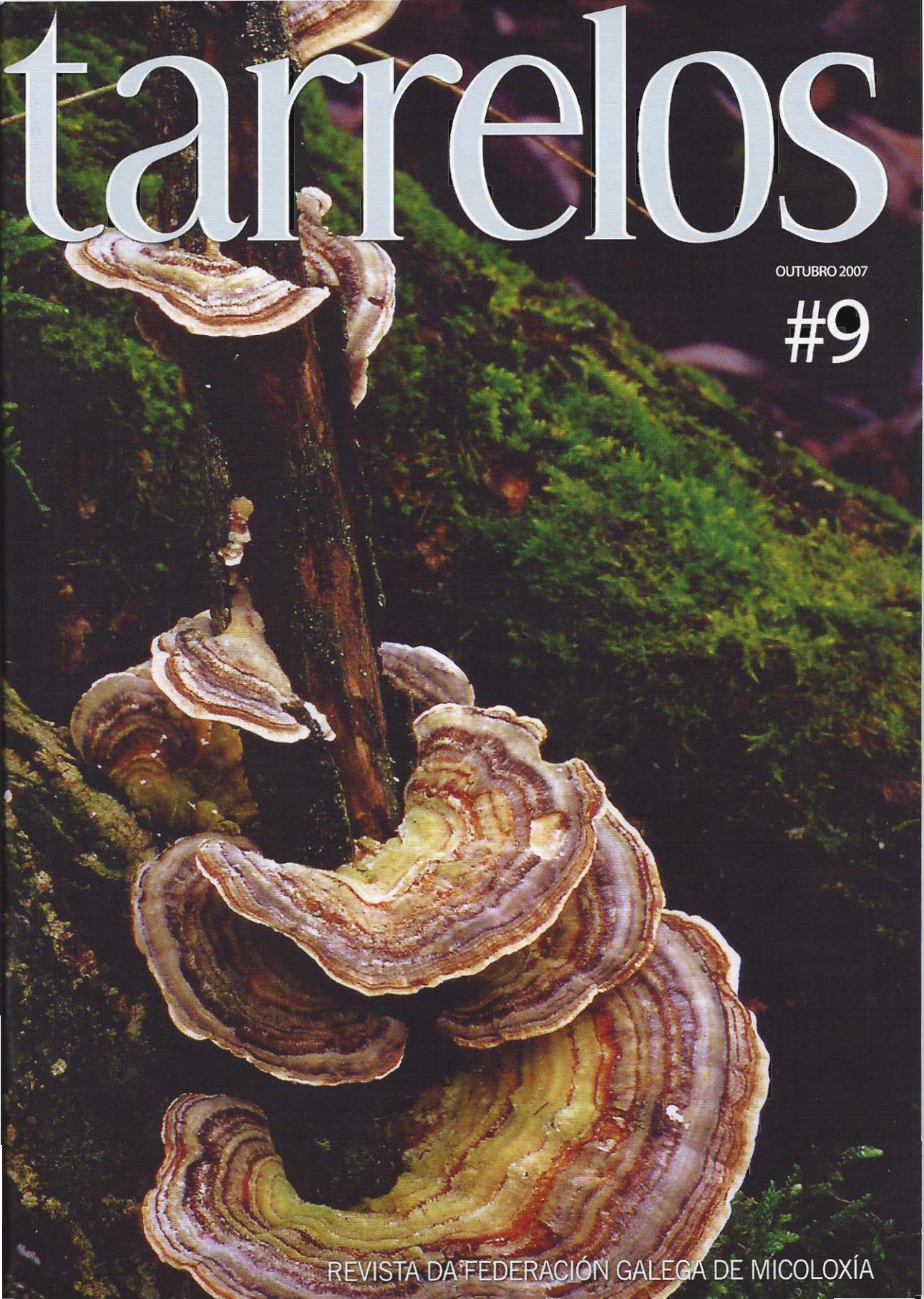


tarrelos

The background of the cover is a close-up photograph of several bracket fungi (tárrelos) growing on a dark, mossy log. The fungi have distinct concentric rings of yellow, brown, and purple, with a wavy, shelf-like appearance. The moss is a vibrant green, and the overall lighting is soft, highlighting the textures of the fungi and the forest floor.

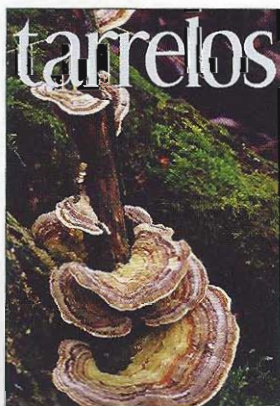
OUTUBRO 2007

#9

REVISTA DA FEDERACIÓN GALEGA DE MICOLOXÍA

nesto número...

- 4** O cogomelo caseiro
- 5** Cantarelas en Galicia
- 10** Unha nova especie de *Clitocybe* en Galicia: *Clitocybe alaricensis*
- 15** Micorremediación: O uso dos fungos na recuperación de ambientes contaminados.
- 25** Primeira cita en Galicia: *Amanita ponderosa*
- 26** Un americano en Guitiriz: *Mutinus ravenelli*
- 28** Dúas especies pouco comúns en Galicia
- 32** *Sorbus succuparia*
- 34** As Primaveras
- 35** Mitos e crenzas: verbo da orixe dos cogomelos
- 38** Carta póstuma a José M. Ruiz
- 42** Un sueño desagradable
- 46** Os etruscos e os fungos
- 48** *Peziza caprichosa*
- 49** O parque micolóxico do beelle, paseniño, vai adiante.
- 51** Milfollas de patacas e salteado de lagostinos, polbo e *cantharellus lutescens*
- 52** Actividades das asociacións



staff

TARRELOS é unha publicación da
Federación Galega de Micoloxía.
NIF: G-36640928
Telf.: 630 493 497
cantarela@cantarela.org
Depósito Legal: PO-388/04

COORDINA

José Luis Tomé Ortega

CONSELLO DE
REDACCIÓN

Jaime Blanco, José Luis Tomé
Ortega, Carlos Álvarez Puga.

