

ANGELA MICHELATO GHIZELINI

SUCCESSÃO DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* EM DECOMPOSIÇÃO

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Florestal, curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Celso Garcia Auer
Co-orientadores:
Prof.^a Dra. Ida Chapaval Pimentel
Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann

CURITIBA

2005

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	iii
LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 FUNGOS COMO DECOMPOSITORES DA MATÉRIA ORGÂNICA	4
2.1.1 Diversidade.....	4
2.1.2 Capacidade decompositora	6
2.2 SUCESSÃO FÚNGICA.....	9
2.2.1 Sucessão em folhas de modo geral.....	16
2.2.2 Sucessão em acículas de <i>Pinus</i>	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA.....	17
3.2 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	18
3.3 ANÁLISE DO MATERIAL	19
3.4 ISOLAMENTO DOS FUNGOS	19
3.5 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS.....	19
3.6 MÉTODO DE CULTURA EM LÂMINA OU TÉCNICA DO MICROCULTIVO	20
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 ASPECTOS CLIMÁTICOS	21
4.2 SUCESSÃO FÚNGICA.....	22
4.3 FUNGOS COLONIZADORES	28
4.4 CORRELAÇÕES	41
5 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXO 1	61

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - TEMPERATURA E PRECIPITAÇÃO NA ÁREA DE ESTUDO NOS MESES DE COLETA.....	22
FIGURA 2 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS COLETAS	23
FIGURA 3 - NÚMERO DE REGISTROS DOS GÊNEROS COLONIZADORES DE ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i>	30
FIGURA 4 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Trichoderma</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	30
FIGURA 5 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Fusarium</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	32
FIGURA 6 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Verticillium</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	33
FIGURA 7 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Pestalotia</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	34
FIGURA 8 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Mucor</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	35
FIGURA 9 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Alternaria</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	36
FIGURA 10 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Rhizoctonia</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	37
FIGURA 11 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Acremonium</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS COLETAS.....	37
FIGURA 12 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Penicillium</i> , EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	38
FIGURA 13 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Epicoccum</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	39
FIGURA 14 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Cladosporium</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	40
FIGURA 15 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Colletotrichum</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	40

FIGURA 16 -NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO <i>Gliocladium</i> EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> NAS 4 COLETAS.....	41
FIGURA 17 -NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> E TEMPERATURA MÉDIA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.	42
FIGURA 18 -NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> E TEMPERATURA MÁXIMA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA	43
FIGURA 19 -NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> E TEMPERATURA MÍNIMA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.	44
FIGURA 20 - NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE <i>Pinus taeda</i> E PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.	45

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - GÊNEROS E NÚMERO DE REGISTROS DE FUNGOS ISOLADOS DE ACÍCULAS DE *Pinus taeda*, SEGUNDO AS ÉPOCAS DO ANO..... 24
- TABELA 2 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DE GÊNEROS DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* EM DECOMPOSIÇÃO SEGUNDO OS MESES DE COLETA..... 25
- TABELA 3 - SUCESSÃO FÚNGICA EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda*..... 26
- TABELA 4 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DE GÊNEROS DE FUNGOS ENCONTRADOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda*..... 29

RESUMO

A serapilheira depositada sobre a superfície do solo apresenta quantidades significativas de nutrientes, que podem ser reciclados pela decomposição microbiana, principalmente pelos fungos do solo. Sabendo-se da dependência entre a produtividade do sítio, a ciclagem de nutrientes e o processo de decomposição da serapilheira acumulada, o conhecimento da microbiota responsável pela decomposição é o caminho adequado para se obter respostas sobre a produtividade florestal e a demanda de nutrientes. O objetivo desse estudo foi conhecer a diversidade e sucessão dos fungos durante a decomposição da serapilheira de acículas de *Pinus taeda*, ao longo de 12 meses. Assim como, estabelecer uma relação entre a presença dos fungos e as condições climáticas locais. O estudo foi estabelecido em um plantio experimental de *P. taeda*, com 4 anos de idade, localizado em Três Barras, SC. Para acompanhar a sucessão, acículas senescentes foram coletadas das árvores e colocadas em sacolas seletivas para microrganismos, deixadas sob a floresta. A primeira amostra foi levada ao laboratório e o restante foi mantido *in situ* para que as acículas continuassem seu processo de decomposição natural, sendo coletadas a cada três meses. No laboratório, a cada coleta, as acículas foram submetidas a 20 lavagens sucessivas e retirados fragmentos, os quais foram inseridos em placas de Petri contendo meio Extrato de Malte 2% e incubados sob condição ambiente. Dados referentes a temperatura e precipitação pluviométrica da área experimental foram comparados com o número de registros dos fungos isolados para fins de correlação estatística. Durante a sucessão fúngica, foram identificados 13 gêneros fúngicos: *Acremonium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Cladosporium*, *Coletotrichum*, *Gliocladium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Trichoderma* (Deuteromycetes), *Mucor* (Zygomycetes) e *Rhizoctonia* (Basidiomycetes). Os gêneros significativamente mais abundantes foram *Trichoderma*, *Fusarium* e *Verticillium*. Sobre a correlação entre os fatores climáticos e a presença dos fungos, verificou-se que somente as temperaturas média e máxima influenciaram significativamente a abundância dos fungos em acículas de pínus em decomposição, durante o período estudado.

Palavras-chave: decomposição, floresta, micologia.

Título: SUCESSÃO DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* EM DECOMPOSIÇÃO

ABSTRACT

The litter settled over soil surface presents significant amount of nutriment, which can be recycled by bacterial decomposition, mainly by soil fungi. Knowing of the dependence between local area productivity, nutriment cycling and litter decomposition process, the knowledge of the mycobiota responsible for decomposition is the right way to obtain answers about forest's productivity and nutriment's demand. The aim of this study was to know the diversity and succession of fungi during litter decomposition of needle of *Pinus taeda*, for over 12 months. It was tried, also, to establish a relation between the presence of fungi and the local area's climate conditions. The study was established in an experimental plantation of *P. taeda*, with four years old, located at Três Barras, Santa Catarina, Brasil. In order to follow the succession, senescent needles were collected from trees and putted in selective bags for microorganisms, which were left over the forest. The first sample was taken to the laboratory and the remaining ones were kept *in situ* so that the needles continue their natural decomposition process and were collected every 3 months. In the laboratory, after each collection, the collected needles were submitted at 20 successive washings. Fragments were taken off and inserted in Petri dishes containing malt extract agar 2% and were incubated at enviromental conditions. Data concerning temperature and pluviometer precipitation at the experiment area were compared with the record of isolated fungi for means of statistic correlation. During fungi succession, 13 genera were identified: *Acremonium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Gliocladium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Trichoderma* (Deuteromycetes), *Mucor* (Zygomycetes) e *Rhizoctonia* (Basidiomycetes). The most abundant genera, in a significant way, were *Trichoderma*, *Fusarium* e *Verticillium*. Concerning the correlation between climate factors and fungi presence, it was verified that only average and maximum temperature influenced in significant way fungi abundance in decomposing needle pinus, during the observed period.

Key Words: decomposition, forest, mycology.

Title: FUNGAL SUCESSION ON *Pinus taeda* NEEDLES UNDER DECOMPOSITION

1 INTRODUÇÃO

As atividades de reflorestamento com espécies do gênero *Pinus* no Brasil foram intensificadas a partir da segunda metade da década de sessenta, pelo estímulo dado pela lei de incentivos fiscais. Extensas áreas foram ocupadas, predominantemente, com *P. taeda*, constituindo, a base de importantes atividades industriais, como a produção de celulose e papel, embalagens, aglomerados, mobiliário, compensados, chapas, dentre outras. Atualmente, cerca de 1.800.000 ha são ocupados por espécies de *Pinus* no Brasil. Nos estados da região Sul, estima-se em 1.060.000 ha as áreas plantadas, com a seguinte distribuição, 605.000 ha no Paraná, 318.000 ha em Santa Catarina e 136.000 ha no Rio Grande do Sul (SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA, 1998).

Evidentemente, uma área de tal dimensão, engloba uma variação muito grande de solos, como descrito por REISSMANN e WISNIEWSKI (2000) e climas, trazendo, como conseqüência, acentuadas diferenças de produtividade como relatado por CARVALHO et al. (1999). As diferenças em produtividade são devidas às interações entre fatores biofísicos e biológicos, cuja interação é denominada de sítio e, geralmente, expressa pela altura dominante das árvores numa determinada idade. Os fatores ligados ao solo desempenham papel preponderante na definição da qualidade do sítio (GONÇALVES; DEMATTE; COUTO, 1990; CARVALHO et al., 1999). A ciclagem biológica e a retranslocação de nutrientes são responsáveis pelo aparente bom estado nutricional apresentado pelas acículas de pínus, podendo passar uma idéia errônea de sua real condição nutricional (REISSMANN; WISNIEWSKI, 2000).

A serapilheira depositada na superfície do solo apresenta quantidades significativas de nutrientes, que retornam ao solo, após a sua decomposição, e são absorvidos novamente pelas árvores. A decomposição da serapilheira ocorre pela ação dos microrganismos decompositores de matéria orgânica. A quantidade disponibilizada desses nutrientes depende da velocidade de decomposição que, por sua vez, depende, de outros fatores, como a composição da serapilheira, temperatura, pH do solo, precipitação pluviométrica e da qualidade do sítio (FERREIRA, 1993; REISSMANN; WISNIEWSKI, 2000). A camada de serapilheira em sítios pouco produtivos é significativamente mais espessa, quando comparada

com sítios mais produtivos (REISSMANN; WISNIEWSKI, 2000). A quantidade de serapilheira depositada tem estreita correlação positiva com a biomassa produzida pelos povoamentos florestais. Portanto, maiores produtividades dependem também da quantidade e velocidade de decomposição da serapilheira. A variação na quantidade de nutrientes na serapilheira de plantios de *P. elliotii* é exemplificada por REISSMANN e WISNIEWSKI (2000), com base em dados de literatura para diversas idades e tipos de solo.

A incorporação da serapilheira no solo pode beneficiar o mesmo. No caso de coníferas, a decomposição da serapilheira incorporada ao solo é mais rápida do que aquela que permanece intacta sobre o solo (SALONIUS, 1983). Assim, a mineralização dos nutrientes pode melhorar a produtividade de sítios florestais, pela transformação da matéria orgânica depositada sobre os mesmos, melhorando o desenvolvimento tanto de mudas como de árvores jovens (JURGENSEN et al., 1986).

A função mais importante da microbiota do solo é degradar materiais orgânicos e conseqüentemente liberar CO₂ à atmosfera. Qualquer composto sintetizado biologicamente está sujeito à decomposição, assim como, os compostos adicionados ao solo. Todos os organismos heterotróficos degradam o carbono orgânico, sendo essa degradação utilizada para medir a atividade microbiana, para isto realiza-se a medição da redução de matéria orgânica quimicamente ou em peso ou através do desaparecimento de um constituinte específico da serapilheira, como celulose ou lignina (TAUK, 1990).

A produtividade de *P. taeda*, que em sítios bons pode chegar a um IMA (incremento médio anual) de 48,5 m³/ha (FUNDAÇÃO UFPR, 1982), e o curto período de rotação quando comparado com as espécies nativas, torna-a muito atraente para a produção de fibras (WISNIEWSKI, 1989). No entanto, esta produtividade resulta em uma maior demanda de nutrientes a serem absorvidos pelo solo em curto espaço de tempo e, portanto, o solo deve contê-los em grandes quantidades e sob formas prontamente disponíveis.

Sabendo-se da dependência entre a produtividade do sítio e a ciclagem de nutrientes (JORGENSEN; WELLS; METZ, 1944; SWITZER; NELSON, 1972; MILLER, 1981; WISNIEWSKI, 1989) e da ciclagem de nutrientes com o processo de decomposição da serapilheira acumulada, o conhecimento da microbiota responsável

pela decomposição nessas áreas parece ser um caminho adequado para se obter respostas sobre a produtividade e a demanda de nutrientes.

Embora, muito se tenha estudado sobre povoamentos de pínus no Paraná, inclusive sobre a ciclagem de nutrientes em diversas áreas, não existem informações sobre a microbiota decompositora e a sucessão sobre a serapilheira durante o processo de decomposição, assim como sobre a aceleração da decomposição dos resíduos florestais e da serapilheira. Tal informação torna-se desejável em vista da importância da atividade da microbiota na decomposição da matéria orgânica e mineralização de nutrientes para a planta, refletindo diretamente sobre a produtividade, visto que as atividades microbianas são, provavelmente, o mais importante fator na ciclagem de nutrientes de uma floresta plantada ou não.

O conhecimento da microbiota decompositora é fundamental para o levantamento taxonômico das populações que ali se encontram e dos processos metabólicos utilizados por estes organismos, informações imprescindíveis para que se possa compreender as interações ambientais.

O objetivo desse estudo é contribuir para o conhecimento da diversidade dos fungos no processo de sucessão durante a decomposição de serapilheira de acículas de *P. taeda* em função das estações do ano, ao longo de 12 meses. Assim como, estabelecer relações entre a presença dos fungos e as condições climáticas locais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FUNGOS COMO DECOMPOSITORES DA MATÉRIA ORGÂNICA

2.1.1 Diversidade

Os fungos pertencem ao Reino Fungi, constituído pela Divisão Eumycota, aos quais pertencem as Subdivisões Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Zycomycota e Deuteromycota, referidos como fungos verdadeiros (HAWKSWORTH et al., 1995). Segundo HAWKSWORTH, BUTTON e AINSWORTH¹, citado por HERREIRA e ULLOA (1990), as espécies conhecidas de fungos, estão distribuídas em 525 gêneros, sendo estimado um número de aproximadamente 100.000 espécies, segundo diversos autores.

Os fungos, por serem organismos heterotróficos, obtém o carbono para a síntese celular a partir da matéria orgânica inanimada ou nutrindo-se como parasitas de hospedeiros vivos. Como saprófitas, decompõem resíduos complexos de plantas e animais, transformando-os em formas químicas mais simples, que retornam ao ambiente (PELCZAR Jr; CHAN; KRIEG, 1996).

Na biosfera, o habitat mais rico em fungos é o solo. Há no solo representantes de todos os grandes grupos, ocorrendo numa densidade populacional de 10^4 a 10^6 /g de solo, inferior a das bactérias e dos actinomicetos, mas, devido ao comprimento das hifas (10 – 100 m/g de solo) e ao elevado diâmetro (5 a 10 μ m), podem contribuir com 0,5 a 5,0 t/ha de tecido vivo (ROITMAN; TRAVASSOS; AZEVEDO, 1991; BRANDÃO, 1992). Alguns dos fungos presentes no solo são conhecidos como patogênicos, sobrevivendo no solo como saprófitas, na ausência de hospedeiro (ROITMAN; TRAVASSOS; AZEVEDO, 1991). Nos sistemas florestais as densidades das populações microbianas do solo são de ordem de milhares de microrganismos por grama de solo, cuja presença e diversificação de atividades interferem diretamente na nutrição vegetal, sendo estas densidades inferiores às encontradas nos sistemas agrícolas (DIONÍSIO, 1996).

¹ HAWKSWORTH, D. L.; BUTTON, B. C.; AINSWORTH, G. C. **Ainsworth & Biby's Dictionary of fungi**. Kew,:: Commonwealth. Mycological Institute. 1983.

A principal função desses organismos no solo é a degradação da matéria orgânica, tendo um papel importante na degradação da celulose e lignina, gerando biomassa protéica ou mesmo servindo como alimento para outros organismos (ROITMAN; TRAVASSOS; AZEVEDO, 1991). Existe uma grande diversidade de fungos encontrados no solo, mas alguns gêneros são mais comuns do que outros. Os gêneros mais freqüentemente isolados do solo são: *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Aspergillus*, seguidos por *Rhizopus*, *Zygorhynchus*, *Fusarium*, *Cephalosporium* e *Verticillium* (ROITMAN; TRAVASSOS; AZEVEDO, 1991).

As populações, atividades e biomassa microbiana são influenciadas pelas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. De maneira geral, o número de fungos no solo varia diretamente com a matéria orgânica oxidável. As populações de microrganismos do solo e suas funções são afetadas pelas condições ambientais de pH, aeração, temperatura e disponibilidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos (ALEXANDER, 1980).

Os fungos, em geral, são aeróbios, porém apresentam resistência às altas concentrações de CO₂, podendo se desenvolver em regiões mais profundas do solo (BRANDÃO, 1992). Em relação à umidade, preferem solos com alta capacidade de retenção de água, pois necessitam de umidade para o desenvolvimento. A umidade ideal para as populações fúngicas está localizada entre 60 a 70% da capacidade de campo. Quanto à temperatura, podem ser encontrados em uma ampla faixa, entretanto, no solo predominam espécies mesófilas. Em relação ao pH, os fungos podem ser encontrados nos solos com pH de 2,0 a 9,0, porém o valor ótimo é variável com a espécie. Dominam ambientes ácidos, pela redução de concorrência com actinomicetos e bactérias que são mais sensíveis a condições de acidez, sendo responsáveis por muitas das transferências bioquímicas (FREIRE, 1975; SIQUEIRA, 1988). MALAWOLTA (1976) assinala que para os solos tropicais, como de maneira geral, o pH é menor que 6,0. Solos tropicais são, em sua grande maioria, fortemente intemperizados, ricos em óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio, pobres em bases e com baixa capacidade de troca catiônica (SANCHEZ, 1981).

