWFORD, J. W.; RITZ, K. Nutritional influence on fungal colony growth and biomass distribution in response to toxic metals. **FEMS Microbiological Letters** , Amsterdam, v.204, p. 311 – 316, 2001.

GAMS, W.; DOMSCH, K. H. The spatial and seasonal distribution of microscopic fungi in arable soils. **Transactions of the British Mycological Society** ,Cambridge, v. 52, n. 2, p. 301-308, 1969.

GARLIPP, A , B. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos do solo do Banhado Grande, na Estação Ecológica de Juréia Itatins, SP.** 1995. 94f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) Instituto de Biociências , Rio Claro – Universidade Estadual Paulista, 1995.

GARRETT, S. D. **Soil Fungi and Fertility**. Oxford, Pergamon, 165p. 1963.

GAZARINI, L. C. **Alguns aspectos ecológicos da macrófita *Macaya fluviatilis* Aublet na Represa do Lobo, (Brotas- Itirapina, SP).** São Carlos, 1983. 303 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia)- Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, 1983.

GIANNINI, S. D.; FORTI, N.; DIAMENT, J. e ISSA, J. S. Aspectos terapêuticos das dislipidemias – Tratamento farmacológico – Vastatinas: semelhanças e diferenças. **Revista da Sociedade de. Cardiología do. Estado de São Paulo.**, São Paulo, 1999.

GODEAS, A . M. Micoflora del suelo de la Argentina V. Formas ascospóricas adicionales de la Provincia de Buenos Aires. Provincia fitogeográfica del Espinal, distrito de los Talares. **Mycopathologia**, Hague, v. 56,n.2, p.81- 96, 1975.

GODEAS, A . M.; MARCHAND, S. G.; BERTONI, M. D. Micoflora del suelo de la Argentina VI. Algunos hongos imperfectos en el suelo de la playa. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, Buenos Aires, v.18, n.1-2, p.33-55, 1985.

GOMES, S. P. **Fungos micorrízicos arbusculares do solo da Ilha dos Eucaliptos, Represa de Guarapiranga, São Paulo. SP** Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Ciências Biológicas) 1997. 40f. Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 1997.

GRANDI, R. A. P. Hyphomycetes do Estado de São Paulo. 1. Espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu, SP. **Rickia**, São Paulo, v.12, p. 125-145, 1985.

HAMMILL, J. M. *Paecilomyces clavissporus* sp. nov. *Trichoderma saturnisporum* sp. Nov. and others noteworthy soil fungi from Georgia. **Mycologia**, Lancaster, v.62, p.107-122, 1970.

HARTLEY,J. ; CAIRNEY, J. W. G.; MEHARG, A. A . Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptative tolerance to potentially toxic metals in the environment? **Plant and Soil**, Hague, v.189, p. 303-319, 1997 a .

HARTLEY,J. ; CAIRNEY, J. W. G.; SANDERS, F. E. ;MEHARG, A . A. Toxic interactions of metals ions (Cd^{2+} Pb^{2+} Zn^{2+} and Sb^{3+}) on in vitro biomass production of ectomycorrhizal fungi. **New Phytology**, Cambridge, v.137, p.551-562, 1997 b.

HASHEM, A.R. Effect of copper on the growth of *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* and *Rhizopus stolonifer*. **Transactions of the Mycological Society of Japan**, Tokio, v.30, p. 111 – 119, 1989.

HENDRICKS, C. W. The effect of toxic chemicals on nutrient cycling processes in soils. In Tarredellas, J., Bitton, G.; Rossel, D. (Ed). **Soil Ecotoxicology**. Lewis, New York, p. 235-270, 1996.

HEREDIA, G.; ULLOA, M.; SOSA, V.J. Estudio comparativo entre las comunidades fúngicas del suelo y de la rizosfera de plantas de espinaca cultivadas bajo el sistema de chinampas. **Revista Latino-americana de Microbiología**, México, v.30, p.155-161, 1988.

HERINGER, E.P. Flora micológica e suas implicações nos ecossistemas dos cerrados. **Cerrado**, Brasília, v.4, n.15, p.27-32, 1972.

HOLUBOVÁ-JECHOVA, V.; SIERRA, A .M. Hyphomycetes from Loma de la Coca and some localities of Habana and Matanzas provinces, Cuba. **Acta Botanica Cubana**, Havana, v.76, n.1, p.1-15, 1989.

