

**COMUNIDADES DE FUNGOS EM SOLO DO  
CERRADO SOB VEGETAÇÃO NATIVA E  
SOB CULTIVO DE SOJA E ALGODÃO**

**VÍVIAN GONÇALVES CARVALHO**

**2008**

**VÍVIAN GONÇALVES CARVALHO**

**COMUNIDADES DE FUNGOS EM SOLO DO CERRADO SOB  
VEGETAÇÃO NATIVA E SOB CULTIVO DE SOJA E ALGODÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador  
Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Carvalho, Vívian Gonçalves.

Comunidades de fungos em solo do cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo de soja e algodão / Vívian Gonçalves Carvalho. -- Lavras : UFLA, 2008.  
62 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning.

Bibliografia.

1. Ascomycetes. 2. Diversidade. 3. *Glycine max.* 4. *Gossypium hirsutum.* I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.46  
589.23

**VÍVIAN GONÇALVES CARVALHO**

**COMUNIDADES DE FUNGOS EM SOLO DO CERRADO SOB  
VEGETAÇÃO NATIVA E SOB CULTIVO DE SOJA E ALGODÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 31 de janeiro de 2008

Prof. Dr. Olinto Liparini Pereira      UFV

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias      UFLA

Prof. Dr. Luís Roberto Batista      UFLA

Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

## **DEDICATÓRIA**

A minha família, amigos  
e aos interessados no assunto,  
**OFEREÇO**

Aos meus pais,  
Afrânio e Célia,  
e aos meus irmãos  
Ana Cláudia, Vinícius e Afrânio  
**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade.

Ao professor Ludwig H. Pfenning, pela confiança, ensinamentos e amizade.

Aos professores da Microbiologia Agrícola, Rosane, Eustáquio, Romildo e Patrícia pelos conhecimentos transmitidos.

À equipe do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos da UFLA, pela amizade e carinho, em especial, Dayana, Edson, Janine, Mírian, Elisa, Loise, Larissa e Cristiano pela valiosa ajuda nas atividades do laboratório.

Ao professor Luis Henrique Carregal e ao amigo Marcelo pela ajuda na coleta das amostras de solo e informações da área de estudo.

Ao colega Lucas de Abreu, pela co-orientação e pela disponibilidade em ajudar.

Ao professor Luís Roberto Batista, pelo auxílio na identificação de fungos.

Aos membros da banca examinadora, professores Ludwig H. Pfenning, Olinto Liparini Pereira, Eustáquio Souza Dias e Luís Roberto Batista pela grande contribuição.

A todos os amigos da Microbiologia Agrícola.

Ao professor Márcio Lambais, à amiga Giselle Gomes e à equipe do Laboratório de Microbiologia Molecular da Esalq-Usp pelo treinamento concedido em técnicas moleculares.

Aos meus pais, irmãos, Belinha e à vó Ana pelo apoio de sempre, pelo conforto nas palavras, pelo amor e educação que me deram.

Aos demais familiares por estarem sempre, de alguma maneira, dispostos a ajudar.

Às amigas Melissa e Eliana por terem me acolhido em Lavras.

Às amigas-irmãs Adriene, Cíntia e Fernanda, por terem sido minha segunda família em Lavras e por terem tornado meus dias mais felizes.

Aos amigos de Machado e aos amigos da faculdade, pela força e apoio, mesmo distantes.

Aos vários amigos que fiz em Lavras, por terem tornado a vivência nessa cidade ainda mais feliz.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que, de qualquer maneira, colaboraram para a realização desta importante etapa da minha vida, deixo meu agradecimento.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>RESUMO</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	01
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	04
2.1 Fungos em solos.....	04
2.2 Práticas agrícolas.....	05
2.3 Cerrado e as práticas agrícolas.....	06
2.4 Métodos para o estudo de fungos do solo.....	07
<b>3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	14
<b>CAPÍTULO 1: Cultivo de algodão e soja influencia a diversidade de fungos do solo do Cerrado</b> .....	23
<b>1 RESUMO</b> .....	25
<b>2 ABSTRACT</b> .....	26
<b>3 INTRODUÇÃO</b> .....	27
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
4.1 Local de estudo.....	31
4.2 Preparo das amostras e isolamento dos fungos.....	32
4.3 Isolamento dos fungos zoospóricos.....	33
4.4 Isolamento de <i>Cylindrocladium</i> .....	33
4.5 Identificação e preservação dos isolados.....	33
4.6 Análise físico-química das amostras de solo.....	34

4.7 Análises estatísticas.....	34
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>7 AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>48</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>
<b>9 TABELAS.....</b>	<b>54</b>
<b>10 FIGURAS.....</b>	<b>60</b>

## RESUMO

CARVALHO, Vívian Gonçalves. **Comunidades de fungos em solo do cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo de soja e algodão.** 2008. 62 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

O Cerrado é um dos biomas brasileiros mais ricos em espécies de plantas e animais, porém, grande parte de sua vegetação natural está sendo substituída por monoculturas no exercício de intensas atividades agrícolas, ameaçando a sua biodiversidade. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da prática de monocultura de algodão e soja sobre a comunidade de fungos em solo do Cerrado. Foram coletadas 8 amostras compostas de solo em cada área cultivada e sob vegetação nativa de Cerrado, no município de Montividiu, GO. Foi utilizada a metodologia de lavagem de solo e filtração de partículas. Para o isolamento de fungos zoospóricos e do gênero *Cylindrocladium*, foram utilizadas iscas vegetais. A partir das 24 amostras de solo coletadas foram detectadas 109 espécies de fungos pertencentes a 42 gêneros. Os fungos mais abundantes foram *Trichoderma* spp. e *Fusarium solani*, que representam, respectivamente, espécies antagonistas a outros fungos e uma espécie patogênica a plantas. A análise multivariada de correspondência evidenciou que o solo das três áreas de estudo apresentou diferentes espécies predominantes. O solo do Cerrado apresentou espécies de *Penicillium* e *Absidia* como as mais abundantes. Os solos cultivados apresentaram maior similaridade de espécies e mostraram número maior de fitopatógenos, como *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* e antagonistas, como *Trichoderma*. A área mais rica em espécies foi o solo cultivado com algodão. Número semelhante de espécies foi encontrado entre o solo do Cerrado e o solo cultivado com soja. Em relação aos fatores físico-químicos, os solos cultivados apresentaram valores significativamente iguais em sua maioria, mas apresentaram valores diferentes para o solo do Cerrado. As monoculturas de soja e algodão no Cerrado causaram modificações qualitativas nas comunidades de fungos do solo. O elevado número de espécies de fungos encontrado nas áreas cultivadas, comparável à área de vegetação nativa, indica que o manejo adotado nos sistemas agrícolas da região contribui de forma positiva para a manutenção da biodiversidade de fungos do solo nas áreas agrícolas do Cerrado.

---

\*Comitê orientador: Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning – UFLA (Orientador),  
Msc. Lucas Magalhães de Abreu – UFMG (Co-orientador).

## ABSTRACT

CARVALHO, Vívian Gonçalves. **Fungal community in soils of Cerrado under native vegetation and under soybean and cotton cropping**. 2008. 62 p. Dissertation (Master in Agricultural Microbiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

The Brazilian savannah “Cerrado” is one of richest biomes in plant and animal species in Brazil. However, large part of its natural vegetation is in a process of replacement by monoculture by intensive agricultural activities, threatening its biodiversity. The objective in the present study was to assess the influence of cotton and soybean monoculture on the community of soilfungi in the Cerrado. Eight compound soil samples were collected in each cultivated area and under native vegetation of Cerrado in the locality of Montividiu, Goiás, and processed by the soil washing technique, followed by particle filtration. Baiting with vegetal tissue was carried out for the isolation of zoosporic fungi and for the genus *Cylindrocladium*. From the 24 soil samples collected, 109 fungal species belonging to 42 genera were detected. The most abundant fungi were *Trichoderma* spp. and *Fusarium solani*, which represent, respectively, antagonistic species to other fungi and a plant pathogen. The correspondence multivariate analysis evidenced that the soils from the three studied areas showed specific predominant species. *Penicillium* and *Absidia* species were recovered as the most abundant from soil under Cerrado. The cultivated soils showed higher similarity of species and higher number of plant pathogenic fungi, such as *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* and antagonists, such as *Trichoderma*. The species richest area was the soil under cotton cropping. In the Cerrado soil and the soil under soybean cultivation a similar number of species was found. As to the physical-chemical factors, the cultivated soils presented significantly equal values for the majority of the variables analyzed, which were different from the Cerrado soil. The soybean and cotton monoculture in the Cerrado led to qualitative modifications in the soil fungal communities. The high number of fungal species found in cultivated areas, comparable to the area of natural vegetation, indicates that the management adopted in the agricultural systems in the region contributes positively for the maintenance of the fungal biodiversity of the soil in the agricultural areas of the Cerrado.

---

\*Guidance Committee: Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning – UFLA (Adviser),  
Msc. Lucas Magalhães de Abreu – UFMG (Co-Adviser).

## INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo superado em área apenas pela Amazônia (Klink & Machado, 2005). Possui a mais rica flora dentre as savanas do mundo, com alto nível de endemismo, o que contribui para a biodiversidade de fungos, que é representada por mais de 830 espécies em plantas (Dianese et al., 1997).

Assim como as plantas, o solo do Cerrado deve apresentar grande número de espécies de fungos. Porém, este grande ecossistema vem sofrendo intensas mudanças no uso da terra, em especial devido ao desenvolvimento agrário (Bresolin, 2006). O manejo inadequado dos solos tem resultado em sua degradação, modificando as propriedades físicas químicas e biológicas, o que afeta as comunidades de microrganismos.

Fungos do solo são cruciais para a manutenção e o funcionamento deste ecossistema, pois desempenham funções como decomposição e ciclagem de nutrientes e diversas interações com outros organismos do solo e plantas. Além disso, podem produzir metabólitos bioativos e apresentar genes de interesse para biotecnologia (Pfenning & Abreu, 2006).

O conhecimento dos efeitos das práticas agrícolas na dinâmica das comunidades de fungos do solo é importante, por causa das transformações que esses microrganismos promovem, influenciando a qualidade dos produtos e a produtividade agrícola. As pesquisas direcionadas para esse tipo de informação são relativamente intensas em solos das regiões temperadas, mas incipientes nas regiões subtropicais e tropicais.

Os procedimentos microbiológicos clássicos para o estudo de fungos do solo são baseados no isolamento e no cultivo em meio de cultura artificial de esporos ou hifas ativas do solo, para posterior identificação e quantificação.

Outras metodologias utilizam as medidas das atividades dos fungos nos processos biogeoquímicos que ocorrem no ecossistema solo.

Atualmente, as técnicas moleculares baseadas na análise de DNA são aplicadas no estudo de complexas comunidades de fungos em amostras ambientais. Apesar desse avanço, o isolamento e a identificação dos fungos são ainda requeridos para que se obtenha um melhor entendimento a respeito da estrutura das comunidades de fungos do solo e suas funções (Pfenning & Abreu, 2006).

A partir do momento em que o plaqueamento de amostras de solo começou a ser utilizado, atingiu-se progresso considerável usando técnicas de lavagem, bem como meios de cultura menos seletivos e elementos aditivos que reduzem o crescimento de certos grupos de fungos. O propósito básico da técnica de lavagem de solo é eliminar o excesso de esporos dormentes presentes nas amostras de solo, o que pode favorecer o isolamento de micélios que estão crescendo ativamente, mas apresentam baixa esporulação. O solo pode ser lavado várias vezes com água destilada em recipientes de vidro, sempre descartando o sobrenadante que contém grande quantidade de esporos.

Poucos são os estudos em relação aos microrganismos do solo do Cerrado em áreas cultivadas e se baseiam, principalmente, em análises de comunidades de bactérias (Pereira et al., 2000) e fungos micorrízicos (Cordeiro et al., 2005). Há um estudo sobre fungos em solos agrícolas do Cerrado, porém, foi feito utilizando método molecular (Bresolin, 2006). Não há estudos utilizando métodos de cultivo para o isolamento de fungos em áreas cultivadas do Cerrado. A avaliação da diversidade de fungos do solo agrícola do Cerrado é um aspecto importante na busca de uma agricultura sustentável, que permita a manutenção da biodiversidade do solo.

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da prática de monocultura de algodão e soja sobre a comunidade de fungos em solo do Cerrado, utilizando a metodologia de lavagem de solo.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### **Fungos em solos**

O entendimento da biologia e da ecologia do solo tem sido valorizado por sua importância na restauração e na sustentabilidade de ecossistemas (Steenwerth et al., 2002). Em todos os ecossistemas, os microrganismos do solo desenvolvem funções importantes na decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e remoção de toxinas (van Elsas et al., 1997). Além disso, são importantes na supressão de doenças causadas por outros microrganismos, na promoção do crescimento de plantas e contribuem para a fertilidade e estrutura do solo (Doran et al., 1996; Kirk et al., 2004). Todos os organismos da biosfera dependem da atividade microbiana (Pace, 1997).