A acidez do solo tem um acentuado efeito sobre o crescimento e atividade dos microrganismos decompositores de matéria orgânica. Tanto os microrganismos como a serapilheira podem alterar o pH do solo. Os microrganismos do solo produzem substâncias acidificantes, como ácidos minerais e orgânicos e

alcalinizantes, como o amoníaco (EIRA, 1992). Por outro lado, a serapilheira produz efeito acidificante sobre as camadas superficiais do solo, sendo este efeito mais acentuado em coníferas que em florestas mistas, onde a serapilheira tende a aumentar o conteúdo de bases, tornando maior o poder tampão do solo (WILLIAMS; GRAY, 1977).

A estrutura da comunidade microbiana do solo, envolvida na decomposição da matéria orgânica em ecossistemas florestais, é influenciada pela quantidade e pela qualidade da entrada de serapilheira (BAATH; ARNEBRANT, 1994). A serapilheira derivada de coníferas gera, geralmente, um pH moderadamente ácido ou ácido (STEVENSON, 1944). Já que fungos são mais tolerantes às condições de pH baixo do que as bactérias (WASKMAN, 1944; MATTHIES; ERHARD; DRAKE, 1997), as serapilheiras de coníferas são, predominantemente, decompostas por fungos sob condições oxidativas (MILLAR, 1974; DONNELLY et al., 1990).

2.1.2 Capacidade decompositora

A biodegradação dos materiais lignocelulósicos é um evento importante no processo de ciclagem do Carbono devido à abundância desses materiais na maioria dos ecossistemas terrestres. Basicamente, esses materiais são compostos de aproximadamente 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina (SARKANEN; LUDWIG, 1971).

A matéria orgânica vegetal é constituída de celulose, compreendendo 40% a 60% do lenho maduro, 10% das folhas, 30% a 40% do caule e 90% das fibras de algodão; hemicelulose, grupo diverso de polissacarídeos solúveis em álcalis, intimamente associado à celulose; substâncias pécticas, polissacarídeos estruturais e lignina, importante composto de carbono constituinte de plantas vasculares, participando com 15% a 34% da madeira. (SIQUEIRA et al., 1994).

Celulose, hemicelulose e lignina são os componentes mais importantes das folhas, formando uma intrincada rede de fibras, constituindo de 50 a 80% da matéria seca dessas (TAUK, 1990).

A celulose é um dos componentes estruturais orgânicos mais importantes em tecidos vegetais e é o mais abundante composto orgânico da natureza incorporados ao solo, sendo o principal constituinte da parede celular da maioria das plantas

terrestres, nas paredes dos vegetais está associada com polissacarídeos (hemicelulose, pectina) e lignina, sementes, fungos e cistos de protozoários (BAYER; LAMED, 1992). A capacidade para sua utilização é considerada uma propriedade essencial para os fungos saprófitos que degradam a folha (SCHINNER; SONNLEITNER², apud VALENZUELA; LEIVA; GODOY, 2001). Estas macromoléculas, antes da assimilação por microrganismo, devem ser hidrolisadas a subunidades mais simples, mediante enzimas extracelulares.

A hidrólise da celulose a unidades de glucose é realizada por enzimas denominadas celulasas. A atividade da celulase é considerada por HOVLAND (1981) como um indicador eficaz da atividade decompositora da serapilheira. Ácidos podem hidrolisar a celulose à glicose, sendo esse processo de degradação microbiana total e específica. Os processos de fermentações celulolíticas, na natureza, representam a maior fonte de carbono para o solo (LYNCH et al., 1981).

Existe uma grande variedade de microrganismos que sintetizam a celulase, no entanto apenas alguns são considerados como verdadeiros celulolíticos, ou seja, são realmente capazes de degradar a celulose (RUEGGER; TAUKE-TORNISIELO, 2004).

A capacidade de utilizar celulose como fonte de carbono e energia é encontrada entre eubactérias, actinomicetos e fungos (COUGHLAN, 1985). Segundo BISARIA e GHOSE (1981) e COUGHLAN (1985), microrganismos celulolíticos vêm sendo freqüentemente isolados e a produção de celulasas pelo menos tem sido estudados. Entre os fungos, os gêneros mais estudados são *Trichoderma*, *Sporotrichum*, *Penicillium*, *Shizophyllum*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Pleurotus*. Ainda, têm-se microrganismos que são conhecidos pela sua capacidade de degradar celulose nativa e serem termofílicos como é o caso de *Chaetomium thermophile* var. *dissitum*, *Thermonospora curvata*, *Humicola* sp., *Thermoascus aurantiacus* e *Sporotrichum thermophile*.

Depois da celulose, a lignina é o segundo componente mais importante da folha. A lignina é um polímero constituído por unidades de fenilpropano com múltiplos enlaces e é degradada por um complexo de enzimas que atuam sinergicamente (HAMMEL, 1997). A lignina geralmente é encontrada, nos tecidos

² SCHINNER, F.; SONNLEITNER, R. **Bodenökologie: Mikrobiologie und Bodenenzymatik**. Germany, Berlin: Springer. 1996. 450 p.

vegetais, entre a parede celular e células adjacentes, desempenhando múltiplas funções que são essenciais para a vida da planta. Ocorre de forma mais concentrada nos tecidos especializados de condução (vasos) e suporte (fibras). Além disso, confere maior resistência aos tecidos, contra invasão por microrganismos patogênicos (SARKANEN; LUDWIG, 1971; ANDER; ERIKSON, 1978). Devido a grande complexidade da estrutura da lignina, em ambientes naturais, torna-se necessário o ataque de diversos microrganismos para que sua degradação seja significativa (AMER; DREW, 1980). Poucos são os conhecimentos a respeito dos fatores ambientais, nutricionais e fisiológicos que influenciam a degradação microbiana de lignina.

Polifenóis no material vegetal podem também influenciar a velocidade de decomposição. Estes compostos constituem de 5 a 15% do peso da planta e muitos são lixiviados dos detritos gerando taninos, que causam a precipitação de proteínas. Todavia, podem ser as concentrações de ácido gálico e protocatenóico, mais que o teor total de polifenol, que afetam o processo de decomposição (MASON, 1980). Além disso, os tecidos vegetais freqüentemente possuem uma cutícula protetora de gomas e ceras, podendo conter ainda compostos antimicrobianos que podem inibir a ação de certas enzimas degradativas (TAUK, 1990).

O amido é outro composto comum da folha, constituindo uma fonte de carbono facilmente degradável nas primeiras etapas da decomposição da folha e sua hidrólise é realizada por amilases.

Na decomposição natural de materiais lignocelulósicos, tanto fungos quanto bactérias desempenham um importante papel reduzindo estes materiais a compostos de baixo peso molecular (BAZIN; SAUNDERS; PROSSER, 1976). Os fungos são considerados um dos melhores degradadores, pois alguns gêneros possuem a capacidade enzimática de degradar celulose, hemicelulose e outros componentes do material lignocelulósico, utilizando-se destes como fonte de carbono e energia (KIRK; CHANG, 1981; CRAWFORD; CRAWFORD, 1984). Os fungos degradadores de substâncias celulolíticas, geralmente ocorrem no solo. A atividade desses organismos depende do conteúdo de matéria orgânica no solo, que determina a ocorrência e distribuição desses organismos. (RUEEGER; TAU-K-TORNISIELO, 2004).

Grande parte das populações fúngicas saprofitas do solo caracteriza-se pela habilidade em decompor celulose, utilizando-a como fonte de carbono e energia (DIONÍSIO, 1996).

2.2 SUCESSÃO FÚNGICA

A decomposição de material vegetal exógeno envolve pelo menos quatro grupos distintos de microrganismos: celulolíticos, hemicelulolíticos, pectinolíticos e ligninolíticos. Geralmente, a degradação de um substrato complexo, folhas, tecidos microbianos mortos ou exoesqueletos de insetos processa-se mais rapidamente na presença de uma comunidade microbiana do que na presença de uma única população (TAUK, 1990). De outro modo, no primeiro estágio de decomposição, a taxa de degradação está correlacionada com a colonização fúngica (SWIFT, 1984). A heterogeneidade temporal e espacial da decomposição da serapilheira foi sugerida como sendo resultado da diversidade da comunidade fúngica envolvida em estágios avançado de decomposição (SWIFT, 1984).

Durante o processo de decomposição, o substrato muda continuamente, tanto física como quimicamente, de tal maneira que sua adequação para colonização por diversos organismos também muda. Em consequência disso aparece uma sucessão de organismos.

A decomposição das folhas das árvores não é um processo confinado inteiramente à camada do solo da floresta. Os processos de decomposição são iniciados já na própria árvore quando a superfície foliar estiver exposta ao ataque microbiano durante todo o seu período de vida até a senescência e morte (SADAKA; PONGE, 2003).

A microbiota que vive na folha persiste por algum tempo na camada de serapilheira após a abscisão foliar, sendo então substituída por uma flora típica de serapilheira e finalmente pela flora do solo. A maioria dos estudos tem sido de natureza descritiva e o papel funcional das espécies individuais ainda é muito desconhecido. De acordo com GARRETT (1963), o sucesso dos fungos em colonizar a matéria orgânica pode, principalmente, ser determinado por sua habilidade saprofítica de competidor, expressada pelo crescimento micelial rápido, pela produção de esporos, pela presença de sistemas enzimáticos eficientes e pela

tolerância aos antibióticos. Assim, a ocorrência de diversos grupos fúngicos, cada um com habilidades saprofíticas específicas de competidor, durante a decomposição das folhas, pode resultar em um processo conhecido como a sucessão fúngica (SCHOENLEIN-CRUSIUS; MILANEZ, 1998).

A recolocação seqüencial de espécies de fungos pode ser fortemente afetada pelo índice nutricional da serapilheira, mas também pelas habilidades de competição de cada fungo.

Os fungos estão aptos a crescer em serapilheira desde que possuam sistemas enzimáticos adequados para tal substrato e desde que as condições climáticas sejam favoráveis. Desse modo, o que determina o papel de determinado fungo na decomposição da serapilheira é a sua habilidade em se desenvolver em um certo substrato (PUGH, 1974).

A manutenção da fertilidade da floresta está na contingência do retorno periódico dos nutrientes para serapilheira e solo, sua subsequente liberação e absorção pelas raízes, após a decomposição (COILE, 1937).

Os estudos da taxa de decomposição da serapilheira são muito importantes para compreender a maneira como um ecossistema florestal funciona. A decomposição controla a taxa de liberação de nutrientes e, conseqüentemente, a disponibilidade de nutrientes do solo às plantas. Uma proporção pequena dos nutrientes utilizados pelas plantas para a produção primária (N, P, S, Ca, Mg) origina-se das liberações dos minerais a partir do material de origem. A maior proporção vem da mineralização do material orgânico depositado no solo realizada por microrganismos (KURZ; COÛTEAUX; THIÈRY, 2000).

As taxas de decomposição da serapilheira determinam também as taxas da acumulação (deposição) da matéria orgânica no solo da floresta. O contrapeso entre a produção da serapilheira e a sua decomposição controla o tamanho do reservatório de carbono no solo (KURZ; COÛTEAUX; THIÈRY, 2000).

De acordo com STARK e HOLLEY (1975), a utilização de fungicidas na serapilheira retarda a perda de peso da mesma, o que demonstra a importância dos fungos como decompositores. Entre as características próprias dos fungos com alta habilidade saprofítica, são citados: alta taxa de crescimento, eficiente sistema

enzimático, produção de antibióticos e tolerância aos antibióticos produzidos por outros organismos (GARRET³, apud PUGH; WILLIAMS, 1968).

No solo ocorre rápida decomposição inicial de material lábil e, posteriormente, num processo mais lento, de materiais mais resistentes. Essa lentidão pode ocorrer devido ao mecanismo de absorção, à estabilização de metabólitos e à queda da taxa de biomassa no solo. Enfim, a biodegradação é um processo complexo e multifacetado, que envolve um grande número e diversidade de microrganismos do solo (TAUK, 1990).

A degradação de diferentes resíduos depende das condições locais e regionais como clima, tipo de solo, vegetação, fauna e microrganismos decompositores. A diversidade bioquímica de substratos macromoleculares indica que os organismos devem possuir ampla habilidade enzimática para convertê-los em metabólitos assimiláveis. As propriedades do solo, tais como, argila, pH, matéria orgânica, tensão da água e aeração atuam como fatores ambientais do processo de decomposição (TAUK, 1990).

A decomposição de detritos, material vegetal morto e resíduos de animais e microrganismos é a maior via de fluxo de nutrientes em ecossistemas de florestas temperadas. É também a chave do processo para muitos ecossistemas funcionais tais como a ciclagem de nutrientes e a formação do solo e determinam a alta absorção de nutrientes e a produção primária das florestas. Como parte dos ciclos biogeoquímicos, cabe mencionar a liberação de nutrientes e a modificação e transformação de materiais resistentes por processos de quelação e humificação (JENSEN, 1974).

A degradação da matéria orgânica é largamente executada por decompositores primários, como bactérias e fungos, e a queda da taxa é influenciada por todos os fatores que afetam suas atividades. Em um bosque, as folhas constituem a principal fonte de nutrientes para a vegetação, fauna e microrganismos. Os mais importantes fatores são a composição bioquímica e a estrutura física da matéria orgânica que determinam os limites da queda da taxa (TAYLOR; PARKINSON; PARSONS, 1989), o ambiente físico-químico para decomposição (FOG, 1988; BERG; EKBOHM, 1993), e a competição e interações

³ GARRET, S. D. **Biology of rootinfecting fungi**. Cambridge: Universit Press. 1965.

tróficas com outros microrganismos do solo (VERHOEF; BRUSSAARD, 1990; LUSSENHOP, 1992). Cerca de 80% da degradação das folhas é realizada por microrganismos, sendo os fungos um dos principais agentes (JENSEN, 1974).

A matéria orgânica morta desempenha papel relevante na determinação da estrutura e função de um ecossistema, por sua atuação como fonte de energia para organismos heterotróficos e como reservatório de nutrientes para a ciclagem dentro de um sistema (SINGH; GUPTA, 1977).

Os fungos saprófitos que crescem na superfície das folhas constituem um grupo especial de organismos, geralmente cosmopolitas (KAHLKI; KLOIDT; LYSEK, 1986), caracterizados por alta tolerância ao estresse, a distúrbios e com diferentes graus de competência interespecífica (PUGH; BOODY⁴, apud VENEDIKIAN; GODEAS, 1996). Este grupo de fungos está envolvido com a resistência da planta a insetos e patógenos (DUBOS; BULIT, 1981) e com a decomposição da folha (HUDSON⁵, apud VENEDIKIAN; GODEAS, 1996).

Segundo GARRET (1951), grande parte do recurso obtido por determinadas espécies é determinada pela habilidade bioquímica intrínseca do fungo para explorar ou decompor um substrato, um exemplo seria a produção de enzimas. Além disso, a natureza química do substrato abrange uma grande extensão de grupos carbonáceos (açúcar, celulose, lignina, etc...) e outras moléculas (modificadoras) que irão exercer profundos efeitos em baixas concentrações (SWIFT; HEAL⁶, apud SAVOIE; GOURBIÈRE, 1989), e que mudarão sua estrutura química com o tempo. A composição da comunidade fúngica altera em resposta a essas mudanças, resultando na sucessão característica de dominância decompositora (SWIFT; HEAL⁶, apud SAVOIE; GOURBIÈRE, 1989).

Entretanto, para poder explicar a organização da comunidade fúngica, é necessário examinar as necessidades e preferências nutricionais de cada espécie da comunidade.

⁴ PUGH, G. J. F.; BOODY, L. A view of disturbance and life strategies in fungi. In: BOODY, L.; WATLING, R.; LYON, A. J. E. (Ed). **Fungi and Ecological Disturbance**. Proceedings of The Royal Society of Edimburgh, Section B, vol.94. p: 3-11. 1988.

⁵ HUDSON, H. The development of the saprophytic fungal flora as leaves senesce and fall. In: PREECE, T. F.; DICKINSON, C. H. **Ecology of leaf surface microorganisms**. London: Academic Press. 1971. p. 447-455.

⁶ SWIFT, M. J.; HEAL, O. W. Theoretical considerations of microbial succession and growth strategies: intellectual exercise or practical necessity? In: JENSEN, V.; KJØLLER, A.; SØRENSEN, L.H. (Ed.). **Microbial communities in soil**, London: Elsevier, 1986. p. 115-131.