DESEÑO E
MAQUETACIÓN

douspuntos
comunicación

www.douspuntos.com
proxectos@douspuntos.com

Federación Galega
de Micoloxía

Presidente: C. Álvarez Puga
Vicepresidente: F. Riveiro Sanjurjo
Secretario: J.L. Tomé Ortega
Tesoreira: C. Barreiro González

#9

Micorremediación

O uso dos fungos na recuperación de ambientes contaminados.

Texto y fotografía: Julián Alonso

A **biotecnoloxía** é unha ciencia interdisciplinar que pode definirse como a aplicación práctica dos organismos vivos ou os seus compoñentes subcelulares, para as industrias de produción e servizos e para a conservación do medio

► Actualmente as aplicacións dos fungos en biotecnoloxía son múltiples e variadas no campo alimentario (uso de fermentos na fermentación de alimentos e bebidas, produción de sabores e aromas, etc.), bioquímico (obtenção de ácidos orgánicos, vitaminas, alcohois, polisacáridos encimas, etc.), médico (obtenção de antibióticos, axentes antitumorais, etc.), agrícola (control biolóxico de insectos, nematodos, malas herbas, formación de compost, fertilizantes, etc.), industrial (solubilización

do carbón, tratamento de lignocelulosa na industria do papel, etc.) e ambiental (tratamento de efluentes industriais, detoxificación de pesticidas, descomposición de residuos de madeira, biodegradación de xenobióticos no chan, etc.) (WAINWRIGHT, 1995; PALMANS E COL., 1995).

Neste último campo, o ambiental, dende principios da década dos '80 estendeuse moito o termo "Biorremediación" (anglicismo da palabra "bioremediation", aínda que sendo estritos a tradución a lingua galega ou castelá debería ser "biorrecuperación")

A "**biorremediación**" é unha rama da biotecnoloxía que utiliza organismos vivos (sobre todo microorganismos), as súas compoñentes celulares ou encimas

serven para a descontaminación e detoxificación dun ambiente determinado. A biorremediación dálle unha axuda á natureza na mellora dos ecosistemas danados por diferentes compostos químicos

(hidrocarburos, metais, pesticidas, xenobióticos, etc.), para o cal se emprega a capacidade natural de diferentes organismos, tales como bacterias, fungos ou plantas, que son capaces de acumular ou degradar estas substancias tóxicas presentes no ambiente. O que se pretende é utilizar e acelerar

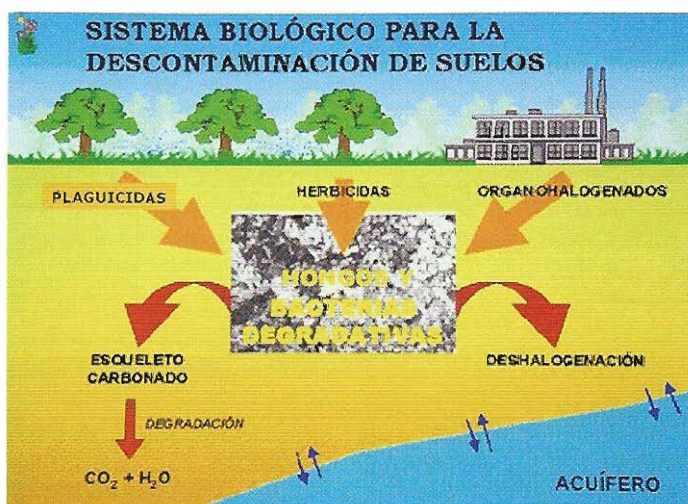


Figura 1.

estes procesos naturais (**Figura 1**).

As técnicas de biorremediación actualmente son moi variadas e diversas e segundo onde se apliquen podemos dividilas en:

In situ: aplicanse no mesmo ambiente contaminado, modificando as condicións ambientais (pH, nutrientes, humidade, temperatura, osíxeno, etc.), utilizando encimas, microorganismos ou plantas eficaces para a depuración do composto concreto ou engadindo nutrientes axeitados para multiplicar e aumentar a actividade dos microorganismos degradativos do lugar. Esta última opción é unha das máis coñecidas, eficaces e económicas, utilizada especialmente nos casos de verteduras de petróleo. As primeiras experiencias con éxito realizáronse co

caso do petroleiro Exxon Valdez (Alasca, 1989) e recentemente, nas nosas costas galegas coa vertedura do Prestige, onde estas técnicas tamén se utilizaron con moi bos resultados.

Ex situ: O medio contaminado extráese e depúrase noutro lugar baixo condicións controladas (por exemplo, en biorreactores onde se cultivan os microorganismos). Son procesos máis caros e que non sempre poden realizarse.

A eficacia destes sistemas para eliminar moitos contaminantes de difícil acceso, os nulos ou escasos efectos adversos ambientais e o seu baixo custo son algunha das grandes vantaxes da biorremediación, o que fai que as súas técnicas sexan cada vez máis utilizadas e se inverta no seu desenvolvemento.

Non obstante a biorremediación tamén presenta inconvenientes, como a ineficacia ante certos residuos (xenobióticos que non son recoñecidos como nutrientes polos microorganismos, ou inhibición en ambientes con altas concentracións dalgúns metais pesados, etc.). Así mesmo, moitos sistemas requiren bastante tempo para actuar e normalmente é necesario coñecer polo miúdo as características do contaminante e as condicións ambientais para evitar que os procesos que son eficaces en laboratorio non fallen na natureza (WAINWRIGHT, 1995). Moitos investigadores, asumindo a complexidade do medio, propoñen como formulación a combinación das técnicas físico-químicas, de enxeñaría e de biorremediación e outros consideran que o desenvolvemento da biorremediación requirirá a utilización de organismos modificados xenéticamente. En calquera caso a biorremediación está en pleno avance e desenvolvemento e o futuro deparará seguramente grandes avances nestas técnicas de descontaminación.