Os fungos são importantes componentes da microbiota do solo, constituindo a maior biomassa do solo quando comparados às bactérias, dependendo das condições nutricionais do ecossistema. O solo abriga uma considerável parte da diversidade de fungos, entretanto, não existe nenhuma boa estimativa do número de espécies de fungos do solo (Hawksworth, 1991; Hawksworth & Rossman, 1997). Muitos patógenos e promotores de crescimento de plantas são fungos. Os fungos saprófitas representam a maior proporção de espécies fúngicas no solo e desempenham papel crucial na decomposição de polímeros estruturais de plantas, como celulose, hemicelulose e lignina, contribuindo para a manutenção global do ciclo de carbono. Os fungos também produzem moléculas orgânicas e enzimas de interesse comercial, sendo cada vez mais utilizados na biotecnologia.

Porém, nosso entendimento sobre a diversidade e o funcionamento das comunidades fúngicas do solo permanece relativamente pequeno em comparação às comunidades de bactérias, ao ponto de alguns artigos proporem

uma revisão dos aspectos da ecologia microbiana do solo e considerarem apenas bactérias (e.g. Hattori et al., 1997; Ogram, 2000; Kent & Triplett, 2002). Além disso, a composição e a diversidade de comunidades fúngicas são importantes determinantes das funções do solo (Doran & Zeiss 2000; Hill et al., 2000). Informações a respeito da estrutura e da composição das comunidades de fungos, como a identidade e a frequência dos fitopatógenos e seus antagonistas, são cruciais para o manejo de plantas na agricultura (Kennedy & Smith, 1995; Giller et al., 1997; Altieri, 1999).

### **Práticas agrícolas**

Várias práticas agrícolas têm sido promovidas para melhorar as condições do solo e auxiliar o crescimento de plantas. Algumas práticas incluem introdução de agentes químicos, como o uso de fertilizantes minerais e pesticidas, e outras podem favorecer o ambiente, como esquemas de rotação de culturas ou o uso de nutrientes orgânicos.

Práticas de manejo do solo não apenas influenciam o crescimento de plantas, mas podem também modificar a composição da comunidade microbiana e afetar os processos microbianos por meio de mudanças na estrutura do solo ou na liberação de gás, água e nutrientes (Marsh et al., 2000). A atividade e a biomassa dos microrganismos são influenciadas pelo manejo do solo, pela matéria orgânica, por fatores abióticos presentes no solo, pelos exsudatos liberados pelas plantas e pelos efeitos da rizosfera (Zaady et al., 1996; Hooper & Vitousek, 1998; Jones, 1998; Caldero'n et al., 2000; Chen & Stark, 2000).

Mudanças no tipo de vegetação afetam significativamente a quantidade de húmus, o desenvolvimento do solo (Muys et al., 1992) e a quantidade e o fluxo de C e N (e.g. Glaser et al., 2000; Solomon et al., 2000; Yeates et al., 2000; Zeller et al., 2000; Zou & Bashkin, 1998). Mudanças no uso do solo podem afetar a comunidade microbiana por meio de alterações na matéria

orgânica ou características dos nutrientes ou diretamente por meio da vegetação. Diferentes resíduos de folhas e caules podem selecionar microrganismos distintos, devido às diferenças em seus componentes químicos (C, N, fenóis, ligninas) (Christensen, 1969; Frankland, 1966; Kendrick, 1963; Lumley et al., 2001). Mudanças na composição ou na atividade da comunidade microbiana podem ter efeito imediato ou em longo prazo no funcionamento do ecossistema (Perry et al., 1989).

### **Cerrado e as práticas agrícolas**

A estratégia utilizada para o desenvolvimento agropecuário na região central do Brasil, durante as décadas de 1980 e 1990, priorizou fatores como a expansão da fronteira agrícola, investimento em mecanização, tecnologias baseadas em alto consumo energético (fertilizantes, defensivos agrícolas e mecanização) e monoculturas. Estes fatores elevam os custos da produção e degradam o meio produtivo, resultando na insustentabilidade de grande parte das explorações (Aidar & Kluthcouski, 2003, Girvan et al., 2004). Cerca de metade dos 2 milhões de km<sup>2</sup> originais do Cerrado foi transformada em pastagens plantadas, culturas anuais e outros tipos de uso (Klink & Machado, 2005). A agricultura no Cerrado é lucrativa e sua expansão deve continuar em ritmo acelerado.

O Cerrado é um dos *hotspots* mundiais de biodiversidade (Myers et al., 2000; Silva & Bates, 2002). A degradação do solo e dos ecossistemas nativos e a dispersão de espécies exóticas são as maiores e mais amplas ameaças à biodiversidade. A partir de um manejo deficiente do solo, a erosão pode ser alta; em plantios convencionais de soja, a perda da camada superficial do solo é, em média, de 25 t/ha/ano, embora práticas de conservação, como o plantio direto, possam reduzir a erosão a 3 t/ha/ano (Rodrigues, 2004).

Um dos principais desafios na conservação do Cerrado será demonstrar a importância da biodiversidade no funcionamento desse ecossistema (Klink & Machado, 2005). Considerando a rápida taxa de transformação e intensificação do uso do solo do Cerrado, estudos visando melhor entendimento dos processos que regulam as comunidades fúngicas em ambientes naturais e em função de alterações no uso do solo são fundamentais para melhor entendimento da ecologia deste bioma.

### **Métodos para o estudo de fungos do solo**

O resultado das análises dos fungos do solo depende do método utilizado (Gams, 1992). Vários métodos tradicionais de estudo microbianos têm sido utilizados para analisar a diversidade microbiana em solos agrícolas. (Jordan et al., 1995; Turco et al., 1994). Alguns destes métodos se baseiam na análise da biomassa microbiana, como a medição da respiração no solo, ciclagem de nitrogênio, ácidos graxos típicos de fungos ou, ainda, observações diretas do micélio crescendo ativamente nas partículas de solo (Widden & Parkinson, 1973; Anderson & Ingram, 1989; Houston et al., 1998; Brodie et al., 2003). No entanto, tais métodos acima citados fornecem poucas informações sobre as espécies envolvidas nesses processos que ocorrem no solo. Já os métodos de isolamento e cultivo de fungos permitem a identificação das espécies e, assim, fornecem informações sobre a estrutura das comunidades de fungos e as suas funções.

Dentre os métodos de isolamento e cultivo podem ser citados o método de diluição em placas, a lavagem do solo e a utilização de meios seletivos e iscas. O método de diluição em placa é o mais utilizado para o isolamento e quantificação de fungos. É uma técnica simples, baseada na diluição de uma quantidade conhecida de solo, utilizando fator de diluição de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  e posterior plaqueamento de alíquota das diluições em meios de cultura

apropriados, contendo antibióticos. A partir desta técnica, pode-se obter uma estimativa do número de propágulos de fungos por grama de solo.

A metodologia de lavagem de solo favorece o isolamento dos fungos que crescem ativamente e produzem esporos em pequena quantidade, por meios da eliminação do excesso de esporos dormentes das amostras de solo. O solo é lavado diversas vezes com água esterilizada, fazendo o descarte do sobrenadante que contém esporos em excesso. Após a lavagem, o solo é submetido ao método de diluição em placa, como o descrito no parágrafo anterior (Dhingra & Sinclair, 1985). Após a lavagem, o solo é passado através de uma série de peneiras, com tamanho decrescente de abertura das malhas, para a separação das suas partículas componentes. As partículas retidas na peneira de menor abertura de malha são transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura apropriados (Thorn et al., 1996; Tiunov & Scheu, 2000).

O tamanho das partículas de solo é inversamente proporcional ao número de isolados obtidos de cada partícula; sendo assim, a transferência de partículas menores de solo para os meios de cultura pode favorecer o isolamento de fungos de crescimento lento (Bååth, 1988). Os meios seletivos são utilizados para o isolamento de determinados grupos ou espécies de fungos. Podem conter fontes de carbono preferenciais para certos grupos de fungos ou podem apresentar substâncias químicas que inibem o crescimento de organismos. Há grande número de meios seletivos para o isolamento de vários gêneros de fungos do solo (Masago et al., 1977; Tsao et al., 1983; Dhingra & Sinclair, 1985; Sneh et al., 1991; Thorn et al., 1996).

O isolamento seletivo de fungos do solo também pode ser realizado com iscas. Alguns exemplos de iscas que podem ser adicionadas em amostras de solo para o isolamento de fungos são: tecidos de plantas, para fitopatógenos; tiras de papel, para espécies celulolíticas; poliéster de poliuretano, para degradadores de plástico, fios de cabelo, para espécies queratinolíticas; quitina, para fungos

produtores de quitinase e insetos, para o isolamento de entomopatógenos (Marks & Mitchell, 1970; Papavizas et al., 1975; Sneh et al., 1991; Gams et al., 1998; Edena et al., 2000; Gonçalves, 2000; Pettitt et al., 2002; Barratt et al., 2003; Wellington et al., 2003).

A estrutura da população, a dinâmica e a diversidade da maioria dos fungos de solo são pouco conhecidas. O isolamento de alguns fungos é impedido pela inabilidade de crescimento em meio de cultura, como os fungos micorrízicos arbusculares, por exemplo (van Elsas et al., 2000). A detecção da exata diversidade de fungos em amostras de solo não é um trabalho fácil; um dos principais problemas é a natureza fastidiosa de alguns grupos de fungos. Os Basidiomycota, por exemplo, são difíceis de serem isolados e, geralmente, não produzem esporos em cultura axênica (Thorn et al., 1996). Já os fungos pertencentes ao filo Glomeromycota, que formam micorrizas arbusculares, são fungos biotróficos que não podem ser cultivados (Moreira & Siqueira, 2006).

Já que uma considerável parcela dessas espécies de fungos pode ocorrer no solo em pelo menos alguma parte de seu ciclo de vida, o ideal é a utilização de outras metodologias para a complementação das técnicas tradicionais para se obter um melhor entendimento da diversidade e da dinâmica dos fungos de solo (Bride & Spooner, 2001). As limitações na identificação de fungos por técnicas baseadas em análises morfológicas favoreceram a intensificação do uso de métodos moleculares, que facilitam este processo (Bridge & Spooner, 2001), oferecem respostas a perguntas sobre a diversidade microbiana e permitem acompanhar o destino de uma população de microrganismos introduzidos no meio ambiente (Rosado & Duarte, 2002).

A base para a maioria dos métodos diretos tem sido o desenvolvimento, na última década, de vários métodos de amplificação específica por PCR (reação em cadeia da polimerase) aplicados para ácidos nucleicos diretamente extraídos

do solo (Ogram et al., 1987; Holben et al., 1988; Akkermans et al., 1995; Trevors & van Elsas, 1995).

A partir da PCR, as técnicas moleculares têm sido amplamente usadas no estudo do material ambiental. Os métodos para identificação molecular de fungos para o nível de espécies têm sido, a maioria deles, baseados no uso de regiões ITS (regiões intergênicas transcritas de DNA ribossomal ) (Peterson, 1996). Por outro lado, as seqüências da menor subunidade do rDNA, que evoluem mais lentamente, podem servir como marcadores para grupos taxonomicamente mais distantes (White et al., 1990), facilitando a resolução da diversidade fúngica total do sistema do solo dentro de um número limitado de bandas em um perfil molecular.

Dentre as técnicas moleculares de perfil de bandas para o estudo de fungos do solo, podem ser citadas: eletroforese em gel com gradiente de desnaturante (DGGE), eletroforese em gel com gradiente de temperatura (TGGE), polimorfismo conformacional da fita simples (SSCP), polimorfismo do tamanho e composição de bases de fragmentos terminais de restrição (T-RFLP), análise de restrição do DNA ribossômico amplificado (ARDRA), análise do espaço intergênico ribossômico amplificado (ARISA) e clonagem (Anderson & Cairney, 2004).

Essas técnicas podem ser combinadas com a extração dos fragmentos obtidos no gel, purificação e posterior seqüenciamento para identificação das espécies de microrganismos representadas pelas seqüências, por meio da comparação com seqüências de DNA previamente depositadas em bancos de dados. No entanto, identificações de espécies de fungos realizadas somente por métodos moleculares podem apresentar alguns problemas, como bancos de dados incompletos ou com presença de seqüências de DNA identificadas erroneamente, originadas de identificações morfológicas incorretas, amplificação e seqüenciamento de contaminantes ou até o seqüenciamento de

quimeras (Bridge et al., 2003). Outra limitação dos métodos moleculares baseados na amplificação e caracterização do DNA é a falta de conhecimento a respeito de qual parcela do DNA total extraído do solo pertence realmente àqueles fungos que crescem ativamente no solo. Como já discutido, a extração de DNA e a amplificação dos produtos de PCR não permitem diferenciar as hifas ativas e os esporos dormentes presentes no solo, o que impede a identificação dos grupos de fungos que estão na fase ativa no solo (Bridge et al., 2003).

É, geralmente, considerado, que hifas fúngicas representam a fase ativa, enquanto que os estádios dormentes (esporos, conídios, clamidósporos, esclerócios) são praticamente inativos. Portanto, é importante distinguir entre fungos presentes como hifas ativas e os estádios dormentes (Warcup, 1955) e esta distinção é o grande problema encontrado em grande parte das técnicas (Gams, 1992). Pela escolha das técnicas de cultivo, é possível distinguir entre hifas ativas e propágulos dormentes (Hagn et al., 2003). Dentre tais técnicas, destaca-se a lavagem de solo, a qual privilegia o isolamento de fungos que estão crescendo ativamente nas partículas de solo, em detrimento daqueles que estão presentes sob a forma de grandes quantidades de esporos dormentes (Bååth, 1998; Widden & Parkinson, 1973).