A atividade microbiana é conhecida por ter um importante papel na decomposição da serapilheira. No entanto, organismos solo-fauna também influenciam a decomposição da serapilheira, seu papel funcional é por seus efeitos de forrageamento sobre a população microbiana e por sua atividade de triturar a serapilheira, aumentando a taxa área-volume e o padrão de colonização por microrganismos (SWITH; HEAL; ANDERSON⁷, apud SADAKA; PONGE, 2003). Portanto, os fatores ambientais mais importantes na regulação da taxa de retorno da serapilheira serão tanto aqueles que regulam a atividade de bactérias quanto os que constituem a comunidade de decompositores microbianos. A estrutura dessas comunidades é influenciada pela composição química da serapilheira e pH. Embora fungos e bactérias contribuam para a decomposição da serapilheira, os fungos, no entanto, são mais viáveis e eficientes em substratos de C que bactérias (ALEXANDER, 1961) e desempenham um papel dominante em estágios iniciais do processo de decomposição. Comparando com bactérias, fungos apresentam um papel pivotante na degradação da fonte de C recalcitrante da serapilheira (MØLLER; MILLAR; KJØLLER, 1999).

Nos últimos anos, a diversidade funcional dos microrganismos do solo e folha tem sido determinada investigando a sua capacidade para utilizar diversos substratos (KJØLLER et al.⁸, apud VALENZUELA, LEIVA, GODOY, 2001), sendo um indicador sensível para determinação em grande escala. Vários estudos têm analisado a sucessão fúngica sobre folhas em bosques temperados, tanto em latifoliadas como em coníferas (WATSON; McCLURKIN; HUNEYCUTT, 1974; KUTER, 1986; FRANKLAND, 1998).

De acordo com FRANKLAND (1998), uma sucessão de plantas e fungos pode ser definida como a mudança direcional da composição, abundância relativa e padrão estacional das espécies que compreendem as comunidades. À medida que as folhas são degradadas, as comunidades fúngicas sofrem mudanças seqüenciais em sua composição e potencial de degradação, devido a alterações na disponibilidade de nutrientes, umidade, tensão de oxigênio, pH e etc.

⁷ SWIFT, M. J.; HEAL, O. W.; ANDERSON, J. M. Changes in populations structure during decomposition. In: JENSEN, V.; KJØLLER, A.; SØRENSEN, L.H. (Ed.). **Microbial communities in soil**, Amsterdam: Elsevier, 1979. p. 149-162.

Sucessão geralmente é definida como mudanças de ordem progressiva, onde uma comunidade pioneira coloniza um substrato ou ecossistema particular e, com o tempo, culmina em uma comunidade clímax. Em contraste com a sucessão de comunidades de plantas que terminam em uma comunidade clímax, sucessão de fungos sapróbios resultam na decomposição do substrato e não em uma comunidade clímax. A sucessão fúngica com o tempo pode ser devido ao processo de facilitação, onde as espécies de uma comunidade fúngica em particular alteram suficientemente o substrato para permitir que uma outra espécie se estabeleça e forme uma comunidade subsequente (LUMLEY; GIGNAC; CURRAH, 2001). Ou seja, conforme os materiais vegetais vão sendo decompostos por fungos, uma variedade de compostos orgânicos são apresentados em rotações para que uma sucessão de grupos ecológicos (cada organismos ou grupo de organismos), altere os componentes orgânicos até que a completa decomposição ocorra (GARRET, 1951; ALEXANDER, 1961).

A avaliação da diversidade microbiológica nos solos deve estar baseada na quantificação e identificação dos microrganismos envolvidos, sendo que é essencial investigar o rol funcional dos microrganismos, a fim de definir o significado da diversidade microbiana (KJØLLER et al. ⁸, apud VALENZUELA; LEIVA; GODOY, 2001). Nesse sentido, o estudo das capacidades enzimáticas da microbiota é uma forma de compreender suas atividades e proporcionar uma base fisiológica da sucessão estudada, através dos componentes orgânicos que vão sendo alterados durante a decomposição.

Os padrões de variação temporal e espacial da composição de microrganismos refletem o balanço sucessivo de processos de imigração, emigração, crescimento e morte das populações (KINKEL⁹, apud VENEDIKIAN; BONAVENTURA; GODEAS, 2001).

Apresenta-se como hipótese que as populações fúngicas que colonizam a filosfera variam segundo a estação climática e o estado ontogênico as acículas e que em períodos de estiagem há maior disponibilidade de substrato. Quando clima e

⁸ KJØLLER, A; MILLER, M; STRUWE, S; WOLTERS, V; PFLUG, A. Diversity and role of microorganisms. In: SCHULZE, E. D. (Ed.). **Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems**. Berlim, Germany: Springer-Verlag. 2000. p. 382-402.

⁹ KINKEL, L. Fungal Community Dynamics. In: ANDREWS, J. H.; HIRANO, S. S. (Ed.). **Microbial Ecology of Leaves**. 1992. 499p.

condições do sítio são constantes em escala temporal e espacial, as taxas de decomposição são reguladas primariamente pela composição química e a estrutura física da matéria orgânica.

A atividade dos microrganismos decompositores em serapilheira e solo pode variar com a sazonalidade (estações do ano) devido às mudanças na temperatura e disponibilidade de água (VIRZO De SANTO et al., 1976). BERG et al.¹⁰, citado por VIRZO De SANTO et al. (2002), demonstrou que, para a decomposição fúngica de serapilheira, altos níveis de umidade no solo (completamente irrigado) exercem efeito significativo no valor da biomassa viva de fungos decompositores de serapilheira de acículas em *Pinus sylvestris*.

Em alguns trabalhos (BERG; WESSEN, 1984; BERG; STAAF; WESSEN, 1987) foram observados que, em folhas e acículas, a concentração total de micélio aumenta com a perda de massa. Também foi estabelecido que em estágios tardios de decomposição, o valor da biomassa de fungos vivos de acículas de *Pinus sylvestris*, está negativamente relacionado com a concentração de lignina na serapilheira, indicando a fonte de energia como um fator limitante (BERG et al.¹⁰, apud VIRZO De SANTO et al., 2002). Além disso, constatou-se um intenso declínio na biomassa microbiana e respiração em camadas da serapilheira e solo em estágios sucessionais avançados de decomposição, presumidamente devido ao decréscimo no valor dos recursos de C disponíveis (VIRZO De SANTO et al., 1993; SCHEU; PARKINSON, 1995).

Uma grande variedade de fungos atua na decomposição de material vegetal, a maioria deles está incluída na subdivisão Deuteromycetes. No entanto, representantes das subdivisões Zygomycetes, Ascomycetes e Basidiomycetes também são comuns, embora com menor frequência.

¹⁰ BERG, B.; BOOLTINK, H. G. W.; BREYMEYER, A.; EWERTSSON, A.; HOLM, B.; JOHANSSON, M. B.; KOUVIOJA, S.; MEENTEMEYER, V.; NYMAN, P.; OLOFSSON, J.; PETERSSON, A. S.; REURSLAG, A.; STAAF, I.; UBA, L. **Data on needle litter decomposition and soil climate as well as site characteristics for some coniferous forest sites, second ed. Section 1. Data on site**

2.2.1 Sucessão em folhas de modo geral

Em Floresta Tropical Úmida em Recife, MAIA (1983) estudando a sucessão fúngica do folheto de *Licania octandra*, *Licania kunthiana* e *Hortia arborea* identificou *Cylindrocladium*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Gliocladium* e *Pestalotia* como os gêneros mais assinalados nos três vegetais estudados.

SCHOENLEIN-CRUSIUS (1988) verificou que os gêneros *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* foram freqüentes durante a sucessão fúngica no processo de decomposição das folhas de *Ocotea pulchella*.

Em uma área de cerrado *sensu stricto*, os gêneros de fungos filamentosos mais freqüentes durante o processo de decomposição desse folheto foram: *Trichoderma*, *Absidia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Mucor* e representantes do grupo *Mycelia sterilia* (ATTILI, 1989).

No trabalho realizado com *Ocotea pulchella* por SCHOENLEIN-CRUSIUS e TAUKE (1991) em região de cerrado em São Paulo, foram encontrados na sucessão fúngica *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* como os mais representativos.

ATTILI e TAUKE-TORNISIELO (1994) estudando a decomposição da serapilheira por fungos em região de cerrado *sensu stricto* em São Paulo, isolaram: *Trichoderma*, *Cylindrocladium*, *Mucor*, *Absidia*, *Fusarium*, *Verticillium* e *Mycelia sterilia* como os mais representativos. A serapilheira em questão é formada, principalmente, pelas seguintes espécies vegetais: *Myrcia língua*, *Blepharocalix acuminatum*, *Daphnopsis fasciculata*, *Ocotea pulchella* e *Vochysia tucanorum*.

No trabalho realizado com folhas submersas de *Alchornea triplinervia*, SCHOENLEIN-CRUSIUS e MILANEZ (1998) isolaram membros da Subdivisão Deuteromycetes como a maioria, seguido de Mastigomycetes e Zygomycetes. Os fungos mais freqüentemente isolados foram: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Mucor*.

A variação estacional de fungos na decomposição de folhas de *Nothofagus pumilio* da Cordilheira do Andes, Chile, VALENZUELA, LEIVA e GODOY (2001) detectaram *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Phialophora* e *Rhodotorula* como

principais representantes saprofíticos isolados de folhas senescentes e *Hormonema*, *Motierella*, *Penicillium* e *Trichoderma* como as espécies dominantes.

SADAKA e PONGE (2003), analisando a sucessão fúngica na filosfera de folhas senescentes de *Quercus rodundifolia* e presentes na serapilheria, destacaram os gêneros *Trichothecium*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* e *Alternaria*, como colonizadores primários.

2.2.2 Sucessão em Acículas de *Pinus*

São poucos os trabalhos sobre a filosfera de *Pinus*. VENEDIKIAN e GODEAS (1996) e VENEDIKIAN, BONAVENTURA e GODEAS (2001) estudando populações fúngicas presentes na filosfera de acículas de *Pinus taeda* na Argentina, isolaram 49 espécies, sendo 9 as mais freqüentes e, portanto, consideradas as mais importantes para a filosfera de *Pinus taeda*. Essas espécies pertencem as seguintes gêneros: *Pestalotiopsis*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, *Epicoccum* e *Hormonema*.

VIRZO De SANTO et al. (2002), trabalhando em uma região da Itália com diversas espécies de *Pinus* e *Abies alba*, observaram, nos primeiros estágios de decomposição, a invasão de hifomicetos dematiáceos, com *Cladosporium* e *Alternaria* sp. dominantes em *P. pinea* e *P. laricio*, e *Thysanophora penicilloides* em *A. alba*. Em *P. pinea* e *P. laricio*, os fungos dematiáceos foram acompanhados por *Lophodermium*, um ascomiceto e típico colonizador primário.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA

O experimento foi estabelecido na região de Três Barras, situada no estado de Santa Catarina, localizada à latitude de 26°07' S, longitude 50°19' W e altitude de 775 m, acima do nível do mar. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfb, Mesotérmico Úmido, sendo a temperatura média do mês mais quente inferior a 22°C e a do mês mais frio inferior a 18°C, ocorrendo mais de dez geadas por ano, principalmente nos meses de junho e julho. A precipitação média anual é de 1.434 mm, tendo distribuição equilibrada com 8 a 10% da

precipitação anual ocorrendo em todos os meses. Verifica-se que há excedente hídrico coincidente com os meses de verão e não ocorre deficiência hídrica¹¹.

Os solos encontrados predominam nas classes texturais argilosa e muito argilosa e envolvem as classes dos Latossolos, Podzóicos, Cambissolos, Gleis, Litossolos e Aluviais. Independente das classes a que pertençam, são solos com horizonte A espesso e com altos conteúdos de matéria orgânica. No aspecto químico, a maior parte da área está sob domínio de solos com médios a altos teores de fósforo e potássio, porém apresenta alto teor álico (altos teores de alumínio) e alto grau de distrofia, sendo, portanto considerados de caráter distrófico (saturação de bases até 6%), sendo o cálcio o elemento que está sujeito à exaustão, se não for repostado ao sistema¹¹.

A área apresenta áreas de relevo plano baixo e em encostas suavizadas, onde há tendência de escoamento natural de água propiciando o acúmulo dessa nas posições mais baixas. O solo é considerado bem drenado, apresentando horizontes A bastantes profundos, em torno de 60 cm, considerados muito argilosos¹¹.

3.2 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

O estudo foi estabelecido em um plantio experimental de *P. taeda*, com 4 anos de idade, pertencente a empresa RIGESA Westvaco do Brasil, localizada em Três Barras-SC.

Em novembro de 2003, as acículas prontas para cair (senescentes) foram coletadas e colocadas em sacolas de malha de nylon com 0,003 mm de abertura, seletiva para microrganismos, e deixadas ao campo. Uma das amostras, equivalente ao período de novembro de 2003, foi levada ao laboratório para análise. O restante das amostras foi incubada *in situ* para que as acículas continuassem seu processo de decomposição natural e coletadas em triplicata (três sacolas) a cada três meses (fevereiro, maio e agosto de 2004), praticamente ao final de cada estação do ano.

¹¹ Dados fornecidos pela empresa RIGESA Westvaco do Brasil.

3.3 ANÁLISE DO MATERIAL

A cada coleta, as amostras foram colocadas em sacolas de polietileno e levadas ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Patologia Básica da UFPR, para análise da população fúngica associada à acícula.

As acículas foram cortadas em pequenos fragmentos de até 5 mm, com auxílio de bisturi esterilizado, que foram submetidos a lavagens sucessivas de 1 minuto cada, trocando-se por vinte vezes a água destilada esterilizada, para que fossem removidos os propágulos superficialmente aderidos, conforme a técnica de PUGH, BUCKEY e MULDER (1972), a qual foi adaptada para o estudo com acículas para a realização desse trabalho.

Os fragmentos foram colocados em grupos de cinco, com auxílio de pinça esterilizada, em placas de Petri contendo meio Extrato de Malte-Ágar 2% com adição de sulfato de estreptomicina (1,25 mg/mL de etanol) e incubados por 7 dias à temperatura e luminosidade ambiente. Foram utilizadas 20 placas para cada repetição, de onde as colônias fúngicas foram isoladas. Esse procedimento foi repetido a cada coleta.

3.4 ISOLAMENTO DOS FUNGOS

As colônias fúngicas que cresceram a partir dos fragmentos de acículas foram contadas e classificadas pela morfologia macroscópica. Posteriormente, pequenos fragmentos de meio de cultura contendo pontas de hifas de cada fungo foram transferidos para tubos contendo meio Extrato de Malte-Ágar 2% inclinado. Os tubos foram mantidos a temperatura e luminosidade ambiente e após crescimento foram conservados a 4°C.

3.5 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

Para a identificação dos fungos foram confrontadas as características macro e microscópicas. A identificação microscópica foi realizada por meio da observação das lâminas contendo estruturas de reprodução (sexual e assexual) dos fungos isolados, de acordo com a literatura especializada (ELLIS, 1971, 1976; BARNETT;

HUNTER, 1972; ARX, 1974; KONEMAN; ROBERTS, 1987; LARONE, 1987; ROSSMAN; PALM; SPIELMAN, 1987; SILVEIRA, 1995). As lâminas foram obtidas utilizando-se o método de cultura em lâmina ou técnica do microcultivo de acordo com KERN e BLEVINS (1999), e após serem coradas em lactofenol com 0,05% de azul de algodão e lactofenol de Amann, foram analisadas ao microscópio óptico.

Os cultivos que não esporularam após um mês de incubação foram considerados como fungos não identificados.

3.6 MÉTODO DE CULTURA EM LÂMINA OU TÉCNICA DO MICROCULTIVO (KERN; BLEVINS, 1999)

A técnica do microcultivo foi utilizada para a obtenção de lâminas contendo as estruturas reprodutivas (sexual e assexual) dos fungos isolados, necessárias para a identificação dos mesmos.

Foram utilizadas placas de Petri contendo em seu interior duas lâminas cruzadas e chumaços de algodão, previamente esterilizados. Sobre a lâmina, no interior da placa, foram colocados dois cubos de meio de cultura, cada um com um centímetro quadrado. Cada cubo foi inoculado com fragmentos de micélio-ágar do tubo estoque em todos os lados do cubo de meio de cultura. Sobre cada cubo inoculado foi colocada uma lamínula esterilizada. O algodão presente na placa foi umedecido com água destilada esterilizada com auxílio de pipeta.