HOWSON, S. J.; DAVIS, R. P. Production of phytate-hydrolysing enzyme by soil fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, Stoneham, v. 5, p. 377-382, 1983.

JEFFREY, W. W. Soil temperature measurements in forests of northwestern Canada. **Ecology**, Durham, v. 44, n.1, p.151-153, 1963.

JENSEN, V. Effects of lead on biodegradation of hydrocarbons in soil. **Oikos** , Buenos Aires, v.28 p. 220-224, 1977.

JESCHKE, N.; NELSON, P. E.; MARASAS, W.F. O. *Fusarium* species isolated from soil samples collected at different altitudes in Transkei, Africa. **Mycologia**, Lancaster, v.82, n.6, p. 727-733, 1990.

JOHANNESSON, M. Appendix A: A review of risks associated to arsenic, cadmium, lead, mercury and zinc. In: Johannesson, M. *et al* (Ed) **The Market Implication of Integrated Management for Heavy Metals Flows for Bopenergy use in the European Union**. ,Kalmar, Kalmar University/ Department of Biology and Environmental Science, p. 62, 2002

JORDAN, M. J.; LECHEVALIER, P. Effects of zinc-smelter emissions on forest soil microflora. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.21, p.1855-1865, 1975.

KAPOOR, A. ; VIRARAGHAVAN, T. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger* . **Bioresource Technology**, Essex, England, v.61 n.3, p. 221- 227,1997.

KIRK, J.L.; BEAUDETTE, L. A.; HART,M.; MOUTOGLIS, P.; KLIRONOMOS, J. N.; LEE , H. ; TREVORS, J.T. Methods of studying soil microbial diversity. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v.58, p.169-188, 2004.

KHAN, M.; SCULLION, J. Effect of soil on microbial responses to metal contamination. **Environmental Pollution**, Barking, England, v.110 p.115 – 125, 2000.

LEDIN, M. Accumulation of metals by microorganisms – processes and importance for soil systems. **Earth Science Review** , Amsterdam, v.51: 1-3, 2000.

LEITA, I.; DE NOBLIL, M.; MUHLBACHOVA, G; MONDINI, C.; MARCHIOL, L. E.; ZERBI, G. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. **Biology and Fertilty of Soils**, Berlin, v. 19, p. 103 – 108, 1995.

LEVIGHIN, S. C. **Problemas ambientais e impactos sociais provocados pela atividade ceramista nos municípios de Santa Gertrudes e Cordeirópolis (SP)**. 2005. 150f. Tese (Doutorado em Geografia) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas , Rio Claro, 2005.

LEWITT, J. **Responses of plants to environmental stresses**:. Water, radiation, salt and other stresses. New York, Academic Press, v.2, p. 607, 1980.

LIMA, J. A; MACIEL, M. J. Contribuição ao estudo de *Aspergilli* geofílicos. **Publicação do Instituto de Micologia**, Recife, n. 665, 1970.

LIMA, J. A ; MACIEL, M. J. P.; BARROS, S. R. Contribuição ao estudo de *Aspergilli* geofílicos. **Publicação do Instituto de Micologia**, Recife, n.667,1971.

LO, W.; CHUA, H.; LAM, K. H. ; BI, S. P. A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass. **Chemosphere**, Oxford, v.39, n. 15, p. 2723-2736, 1999.

MANOCH, L.;PAYAPANON, A.; TUBAKI, K. Taxonomic study of thermophilic fungi in Thailand. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.27, p. 257-269, 1986a.

MANOCH, L.; SUTABUTRA, T.; TUBAKI, K. Soil microfungi in agricultural and forest soils of Thailand. In: **14th INTERNATIONAL CONGRESS OF MICROBIOLOGY**, 1986, *Abstracts of the Manchester International Union of Microbiology Societies*, 1986b.

MARASAS,W. F. O.; BURGESS, R. Y. ; ANELICH, S. C. Survey of *Fusarium* species associated with plant debris in South African soils. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.54, n.1, p. 63-71, 1988.

MILANEZ, A . I. Aquatic fungi of the “cerrado “region of São Paulo State I First results. **Rickia**, São Paulo, v.3, p. 97-109, 1968.