Utilizando a metodologia de diluição juntamente com a lavagem de solo, a densidade e a riqueza de espécies de comunidades fúngicas em solo cultivado com tomate, infestado e não infestado com *Fusarium*, foram estudadas pela comparação do rizoplano, rizosfera e solo “livre” (Wahid et al., 1997). Por meio desta metodologia, a riqueza de espécies foi maior na rizosfera e no solo livre, mas distintivamente menor no rizoplano. Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram os que apresentaram maior riqueza de espécies.

Em estudo sobre a estrutura da comunidade de fungos em diferentes áreas plantadas com a espécie *Betula pendula*, na Finlândia central, por meio da

metodologia de lavagem de solo complementada com a metodologia de biomassa fúngica e análise química do solo, foram encontradas diferenças nas comunidades fúngicas sob diferentes tipos de solo. Essas diferenças foram atribuídas primariamente ao aumento na qualidade dos resíduos do solo e ao aumento da abundância de outros organismos no solo e secundariamente às mudanças na quantidade de matéria orgânica, pH,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  (McLean & Huhta, 2002).

O isolamento e a identificação de fungos do solo em campos irrigados na Turquia foram realizados utilizando-se a metodologia de diluição do solo e a metodologia de lavagem do solo. Diferentes espécies de fungos foram isoladas a partir de cada metodologia. Os gêneros de fungos mais freqüentes foram *Penicillium*, *Aspergillus* e *Acremonium* (Azaz, 2003).

A metodologia de lavagem de solo foi utilizada, juntamente com metodologias moleculares na análise da diversidade fúngica em solos agrícolas sob diferentes sistemas de manejo na Alemanha. Neste estudo, as populações ativas de fungos mostraram clara resposta às mudanças ambientais enquanto a população fúngica em potencial, como esporos, quase não é influenciada pelos fatores analisados. O gênero *Trichoderma* foi o mais abundante (Hagn et al., 2003). A distribuição de espécies de *Trichoderma* foi analisada em relação às práticas de uso do solo na região de Embu, no Quênia, utilizando-se a técnica de lavagem do solo e a diluição em placas. Foi verificada uma correlação negativa entre a quantidade de fertilizantes e a abundância de fungos. A intensificação no uso da terra afetou a distribuição de *Trichoderma* negativamente (Okoth et al., 2007).

Ainda não há relatos sobre a utilização da metodologia de lavagem de solo para o estudo de comunidades de fungos em áreas cultivadas do Cerrado. No entanto, esta metodologia tem demonstrado ser eficiente para a detecção e o isolamento de grande quantidade de espécies de fungos, podendo ser utilizada

para acompanhar alterações na composição e na estrutura das comunidades de fungos em solos agrícolas, podendo ajudar na avaliação do impacto causado sobre a vegetação nativa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J. Evolução das atividades lavoureira e pecuária nos Cerrados. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). **Integração lavoura-pecuária**. Santo Antônio de Goiás, GO: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2003. p. 25-58.

AKKERMANS, A. D. L.; VAN ELSAS, J. D.; DE BRUIJN, F. J. **Molecular Microbial ecology manual**. Dordrech: Kluwer, 1995.

ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 19-31, 1999.

ANDERSON, I. C.; CAIRNEY, J. W. G. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 769-779, 2004.

ANDERSON, J. M.; INGRAM, J. S. I. **Tropical soil biology and fertility, a handbook of methods**. Wallingford: CABI, 1989. 171 p.

AZAZ, A. D. Isolation and identification of soilborne fungi in fields irrigated by GAP in Harran plain using two isolation methods. **Turkish Journal of Botany**, v. 27, p. 83-92, 2003.

BÅÅTH, E. A critical examination of the soil washing technique with special reference to the effect of the size of the soil particles. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, p. 1566-1569, 1988.

BARRATT, S. R.; ENNOS, A. R.; GREENHALGH, M.; ROBSON, G. D.; HANDLEY, P. S. Fungi are the predominant micro-organisms responsible for degradation of soil-buried polyester polyurethane over a range of soil water holding capacities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 78-85, 2003.

BRESOLIN, J. D. **Comparação da comunidade microbiana de solos sob vegetação nativa e sob diferentes sistemas agrícolas em áreas de plantio comercial na região central do Cerrado**. 2006. 95p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade de Brasília, Brasília.

BRIDGE, P.; SPOONER, B. Soil fungi, diversity and detection. **Plant and Soil**, v. 232, p. 147-154, 2001.

- BRIDGE, P. D.; ROBERTS, P. J.; SPOONER, B. M.; PANCHAL G. On the unreliability of published DNA sequences. **New Phytologist**, v. 160, p. 43-48, 2003.
- BRODIE, E.; EDWARDS, S.; CLIPSON, N. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 45, p. 105-114, 2003.
- CALDERÓN, F. J.; JACKSON, L. E.; SCOW, K. M.; ROLSTON, D. E. Microbial responses to simulated tillage and in cultivated and uncultivated soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1547–1559, 2000.
- CHEN, J.; STARK, J. M. Plant species effects and carbon and nitrogen cycling in a sagebrush-crested wheatgrass soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 47–57, 2000.
- CHRISTENSEN, M. Soil microfungi of dry to mesic coniferhardwood forests in northern Wisconsin. **Ecology**, v. 50, p. 9–27, 1969.
- CORDEIRO, M. A. S.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, E. B.; JUNIOR, O. J. S. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do Cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 3, p. 147-153, 2005.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC, 1985. 355 p.
- DIANESE, MEDEIROS, R. B.; SANTOS, L. T. P. Biodiversity of microfungi found on native plants of the Brazilian Cerrado. In: HYDE, K. D. (Ed.). Biodiversity of tropical microfungi. Hong Kong University Press, 1997. P.367-417.
- DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, v. 56, p. 2–54, 1996.
- DORAN, J. W.; ZEISS, M. R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 3–11, 2000.
- EDENA, M. A.; HILLB, R. A.; GALPOTHAGE, M. An efficient baiting assay for quantification of *Phytophthora cinnamomi* in soil. **Plant Pathology**, v. 49, p. 515-522, 2000.

FRANKLAND, J. C. Succession of fungi on decaying petioles of *Pteridium aquilinum*. **Journal of Ecology**, v. 54, p. 41–63, 1966.

GAMS, W. The analysis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil fungi. In: WINTERHOFF, W. (Ed.). **Fungi in vegetation Science**. Netherlands: Kluwer Academic, 1992. p. 183-223.

GAMS, W.; HOEKSTRA, E. S.; APTROOT, A. **CBS course of mycology**. 4.ed. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, 1998. 165 p.

GILLER, K. E.; BEARE, M. H.; LAVELLE, P.; IZAC, A. M. N.; SWIFT, M. J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, v. 6, p. 3-16, 1997.

GIRVAN, M. S.; BULLIMORE, J.; BALL, A. S.; PRETTY, J. N.; OSBORN, A. M. Responses of active bacterial and fungal communities in soils under winter wheat to different fertilizer and pesticide regimens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 5, p. 2692-2701, 2004.

GLASER, B.; TURRIÓN, M. B.; SOLOMON, D.; NI, A.; ZECH, W. Soil organic matter quantity and quality in mountain soils of the Alay Range, Kyrgyzia, affected by land use change. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, p. 407–413, 2000.

GONÇALVES, R. C. **Iscas para quantificação de *Cylindrocladium* spp. no solo e flutuação da densidade de inóculo do patógeno em jardim clonal de *Eucalyptus* spp.** 2000. 54p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

HAGN, A.; PRITSCH, K.; SCHLOTTER, M.; MUNCH, J. C. Fungal diversity in agricultural soil under different farming management systems, with special reference to biocontrol strains of *Trichoderma* spp. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, n. 4, p. 236-244, 2003.

HATTORI, T.; MITSUI, H.; HAGA, H.; WAKAO, N.; SHIKANO, S.; GORLACH, K.; KASAHARA, Y.; EL-BELTAGY, A.; HATTORI, R. Advances in soil microbial ecology and biodiversity. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 71, p. 21–28, 1997.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity, magnitude, significance and conservation. **Mycological Research**, v. 95, p. 641-655, 1991.

- HAWKSWORTH, D. L.; ROSSMAN, A. Y. Where are all the undescribed fungi? **Phytopathology**, v. 87, p. 888-891, 1997.
- HILL, G. T.; MITKOWSKI, N. A.; ALDRICH-WOLFE, L.; EMELE, L. R.; JURKONIE, D. D.; FICKE, A.; MALDONADO-RAMIREZ, S.; LYNCH, S. T.; NELSON, E. B. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 25–36, 2000.
- HOLBEN, W. E.; JANSSON, J. K.; CHELM, B. K.; TIEDJE, J. M. DNA probe method for the detection of specific microorganisms in the soil bacterial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 703–711, 1988.
- HOOVER, D. U.; VITOUSEK, P. M. Effects of plant composition and diversity on nutrient cycling. **Ecological Monographs**, v. 68, p. 121–149, 1998.
- HOUSTON, A. P. C.; VISSER, S.; LAUTENSCHLAGER, R. A. Microbial processes and fungal community structure in soils from clear-cut and unharvested areas of two mixedwood forests. **Canadian Journal of Botany**, v. 76, p. 630-640, 1998.
- JONES, D. L. Organic acids in the rhizosphere - a critical review. **Plant and Soil**, v. 205, p. 25–44, 1998.
- JORDAN, D.; KREMER, R. J.; BERGFELD, W. A.; KIM, K. Y.; CACNIO, V. N. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. **Biology and Fertility of Soils**, v. 19, p. 297-302, 1995.
- KENDRICK, W. B. Fungi associated with the breakdown of pine leaf litter in the organic horizon of a podzol. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 19, p. 241–245, 1963.
- KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, v. 170, p. 75-86, 1995.
- KENT, A. D.; TRIPLETT, E. W. Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, p. 211–236, 2002.
- 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**, v. 58, p. 169 – 188, 2004.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

LUMLEY, T. C.; GIGNAC, L. D.; CURRAH, R. S. Microfungus communities of white spruce and trembling aspen logs at different stages of decay in disturbed and undisturbed sites in the boreal mixedwood region of Alberta. **Canadian Journal of Botany**, v. 79, p. 76–92, 2001.

MARKS, G. C.; MITCHELL, J. E. Detection, isolation and pathogenicity of *Phytophthora megasperma* from soils and estimation of inoculum levels. **Phytopathology**, v. 60, p. 1687-1690, 1970.

MARSH, T. L.; SAXMAN, P.; COLE, J.; TIEDJE, J. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism analysis program, a web-based research tool for microbial community analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 3616-3620, 2000.

MASAGO, H.; YOSHIKAWA, M.; FUKADA, M.; NAKANISHI, N. Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. **Phytopathology**, v. 67, p. 425-428, 1977.

MCLEAN, M. A.; HUHTA, V. Microfungal community structure in antropogenic birch strands in central Finland. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 1-12, 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

MUYS, B.; LUST, N.; GRANVAL, P. Effects of grassland afforestation with different tree species on earthworm communities, litter decomposition and nutrient status. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 24, p. 1459–1466, 1992.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

OGRAM, A. Soil molecular microbial ecology at age 20: methodological challenges for the future. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1499–1504, 2000.

OGRAM, A.; SAYLER, G. S.; BARKAY, T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments. **Journal of Microbiological Methods**, v. 7, p. 57–66, 1987.

OKOTH, S. A.; ROIMEN, H.; MUTSOTSO, B.; MUYA, E.; KAHINDI, J.; OWINO, J. O.; OKOTH, P. Land use systems and distribution of *Trichoderma* species in Embu region, Kenya. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 7, p. 105–122, 2007.

PACE, N. R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, v. 276, p. 734–740, 1997.

PAPAVIZAS, G. C.; ADAMS, P. B.; LOMSDEN, R. D.; LEWS, J. A.; DOW, R. L.; AYERS, W. A.; KANTZER, J. G. Ecology and epidemiology of *Rhizoctonia solani* in field soil. **Phytopathology**, v. 65, p. 871-877, 1975.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; GAVA, C. A. T. Efeito do cultivo da soja na dinâmica da população bacteriana, em solos de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1183-1190, 2000.

PERRY, D. A.; MEURISSE, R.; THOMAS, B.; MILLER, R.; BOYLE, J.; MEANS, J.; PERRY, C. R.; POWERS, R. F. **Maintaining the long-term productivity of Pacific northwest forest ecosystems**. Portland, OR: Timber, 1989. 256 p.

PETERSON, S. W. **Rapid identification of fungi using species-specific PCR primers**. In: \_\_\_\_\_. *Nucleic Acids in Systematics*, pp. 271–277, 1996.

PETTITT, T. R.; WAKEHAM, A. J.; WAINWRIGHT, M. F.; WHITE, J. G. Comparison of serological, culture, and bait methods for detection of *Pythium* and *Phytophthora* zoospores in water. **Plant Pathology**, v. 51, p. 720-727, 2002.