TÉCNICAS ESPECIAIS DE BIORREMEDIACIÓN

As técnicas de biorremediación son múltiples e variadas e non é o obxectivo deste artigo entrar na descrición detallada e nas complexidades técnicas de todas elas.

En xeral, cando se fala de biorremediación, adóptase pensar sobre todo en bacterias, pero hai 2 tipos de métodos que utilizan especificamente outro tipo de organismos:

Fitorremediación: Consiste en utilizar a capacidade

de certas plantas (terrestres, acuáticas, leñosas, etc.) e os cultivos *in vitro* derivados delas co fin de remover, conter ou transformar produtos contaminantes do ámbito. A fitorremediación constitúe un conxunto de técnicas variadas (fitoextracción, rizofiltración, fitoestabilización etc.) moi interesantes que están a ser amplamente investigadas nos últimos anos e que logo comentaremos nalgunhas das súas aplicacións.

A actividade humana industrial, química, urbana, agrícola, etc., xera unha grande cantidade de distintos compostos orgánicos tóxicos...”

Non obstante, no contexto deste artigo a rama da biorremediación que máis nos interesa é a **Micorre-mediación**, que consiste no uso de fungos (ou partes deles) para limpar ambientes contaminados, aproveitando a capacidade que teñen algunhas especies para degradar, transformar, acumular, tolerar e/ou extraer contaminantes diversos (xenobióticos orgánicos, metais pesados, elementos radioactivos, etc.). (SING, 2006). Imos comentar algunhas das técnicas e aplicacións máis interesantes dentro de Micorre-mediación:

APLICACIÓNS DE A MICORREMEDIACIÓN DEGRADACIÓN DE COMPOSTOS ORGÁNICOS E XENOBIÓTICOS UTILIZANDO FUNGOS

A actividade humana industrial, química, urbana, agrícola, etc., xera unha grande cantidade de distintos compostos orgánicos tóxicos e xenobióticos (compostos sintetizados artificialmente por síntese química) de grande perigosidade ambiental, xa que moitos deles presentan efectos tóxicos, canceríxenos e mutaxénicos. Moitos deles pertencen ao grupo dos hidrocarburos aromáticos (benceno e derivados policíclicos con varios aneis bencénicos ou compostos de comportamento químico similar), con estruturas químicas complexas e moi persistentes na natureza. O seu impacto ambiental, é polo tanto, de gran preocupación e importancia.

Dende hai moitos anos estúdase intensamente a aplicación de técnicas de biorremediación baseadas na utilización, estimulación ou a inoculación de microorganismos para a degradación destes compostos, ben *in situ* nos propios medios contaminados ou *ex situ* en biorreactores onde se cultivan estes microorganismos

Ata fai 20 anos, a maioría dos enfoques biolóxicos consideraban únicamente a actividade bacteriana como a mellor solución para a biorremediación de chans e sedimentos contaminados. Non obstante os resultados non foron sempre satisfactorios, xa que a degradación dun contaminante depende de moitos factores (tipo de contaminante, a súa concentración e dispoñibilidade, formación de metabolitos que poden inhibir a actividade microbiana, flora microbiana competitiva do medio, etc.) Ademais moitos microorganismos non poden recoñecer ou degradar diversos xenobióticos. Así, Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAH) de alto peso molecular e compostos e xenobióticos fortemente adsorbidos pola materia orgánica do chan, resisten a degradación bacteriana.

Non obstante moitos fungos, especialmente os causantes da "podremia branca", é dicir, Basidiomicetos que teñen capacidade para mineralizar a lignina e os seus derivados (o que lle dá á madeira un aspecto esbrancuxado), son efectivos na degradación destes e outros compostos orgánicos. Estes fungos realizan unha función natural esencial na descomposición da madeira, xa que as bacterias e outros microorganismos son incapaces de degradar a lignina.

A súa acción débena a que presentan unha dotación enzimática extracelular oxidativa cunha ou varias das encimas con actividade ligninolítica directa ou indirecta (lignina-peroxidasa, manganoso-peroxidasa, lacasa, glioxal oxidase, etc.). A lignina é un polímero polifenólico heteroxéneo cunha estrutura química bastante similar á de moitos compostos aromáticos policíclicos e outros xenobióticos. Este é o motivo polo que o complexo enzimático fúngico extracelular que presentan estes fungos ten o potencial para a degradación de múltiples compostos, entre os que se atopan, segundo os estudos consultados: distintos tipos de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos, Bifenilos policlorados, pesticidas, clorofenóis, compostos nitroaromáticos e outros xenobióticos. (GEORGE E NEUFELD, 1989; LAMAR E COL., 1990).



Figura 2. *Trametes versicolor*



Figura 3. *Agaricus macrosporus*



Figura 4. Micelio *macrosporus* medio sólido



Figura 5. Micelio *macrosporus* medio líquido

Entre as especies que se están a estudar para este tipo de aplicacións atópanse moitas coñecidas como: *Trametes versicolor* (Figura 2), *Stereum hirsutum*, *Bjerkandera adusta*, *Phellinus pini*, *Lentinus edodes*, *Hypholoma fasciculare*, *Pleurotus ostreatus*, diversas especies dos xéneros *Ganoderma*, *Phlebia*, *Phellinus*, etc., (GABRIEL E COL., 1994, 1996). aínda que a especie máis estudada é, sen dúbida, *Phanerochaete chrysosporium* un Basidiomiceto da orde Stereales, que exhibe características moi interesantes: crece moi rápido, adáptase ben, produce grande cantidade de esporas e é capaz de desenvolverse a temperaturas de 40° C ou máis (AUST, 1990; DIETRICH E LAMAR, 1990; LAMAR E COL., 1990).. Por certo, este tipo de fungos tamén se utilizan para deslignificación biolóxica na fabricación do papel.