MILLER, J. H. ; GIDDENS, J. E. ; FOSTER, A . A . A survey of fungi of forest and cultivated soils of Georgia. **Mycologia**, Lancaster, v. 49, n.6, p. 779-808, 1957.

MORRALL, A Soil microfungi associated with aspen in Saskatchewan: synecology and quantitative analysis. **Canadian Journal of Botany** ,Ottawa, v. 52, p.1803-1817, 1974.

MUGHOGHO, L. K. The fungus flora of fumigated soils. **Transaction of the British Mycological Society**, Cambridge, v.51, p. 441-459, 1968.

NINOMIYA, A.; ANTUNES, M. F. R.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. R. Fungi from soil affected by birds in the “Parque Estadual das Fontes do Ipiranga”, São Paulo State, Brazil. **Revista de Microbiologia** ,São Paulo, v. 24, p. 49-53, 1993.

NORDGREN, A.; BÅÅTH, E.; SÖDERSTROM, B. Microfungi and microbial activity along a heavy metal gradient. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.45, n.6, p.1829-1837, 1983.

NORDGREN, A.; BÅÅTH, E.; SÖDERSTROM, B. Soil microfungi in an area polluted by heavy metals. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.63, p. 448-455,1985.

OGBONAVA, C.I.C.; PUGH, G. J. F. Nigerian soil fungi. **Nova Hedwigia**, Berlin, v.36, p.795-808, 1982.

OKANO, O. et. al. **Projeto Corumbataí Cerâmicas** , Ed. Cetesb, p.84, 2006

PALIT,S.; SHARMA, A.; TALUKDER, G. Effects of cobalt in plants. **Botanical Review**, New York, n. 60, p. 149-181, 1994.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil microbiology and Biochemistry**, 2nd. Ed. Academic Press, San Diego.1996.

PFENNING, L. **Mikroskopische Bondenpilze des ostamazonischen Regenwaldes (Brasilien)**., 1993, 110f. Tese (Doutorado em Biologia) – Fakultät für Biologie Universität de Tübingen, Tübingen, 1993.

PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A **Levantamento dos fungos zoospóricos (Mastigomycotina), da Represa do Lobo (“Broa”), Itirapina, SP** 1990. 176f.. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) Instituto de Biociências Universidade Estadual Paulista – Rio Claro 1990.

PRIMAVESI, A. **Manejo Ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. 9 ed. São Paulo, Ed. Nobel.1990.

RAJAPAKSHA, R. M. C. P.; TOBOR-KAPON, M. A.; BÄÄTH, E. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently. **Applied and Environmental Microbiology**, Washignton, v.70, n.5, p. 2966-2973, 2004.

RAIMUNDO-JUNIOR, O.; TAU-K-TORNISIELLO, S. M. Occurrence of Hyphomycetes and Actinomycetes in red-yellow latosol from a cerrado region in Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.28 p. 197-203, 1997.

RAO, K. V. Fungi from diversified habitats. **Indian Journal of Botany**, Hyderabad, v.9, n.2, p.164-167, 1986.

RHEEDER, J. P.; VAN WYK, P. S.; MARASAS, W. F. O. Fusarium species from Marion and Price Edward Island. **Suid Afrikaanse Tydskrif in Plantkunde**, Pretoria, v.56, n. 4, p. 482-486, 1990.

ROSS, I. S. Some effects of heavy metals on fungal cells. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.64, n.2, p.175-193,1975.

SALATTI, E. **Diagnóstico ambiental sintético e qualidade da água como subsídio para o planejamento regional integrado da bacia hidrográfica do rio Corumbataí (SP)**. 1997. 199 f. Tese (Doutorado em Hidrologia) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.1997.

SANTOS, O M. ; GRISI, B. M. Decomposição da celulose e do folhedo em solo de floresta no sul da Bahia: queimadas e não queimadas. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Campinas, v. 3, p.149-153, 1979.

SANTOS, V. B.; WELLBAUM C.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. Fungos filamentosos do solo da Ilha do Eucaliptos na represa do Guarapiranga em São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.12, n.1, p. 101-110,1998.