PFENNING, L. H.; ABREU, L. M. Diversity of Microfungi in Tropical Soils. In: MOREIRA F. M. S.; SIQUEIRA J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CABI, 2006. p. 184-205.

RODRIGUES, W. **Tecnologias agrícolas sustentáveis nos Cerrados**. Brasília: Ministério da Integração Nacional, 2004. 85 p. (Coleção Centro-Oeste de Estudos e Pesquisas, 3000).

ROSADO, A. S.; DUARTE, G. F. Utilização de eletroforese em gel com gradientes de desnaturantes (DGGE) e gel com gradiente de temperatura para estudar a diversidade microbiana. In: MELLO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C.; NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C. (Ed.). **Genética e melhoramento de microrganismos**. São Paulo: USP, 2002. p. 97-129.

SILVA, J. M. C. da; BATES, J. M. Biogeographic patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. **BioScience**, v. 52, p. 225-233, 2002.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. St. Paul, MN: APS, 1991. 133 p.

SOLOMON, D.; LEHMANN, J.; ZECH, W. Land use effects on soil organic matter properties of chromic luvi sols in semi-arid northern Tanzania: carbon, nitrogen, lignin and carbohydrates. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 78, p. 203-213, 2000.

STEENWERTH, L. K.; JACKSON, L. E.; CALDERÓN, F. J.; STROMBERG, M. R.; SCOW, K. M. Soil microbial community composition and land use history in cultivated and grassland ecosystems of coastal California. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 11, p. 1599-1611, 2002.

THORN, R. G.; REDDY, C. A.; HARRIS, D.; PAUL, E. A. Isolation of saprophytic basidiomycetes from soil. **Applied Environmental Microbiology**, v. 62, p. 4288-4292, 1996.

TIUNOV, A. V.; SCHEU, S. Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae), a laboratory experiment. **Applied Soil Ecology**, v. 14, p. 17-26, 2000.

TREVORS, J. T.; VAN ELSAS, J. D. **Nucleic Acids in the environment; methods and applications**. Heidelberg: Springer, 1995.

TSAO, P. H.; ERWIN, D. C.; BARTNICKI-GARCIA, S. ***Phytophthora*. Its biology, taxonomy, ecology and pathology**. St. Paul, MN: APS, 1983. 392 p.

TURCO, R. F.; KENNEDY, A. C.; JAWSON, M. D. Microbial indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWARD, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison, WI: SSSAJ Special, 1994. p. 73-90.

VAN ELSAS, J. D.; DUARTE, G. F.; WOLTERS, A. K.; SMIT, E. Analysis of the dynamics of fungal communities in soil via fungal-specific PCR of soil DNA followed by denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 43, p. 133-151, 2000.

VAN ELSAS, J. D.; TREVORS, J. T.; WELLINGTON, E. M. H. **Modern soil microbiology**. New York: M. Dekker, 1997. 688 p.

WAHID, O. A. A.; MOUSTAFA, A. F.; IBRAHIM, M. E. Soil mycoflora in tomato fields. **Mycoscience**, v. 38, p. 237-241, 1997.

WARCUP, J. H. On the origin of fungi developing on soil dilution plates. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 38, p. 520-532, 1955.

WELLINGTON, E. M. H.; BERRY, A.; KRSEK, M. Resolving functional diversity in relation to microbial community structure in soil, exploiting genomics and stable isotope probing. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, p. 295-301, 2003.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: **PCR Protocols: a guide to methods and applications**. New York: Academic, 1990. p. 315-322.

WIDDEN, P.; PARKINSON, D. Fungi from Canadian coniferous forest soils. **Canadian Journal of Botany**, v. 51, p. 2275-2290, 1973.

YEATES, G. W.; HAWKE, M. F.; RIJKSE, W. C. Changes in soil fauna and soil conditions under *Pinus radiata* agroforestry regimes during a 25-year tree rotation. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, p. 391-406, 2000.

ZAADY, E.; GROFFMAN, P. M.; SHACHAK, M. Litter as a regulator of N and C dynamics in macrophytic patches in Negev desert soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 28, p. 39-46, 1996.

ZELLER, V.; BAHN, M.; AICHNER, M.; TAPPEINER, U. Impact of land use change on nitrogen mineralization in subalpine grasslands in the Southern Alps. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, p. 441-448, 2000.

ZOU, X.; BASHKIN, M. Soil carbon accretion and earthworm recovery following revegetation in abandoned sugarcane fields. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, p. 825-830, 1998.



## **CAPÍTULO 1**

### **CULTIVO DE ALGODÃO E SOJA INFLUENCIA A DIVERSIDADE DE FUNGOS DO SOLO DO CERRADO**

**Cultivo de algodão e soja influencia a diversidade de fungos do solo do Cerrado**

(Preparado de acordo com as normas da revista “*Plant and Soil*”)

Vívian G. Carvalho<sup>1</sup>, Lucas M. de Abreu<sup>3</sup>, Janine M. Oliveira<sup>2</sup>, Dayana A. Botrel<sup>2</sup> & Ludwig H. Pfenning<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biologia; <sup>2</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG; <sup>3</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte MG  
Autor para correspondência : Ludwig H. Pfenning, E-mail: ludwig@ufla.br

## Resumo

CARVALHO, Vívian Gonçalves. Cultivo de algodão e soja influencia a diversidade de fungos do solo do Cerrado. In: \_\_\_\_\_. **Comunidades de fungos em solo do cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo de soja e algodão.** 2008. Cap. 2, p.23-62. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

O Cerrado é um dos biomas brasileiros mais ricos em espécies de plantas e animais, porém, grande parte de sua vegetação natural está sendo substituída por monoculturas no exercício de intensas atividades agrícolas, ameaçando a sua biodiversidade. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da prática de monocultura de algodão e soja sobre a comunidade de fungos em solo do Cerrado. Foram coletadas 8 amostras compostas de solo em cada área cultivada e sob vegetação nativa de Cerrado, no município de Montividiu, GO. Foi utilizada a metodologia de lavagem de solo e filtração de partículas. Para o isolamento de fungos zoospóricos e do gênero *Cylindrocladium*, foram utilizadas iscas vegetais. A partir das 24 amostras de solo coletadas foram detectadas 109 espécies de fungos pertencentes a 42 gêneros. Os fungos mais abundantes foram *Trichoderma* spp. e *Fusarium solani*, que representam, respectivamente, espécies antagonistas a outros fungos e uma espécie patogênica a plantas. A análise multivariada de correspondência evidenciou que o solo das três áreas de estudo apresentou diferentes espécies predominantes. O solo do Cerrado apresentou espécies de *Penicillium* e *Absidia* como as mais abundantes. Os solos cultivados apresentaram maior similaridade de espécies e mostraram número maior de fitopatógenos, como *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* e antagonistas, como *Trichoderma*. A área mais rica em espécies foi o solo cultivado com algodão. Número semelhante de espécies foi encontrado entre o solo do Cerrado e o solo cultivado com soja. Em relação aos fatores físico-químicos, os solos cultivados apresentaram valores significativamente iguais em sua maioria, mas apresentaram valores diferentes para o solo do Cerrado. As monoculturas de soja e algodão no Cerrado causaram modificações qualitativas nas comunidades de fungos do solo. O elevado número de espécies de fungos encontrado nas áreas cultivadas, comparável à área de vegetação nativa, indica que o manejo adotado nos sistemas agrícolas da região contribui de forma positiva para a manutenção da biodiversidade de fungos do solo nas áreas agrícolas do Cerrado.

**Palavras-chave:** Ascomycetes, diversidade, *Glycine max*, *Gossypium hirsutum*.

## Abstract

CARVALHO, Vívian Gonçalves. Plantation of cotton and soybean influence the diversity of soil-fungi in the Brazilian Cerrado. In: \_\_\_\_\_. **Fungal community in soils of Cerrado under native vegetation and under soybean and cotton cropping**. 2008. Cap. 2, p.23-62. Dissertação (Master in Agricultural Microbiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

The Brazilian savannah “Cerrado” is one of richest biomes in plant and animal species in Brazil. However, large part of its natural vegetation is in a process of replacement by monoculture by intensive agricultural activities, threatening its biodiversity. The objective in the present study was to assess the influence of cotton and soybean monoculture on the community of soilfungi in the Cerrado. Eight compound soil samples were collected in each cultivated area and under native vegetation of Cerrado in the locality of Montividiu, Goiás, and processed by the soil washing technique, followed by particle filtration. Baiting with vegetal tissue was carried out for the isolation of zoosporic fungi and for the genus *Cylindrocladium*. From the 24 soil samples collected, 109 fungal species belonging to 42 genera were detected. The most abundant fungi were *Trichoderma* spp. and *Fusarium solani*, which represent, respectively, antagonistic species to other fungi and a plant pathogen. The correspondence multivariate analysis evidenced that the soils from the three studied areas showed specific predominant species. *Penicillium* and *Absidia* species were recovered as the most abundant from soil under Cerrado. The cultivated soils showed higher similarity of species and higher number of plant pathogenic fungi, such as *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* and antagonists, such as *Trichoderma*. The species richest area was the soil under cotton cropping. In the Cerrado soil and the soil under soybean cultivation a similar number of species was found. As to the physical-chemical factors, the cultivated soils presented significantly equal values for the majority of the variables analyzed, which were different from the Cerrado soil. The soybean and cotton monoculture in the Cerrado led to qualitative modifications in the soil fungal communities. The high number of fungal species found in cultivated areas, comparable to the area of natural vegetation, indicates that the management adopted in the agricultural systems in the region contributes positively for the maintenance of the fungal biodiversity of the soil in the agricultural areas of the Cerrado.

**Keywords:** Ascomycetes, diversity, *Glycine max*, *Gossypium hirsutum*

## INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos 'hotspots' para a conservação da biodiversidade mundial e possui a mais rica flora dentre as savanas do mundo, com alto nível de endemismo. A riqueza de sua fauna é igualmente grande, embora o número de mamíferos seja relativamente pequeno. Nos últimos 35 anos, mais da metade dos seus 2 milhões de km<sup>2</sup> originais foi cultivada com pastagens plantadas e culturas anuais e está sendo desmatada a uma velocidade maior que a Floresta Amazônica (Klink & Machado, 2005).

As monoculturas de soja e algodão estão entre as principais atividades econômicas da região responsáveis pela substituição de grandes áreas de vegetação nativa, contribuindo para o desmatamento do Cerrado. A degradação do solo e dos ecossistemas nativos e a dispersão de espécies exóticas são as maiores e mais amplas ameaças à biodiversidade. Em decorrência de um manejo deficiente do solo, a erosão pode ser alta, com grande perda da camada superficial do solo, afetando os microrganismos, inclusive os fungos, responsáveis por vários processos essenciais à ciclagem de nutrientes e manutenção do ecossistema.

As amplas transformações ocorridas nas paisagens do Cerrado e o status de ameaça de muitas de suas espécies têm provocado o surgimento de iniciativas de conservação deste bioma. A criação de áreas protegidas, a ampliação e a consolidação da rede existente de unidades de conservação são medidas que estão sendo tomadas e podem contribuir para a preservação desse ambiente. Práticas de uso sustentável dos recursos naturais, como o sistema de plantio direto nas áreas agrícolas, também podem contribuir para a manutenção da biodiversidade presente no solo, em áreas em que já foi feita a substituição da vegetação nativa pelas plantações.

Um dos principais desafios na conservação do Cerrado será demonstrar a importância que a biodiversidade desempenha no funcionamento dos ecossistemas. Sendo o solo responsável pelo fornecimento de nutrientes para a vegetação e, a partir desta, para todos os outros organismos, o conhecimento dos fungos do solo do Cerrado é crucial, assim como o entendimento das modificações causadas pelas práticas agrícolas nas comunidades desses microrganismos (Klink & Machado, 2005).

Os fungos do solo representam o principal grupo funcional responsável pela decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes. Eles promovem interação com outros microrganismos e componentes da microfauna, além de participarem do desenvolvimento e da saúde das plantas (Anderson & Cairney, 2004). Por outro lado, alguns fungos causam doenças em plantas, sendo responsáveis por perdas de produção em agro-ecossistemas. Há, ainda, os fungos que produzem fatores bióticos, importantes no controle do crescimento dos fungos patogênicos presentes no solo, atuando no equilíbrio natural deste ecossistema. A manutenção da diversidade de fungos do solo deve, portanto, beneficiar diretamente uma produção agrícola sustentável, provendo nutrientes, melhor estrutura física do solo e controle natural de patógenos de plantas (Pfenning & Abreu, 2006).

A exploração dos solos para a agricultura afeta os microrganismos, inclusive os fungos desse ecossistema e seus processos vitais por meio de mudanças na vegetação. A substituição de espécies de plantas pode modificar a quantidade e a qualidade da matéria orgânica em decomposição, por apresentar diferentes resíduos vegetais. É bem documentado que os restos vegetais selecionam diferentes comunidades de fungos, devido às diferenças nos componentes químicos, uma vez que a permanência de uma população no ecossistema fica condicionada à sua habilidade de adaptação e de resposta a essas mudanças ambientais (Christensen, 1969; Persiani, 1998). Porém, há

poucas evidências diretas de que o uso do solo afeta a comunidade de fungos. Parece que alterações na composição de plantas podem afetar a comunidade microbiana (Innes et al., 2004), entretanto, há poucas informações em relação a fungos especificamente (Christensen, 1969).