A primeira lamínula foi retirada do cubo inoculado após 10 dias e a segunda após 20 dias de incubação à temperatura de aproximadamente 28°C e colocadas sobre lâmina limpa com uma gota de Lactofenol azul de algodão ou Lactofenol de Amann. As margens das lâminas foram contornadas com parafina para torná-las permanentes.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados gerados foram submetidos à:

a. Teste de Média. Para homogeneização dos dados obtidos foi utilizada a seguinte fórmula $x = \sqrt{x+0,5}$. As diferenças entre as médias foram geradas por três

repetições para cada gênero de fungo e 39 para cada coleta, sendo asseguradas pelo teste de Fisher Prostec LSD à 5 % de significância.

b. Análise de Variância, onde a variável dependente foi o gênero dos fungos e as fontes de variação foram as épocas de coleta e os números de registros dos gêneros.

c. Correlação: verificada para os dados de temperatura média, mínima e máxima e quantidade de fungos, precipitação pluviométrica e quantidade de fungos, onde $N = 4$ (4 coletas) $P \leq 0,5$, segundo a correlação de Pearson.

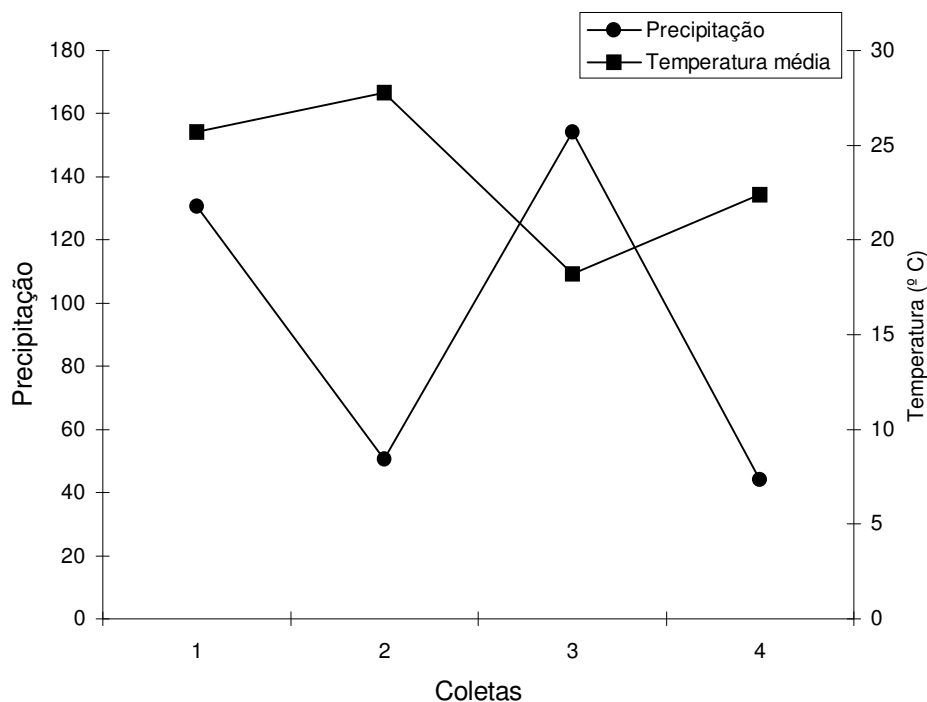
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ASPECTOS CLIMÁTICOS

Foram observados valores de temperatura e precipitação do sítio referentes aos meses de coleta (fig. 1). Esses valores foram fornecidos pela Rigesa Westvaco do Brasil.

A temperatura média registrada na primeira da coleta (nov/2003) foi de 25,7°C e a precipitação foi de 130,6 mm. O maior valor foi encontrado em fev/2004, 27,8°C, mês que a precipitação foi de 50,5 mm. A menor temperatura foi verificada na coleta de mai/2004, 18,2°C, que obteve o maior índice de precipitação 154,2 mm. O menor valor de precipitação registrado foi de 44,5 mm, referente à coleta de ago/2004, que obteve temperatura média de 22,4°C.

FIGURA 1 - TEMPERATURA E PRECIPITAÇÃO NA ÁREA DE ESTUDO NOS MESES DE COLETA.



4.2 SUCESSÃO FÚNGICA

O número de registros de fungos variou a cada coleta. Dos 1655 fungos registrados, 963 foram identificados como pertencentes a 13 gêneros e 88 registros não puderam ser identificados pela ausência de esporos e estruturas reprodutivas. Dos 13 gêneros obtidos, 11 corresponderam a Subdivisão Deuteromycetes (1362 registros), 1 a Zygomycetes (129 registros) e 1 a Basidiomycetes (76 registros).

Da Subdivisão Deuteromycetes foram constatados os gêneros: *Acremonium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Trichoderma* e *Verticillium*. *Mucor* foi o gênero isolado pertencente à Subdivisão Zygomycetes e *Rhizoctonia* da Basidiomycetes.

A predominância de fungos pertencentes à Subdivisão Deuteromycetes foi também detectada em diversos substratos (WATSON; McCLURKIN; HUNEYCUTT, 1974; MAIA, 1983; KUTER, 1986, SCHOENLEIN-CRUSIUS; TAUKE, 1991, VENEDIKIAN; GODEAS, 1996; WELLBAUM; SCHOENLEIN-CRUSIUS; SANTOS, 1999; VENEDIKIAN; BONAVENTURA; GODEAS, 2001).

No mês de novembro de 2003, primeira coleta, as acículas senescentes foram coletadas diretamente da árvore e ainda não estavam em contato com o solo,

mas já estavam em processo de decomposição. Foram registrados alguns gêneros exclusivos, não encontrados nas coletas posteriores.

Nas acículas senescentes (nov/2003) foram registrados 606 fungos passando para 447 na segunda coleta (acículas incubadas em sacolas em contato com o solo), referente ao mês de fev/2004. Na terceira coleta (mai/2004), o número de registros caiu para 291 e na coleta subsequente e última (ago/2004) esse número passou para 311, representando um pequeno aumento (fig. 2). Na tabela 1, pode-se observar a oscilação dos valores de registros entre os meses de coleta, ficando clara a diminuição no número total de registros, a partir do avanço do processo de decomposição, mostrando uma certa seletividade.

No solo ocorre rápida decomposição inicial de material lábil e, posteriormente num processo mais lento, de materiais mais resistentes. Essa lentidão pode ocorrer devido ao mecanismo de adsorção, à estabilização de metabólitos e à queda da taxa de biomassa no solo (TAUK, 1990).

FIGURA 2 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS COLETAS.

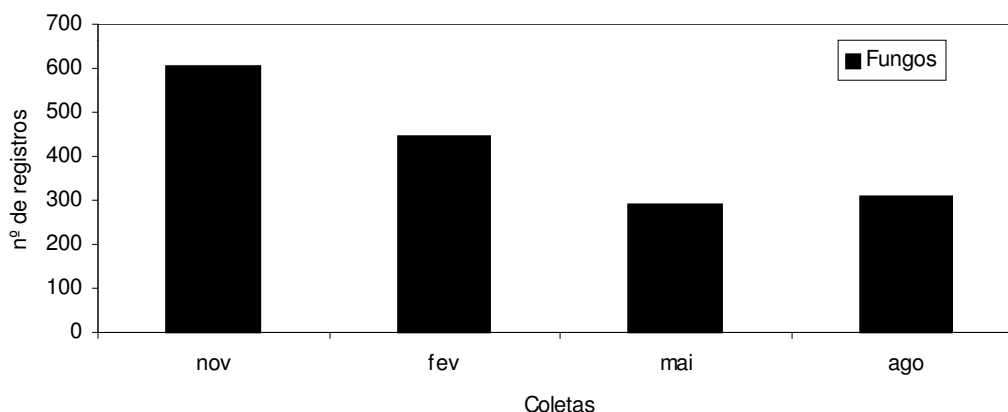


TABELA 1 - GÊNEROS E NÚMERO DE REGISTROS DE FUNGOS ISOLADOS DE ACÍCULAS DE *Pinus taeda*, SEGUNDO AS ÉPOCAS DO ANO.

FUNGOS	Nov/2003	Fev/2004	Mai/2004	Ago/2004	TOTAL
<i>Acremonium</i>	0	61	0	0	61
<i>Alternaria</i>	79	6	3	0	88
<i>Cladosporium</i>	25	0	0	0	25
<i>Colletotrichum</i>	23	0	0	0	23
<i>Epicoccum</i>	41	0	0	0	41
<i>Fusarium</i>	235	19	69	7	330
<i>Gliocladium</i>	3	15	0	0	18
<i>Mucor</i>	24	59	42	4	129
<i>Penicillium</i>	37	3	3	5	48
<i>Pestalotia</i>	91	5	17	40	153
<i>Rhizoctonia</i>	0	2	0	74	76
<i>Trichoderma</i>	8	152	70	105	335
<i>Verticillium</i>	0	125	39	76	240
TOTAL	606	447	291	311	1655

Segundo a Análise de Variância em anexo, a interação entre a quantidade de fungos e as coletas, foi estatisticamente significativa a 5% de significância.

Na tabela 2 pode-se verificar a diferença significativa entre as coletas, especificamente entre nov/2003, referente à primavera, e mai/2004 (outono) e ago/2004 (inverno). No entanto, a coleta de fev/2004 (verão), apesar de não ser significativamente diferente da primavera, também não apresenta diferença significativa em relação à coleta de inverno, apenas se diferencia da coleta de outono. Por sua vez, a coleta de outono não apresenta diferença em relação à de inverno, mas apresenta-se significativamente diferente das coletas referentes ao verão e à primavera.

A coleta de nov/2003 é diferente das outras, pois as acículas foram retiradas da árvore e não das sacolas incubadas *in situ*. Já a coleta referente ao mês de

mai/2004 foi realizada em um período mais frio que a referente ao mês de ago/2004, talvez por isso apresente um número de registros menor.

Vale ressaltar que as coletas foram realizadas ao final de cada estação do ano, para representarem o crescimento fúngico durante a estação.

TABELA 2 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DE GÊNEROS DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* EM DECOMPOSIÇÃO SEGUNDO OS MESES DE COLETA.

Meses de coleta	Número de registros	Grupos Homogêneos
Nov/2003	606	a
Fev/2004	447	ab
Ago/2004	311	bc
Mai/2004	291	c

*Valores seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste LSD a 5% de significância.

A sucessão fúngica ficou evidenciada pelo aparecimento e desaparecimento de alguns gêneros a cada coleta (tab. 3) e também pela oscilação do número de registros de cada gênero (tab. 1).

Nas acículas senescentes (nov/2003), foram verificados 10 dos 13 gêneros identificados, como pode ser observado na Tabela 3. Foram eles: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Pestalotia* e *Trichoderma*. Três desses grupos foram exclusivos dessa coleta inicial: *Cladosporium*, *Colletotrichum* e *Epicoccum*. *Gliocladium* esteve presente somente até a segunda coleta e *Alternaria* até a terceira coleta. Os demais gêneros permaneceram até a última coleta.

TABELA 3: SUCESSÃO FÚNGICA EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda*.

FUNGOS	Nov/2003	Fev/2004	Mai/2004	Ago/2004
<i>Acremonium</i>	-	+	-	-
<i>Alternaria</i>	+	+	+	-
<i>Cladosporium</i>	+	-	-	-
<i>Colletotrichum</i>	+	-	-	-
<i>Epicoccum</i>	+	-	-	-
<i>Fusarium</i>	+	+	+	+
<i>Gliocladium</i>	+	+	-	-
<i>Mucor</i>	+	+	+	+
<i>Penicillium</i>	+	+	+	+
<i>Pestalotia</i>	+	+	+	+
<i>Rhizoctonia</i>	-	+	-	+
<i>Trichoderma</i>	+	+	+	+
<i>Verticillium</i>	-	+	+	+
TOTAL DE GÊNEROS	10	10	7	7

Os fungos de acículas senescentes corresponderiam aos saprófitos primários, categoria que incluem aqueles fungos que se encontram na acícula e que são os colonizadores iniciais depois da abscisão foliar (HUDSON, 1968; STONE; SHERWOOD; CARROL, 1996; FRANKLAND, 1998).

Os saprófitos primários, geralmente, são realmente habitantes ubíquos de superfície de plantas aéreas (HUDSON, 1968). Entre eles, *Alternaria*, *Cladosporium* e *Epicoccum*, hifomicetos dematiáceos, isolados apenas no material que ainda não estava em contato com o solo. Estes fungos possuem adaptações que os permitem sobreviver em condições desfavoráveis existentes nas superfícies foliares, como a formação de esporos pigmentados e multicelulares em *Epicoccum* e *Alternaria* e microesclerócios em *Cladosporium* (STONE; SHERWOOD; CARROL, 1996). Esse resultado coincide com o encontrado por diversos outros autores, como WATSON, McCLURKIN e HUNEYCUTT (1974); KUTER (1986); VIRZO De SANTO et al. (2002); SADAKA e PONGE (2003), entre outros.

O intervalo de tempo entre a senescência e a queda das acículas permite que fungos se desenvolvam nos tecidos internos, antes da abscisão. Assim, o primeiro estágio de decomposição começaria ainda na árvore.

O processo de senescência das folhas é acompanhado por um leve aumento na riqueza de espécies fúngicas colonizadoras e também por um aumento na colonização interna das folhas (SADAKA; PONGE, 2003). Entretanto, um grande número de fungos conhecido por serem epifíticos, é capaz de viver endofiticamente nos tecidos vegetais (PETRINI¹², apud SADAKA; PONGE, 2003). FELL e HUNTER (1979) constataram que uma proporção considerável de componentes orgânicos é removida da lâmina foliar antes do enfraquecimento da base da folha. Ou seja, o processo de senescência aparentemente modifica o nicho ecológico, permitindo o desenvolvimento de organismos que são normalmente adaptados para uma vida saprofítica. Como exemplo disso, pode-se citar *Alternaria*, *Cladosporium* e *Epicoccum* que são capazes de colonizar a superfície foliar para penetrar em tecidos foliares no início do processo de senescência (SADAKA; PONGE, 2003).

Alternaria, *Cladosporium* e *Epicoccum* são considerados colonizadores primários comuns de uma grande variedade de folhas de plantas (HUDSON, 1968; DICKINSON, 1976). Devido à presença de parede celular espessa e a melanização, apresentam-se relativamente resistentes aos danos causados pela radiação ultravioleta e tolerantes à dessecação (DICKINSON, 1981).

Nas acículas coletadas após os primeiros três meses de incubação em campo (segunda coleta, fev/2004) foram registrados 10 gêneros, sendo 3 os não registrados nas acículas senescentes: *Acremonium*, *Rhizoctonia* e *Verticillium*. *Acremonium* foi registrado exclusivamente nessa coleta. *Rhizoctonia* não foi registrado na segunda coleta, voltando a aparecer na quarta coleta. *Verticillium* permaneceu até o final das coletas.

Na terceira e quartas coletas foram registrados 7 gêneros, ambas sem nenhum novo registro.

Os saprófitos secundários são aqueles fungos que não aparecem ou não se desenvolvem muito bem até algum tempo após a queda das folhas, e muitos são fungos de solo. Em contraste com os saprófitos primários, alguns dos fungos que se

¹² PETRINI, O. Fungal endophytes of tree leaves. In: ANDREWS, J. H.; HIRANO, S. S. (Ed.) **Microbial ecology of leaves**. New York: springer. 1991. p. 179-197.

desenvolveram após a queda das folhas, os secundários, não apresentam propágulos com paredes espessas e negras que permitiriam que eles sobrevivessem a condições ambientais extremas das superfícies foliares (KUTER, 1986).

Os saprófitos secundários isolados apresentam-se representados pelos Deuteromicetos, Zigomicetos e Basidiomicetos e foram isolados freqüentemente durante o período examinado.

Entre os colonizadores secundários, pode-se destacar: *Trichoderma* e *Mucor*, que apesar de terem sido registrados nas acículas senescentes, apareceram com baixa freqüência; e *Acremonium*, *Verticillium* e *Rhizoctonia*, que foram isolados após a segunda coleta. Esse resultado coincide com os encontrados por HERING (1965) e KUTER (1986), com exceção de *Rhizoctonia*, que não foi relatada nesses trabalhos.

Conforme as acículas se decompõem, uma variedade de substratos torna-se disponível e isso pode implicar no aparecimento sucessivo de fungos. Fungos não celulolíticos, como *Mucor*, podem ser dependentes de carboidratos liberados pela atividade enzimática de colonizadores mais antigos (GARRET, 1963).

Trichoderma é um conhecido fungo celulolítico e pode, portanto, realizar a decomposição da serapilheira, produzindo pequenas moléculas de açúcar utilizáveis com o acompanhamento de *Mucor* (VIRZO DE SANTO et al., 2002). *Trichoderma* e *Mucor* são fungos comuns do solo.

É importante salientar que muitos dos fungos isolados neste trabalho são considerados, de modo geral, cosmopolitas, com baixas exigências nutricionais.