SAPPA, F. La micoflora del terreno quale elemento strutturale delle communitá vegetali. **Allionia** ,Torino, v. 2 , n.2, p.293-345, 1955.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. ; PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A.; OKINO, L.K. **Primeiro catálogo da coleção de culturas de fungos do Instituto de Botânica**. São Paulo, Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Instituto de Botânica. p.35, 1994.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; TRUFEM, S. F.B.; MALATINSKY, S.M. M. NINOMIYA, A.; ANTUNES, M. F. F.- Mucorales(Zygomycotina) from soil affected by excrement of birds in the “Parque Estadual das Fontes do Ipiranga”, São Paulo Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** ,São Paulo, v.19, n.1, p.7-10, 1996.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; MILANEZ, A. I. Fungos microscópicos da mata atlântica de Paranapiacaba, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 73-79, 1998.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; MILANEZ, A. I. ;TRUFEM,S. F. B.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L.A.; GRANDI, R.A.P.; SANTOS, M.L. ;GIUSTRA, K. C. Microscopic fungi in the atlantic rainforest in Cubatão, S.P. Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** , São Paulo, v.37, p. 267- 275, 2006.

SEAWARD, M. R. D. Use and abuse of heavy metal bioassays in environmental monitoring. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.176, p. 129 – 134, 1995.

SÖDERSTROM, B. E. ; BÅÅTH, E. Soil microfungi in three Swedish coniferous forests. **Holarctic Ecology** , Copenhagen, v. 1, p.62-72,1978.

STANDARD Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th ed., New York, American Public Health, p. 9 – 134, 1998.

STARKEY, R. L. Effect of pH on toxicity of copper to *Scytalidium* sp., a copper tolerant fungus and some other fungi. **Journal of General Microbiology**, London, v.78, p. 217-225, 1973.

TATSUYAMA, K.; EGAWA, H,; SENMARU, H,; YAMAMOTO, H,; ISHIOKA, S,; TAMATSUKURI, T,; SAITO, K. *Paecilomyces lilacinus*: its tolerance to cadmium. **Experientia**, Basel, v.31, p. 1037-1038, 1975.

TAUK, S. M.; RUEGGER, M. S. Alguns aspectos da microbiota do solo sob vegetação de cerrado, tratado com vinhaça, no município de Corumbataí, SP. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.18, n. 1, p.67-76, 1987.

TAUK, S. M. 1987 – **Efeito de doses cumulativas de vinhaça em algumas propriedades do solo do cerrado e do solo de culturas de milho e cana de açúcar nos municípios de Corumbataí e Rio Claro.** Tese (Livre Docência)- Instituto de Biociências – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1987.

TREVORS, J.T. Bacterial biodiversity in soil with emphasis on chemically-contaminated soils. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.101, p. 45-67, 1998.

TRUFEM, S. F. B. - **Mucorales (Zygomycetes) do Estado de São Paulo.** 1978. 187f . Dissertação (Mestrado em Micologia)– Escola Paulista de Medicina.1978.

TRUFEM, S. F. B. Mucorales do Estado de São Paulo 1 *Mucor* Micheli. **Rickia** , São Paulo, v.9, p. 81-91, 1981^a.

TRUFEM , S. F. B. Mucorales do Estado de São Paulo 2 Gênero *Absidia* van Tieghem, *Gongronela* Ribaldi e *Rhizopus* Ehrenberg. **Rickia**, São Paulo, v.9, p. 99-106, 1981b.

TRUFEM, S. F. B. Mucorales do Estado de São Paulo 3 Gêneros *Circinella* van Tieghem ; Lê Monnier e *Cunninghamella* Matruchot. **Rickia**, São Paulo, v.9, p.113-120, 1981c.

TRUFEM S. F. B.; GRANDI, R. A . P.; SILVEIRA, R. B. A .Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em plantas ornamentais do Jardim Botânico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 17, p. 85-89, 1990.

UPADHYAY, H. P. Soil fungi from northeast and north Brazil VI. **Nova Hedwigia**, Berlin, v.13, p.227-234, 1966.

VARDAVAKIS, E.; LAVRENTIALES, G. Cellulolytic microfungi in some soil of the Athenous Valley in northern Greece. **Nova Hedwigia**, Berlin, v.36, p. 715-724, 1982.

VIÉGAS, A . P. Alguns fungos do Brasil II. **Bragantia**, Campinas, v.4, n.1, p. 1-392, 1943.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**, .New York, V.11, p. 235-250, 1995.