Algumas questões considerando a composição da comunidade de fungos incluem se há uma comunidade específica para um tipo de solo ou cultivo em particular; quais fatores ambientais e edáficos influenciam esta composição e qual é a sensibilidade da composição da comunidade a perturbações ambientais e distúrbios decorrentes de atividade humana (Johnson et al., 2003).

Ainda são incipientes os estudos e o entendimento da comunidade fúngica em solos de regiões tropicais e em sistemas de uso intensivo da terra. Já foram descritas várias metodologias para a detecção e o isolamento de distintos grupos ecológicos de fungos do solo (Bills et al., 2004). Dentre os métodos clássicos de isolamento de fungos do solo, destaca-se a lavagem do solo, a qual privilegia o isolamento de fungos que estão crescendo ativamente nas partículas de solo, em detrimento daqueles que estão presentes sob a forma de grandes quantidades de esporos dormentes (Bååth, 1988; Widden & Parkinson, 1973).

O isolamento de fungos do solo com funções conhecidas permite avaliar as modificações que estão ocorrendo nas comunidades de fungos deste ecossistema (Hyde & Hawksworth, 1997). Em ecossistemas agrícolas, uma boa opção para o estudo das comunidades de fungos pode ser a realização de avaliações da diversidade baseadas em *predictor sets* (grupos de predição), os quais incluem fitopatógenos e seus antagonistas (Hyde & Hawksworth, 1997; Hyde, 1997). Por meio desses grupos, pode-se estimar a relação dos fungos com o solo e também com outros fungos que estão no mesmo ambiente.

Dessa forma, os objetivos da realização deste trabalho foram: **a.** elaborar um inventário taxonômico dos fungos em amostras coletadas de solos sob vegetação nativa de Cerrado e sob monocultura de soja e algodão, com ênfase

naqueles potenciais patógenos de plantas e seus antagonistas naturais; **b.** analisar a diversidade e a frequência de fungos em cada tipo de solo e **c.** avaliar a influência das monoculturas de algodão e soja sobre a comunidade fúngica do solo sob vegetação nativa de Cerrado.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local de estudo

As amostras de solo foram coletadas em três fazendas no município de Montividiu, estado de Goiás, localizado a 275 km da capital, Goiânia, entre as coordenadas 17°01' e 17°31' Sul e 51°13' e 51°57' Oeste. A precipitação média anual da região é de 1.600 mm, com temperatura média anual mínima de 20°C e máxima de 35°C. As amostras de solo sob cultivo de algodão foram coletadas na fazenda Barreiro (coordenadas 17°01'52 a 17°02'26 Sul e 50°57'04 a 50°57'14 Oeste), que apresenta solo cultivado há 13 anos com essa cultura e utiliza o sistema de plantio direto sob palhada de milho. As amostras de solo cultivado com soja foram coletadas na fazenda 2J-1 (coordenadas 17°29'01 a 17°29'33 Sul e 51°14'13 a 51°14'23 Oeste), caracterizada pelo plantio de soja há 11 anos com safra de verão, utilizando, nos últimos 5 anos, safrinha de milho, tendo, nos últimos quatro anos, utilizado sistema de plantio direto. O solo sob Cerrado nativo foi coletado numa área de preservação da fazenda Pindaíbas (coordenadas 17°31'07 a 17°31'20 Sul e 51°13'02 a 51°13'11 Oeste). A formação vegetal desta área de Cerrado é do tipo “campo cerrado”, uma formação savânica ecotonal, com espécies arbóreas atingindo 4 m de altura e espécies herbáceas de até 2 m. As duas áreas cultivadas são submetidas a aplicações de agrotóxicos, desde fungicidas em tratamentos de sementes até pulverizações na parte aérea. Geralmente, a área cultivada com soja recebe de uma a duas aplicações de fungicidas por safra e o algodão, cerca de 3 aplicações por safra.

A coleta das amostras de solo foi realizada durante o mês de março de 2007. Foram coletadas oito amostras compostas em cada área, até uma profundidade de 20 cm, com o auxílio de um trado. Cada amostra foi constituída por 12 subamostras, coletadas num raio de 6 m em torno de um ponto de referência. As subamostras foram acondicionadas em sacos plásticos,

homogeneizadas e levadas para o Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos da Universidade Federal de Lavras, onde foram processadas.

### **Preparo das amostras e isolamento dos fungos**

No laboratório, as amostras de solo foram secas ao ar para a eliminação do excesso de umidade, peneiradas em malhas de 2 mm e, posteriormente, processadas de acordo com um protocolo de lavagem e filtração de partículas, combinado com o uso de meios de cultura específicos contendo antibióticos (Pfenning & Abreu, 2006). Alíquotas de 10 g de cada amostra de solo foram suspensas em 200 mL de água destilada. A suspensão foi submetida a agitação por 10 minutos, a 180 rpm. Após a decantação das partículas de solo, o sobrenadante foi drenado e a operação de pré-lavagem repetida por duas vezes. As partículas pré-lavadas foram transferidas para um conjunto de peneiras com diâmetros de abertura de malha de 1,0 mm, 0,7 mm, 0,5 mm e 0,21 mm e filtradas com auxílio de um jato de água destilada. Colóides estáveis de solo e partículas de areia foram retirados da peneira de menor abertura e secados em papel de filtro estéril em câmara de fluxo laminar.

Após a secagem, as partículas foram transferidas, em número de 7 partículas por placa, para 12 placas de Petri (para cada amostra uma das 8 amostras de solo) contendo o meio CMA (*corn meal agar*, filtrado de fubá de milho cozido e ágar) mais 50 mg/L de cloranfenicol (Sigma-Aldrich) e 50mg/L de sulfato de estreptomicina (Vetec – Química Fina), para inibição do crescimento de bactérias. Em metade das placas foram adicionadas também 10 mg/L de ciclosporina (Sigmosporin Microoral, Novaquímica - Sigma Pharma) como fungistático. As placas foram incubadas a 20°–25°C e analisadas diariamente para a verificação da ocorrência de crescimento micelial.

### **Isolamento de fungos zoospóricos**

Para a observação de fungos zoospóricos, foi utilizada metodologia descrita por Bills et al. (2004). Aproximadamente 5g de solo seco de cada amostra foram suspensas em 30 mL de água destilada esterilizada e colocadas em placas de Petri estéreis juntamente com sementes de sorgo, pedaços de maçã e cebola, como iscas. As iscas começaram a ser observadas ao microscópio óptico após o quinto dia de crescimento. Colônias de fungos zoospóricos foram transferidas para placas de Petri contendo água destilada esterilizada e novas iscas. No caso das colônias de Peronosporomycetes, fragmentos das hifas foram transferidos para meio de cultura CMA (*corn meal agar*, filtrado de fubá de milho cozido e ágar) para a purificação e a posterior identificação.

### **Isolamento de *Cylindrocladium***

Folhas de mamona (*Ricinus communis*) foram utilizadas como iscas para observação de fungos do gênero *Cylindrocladium* (Gonçalves et al., 2001). Cerca de 20g de solo foram colocados sobre folhas desinfestadas em álcool 70% (1 minuto), hipoclorito 3% (4 minutos) e álcool 95% (30 segundos) e umedecidas com água destilada estéril, e incubados em placas de Petri estéreis à temperatura ambiente. O crescimento de colônias e a produção de estruturas de reprodução típicas do gênero *Cylindrocladium* foram observados diariamente sob microscópio estereoscópio.

### **Identificação e preservação dos isolados**

A contagem das unidades formadoras de colônia (UFCs) e sua identificação inicial foram realizadas em microscópio estereoscópio. Foram feitas preparações microscópicas para visualização da morfologia dos fungos isolados em microscópio. A frequência de colonização das placas de Petri por espécie de fungo foi registrada para utilização nas análises quantitativas. Para a

identificação das espécies, foram consultados manuais de identificação, como, por exemplo, Ellis (1971, 1976), Domsch et al. (1980), Pitty (2000).

Material de referência de cada espécie identificada foi depositado na Coleção Micológica de Lavras (CML), armazenado em água destilada esterilizada e em microtubos.

### **Análise físico-química das amostras de solo**

Medidas de matéria orgânica, pH, conteúdo de P, K, Na,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ , H+Al e P remanescente das amostras de solo foram obtidas a partir de análises realizadas no Laboratório de Análise de Solos, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, de acordo com metodologia descrita por Vettori, (1969) e Quaggio et al. (1987).

### **Análises estatísticas**

Os dados referentes ao número de fungos isolados em cada tipo de solo foram submetidos aos testes de Kruskal-Walis (não paramétrico) e ANOVA (paramétrico).

Foram construídos gráficos de Box-plots para representar a distribuição do número total de UFCs entre as oito amostras de solo de cada área amostrada.

O número de UFCs obtido a partir dos meios de cultura com e sem a ciclosporina, para cada tipo de solo, foi comparado por meio dos testes de Kruskal-Walis e ANOVA. A comparação da riqueza de espécies de fungos em amostras com diferentes números de isolados foi realizada por meio da construção de curvas de rarefação. Os índices de Morisita-Horn e Bray-Curtis foram usados para avaliar o grau de similaridade entre os três tipos de solo. Estes índices levam em consideração a ocorrência e a relativa abundância das espécies em cada amostra.

A estrutura das comunidades de fungos e sua relação com os diferentes tipos de solo foram avaliadas com o auxílio da análise estatística multivariada de correspondência. Para tal análise, foram usadas as espécies com ocorrência igual ou superior a 0,5% do número total de UFCs. Os valores obtidos por meio da análise dos componentes químicos do solo, para cada tipo de solo, foram submetidos à análise de variância utilizando-se o ANOVA. As análises foram realizadas com o auxílio dos programas MVSP (Kovach Computing, 2006), Biodiversity Pro 2 (Mc Aleece, 1997), Minitab 14 (Minitab, 2003) e Estimates 7,5 (Colwell, 2005).

## RESULTADOS

Foram analisadas 672 partículas de solo de cada área amostrada. Um total de 2.387 unidades formadoras de colônia (UFCs) foi recuperado a partir das 2.016 partículas de solo (Tabela 1). Deste total de UFCs, 209 não formaram estruturas reprodutivas e foram apenas contadas e denominadas de micélios estéreis. Os 2.178 fungos remanescentes produziram estruturas reprodutivas e foram identificados. Não foram encontradas diferenças significativas entre o número de UFCs em placas com e sem a ciclosporina, dentro de cada tipo de solo, segundo análises realizadas no ANOVA e Kruskal Wallis

O maior número de UFCs foi registrado em solo do Cerrado, entretanto, a quantidade de gêneros e de espécies de fungos foi menor nessa área. Já o solo sob cultivo de algodão apresentou o maior número de gêneros e espécies de fungos recuperados e, assim, foi o que obteve maior riqueza de espécies. O solo sob cultivo de soja apresentou o menor número de UFCs (Figura 1).

Foram identificadas 109 espécies de fungos pertencentes a 42 gêneros, tendo 41 espécies (37,6% do total) sido isoladas apenas uma vez (Tabela 2). A maioria dos fungos identificados foi composta por ascomicetos em sua fase anamórfica (assexuada), sendo 62 espécies de hifomicetos hialinos (57%), 18 espécies de hifomicetos dematiáceos (16,5%) e 7 espécies de celomicetos (6,4%). A fase teleomórfica foi produzida por 18 espécies (16,5%). Foram identificadas 4 espécies pertencentes ao Filo Zygomycota (3,6%). Os 4 gêneros com maior número de espécies identificadas foram *Penicillium*, com 28 morfo-espécies; *Aspergillus*, com 9 espécies, e *Acremonium* e *Chaetomium*, com 5 espécies cada.

Dentre as espécies que apresentaram maior frequência de isolamento, *Aspergillus niger* e *Paraconiothirium* sp. foram encontradas apenas nas amostras de solo cultivadas com algodão. Já as espécies *Gongronella butleri*,

*Clonostachys rogersoniana* e *Penicillium jankewskii* foram isoladas somente nas amostras de solo sob vegetação nativa de Cerrado.

Nenhum representante do gênero *Cylindrocladium* foi isolado a partir da metodologia de iscas de folhas de mamona.

Dentre os fungos zoospóricos, foram isoladas espécies pertencentes às classes Peronosporomycetes e Chytridiomycetes. Dentre os Peronosporomycetes, o gênero *Pythium* foi representado por três espécies e os gêneros *Dictyuchus* e *Achlya* por uma espécie. Foram encontrados três gêneros de Chytridiomycetes: *Alomyces*, *Chytriomycetes* e *Karlingia* (Tabela 3).

A análise das curvas de rarefação mostrou que todas elas apresentaram uma tendência a atingirem uma assíntota (Figura 2), evidenciando que a amostragem foi satisfatória e que a diversidade de fungos encontrada é próxima da diversidade real de fungos das áreas de estudo.