4.3 FUNGOS COLONIZADORES

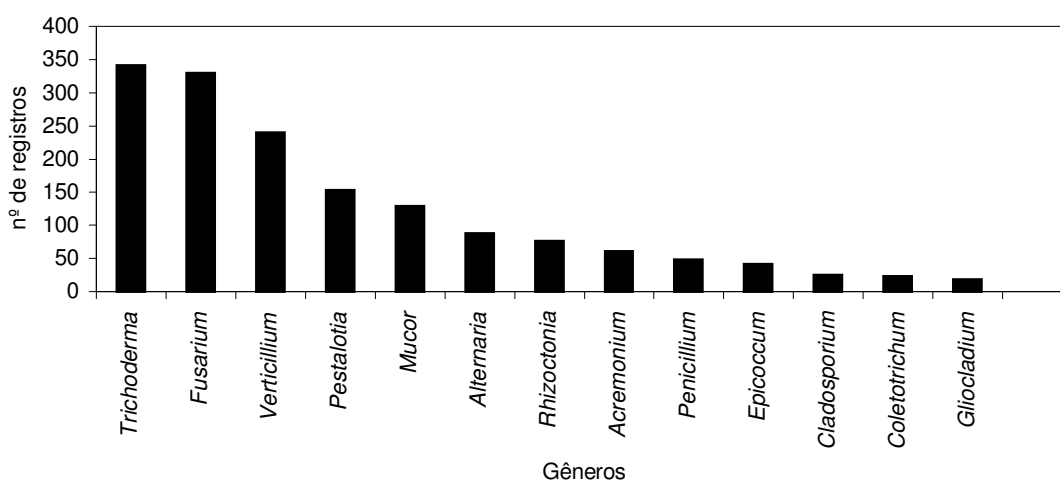
De um modo geral, em todas as coletas, dentre todos os fungos encontrados, pelo menos 3 gêneros de fungos diferiram significativamente entre si, quanto à ocorrência, ($P \leq 0,5$), como pode ser observado na tabela 4. *Trichoderma* e *Fusarium* foram estatisticamente mais freqüentes que os outros gêneros. Sendo os menos freqüentes: *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Colletotrichum*, *Cladosporium* e *Gliocladium* (fig. 3).

TABELA 4 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DE GÊNEROS DE FUNGOS ENCONTRADOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda*.

FUNGOS	Número Total	Grupos Homogêneos
<i>Trichoderma</i>	335	a
<i>Fusarium</i>	330	a
<i>Verticillium</i>	240	ab
<i>Pestalotia</i>	153	b
<i>Mucor</i>	129	bc
<i>Alternaria</i>	88	cd
<i>Rhizoctonia</i>	76	cd
<i>Acremonium</i>	61	cd
<i>Penicillium</i>	48	d
<i>Epicoccum</i>	41	d
<i>Cladosporium</i>	25	d
<i>Colletotrichum</i>	23	d
<i>Gliocladium</i>	18	d

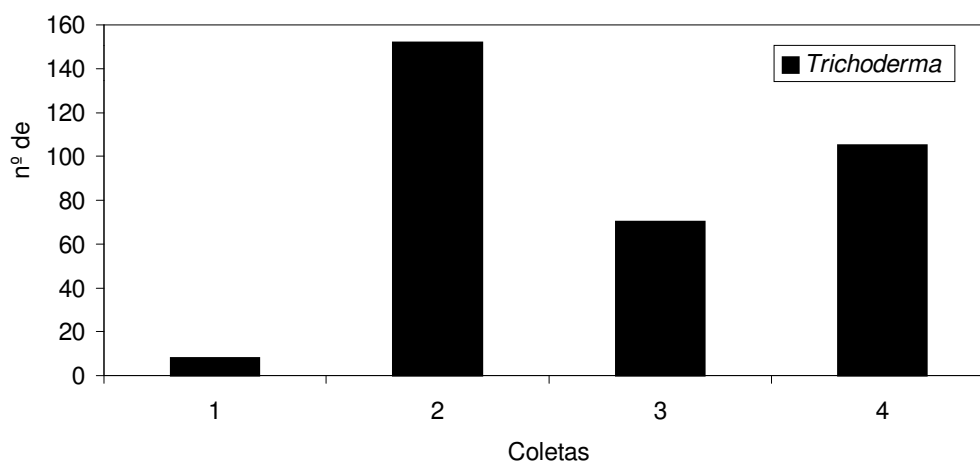
*Valores seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste LSD, 5% de significância.

FIGURA 3 - NÚMERO DE REGISTROS DOS GÊNEROS COLONIZADORES DE ACÍCULAS DE *Pinus taeda*.



Trichoderma foi o fungo mais registrado durante toda a amostragem, 335 colônias contadas no total. Inicialmente, nas acículas senescentes, apareceu em menor número, apenas 8 registros. Já na segunda coleta, apresentou um aumento significativo, 152 registros, passando para 70 na terceira coleta e voltado a aumentar na quarta coleta, 105 colônias (Figuras. 3 e 4).

FIGURA 4 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Trichoderma* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Trichoderma é um gênero bastante comum em solos e serapilheira, no entanto, pode habitar diversos substratos, especialmente florestas, já que possui grande potencial saprofítico (KUTER, 1986). É um gênero conhecido como celulolítico (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980; SINGH; STEINKE, 1992), possui habilidade para degradar celulose e também para parasitar outros fungos (FRANKLAND¹³, apud SCHOENLEIN-CRUSIUS; MILANEZ, 1998). Além disso, também já foi relatada a sua capacidade de produzir amilase, protease e pectinase (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980).

As espécies de *Trichoderma* atuam durante todo o processo de decomposição, no entanto, mesmo não estando associadas às folhas vivas ou senescentes, algumas espécies de *Trichoderma* estão presentes desde o início da sucessão. São conhecidas por serem colonizadoras secundárias de uma ampla variedade de serapilheiras florestais e têm sido registradas em materiais em

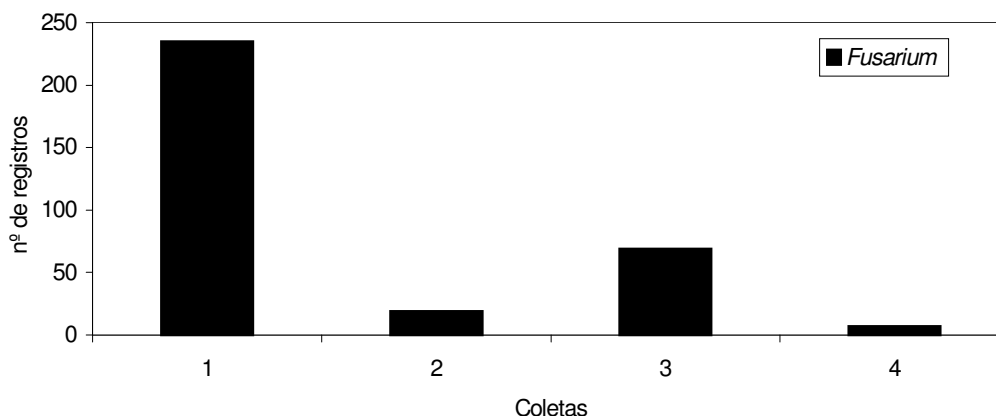
decomposição (HUDSON, 1968; DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980), como pôde ser constatado nesse estudo, já que foi registrado apenas 8 vezes nas acículas senescentes. No entanto, muitas espécies desse gênero se diferem em suas afinidades por temperatura e umidade (WIDEN; HSU, 1987), o que justificaria uma menor incidência na terceira coleta (maio/2004), figura 4, que apresentou a menor temperatura (18,2°C). São relatadas em solos florestais ácidos, um dos motivos por ter sido tão registrado na área estudada (335 registros), visto que, povoamentos de *P. taeda* são retratados como acidificantes do solo (STEVENSON, 1994).

TOKUMASU (1998a) também encontrou *Trichoderma* na sucessão fúngica e acículas de pínus, como um dos mais representativos, antecedido apenas por *Thysanophora penicilloides*. Desse mesmo modo, ATILLI (1989) e SCHOENLEIN-CRUSIUS (1988) também registraram *Trichoderma*, juntamente com *Fusarium*, o segundo mais representativo nesse trabalho, como os mais freqüentes.

O gênero *Fusarium* foi o segundo fungo mais representativo, apresentando um total de 330 colônias e estando presente em todas as coletas, como pode ser observado nas figuras 3 e 5. Nas acículas senescentes foi registrado o maior valor, 235 colônias. Foi observada uma grande diminuição na segunda coleta (19) seguida de um aumento na terceira (69) e nova diminuição na quarta coleta (7).

¹³ FRANKLAND, J. C. Mechanisms in fungal successions. In: WICKLOW, D. T.; CARROL, G. C. (Ed.). **The fungal community**. New York: Marcel Dekker. 1981.p. 403-426.

FIGURA 5 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Fusarium* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



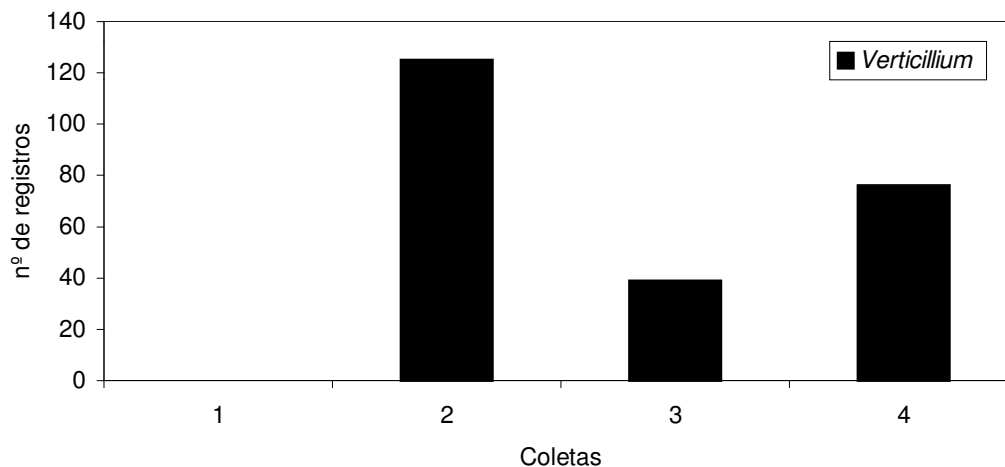
Fusarium é considerado um gênero competidor saprofítico em solos (PUGH; WILLIAMS, 1968) por isso, pode-se explicar a grande incidência de registros desse gênero e sua presença durante todo o processo de decomposição (fig. 5). É conhecido por produzir celulase, e, portanto, apresenta habilidades celulolíticas (BISARIA; GHOSE, 1981; COUGHLAN, 1985). Segundo TUBAKI e YOKOYAMA¹⁴, citado por MAIA (1983), a ocorrência de *Fusarium* em solos cultivados, como no caso de plantios florestais, é bastante freqüente. No entanto, MAIA (1983) afirma juntamente com outros autores, ser bastante encontrado o gênero em solos naturais e serapilheira de espécies florestais não cultivadas.

Verticillium foi o terceiro gênero mais representativo, totalizando 240 registros, no entanto, não está representado em todas as coletas (fig. 3 e 6). Nas acículas senescentes esse gênero não foi observado, vindo a aparecer pela primeira vez na segunda coleta, em número de 125 colônias. Na terceira coleta, houve uma considerável diminuição desse número inicial, passando para apenas 39 registros. Houve um aumento na última coleta, 76 registros de colônias. *Verticillium* é relatado na literatura como pouco comum no início do processo de decomposição (KUTER, 1986) e assim como nesse trabalho, apareceu inicialmente nos meses do verão.

¹⁴TUBAKI, K.; YOKOYAMA, T. Successive fungal flora on sterilized leaves in the litter of forests III. **IFO Res. Comm.**, v. 6, p. 27-49. 1971.

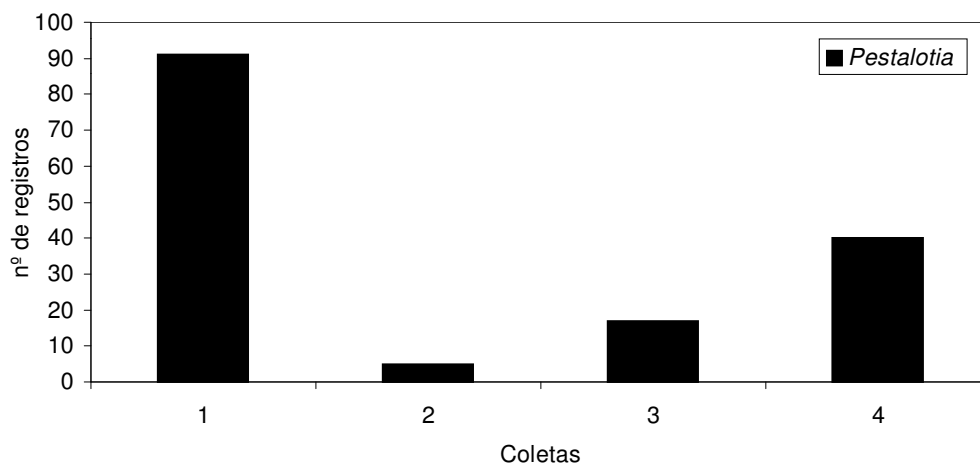
MAIA (1983) destaca esse gênero como participante no processo de degradação da celulose.

FIGURA 6 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Verticillium* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Pestalotia foi o quarto gênero mais registrado, apresentando 153 registros no total e foi observado durante todo o período estudado. Nas acículas senescentes, foi registrado 91 vezes (fig. 3 e 7). Na segunda coleta, apresentou uma grande queda no número de registros (5 registros) seguido de aumento progressivo nas coletas seguintes (17 e 40, respectivamente).

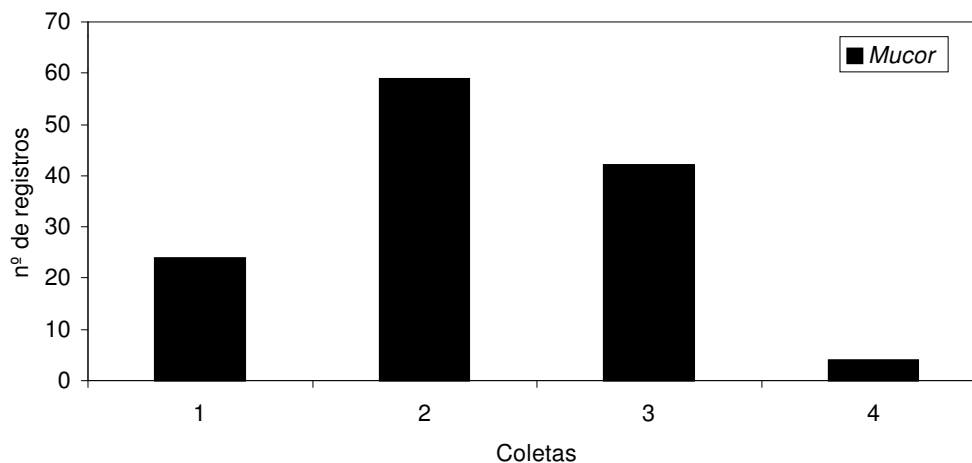
FIGURA 7 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Pestalotia* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Pestalotia é caracterizado na literatura como saprófito primário (BRANDSBERG, 1969; MAIA, 1983), sendo observado com maior frequência em material foliar vivo ou senescente, como pôde também ser observado nesse trabalho, onde o maior número de registros foi em acículas senescentes. WATSON, McCLURKIN e HUNEYCUTT (1974) relataram *Pestalotia* como um colonizador interno da acícula. O aumento detectado no período do inverno (ago/2004) pode ser explicado pelo fato desse fungo poder atuar epifiticamente e endofiticamente (VENEDIKIAN; BONAVENTURA; GODEAS, 2001), característica essa que lhe confere vantagens sobre outros fungos mais sensíveis as condições climáticas adversas.

O quinto gênero mais representativo foi *Mucor* que apresentou um total de registros equivalente a 129. Nas acículas senescentes o número de ocorrências foi de 29, figura 8, ocorrendo um aumento na segunda coleta (59 registros), sofrendo, a partir daí, uma diminuição nas coletas seguintes (42 e 4 registros, respectivamente).