WAINWRIGHT, M. & GADD, G. M. Fungi and industrial pollutants. In: **The Mycota. Environmental and microbial relationships**, vol. IV. Wicklow, D. T. & Söderström, B. (Ed.) Springer Verlag, Berlin, v.4, p. 85-97,1997.

WAKSMAN, S. A . Soil fungi and their activities. **Soil Science**, Baltimore,, v.2 p. 103-155, 1916.

WARCUP, J. H. The soil plate method for isolations of fungi from soil. **Nature**, London, v. 166, p. 117 –118, 1950.

WELLBAUM, C., SCHOENLEIN-CRUSIUS; SANTOS, V. B. Fungos filamentosos em folhas do ambiente terrestre e aquático da Ilha dos Eucaliptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v.22, n.1, p. 1-12, 1.999.

WILLIAMS, S. T.; PARKINSON, D. Studies of fungi in a podzol 1: Nature and fluctuation of the fungus flora of the mineral horizons. **Journal of Soil Sciences**, Oxford, v.15, p. 331-341, 1964.

WITKAMP, M.; AUMUS, B. S. Processes in decomposition and nutrient transfer in forest systems. In ANDERSON, J. M.;MACFAYDEN, A. (Ed). **The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes**, London, Blackwell Scientific. p..375-395, 1975.

WOOD,J. e WANG,H. Strategies for microbial resistance to heavy metal. In Stumm, W. (Ed.), **Chemical Process in Lakes**. Wiley, New York, p 81-98, 1985.

ZUCONI, L.; RIPA, C.; ALIENELLO, F. ; BENEDETTI, A ; ONOFRI, S. Lead resistance, sorption and accumulation in *Paecilomyces lilacinus* strain. **Soil Biology and Fertility**, Berlin, v. 37, p. 17-22, 2003.

APÉNDICE

Tabela 1A Curva de crescimento do *Aspergillus terreus* em meio Czapek modificado durante 20 dias e as respectivas médias da biomassa.

Dia	Biomassa	Valor médio
1°	0,0909	0,0808
	0,0651	
	0,0864	
2°	0,7539	0,7438
	0,7591	
	0,7181	
3°	1,0355	1,0374
	1,0345	
	1,0424	
4°	1,3574	1,1566
	1,0754	
	1,0372	
5°	1,2293	1,1322
	1,0111	
	1,1563	
6°	1,2427	1,2790
	1,4547	
	1,1396	
8°	1,5504	1,4858
	1,2103	
	1,6968	
12°	1,5054	1,4850
	1,4878	
	1,4618	
16°	1,3192	1,1855
	1,2657	
	0,9716	
20°	1,1675	1,1971
	1,3174	
	1,1064	

Esta tabela apresenta a curva de crescimento do *Aspergillus terreus*. O primeiro valor de biomassa obtido no primeiro dia, foi de 0,0808 g. Houve crescimento da biomassa até o oitavo dia, em que atingiu o valor máximo de 1,4858 g, decrescendo a seguir.

Tabela 2A Tolerância do *Aspergillus terreus* a 250 mg/dm³ de Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2º	0,4423	0,4738
	0,5053	
4º	0,6445	0,7956
	0,9468	
6º	1,1350	1,0837
	1,0325	
8º	0,8560	0,8670
	0,8780	
12º	0,9806	1,0403
	1,1000	
16º	0,9175	0,9308
	0,9441	
20º	0,8346	0,8162
	0,7978	

O valor inicial da biomassa no segundo dia foi de 0,4738 gramas; o crescimento da biomassa no oitavo dia foi de 0,8670 gramas, sendo que o maior valor foi no sexto dia, diminuindo a seguir.

Tabela 3A Tolerância do *Aspergillus terreus* a 500 mg/dm³ Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,2820	0,2873
	0,2926	
4°	0,4041	0,4188
	0,4336	
6°	0,6373	0,6577
	0,6781	
8°	0,8205	0,8428
	0,8651	
12°	1,1552	1,2376
	1,3202	
	1,0924	1,1306
	1,1689	
20°	1,0003	0,9200
	0,8397	

Tabela 4A Tolerância do *Aspergillus terreus* a 750 mg/dm³ Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	—	—
	—	
4°	0,0631	0,0342
	0,0054	
6°	0,1183	0,1427
	0,1671	
8°	0,3516	0,3704
	0,3892	
12°	0,4800	0,4644
	0,4489	
16°	0,7644	0,6992
	0,6340	
20°	0,8435	0,9036
	0,9638	

