



**CINTYA NEVES DE SOUZA**

**DIVERSIDADE DE FUNGOS DO SOLO DA  
MATA ATLÂNTICA**

**LAVRAS – MG  
2010**

**CINTYA NEVES DE SOUZA**

**DIVERSIDADE DE FUNGOS DO SOLO DA MATA ATLÂNTICA**

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

Orientador  
Dr. Ludwig Heinrich Pfenning

**LAVRAS – MG**  
**2010**

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

Souza, Cintya Neves de.

Diversidade de fungos do solo da Mata Atlântica / Cintya Neves  
de Souza. – Lavras : UFLA, 2010.

66 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning.

Bibliografia.

1. Ascomycota. 2. Comunidade de fungos. 3. Lavagem de solo.  
4. Filtração de partículas. I. Universidade Federal de Lavras. II.  
Título.

CDD – 589.23

**CINTYA NEVES DE SOUZA**

**DIVERSIDADE DE FUNGOS DO SOLO DA MATA ATLÂNTICA**

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

APROVADA em 26 de agosto de 2010.

Dra. Rosane Freitas Schwan UFLA

Dr. Lucas Magalhães de Abreu UFLA

Dr. Ludwig Heinrich Pfenning  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2010**

## AGRADECIMENTOS

A Deus seja dada toda honra e glória. Agradeço ao Senhor pela oportunidade de concluir mais um sonho.

À Universidade Federal de Lavras e aos departamentos de Biologia, Fitopatologia e de Ciência dos Alimentos, por permitirem a realização deste trabalho.

Agradeço ao professor Dr. Ludwig H. Pfenning, pela orientação, amizade e confiança.

Ao Dr. Lucas Abreu, pela valiosa ajuda na identificação dos fungos, bem como pelas sugestões.

À professora Dra. Rosane Schwan, pelos ensinamentos e por ter confiado em mim, fornecendo boas referências ao meu orientador.

Ao professor Dr. Luis Roberto Batista, juntamente com a doutoranda Fabiana Passamani, pela ajuda na identificação de fungos do gênero *Penicillium*.

À professora Dra. Patrícia G. Cardoso, pelos ensinamentos e por ter sempre acreditado no meu potencial.

Ao professor Dr. Júlio Louzada, pela ajuda e sugestões nas análises estatísticas.

À Capes-Reuni, pela concessão de bolsa de estudos.

À equipe da ESALQ-USP, pela ajuda na coleta das amostras.

Agradeço aos meus pais, Ednaldo e Lúcia, e ao meu irmão Rômulo, por todo amor, carinho e confiança depositados durante esses anos em que estive longe e a toda a minha família que, sei, estiveram orando por mim. Suas orações me ajudaram a permanecer forte e a persistir nos meus sonhos, mesmo em meio às dificuldades.

Ao meu noivo, Samuel, por compreender minha ausência e por me incentivar a nunca desistir, partilhando minhas alegrias e tristezas, sendo não só o meu grande amor, mas meu amigo e parceiro fiel.

À 7ª Igreja Presbiteriana de Montes Claros, pelas orações e constantes manifestações de carinho e apoio.

À Dona Raimunda e Seu Antônio, por terem sido meus pais em Lavras e à 2ª Igreja Presbiteriana de Lavras, por ter sido minha família.

Aos amigos do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos do DFP, Kedma, Sarah, Virgínia, Mirian, Edinho, Elaine, André, Darlan, Ana Karla, Paula, Rodrigo, Juliana e Dayana, pelo carinho e pelos momentos de descontração, além de suas preciosas ajudas na realização deste trabalho. E, claro, um agradecimento especial a Gláucia, pela enorme força que me deu, principalmente nos momentos de maior aperto.

Aos meus grandes amigos, Alexandre, Alessandra e Michelle. A amizade de vocês tornou meus dias mais divertidos em Lavras.

Muito obrigada!

### **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

À doutoranda Vivian G. Carvalho, da ESALQ-USP, pela confiança e amizade e por ter sido fundamental na realização deste trabalho em todos os aspectos.

“Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor... Lembre-se. Se escolher o mundo ficará sem amor, mas se escolher o amor com ele você conquistará o mundo.”

Albert Einstein

## **BIOGRAFIA**

Cintya Neves de Souza nasceu em Montes Claros, MG, em 7 de setembro de 1985. Filha de Ednaldo Ferreira de Souza e Ana Lúcia Neves de Souza, estudou no Colégio Biotécnico, onde concluiu o ensino médio em 2002. Em 2003, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Montes Claros, onde se graduou bacharel no ano de 2006. Em 2008 concluiu o curso de pós-graduação *lato sensu* em Tecnologia e Qualidade de Alimentos Vegetais pela Universidade Federal de Lavras, MG. No mesmo ano, ingressou no mestrado em Microbiologia Agrícola na mesma universidade, concluindo-o com a defesa da presente dissertação.

## RESUMO

A Mata Atlântica é caracterizada pela elevada riqueza e endemismo de espécies e é um dos 25 *hotspots* de biodiversidade mundiais. O estudo da diversidade microbiana dos solos é essencial para o entendimento da distribuição de espécies, do seu papel funcional e para o conhecimento dos recursos genéticos disponíveis. Neste trabalho, a diversidade de fungos do solo foi avaliada em três unidades de conservação da Mata Atlântica do estado de São Paulo, Parque Estadual de Carlos Botelho (PECB), Estação Ecológica de Assis (EEA) e Parque Estadual da Ilha do Cardoso (PEIC), mantidas como parcelas permanentes do programa Biota-Fapesp. Foram avaliadas, no total, 90 amostras, coletadas em época de alta e baixa pluviosidade, sob a copa de três espécies arbóreas, *Cabralea canjerana*, *Guapira opposita* e *Maytenus robusta*, presentes nas três áreas. O isolamento dos fungos foi realizado pelo método de lavagem de solo e filtração de partículas. Também foram avaliados os atributos químicos das amostras de solo. Foram analisados 1.829 UFCs pertencentes a 142 morfoespécies de fungos, distribuídos em 67 gêneros, sendo 114 espécies de Ascomycota na fase anamórfica, 19 de Ascomycota na fase teleomórfica e 9 espécies de Zygomycota. O gênero *Trichoderma* foi dominante em todas as áreas avaliadas, seguido por *Penicillium* e *Paecilomyces*. A área PECB apresentou o dobro do número de isolados obtidos no PEIC e na EEA, porém, o número de espécies foi semelhante entre o PECB e a EEA (74 e 75 espécies, respectivamente). A composição das comunidades de fungos não foi influenciada pelas espécies arbóreas, mas sim pela área de coleta. As comunidades de fungos do PECB e do PEIC mostraram-se similares, caracterizadas pela abundância das espécies *Chloridium virescens* var. *caudigerum* e *Paecilomyces carneus*. Já a área EEA foi caracterizada pela predominância de espécies do gênero *Penicillium*. Esta área também apresentou níveis significativamente inferiores de matéria orgânica e outros elementos do solo. Os resultados obtidos demonstram a grande diversidade de fungos presente no solo da Mata Atlântica.

Palavras-chave: Ascomycota. Comunidade fúngica. Lavagem de solo. Filtração de partículas.

## ABSTRACT

The Brazilian Atlantic forest is characterized by the high species richness and endemism, and is one of the 25 global biodiversity hotspots. The study of the soil microbial diversity is essential for the understanding of species distribution, their functional role and knowledge of the genetic resources available. The diversity of soil fungi was evaluated in three conservation areas of the Brazilian Atlantic forest in the state of São Paulo, Carlos Botelho State Park (PECB), Assis Ecological Station (EEA) and Cardoso Island State Park (PEIC), maintained as permanent parcels of the Biota-Fapesp program. 90 composite soil samples were collected under dry and wet seasons, beneath the canopy of three tree species (*Cabralea canjerana*, *Guapira opposita* and *Maytenus robusta*) present in the three areas. The isolation of the fungi was conducted by soil washing and particles filtration. The chemical attributes of the soil samples were also appraised. 1,829 CFUs were isolated, representing 142 fungi morfo-species, distributed in 67 genera, being: 114 species of Ascomycota in the anamorphic phase, 19 of Ascomycota in the teleomorphic phase and nine Zygomycota. The genus *Trichoderma* was dominant in all of the appraised areas, followed by *Penicillium* and *Paecilomyces*. The PECB area yielded twice the number of isolates obtained in PEIC and in EEA, however, the number of species was similar between PECB and EEA (74 and 75 species, respectively). The composition of fungal communities was not influenced by the tree species, but by the collection area. The communities of PECB and PEIC were similar, characterized by the abundance of the species *Chloridium virescens* var. *caudigerum* and *Paecilomyces carneus*. The EEA area was characterized by the predominance of species of *Penicillium*. This latter area also presented significantly inferior levels of organic matter and other soil elements. The results obtained demonstrate the high fungal diversity present in soil of the Brazilian Atlantic forest.

Keywords: Ascomycota. Fungal community. Soil washing. Particle filtration.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Mapa do Brasil, destacando o estado de São Paulo, indicando as três unidades de conservação onde o projeto é desenvolvido. 1 - Parque Estadual Ilha do Cardoso (PEIC), 2 - Parque Estadual de Carlos Botelho (PECB) e 3 - Estação Ecológica de Assis (EEA)..... 35
- Figura 2 Áreas de coleta e suas respectivas parcelas permanentes do programa BIOTA/FAPESP. Os símbolos representam a localização das espécies arbóreas sob as quais as amostras de solo foram coletadas: *Cabralea canjerana* (●); *Guapira opposita* (▲); *Maytenus robusta* (■) ..... 36
- Figura 3 Método de coleta das amostras de solo. A. Forma de coleta das 3 subamostras de solo sob a copa das árvores com o detalhe do trado. B. Detalhe do trado contendo uma subamostra de solo coletado. C. Saco plástico contendo amostra composta (3 subamostras misturadas) ..... 37
- Gráfico 1 Biplot das espécies de fungos com as amostras de solo da análise de correspondência (CA). Amostras PECB (Parque Estadual de Carlos Botelho) foram representadas em verde, amostras EEA (Estação Ecológica de Assis) em vermelho, e amostras PEIC (Parque Estadual da Ilha do Cardoso) em azul. AP (época de alta pluviosidade), BP (época de baixa pluviosidade). Cc (*Cabralea canjerana*) em círculo, Go (*Guapira opossita*) em triângulo e Mr (*Maytenus robusta*) em quadrado. As letras em itálico indicam os códigos das espécies de fungos, detalhados na Tabela 3 ..... 49
- Gráfico 2 Triplot das espécies de fungos com as amostras de solo e fatores ambientais da análise de correspondência canônica (CCA). Amostras PECB (Parque Estadual de Carlos Botelho) foram representadas em verde, amostras EEA (Estação Ecológica de Assis) em vermelho, e amostras PEIC (Parque Estadual da Ilha do Cardoso) em azul. AP (época de alta pluviosidade), BP (época de baixa pluviosidade). Cc (*Cabralea canjerana*) em círculo, Go (*Guapira opossita*) em triângulo e Mr (*Maytenus robusta*) em quadrado. As letras em itálico indicam os códigos das espécies de fungos, detalhados na Tabela 3. As setas vermelhas representam as variáveis ambientais e as estrelas vermelhas, as nominais ..... 53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número total de UFCs, gêneros e espécies de fungos em cada área de coleta da Mata Atlântica .....	43
Tabela 2	Valores relativos aos índices de diversidade de cada área de coleta, nas duas épocas, alta (AP) e baixa pluviosidade (BP).....	44
Tabela 3	Morfoespécies de fungos mais frequentes (com até 0,5% do número total de UFCs) em cada área de coleta, nas épocas de alta (AP) e baixa (BP) pluviosidade .....	46
Tabela 4	Valores referentes à temperatura média e pluviosidade nas áreas de coleta, durante as épocas de alta (AP) e baixa (BP) pluviosidade.....	50
Tabela 5	Valores médios dos atributos químicos do solo de cada área de coleta, nas duas épocas, de alta (AP) e baixa pluviosidade (BP) .....	51
Tabela 6	Valores $p$ dos fatores ambientais das três áreas de coleta, obtidos no teste de permutação de Monte Carlo .....	52

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1 Mata atlântica, fungos do solo e diversidade</b> .....	14
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>A Mata Atlântica e sua biodiversidade</b> .....	16
<b>2.2</b>	<b>Diversidade de fungos em ambientes tropicais</b> .....	17
<b>2.3</b>	<b>Solo como habitat de fungos</b> .....	18
<b>2.4</b>	<b>Métodos para detecção de fungos do solo</b> .....	21
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	23
	<b>CAPÍTULO 2 Diversidade de fungos do solo da Mata Atlântica</b> ....	29
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	31
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
<b>2.1</b>	<b>Áreas de estudo</b> .....	34
<b>2.2</b>	<b>Coleta das amostras</b> .....	36
<b>2.3</b>	<b>Isolamento dos fungos</b> .....	37
<b>2.4</b>	<b>Caracterização, identificação e preservação</b> .....	38
<b>2.5</b>	<b>Análise química do solo</b> .....	39
<b>2.6</b>	<b>Análise estatística</b> .....	40
<b>2.7</b>	<b>Índices de biodiversidade</b> .....	40
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	42
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	54
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	62
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63

## **CAPÍTULO 1**

### **Mata atlântica, fungos do solo e diversidade**

#### **1 INTRODUÇÃO**

A Mata Atlântica é considerada como um dos mais ricos conjuntos de ecossistemas em termos de diversidade biológica do Planeta. Mesmo reduzida e muito fragmentada, a Mata Atlântica tem enorme importância, pois exerce influência direta na vida de mais de 60% da população brasileira que vive em seu domínio, como a regulação do clima e a fertilidade do solo (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2001).