FIGURA 8 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Mucor* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



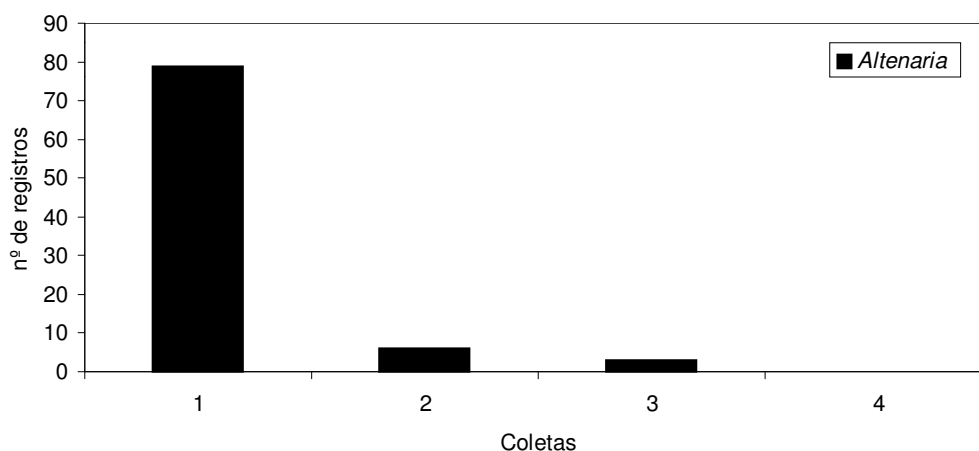
Esteve presente em todos os estágios de decomposição, havendo grande variação de relatos em relação ao estágio de decomposição da serapilheira, contribuindo significativamente na ciclagem de nutrientes. A maior incidência de registros em estágios iniciais e intermediários coincidem com os resultados obtidos por BRANDSBERG (1969) e GARRET (1963), que ressaltam *Mucor* como importante colonizador primário. No entanto, HUDSON (1968) e KUNTER (1986) relatam *Mucor* como saprófito secundário.

O gênero *Mucor* apresenta-se bastante freqüente em ambientes terrestres, indicando uma possível afinidade por substratos em decomposição nesses ambientes (SCHOENLEIN-CRUSIUS; MILANEZ, 1997). As espécies de Mucorales são conhecidas por serem saprófitas comuns do solo, sendo que o potencial enzimático desse grupo permite-lhes decompor açúcares de estrutura molecular mais simples (HESSELTINE; ELIS, 1973).

Alternaria aparece na seqüência, com 79 registros iniciais, caindo para 6 registros e 3 na terceira coleta, não havendo crescimento na quarta coleta, totalizando, desse modo, 88 registros (fig. 9). É um hifomiceto dematiáceo conhecido por ser habitante do filoplano (WATSON; McCLURKIN; HUEYCUTT, 1974) e colonizador primário. Apresenta habilidades para utilizar pectina, o que o torna um fungo celulolítico (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980). Produz esporos negros e

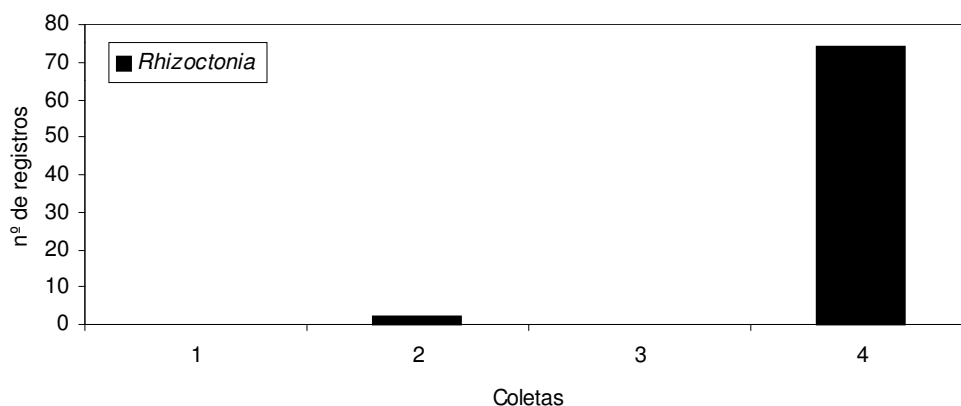
picnídios que o capacita a permanecer na acícula durante o processo de senescência, tornando-o resistente às condições adversas na acícula durante esse período. Pode sobreviver tanto epifiticamente quanto endofiticamente, já que pode penetrar nos tecidos das acículas para iniciar a sua decomposição.

FIGURA 9 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Alternaria* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



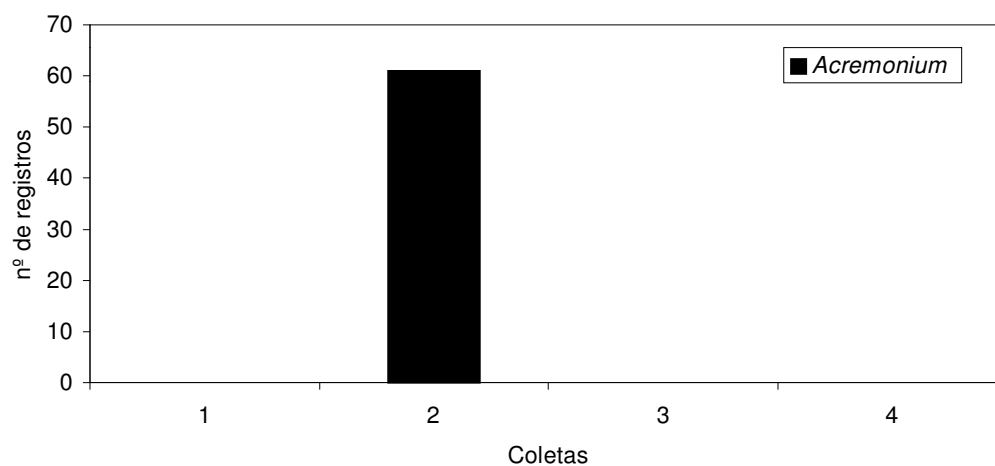
O fungo *Rhizoctonia*, com 76 registros, ficou na sexta posição dos mais representativos, verificado apenas na segunda (2 registros) e quarta (74 registros) coletas (fig. 10). É um basidiomiceto parasita de plantas, causando várias doenças em plantas, e com habilidades saprofíticas por tratar-se de um fungo do solo. GARRET (1962) o considera um fungo hábil na utilização de celulose.

FIGURA 10 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Rhizoctonia* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Acremonium aparece com um total de 61 registros sendo todos verificados na segunda coleta (fig. 11). *Acremonium* é um dos mais comuns habitantes dos solos e da serapilheira e assim como no trabalho de MAIA (1983) também só foi observado no material já em contato com o solo. Sua participação na decomposição de acículas é incerta.

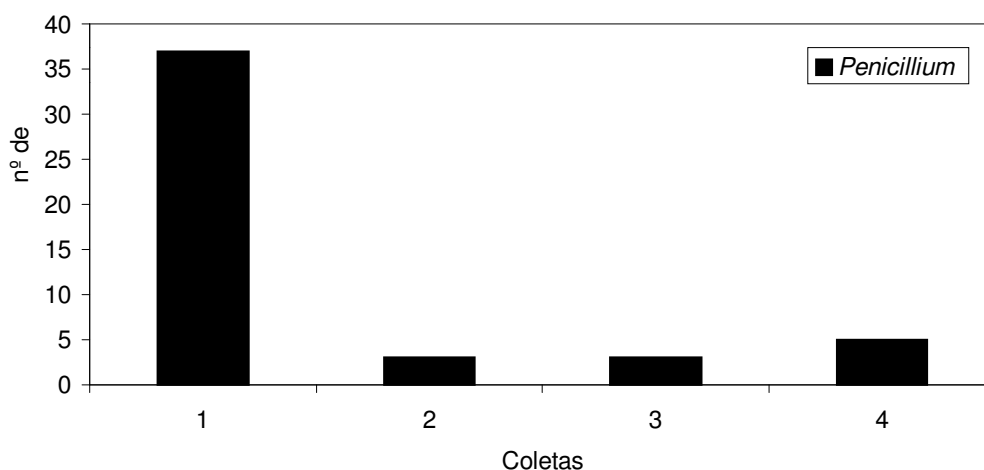
FIGURA 11 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Acremonium* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Penicillium apareceu com 37 registros nas acículas senescentes (fig. 12), apresentando grande diminuição nas coletas subseqüentes (3 e 3 registros na

segunda e terceira coletas) e um pequeno aumento na quarta e última coleta (5 registros). Esse gênero foi também isolado durante todo o processo de decomposição por MAIA (1983). Trata-se de um fungo de solo bastante comum, com habilidades para degradar celulose, no entanto, quando sobre elevado conteúdo de água no substrato pode sofrer efeito adverso, especialmente sobre baixas temperaturas (PUGH, 1958). Talvez isso explique a baixa frequência desse fungo durante o período analisado, visto que a precipitação foi relativamente alta durante o período de estudo, principalmente no período do outono (mai/2004).

FIGURA 12 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Penicillium* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Os gêneros *Epicoccum*, *Cladosporium* e *Colletrochium* só estiveram presentes nas acículas senescentes, com valores de 41 (fig. 13), 25 (fig. 14) e 23 (fig. 15) registros respectivamente. *Epicoccum* e *Cladosporium*, hifomicetos dematiáceos, são conhecidos por serem colonizadores saprofíticos primários comuns (HUDSON, 1968; DICKINSON, 1976). *Epicoccum* e *Cladosporium* são descritos por WATSON, McCLURKIN e HUNEYCUTT (1974) e SADAKA e PONGE (2003) como habitantes da superfície foliar e colonizadores internos de folhas verdes e senescentes. No entanto, para DOMSCH, GAMS e ANDERSON (1980) são considerados especialmente externos, colonizadores ubíquos, hábeis para utilizarem pectina, embora suas atividades celulolíticas possam variar com a espécie e as condições ambientais. Nesse contexto, colonizam a filosfera para penetrar os tecidos

das folhas no início do processo de senescência, podendo desse modo, estar presente tanto epifiticamente quanto endofiticamente durante os primeiros estágios de decomposição (PETRNI¹², apud SADAKA; PONGE, 2003). Foram encontrados nos primeiros estágios de decomposição, em acículas senescentes em espécies de *Pinus* por VIRZO DE SANTO et al. (2002), resultados que vão de acordo com os desse trabalho.

Colletotrichum é conhecido como saprófita, no entanto é pouco relatado como decompositor da serapilheira, em folhas vivas é também relatado como parasita.

FIGURA 13 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Epicoccum* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.

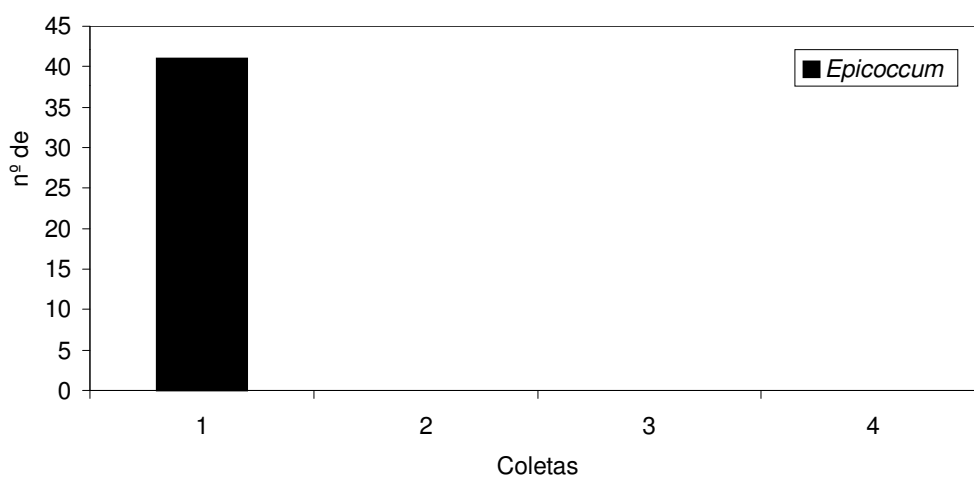


FIGURA 14 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Cladosporium* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.

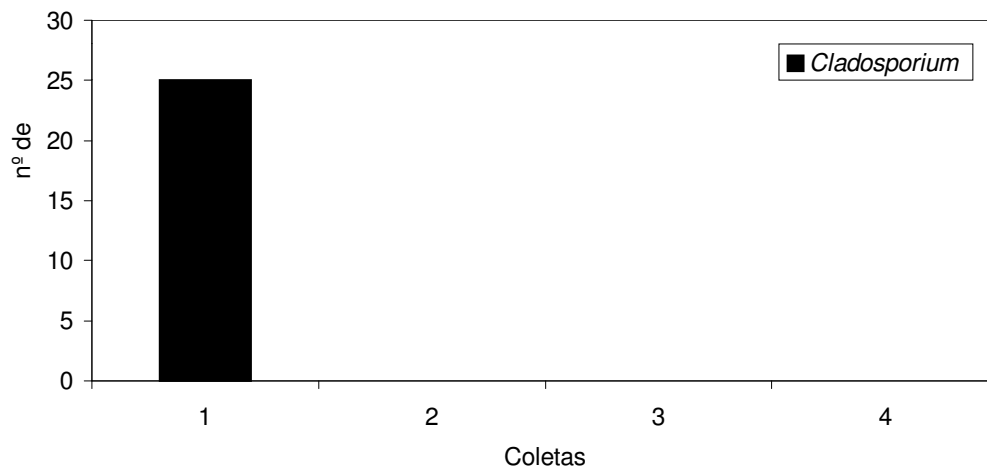
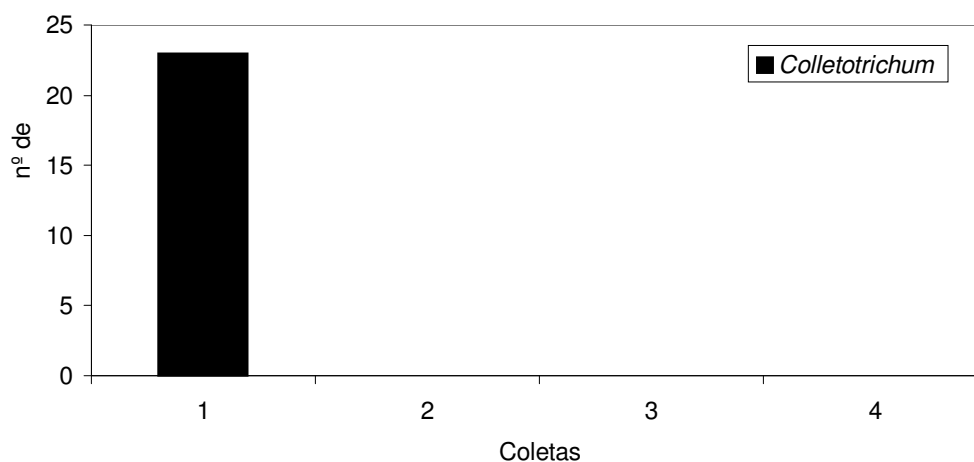


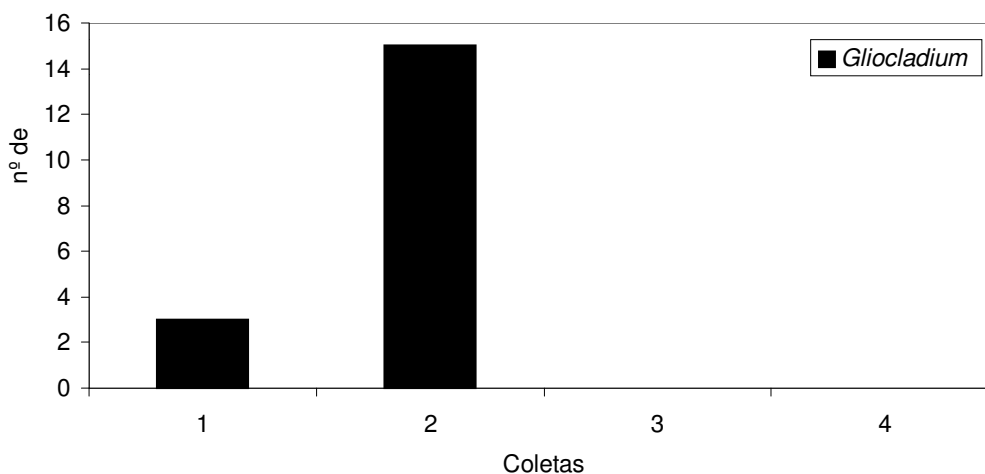
FIGURA 15 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Colletotrichum* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



Por fim, *Gliocladium* aparece com o menor registro dos treze gêneros encontrados, com apenas 18 registros no total, distribuídos em duas coletas: nas acículas senescentes com 3 registros e na segunda coleta com 15 registros (fig. 16). A ocorrência de *Gliocladium* não é muito comum na serapilheira, ocorre em baixas freqüências quando mencionado, como ocorreu nas acículas examinadas nesse trabalho. No entanto, foi constatada para esse gênero a capacidade de degradar

celulose, além disso, trata-se de um fungo de solo com grande capacidade de crescer em condições ácidas, apesar de ser mais conhecido em ambientes alcalinos (MAIA, 1983), podendo também parasitar outros fungos (FRANKLAND¹³, apud SCHOENLEIN-CRUSIUS; MILANEZ, 1998).

FIGURA 16 - NÚMERO TOTAL DE REGISTROS DO GÊNERO *Gliocladium* EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* NAS 4 COLETAS.