Tabela 5A Tolerância do *Aspergillus terreus* a 1000 mg/dm³ Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	—	—
	—	
4°	—	—
	—	
6°	—	—
	—	
8°	0,0629	0,0511
	0,0393	
12°	0,3279	0,3261
	0,3244	
16°	0,5661	0,4959
	0,4611	
20°	0,7897	0,7233
	0,6924	

Tabela 6A Valores para o cálculo da tolerância entre a biomassa de *Aspergillus terreus*, relativa ao 8° dia de cultivo e diferentes concentrações de nitrato de chumbo (Método de Hartley 1997).

[Pb ⁺⁺] mg/dm ³	Biomassa (g)	Biomassa %	% Inibição
0	1,4858	100	0
250	0,8670	58,35	41,65
500	0,8428	56,72	43,28
750	0,3704	24,93	75,07
1000	0,0511	3,44	96,56

$$\% \text{ inibição} = 6,337999 + (0,08928 * \text{Conc. Pb}^{++})$$

$$R = 0,9738$$

$$\% \text{ inibição } 50 \text{ (EC}_{50}\text{)} = 489,05 \text{ mg/dm}^3$$

$$\% \text{ inibição } 100 \text{ (EC}_{100}\text{)} = 1.049,08 \text{ mg/dm}^3$$

Com massa zero de chumbo não houve inibição do crescimento. À medida que a concentração do chumbo aumenta (de zero a 1.000mg/dm³), aumenta a inibição (de zero a 94,98%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,4858 a 0,0511g). O cálculo feito pela regressão linear do teste de tolerância deu os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀

Tabela 7A Valores da tolerância do *Aspergillus terreus* a 1.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺.

	Biomassa	Valor médio
2°	0,0991	0,0986
	0,0982	
4°	0,2200	0,1984
	0,1768	
6°	0,2417	0,2912
	0,3408	
8°	0,3577	0,3758
	0,3940	
12°	0,4092	0,4379
	0,4667	
18°	0,6428	0,6127
	0,5827	
24°	0,5891	0,5869
	0,5848	
30°	0,5303	0,5676
	0,6049	

Tabela 8A Valores da tolerância do *Aspergillus terreus* a 2.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2	—	—
	—	
4	0,0600	0,0589
	0,0578	
6	0,1080	0,1047
	0,1015	
8	0,1918	0,1569
	0,1220	
12	0,2420	0,2930
	0,3441	
18	0,2582	0,3071
	0,3561	
24	0,5102	0,4526
	0,3950	
30	0,4849	0,4403
	0,3957	

Tabela 9A Valores da tolerância do *Aspergillus terreus* a 3.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

	Biomassa	Valor médio
2°	—	—
	—	
4°	0,0555	0,0584
	0,0613	
6°	0,0442	0,0859
	0,1277	
8°	0,1008	0,1215
	0,1422	
12°	0,1198	0,1330
	0,1462	
18°	0,2258	0,2495
	0,2732	
24°	0,4111	0,3882
	0,3653	
30°	0,3464	0,3468
	0,3473	

Tabela 10A Valores da tolerância do *Aspergillus terreus* a 4.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺.

Dia	Biomassa	Valor. médio
2°	—	—
	—	
4°	0,0133	0,0187
	0,0242	
6°	0,0525	0,0512
	0,0499	
8°	0,0620	0,0757
	0,0894	
12°	0,1134	0,0932
	0,0731	
18°	0,2266	0,2005
	0,1744	
24°	0,2169	0,1959
	0,1750	
30°	0,2417	0,2929
	0,3442	

Tabela 11A Valores para o cálculo da tolerância entre a biomassa de *Aspergillus terreus*, relativa ao 8º dia de cultivo e diferentes concentrações de nitrato de zinco (Método de Hartley 1997).