A análise multivariada de correspondência foi realizada com as 24 espécies de fungos mais abundantes nas amostras de solo analisadas, com frequências de isolamento até 0,5% do número total de UFCs, em ordem decrescente (Figura 3). Os dois primeiros eixos, representados no gráfico, são capazes de explicar 59,3% da inércia (variabilidade) total dos dados. O primeiro eixo do gráfico separou o grupo de amostras originadas do solo sob vegetação nativa de Cerrado daquelas obtidas de solos cultivados; o segundo eixo permitiu separação entre as duas áreas cultivadas.

As espécies de fungos que mais contribuíram para a separação das amostras da área sob vegetação nativa do Cerrado das áreas cultivadas foram *Penicillium* sp., relacionada às amostras de solo sob vegetação nativa; *Fusarium solani*, relacionada às amostras de solo cultivado com algodão e *Clonostachys rosea* f. *catenulata*, relacionada aos solos cultivados que apresentaram, respectivamente, 84%, 68% e 61% de suas variabilidades explicadas pelo primeiro eixo. Em menor escala, as espécies *Penicillium minioluteum*,

*Clonostachys rogersoniana* e *Paraconiothyrium* sp., mais associados ao solo cultivado com algodão, contribuíram para a separação das amostras de solo das áreas sob vegetação nativa e cultivadas, com, respectivamente, 53%, 45% e 41% das suas variabilidades explicadas pelo primeiro eixo.

Dentre as cinco espécies de fungos mais abundantes neste estudo, *Paecilomyces lilacinus* mostrou associação fraca ao primeiro eixo (somente 8% da variabilidade desta espécie foi explicada pelo primeiro eixo). Houve também uma tendência de *P. lilacinus* se associar mais às amostras do Cerrado.

O segundo eixo do gráfico da análise de correspondência foi responsável pela separação das amostras de solo sob cultivo de soja daquelas originadas do solo cultivado com algodão. As espécies *Penicillium corylophilum* e *Gongronella butleri*, associadas às amostras de Cerrado e *Penicillium funiculosum*, associada às amostras de solo cultivado com algodão, foram as que mais contribuíram para esta separação e apresentaram, respectivamente, 73%, 44% e 23% de variabilidades explicadas pelo segundo eixo. A espécie *Fusarium solani* apresentou maior tendência de agrupamento com as amostras da área cultivada com algodão; já *Fusarium oxysporum* apresentou uma distribuição mais homogênea entre as amostras de solos cultivados. *Trichoderma* spp. esteve mais associada às áreas cultivadas.

Os índices de similaridade de Morisita-Horn e Bray Curtis mostraram maior similaridade da composição de espécies entre os dois solos cultivados (Tabela 4).

Os valores referentes ao pH e ao conteúdo de nutrientes foram significativamente diferentes entre as amostras de solo cultivadas e as amostras de vegetação nativa de Cerrado (Tabela 5). Exceções foram observadas para os teores de P remanescente, nos quais todos os valores foram estatisticamente diferentes para os solos das três áreas e para o conteúdo de matéria orgânica, no qual o solo cultivado com algodão apresentou os menores valores.

## DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que as monoculturas de soja e algodão influenciaram qualitativamente a comunidade de fungos do solo. Número semelhante de espécies de fungos foi encontrado no solo cultivado com soja e no solo do Cerrado. Curiosamente, a área cultivada com algodão apresentou, aproximadamente, 20% a mais de espécies de fungos em relação à área nativa, porém, não houve diferenças estatísticas no número de espécies e gêneros entre as amostras de solo das três áreas analisadas.

A análise multivariada de correspondência mostrou uma clara separação das três áreas estudadas em função da distribuição das espécies de fungos mais abundantes, tendo as áreas cultivadas apresentado mais espécies em comum. Os solos cultivados com soja e algodão foram os mais similares, segundo os índices de similaridade, por apresentarem maior sobreposição de espécies.

Sabe-se que as diferenças na vegetação podem afetar a comunidade de fungos do solo de várias maneiras: diretamente por meio da qualidade da liteira como fonte de nutrição para os fungos, assim como as substâncias presentes nos exsudatos da raiz e indiretamente por meio de mudanças nas propriedades físicas e químicas. Como a liteira de plantas, raízes e os fungos interagem, é difícil separar esses efeitos. Todavia, há evidências sobre associações entre grupos de fungos e tipos de vegetação (Christensen, 1969; Lodge, 1997). Exsudatos das raízes, na forma de aminoácidos, açúcares e metabólitos secundários, diferem em quantidade e tipo entre diferentes espécies de plantas e as espécies fúngicas têm diferentes requerimentos nutricionais e tolerâncias a fatores físico-químicos, como pH e presença de substâncias inibidoras de crescimento.

Alguns trabalhos argumentam que o decréscimo no número de espécies de plantas pode reduzir a biomassa, a atividade e a diversidade das comunidades microbianas, devido à redução na quantidade e na diversidade da liteira e

exsudatos da raiz (Knops et al., 2002; Okoth et al., 2007). Porém, a cobertura vegetal parece ter maior efeito nas comunidades de fungos do solo de regiões de clima temperado, com formações de vegetação mais homogêneas e com menor riqueza de espécies, onde é possível prever a comunidade de microfungos mais frequentes (Bills et al., 2004). O que já foi alcançado com relação às comunidades de fungos do solo nas regiões temperadas ainda precisa ser feito nos trópicos, para ser possível afirmar se as vegetações tropicais determinam as comunidades de fungos.

Os estudos realizados nos trópicos indicam que essa correlação entre espécies vegetais e comunidade de fungos não pode ser postulada para as regiões tropicais (Rambelli et al., 1983, 1984; Maggi et al., 1990; Maggi & Persiani, 1992). Apenas no Brasil, três dos principais biomas, o Cerrado, a Mata Atlântica e a Floresta Central Amazônica são bastante distintos quanto à composição de espécies vegetais e às condições edafoclimáticas (Pffening & Abreu, 2006).

Parece que para os ecossistemas brasileiros, a quantidade de matéria orgânica e os nutrientes presentes no solo podem ser parâmetros mais confiáveis para estudar a influência da vegetação sobre os microrganismos do solo. Espécies fúngicas têm diferentes necessidades e tolerâncias a diferentes conteúdos de matéria orgânica, umidade, nutrientes e pH (Bååth & Arnedrandt, 1993). Os sistemas de uso do solo que foram adotados nas áreas agrícolas de nosso estudo (plantio direto e plantio semi-direto, respectivamente) favorecem a deposição de matéria orgânica, por utilizar resíduos de cultivo como adubos para o solo. Esses sistemas parecem ter sido responsáveis pela seleção das espécies de fungos encontradas nos solos cultivados, por modificarem as condições edáficas.

Vários trabalhos têm demonstrado que os sistemas de uso do solo que proporcionam o acúmulo de matéria orgânica na superfície do solo favorecem os

microrganismos deste ecossistema, incluindo aí os fungos. Em um estudo sobre o efeito do manejo de comunidades de plantas sobre a diversidade de fungos em um solo agrícola abandonado, as áreas submetidas ao manejo do solo, com diferentes espécies de plantas, apresentaram maior riqueza de espécies de fungos quando comparadas às áreas agrícolas sem manejo e também aos solos de floresta nativa (Klamer & Hedlund, 2004).

Um trabalho foi realizado para avaliar a influência dos sistemas de plantio direto, plantio semidireto e agricultura convencional, com e sem o uso de gramíneas, na comunidade de fungos de um solo sob cultivo de milho na Argentina. Foi verificado que a maior proporção de fungos filamentosos foi encontrada nos solos que fizeram o plantio direto e o semidireto. Algumas das espécies encontradas neste estudo foram também encontradas neste estudo, como *Penicillium purpurogenum*, *P. funiculosum*, *P. minioluteum*, *P. variabile* e *Fusarium oxysporum* (Nesci et al., 2006). Outro estudo, na Argentina, no qual uma área de vegetação nativa foi substituída pelos sistemas plantio direto, agricultura convencional e cultivo de gramíneas, mostrou que, após três anos da modificação da vegetação, a área que apresentou maior abundância de espécies foi a que fez o uso do sistema de plantio direto. A presença de resíduos de cultivo na superfície do solo, nesse sistema de plantio, causou um aumento na quantidade de matéria orgânica, o que influenciou a abundância de espécies. Algumas das espécies de fungos mais frequentes neste estudo também foram encontradas em nosso estudo, como: *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Clonostachys roseum* (Gomez et al., 2007).

Mesmo se tratando de áreas cultivadas há 13 e 11 anos com monoculturas, as plantações de algodão e soja, respectivamente, apresentaram boa manutenção das qualidades do solo. A semelhança química dos solos cultivados, em relação os nutrientes K, Ca<sup>2+</sup>, Mg, Al<sup>3+</sup>, H+Al e também em

relação ao pH, pode ter contribuído para que ambas apresentassem maior quantidade de espécies em comum que em relação ao solo do Cerrado. Também em outros estudos, a composição da liteira e as propriedades físico-químicas do solo foram os principais fatores que causaram modificações na composição das comunidades fúngicas em diferentes tipos de solo (McLean & Huhta, 2002; Grishkan et al., 2006). As rotações de cultura usualmente pouco influenciam no espectro fúngico. Apenas após cultivos contínuos com a mesma planta é que várias espécies consideravelmente aumentam em número (Gams, 1992). Neste estudo, as áreas analisadas são cultivadas com as mesmas culturas (soja e algodão) há mais de uma década, o que pode ter ocasionado o aumento no número de espécies.

A amostragem e a metodologia empregadas parecem ter sido capazes de detectar boa parte da diversidade total de espécies de fungos nas áreas amostradas, segundo a análise das curvas de rarefação, já que as curvas tendem à assíntota. Isso significa que o número obtido de unidades formadoras de colônias representa bem o total de espécies e que novos isolamentos, provavelmente, não resultariam em grandes acréscimos ao número de espécies (Figura 2).

O padrão de distribuição de espécies encontradas no presente estudo mostrou que poucas espécies apareceram com alta frequência (dominantes) e grande número de espécies raras apresentaram apenas poucos isolados (singletons). Este padrão foi previamente verificado para fungos de solos e liteira em países tropicais (Bertucci & Roquebert, 1995).

O isolamento de grande número de micélios estéreis a partir das amostras analisadas pode ter sido favorecido pela eliminação do excesso de esporos por meio da metodologia utilizada. Assim, os fungos de crescimento mais lento e menor capacidade de esporulação também tiveram chances de se desenvolver e serem detectados. Outra característica do método, que pode ter

favorecido o crescimento desses fungos, é o tamanho das partículas inoculadas em meio de cultura, pois já foi demonstrado que, quanto menor o tamanho da partícula inoculada, maior é a probabilidade de ocorrência de um fungo por partícula, o que também aumenta a chance de isolamento daqueles fungos menos competitivos (Bååth, 1988).

Devido à produção de diferentes estruturas como conídios, clamidósporos e esclerócios, o isolamento de fungos, como *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Cladosporium*, é comum. Os principais gêneros de fungos isolados neste trabalho foram similares ao padrão geral de isolamento encontrado em ecossistemas de solo não rizosférico (Azaz, 2003; Cavalcanti et al., 2006; Nesci et al., 2006).

O isolamento de algumas espécies, dentre as mais frequentes, apenas nas amostras de solo sob vegetação nativa de Cerrado, provavelmente significa que estas espécies sejam indicadoras de qualidade ambiental.

A identificação de *Trichoderma* spp. não foi realizada até a espécie, pois, além de este gênero ter sido o mais abundante em todos os tipos de solos analisados e suas espécies serem morfologicamente muito semelhantes entre si, em geral, as diferentes espécies possuem funções ecológicas similares (Metcalf & Wilson, 2001), o que já não ocorre, por exemplo, no gênero *Fusarium*, em que há espécies comprovadamente patogênicas e sapróbios convivendo no mesmo hábitat (Domsch et al., 1980).

Um estudo realizado no Egito, em solos cultivados com tomate, também apresentou os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* como os mais ricos em espécies, com 12 espécies cada, por meio da metodologia de diluição e lavagem seriada (Abdul Waid et al., 1997). Dentre as espécies destes gêneros, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium purpurogenum* e *Penicillium variabile* também foram encontradas neste trabalho. Em uma análise de fungos do solo em

campos irrigados na Turquia, utilizando os métodos de diluição e de lavagem de partículas, foi obtido um total de 1.690 isolados a partir de 105 amostras de solo (Azaz, 2003). Os isolados eram pertencentes a 109 espécies e os gêneros com maior número de espécies, obtidos por meio da metodologia de lavagem de solo, foram *Penicillium* (24 espécies), *Aspergillus* (20) e *Acremonium* (9). Em Israel, em uma análise da estrutura da comunidade de fungos do solo por meio da metodologia de diluição seriada foram obtidas, a partir de 96 amostras de solo, 192 espécies de fungos pertencentes a 60 gêneros (Grishkan et al., 2003). Os mais proeminentes foram: *Penicillium* (com 47 espécies), *Aspergillus* (27), *Acremonium* (11), *Phoma* (8), *Trichoderma* e *Fusarium* (6 cada). Em um trabalho com fungos do solo em Israel, a partir de 40 amostras de solo foram isoladas 86 espécies de fungos e os gêneros que apresentaram maior número de espécies foram *Chaetomium* (8 espécies) e *Penicillium* (7), *Aspergillus* (6) (Grishkan et al., 2006). Dentre as espécies desses gêneros, apenas *Chaetomium globosum*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger* foram também encontradas neste estudo. Nossos resultados em relação aos gêneros de fungos com maior número de espécies foram semelhantes aos resultados obtidos nos estudos mencionados acima, apesar de se tratarem de regiões desérticas.