Nos fragmentos de Mata Atlântica restantes, a grande quantidade de matéria orgânica produzida proporciona fertilidade suficiente para prover a vegetação (CONTI; FURLAN, 2003). Em associação com a matéria orgânica, estão os fungos que garantem, junto com outros organismos, a ciclagem de nutrientes, disponibilizando-os aos vegetais e promovendo a manutenção desse ecossistema.

Apesar de desempenhar papéis chaves nos ecossistemas, na maioria dos casos, o papel individual dos fungos na natureza é desconhecido e, sem uma estimativa da diversidade fúngica, torna-se difícil determinar o nível de importância de cada indivíduo na funcionalidade desses ecossistemas (SCHMIT; MUELLER, 2007).

Por ser um ambiente complexo, o solo abriga considerável parte da diversidade de fungos e nenhuma boa estimativa do número de espécies de fungos do solo existe (HAWKSWORTH, 2001; HAWKSWORTH; ROSSMAN, 1997; PFENNING; ABREU, 2006).

Procedimentos de isolamento e identificação contribuem para um melhor entendimento da estrutura da comunidade de fungos no solo e da função de cada um de seus elementos (BRODIE; EDWARDS; CLIPSON, 2003). A partir do momento em que a inoculação de solo em meio de cultura começou a ser utilizado, progresso considerável foi realizado, utilizando-se técnicas de lavagem, bem como meios de culturas menos seletivos e elementos aditivos que reduzem o crescimento de certos grupos de fungos (PFENNING; ABREU, 2006).

Este trabalho foi realizado com o objetivo principal de determinar a diversidade de fungos do solo da Mata Atlântica em três parcelas permanentes do programa Biota-Fapesp: Estação Ecológica de Assis, Parque Estadual de Carlos Botelho e Parque Estadual da Ilha do Cardoso. O objetivo foi o de obter informações sobre a diversidade de fungos do solo, utilizando um método dependente de cultivo. A abordagem comparativa permitirá analisar diferenças quantitativas e qualitativas na comunidade de fungos nas áreas investigadas e avaliar de que maneira características do solo e a época de coleta podem interferir nessa comunidade.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 A Mata Atlântica e sua biodiversidade**

A Mata Atlântica é um dos mais valiosos conjuntos de ecossistemas, em termos de diversidade biológica do planeta e é diretamente responsável pela qualidade de vida de milhares de pessoas. Nas cidades, áreas rurais e comunidades indígenas, ela regula o fluxo dos mananciais hídricos, assegura a fertilidade do solo, controla o clima e protege escarpas e encostas das serras (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2001).

A Mata Atlântica teve sua extensão situada pela faixa litorânea do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul, e também no interior do continente até a Argentina e o Paraguai. Como existiam diferentes denominações para a sua abrangência, a Fundação SOS Mata Atlântica, como tentativa de estabelecer uma definição científica, reuniu especialistas que determinaram ampla área que abrange diferentes formações vegetais. Mais tarde, esta definição foi aprimorada e aprovada pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente, o CONAMA, estabelecendo, então, o conceito de Domínio de Mata Atlântica. Segundo este conceito, a Mata Atlântica ocupou uma área de 1,3 milhão de quilômetros quadrados, distribuída por 17 estados, abrangendo 15% do território brasileiro, dividida em Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual e Decidual, Formações Pioneiras e Encraves de cerrado e estepes. Da cobertura original restam apenas 7,6%, concentrados em especial nas regiões serranas do sul e sudeste do país, devido à intensa ocupação humana da área (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2002).

A Mata Atlântica é considerada um dos cinco mais importantes "hot spots" de biodiversidade no mundo e reconhecida como uma das áreas de

prioridade para conservação na América do Sul por causa do elevado grau de endemismo em diversos grupos de organismos (KLUMPP; DOMINGOS; KLUMPP, 1996). Mais de 8.000 das 20.000 espécies estimadas de plantas são consideradas endêmicas (MITTERMEIER et al., 2004). O endemismo em árvores é alto, com aproximadamente 54% de espécies presentes somente na região (MORI; BOOM; FRANCE, 1981). Embora várias informações sobre a diversidade vegetal estejam disponíveis, pouco se sabe sobre a diversidade de microrganismos existentes na Mata Atlântica.

## **2.2 Diversidade de fungos em ambientes tropicais**

As florestas tropicais abrigam a maior biodiversidade do mundo. Estima-se que elas contenham, pelo menos, 50% de todas as espécies do planeta. Espécies de fungos são componentes importantes da biodiversidade, especialmente em florestas tropicais (SATISH; SULTANA; NANJUNDIAH, 2007). No entanto, essa diversidade é ainda pouco conhecida. A maioria dos estudos é de trabalhos pioneiros, normalmente orientados a uma localidade ou temática específica. Informações a respeito das interações microbianas no solo e na rizosfera em ecossistemas tropicais são esparsas, mesmo que a sua importância no equilíbrio ecológico seja incontestável (PFENNING; ABREU, 2006).

Trabalhos referentes à diversidade de fungos filamentosos em áreas de Mata Atlântica ainda são escassos, apesar das colaborações realizadas, no estado de São Paulo, por Grandi e Gusmão (2002), Gusmão e Grandi (1997) e Wellbaum, Schoenlein-Crusius e Santos (1999) e no estado de Pernambuco, por Maia (1983, 1998), por exemplo, ainda faltam dados sobre a distribuição geográfica, as interações ecológicas e a diversidade dos fungos nesse bioma (CAVALCANTI; MILAZES, 2007).

No estado de São Paulo, existem mais informações sobre a diversidade de vários grupos de fungos devido a pesquisas que têm sido feitas em ambientes terrestres e aquáticos, em pontos preservados ou menos afetados da Mata Atlântica, em áreas protegidas, como a Reserva Biológica de Paranapiacaba (GRANDI; GUSMÃO, 1996; KLUMPP; DOMINGOS; KLUMPP, 1996), o Parque Estadual da Ilha do Cardoso (TRUFEM, 1995; TRUFEM; OTOMO; MALATINSZKY, 1994) e a Estação Ecológica da Jureia-Itatins (GRANDI; ATILLI, 1996; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2006). No entanto, a maioria desses trabalhos é realizada com grupos específicos de fungos, principalmente envolvendo fungos micorrízicos arbusculares. Assim, há necessidade da realização de trabalhos que abranjam a diversidade fúngica nesse ecossistema em todos os seus grupos.

### **2.3 Solo como habitat de fungos**

O solo é um componente muito importante na biosfera terrestre, funcionando no sistema de produção agrícola e também na manutenção da qualidade ambiental com efeito local e regional. Também pode ser caracterizado como um corpo natural organizado, vivo e dinâmico que desempenha inúmeras funções no ecossistema terrestre (PRADE et al., 2006).

Por ser um ambiente heterogêneo, o solo permite o desenvolvimento de uma grande diversidade de organismos. A população que habita o solo inclui macrofauna, mesofauna, microfauna e microflora. Assim, o solo deve ser definido como um ecossistema e não como um substrato (NANNIPIERI et al., 2003).

O solo é considerado um dos principais habitats de microrganismos e de 80%-90% dos processos que ocorrem no solo são reações mediadas por microrganismos (NANNIPIERI et al., 2003). Nesse ambiente, fungos interagem

com uma complexa comunidade microbiana, incluindo bactérias, actinomicetos e pequenos invertebrados.

Os fungos, juntamente com outros microrganismos, desempenham papel na formação do solo, evolução da fertilidade, nutrição de plantas, formação e melhoria de sua estrutura, degradação e depuração de substâncias tóxicas (BUÉE et al., 2007; DONNISON et al., 2000; ZHONG; CAI, 2004). A ciclagem de nutrientes causada por esses microrganismos é de extrema importância na estabilidade e na melhoria do funcionamento dos ecossistemas presentes no solo (PAN et al., 2008; ROGERS; TATE, 2001).

Além de sua importância ambiental, fungos do solo e seus derivados apresentam grande potencial biotecnológico, tais como bioinoculantes para produção agroflorestal, controle biológico, produção de fármacos, entre outros (GOI; SOUZA, 2006). Em programas de bioprospecção, o solo representa uma das mais importantes fontes de diversidade genética (BILLS, 1995; BILLS et al., 2002; WILDMAN, 1997). Além do mais, existem vários aspectos científicos básicos na exploração da biodiversidade e na descoberta de novas espécies de fungos, especialmente em ecossistemas ainda pouco explorados. Estudos com esse enfoque adicionarão informações valiosas à sistemática, à filogenia e à descoberta de relações anamorfo-teleomorfo (fase sexuada/assexuada) dentro do reino Fungi (HENNEBERT, 1995; PFENNING; ABREU, 2006).

Apesar de seu papel ser bem documentado no funcionamento do ecossistema, estima-se que apenas 5% das espécies de fungos tenham sido descritas (HAWKSWORTH, 2001) e pouco é o conhecimento sobre sua dinâmica, estrutura da comunidade e diversidade (BELLIS; KERNAGHAN; WIDDEN, 2007).

A atividade fúngica depende da composição da matéria orgânica no solo, a qual determina a ocorrência e a distribuição desses organismos. A

composição química dos substratos exerce grande influência sobre as comunidades de fungos do solo (LUMLEY; GIGNAC; CURRAH, 2001).

Em estudos realizados em climas temperados constatou-se que a diversidade de espécies vegetais influencia a estrutura da comunidade fúngica. Christensen (1981) comparou 33 comunidades de microfungos de diferentes ambientes e descobriu clara correspondência entre a composição de espécies de microfungos e o tipo de vegetação e concluiu que microfungos do solo são indicadores notáveis da similaridade entre ambientes. Myers et al. (2001) realizaram um estudo em Michigan, nos Estados Unidos, e verificaram que ecossistemas florestais distintos, em relação às espécies de árvores e às características edáficas, diferiram na composição das comunidades e no uso dos substratos de bactérias, fungos e protozoários. Em regiões como essas, de clima temperado com formações de vegetação mais homogêneas e com menor riqueza de espécies, é possível prever a comunidade de microfungos mais frequentes (BILLS et al., 2004).

Como as florestas tropicais têm maior diversidade de espécies do que as vegetações clímax das regiões temperadas, várias áreas ainda devem ser investigadas nos trópicos com o uso de técnicas adequadas de isolamento. Os poucos estudos realizados indicam que essa correlação entre espécies vegetais e comunidade de fungos não pode ser postulada para as regiões tropicais. 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 (PFENNING; ABREU, 2006).

Os fungos do solo são influenciados pelos exsudados liberados pelas raízes e pela liteira depositada no solo. 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 às características ambientais (PERSIANI et al., 1998).

#### **2.4 Métodos para detecção de fungos do solo**

O resultado das análises da diversidade de fungos do solo depende do método utilizado (GAMS, 1992). Os métodos mais tradicionais baseiam-se na análise da biomassa microbiana, como medição da respiração no solo, ciclagem de nitrogênio, ácidos graxos típicos de fungos ou, mesmo, a observação direta do micélio crescendo nas partículas de solo (ANDERSON; INGRAM, 1989; BRODIE; EDWARDS; CLIPSON, 2003; HOUSTON; VISSER; LAUTENSCHLAGER, 1998). Porém, esses métodos fornecem informações escassas sobre as espécies envolvidas nos 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.

O isolamento de fungos do solo é normalmente realizado por meio da inoculação de diluições do solo ou partículas de solo individuais em um ágar nutriente (PARKINSON, 1994). Ambos são requeridos com o objetivo de favorecer o isolamento de fungos provenientes de esporos ou fragmentos de hifas, respectivamente (HESTBJERG et al., 1999).