Se os medios a tratar son líquidos, estes poden depurarse en biorreactores nos que se cultivan os fungos, ou se inmovilizan en membranas de distintos materiais (silicona, etc.) somerxidas nos medios a tratar. En chans inocúlanse cultivos destes fungos, aínda que pode haber dificultades no seu crecemento por competencia con outros microorganismos, condicións ambientais, escasa presenza de materia orgánica, etc. (WAINWRIGHT, 1995). Nalgúns casos, a presenza de altas concentracións de metais pesados pode inhibir a actividade ligninolítica destes fungos, reducindo a súa eficacia (BALDRIAN E COL., 1996). Non obstante, algunhas especies apenas ven reducida a súa actividade enzimática, co que mediante unha axeitada selección das especies máis resistentes, se poden obter resultados moi prometedores na biorremediación de chans contaminados (PALMANS E COL., 1995 ; GABRIEL E COL., 1996).

USO DE FUNGOS PARA ELIMINAR IÓNS METÁLICOS DE DISOLUCIÓNS E AUGAS CONTAMINADAS (BIOSORCIÓN)

Entre os contaminantes máis problemáticos e difíciles de eliminar atópanse os metais pesados, xa que podemos descompoñer os complexos que estes forman con compostos orgánicos ou outras substancias, pero non podemos degradar os metais mais alá das súas formas iónicas, aínda que podemos intentar extraelos do medio contaminado. En medios líquidos, unha posibilidade de biorremediación é a biosorción. A biosorción consiste na toma de metais pola biomasa fúngica ou doutros microorganismos, viva ou morta, a través de fenómenos físicos como adsorción e intercambio iónico, ou por procesos metabólicos (GONZÁLEZ SISO, 1999). O uso de bioma-

sa fúngica como biosorbente, a partir de augas ou efluentes contaminados é unha estratexia relativamente recente que comezou a desenvolverse a partir dos anos 80, considerándose actualmente unha tecnoloxía comercial de enorme utilidade (MORLEY E GADD, 1995; WAINWRIGHT, 1995). A captación de metal por biomasa fúngica está relacionada coa presenza de grupos químicos funcionais da célula fúngica e, en particular, da súa parede celular especialmente rica en quitina, quitosan e outros polisacáridos, e tamén pigmentos, proteínas e sideróforos con capacidade para fixar metais (GADD, 1990, 1993; GALLI E COL., 1994).

Ata o momento, a maior parte dos estudos realizados para a biosorción de metais pesados desenvólvense utilizando biomasa de diversos fermentos, sobre todo do xénero *Saccharomyces* e microfungos dos xéneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* (GADD, 1990; HOLLAND E VOLESKY, 1995; VOLESKY E HOLLAND, 1995; MORLEY E GADD, 1995; PŁAZA E COL., 1996; WASAY E COL., 1998; ZOUBOULIS E COL., 1999). A biomasa fúngica tamén se pode usar para a adsorción de elementos actínidos como torio ou uranio (GADD E WHITE, 1989; ROSS, 1989) e radionucleidos (WHITE E GADD, 1990). Estes estudos demostraron que o potencial biosorbente da biomasa fúngica pode superar, en moitos casos, aos métodos físico-químicos convencionais como as resinas de intercambio iónico, carbón activado, etc. (KAPPOR E VIRARAGHAVAN, 1995; WAINWRIGHT, 1995)

Non obstante, a utilización de fermentos e microfungos formula tamén problemas na súa aplicación práctica. A obtención e dispoñibilidade da biomasa e a necesidade, en moitos casos, da súa inmovilización pode encarecer excesivamente a preparación do biosorbente (MURALEEDHARAN E COL., 1994A).

Ademais destes microorganismos, é posible utilizar como biosorbente o micelio de macromicetos, xa que diversos autores observaron a grande capacidade do micelio dalgunhas especies para a biosorción de metais pesados (GABRIEL E COL., 1994; CAMPANELLA E COL., 1994, 1995) que chega a ser moi superior, nalgúns casos, á de fermentos e microfungos (GABRIEL E COL., 1996), aínda que esta estratexia tamén pode formular o inconveniente de obter e dispoñer dunha cantidade suficiente de material a baixo custo.

Unha alternativa valorada nalgúns estudos, é a obtención de biomasa fúngica como biosorbente a

partir dos carpóforos de macromicetos. Este material está normalmente dispoñible en abundancia e é doadamente manipulable, o cal abarata moito os custos (MURALEEDHARAN E COL., 1994A). Ademais a súa eficacia como biosorbentes considérase moi alta, superior nalgúns casos aos métodos tradicionais e á biomasa de fermentos e microfungos (MURALEEDHARAN E COL., 1994A, 1994 B, 1994C; MAR'IN E COL., 1997).

MICOEXTRACCIÓN: BIORREMEDIACIÓN DE CHANS E SUBSTRATOS SÓLIDOS CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS

A eliminación do exceso de metais pesados que contaminan un chan son procesos máis dificilmente abordables pola maioría das técnicas de biorremediación. Ata agora, ademais dos métodos físico-químicos, case todos os estudos se centraron na utilización de plantas mediante o proceso denominado "fitoextracción" que consiste no uso de plantas hiperacumuladoras para extraer e eliminar os metais pesados presentes no chan e outros substratos sólidos, ao concentrarse estes nas partes que se colleitan (principalmente a parte aérea) da planta. (McGRATH E COL., 2000). As plantas usadas por estas técnicas son plantas nativas de zonas mineiras e contaminadas por metais pesados (metalofitas) especialmente as dos xéneros *Alyssum* e *Thlaspi* que presenta concentracións dalgúns metais (especialmente níquel e cinc) extraordinariamente elevadas. A fitoextracción obtén, en moitos casos, resultados moi interesantes pero presenta tamén limitacións, como: - O proceso limitase á área que ocupan as raíces; - En terreos con altas concentracións dalgúns metais (como o mercurio) aparecen fenómenos de fitotoxicidade; - O proceso pode ser en moitos casos moi lento; - A biodisponibilidade dos compostos en que se atopen fixados os metais pode ser un factor limitante da captación, etc.