No Uruguai, um estudo das comunidades fúngicas de dois solos de pastagem mostrou que a composição destes solos foi mais similar à do deserto que aquela encontrada em solos de florestas. Das 12 espécies que mais prevaleceram, 7 eram pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (Bertucci et al., 1993). As espécies *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Penicillium janthinellum* e *Penicillium funiculosum*, que foram isoladas nesse trabalho, também foram encontradas neste estudo. É possível que a natureza química das substâncias exsudadas pelas raízes de plantas, dessas diferentes regiões, possa ser similar e ter favorecido a ocorrência

dos mesmos gêneros em regiões distantes. Conseqüentemente, os fungos são notáveis indicadores de similaridades ambientais (Christensen, 1989).

Dentre os gêneros de fungos isolados em alta freqüência no presente estudo, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* e *Clonostachys* são envolvidos na decomposição da matéria orgânica, enquanto *Penicillium* e *Trichoderma* são antagonistas contra espécies de fitopatógenos (Gomez et al., 2007).

A maior freqüência do gênero *Trichoderma* nos solos cultivados pode estar relacionada aos maiores valores de pH encontrados nessas áreas. Esta relação foi observada em um estudo sobre a distribuição das espécies de *Trichoderma* em sistemas de uso do solo no Quênia, em que o aumento do pH do solo favoreceu a população de fungos deste gênero. Neste mesmo estudo, foi encontrada também relação positiva entre o nível de P e a ocorrência de *Trichoderma* (Okoth et al., 2007).

Baixo nível de P pode ser atribuído ao baixo nível de pH do solo, resultando na conversão de íons fosfato em formas insolúveis. Este fato pode ter relação com o menor número de espécies encontrado no solo do Cerrado que, em contrapartida, foi caracterizado pelo maior número de isolados e espécies do gênero *Penicillium* em comparação com os outros tipos de solos analisados. Espécies desse gênero apresentam capacidade de solubilização de fosfato, o que também pode explicar a tolerância desses fungos a baixos valores de pH. Além disso, apresentam tolerância à temperatura e à salinidade (Pandey et al., 2008). Várias espécies de *Penicillium* produzem substâncias que podem controlar o desenvolvimento de certos fungos, o que também pode ter relação com o menor isolamento de espécies diferentes no solo de vegetação nativa de Cerrado.

Valores mais altos de pH nas áreas cultivadas, em relação ao solo nativo, podem estar relacionados às práticas de calagem e gessagem, que são usadas para corrigir o pH de solos agrícolas. Alguns fatores físico-químicos, como o

pH, atuam na supressividade de alguns solos a certos patógenos radiculares (Rodrigues et al., 1999).

A espécie *Fusarium solani*, segunda mais abundante nas amostras de solo, não apresentou distribuição uniforme entre os tipos de solo. A maior ocorrência deste potencial patógeno de plantas foi verificada nos solos cultivados. O sistema de uso de solo pode influenciar a permanência deste fungo nas áreas cultivadas. Sistemas como plantio direto e semidireto acumulam resíduos de cultivo na superfície do solo, o que pode promover a sobrevivência de patógenos. O gênero *Cladosporium* também apresenta a capacidade de sobrevivência em resíduos agrícolas.

As espécies *Penicillium purpurogenum* e *Absidia cylindrospora* foram as mais frequentes no solo do Cerrado. Em solos agrícolas da Argentina, um estudo conduzido sobre a abundância fúngica mostrou que o gênero *Penicillium* foi representado pelo maior número de UFCs e *P. purpurogenum* apareceu como a espécie mais frequentemente encontrada (Gomez et al., 2007). A predominância de *Penicillium* pode estar diretamente relacionada ao antagonismo sobre outras espécies, por antibioses, produção de metabólitos secundários ou indiretamente, pela competição nutricional, maior produção de esporos e maior capacidade de crescimento em meio de cultura. No solo do Cerrado, em que o gênero *Penicillium* apresentou o maior número de isolados, outros gêneros de fungos analisados foram encontrados em menor proporção ou ausentes.

Espécies pertencentes ao gênero *Clonostachys* apresentaram-se associadas ao solo do Cerrado e ao solo da soja. *Clonostachys*, dentre os gêneros de antagonistas a fitopatógenos, apresenta baixa habilidade de competição com outros gêneros, quando está presente em menor número no solo (Gomez et al., 2007).

Em relação aos fungos zoospóricos, no Brasil, há relatos de *Dictyuchus* sp. e *Karlingia rósea*, na região da Mata Atlântica (Schoenlein-Crusius & Milanez, 1998). *Pythium vexans* já foi encontrado em regiões de cerrado no estado de São Paulo e *Pythium graminicola* em região do cerrado de Goiás (Baptista et al., 2004). Não há relatos de *Pythium vanterpoolii* e *Chytriumyces appendiculatus* para a região do Cerrado brasileiro. Espécies do gênero *Cylindrocladium* são potencialmente patogênicas e não foram encontradas nas amostras de solo analisadas. A ocorrência de várias espécies antagonistas a fitopatógenos nas amostras analisadas ou a ausência de espécies arbóreas hospedeiras deste gênero de fungo, nas áreas amostradas, pode ter impedido o isolamento de *Cylindrocladium*.

Um estudo realizado na Polônia com microrganismos presentes no solo cultivado com soja comparou a ocorrência destes na rizosfera e no solo não rizosférico. Verificou-se que o número de fungos no solo não rizosférico foi duas vezes maior que o número de fungos no solo da rizosfera da soja. A mesma proporção foi encontrada para a ocorrência de fungos fitopatogênicos. Algumas espécies de *Fusarium*, juntamente com *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*, foram os fungos fitopatogênicos encontrados em maior frequência. Dentre os fungos sapróbios que também são antagonistas, foram isoladas espécies de *Clonostachys*, *Trichoderma* e *Penicillium*. A proporção dos antagonistas foi duas vezes maior no solo rizosférico em relação ao solo não rizosférico (Pieta & Patkowska, 2003). Os gêneros de fungos antagonistas mais frequentes em nosso trabalho também foram os mesmos encontrados no trabalho citado acima.

As monoculturas de soja e algodão influenciaram qualitativamente as comunidades de fungos do solo do Cerrado. Essas modificações parecem ter ocorrido pelo uso do sistema de plantio direto nas áreas cultivadas com soja e algodão, o que modificou a composição da liteira e as características físico-

químicas do solo, causando uma seleção das espécies de fungos, que apresentaram grande diversidade. O elevado número de espécies de fungos encontrado nas áreas cultivadas, comparável à área de vegetação nativa, indica que os sistemas de uso do solo adotados na região contribuem para a biodiversidade de fungos do solo nas áreas agrícolas do Cerrado. As técnicas moleculares a partir da extração do DNA das amostras de solo poderão fornecer dados complementares sobre a composição e a estrutura da comunidade fúngica nos solos analisados. Essas observações auxiliam nas políticas de conservação do solo do Cerrado e servem como base para outros estudos na relação de plantas e fungos do solo.

### **Agradecimentos**

O primeiro autor agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de estudos. Os autores agradecem ao colega Luis Henrique Carregal, do Centro Universitário de Rio Verde, GO, pelo apoio na campanha de coleta do material.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL WAHID, O. A.; MOUSTAFA, A. F.; IBRAHIM, M. E. Soil mycoflora in tomato fields. **Mycoscience**, v. 38, p. 237-241, 1997.
- ANDERSON, I. C.; CAIRNEY, J. W. G. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 769-779, 2004.
- AZAZ, A. D. Isolation and identification of soilborne fungi in fields irrigated by GAP in Harran plain using two isolation methods. **Turkish Journal of Botany**, v. 27, p. 83-92, 2003.
- BÅÅTH, E. A critical examination of the soil washing technique with special reference to the effect of the size of the soil particles. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, p. 1566-1569, 1988.
- BÅÅTH, E.; ARNEBRENT, K. Microfungi in coniferous Forest soils treated with lime or wood ash. **Biology and Fertility of Soils**, v. 15, p. 91-95, 1993.
- BAPTISTA, F. R.; CARMEN, L. A.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; ROCHA, M.; MILANEZ, A. I. *Pythium* species from Brazilian cerrado areas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 2, p. 281-290, 2004.
- BETTUCCI, L.; RODRIGUEZ, C.; INDARTE, R. Fungal communities of two grazing-land soils in Uruguay. **Pedobiologia**, v. 37, p. 72-82, 1993.
- BETTUCCI, L.; ROQUEBERT, M. F. Microfungi from a tropical rain forest litter and soil, a preliminary study. **Nova Hedwigia**, v. 61, p. 111-118, 1995.
- BILLS, G. F.; CHRISTENSEN, M.; POWELL, M.; THORN, G. Saprobic soil fungi. In: MUELLER, G. M.; BILLS, G. F.; FOSTER, M. S. (Ed.). **Biodiversity of fungi** - inventory and monitoring methods. Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 271-302.
- CAVALCANTI, M. A. Q.; OLIVEIRA, L. C.; FERNANDES, M. J.; LIMA, D. M. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 831-837, 2006.
- CHRISTENSEN, M. Soil microfungi of dry to mesic conifer-hardwood forests in Northern Wisconsin. **Ecology**, v. 50, p. 9-27, 1969.

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

COLWELL, R. K. **EstimateS**: statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 7.5. 2005. Software. Disponível em: <[www.viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS](http://www.viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS)>. Acesso em: 20 dez. 2007.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. I = II. London: Academic, 1980.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Wallingford: CAB International, 1971. 608 p.

ELLIS, M. B. **More dematiaceous hyphomycetes**. Wallingford: CAB International, 1976. 507 p.

GAMS, W. The analysis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil fungi. In: WINTERHOFF, W. (Ed.). **Fungi in vegetation science**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1992. p. 183-223.

GOMEZ, E.; PIOLI, R.; CONTI, M. Fungal abundance and distribution as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. **Biology and Fertility of Soils**, v. 43, n.3, p. 373-377, 2007.

GONÇALVES, R. C.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; CROUS, P. W. Evaluation of bioassays to quantify *Cylindrocladium* inocula in soil. **Mycoscience**, v. 41, p. 261-264, 2001.

GRISHKAN, I.; NEVO, E.; WASSER, S. P.; BEHARAV, A. Adaptive spatiotemporal distribution of soil microfungi in 'Evolution Canyon' II, Lower Nahal Keziv, western Upper Galilee, Israel. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 78, p. 527-539, 2003.

GRISHKAN, I.; ZAADY, E.; NEVO, E. Soil crust microfungi along a southward rainfall gradient in desert ecosystems. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, p. 33-42, 2006.

HYDE, K. D. Can we rapidly measure fungal diversity? **Mycologist**, v. 11, p. 176-178, 1997.

HYDE, K. D.; HAWKSWORTH, D. L. Measuring and monitoring the biodiversity of microfungi. In: HYDE, K. D. (Ed.). **Biodiversity of tropical microfungi**. Hong Kong: Kong University, 1997. p. 11-28.

INNES, L.; HOBBS, P. J.; BARDGETT, R. D. The impacts of individual plant species on rhizosphere microbial communities in soils of different fertility. **Biology and Fertility of Soils**, v. 40, p. 7-13, 2004.

JOHNSON, M. J.; LEE, K. Y.; SCOW, K. M. DNA fingerprinting reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. **Geoderma**, v. 114, p. 279-303, 2003.

KLAMER, M.; HEDLUND, K. Fungal diversity in set-aside agricultural soil investigated using terminal-restriction fragment length polymorphism. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 983-988, 2004.

KNOPS, M. H. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling **Ecology Letters**, v. 5, p. 3, p. 454-466, 2002.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KOVACH COMPUTING SERVICES. **Multi-Variate Statistical Package**. v. 3.1. Kovach Computing Services, Anglesey, 1999. Software.

LODGE, D. J. Factors related to diversity of decomposer fungi in tropical forests. **Biodiversity and Conservation**, v. 6, p. 681-688, 1997.

MAGGI, O.; PERSIANI, A. M.; CASADO, M. A.; PINEDA, F. D. Edaphic mycoflora recovery in tropical forests after shifting cultivation. **Acta Oecologica**, v. 11, p. 337-350, 1990.

MAGGI, O.; PERSIANI, A. M. Etudes comparatives sur les micro-champignons en écosystèmes tropicaux. Rapport final sur les recherches mycologiques du sol. **Mycologia Helvetica**, v. 5, p. 79-98, 1992.

MC ALEECE, N. **Biodiversity Profesional Beta 1**. London, The Natural History Museum & The Scottish Association for Marine Science, 1997. Software.

MCLEAN, M. A.; HUTHA, V. Microfungal community structure in antropogenic birch strands in central Finland. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 1-12, 2002.

METCALF, D. A.; WILSON, C. R. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. **Plant Pathology**, v. 50, p. 249-257, 2001.