O método de diluição em placa é o mais comumente utilizado para o isolamento e a quantificação de fungos e bactérias do solo. É uma técnica simples e várias modificações já foram descritas. Basicamente, uma quantidade conhecida de solo é suspensa em água estéril, de modo a se obter uma suspensão com concentração de 10%, a qual é colocada sob agitação durante alguns minutos. A partir dessa suspensão é preparada uma série de diluições, até que seja alcançada a concentração final desejada (PFENNING; ABREU, 2008).

É comumente aceito que a diluição em placa apresenta tendência em direção ao isolamento daqueles fungos que são capazes de produzir grandes quantidades de esporos e têm rápido crescimento em meios de cultura ricos em nutrientes. Assim, a outra parte da comunidade de fungos do solo que normalmente se apresenta como micélio ativo no solo e que possui menor habilidade para competir com essas espécies de maior proliferação em meio de cultura é suprimida nessa técnica (BÅÅTH, 1988; TSAO et al., 1983).

Outra técnica que pode ser utilizada é a de lavagem de solo, que tem o propósito básico de eliminar o excesso de esporos das amostras de solo, favorecendo o isolamento de fungos que crescem ativamente e produzem esporos em menor quantidade. O solo é lavado diversas vezes com água esterilizada, descartando-se o sobrenadante que contém o excesso de esporos (DHINGRA; SINCLAIR, 1985). Após a lavagem, as partículas que compõem o solo podem ser separadas em uma série de peneiras. As partículas retidas na peneira de menor abertura de malha são transferidas para placas de Petri contendo meios apropriados (THORN et al., 1996; TIUNOV; SCHEU, 2000).

O tamanho da partícula de solo é inversamente proporcional ao número de isolados obtidos de cada partícula. Portanto, o uso de peneiras com menor abertura de malha e, conseqüentemente, a transferência de partículas menores de solo para os meios de cultura podem favorecer o isolamento de fungos de crescimento lento (BÅÅTH, 1988). Um aparato de lavagem do solo contendo em seu interior uma série de malhas de náilon também pode ser empregado no lugar das peneiras (GAMS; HOEKSTRA; APTROOT, 1998; WIDDEN; PARKINSON, 1973).

A lavagem do solo reduz a ocorrência de espécies que esporulam abundantemente, especialmente *Penicillium* e *Aspergillus*, facilitando assim o isolamento de outros fungos (HESTBJERG et al., 1999).

## REFERÊNCIAS

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

BÄÄTH, 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**, Ottawa, v. 66, n. 8, p. 1566-1569, Aug. 1988.

BELLIS, T.; KERNAGHAN, G.; WIDDEN, P. Plant community influences on soil microfungal assemblages in boreal mixed-wood forests. **Mycologia**, New York, v. 99, n. 3, p. 356-367, Mar. 2007.

BILLS, G. F. Analyses of microfungal diversity from a users perspective. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 73, n. 1, p. 33-41, 1995. Supplement.

BILLS, G. F. et al. Recent and future discoveries of pharmacologically active metabolites from tropical fungi. In: WATLING, R. et al. (Ed.). **Tropical microfungi: micromycetes**. New York: CABI, 2002. v. 2, p. 165-194.

\_\_\_\_\_. Saprobiic 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.

BRODIE, E.; EDWARDS, S.; CLIPSON, N. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 45, n. 2, p. 105-114, July 2003.

BUÉE, M. et al. Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 39, n. 8, p. 1947-1955, Aug. 2007.

CAVALCANTI, M. S.; MILANEZ, A. I. Hyphomycetes isolados da água e do solo da Reserva Florestal de Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 21, n. 4, p. 857-862, jul./ago. 2007.

CHRISTENSEN, M. Species diversity and dominance in fungal communities. In: WICKLOW, D. T.; CARROLL, G. C. (Ed.). **The fungal community: its organization and role in the ecosystem**. New York: M. Dekker, 1981. p. 201-232.

CONTI, J. B.; FURLAN, S. A. Geoecologia: o clima, os solos e a biota. In: ROSS, J. L. S. (Org.). **Geografia do Brasil**. São Paulo: EDUSP, 2003. p. 67-237.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC, 1985. 355 p.

DONNISON, L. M. et al. Management influences no soil microbial communities and their function in botanically diverse hay meadows of northern England and Wales. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 32, n. 2, p. 253-263, Feb. 2000.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no Domínio da Mata Atlântica no período de 1990-1995**: dossiê Mata Atlântica. São Paulo, 2001. 42 p.

\_\_\_\_\_. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica e ecossistemas associados no período de 1995-2000**: relatório final. São Paulo, 2002. 38 p.

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**. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1998. 165 p.

GOI, S. R.; SOUZA, F. A. Diversidade de microrganismos do solo. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 13, n. 2, p. 46-65, 2006.

GRANDI, R. A. P.; ATTILI, D. S. Hyphomycetes on *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg. leaf litter from the Ecological Reserve Jureia- Itatins, State of São Paulo, Brazil. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 60, n. 4, p. 373-386, Oct./Dec. 1996.

GRANDI, R. A. P.; GUSMÃO, L. F. P. Hyphomycetes decompositores de raízes de *Calathea zebrina* (Sims) Lindl. (Marantaceae), provenientes da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 165-172, mar./abr. 1996.

GRANDI, R. A. P.; GUSMÃO, L. F. P. Hyphomycetes decompositores do folheto de *Tibouchina pulchra* Cogn. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 79-87, 2002.

GUSMÃO, L. F. P.; GRANDI, R. A. P. Hyphomycetes com conidioma dois tipos esporodóquio e sinema associados a folhas de *Cedrela fissilis* (Meliaceae), em Maringá, PR. Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 123-134, mar./abr. 1997.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, n. 12, p. 1422-1432, Dec. 2001.

HAWKSWORTH, D. L.; ROSSMAN, A. Y. Where are all the undescribed fungi? **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 9, p. 888-891, Sept. 1997.

HENNEBERT, G. L. Fungal diversity in tropical forests. In: INTERNATIONAL BIODIVERSITY SEMINAR ECCO MEETING GOZD MARTULEK, 14., 1995, Ljubljana. **Proceedings...** Ljubljana: ECCO, 1995. p. 75-93.

HESTBJERG, H. et al. A resource-saving method for isolation of *Fusarium* and other fungi from individual soil particles. **Mycological Research**, Cambridge, v. 103, n. 12, p. 1545-1548, Dec. 1999.

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 forest. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 76, n. 4, p. 630-640, Apr. 1998.

KLUMPP, A.; DOMINGOS, M.; KLUMPP, G. Assessment of the vegetation risk by fluoride emissions from fertiliser industries at Cubatão, Brazil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 192, n. 3, p. 219-228, Dec. 1996.

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**, Ottawa, v. 79, n. 1, p. 76-92, Jan. 2001.

MAIA, L. C. Diversidade de fungos e líquens e sucessão fúngica na Reserva Ecológica de Dois Irmãos. In: MACHADO, I. C.; LOPES, A. V.; PORTO, K. C. (Ed.). **Reserva Ecológica de Dois Irmãos: estudos em um remanescente de Mata Atlântica em área urbana de Recife, Pernambuco, Brasil**. Recife: UFPE, 1998. p. 85-113.

\_\_\_\_\_. **Sucessão de fungos em folheto de floresta tropical úmida**. Recife: UFPE, 1983. 156 p.

MITTERMEIER, R. A. et al. **Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. Washington: Cemex, 2004. 392 p.

MORI, S. A.; BOOM, B. M.; FRANCE, G. T. Distribution patterns and conservation of eastern Brazilian coastal forest species. **Brittonia**, Bronx, v. 33, n. 2, p. 233-245, June 1981.

MYERS, R. T. et al. Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 65, n. 2, p. 359-367, Mar./Apr. 2001.

NANNIPIERI, P. et al. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 655-670, Apr. 2003.

PAN, H. et al. Diversity analysis of soil dematiaceous hyphomycetes from the Yellow River source area. **Journal of Zhejiang University Science B**, Hangzhou, v. 9, n. 10, p. 829-834, Oct. 2008.

PARKINSON, D. Filamentous fungi. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S. (Ed.). **Methods of soil analysis: part 2, microbiological and biochemical properties** bottomley. Wisconsin: SSSA Book, 1994. p. 329-378.

PERSIANI, A. M. et al. Diversity and variability in soil fungi from a disturbed tropical rain forest. **Mycologia**, New York, v. 90, n. 2, p. 206-214, Mar./Apr. 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.

PFENNING, L. H.; ABREU, L. M. Saprophytic and plant pathogenic soil-fungi. In: MOREIRA, F. M.; JEROEN-HUISING, E.; BIGNELL, D. E. (Ed.). **A handbook of tropical soil biology: sampling and characterization of below-ground biodiversity**. London: Earthscan, 2008. p. 149-157.

PRADE, C. A. et al. Diversidade de fungos filamentosos e microscópicos do solo em uma plantação de *Hovenia Dulcis* Thumb. **Biociências**, Porto Alegre, v. 14, n. 2, p. 101-106, jun. 2006.

ROGERS, B. F.; TATE, R. L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in pineland soil. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v. 33, n. 10, p. 1389-1401, Dec. 2001.

SATISH, N.; SULTANA, S.; NANJUNDIAH, V. Diversity of soil fungi in a tropical deciduous forest in Mudumalai, southern India. **Current Science**, Columbus, v. 93, n. 5, p. 669-677, Sept. 2007.

SCHMIT, J. P.; MUELLER, G. M. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 16, n. 1, p. 99-111, Jan. 2007.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Microscopic fungi in the Atlantic Rainforest In Cubatão, São Paulo. **Brazil Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 267-275, Apr. 2006.

THORN, R. G. et al. Isolation of saprophytic basidiomycetes from soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 11, p. 4288-4292, Nov. 1996.

TIUNOV, A. V.; SCHEU, S. Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae), a laboratory experiment. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 14, n. 1, p. 17-26, Feb. 2000.

TRUFEM, S. F. B. Fungos micorrízicos arbusculares em plantas de restinga da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 51-60, jan./mar. 1995.

TRUFEM, S. F. B.; OTOMO, H. S.; MALATINSZKY, S. M. M. Fungos micorrízicos arbusculares em rizosferas de plantas de duna do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 8, n. 1, p. 31-45, jan./mar. 1994.

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

WELLBAUM, C.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; SANTOS, V. B. Fungos filamentosos em folhas do ambiente terrestre e aquático da Ilha dos Eucalptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 69-74, jan./fev. 1999.

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

WILDMAN, H. G. Potencial of tropical microfungi within the pharmaceutical industry. In: HYDE, K. D. (Ed.). **Diversity of tropical microfungi**. Hong Kong: University of Hong Kong, 1997. p. 29-46.

ZHONG, W. H.; CAI, Z. C. Methods for studying soil microbial diversity. **Chinese Journal of Applied Ecology**, Beijing, v. 15, n. 5, p. 899-904, 2004.

## CAPÍTULO 2

### Diversidade de fungos do solo da Mata Atlântica

#### RESUMO

Neste trabalho, a diversidade de fungos do solo foi avaliada em três unidades de conservação da Mata Atlântica do estado de São Paulo, Parque Estadual de Carlos Botelho (PECB), Estação Ecológica de Assis (EEA) e Parque Estadual da Ilha do Cardoso (PEIC), mantidas como parcelas permanentes do programa Biota-Fapesp. Foram avaliadas, no total, 90 amostras, coletadas em época de alta e baixa pluviosidade sob a copa de três espécies arbóreas, *Cabralea canjerana*, *Guapira opposita* e *Maytenus robusta*, presentes nas três áreas. O isolamento dos fungos foi realizado pelo método de lavagem de solo e filtração de partículas. Também foram avaliados os atributos químicos das amostras de solo. Foram analisados 1.829 UFCs pertencentes a 142 morfoespécies de fungos, distribuídos em 67 gêneros, sendo 114 espécies de Ascomycota na fase anamórfica, 19 de Ascomycota na fase teleomórfica e 9 espécies de Zygomycota. O gênero *Trichoderma* foi dominante em todas as áreas avaliadas, seguido por *Penicillium* e *Paecilomyces*. A área PECB apresentou o dobro do número de isolados obtidos no PEIC e na EEA, porém, o número de espécies foi semelhante entre o PECB e a EEA (74 e 75 espécies, respectivamente). A composição das comunidades de fungos não foi influenciada pelas espécies arbóreas, mas sim pela área de coleta. As comunidades de fungos do PECB e do PEIC mostraram-se similares, caracterizadas pela abundância das espécies *Chloridium virescens* var. *caudigerum* e *Paecilomyces carneus*. Já a área EEA foi caracterizada pela predominância de espécies do gênero *Penicillium*. Esta área também apresentou níveis significativamente inferiores de matéria orgânica e outros elementos do solo. Os resultados obtidos demonstram a grande diversidade de fungos presente no solo da Mata Atlântica.