[Zn ⁺⁺] mg/dm ³	Log [Zn ⁺⁺]	Biomassa (g)	Biomassa %	% Inibição
0	0	1,4858	100	0
1.000	3	0,3758	25,29	74,71
2.000	3,301	0,1569	10,56	89,44
3.000	3,477	0,1215	8,18	91,82
4.000	3,602	0,0757	5,09	94,91

$$\% \text{ Inibição} = - 0,4284201 + (26,40405 * \text{Log} [\text{Zn}^{++}])$$

$$R = 0,9981$$

$$\% \text{ Inibição } 50 \text{ EC}_{50} = 1,909875 \rightarrow 81,26 \text{ mg/dm}^3$$

$$\% \text{ Inibição } 100 \text{ EC}_{100} = 3,803524 \rightarrow 6.360,98 \text{ mg/dm}^3$$

Com massa zero de zinco não houve inibição do crescimento. À medida que a concentração do zinco aumenta (de zero a 4.000mg/dm³), aumenta a inibição, (de zero a 94,91%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,4858g para 0,0757g) O cálculo feito pelo teste de tolerância deu os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀ (tabela 11A).

Tabela 12A Valores de crescimento do *Paecilomyces lilacinus* 25°C

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1228	0,1107
	0,1083	
	0,1011	
3°	0,3887	0,3635
	0,3070	
	0,3948	
4°	0,8091	0,8420
	1,0126	
	0,7044	
5°	0,9044	0,9675
	1,1914	
	0,8069	
6°	0,8295	0,9897
	0,9877	
	1,1521	
8°	0,9857	1,0069
	1,0306	
	1,0044	
10°	1,0153	1,0119
	0,9985	
	1,0219	
12°	0,9943	1,1420
	0,9870	
	1,4447	
16°	0,9274	0,8795
	0,8225	
	0,6123	
20°	0,8038	0,8594
	0,8668	
	0,9076	
24°	0,5964	0,7584
	0,7443	
	0,9347	
28°	0,5161	0,6651
	0,6846	
	0,7946	
32°	0,8116	0,6364
	0,6847	
	0,5881	

Tabela 13A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 250 mg/dm³ de Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1305	0,0933
	0,0561	
4°	0,5995	0,6248
	0,6502	
6°	0,9049	0,8524
	0,7999	
8°	0,9948	0,9846
	0,9744	
12°	0,9269	0,9054
	0,8840	
16°	0,7777	0,7913
	0,8050	
20°	0,6644	0,7140
	0,7636	

Tabela 14A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 500 mg/dm³ de Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1015	0,0724
	0,0434	
4°	0,6243	0,6254
	0,6265	
6°	0,9394	0,9062
	0,8731	
8°	1,1197	1,0869
	1,0542	
12°	0,9156	0,9007
	0,8859	
16°	0,8845	0,8595
	0,8346	
20°	0,7443	0,7113
	0,6783	

Tabela 15A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 750 mg/dm³ de Pb⁺⁺.

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1373	0,1141
	0,0910	
4°	0,4387	0,4402
	0,4417	
6°	0,5797	0,5906
	0,6015	
8°	0,7271	0,6651
	0,6031	
12°	0,7234	0,7540
	0,7846	
16°	1,1230	1,0929
	1,0628	
20°	1,1068	1,0668
	1,0268	

Tabela16A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 1000 mg/dm³ de Pb⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,0818	0,0781
	0,0745	
4°	0,3193	0,3334
	0,3475	
6°	0,5070	0,4694
	0,4319	
8°	0,4704	0,5205
	0,5706	
12°	0,6263	0,6429
	0,6595	
16°	0,5671	0,6180
	0,6689	
20°	0,7451	0,7917
	0,8384	

Tabela 17 A Valores para o cálculo da tolerância entre a biomassa de *Paecilomyces lilacinus*, relativa ao 12º dia de cultivo e diferentes concentrações de chumbo (Método de Hartley 1997).

[Pb ⁺⁺] mg/dm ³	Biomassa (g)	Biomassa %	% Inibição
0	1,1420	100	0
250	0,9054	79,28	20,72
500	0,9007	78,87	21,13
750	0,7540	66,02	33,98
1000	0,6429	56,29	43,71

$$\% \text{ inibição} = 3,772002 + (0,040272 * [\text{Pb}^{++}])$$

$$R = 0,9674$$

$$\% \text{ inibição } 50 \quad (\text{EC}_{50}) = 1.147,89 \text{ mg/dm}^3$$

$$\% \text{ inibição } 100 \quad (\text{EC}_{100}) = 2.389,45 \text{ mg/dm}^3$$

Com massa zero de chumbo não houve inibição do crescimento. À medida que a concentração do chumbo aumenta (de zero a 1.000mg/dm³), aumenta a inibição (de zero a 43,71%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,1420g para 0,6429g). O cálculo feito pela regressão linear do teste de tolerância deu os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀

Tabela 18A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 1.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1655	0,1638
	0,1621	
4°	0,7327	0,7506
	0,7685	
6°	1,0220	0,8921
	0,7622	
8°	1,1855	1,1969
	1,2084	
12°	1,0193	1,0850
	1,1507	
18°	1,3263	1,2887
	1,2512	
24°	1,2731	1,2769
	1,2808	
30°	1,2840	1,2567
	1,2294	

Tabela 19A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 2.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺.

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1275	0,1116
	0,0957	
4°	0,7180	0,6897
	0,6614	
6°	0,7415	0,8838
	1,0262	
8°	1,1728	1,1690
	1,1653	
12°	1,0329	1,0529
	1,0729	
18°	1,2859	1,2931
	1,3003	
24°	1,3184	1,3090
	1,2996	
30°	1,2582	1,2718
	1,2854	

Tabela 20A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 3.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
2°	0,1104	0,1069
	0,1034	
4°	0,5611	0,5691
	0,5772	
6°	0,4519	0,6035
	0,7552	
8°	0,8874	0,9293
	0,9712	
12°	0,9378	0,9213
	0,9048	
18°	1,2291	1,2068
	1,1845	
24°	1,2011	1,2068
	1,2125	
30°	1,1573	1,1652
	1,1732	

Tabela 21A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 4.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
6°	0,7574	0,7931
	0,8289	
12°	0,9430	0,9210
	0,8990	
18°	1,1213	1,2881
	1,4550	
24°	1,0626	1,1948
	1,3270	
30°	0,8180	0,8747
	0,9314	

Tabela 22A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 6.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
6°	0,9070	0,9415
	0,9760	
12°	0,9064	0,9084
	0,9104	
18°	0,9485	0,9247
	0,9010	
24°	1,0042	1,0833
	1,1624	
30°	0,9869	0,8308
	0,6748	

Tabela 23A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 8.000 mg/dm³ de Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
6°	0,4063	0,4123
	0,4184	
12°	0,6013	0,6813
	0,7613	
18°	0,3589	0,4501
	0,5413	
24°	0,5915	0,6224
	0,6533	
30°	0,5999	0,6411
	0,6823	

Tabela 24A Tolerância do *Paecilomyces lilacinus* a 10.000 mg/dm³ Zn⁺⁺

Dia	Biomassa	Valor médio
6º	0,2013	0,2080
	0,2148	
12º	0,2834	0,2821
	0,2808	
18º	0,1385	0,4067
	0,6750	
24º	0,4497	0,5022
	0,5547	
30º	0,1576	0,2693
	0,3811	

Tabela 25A Valores para o cálculo da tolerância entre a biomassa de *Paecilomyces lilacinus*, relativa ao 12º dia de cultivo e diferentes concentrações de zinco (Método de Hartley 1997).

[Zn ⁺⁺] mg/dm ³	Biomassa (g)	Biomassa %	% Inibição
0	1,1420	100,00	0
1.000	1,0850	95,00	5,00
2.000	1,0529	92,20	7,80
3.000	0,9213	80,67	19,33
4.000	0,9210	80,64	19,36
6.000	0,9084	79,54	20,46
8.000	0,6813	59,65	40,34
10.000	0,2821	24,70	75,30

$$\% \text{ inibição} = -4,250937 + (0,00651757 * \text{Conc. Zn}^{++})$$

$$R = 0,9353$$

$$\% \text{ inibição } 50 \text{ EC}_{50} = 8.323,79 \text{ mg/dm}^3$$

$$\% \text{ inibição } 100 \text{ EC}_{100} = 15.995,36 \text{ mg/dm}^3$$

Com massa zero de zinco não houve inibição do crescimento. À medida que a concentração do zinco aumenta (de zero a 10.000mg/dm³), aumenta a inibição (de zero a 75,30%) do crescimento e diminui a produção de biomassa (de 1,1420g para 0,2821g) . O cálculo feito pelo teste de tolerância deu os valores de EC₅₀ e EC₁₀₀