MINITAB INC. MINITAB® **Release 14**. State College, Pa., U.S.A., 2003. Software.

NESCI, A.; BARROS, G.; CASTILLO, C.; ETCHEVERRY, M. Soil fungal population in preharvest maize ecosystem in different tillage practices in Argentina. **Soil and Tillage Research**, v. 91, p. 143-149, 2006.

OKOTH, S. A.; ROIMEN, H.; MUTSOTSO, B.; MUYA, E.; KAHINDI, J.; OWINO, J. O.; OKOTH, P. Land use systems and distribution of *Trichoderma* species in Embu region, Kenia. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 7, p. 105-122, 2007.

PANDEY, A.; NAMRATA, D.; BHAVESH, K.; RINU, K.; PANKAJ, T. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 97-102, 2008.

PERSIANI, A. M.; MAGGI, O.; CASADO, M. A.; PINEDA, F. D. Diversity and variability in soil fungi from a disturbed tropical rain forest. **Mycologia**, v. 90, p. 206-214, 1998.

PFENNING, L. H.; ABREU, L. M. Diversity of microfungi in tropical soils. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CABI, 2006. p. 184-205.

PIETA, D.; PATKOWSKA, E. The role of antagonistic fungi and bacteria limiting the occurrence of some phytopathogens inhabiting the soybean soil environment. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, v. 6, n. 2, 2003. Disponível em: <[www.ejpau.media.pl/volume6/issue2/horticulture/art-04.pdf](http://www.ejpau.media.pl/volume6/issue2/horticulture/art-04.pdf)>. Acesso em 10 dez. 2007.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. (3 Ed.). North Ryde: Food Science Australia, NSW, 2000. 197 p.

QUAGGIO, J. A.; RAIJ, V. B.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M. E.; LOPES, M. E.; LOPES, A. S.; BATAGLIA, O. C. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Caminas: Fundação Cargil, 1987. 190 p.

RAMBELLI, A.; PERSIANI, A. M.; MAGGI, O.; LUNGHINI, D.; ONOFRI, S.; RIESS, S.; DOWGIALLO, G.; PUPPI, G. Comparative studies on microfungi in tropical ecosystems. **Mycological studies in South Western Ivory Coast forest**. Rome: UNESCO/ MAB, 1983. 102 p. (MAB. Report, 1).

RODRIGUES, F. de A.; CORREA, G. F.; KORNDORFER, G. H.; DOS SANTOS, M. A.; DATNOFF, L. E. Influence of calcium silicate and sterilization on the natural suppressiveness and on the conduciveness of two soils to *Rhizoctonia solani*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1367-1371, 1999.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; MILANEZ, A. I. Fungos zoospóricos (Mastigomycotina) da mata atlântica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, município de Santo André, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 2, p. 177-181, 1998.

VETTORI, L. **Métodos de análise do solo**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 24 p. (Boletim Técnico, 7).

WIDDEN, P.; PARKINSON, D. Fungi from Canadian coniferous forest soils. **Canadian Journal of Botany**, v. 51, p. 2275-2290, 1973.

**TABELA 1** Número total UFCs (unidades formadoras de colônias), gêneros e espécie de cada área estudada

<b>Total</b>	<b>Cerrado</b>	<b>Algodão</b>	<b>Soja</b>
UFCs	919	807	661
Espécies	53	69	54
Gêneros	22	34	26

**TABELA 2** Número total UFC (unidade formadora de colônia) das espécies identificadas de cada área estudada

Espécies	Número de UFCs				
	Cerrado	Algodão	Soja	Total	%
	919	807	661	2387	100,00%
<i>Trichoderma</i> spp.	184	242	252	678	31,00%
<i>Fusarium solani</i>	21	140	74	235	10,79%
<i>Absidia cylindrospora</i>	146	30	6	182	8,36%
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	76	29	37	142	6,52%
<i>Clonostachys rosea</i>	57	23	52	132	6,06%
<i>Penicillium</i> sp.	68	16	6	129	5,92%
<i>Penicillium</i>	79	5	2	86	3,95%
<i>Fusarium oxysporum</i>	7	36	28	71	3,26%
<i>Fusarium</i> sp.	12	25	19	56	2,57%
<i>Neocosmospora</i> sp.	30	6	0	36	1,65%
<i>Penicillium</i>	10	10	13	33	1,52%
<i>Aspergillus niger</i>	0	28	0	28	1,29%
<i>Penicillium</i>	19	2	0	21	0,96%
<i>Metarrhizium</i>	1	18	1	20	0,92%
<i>Penicillium</i>	3	9	5	17	0,78%
<i>Penicillium</i>	13	1	2	16	0,73%
<i>Chloridium virescens</i>	5	3	7	15	0,69%
<i>Penicillium</i>	11	2	2	15	0,69%
<i>Gongronella butleri</i>	14	0	0	14	0,64%
<i>Paraconiothyrium</i> sp.	0	13	0	13	0,60%
<i>Clonostachys</i>	12	0	0	12	0,55%
<i>Gonytrichum</i>	4	1	7	12	0,55%
<i>Penicillium citrinum</i>	3	4	5	12	0,55%
<i>Penicillium</i>	12	0	0	12	0,55%
Micélios estéreis	54	74	81	209	9,60%
Espécies raras*	78	90	62	180	8,26%

\*Espécies raras foram definidas com aquelas representadas por um número de fungos maior ou igual a 0,5% do número total de UFCs, sendo, em ordem alfabética: *Acremonium fusidioides*, *Acremonium implicitum*, *Acremonium murorum*, *Acremonium strictum*, *Acremonium* sp., *Acrophialophora fusispora*,

*Arthrobotrys athrobotryoides*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus* sp., *Aspergillus wentii*, *Chaetomella raphigera*, *Chaetomium crispatum*, *Chaetomium funicola*, *Chaetomium globosum*, *Chaetomium indicum*, *Chaetomium* sp., *Chloridium apiculatum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium macrocarpum*, *Cladosporium oxysporum*, *Clonostachys roseum*, *Clonostachys solani*, *Clonostachys* sp., *Colletotrichum capsici*, *Coniella fragariae*, *Epicoccum purpurascens*, *Eupenicillium alutaceum*, *Eupenicillium javanicum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium subglutinans*, *Humicola grisea*, *Idriella* sp., *Lecanicillium lecanii*, *Metarrhizium flavoviride*, *Myrothecium cinctum*, *Myrothecium roridum*, *Myrothecium verrucaria*, *Myrothecium* sp., *Nigrospora* sp., *Paecilomyces carneus*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium communis*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium miczynskii*, *Penicillium variabile*, *Penicillium* 2, *Penicillium* 10, *Penicillium* 18, *Penicillium* 19, *Penicillium* 25, *Penicillium* 32, *Penicillium* 33, *Penicillium* 37, *Penicillium* 38, *Penicillium* 41, *Penicillium* 46, *Penicillium* 49, *Penicillium* 50, *Penicillium* 51, *Periconia macrospinoso*, *Pestalotiopsis* sp., *Petriellidium* sp., *Phoma herbarum*, *Phoma pomorum*, *Phoma* sp., *Ramichloridium schulzei*, *Rhizopus stolonifer*, *Scolecobasidium constrictum*, *Sporothrix schenckii*, *Stagonospora vitensis*, *Syncephalastrum racemosum*, *Talaromyces wortmannii*, *Talaromyces* sp1, *Talaromyces* sp2, *Talaromyces* sp3, *Talaromyces* sp., *Trichosporiella cerebriiformis*, *Verticillium psalliotae*, *Xylaria* sp.1, *Xylaria* sp.2, Micélio estéril.

**TABELA 3** Fungos zoospóricos encontrados em cada área estudada

<b>Espécies</b>	<b>Cerrado</b>	<b>Algodão</b>	<b>Soja</b>
<b>Classe Oomycetes</b>			
<i>Achlya</i> sp.	X		X
<i>Dictyuchus</i> sp.	X		
<i>Pythium graminicola</i>			X
<i>Pythium vanterpoolii</i>	X	X	
<i>Pythium vexans</i>	X	X	
<b>Classe Chytridiomycetes</b>			
<i>Allomyces</i> sp.		X	
<i>Chytriomycetes appendiculatus</i>	X	X	
<i>Karlingia rosea</i>		X	

**TABELA 4** Índices de similaridade entre as áreas, baseados no número de espécies de fungos

Índices de similaridade	Tipos de solo		
	Algodão x soja	Cerrado x soja	Algodão x cerrado
Morisita-Horn	0,945	0,702	0,713
Bray-Curtis	0,756	0,546	0,516

**Tabela 5** Análise físico-química dos solos estudados

Solo	pH	MO	P	K	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	P rem
Cerrado	5,1b	4,2a	1,5c	45,5b	0,5b	0,3b	0,5a	8,8a	9,4bc
Algodão	6,2a	3,3b	10,1a	94,7a	4,0a	0,9a	0	2,9b	19,3a
Soja	5,9a	3,9a	5,3b	96,1a	3,7a	0,6a	0	3,3b	15,8ab

Os números acima equivalem às médias dos valores obtidos na análise das oito amostras de solo de cada área.

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

pH em H<sub>2</sub>O, KCl e CaCl<sub>2</sub> – Relação 1:2,5.

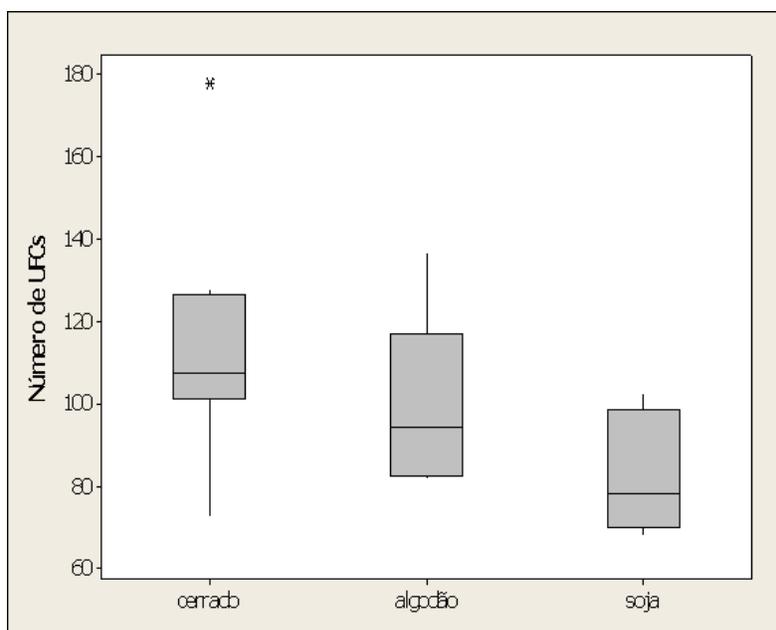
Matéria orgânica (MO) – oxidação: Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 4N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10N (dag/kg).

P – K – Extrator Mehlich (1 mg/dm<sup>3</sup>)

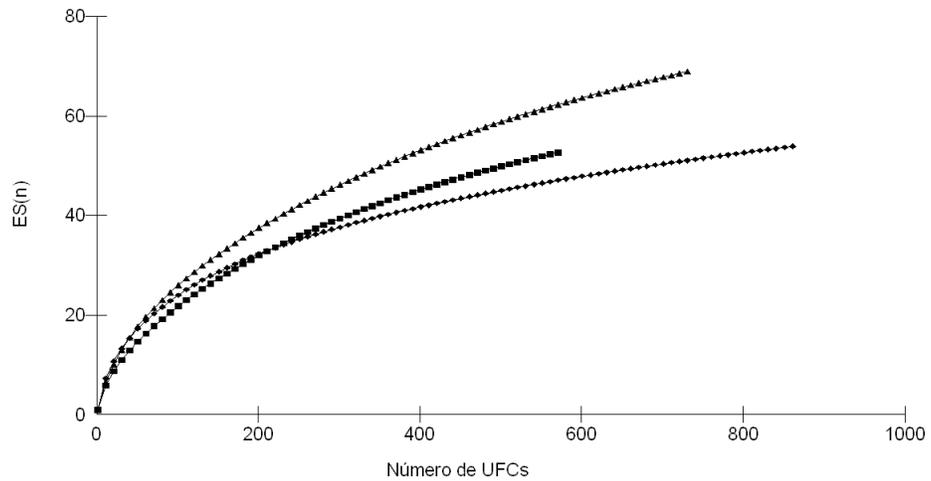
Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1mol/L (cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>)

H+Al – Extrator SMP (cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>)

P-rem = Fósforo remanescente (mg/L)



**FIGURA 1** Box-plots mostrando a distribuição do número total de UFCs de fungos em cada uma das três áreas estudadas. A linha horizontal nas caixas representa a mediana. As barras acima e abaixo das caixas indicam os valores máximo e mínimo. \* 177 UFCs.



**FIGURA 2** Curva de rarefação relacionando o número de espécies e de UFCs de fungos em cada um dos três tipos de solo: (▲) solo sob cultivo de algodão, (■) solo sob cultivo de soja, (◆) solo sob vegetação nativa de Cerrado. Es(n) representa o número esperado de espécies em uma amostragem aleatória da população total de amostras.