Palavras-chave: Ascomycota. Comunidade fúngica. Lavagem de solo. Filtração de partículas.

## ABSTRACT

The diversity of soil fungi was evaluated in three conservation areas of the Brazilian Atlantic forest in the state of São Paulo, Carlos Botelho State Park (PECB), Assis Ecological Station (EEA) and Cardoso Island State Park (PEIC), maintained as permanent parcels of the Biota-Fapesp program. 90 composite soil samples were collected under dry and wet seasons, beneath the canopy of three tree species (*Cabralea canjerana*, *Guapira opposita* and *Maytenus robusta*) present in the three areas. The isolation of the fungi was conducted by soil washing and particles filtration. The chemical attributes of the soil samples were also appraised. 1,829 CFUs were isolated, representing 142 fungi morfo-species, distributed in 67 genera, being: 114 species of Ascomycota in the anamorphic phase, 19 of Ascomycota in the teleomorphic phase and nine Zygomycota. The genus *Trichoderma* was dominant in all of the appraised areas, followed by *Penicillium* and *Paecilomyces*. The PECB area yielded twice the number of isolates obtained in PEIC and in EEA, however, the number of species was similar between PECB and EEA (74 and 75 species, respectively). The composition of fungal communities was not influenced by the tree species, but by the collection area. The communities of PECB and PEIC were similar, characterized by the abundance of the species *Chloridium virescens* var. *caudigerum* and *Paecilomyces carneus*. The EEA area was characterized by the predominance of species of *Penicillium*. This latter area also presented significantly inferior levels of organic matter and other soil elements. The results obtained demonstrate the high fungal diversity present in soil of the Brazilian Atlantic forest.

Keywords: Ascomycota. Fungal community. Soil washing. Particle filtration.

## 1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é um dos biomas brasileiros mais ricos em espécies de plantas e animais, constituindo uma das 25 áreas de prioridade para a conservação da biodiversidade mundial (MYERS et al., 2000). Várias unidades fitogeográficas compõem a Mata Atlântica, constituindo um mosaico vegetal de grande diversidade. Embora várias informações sobre a diversidade vegetal estejam disponíveis na literatura, pouco se sabe sobre a diversidade de fungos, bactérias e outros microrganismos existentes no solo da Mata Atlântica.

A diversidade de fungos é crítica para o funcionamento do ecossistema porque há a necessidade da manutenção de processos biológicos, como decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, agregação do solo e controle de patógenos dentro do ecossistema (KENNEDY, 1999). A identificação das espécies de microfungos do solo que permitam desenhar uma figura consistente a respeito das comunidades presentes em solos agrícolas e de floresta tem sido raramente alvo de investigações em regiões tropicais (PFENNING; ABREU, 2006).

Resultado consistente da identificação da diversidade de fungos depende do método utilizado (GAMS, 1992). Vários métodos tradicionais de estudo microbianos têm sido utilizados para analisar a diversidade microbiana em solos. Alguns desses métodos se baseiam na análise da biomassa microbiana, ou de observações diretas do micélio crescendo ativamente nas partículas de solo (BRODIE; EDWARDS; CLIPSON, 2003). Além desses processos, o estudo de fungos do solo pode ser baseado no isolamento de esporos ou hifas ativas do solo em cultura axênica para posterior identificação e quantificação.

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 comumente utilizado para o

isolamento e a quantificação de fungos e bactérias do solo (PFENNING; ABREU, 2006), no entanto, ele apresenta tendência a favorecer o isolamento de fungos que produzem maior quantidade de esporos e de crescimento mais rápido. Esse problema pode ser minimizado por meio da utilização de técnicas de lavagem de solo que reduz a ocorrência desses fungos facilitando. Assim, o isolamento de outros fungos que possam estar presentes no solo, mas apresentam crescimento mais lento e produzam uma menor quantidade de esporos.

É possível que o efeito da vegetação sobre a comunidade de fungos esteja associado à matéria orgânica do solo, que apresenta relação direta ou indireta com muitas propriedades físicas, químicas e biológicas desse ambiente (PÉREZ-PIQUÉRES et al., 2006). O tipo de vegetação influencia as propriedades físico-químicas e a composição da matéria orgânica do solo (NIELSEN et al., 2010). Um solo com teor elevado de matéria orgânica tende a manter a população microbiana mais estável ao longo do ano, provavelmente em decorrência da riqueza de nichos ecológicos e pela heterogeneidade das fontes de carbono (GRAYSTON et al., 2001).

A dinâmica temporal de comunidades microbianas edáficas afetam numerosos processos em florestas e essas comunidades também são influenciadas pela matéria orgânica do solo (CHAUVAT; PONGE; WOLTERS, 2007). O conhecimento sobre o efeito da matéria orgânica na comunidade de fungos do solo em ecossistemas florestais com grande diversidade de espécies vegetais, como a Mata Atlântica, é limitado, o que dificulta o estabelecimento de uma relação entre as espécies de árvores e as comunidades de fungos do solo.

Outros importantes pontos de determinação da composição da comunidade microbiana do solo e seus processos, além da matéria orgânica do solo, são o regime de umidade e a temperatura. Esses fatores também podem causar impacto na estabilidade dos agregados do solo, direta ou indiretamente,

através de influências físicas ou biológicas, afetando as comunidades de fungos (MUMMEY et al., 2010).

Considerando que a diversidade fúngica em ambientes tropicais é ainda pouco estudada e que os trabalhos referentes à diversidade de fungos filamentosos em áreas de Mata Atlântica ainda são escassos, a maioria deles envolvendo apenas grupos específicos de fungos, e que estudos dessa natureza são muito importantes para um maior conhecimento sobre a biodiversidade e as funções exercidas por esses microrganismos, o presente trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: **a.** determinar a diversidade de fungos filamentosos presentes no solo de três áreas da Mata Atlântica por meio de isolamento e cultivo, com o uso do método da lavagem e filtração de partículas; **b.** avaliar se há diferenças entre as comunidades fúngicas das três áreas; **c.** analisar os atributos químicos do solo e sua matéria orgânica e verificar se há relação com as comunidades de fungos presentes; **d.** verificar se a composição das comunidades de fungos recebe influência das espécies arbóreas e **e.** contribuir para o conhecimento da microbiota presente em unidades de Mata Atlântica.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo se insere nas atividades do projeto temático Diversidade microbiana na filosfera e solo da Mata Atlântica, sob a coordenação do professor Dr. Marcio Rodrigues Lambais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

### 2.1 Áreas de estudo

As áreas de estudo estão localizadas em diferentes regiões do estado de São Paulo, Brasil, que apresentam parcelas permanentes de 10,24 ha do programa BIOTA/FAPESP. As parcelas estão subdivididas em 256 subparcelas de 20 x 20m (400 m<sup>2</sup>), demarcadas por estacas. As áreas são descritas brevemente a seguir (Figura 1 e 2).

**Parque Estadual de Carlos Botelho (PECB) (Floresta Atlântica de Encosta).** Encontra-se na região sul do estado de São Paulo (24°00' a 24°15'S, 47°45' a 48°10'W). Abrange parte dos municípios de São Miguel Arcanjo, Capão Bonito e Sete Barras e, neste estudo, foi escolhido um trecho no Núcleo Sete Barras, com altitude em torno de 800 m, na vertente atlântica da Serra de Paranapiacaba.

**Estação Ecológica de Assis (EEA) (Cerradão).** Localiza-se no município de Assis, SP, entre as coordenadas geográficas 22°33'65" a 22°36'68"S e 50°23'00" a 50°22'29"W e entre as altitudes de 520 e 590 m.

**Parque Estadual da Ilha do Cardoso (PEIC) (Floresta de Restinga).** Situa-se no extremo sul do litoral do estado de São Paulo, no município de Cananeia, entre os paralelos 25°03'05"- 25° 8'18" e os meridianos 47°53'48"- 48°05'42".

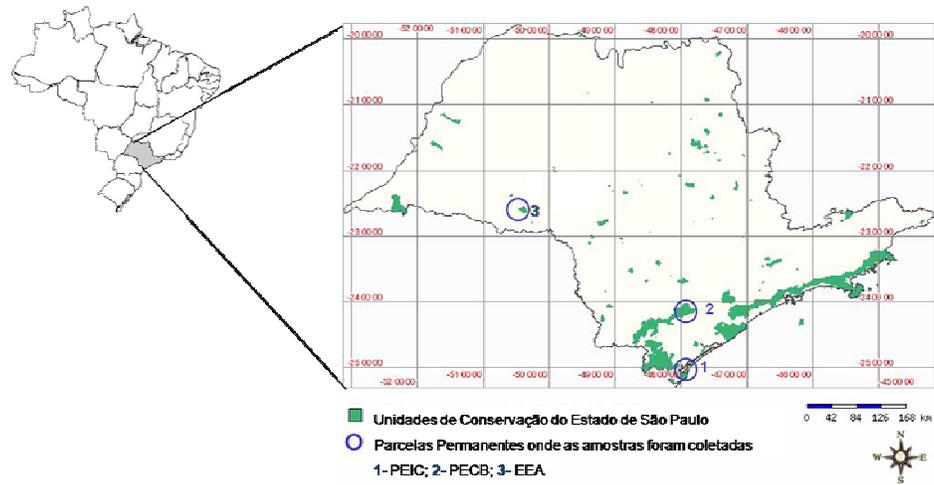


Figura 1 Mapa do Brasil, destacando o estado de São Paulo, indicando as três unidades de conservação onde o projeto é desenvolvido. 1 - Parque Estadual Ilha do Cardoso (PEIC), 2 - Parque Estadual de Carlos Botelho (PECB) e 3 - Estação Ecológica de Assis (EEA)

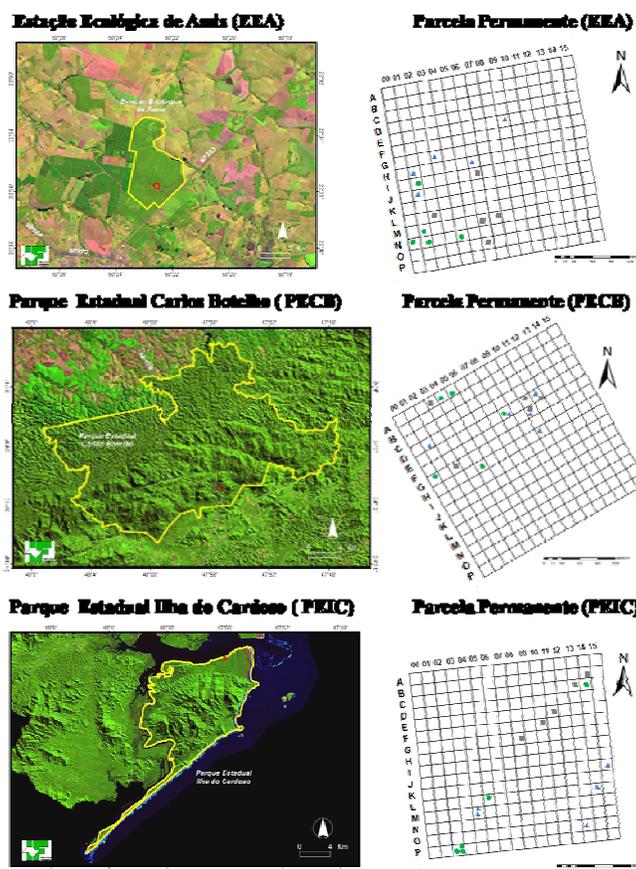


Figura 2 Áreas de coleta e suas respectivas parcelas permanentes do programa BIOTA/FAPESP. Os símbolos representam a localização das espécies arbóreas sob as quais as amostras de solo foram coletadas: *Cabralea canjerana* (●); *Guapira opposita* (▲); *Maytenus robusta* (■)

## 2.2 Coleta das amostras

No período de setembro de 2008 a julho de 2009, 15 amostras de solo nas parcelas permanentes de cada área de estudo foram coletadas, durante os períodos de alta e baixa pluviosidade, totalizando 90 amostras. Com o auxílio de um trado, foram retiradas três subamostras de solo em cada ponto de coleta, após remoção da serrapilheira, na profundidade de 0-20 cm, resultando num total

aproximado de 500 g de solo para cada amostra analisada (Figura 3). Os pontos de coleta foram sob a projeção da copa de indivíduos de três espécies arbóreas que são características da Mata Atlântica, apresentando um número representativo de indivíduos nas três áreas. As espécies arbóreas são: *Maytenus robusta*, *Cabralea canjerana* e *Guaipira opposita*. As subamostras foram homogeneizadas em sacos plásticos e mantidas em caixas térmicas com gelo, durante o transporte até o laboratório.