En 1998, un artigo científico (GRAY, 1998) suxería a posibilidade de introducir fungos filamentosos en chans e substratos contaminados, de tal forma que o micelio capte e trasloque metais pesados e radionucleidos aos carpóforos. Conclúe que existe unha importante potencialidade na explotación dos fungos como axentes de biorremediación de chans e substratos contaminados por metais e radionucleidos.

Non obstante, practicamente non se valorou a utilización dos fungos como bioextractores de metais en substratos contaminados. Os traballos referidos

Cinéticas de biosorción por biomasa micelio vivo en medio ácido suplementado con P y K

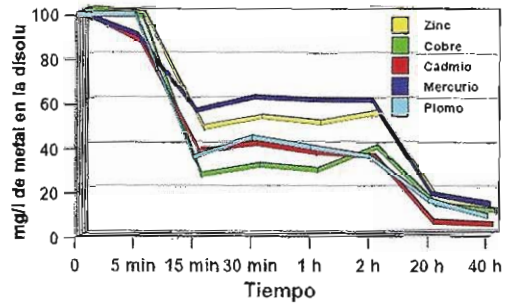


Figura 6. Extracción de metales con micelio vivo en medio ácido suplementado con fósforo y potasio

Cinéticas de biosorción por biomasa de carpóforo en medio ácido suplementado con P y K

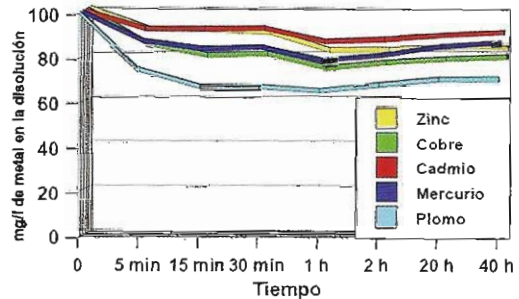


Figura 6. Extracción de metales con biomasa de carpóforos en medio ácido suplementado con fósforo y potasio



Figura 8. Fructificaciones de *Agaricus macrosporus* obtenidas en cultivo

na bibliografía sobre a captación e presenza de metais pesados en cultivos de fungos (FAVERO E COL., 1990; RÁCZ E COL., 1995; TÜZEN E COL., 1998, 1998B; THOMET E COL., 1999) enfocáronse fundamentalmente para o estudo de aspectos como a influencia dos metais na produtividade dos cultivos, o estudo da captación e traslocación de metais aos carpóforos, as repercusións toxicolóxicas derivadas da acumulación destes metais, etc. Ademais, estes traballos realizáronse fundamentalmente con especies de fungos

as técnicas de cultivo dos cales están moi estudadas, especialmente *Agaricus bisporus* e *Pleurotus ostreatus* que, aínda que demostraron ser moi útiles na degradación de compostos orgánicos (especialmente *Pleurotus*), non se atopan entre as especies con especial aptitude captadora de metais, aínda que un recente estudio (RODRIGUEZ ROSARIO, 2005) remarca boas resultados na extracción de cadmio e cobalto con *Pleurotus ostreatus*. Non obstante, con *Pleurotus eryngii* outra publicación (URBAN E COL., 2005) indica unha escasa eficacia na extracción de platino en compost.

No ano 2001 presentáronse, dentro dos traballos dunha tese doutoral sobre bioacumulación de metais pesados en macromicetos (ALONSO, 2001), uns estudos de biorremediación cuxa aspecto máis novidoso é que neles sí se utiliza en probas de micoextracción, unha especie silvestre acumuladora de metais: *Agaricus macrosporus* (Figura 3). Os resultados, que se comentarán a continuación, mostran unha elevada potencialidade na utilización destes fungos en biorremediación mediante biosorción e micoextracción.

ESTUDIOS REALIZADOS COA ESPECIE ACUMULADORA *Agaricus macrosporus* (F.H.Möller et Jul.Schäff.) Pilát,

No artigo "*Metais pesados e outros contaminantes en cogomelos*" do anterior número de Tarrelos, mostráronse resumidamente os resultados sobre a bioacumulación de metais pesados de diversas especies silvestres obtidos no estudio da tese antes referida (ALONSO, 2001). Neste estudio, e noutros traballos consultados, destacou pola súa aptitude captadora o fungo *Agaricus macrosporus*, especie hiperacumuladora de cadmio, e que tamén mostra elevadas captacións para outros metais (MEISCH E SCHMITT, 1986; THOMET E COL., 1999; ALONSO E COL., 2000; 2003; KALAČ E SVOBODA, 2000).

Decidiuse entón facer unha serie de experimentos con esta especie para valorar a súa potencialidade en técnicas de biorremediación enfocadas en 2 aspectos: A biosorción e a micoextracción.

EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN CON BIOMASA DE *Agaricus macrosporus*

Procedeuse a realizar estudos de biosorción de metais pesados en medios líquidos utilizando como biosorbentes biomasa viva de micelio cultivado da especie acumuladora *Agaricus macrosporus* e bio-

masa morta obtida de pulverizado de carpóforos da mesma especie, co obxectivo de valorar a capacidade de biosorción de ambos os dous tipos de biomasa en relación aos seus potenciais usos en biorremediación de augas contaminadas por metais pesados e tamén, para obter datos útiles no estudio dos mecanismos de captación de metais pesados por parte do micelio vivo de especies acumuladoras.