4.4 CORRELAÇÕES

Diferenças sazonais em temperatura e umidade disponível podem influenciar a sucessão observada afetando diretamente as habilidades competitivas de vários fungos e também influenciando esporulação e, portanto a disponibilidade de inoculo. No entanto, apenas a temperatura parece estar influenciando significativamente a presença dos fungos nesse trabalho.

A correlação entre o total de fungos e a temperatura média foi significativa, apresentando o valor do coeficiente de correlação de Pearson igual a 0,72. Ou seja, a temperatura média está influenciando o aparecimento e desaparecimento dos fungos no decorrer das coletas (fig. 17). A temperatura média pode ser um importante parâmetro para a análise da colonização fúngica, mostrando a importância do clima e das condições sazonais.

Em relação à temperatura máxima (fig. 18), também foi verificada correlação significativa, através do valor do coeficiente de correlação de Pearson ($C= 0,61$), indicando que a temperatura máxima influenciou o número total de fungos nas quatro coletas.

FIGURA 17 - NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* E TEMPERATURA MÉDIA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.

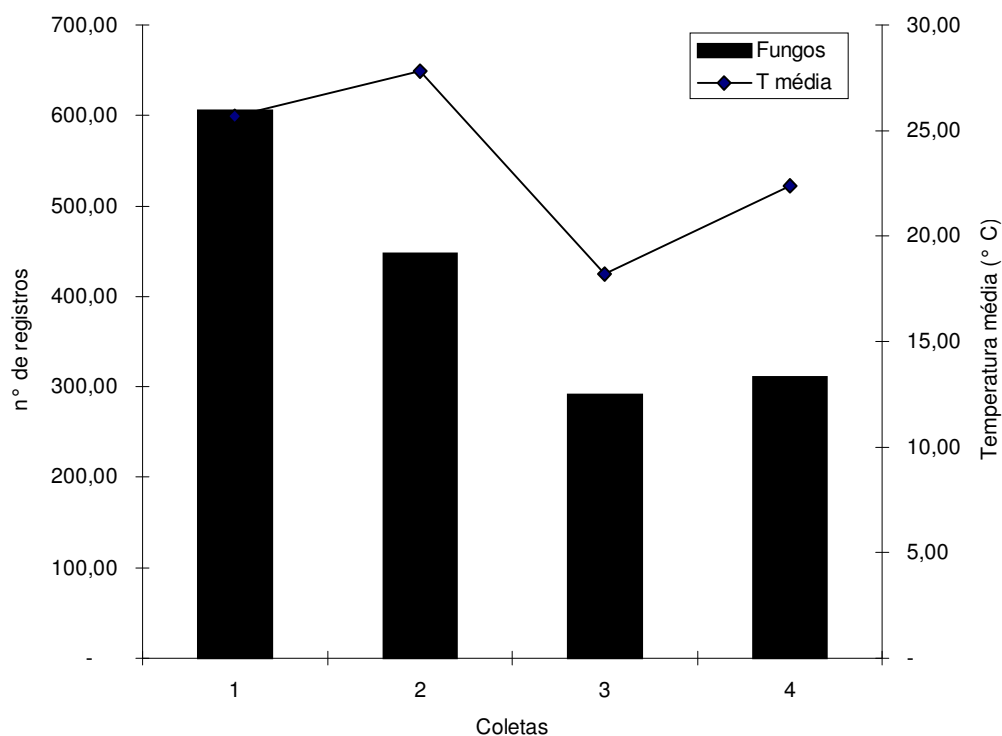
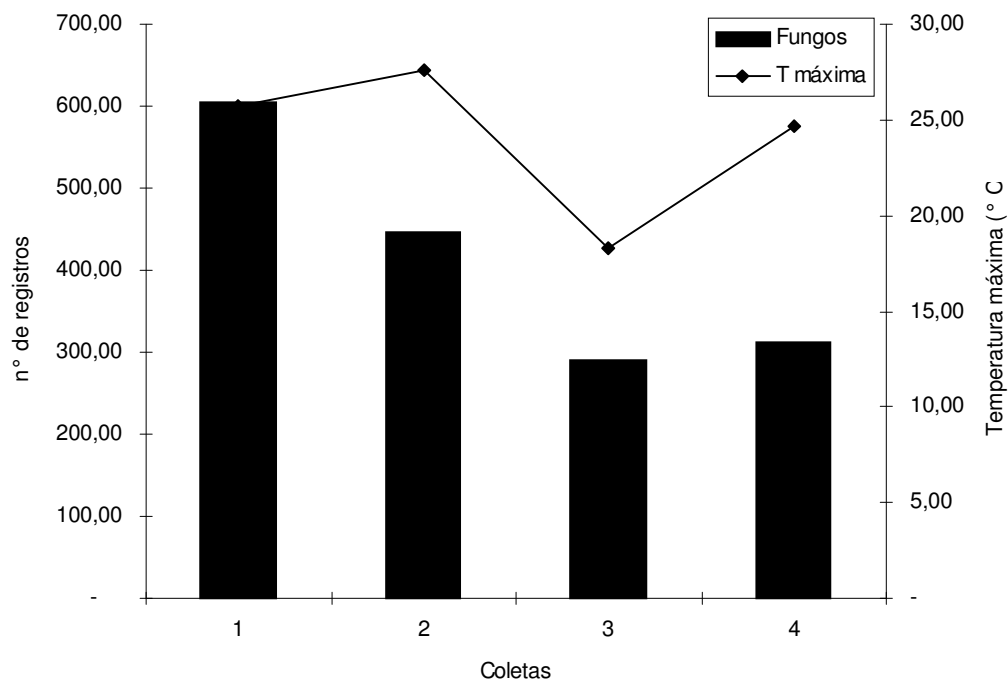
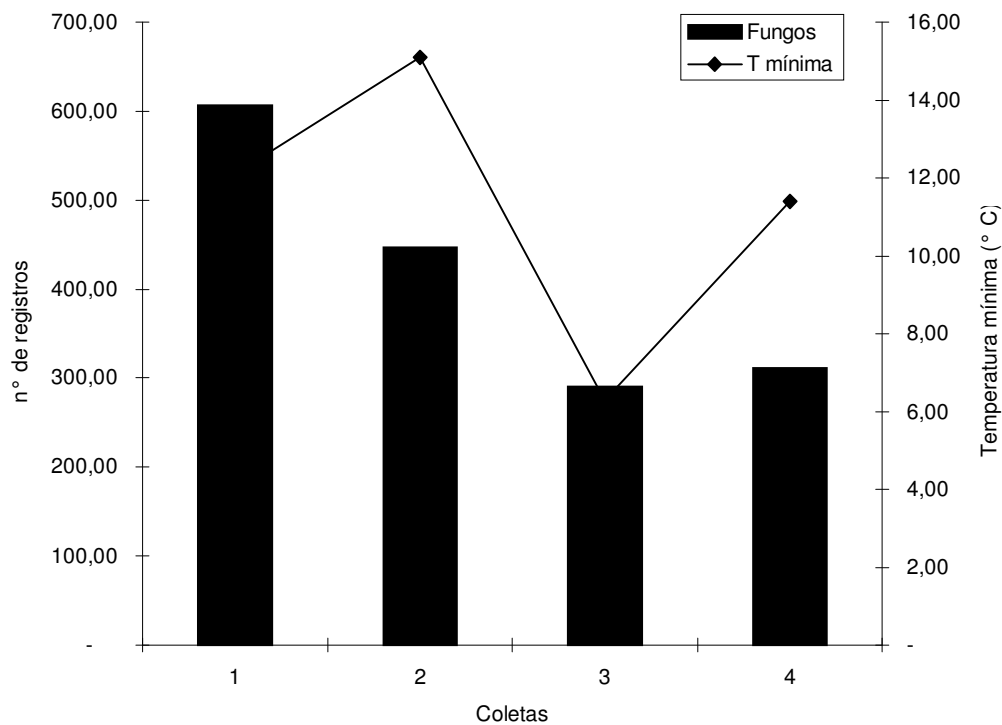


FIGURA 18 - NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* E TEMPERATURA MÁXIMA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.



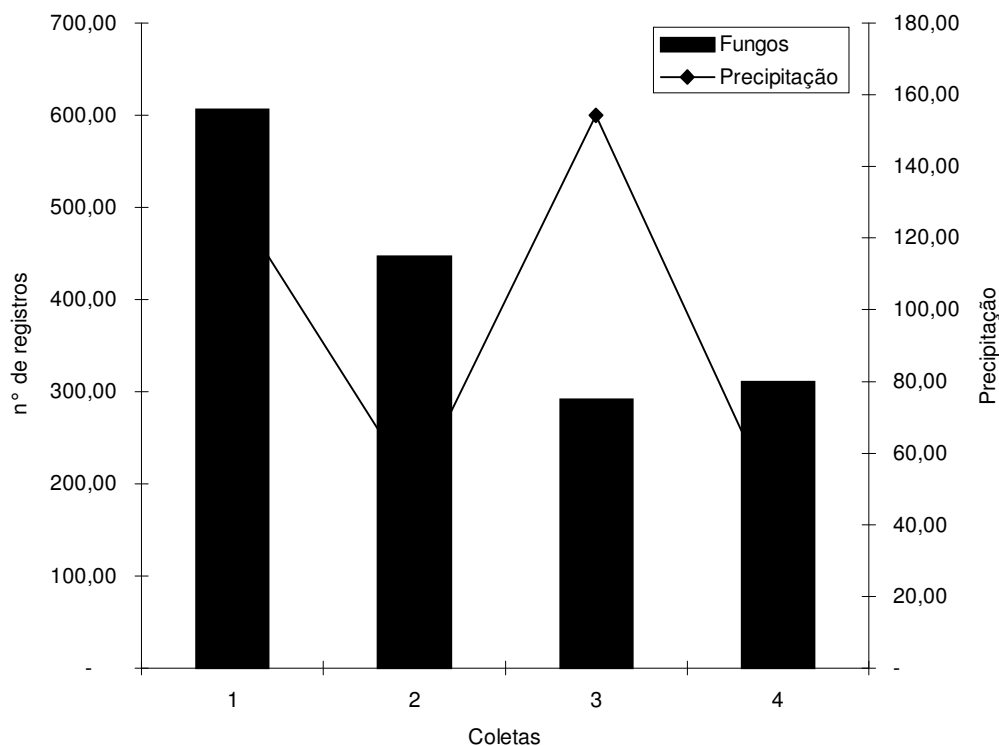
A temperatura mínima não apresentou significância na correlação com o número de registros de fungos e as coletas, obtendo valor do coeficiente de correlação de Pearson igual a 0,55 (fig. 19).

FIGURA 19 - NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* E TEMPERATURA MÍNIMA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.



A correlação entre a precipitação pluviométrica e o número total de fungos apresentou o menor valor do coeficiente de correlação de Pearson, equivalente a 0,14 (fig. 20). Isso significa que a precipitação não influenciou significativamente no desenvolvimento dos fungos ao longo das quatro coletas.

FIGURA 20 - NÚMERO TOTAL DE FUNGOS EM ACÍCULAS DE *Pinus taeda* E PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA LOCAL EM CADA PERÍODO DE COLETA.



TOKUMASU (1998b) concluiu que a temperatura é um fator cardinal que pode contribuir com as mudanças sazonais na sucessão de colonizadores internos de acículas. Altas temperaturas e umidade são importantes parâmetros para a colonização fúngica, e representariam a grande importância do clima e das condições sazonais (SCHOENLEIN-CRUSIUS; TAUKE, 1991).

Os fungos associados ao processo de decomposição de partes da planta são muito influenciados pelas condições ambientais às quais a planta está subordinada (TUBAKI, YOKOYAMA¹⁵, apud MAIA, 1983). TUBAKI¹⁶, citado por MAIA (1983), concluiu que as mudanças estacionais podem atuar como importante fator limitante na ocorrência de saprófitos na serapilheira. Além dele, PUGH (1958) e HUDSON (1968), também concluíram que a temperatura e o conteúdo de água no substrato afetam as atividades da micobiota. OLSON (1963) concluiu que temperaturas baixas retardam a atividade biológica, resultando em menores taxas de decomposição.

Entretanto, na presente pesquisa, não foi encontrada correlação entre precipitação e número total de registros. Porém, as temperaturas médias e máximas mostraram-se positivamente correlacionadas com o número total de fungos.

O baixo valor da temperatura média na coleta de maio talvez explique a diminuição no número total de registros da micobiota.

¹⁵ TUBAKI, K.; YOKOYAMA, T. Successive fungal flora on sterilized leaves in the litter of forests I. **IFO Res. Comm.**, v. 5, p. 24-42. 1971.

¹⁶ TUBAKI, K. Some aspects of geographical distribution of litter fungi in Japan. **Shokubutsu Byogai Kenkyu**, v. 8, p. 61-69.1973.

5 CONCLUSÕES

- Durante a sucessão fúngica em acículas de *Pinus taeda*, foram registrados 13 gêneros: *Trichoderma*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Pestalotia*, *Mucor*, *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Cladosporium*, *Colletotrichum* e *Gliocladium*.
- Entre os gêneros encontrados, *Trichoderma*, *Fusarium* e *Verticillium* foram os mais freqüentes.
- A correlação entre os fungos e a temperatura foi significativa para temperatura média e temperatura máxima.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. New York: John Wiley and Sons. 1961. 472 p.

ALEXANDER, M. **Introducción a la microbiología del suelo**. México, D.F.: Libros Y Editoriales, 1980. 491p.

AMER, G.; DREW, S. **Microbiology of lignin degradation**. Annual Reports on Fermentation Process, n. 4, p. 68-101, 1980.

ANDER, P.; ERIKSSON, K. E. Lignin degradation and utilization by micro-organisms. **Progress Industrial Microbiology**, Amsterdam, n. 14, p. 1-58, 1978.

ARX, J. A. VON. **The Genera of fungi sporulation in pure culture**. 2. ed. Vanduz: J. Cramer. 1974. 351 p.

ATTILI, D. S. **Sucessão fúngica e decomposição da fração foliar da serapilheira de cerrado no município de Corumbataí, SP**. Rio Claro, SP, 1989. 183f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, UNESP.

ATTILI, D.; TAU-K-TORNISIELO, S. M. Occurrence of microfungi during leaf litter decomposition in a 'cerrado sensu stricto' area of São Paulo. **Brazil. Rev. Micr.**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 188-194. 1994.

BAATH, E.; ARNEBRANT, K. Growth rate and response of bacterial communities to pH in limed and ash treated forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, n. 8, p. 995-1001. 1994.

BARNETT, H. C.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3. ed. Mineapolis: Burgess Publ. 1972. 241 p.

BAYER, E. A.; LAMED, R. The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource? **Biodegradation**, v. 3, p. 171-188. 1992.

BAZIN, M. J.; SAUNDERS, P. T.; PROSSER, J. I. Models of microbial interactions in the soil. **Crit. Reviews Microbiol.**, Boca Raton, n. 4, p. 463-498. 1976.

BERG, B.; WESSEN, B. Changes in organic-chemical components and ingrowth of fungal mycelium in decomposing birch leaf litter as compared to pine needles. **Pedobiologia**, v. 26, p. 285-298. 1984.

BERG, B.; STAAF, H.; WESSEN, B. Decomposition and nutrient release in needle pine litter from nitrogen-fertilized Scots pine (*Pinus sylvestris*) stands. **Scand J. For. Res.**, v. 2, p. 399-415. 1987.

BERG, B.; EKBOHM, G. Decomposing needle litter in *Pinus contorta* (Lodgepole pine) and *Pinus sylvestris* (Scots pine) monocultural systems – is there a maximum mass loss? **Scand. J. For. Res.**, v. 8, p. 457-465. 1993.

BISARIA, V. S.; GHOSE, T. K. Biodegradation of cellulosic materials: substrates, microorganisms, enzymes and products. **Enzyme and Microbial Technology**, Guildford, n. 3, p. 90-104, 1981.

BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Ed.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 1-15.

BRANDSBERG, J. W. Fungi isolated from decomposing conifer litter. **Mycologia**, v. 61, 673-381. 1969.

CARVALHO, A. P. de; MENEGOL, O.; OLIVEIRA, E. B. de; MACHADO, S. A.; POTTER, R. O.; FASOLO, P. J.; FERREIRA, C. A., BARTOZESCK, A. Efeitos de características do solo sobre a capacidade produtiva de *Pinus taeda*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 39, p. 51-66, jul./dez. 1999.

COILE, T. S. Composition of the litter of forest trees. **Soil Science**, v. 43, p. 349-355. 1937.

COUGHLAN, M. P. The properties of fungal and bacterial cellulases with comment on their production and application. In: RUSSEL, G. E. (Ed.). **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**. Newcastle upon Tyne: Intercept, 1985. p. 309-409.

CRAWFORD, R. L.; CRAWFORD, D. L. Recent advances in studies of the mechanisms of microbial degradation of lignins. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 6, p. 434-442, 1984.