Figura 3 Método de coleta das amostras de solo. A. Forma de coleta das 3 subamostras de solo sob a copa das árvores com o detalhe do trado. B. Detalhe do trado contendo uma subamostra de solo coletado. C. Saco plástico contendo amostra composta (3 subamostras misturadas)

### 2.3 Isolamento dos fungos

O isolamento dos fungos do solo foi realizado pelo método de lavagem de solo e filtração de partículas. No laboratório, as amostras de solo foram secas em temperatura ambiente para a eliminação do excesso de umidade, peneiradas em malhas de 2 mm de abertura para retirada de talos, folhas e similares e,

posteriormente, processadas de acordo com protocolo de lavagem e filtração de partículas (PFENNING; ABREU, 2008). Foram colocados 10 g de cada amostra de solo em erlenmeyers contendo 200 mL de água destilada, os quais foram submetidos à agitação por 10 minutos, a 180 rpm. Após a decantação das partículas de solo, o sobrenadante foi retirado e o processo repetido por mais duas vezes. Após esse período de pré-lavagem, as partículas de solo foram transferidas para um conjunto de peneiras com diâmetros de abertura de 0,7 mm, 0,5 mm e 0,21 mm, filtradas e lavadas com auxílio de um jato de água destilada por um período de aproximadamente dois minutos. Os coloides de solo e partículas de areia foram retirados da peneira de menor abertura e depositados em papel de filtro estéril em câmara de fluxo laminar para secagem. Após a secagem, os coloides e/ou partículas foram transferidos, em número de sete partículas por placa, sendo quatro placas de Petri para cada amostra, contendo o meio *corn meal agar*, ou CMA (filtrado de fubá de milho cozido e ágar) acrescido de 50 mg/L de cloranfenicol e 50mg/L de sulfato de estreptomicina, para inibição do crescimento bacteriano. As placas foram analisadas diariamente para a verificação da ocorrência de crescimento micelial e contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs).

#### **2.4 Caracterização, identificação e preservação**

A contagem das UFCs e a caracterização inicial dos fungos foram realizadas com auxílio de um microscópio estereoscópio. Para isso, os fungos que cresceram nas partículas foram isolados em meio extrato de malte ágar. A identificação foi baseada nas características morfológicas dos isolados e, para tal, foram feitas preparações microscópicas para a visualização da morfologia dos fungos em microscópio óptico. Para fins quantitativos, a frequência de colonização das placas de Petri por espécie de fungo foi registrada.

Para a identificação das espécies, foram utilizadas literaturas específicas para cada grupo, como Domsch, Gams e Anderson (2007) e Ellis (1971, 1976), entre outros. Para identificar as espécies dos isolados de *Penicillium*, os métodos e chaves utilizados foram os descritos por Pitt (2000).

O material de referência de cada espécie identificada foi preservado em microtubos de poliestireno e, posteriormente, preservado pelo método de Castellani, em que blocos de ágar contendo o micélio fúngico são submersos em água destilada estéril.

## **2.5 Análise química do solo**

A análise química do solo foi realizada no Laboratório de Química, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade de São Paulo, conforme metodologia proposta por Raij et al. (2001). Para isso, as amostras foram secas em estufa, a 60°C, moídas e passadas em peneira de 2 mm de abertura, determinando-se a acidez ativa e potencial; a quantidade de matéria orgânica; o teor de fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K); a capacidade de troca catiônica total (T); a soma de bases trocáveis (SB) e a porcentagem de saturação por bases (V), além dos teores totais de carbono (C), nitrogênio (N) e enxofre (S).

A acidez ativa do solo foi determinada por meio da medição do pH em solução de CaCl<sub>2</sub> e a acidez potencial do solo por medição de H<sup>+</sup>Al em solução SMP. A determinação da quantidade de matéria orgânica do solo (MO) foi feita pela oxidação a CO<sub>2</sub> por íons dicromato em meio ácido e posterior colorimetria. Os elementos P, Ca e Mg foram extraídos do solo por resina trocadora de íons. O Ca e o Mg foram mensurados por espectrofotometria de absorção. O P foi quantificado por colorimetria, utilizando-se molibdato. O potássio (K) foi extraído do solo por solução Mehlich-1 e seu teor foi determinado por fotometria

de chama. O T foi medido pela soma dos cátions Ca, Mg, K, H+Al. Os valores de SB foram obtidos pela soma dos valores de Ca, Mg e K. O valor de V foi mensurado pela razão entre SB e T, multiplicada por 100. Os teores totais de C, N e S foram determinados em analisador Flash EA 1112 (Thermo Finningan Itália, Milão, Itália).

## **2.6 Análise estatística**

As espécies de fungos com frequência acima de 0,5% presentes nas áreas em relação ao número total de UFCs foram submetidas à análise de correspondência (CA) e à análise de correspondência canônica (CCA), que consiste e, um método de ordenação direta que permite relacionar a distribuição das espécies com os fatores ambientais. Com o objetivo de eliminar previamente as variáveis que na CCA estavam fortemente correlacionadas entre si e que, por isso, não contribuíram significativamente para o modelo de ordenação das espécies, efetuou-se o teste de permutação de Monte Carlo, juntamente com as variáveis ambientais (atributos químicos e dados de pluviosidade).

A análise de correspondência (CA) e a análise de correspondência canônica (CCA) foram realizadas utilizando-se o programa Canoco for Windows 4.5. Os dados químicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa estatístico Statistica 7.0 (Statsoft Inc.) e as médias comparadas pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

## **2.7 Índices de biodiversidade**

Para avaliar a diversidade dos isolados fúngicos obtidos das amostras de solo nas três áreas de coleta, foram utilizados os seguintes índices, utilizando-se o programa PAST (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001):

1) Índice de riqueza de Margalef ( $R_m$ ), cuja fórmula é

$$R_m = (S-1)/\ln(N)$$

em que  $S$  = número de espécies;  $N$  = número de indivíduos;

2) Índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ):

$$H' = \sum (p_i \cdot \ln p_i)$$

em que  $p_i$  é a proporção de indivíduos de cada espécie  $i$  em relação ao número total de indivíduos;

3) Índice de equitabilidade de Shannon-Wiener ( $J$ ):

$$J = H' / H_{\max}'$$

em que  $H_{\max}'$  é dado pela expressão:  $H_{\max}' = \log s$ , sendo  $s$  correspondente ao número de espécies amostradas.

### 3 RESULTADOS

Foram recuperadas, no total, 1.829 unidades formadoras de colônia (UFCs) a partir de 2.520 partículas de solo analisadas, sendo 840 partículas de cada área amostrada durante o período de alta e baixa pluviosidade. Desse total de UFCs, 68 (3,72%) não produziram esporos e foram denominadas de micélios estéreis, permanecendo sem classificação. As 1.761 UFCs restantes produziram estruturas reprodutivas e foram identificadas baseadas em suas características morfológicas.

A área de PECB apresentou o dobro do número de isolados (872 UFCs) das demais unidades de coleta. As áreas PEIC e a EEA geraram 462 e 495 UFCs, respectivamente, conforme mostrado na Tabela 1.

Ao todo, foram isolados e identificados 142 morfoespécies de fungos pertencentes a 67 gêneros, sendo 19 espécies de Ascomycota em sua fase teleomórfica (13,38%), 9 de Zygomycota (6,34%) e 114 espécies de Ascomycota em sua fase anamórfica (80,28%). Foram identificadas quatro espécies de Celomicetos (2,82%) e o restante de hifomicetos (77,46%).

Os gêneros dominantes, de acordo com o número de espécies, foram, em ordem decrescente, *Penicillium*, com 28 morfoespécies; *Acremonium*, com 11 espécies; *Aspergillus*, com 6; *Umbelopsis* e *Clonostachys*, com 5 e *Chaetomium*, *Eurotium* e *Oidiodendron*, com 4 espécies cada um. Do número total de espécies, 51 ocorreram como *singletons*, ou seja, apresentaram apenas um único isolado, correspondendo a 35,9% do número total.

Do total de espécies isoladas, 15 não puderam ser identificadas com base em marcadores morfológicos. Quatro dessas espécies apresentam características da família Clavicipitaceae, com esporulação esbranquiçada, mas cada um com características peculiares, como conidióforos cicatrizados, denticulados ou semelhantes ao gênero *Oidiodendron*, porém, sem a presença de conectivos

ligando os conídios, ou mesmo semelhantes ao gênero *Trichoderma*, mas com fiáldes mais finas e compridas, similar a *Tolytlocladium*. Oito espécies são fungos hifomicetos pigmentados com presença de células conidiogênicas cicatrizadas ou denticuladas, ou com características de *Scopulariopsis*, mas com colônias de coloração acinzentada e conídios com cicatrizes polares. Outra espécie apresenta conidióforos semelhantes ao gênero *Chloridium*, porém, com conídios agrupados em falsas cabeças e estruturas semelhantes a clamidósporos de formato irregular. As três espécies restantes são fungos hialinos com presença de conidiogênese tálica, similar a *Geotrichum*, ou formando apenas clamidósporos intercales ou terminais, similar a *Humicola*.

Apesar de ter sido encontrado o dobro de isolados de fungos na área de PECB das demais áreas, esta apresentou número de espécies semelhantes da EEA (Tabela 1). No entanto, a EEA apresentou maiores índices de riqueza, diversidade e equitabilidade (Tabela 2), influenciados pela predominância de espécies de *Penicillium* encontradas nessa área. As áreas PECB e PEIC apresentaram índices semelhantes entre si, com abundância das *Chloridium virescens* var. *caudigerum* e *Paecilomyces carneus*. Das 19 espécies de ascomicetos em sua fase teleomórfica encontrados, 16 estavam presentes na EEA, sendo 10 encontradas apenas nessa unidade de Mata Atlântica amostrada.

Tabela 1 Número total de UFCs, gêneros e espécies de fungos em cada área de coleta da Mata Atlântica

<b>Total</b>	<b>EEA</b>	<b>PECB</b>	<b>PEIC</b>
<b>UFCs</b>	495	872	462
<b>Espécies</b>	74	75	59
<b>Gêneros</b>	42	45	40

Tabela 2 Valores relativos aos índices de diversidade de cada área de coleta, nas duas épocas, alta (AP) e baixa pluviosidade (BP)

Áreas de coleta	EEA		PECB		PEIC	
	AP	BP	AP	BP	AP	BP
<b>Taxa S</b>	54	48	44	51	33	42
<b>Indivíduos</b>	244	251	423	449	246	216
<b>H</b>	3,357	3,218	2,891	2,627	2,349	2,669
<b>J</b>	0,532	0,521	0,387	0,266	0,299	0,343
<b>Rm</b>	9,64	8,506	7,111	8,351	6,176	7,628

**Taxa S**, número de espécies, incluindo os isolados que apresentaram micélios estéreis; **H**, Índice de Shannon-Wiener; **J**, Índice de Equitabilidade de Shannon-Wiener; **Rm**, Índice de riqueza de Margalef

Na Tabela 3, em que está detalhada a distribuição das espécies de fungos em relação às áreas amostradas, nos períodos de alta e baixa pluviosidade, estão listadas as 32 espécies que apresentaram número de UFCs maior que 0,5% do número total de UFCs obtidos. *Trichoderma* spp, *Paecilomyces carneus*, *Chloridium virescens* var. *caudigerum* e *Penicillium funiculosum* foram as espécies mais comuns, correspondendo a mais de 48% do total de UFCs encontrados. Dentre essas, a espécie *Chloridium virescens* var. *caudigerum* foi encontrada em sua maioria nas áreas PECB e PEIC, e apenas um isolado dos 103 encontrados pertencente à EEA. Já as demais espécies foram encontradas nas três áreas.

Algumas espécies com frequência acima de 0,5% foram características para as áreas amostradas. Na área PECB, pode-se citar *Phialocephala humicola*, que apresentou 45 UFCs neste parque e apenas uma UFC nas demais. A espécie *Circinella simplex* também foi característica de PECB, com 29 UFCs, enquanto, em PEIC, foram registradas apenas quatro UFCs e nenhuma em EEA. Espécies como *Penicillium* sp.30, *Umbelopsis versiformes*, *Aspergillus* sp.2 e *Talaromyces* sp., foram encontradas exclusivamente em EEA. Já *Penicillium*

sp.23 foi exclusivo de PEIC. *Penicillium sclerotiorum* e *Aspergillus* sp.1 foram encontradas exclusivamente em PECB.