“Particularmente interesante é tamén o comportamento do *Agaricus macrosporus* respecto á extracción de mercurio”

Para a obtención de micelio vivo (biomasa viva) utilizouse basicamente a metodoloxía habitual para o champiñón (*Agaricus bisporus*) obtendo o micelio a partir do cultivo de pequenos fragmentos de carpóforo de *Agaricus macrosporus* silvestre san, sobre placas Petri con medio ágar-extracto de malte en condicións de esterilidade. Tras a súa incubación e a obtención do micelio puro (figura 4), resementouse este micelio sobre medio líquido obtendo, tras 8 días, unha completa invasión de micelio de aspecto algodooso, en forma de sobrenadante, na superficie de medio líquido (Figura 5). A biomasa de carpóforos obtívoase a partir de exemplares de carpóforos de *Agaricus macrosporus*, secados durante 48 h a 35 ° C e pulverizados en fraccións de 0,6 a 0,8 mm.

Posteriormente realizáronse os experimentos de biosorción, que consistiron en expoñer unha cantidade coñecida de material biosorbente (biomasa viva de micelio e morta de carpóforos) a un medio líquido en axitación, os parámetros da cal son coñecidos (volume, concentración de metais, pH e temperatura). A intervalos de tempo preestablecidos tomáronse alícuotas da disolución nas que se analizou, mediante voltamperometría de redisolución anódica, as concentracións de metais (Cd, Pb, Cu, Zn e Hg).

Cos resultados construíronse as gráficas de cinéticas de biosorción, e calculáronse as cantidades de metal captado polo biosorbente.

Os experimentos realizáronse sobre 3 tipos de disolucións: disolución ácida (pH 4,5), disolución ácida suplementada con P e K (pH 4,5; KH_2PO_4 0,1molar) e disolución básica (pH 9). O volume da disolución nos 3 casos foi de 50 ml., e a concentración dos metais de estudo foi de 100 mg/l. O peso seco do material biosorbente utilizado en cada un dos experimentos foi de 0,065 g.

Resultados

As maiores extraccións de metais nas disolucións móstranse na seguinte táboa: en cor vermella as máximas extraccións observadas con micelio vivo e en azul as conseguidas con biomasa de carpóforos

En xeral estas captacións son máis altas coa utilización de micelio vivo que cando se utiliza biomasa morta de carpóforos debido a que, ademais da toma de metais a través de fenómenos físicos de adsorción, intercambio iónico, etc., na biomasa viva tamén interveñen outros procesos metabólicos activos de captación. As maiores diferenzas na biosorción de ambos os dous tipos de biomasa obsérvase cando o medio está suplementado con potasio K e fósforo P (figuras 6 e 7), debido á importancia que estes elementos teñen para a nutrición das células fúngicas, considerando algúns autores que a súa captación, especialmente a do P, podería estar asociada ao transporte e almacenamento dos metais pesados (TURNAU E COL., 1994, 1996; QUINCHE, 1997), aspecto que non influirá no caso de biomasa morta.

A micorremediación son un conxunto de técnicas que usan aos fungos na descontaminación de medios e ambientes polucionados”

As maiores captacións observadas, para ambos os dous tipos de biomasa, na disolución básica respecto á disolución ácida non suplementada, explícase pola elevada presenza de ións H^+ a pH ácido que compiten cos catións metálicos divalentes polos lugares de fixación na biomasa fúngica.

A alta dispoñibilidade do chumbo en disolución respecto a escasa mobilidade en medios complexos como o chan, explica por que este elemento é altamente captado nestes experimentos mentres que apenas é extraído nos medios naturais polos fungos.

Tanto as porcentaxes de extracción de metal na disolución, como a captación de metal por unidade de biomasa, son moi altos e son superiores, en moitos casos, aos referidos por outros autores noutros biosorbentes biolóxicos ou non biolóxicos (microfungos, bacterias, fermentos, turba, resinas, carbón activo, xel de aluminio, etc.) (KAPOOR E VIRARAGHAVAN, 1995; PLAZA E COL., 1996; MURALEEDHARAN E COL., 1994A; MORLEY E GADD, 1995). Outros autores que traballaron con micelio vivo ou con biomasa de carpóforos doutras especies de macromicetos (GABRIEL E COL., 1996; MURALEEDHARAN E COL., 1994B; MA' RIN E COL., 1997) tamén observaron altas biosorciones (aínda que na maior parte dos casos menores ás analizadas con *Agaricus macrosporus*)

Parece claro que o potencial de utilización da biomasa fúngica como biosorbentes para a biosorción de metais pesados en efluentes e disolucións contaminadas é moi alto, superando en moitos casos aos métodos físico-químicos clásicos, polo que actualmente considérase como unha estratexia biotecnolóxica de grande utilidade (WAINWRIGHT, 1995; GONZÁLEZ SISO, 1999). Aínda que o micelio puro de macromicetos parece mostrar grandes potenciais de biosorción, a súa manipulación e obtención en grandes cantidades formula un indubidable inconveniente para a súa aplicación práctica, sendo este tamén un dos principais problemas para a utilización de biomasa de fermentos e microfungos. Non obstante, a utilización de biomasa fúngica obtida a partir de carpóforos de macromicetos formula interesantes posibilidades xa que, ademais da súa eficacia como biosorbente, a súa dispoñibilidade é abundante e a súa manipulación é sinxela, por exemplo para a fabricación de biofiltros. En zonas onde existen gran cantidade e variedade de macromicetos silvestres e industrias de transformación destes fungos, que xeran abundante material de escoura potencialmente