DICKINSON, C. H. Fungi on the aerial surfaces of higher plants. In: PREECE, T. F.; DICKINSON, C. H. (Ed.). **Microbiology of aerial plant surfaces**. New York: Academic Press. 1976. p. 291-324.

DICKINSON, C. H. Biology of *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* and *C. herbarum* in respect of their activity on green plants. In: BLAKEMAN, J. P. (Ed.). **Microbial ecology of the phylloplane**. London: Academic Press. 1981. p. 169-184.

DIONÍSIO, J. A. **Flutuações Populacionais, Biomassa e Atividades Microbianas em Área Cultivada com Eucalyptus grandis (W. Hill ex Maiden)**. Curitiba, 1996. 96f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

DUBOS, B.; BULIT, J. Filamentous fungi as biocontrol agents on aerial plant surfaces. In: BLAKEMAN, J.P. (Ed.). **Microbial ecology of the phylloplane**. London: Academic Press, 1981. p. 353-368.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. New York: Academic Press. v. 1. 1980.

DONNELLY, P. K.; ENTRY, J. A.; CRAWFORD, D. L.; CROMACK, K. Cellulose and lignin degradation in forest soils: response to moisture, temperature and acidity. **Microbial Ecology**, v. 20, p. 289-295. 1990.

EIRA, A. F. Solubilização Microbiana de Fosfatos. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Ed.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 1992. p. 243-256.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Surrey: Comm. Mycol. Inst. 1971. 507 p.

ELLIS, M. B. **More dematiaceous hyphomycetes**. Surrey: Comm. Mycol. Inst. 1976. 507 p.

FELL, J. W.; HUNTER, I. L. Fungi associated with the decomposition of the black rush, *Juncus roemerianus*, in South Florida. **Mycologia**, v. 71, p. 322-342. 1979.

FERREIRA, C.A. Nutrição mineral de florestas plantadas: O estado atual e tendências da pesquisa prática. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7, 1993, Curitiba. **Anais** do 7º Congresso Florestal Brasileiro. Curitiba: Sociedade Brasileira de Silvicultura, Sociedade Brasileira de Engenheiros Florestais, 1993. v. 3, p. 157-162.

FOG, K. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. **Biol. Rev.**, v. 63, p. 433-462. 1988.

FRANKLAND, J. C. Fungal succession-unravelling the unpredictable. **Mycological Research**, v. 102, p. 1-15. 1998.

FREIRE, J. R. J. **Microbiologia do Solo**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia - UFRGS, 1975. 391p.

FUNDAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ PARA O DESENVOLVIMENTO DA CIÊNCIA, DA TECNOLOGIA E DA CULTURA. **Inventário**

nacional das florestas plantadas nos Estados do Paraná e Santa Catarina: relatório final. Curitiba: UFPR, 1982. 293p.

GARRET, S. D. Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. **New Phytol.**, v.50, p. 149-166. 1951.

GARRET, S.D. Decomposition of cellulose in soil by *Rhizoctonia solani* Kühn. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, v. 45, p. 115-120. 1962.

GARRET, J. **Soil fungi and fertility.** Oxford: Pergamon Press. 1963.

GONÇALVES, J. L. M.; DEMATTÊ, J. L. I.; COUTO, H. T. Z. Relações entre a produtividade de sítios florestais de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* com as propriedades de alguns solos de textura arenosa e média no Estado de São Paulo. **IPEF**, Piracicaba, n. 43/44, p. 24-39, 1990.

HAMMEL, K. E. Fungal degradation of lignin. In: CADISCH, G.; GILLER, K. E. (Ed). **Driven by nature: plant litter quality and decomposition.** Wallingford, England: Commonwealth Agricultural Bureaux International. 1997. p. 33-45.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi.** 8. ed. Wallingford: CABI, 1995. 616p.

HESELTIME, C. W., ELIS, J. J. Mucorales. In: AINSWORTH, G. C.; SAPARROW, F. K.; SUSSMAN, A. S. (Ed.). **The fungi: an advanced treatise.** New York: Academic Press. v. 4B. 1973. p. 187-217.

HERING, T. F. The succession of fungi in the litter of a Lake District oakwood. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, v. 48, p. 391-408. 1965.

HERREIRA, T.; ULLOA, M. **El Reino de los Hongos: Micología básica y aplicada**. Ciudad Universitaria, México: Universidade Nacional Autónoma do México; Fondo de Cultura Econômica, 1990. 552p.

HOVLAND, J. The effect of artificial acid rain on respiration and cellulase activity in Norway Spruce needle litter. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 13, p. 23-26. 1981.

HUDSON, H. J. The ecology of fungi on plant remains above the soil. **New. Phytol.**, v. 67, p. 837-874. 1968.

JENSEN, V. Decomposition of angiosperm tree leaf litter. In: DICKINSON, C. H.; PUGH, G. J. F. (Ed). **Biology of plant litter decomposition**. London: Academic Press, 1974. v. 1, p. 69-104.

JORGENSEN, J. R.; WELLS, C. G.; METZ, L. J. The nutrient cycle: key to continuous forest production. **Journal of Forestry**, Washington, p. 734-741. 1944.

JURGENSEN, M. F.; LARSEN, M. J.; MROZ, G. D.; HARVEY, A. E. Timber harvesting, soil organic matter, and site productivity. In: SMITH, C. T.; MARTIN, C. W.; TRITTON, L. M. (Ed). Proceedings, 1986, **Symposium on the productivity of northern forests following biomass harvesting**, Durham. USDA: Broomhall, General Technical Report NE-GRT-115, p. 43-52. 1986.

KAHLKI, R.; KLOIDT, M.; LYSEK, G. Phyllophane inhabiting fungi of pine needles (*Pinus silvestris* L.) in Berlin (West). **Nova Hedwigia**, v. 42, n. 2-4, p. 597-601. 1986.

KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. **Micologia Médica**. 2. ed. São Paulo: Editora Premier. 256p. 1999.

KIRK, T. K.; CHANG, H. M. Potential applications of bio-lignolytic systems. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 3, p. 189-196, 1981.

KONEMAN, E. W.; ROBERTS, G. D. **Micologia Prática de Laboratório**. Buenos Aires: Editora Médica Panamericana. 1987. 221 p.

KURZ, C.; COÛTEAUX, M-M; THIÈRY, J. M.. Residence time and decomposition rate of *Pinus pinaster* needles in a forest floor from direct field measurements under a Mediterranean climate. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1197-1206. 2000.

KUTER, G. A. Microfungal populations associated with the decomposition of sugar maple leaf litter. **Mycologia**, v. 78, p. 114-126. 1986.

LARONE, D. H. **Medically important fungi: a guide to identification**. New York: Elsevier. 1987. 230 p.

LYNCH, J. M.; SLATER, J. H.; BENNETT, J. A.; HARPER, S.H.T. Cellulase activities of some aerobic micro-organisms isolated from soil. **Journal of General Microbiology**, v. 127, p. 231-236. 1981.

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

LUSSENHOP, J. Mechanisms of microarthropod-microbial interactions in soil. **Adv. Ecol. Res.**, v. 23, p. 1-23. 1992.

MAIA, L. C. **Sucessão de fungos em folheto de floresta tropical úmida**. Recife, 1983. 196 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Departamento de Biologia, Universidade Federal de Pernambuco.

MALAVOLTA, E. **Manual de Química Agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 528 p.

MASON, C. F. **Decomposição**. São Paulo: EDUSP, 1980. 63p.

MATTHIES, C.; ERHARD, H. P.; DRAKE, H. L. Effects of pH on comparative culturability of fungi and bacteria from acidic and less acidic forest soils. **J. Basic Microbiol.**, v. 37, p. 335-343. 1997.

MILLAR, C. S. Decomposition of coniferous leaf litter. In: DICKINSON, C. H.; PUGH, G. J. F. (Ed.). **Biology of plant litter decomposition**. London: Academic Press, v. 1. 1974.. p. 105-128.

MILLER, H. G. Nutrient cycles in forest plantations, their change with age and consequences for fertilizer practice. In: AUSTRALIAN FOREST NUTRITION WORKSHOP ON PRODUCTIVITY IN PERPETUITY, 1981. **Proceedings**. Canberra: CSIRO, p. 187-189. 1981.

MØLLER, J.; MILLER, M.; KJØLLER, A. Fungal-bacterial interaction on beech leaves: influence on decomposition and dissolved organic carbon quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 31, p. 367-374. 1999.

OLSON, J. S. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. **Ecology**, v. 44, n. 2, p. 322-331. 1963.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. São Paulo: MAKRON Books, v.1, 1996. 521p.

PUGH, G. J. F. Leaf litter fungi found on *Carex paniculata* L. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, v. 41, n. 2, p. 185-195. 1958.

PUGH, G. J. F.; BUCKEY, N. G.; MULDER, J. The role of phylloplane fungi in the early colonization of leaves. **Symposium Biologica Hungarica**, v. 11, p. 329-333. 1972.

PUGH, G. J. F.; WILLIAMS, G. M. Fungi associated with *Salsola kali*. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, London, v. 51, n. 3-4, p. 389-396. 1968.

REISSMANN, C. B.; WISNIEWSKI, C. Aspectos nutricionais de plantios de *Pinus*. In: GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Nutrição e Fertilização Florestal**. Piracicaba: Editora Piracicaba, v.1, 2000. p. 135-165.

ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Editora Manole., v.2, 1991.

ROSSMA, A. Y.; PALM, M.; SPIELMAN, L. J. **A literature guide for the indentification of plant pathogenic fungi**. St. Paul: APS Press. 1987. 252 p.

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

SADAKA, N.; PONGE, J-F. Fungal colonization of phyllosphere and litter of *Quercus rodundifolia* Lam. In a holm oak forest (High Atlas, Marocco). **Biology and Fertility of Soils**. 2003.

SALONIUS, P. O. Effects of organic-mineral soil mixtures and increasing temperature on the respiration of coniferous raw humus material. **Can. J. For. Res.**, v. 13, p. 102-107. 1983.

SANCHEZ, P. A. **Suelos del trópico**. San José: IICA, 1981. 634 p.

SARKANEN, N. K.; LUDWIG, C. H. **Lignins: occurrence, formation, structure and reations**. New York: Willey Interscience, 1971. p. 95-195.

SAVOIE, J. M.; GOURBIERE, F. Decomposition of cellulose by the species degrading *Abies alba* needles. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 62, p. 307-314. 1989.

SCHEU, S.; PARKINSON, D. Successional changes in microbial biomass, respiration and nutrient status during litter decomposition in aspen and pine Forest (Canadá, Alberta). **Biology and Fertility of Soils**, v. 19, p. 327-332. 1995.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. **Decomposição e sucessão de fungos de folhas de *Ocotea pulchella* (Ness) Mez. em solo sob cerrado, tratado com vinhaça no município de Corumbataí, SP.** Rio Claro, SP. 1988. 195f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, UNESP.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; TAUKE, S. M. Fungal succession on *Ocotea pulchella* (Nees) Mez. leaves decomposition on "cerrado" soil treated with vinasse. **Rev. Microbiol**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 179-183. 1991.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; MILANEZ A. I. Fungal succession on leaves of *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg. Submerged in stream of a Atlantic Rainforest in state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, p. 73-79. 1998.

SILVEIRA, V. D. **Micologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural. 1995. 336 p.

SIQUEIRA, J. O. Microrganismos do solo e seus processos: irrelevantes para a produtividade agrícola? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. MONIZ, A. C.; FURLANI, A. M.; FURLANI, P. R.; FREITAS, S. S. **Anais**, A responsabilidade social da ciência do solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1988. p. 337-352.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. de S.; GRISI, B.; HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA. **O Setor Florestal Brasileiro: fatos e números**. São Paulo: Ed. SBS, 1998. 18p.

SINGH, J. S.; GUPTA, S. R. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. **Botanical Review**, New York, v. 43, n. 4, p. 449-528. 1977.

SINGH, N.; STEINKE, T. D. Colonization of decomposing leaves of *Bruguiera gymnorhiza* (Rhizophoraceae) by fungi, and in vitro cellulolytic activity of the isolates. **South African Journal of Botany**, v. 58, p. 525-529. 1992.

STARK, N.; HOLLEY, C. Final report on studies of nutrient cycling on white and black water areas in Amazonia. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 5, n. 1, p. 51-76. 1975.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry**, 2. ed. New York: John Wiley. 1944. p. 1-58.

STONE, J. K.; SHERWOOD, M. A.; CARROL, G. C. Canopy microfungi: function and diversity. **Northwest Science**, v. 70, p. 37-45. 1996.

SWIFT, M. J. In: KLUG, M. J.; REDDY, C. A. (Ed.). **Current perspectives in microbial ecology**. American Society for Microbiology. 1984. p. 8-16.

SWITZER, G. L.; NELSON, L. E. Nutrient accumulation and cycling in loblolly pine (*Pinus taeda*) plantation ecosystems: the first twenty years. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.36, n.1, p. 143-147. 1972.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 20, n. 1-4, p. 299-301. 1990.

TAYLOR, B. R.; PARKINSON, D.; PARSONS, W. F. J. Nitrogen and lignin concentration as predictors of litter decay rates: a microcosm test. **Ecology**, v. 70, p. 97-104. 1989.

TOKUMASU, S. Fungal successions on pine needles fallen at different seasons: The succession of surface colonizers. **Mycoscience**, v. 39, n. 4, p. 417-423. 1998a.

TOKUMASU, S. Fungal successions on pine needles fallen at different seasons: The succession of interior colonizers. **Mycoscience**, v. 39, n. 4, p. 409-416. 1998b.

VALENZUELA, E.; LEIVA, S.; GODOY, R. Variación estacional y potencial enzimático de microhongos asociados con la descomposición de hojarasca de *Nothofagus pumilio*. **Revista Chilena de Historia Natural**, Santiago, v. 74, n. 4. 2001.

VENEDIKIAN, N.; BONAVENTURA, S. M.; GODEAS, A. M. Estudio de las comunidades fungicas de la filosfera de *Pinus taeda* L. (Pinaceae) I. Varacion estacional. **Gayana Botânica.**, v. .58, n. 2. 2001.

VENEDIKIAN, N.; GODEAS, A. M. Estudio de la filosfera de *Pinus taeda* (Pinaceae). I. Poblaciones Fungicas. **Bol. Soc. Argent. Bot.**, v. 31, n. 3-4, p. 193-200. 1996.

VERHOEF, H. A.; BRUSSAARD, L. Decomposition and nitrogen mineralization in natural and agro-ecosystems: the contribution of soil fauna. **Biogeochemistry**, v. 11, p. 175-211. 1990.

VIRZO DE SANTO, A.; ALFANI, A.; SAPIO, A. Soil metabolism in beech Forest of Monte Taburno (Campânia Apenines). **Oikos**, v. 27, p. 144-152. 1976.

VIRZO DE SANTO, A.; FIORETTO, A.; RUTIGLIANO, F. A.; ALFANI, A.; PUPPI, G.; MUSACCHIO, A.; PALERMO, A. M. The decomposition of organic matter in three coniferous Forest of Southern Italy. **Ann. Bot.**, v. 51, p. 135-144. 1993.

VIRZO De SANTO, A.; RUTIGLIANO, F. A.; BERG, B.; FIORETTO, A.; PUPPI, G.; ALFANI, A. Fungal mycelium and decomposition of needle litter in three contrasting coniferous forests. **Acta Oecologica**, v. 23, p. 247-259. 2002.

WAKSMAN, S. A. Three decades with soil fungi. **Soil Science**, v. 58, p. 89-114. 1944.

WATSON, E. S.; McCLURKIN, D. C.; HUNEYCUTT, M. B. Fungal succession on loblolly pine and upland hardwood foliage and litter in north Mississippi. **Ecology**, v. 55, p. 1128-1134. 1974.

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

WILDMAN, H. G.; HSU, D. Competition between *Trichoderma* species: effects of temperature and litter type. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 19, p. 89-93. 1987.

WILLIAMS, S. T.; GRAY, T. R. G. Decomposition of litter on soil surface. In: DICKINSON, C. H.; PUGH, G. J. F.(Ed.). **Biology of plant litter decomposition**. London: Academic Press, v. 1, 1977. 241 p.

WISNIEWSKI, C. **Variação Estacional da Deposição de Serapilheira e de Nutrientes em Povoamentos de Pinus taeda na Região de Ponta Grossa - PR**. Curitiba, 1989. 148 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

ANEXO 1

Fontes de variação	Soma dos quadrados	GL	Quadrado médio	F	P
Fungos	215,395	12	17,9496	10,67**	0,0000
Coletas	27,9304	3	9,31012	5,53**	0,0015
Interação entre fungos e coletas	350,747	36	9,74299	5,79**	0,0000
Erro	175,025	104	1,68294		
TOTAL (corrigido)	769,099	155			

** significância a 5%.