Foram encontrados alguns morfotipos, com destaque para isolados do gênero *Aspergillus*, que apresentaram características morfológicas que diferem das espécies já descritas. *Aspergillus* sp.2 apresentou coloração alaranjada em suas colônias, com conidióforos curtos, unisseriados e esporos lisos. *Aspergillus* sp.3 apresentou colônias de coloração rosada com alternância de conidióforos curtos e longos, odor de “terra molhada”, sendo também unisseriado e com esporos lisos.

Tabela 3 Morfoespécies de fungos mais frequentes (com até 0,5% do número total de UFCs) em cada área de coleta, nas épocas de alta (AP) e baixa (BP) pluviosidade

Códigos	Espécies	Número de UFCs						Total	%
		EEA		PECB		PEIC			
		AP	BP	AP	BP	AP	BP		
Tri	<i>Trichoderma</i> spp.	22	30	111	187	98	76	524	28,65
Pca	<i>Paecilomyces carneus</i>	23	17	48	17	26	21	152	8,31
Cvc	<i>Chloridium vires.</i> var. <i>caud.</i>	1	0	29	23	35	15	103	5,63
Pfu	<i>Penicillium funiculosum</i>	12	2	42	28	16	3	103	5,63
Ast	<i>Acremonium strictum</i>	1	2	30	24	4	5	66	3,61
Phu	<i>Phialocephala humicola</i>	1	0	23	22	0	1	47	2,57
Eja	<i>Eupenicillium javanicum</i>	18	19	0	0	4	0	41	2,24
Pld	<i>Penicillium lividum</i>	26	6	1	0	3	1	37	2,02
Csi	<i>Circinella simplex</i>	0	0	7	22	0	4	33	1,80
Tfl	<i>Talaromyces flavus</i>	3	19	3	3	1	0	29	1,59
Ptu	<i>Penicillium</i> sp.31	0	27	0	0	0	0	27	1,48
Ptr	<i>Penicillium</i> sp.3	13	0	6	6	0	0	25	1,37
Ptt	<i>Penicillium</i> sp.30	1	23	0	0	0	0	24	1,31
Pbo	<i>Pseudallescheria boydii</i>	4	5	5	0	1	4	19	1,04
Pma	<i>Paecilomyces marquandii</i>	1	4	3	4	1	6	19	1,04
Pci	<i>Penicillium citrinum</i>	10	0	2	6	0	0	18	0,98
Uve	<i>Umbelopsis versiformes</i>	14	3	0	0	0	0	17	0,93
Pja	<i>Penicillium janczewskii</i>	11	0	0	4	0	1	16	0,87
Aja	<i>Aspergillus japonicus</i>	4	5	1	0	5	0	15	0,82
Uis	<i>Umbelopsis isabellina</i>	7	6	0	1	1	0	15	0,82
Pli	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	1	1	8	4	1	0	15	0,82
Cal	<i>Chaunopycnis alba</i>	2	0	4	2	4	2	14	0,77
Cpa	<i>Cordana pausiseptata</i>	1	3	0	0	0	9	13	0,71
Pae	<i>Paecilomyces</i> sp.	2	0	4	3	4	0	13	0,71
Xyl	<i>Xylaria</i> sp.	0	1	6	3	1	2	13	0,71
Psc	<i>Penicillium sclerotiorum</i>	0	0	5	7	0	0	12	0,66
Pvt	<i>Penicillium</i> sp.23	0	0	0	0	0	11	11	0,60
Aam	<i>Aspergillus</i> sp.1	0	0	2	8	0	0	10	0,55

Tabela 3, conclusão

Códigos	Espécies	Número de UFCs						Total	%
		EEA		PECB		PEIC			
		AP	BP	AP	BP	AP	BP		
Ala	<i>Aspergillus</i> sp.2	1	9	0	0	0	0	10	0,55
Aro	<i>Aspergillus</i> sp.3	3	1	2	2	2	0	10	0,55
Tal	<i>Talaromyces</i> sp.	4	6	0	0	0	0	10	0,55
Veü	<i>Verticillium</i> sp.	3	0	0	0	7	0	10	0,55
Mes	Micélio estéril	7	11	19	9	6	16	68	3,72
	Espécies raras*	48	51	62	64	26	39	290	15,86
<b>TOTAL</b>		<b>244</b>	<b>251</b>	<b>423</b>	<b>449</b>	<b>246</b>	<b>216</b>	<b>1829</b>	<b>100</b>

\*Espécies raras foram definidas com aquelas que apresentaram um número de UFCs menor a 0,5% do número total de UFCs, sendo, em ordem alfabética: *Acremonium alternatum*, *Acremonium fusidioides*, *Acremonium* like, *Acremonium murorum*, *Acremonium polychromum*, *Acremonium* sp.1, *Acremonium* sp.2, *Acremonium* sp.3, *Acremonium* sp.4, *Acremonium* sp.5, *Acremonium* sp.6, *Ampuliferina* sp., *Aspergillus* sp.4, *Aspergillus* sp.5, *Bionectria* sp., *Chaetomium globosum*, *Chaetomium gracile*, *Chaetomium seminudum*, *Chaetomium* sp., *Chalara* sp., *Chloridium virescens* var. *chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium* sp., *Cladosporium sphaerospermum*, *Clonostachys candelabrum*, *Clonostachys rosea* f. *nigrovirens*, *Clonostachys roseum*, *Clonostachys* sp.1, *Clonostachys* sp.2, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides* sp., *Cylindrocarpon ianthothele* var. *minus*, *Cylindrocarpon lucidum*, *Cylindrocarpon obtusisporum*, Dematiáceo “cicatrizado” morfotipo 1, *Humicola* like morfotipo 1, Dematiáceo “cicatrizado” morfotipo 2, *Humicola* like morfotipo 2, *Humicola* like morfotipo 3, *Tolypocladium* like, *Cordana* like, *Geotrichum* like, Clavicipitaceae morfotipo 1, Clavicipitaceae morfotipo 2, Clavicipitaceae morfotipo 3, *Chloridium* like, *Scopulariopsis* like, Dematiáceo “palito”, *Drechslera* sp., *Emericella* sp., *Eurotium amstelodami*, *Eurotium* sp.1, *Eurotium* sp.2, *Eurotium* sp.3, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Geomyces pannorum*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum* sp., *Glomerella cingulata*, *Gonytrichum macrocladum*, *Lecanicillium psalliotae*, *Microascus cirrosus*, *Mortierella* sp., *Mucor* sp., *Myrothecium* sp., *Myrothecium verrucaria*, *Nectria* sp., *Neocosmospora acremonius*, *Nigrospora* est. *Khuskia oryzae*, *Oidiodendron rhodogermum*, *Oidiodendron griseum*, *Oidiodendron* sp., *Oidiodendron tenuissimum*, *Penicillium* sp.10, *Penicillium* sp.12, *Penicillium* sp.15, *Penicillium* sp.17, *Penicillium* sp.21, *Penicillium* sp.28, *Penicillium* sp.29, *Penicillium* sp.35, *Penicillium* sp.36, *Penicillium* sp.38, *Penicillium* sp.41, *Penicillium* sp.43, *Penicillium* sp.44, *Penicillium* sp.45, *Penicillium* sp.6, *Penicillium* sp.8, *Penicillium decumbens*, *Penicillium vulpinum*, *Pestalotiopsis* sp., *Phialophora phaephora*, *Phoma levellei*, *Phoma* sp.1, *Phoma* sp.2, *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*, *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporum*, *Pseudobotrytis terrestris*, *Rhizomucor* sp., *Scopulariopsis* sp., *Sporothrix schenckii*, *Torulomyces lagena*, *Trichoderma polysporum*, *Trichosporiella cerebriiformis*, *Umbelopsis nana*, *Umbelopsis* sp., *Umbelopsis vinacea* e *Verticillium albo-atrum*

A análise de correspondência (CA) foi realizada com as espécies de fungos com frequência acima de 0,5% (Tabela 3). Para isso, uma amostra de solo coletada na época de baixa pluviosidade em PEIC foi descartada da análise por representar um *outlier*, ou seja, mostrou resultado de número de UFC distante do obtido para as demais amostras, em que foram isoladas nove UFCs de *Penicillium* sp.23, influenciando a análise. As amostras de solo coletadas em EEA ficaram separadas das amostras de PECB e PEIC, as quais ficaram agrupadas por sua vez (Figura 4). Apenas uma amostra da EEA se agrupou com as amostras dos demais parques. As amostras de solo de EEA também apresentaram maior dispersão em relação às amostras dos demais parques, tendendo também a uma separação dos fungos encontrados no período de alta pluviosidade dos encontrados no período de baixa de pluviosidade (Gráfico 1).

Os dados referentes à pluviosidade e à temperatura das áreas de coleta foram obtidos no website Ciiagro (<http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>). Com base nos dados semanais de temperatura e pluviosidade dos municípios de Assis, Sete Barras e Cananeia, foram inferidos os dados médios desses fatores para as três áreas, considerando-se os valores semanais do mês em que foi realizada a coleta das amostras (Tabela 4).

As amostras de solo foram coletadas em duas épocas, de baixa (julho-agosto de 2008 e 2009) e alta (fevereiro-março de 2009) pluviosidade. Porém, nos meses em que normalmente ocorre baixa pluviosidade (julho-agosto), foram observados altos volumes de chuva em PEIC (Tabela 4). Conforme reportagem publicada no website Climatempo (<http://www.climatempo.com.br/destaques/2009/07/25/sao-paulo-chuva-de-julho-2009-e-recorde/>), a pluviosidade no estado de São Paulo no mês de julho de 2009 é inédita desde 1976, quando foram observados 153 mm. A média para a época, normalmente, é de cerca de 40 mm, de acordo com medições do Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet). Apesar dos valores inesperados, já

que no período de alta pluviosidade houve baixa incidência de chuva, as amostras coletadas no PEIC em julho de 2009 foram consideradas como sendo da época de baixa pluviosidade.

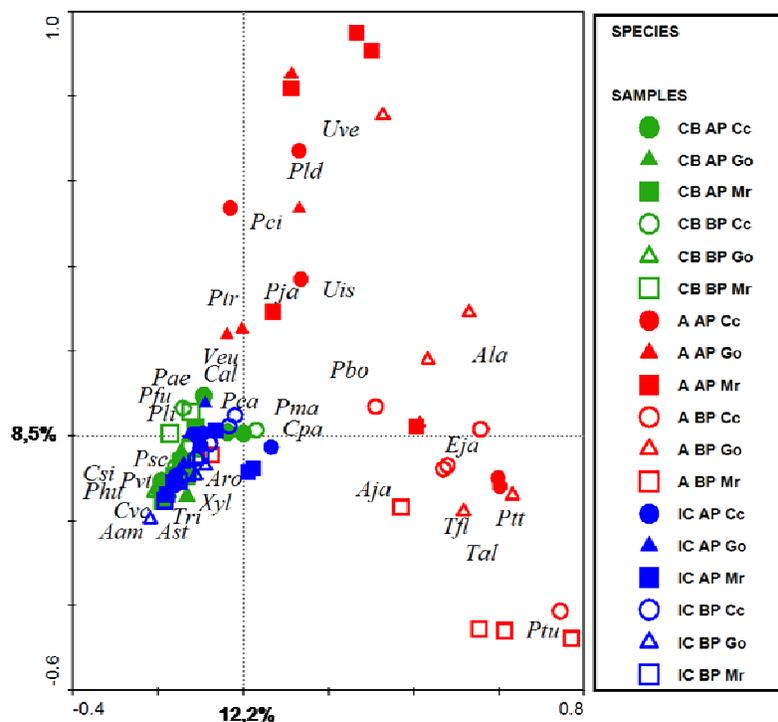


Gráfico 1 Biplot das espécies de fungos com as amostras de solo da análise de correspondência (CA). Amostras PECB (Parque Estadual de Carlos Botelho) foram representadas em verde, amostras EEA (Estação Ecológica de Assis) em vermelho, e amostras PEIC (Parque Estadual da Ilha do Cardoso) em azul. AP (época de alta pluviosidade), BP (época de baixa pluviosidade). Cc (*Cabranea canjerana*) em círculo, Go (*Guapira opossita*) em triângulo e Mr (*Maytenus robusta*) em quadrado. As letras em itálico indicam os códigos das espécies de fungos, detalhados na Tabela 3

Tabela 4 Valores referentes à temperatura média e pluviosidade nas áreas de coleta, durante as épocas de alta (AP) e baixa (BP) pluviosidade

Atributo	EEA		PECB		PEIC	
	AP	BP	AP	BP	AP	BP
<b>Precipitação (mm)</b>	231,9	176,2	243,8	90,5	82,7	159,6
<b>Temperatura (°C)</b>	24	17	27	21	25	18

Os atributos químicos do solo analisados, com exceção para Ca e V, apresentaram diferenças estatísticas significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as áreas analisadas (Tabela 5). Os valores de P e C apresentaram diferenças significativas tanto em relação a áreas quanto ao período de coleta, tendo o PECB na época de baixa pluviosidade apresentado os maiores valores de P. Já o C apresentou os maiores valores na época de alta pluviosidade, tanto do PECB quanto do PEIC. Não foram observadas diferenças significativas entre os atributos químicos do solo e as espécies de árvores sob as quais as amostras de solo foram coletadas. Assim, os resultados apresentados foram apenas referentes às médias dos valores obtidos em relação às áreas e às épocas de coleta. As amostras de solo apresentaram pH ácido com média de 3,5.