Metal	Biosorbente	Disolución ácida pH 4,5 (% extracción)	Disolución ácida pH 4,5; con K e P (% extracción)	Disolución básica pH 9 (% extracción)
Cadmio	micelio vivo	25,82 (32,72 %)	76,64 (95,80 %)	67,16 (83,94 %)
	Carpóforos	8,80 (11,09 %)	10,09 (13,62 %)	47,31 (63,26 %)
Mercurio	micelio vivo	18,25 (23,27 %)	68,80 (86,00 %)	68,35 (85,44 %)
	micelio morto	14,64 (18,45 %)	15,91 (21,47 %)	48,05 (64,24 %)
Chumbo	micelio vivo	35,22 (44,90 %)	72,78 (90,97 %)	68,58 (85,73 %)
	micelio morto	25,67 (32,34 %)	25,66 (34,62 %)	66,34 (88,69 %)
Cobre	micelio vivo	28,28 (36,06 %)	72,32 (90,40 %)	77,09 (96,37 %)
	micelio morto	19,30 (24,32 %)	19,27 (26,02 %)	60,10 (80,36 %)
Cinc	micelio vivo	25,49 (32,51 %)	72,68 (90,85 %)	67,06 (83,82 %)
	micelio morto	12,12 (15,27 %)	13,87 (18,71 %)	47,16 (63,05 %)

Táboa 1: Máxima captación de metal (mg metal/g biosorbente) nas condicións de estudo

	Colector 1 (control)		Colector 2 +10 mg Cd/kg		Colector 3 +10 mg Cd, Hg, Pb/kg +20 mg Cu, Zn/kg	
	mg/kg p.s.	mg totais	mg/kg p.s.	mg totais	mg/kg p.s.	mg/totais
Cd	0,070	0,834	10,07	12,00	10,07	12,00
Hg	0,550	0,656	0,550	0,656	10,55	12,58
Pb	1,100	1,311	1,100	1,311	11,10	13,23
Cu	35,20	41,96	35,20	41,96	55,20	65,80
Zn	76,60	91,31	76,60	91,31	96,60	115,2

Táboa 2: Concentración de metais (mg/kg p.s.) en compost de cultivo

	Colector 1 (control)		Colector 2 +10 mg Cd/kg		Colector 3 +10 mg Cd, Hg, Pb/kg +20 mg Cu, Zn/kg	
	extraído	% extracción	extraído	% extracción	extraído	% extracción
Cd	0,011	13,20	1,429	11,91	0,713	5,945
Hg	0,061	9,240	0,056	8,596	1,592	12,66
Pb	0,030	2,319	0,066	5,037	0,065	0,489
Cu	4,120	9,820	8,467	20,18	6,645	10,10
Zn	4,133	4,526	8,325	9,117	6,348	5,513

Táboa 3: Extraccións (mg) e porcentaxes de extracción de metais polos carpóforos

utilizable, esta posibilidade parece especialmente interesante (sendo este o caso de Galicia).

É indiscutible que as conclusións referentes á posibles aplicacións prácticas dos fungos en estratexias de biorrecuperación de augas contaminadas por metais pesados, requiren maiores investigacións, non só no campo de mellorar a súa eficiencia como

biosorbentes, senón tamén en relación a valorar e solucionar as dificultades técnicas que podería formular a súa utilización práctica con grandes volumes de efluentes.

ESTUDIOS DE MICOEXTRACCIÓN CON *Agaricus macrosporus*

Realizouse unha experiencia de cultivo e obten-

ción de carpóforos da especie acumuladora de metais pesados *Agaricus macrosporus* sobre un substrato sólido (compost de cultivo de champiñón comercial), contaminado a distintas concentracións de metais pesados. O obxectivo foi a valoración das posibilidades de utilización deste fungo acumulador para a micoextracción de metais pesados. Os detalles do estudo móstranse nun recente artigo (GARCIA E COL., 2005)

Para iso multiplicouse o micelio puro obtido en cultivo sobre medio sólido de agar extracto de malte en placas Petri (**Figura 4**), sobre grans de cereal esterilizado e posteriormente inoculouse e cultivou o micelio en compost depositado en 3 colectores (4 kg de compost por colector) con distintas concentracións metálicas (táboa 2)

Recolléronse as frutificacións obtidas nos colectores, que apareceron en 2 ondas, despois das cales se observou o esgotamento da produción de carpóforos. A biomasa de carpóforos producida foi moi semellante nos colectores 1 e 2 e algo máis baixa no 3 (490, 485 e 390 g respectivamente). Analizáronse as concentracións metálicas en compost e carpóforos.

Na figura 8 obsérvanse algunhas frutificacións obtidas no cultivo.

De acordo coa lexislación holandesa, unha das máis específicas en relación ao contido de metais pesados en compost de cultivo, os niveis de metais pesados presentes no compost utilizado neste estudo (cedido amablemente pola casa comercial Fungicultura Muiños) sería "normal" respecto ao contido en mercurio, "limpo" respecto a cobre e cinc, e "moi limpo" en relación a chumbo e cadmio (GERRITS, 1994). A suplementación de 10 mg/kg p.s. de cadmio no colector 2 superaría os 2 mg/kg considerados como límite por esta lexislación, polo que se consideraría como contaminado por cadmio. No colector 3 as achegas de metais definirían o compost como contaminado por cadmio e mercurio (límite 2 mg/kg), aínda que os niveis dos outros metais se considerarían aceptables.

Como datos máis relevantes, mostramos na táboa 3 as extraccións e porcentaxes obtidas polo cultivo e recolección dos carpóforos

Para valorar axeitadamente estes resultados e as posibilidades potenciais da micoextracción, comparamos os resultados deste estudo en relación aos

obtidos mediante técnicas de fitoextracción. Grande parte destes estudos fan referencia á capacidade de captación dos metais cinc e cadmio, sendo as plantas máis acumuladoras destes metais as do xénero *Thlaspi*, especialmente *Thlaspi caerulescens* (KNIGHT E COL., 1997; McGRATH, 1998; LOMBI E COL., 2000). Neste sentido, buscando datos útiles comparativos, KNIGHT E COL. (1997) describen extraccións de cinc con *Thlaspi caerulescens* de 8 a 30 mg/kg p.s. en colectores con chans con concentracións de cinc de entre 210 -3200 mg/kg de cinc. En porcentaxe, a maioría dos casos, estes niveis supoñen menos dun 10% de extracción, con valores medios dun 2-5%. Para o cadmio as extraccións descritas son moito máis baixas, ao redor de 0,03 mg/kg para chans con 2 a 58 mg de cadmio por kg. No caso máis extremo, a extracción foi de 0,5 mg/kg, que supoñía arredor dun 1% de extracción.

En relación ao cinc, estas cifras son semellantes ás observadas neste estudo con *Agaricus macrosporus*, aínda que cun nivel de cinc en substrato moito máis baixa. Para o cadmio as extraccións do fungo son moito máis elevadas, tanto en cantidade coma en porcentaxe.

Nun recente estudio, LOMBI E COL. (2000) realizan experimentos con brotes de distintas variedades seleccionadas de *Thlaspi caerulescens*, cultivándoas en colectores con compost contaminados a distintas concentracións de cadmio. Con 3 das 5 variedades usadas e nun compost con 50 mg/kg de cadmio, as extraccións de cadmio non superaban o 1%. Noutra variedade situábase no 3,6% e noutra nun 10,8%. Mesmo no caso máis extremo, as porcentaxes non alcanzan as extraccións de *Agaricus macrosporus*.

As características dos fungos convérteos en organismos con grandes posibilidades e vantaxes"

Aínda realizado só un estudo preliminar, estas observacións indican que a capacidade de extracción de *Agaricus macrosporus* parece situarse a niveis semellantes ao das plantas máis acumuladoras para o cinc e por enriba delas para o cadmio.

Particularmente interesante é tamén o comportamento deste fungo respecto á extracción de mercurio. Este elemento é moi pouco dispoñible e altamente tóxico para as plantas, non coñecéndose ningunha especie acumuladora deste (McGRATH, 1998). Para outras especies de macromicetos cultivables, o mercurio a altas concentracións é tamén fortemente inhibidor do crecemento de frutificacións, ademais de ser escasamente captado (FAVERO E COL., 1995; TÜZEN E COL., 1998). Non obstante, con *Agaricus macrosporus* conseguíronse extraccións de ata un 12,7% a concentracións elevadas de 10 mg/kg no substrato.

Para o cobre, aínda coñecéndose especies de plantas acumuladores, non se demostrou a súa utilidade en filoextracción (McGRATH, 1998). Con *Agaricus macrosporus* conseguíronse extraccións entre 9,8 e 20%. Non obstante, para o chumbo, as extraccións son baixas, reducíndose ao incrementar os seus niveis en compost. Este é un elemento dificilmente extraíble e con plantas só se conseguen resultados interesantes engadindo quelantes ao substrato (HUANG E CUNNINGHAM, 1996).

Ademais, a aplicación de macromicetos como bioextractores, en vez de plantas, pode formular unha serie de **vantaxes**:

1) A infiltración no substrato do micelio fúngico é moi superior á da raíz das plantas (ALLEN, 1991).

2) As especies máis acumuladoras, especialmente pertencentes ao xénero *Agaricus*, sección *arvenses*, posúen unha capacidade de bioacumulación de metais como o cadmio ou o mercurio, superior á das plantas (QUINCHE, 1987; ROMEO E DEL SIGNORE, 1994). O seu crecemento e produtividade non se ve inhibido pola presenza de concentracións elevadas de metais tóxicos como o mercurio.

3) O cultivo de especies do xénero *Agaricus* sobre distintos substratos ricos en materia orgánica está amplamente estudado e desenvolvido. Especies bioacumuladoras como *Agaricus macrosporus* ou *Agaricus arvensis* son perfectamente cultivables con altas producións de carpóforos (FERMOR, 1982).

4) A actividade descompoñedora do micelio sobre

o substrato permite, non só conseguir unha depuración en metais, senón tamén a biodegradación de xenobióticos orgánicos e a compostaxe e reciclado do substrato para o seu óptimo uso agrícola (PALMANS E COL., 1995; WAINWRIGHT, 1995; ANKE, 1997).

5) O crecemento e produtividade de *Agaricus macrosporus* non se ve significativamente inhibido pola presenza de altas concentracións de mercurio e outros metais.

Os posibles **inconvenientes** serían:

1) Consegir a inoculación do micelio sobre substratos pobres en materia orgánica.

2) Obter altas producións de carpóforos en condicións ambientais non controladas.

3) Posibles dificultades de cultivo e produción por competencia con outros fungos e microorganismos.

En principio, esta estratexia parece formular interesantes posibilidades, especialmente sobre substratos ricos en materia orgánica e en condicións "ex situ" que permitan controlar mellor as condicións ambientais e a inoculación do micelio. Tendo en conta que estes son só estudos preliminares, que deberían ser ampliados controlando e considerando outros parámetros (distintas concentracións metálicas, tipos de substratos, adición de nutrientes, etc.) para poder extraer conclusións máis sólidas, o seu potencial como estratexia de biorrecuperación parece ser moi interesante.

En resumo, a micorremediación son un conxunto de técnicas que usan aos fungos na descontaminación de medios e ambientes polucionados por diversos contaminantes (compostos químicos diversos, metais pesados, etc.). As características dos fungos convérteos en organismos con grandes posibilidades e vantaxes: elevada infiltración no medio, grande poder de degradación, grande biodiversidade, preparación óptima dos chans para o desenvolvemento de plantas e outros organismos, depuración bacteriana (microfiltración), etc.

De momento só empezamos a enxergar as posibilidades dos fungos en estas aplicacións, pero posiblemente o futuro das técnicas de biorremediación consista en non considerar illadamente a cada sistema biolóxico e si en combinar axeitadamente as posibilidades dos distintos organismos (bacterias, fungos, plantas, etc.), da mesma forma que coexisten e interaccionan na natureza. ■