A área EEA foi a que apresentou os valores mais baixos de MO, Mg, H+Al, SB, T, C e P, tanto na época de alta pluviosidade quanto na de baixa pluviosidade, tendo sido esta a área que mais diferiu estatisticamente das demais em relação aos valores dos atributos químicos do solo. Apenas traços de S foram detectados no solo na época de alta pluviosidade e uma pequena porcentagem, porém significativamente maior, na época de baixa pluviosidade.

Tabela 5 Valores médios dos atributos químicos do solo de cada área de coleta, nas duas épocas, de alta (AP) e baixa pluviosidade (BP)

Atributo	EEA		PECB		PEIC	
	AP	BP	AP	BP	AP	BP
<b>pH</b>	3,78 <sup>a</sup>	3,67 <sup>a</sup>	3,71 <sup>a</sup>	3,72 <sup>a</sup>	3,16 <sup>b</sup>	3,17 <sup>b</sup>
<b>M.O. (g.dm<sup>-3</sup>)</b>	18,40 <sup>b</sup>	18,33 <sup>b</sup>	42,13 <sup>a</sup>	44,33 <sup>a</sup>	51,73 <sup>a</sup>	47,07 <sup>a</sup>
<b>P (mg.dm<sup>-3</sup>)</b>	5,20 <sup>d</sup>	6,47 <sup>c</sup>	13,47 <sup>b</sup>	20,47 <sup>a</sup>	8,13 <sup>c</sup>	17,87 <sup>b</sup>
<b>K (mmolc.dm<sup>-3</sup>)</b>	0,79 <sup>b</sup>	0,99 <sup>b</sup>	2,30 <sup>a</sup>	2,68 <sup>a</sup>	1,06 <sup>b</sup>	1,27 <sup>b</sup>
<b>Ca (mmolc.dm<sup>-3</sup>)</b>	2,80 <sup>a</sup>	2,73 <sup>a</sup>	5,60 <sup>a</sup>	6,93 <sup>a</sup>	2,93 <sup>a</sup>	9,67 <sup>a</sup>
<b>Mg (mmolc.dm<sup>-3</sup>)</b>	1,80 <sup>b</sup>	2,13 <sup>b</sup>	4,47 <sup>a</sup>	5,33 <sup>a</sup>	2,73 <sup>a</sup>	4,87 <sup>a</sup>
<b>H+Al (mmolc.dm<sup>-3</sup>)</b>	53,00 <sup>b</sup>	59,13 <sup>b</sup>	124,00 <sup>a</sup>	120,93 <sup>a</sup>	119,27 <sup>a</sup>	111,20 <sup>a</sup>
<b>SB (mmolc.dm<sup>-3</sup>)</b>	5,39 <sup>b</sup>	5,86 <sup>b</sup>	12,37 <sup>a</sup>	14,95 <sup>a</sup>	6,73 <sup>b</sup>	15,81 <sup>a</sup>
<b>T (mmolc.dm<sup>-3</sup>)</b>	58,39 <sup>b</sup>	64,99 <sup>b</sup>	136,37 <sup>a</sup>	135,88 <sup>a</sup>	125,99 <sup>a</sup>	127,01 <sup>a</sup>
<b>V (%)</b>	8,87 <sup>a</sup>	8,93 <sup>a</sup>	9,60 <sup>a</sup>	11,27 <sup>a</sup>	5,87 <sup>a</sup>	12,33 <sup>a</sup>
<b>N (%)</b>	0,11 <sup>b</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,18 <sup>b</sup>
<b>C (%)</b>	1,75 <sup>c</sup>	1,95 <sup>c</sup>	4,35 <sup>a</sup>	3,61 <sup>b</sup>	4,48 <sup>a</sup>	1,95 <sup>c</sup>
<b>S (%)</b>	0,00 <sup>c</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,01 <sup>b</sup>

Os valores correspondem à média de 15 repetições em cada área e período de coleta  
 Letras iguais dentro da mesma linha não diferem significativamente, pelo teste de Tukey  
 ( $p \leq 0,05$ )

SB – soma de bases trocáveis (Ca, Mg, K, H+Al)

T – capacidade de troca catiônica total

A análise de correspondência canônica (CCA) foi realizada utilizando-se os valores resultantes da análise química do solo e os de pluviosidade locais como variáveis ambientais, e as espécies de árvores sob as quais as amostras de solo foram coletadas, como variáveis nominais (Tabela 5). Nesta análise, foram incluídos apenas os fatores ambientais de maior significância, ou seja, aqueles que apresentaram valor de  $p < 0,05$ , segundo o teste de permutação de Monte Carlo (Tabela 6), além das três espécies arbóreas. Para a análise, foram excluídas as espécies *Cordana pausiseptata* (Cps), *Penicillium 23* (Pvt),

*Penicillium sclerotiorum* (Psc) e *Penicillium 3* (Ptr), constatadas como “outliers”, pois não estavam permitindo a separação dos dados.

Os dados foram representados em um gráfico triplot, que apresentou 56,3% das variáveis explicadas pelos dois primeiros eixos canônicos (Gráfico 2). Os fatores ambientais que mais influenciaram na distribuição dos dados no gráfico foram MO, K, T, H+Al e pluviosidade ( $p=0,001$ ). O eixo x do gráfico separou as amostras coletadas no PECB e no PEIC das amostras da EEA, mostrando, mais uma vez, que esta área apresenta comunidade de fungos diferente das demais áreas. As espécies arbóreas *Cabrlea canjerana*, *Guapira opposita* e *Maytenus robusta* não exerceram influência na composição das comunidades de fungos nas três unidades de Mata Atlântica amostradas.

Tabela 6 Valores  $p$  dos fatores ambientais das três áreas de coleta, obtidos no teste de permutação de Monte Carlo

<b>Código</b>	<b>Variável ambiental</b>	<b>Valor <math>p^*</math></b>
<b>M.O.</b>	Matéria orgânica	0,001*
<b>K</b>	Potássio	0,001*
<b>T</b>	Capacidade de troca catiônica total	0,001*
<b>H+Al</b>	Acidez potencial	0,001*
<b>Pluvios</b>	Pluviosidade	0,001*
<b>pH</b>	pH	0,003*
<b>Mg</b>	Magnésio	0,009*
<b>P</b>	Fósforo	0,023*
<b>C</b>	Carbono	0,040*
<b>SB</b>	Soma de bases trocáveis	0,099
<b>Mr</b>	<i>Maytenus robusta</i>	0,124
<b>N</b>	Nitrogênio	0,287
<b>Go</b>	<i>Guapira opposita</i>	0,382
<b>S</b>	Enxofre	0,445
<b>Ca</b>	Cálcio	0,508
<b>Cc</b>	<i>Cabrlea canjerana</i>	0,546
<b>V</b>	Porcentagem de saturação por bases	0,639

\*Os valores foram considerados significativos ( $p<0,05$ )



#### 4 DISCUSSÃO

A maioria das espécies encontradas neste trabalho pode ser considerada de típicos fungos do solo, envolvidos na decomposição da matéria orgânica (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 2007). *Trichoderma* e *Penicillium* foram os gêneros mais abundantes em todas as áreas amostradas, seguidos por *Paecilomyces* e *Chloridium*. Resultados semelhantes foram encontrados por Bills e Polishook (1994), ao estudarem a abundância e a diversidade de fungos de serrapilheira de florestas úmidas em Costa Rica, em que os maiores números de isolados foram de *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis guepini*, *Aspergillus* sp., *Paecilomyces* sp e fungos Mucorales.

O gênero *Trichoderma* é caracterizado por apresentar crescimento rápido de colônias em meios de cultura, sendo comumente encontrado em solos e citado em vários estudos como antagonista de diversos patógenos (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 2007). *Penicillium* é um gênero que contém saprófitos comuns, cujos conídios são facilmente distribuídos através da atmosfera. A predominância de *Penicillium* pode estar relacionada ao antagonismo sobre outras espécies, seja por produção de metabólitos secundários ou, mesmo indiretamente, por meio da competição nutricional, da produção elevada de esporos e da maior capacidade de crescimento em meios de cultivo (GOMEZ; PIOLI; CONTI, 2007).

O número de espécies encontradas parece ser relativamente alto quando comparado a trabalhos semelhantes. Bellis, Kernaghan e Widden (2007) encontraram 74 espécies de fungos em solos florestais de Quebec, Canadá, utilizando metodologia de lavagem de solo, valor bem abaixo do encontrado em nosso estudo. Já Satish, Sultana e Nanjundiah (2007), identificando os fungos apenas em nível de gênero, encontraram 46 fungos em florestas tropicais decíduas no sul da Índia, sendo a maioria dos isolados de fungos em sua fase

anamórfica. Diversos fungos encontrados por esses autores estavam presentes neste trabalho, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Mortierella* e *Myrothecium*, entre outros. Os autores encontraram maior abundância de fungos do gênero *Mortierella*, *Fusarium* e *Penicillium*.

Schoenlein-Crusius et al. (2006), realizando um levantamento de fungos microscópicos de Mata Atlântica em Cubatão, SP, isolados de solo e folheto misto utilizando diferentes técnicas, encontraram 125 fungos anamorfo, valor próximo ao encontrado neste trabalho, tendo, aqui, sido isolados apenas do solo. Dos fungos isolados por esses autores, vários foram semelhantes aos encontrados no presente trabalho, como *Acremonium strictum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium decumbens* e *Pestalotiopsis* spp.

Marques, Gusmão e Maia (2008), avaliando a riqueza de ascomicetos anamorfo, em área de Mata Atlântica na Bahia, identificaram 106 táxons associados a folhas, pecíolos, galhas e cascas. Parte desses fungos encontrados também foi registrada neste estudo, como, por exemplo, as espécies *Phialocephala humicola*, *Gonytrichum macrocladum* e *Pseudobotrytis terrestris*.

Os resultados encontrados indicam que a unidade de Mata Atlântica amostrada que abriga maior abundância de fungos, quando comparada às demais áreas foi o PECB, equivalendo a quase o dobro do valor de UFCs recuperados das outras áreas. Entretanto, este parque não apresentou maior riqueza e diversidade de espécies, já que os índices de diversidade utilizados levam em conta o número de espécies encontradas de acordo com o valor de indivíduos obtidos. Mesmo com menor abundância em relação ao PECB, a EEA foi a que apresentou maior riqueza e diversidade de espécies. A equitabilidade nesta área também foi maior, demonstrando que as espécies encontradas na estação são mais homogêneas, em número de indivíduos, que as demais áreas. Esse resultado é influenciado pela predominância de espécies de gênero *Penicillium* presente nesta área. Os índices de biodiversidade analisados poderiam ter sido

diferentes se as espécies de *Trichoderma* tivessem sido identificadas, já que foi encontrado maior número de isolados deste gênero na área de PECB.

Fungos considerados patógenos de plantas, como *Fusarium solani* ou *Glomerella cingulata*, foram detectados neste estudo, mas com poucos isolados, já que eles costumam ser encontrados em maior número em áreas cultivadas. Apesar de potencialmente patogênicos, eles são considerados comuns em solos, principalmente *Fusarium solani*, no qual formas saprófitas ocorrem com frequência na rizosfera.

Patógenos humanos também foram encontrados, como os fungos *Pseudallescheria boydii* e *Coccidioides immitis*. *Pseudallescheria boydii* é um ascomiceto responsável por causar várias infecções que podem afetar praticamente todos os órgãos do corpo humano (GILGADO et al., 2005). *Coccidioides immitis* é patógeno de mamíferos, sendo encontrado em diversos países da América (GREENE et al., 2000). As duas espécies já foram detectadas em solos de diferentes regiões.

A distribuição de espécies não foi igualitária, a exemplo do que é relatado por vários autores (BERTTUCCI; ROQUEMBERT, 1995; HOUSTON; VISSER; LAUTENSCHLAGER, 1998), em que um pequeno número de espécies é predominante e um alto número de espécies apresenta pouco ou apenas um isolado. Para Marques, Gusmão e Maia (2008), o predomínio de uma espécie está ligado aos fatores climáticos e físico-químicos dos substratos encontrados na área investigada; outra explicação seria que as técnicas aplicadas podem favorecer alguns fungos pelas condições nutricionais às quais são submetidos.

Gomez, Pioli e Conti (2007), analisando a abundância e a distribuição de fungos em solos da Argentina, observaram que os demais gêneros recuperados por eles foram encontrados em pequena proporção ou ausentes nos locais onde *Penicillium* e *Aspergillus* estavam presentes em alta densidade, utilizando a

técnica de diluição seriada. Neste estudo, utilizando a técnica de lavagem do solo, foi possível observar resultados parcialmente semelhantes aos destes trabalhos. Nas áreas amostradas, houve altas densidades de *Penicillium*, além de *Trichoderma*, e os demais gêneros tiveram menor proporção. No entanto, foi possível recuperar um número expressivo de espécies raras. Na área PECB, em que houve maior número de UFCs recuperados e em cujos gêneros *Penicillium* e *Trichoderma* contribuíram de maneira significativa para esse fato, foram obtidos também os maiores valores de espécies raras. Isso demonstra que a técnica foi eficiente na recuperação de espécies de baixa esporulação, mesmo quando houve altas concentrações de fungos de alta produção de esporos. Em análises de solo pela técnica de diluição seriada, espécies de *Penicillium* são detectadas com particular frequência. No entanto, essa frequência é consideravelmente reduzida quando a técnica de lavagem do solo é utilizada, e o número de espécies presente, em geral, permanece inalterado (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 2007).

Vários isolados encontrados não apresentaram estruturas reprodutivas que permitiriam suas identificações e estavam presentes em todas as unidades nos dois períodos de coleta. A metodologia utilizada pode ter interferido nesse resultado, já que as amostras de solo são lavadas em água corrente para a eliminação do excesso de esporos que, por outro lado, favoreceu o crescimento de fungos com menor produção de esporos.

Alguns fungos encontrados não puderam ser identificados apenas pelas características morfológicas, a partir de chaves de identificação, uns em nível de espécie, outros nem ao nível de gênero. Esses fungos podem ter sido anteriormente isolados e não constarem nos materiais de referência utilizados ou mesmo se tratarem de novos gêneros e/ou espécies, no entanto é necessária a utilização de outras técnicas para esta confirmação.

Conforme mostrado na análise CA, as áreas PECB e PEIC apresentaram diversas espécies em comum, ficando agrupadas no gráfico, mostrando que as comunidades de fungos do solo dessas unidades de Mata Atlântica são semelhantes entre si, no que se refere às espécies encontradas. Por outro lado, a área da EEA teve separação de suas espécies em relação aos dois outros parques, demonstrando clara diferença desta área em relação às demais em sua comunidade mais frequente de fungos.

Não houve distinção entre as comunidades de fungos nos diferentes períodos de coleta do PECB e do PEIC, já que não ocorreu separação na distribuição de suas amostras em relação às épocas de alta e baixa pluviosidade. Já na EEA apresentou tendência a separação das espécies em relação a esses períodos.

Por ser a área mais distante do litoral, a EEA pode sofrer o maior efeito da continentalidade, caracterizado por maiores diferenças de temperatura e pluviosidade ao longo do ano, o que influencia também o intemperismo do solo. As outras áreas são mais próximas entre si geograficamente, o que pode ter relação com as comunidades de fungos.

A área da EEA apresentou elevado número de espécies de ascomicetos em sua fase teleomórfica. Este fato pode ser explicado pelo baixo teor de matéria orgânica e de outros atributos químicos, como Mg, H+Al e T nesta área, quando comparada às demais. Este fato pode ter favorecido a ocorrência de fungos em sua fase teleomórfica como forma de resistência às menores quantidades de matéria orgânica utilizadas para sua nutrição. Segundo Ruegger e Tauk-Tornisielo (2004), a atividade fúngica depende da matéria orgânica do solo, a qual determina sobremaneira a ocorrência e a distribuição desses organismos. Além do mais, a EEA apresenta área com características próximas ao Cerrado, mais aberta em relação às demais, ocorrendo maior incidência de sol,

favorecendo assim a presença de fungos em sua fase sexuada e de fungos pigmentados (PAN et al., 2008).

O solo da EEA é do tipo Latossolo Vermelho Distrófico, caracterizado pela reduzida capacidade de troca de cátions em função da maior presença de minerais na fração argila do tipo 1:1 (RESENDE et al., 2002). Esse fato explica os menores valores de Mg, H+Al para o solo da EEA, pois o valor de T é resultante da soma desses dois elementos com o K e o Ca. Já o solo do PECB é, principalmente, do tipo Cambissolo Háplico TB Distrófico Húmbrico. Os solos Cambissolos são caracterizados pela presença de argila com maior capacidade de retenção de cátions, o que explica os maiores valores de T e de elementos como K, Ca e Mg (RESENDE et al., 2002).

Os baixos valores de pH de solos florestais podem estar relacionados à decomposição de matéria orgânica presente na camada superficial do solo. A falta de detecção do elemento S no período de alta pluviosidade pode ter sido devido à lixiviação deste nutriente da camada superior para camadas inferiores do solo. A presença de algumas espécies exclusivas em cada área amostrada indica interferência das diferentes quantidades dos atributos químicos analisados, além de diferenças na temperatura e pluviosidade das áreas. Para Myers et al. (2001), a temperatura e o potencial de água do solo influencia diretamente a atividade microbiana, apresentando a possibilidade de que diferentes membros da comunidade microbiana do solo possam ser mais ou menos fisiologicamente ativos quando esses fatores ambientais variam sazonalmente.

A análise CCA mostrou separação maior entre as amostras de solo do PECB e do PEIC. Isso pode ter ocorrido devido às diferenças no pH, cujos valores foram menores para o PEIC. Porém, as amostras do PECB e do PEIC ainda ficaram próximas e apresentaram relação positiva com a maioria dos atributos químicos representados no gráfico, já que esses atributos apresentaram

valores semelhantes nessas duas áreas. Isso que indica que os solos desses dois parques apresentam características químicas semelhantes, como maior quantidade de matéria orgânica, que, por sua vez, podem ter influenciado a seleção de comunidades de fungos semelhantes.

A composição das comunidades de fungos não foi influenciada pelas espécies arbóreas. Em florestas tropicais, cujo elevado número de espécies de árvores e a proximidade entre elas e suas raízes diluiriam qualquer efeito, que pode ser detectado eventualmente em florestas boreais, são caracterizadas por um número de espécies de plantas reduzido.

O método utilizado, mesmo não recuperando fungos zoospóricos, Glomeromycota e Basidiomycota, permitiu a recuperação de fungos raros presentes no solo, mesmo nas áreas em que foi recuperada grande quantidade de fungos de alta capacidade de produção de esporos e outros comuns em solos, ao contrário de outras técnicas, como a diluição seriada, amplamente utilizada para a determinação da diversidade de fungos.

Os resultados obtidos demonstram a elevada diversidade de fungos em unidades de Mata Atlântica no estado de São Paulo, fornecendo conhecimento da micobiota presente nesse bioma e subsídios para a sua conservação.

O levantamento de fungos tem sido eficaz para ampliar o conhecimento sobre a diversidade desses microrganismos, permitindo que novas espécies sejam conhecidas e novos registros sejam feitos, o que abre a possibilidade de sua posterior utilização em diversos fins (MARQUES; GUSMÃO; MAIA, 2008).

Técnicas independentes de cultivo utilizando DNA metagenômico podem ser utilizadas em conjunto para que se tenha maior conhecimento da diversidade de fungos presentes nos solos da Mata Atlântica, fornecendo dados que possam ser utilizados para justificar a conservação de áreas da vegetação

natural, preservando-as para uma utilização sustentável de seus recursos genéticos.

## 5 CONCLUSÕES

A metodologia utilizada demonstrou ser eficiente na recuperação de fungos do solo, já que foram encontradas 142 morfoespécies de fungos filamentosos.

As comunidades de fungos são compostas por um pequeno número de espécies dominantes e número elevado de espécies raras.

As áreas no domínio de Mata Atlântica são heterogêneas em função das características edafoclimáticas, o que reflete na composição qualitativa das comunidades de fungos.

A composição das comunidades de fungos não foi influenciada pelas espécies arbóreas, mas sim pela área de coleta.

Os resultados obtidos demonstram a grande diversidade de fungos presente no solo da Mata Atlântica e representam contribuição relevante para o conhecimento da microbiota desse bioma.

## REFERÊNCIAS

- BELLIS, T.; KERNAGHAN, G.; WIDDEN, P. Plant community influences on soil microfungal assemblages in boreal mixed-wood forests. **Mycologia**, New York, v. 99, n. 3, p. 356-367, June 2007.
- BERTTUCCI, L.; ROQUEMBERT, M. F. Microfungi from a tropical rain forest litter and soil: a preliminary study. **Nova Hedwigia**, Berlin, v. 61, n. 2, p. 111-118, 1995.
- BILLS, G. F.; POLISHOOK, E. Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. **Mycologia**, New York, v. 86, n. 2, p. 187-198, Mar./Apr. 1994.
- BRODIE, E.; EDWARDS, S.; CLIPSON, N. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 45, n. 2, p. 105-114, July 2003.
- CHAUVAT, M.; PONGE, J. F.; WOLTERS, V. Humus structure during a spruce forest rotation: quantitative changes and relationship to soil biota. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 58, n. 3, p. 625-631, June 2007.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. London: Academic, 2007. 672 p.
- ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Wallingford: CAB International, 1971. 608 p.
- \_\_\_\_\_. **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**. Netherlands: Kluwer Academic, 1992. p. 183-223.
- GILGADO, F. et al. Molecular phylogeny of the *Pseudallescheria boydii* species complex: proposal of two new species. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, n. 10, p. 4930-4942, Dec. 2005.

- 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**, Berlin, v. 43, n. 3, p. 373-377, Jan. 2007.
- GRAYSTON, S. J. et al. Accounting of variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 4/5, p. 533-551, Nov. 2001.
- GREENE, D. R. et al. Soil isolation and molecular identification of *Coccidioides immitis*. **Mycologia**, New York, v. 9, n. 3, p. 406-410, June 2000.
- HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. **PAST**: paleontological statistics software package for education and data analysis. Oxford: Blackwell, 2001. 351 p.
- HOUSTON, A. P. C.; VISSER, S.; LAUTERNSCHLAGER, G. Microbial process and fungal community structure in soils from clear-cut and unharvested areas of two mixedwood forests. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 76, n. 4, p. 630-640, Apr. 1998.
- KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 65-76, Jan. 1999.
- MARQUES, M. F. O.; GUSMÃO, L. F. P.; MAIA, L. C. Riqueza de espécies de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica no Morro da Pioneira, Serra da Jibóia, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 22, n. 4, p. 954-961, jul./ago. 2008.
- MUMMEY, D. L. et al. Spatial analysis reveals differences in soil microbial community interactions between adjacent coniferous forest and clearcut ecosystems. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 42, n. 7, p. 1138-1147, July 2010.
- MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, n. 24, p. 853-858, June 2000.
- MYERS, R. T. et al. Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 65, n. 2, p. 359-367, Mar./Apr. 2001.

NIELSEN, U. N. et al. The influence of vegetation type, soil properties and precipitation on the composition of soil mite and microbial communities at the landscape scale. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1317-1328, July 2010.

PAN, H. et al. Diversity analysis of soil dematiaceous hyphomycetes from the Yellow River source area. **Journal of Zhejiang University Science B**, Hangzhou, v. 9, n. 10, p. 829-834, Oct. 2008.

PÉREZ-PIQUERES, A. et al. Response of soil microbial communities to compost amendments. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 38, n. 3, p. 460-470, Mar. 2006.

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.

\_\_\_\_\_. Saprophytic and plant pathogenic soil-fungi. In: MOREIRA, F. M.; JEROEN-HUISING, E.; BIGNELL, D. E. (Ed.). **A handbook of tropical soil biology: sampling and characterization of below-ground biodiversity**. London: Earthscan, 2008. p. 149-157.

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

RAIJ, B. van et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

RESENDE, M. et al. **Pedologia: base para distinção de ambientes**. 4. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 2002. 338 p.

RUEGGER, M. J. S.; TAU-K-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Jureia-Itatins, São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 205-211, abr./jun. 2004.

SATISH, N.; SULTANA, S.; NANJUNDIAH, V. Diversity of soil fungi in a tropical deciduous forest in Mudumalai, southern India. **Current Science**, Columbus, v. 93, n. 5, p. 669-677, Sept. 2007.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Microscopic fungi in the Atlantic Rainforest in Cubatão, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 267-275, Apr. 2006.