



**DINÂMICA DE SERAPILHEIRA E DIVERSIDADE DE FUNGOS EM  
SOLO DE SISTEMA AGROFLORESTAL**

**PHELIPE MANOEL OLLER COSTA**

**RECIFE  
FEVEREIRO/2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**DINÂMICA DE SERAPILHEIRA E DIVERSIDADE DE FUNGOS EM  
SOLO DE SISTEMA AGROFLORESTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia de Fungos.

**Área de Concentração:** Taxonomia e Ecologia de Fungos

**Phelipe Manoel Oller Costa**

**Orientadora:** Dra. Elaine Malosso

**Co-orientadora:** Dra. Cristina Maria de Souza Motta

**RECIFE  
FEVEREIRO/2015**

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Costa, Phelipe Manoel Oller

Dinâmica de Serapilheira e diversidade de fungos em solo de sistema agroflorestal /  
Phelipe Manoel Oller Costa. – Recife: O Autor, 2015.

92 f.: il.

Orientadoras: Elaine Malosso, Cristina Maria de Souza Motta

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de  
Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2015.

Inclui referências

1. Liteira 2. Micobiota do solo 3. Agrofloresta I. Malosso, Elaine (orient.) II.  
Motta, Cristina Maria de Souza (coorient.) III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017-158

**DINÂMICA DE SERAPILHEIRA E DIVERSIDADE DE FUNGOS EM  
SOLO DE SISTEMA AGROFLORESTAL**

**PHELIPE MANOEL OLLER COSTA**

Data da defesa: 26 de fevereiro de 2015.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**MEMBROS TITULARES**

---

Dra. Elaine Malosso  
(Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Euzelina dos Santos Borges Inácio  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

---

Dra. Iracema Helena Schoenlein-Crusius  
Instituto de Botânica de São Paulo

---

Dr. Dário Costa Primo  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Dra. Patrícia Vieira Tiago  
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico ao meu avô **Manoel Oller Parra**,  
“Vô Lito” (in memoriam). Ao ser  
apresentado ao seu primeiro neto disse:  
“O nome Phelipe Manoel é bonito, mas  
com um Dr na frente ficará melhor”.*

## **Agradecimentos**

*À UFPE, Departamento de Micologia e a Pós-Graduação em Biologia de Fungos;*

*Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pelo fomento da bolsa de estudo, imprescindível para minha dedicação e permanência no curso;*

*A professora Elaine Malosso, jovem e competente orientadora, pelos conhecimentos transmitidos, paciência e confiança em mim depositada;*

*À minha amada filha Alice Costa, foi e sempre será por você, te amo;*

*À minha noiva, amiga e companheira Vanilla Mergulhão, obrigado, você me deu forças para chegar até o fim, te amo;*

*Aos meus pais Reynor Costa e Leila Oller, irmãos Renê e Maria Gabriela Oller Costa e tia Maria Cristina Oller (Tininha) que mesmo longe, estão presentes por meio de seus pensamentos e orações;*

*À Marina Araújo, companheira de laboratório, amiga para todas as horas e que me aguentou pacientemente durante esses anos;*

*À professora Cristina M. Souza Motta, minha co-orientadora, pelos conhecimentos transmitidos;*

*Às professoras Débora Lima e Maria Fernandes, pela colaboração na identificação dos fungos;*

*À professora e amiga Patrícia Tiago, sou muito grato por ter tido oportunidade de aprender, conviver e trabalhar com você, desde minha graduação.*

*Ao professor Jorge S. Matos, amigo que me mostrou os caminhos de uma agricultura mais sustentável, pelos conselhos e conversas que tanto me ajudaram no desenvolvimento desta pesquisa;*

*Aos amigos, Ildinay Brandão, Jarib Alcaraz, Marcelo Sulzbacher, Nelson Lima, Paul Gamboa e Rubem Moraes pela ajuda durante as etapas que se passaram, tanto profissionalmente quanto pessoalmente, e que nunca duvidaram da minha capacidade e idoneidade;*

*Aos amigos Rodrigo Holanda, Heloiza e Renato Moraes, Julliana Ribeiro, Susane Chang, que mesmo distantes torceram pelo meu sucesso;*

*Aos amigos Jadson Bezerra, Marcela Barbosa, Paulo Ricardo e Renan Nascimento, por estarem sempre dispostas a me ajudar.*

*À Carla Lira, por tantas vezes ceder seu tempo e carro para minhas coletas;*

*As secretárias do PPGBF, Giovana Guterres e Ana Karolina Vasconcelos, por estarem sempre dispostas a ajudar, resolvendo inúmeros problemas;*

*A professora Ângela Coimbra dos Santos, pela amizade, conselhos, confiança e por ceder o laboratório de Controle Biológico para o desenvolvimento de parte deste trabalho;*

*Ao Sr. Jones Severino Pereira proprietário do sítio São João, por abrir as portas do seu Sistema Agroflorestal;*

*Ao Centro de Desenvolvimento Agroecológico Sabiá, pelo apoio neste estudo.*

## RESUMO

Sistemas agroflorestais se apresentam como alternativa à monocultura agrícola, por serem mais sustentáveis. Dentre suas vantagens, destaca-se o grande aporte de serapilheira sobre o solo que contribui para adição de matéria orgânica, contribuindo com aumento da diversidade e a atividade de microrganismos no solo, fertilidade e produtividade. Os fungos são importantes componentes da microbiota do solo e são fundamentais para a manutenção e o funcionamento de solos por participarem da ciclagem da matéria orgânica. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar a dinâmica da serapilheira em sistema agroflorestal e seu efeito sobre a estrutura e função da comunidade de fungos filamentosos no solo desse sistema de cultivo. Foram coletados mensalmente dados de serapilheira total produzida e trimestralmente de serapilheira total acumulada no solo, durante três anos de pesquisa. Foi estimada a taxa de decomposição, pela relação entre o material produzido e acumulado, e a velocidade de decomposição foi determinada com o uso de *litterbags*. Foram também realizadas oito coletas de solo a cada três meses. As amostras de solo foram submetidas à análise química, isolamento de fungos pela técnica da diluição seriada, análise molecular da comunidade de fungos filamentosos pela técnica de eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) e análise da evolução do CO<sub>2</sub>. Por meio dos dados obtidos no isolamento foi determinada a densidade, diversidade, riqueza, equitabilidade, dominância e aplicados modelos hipotéticos de distribuição de abundância das espécies. A produção média anual de serapilheira foi de 8.383 kg.ha<sup>-1</sup> e a média anual de serapilheira acumulada foi 6.320 kg.ha<sup>-1</sup>. A taxa média anual de decomposição da serapilheira foi estimada em 1,41. A respiração microbiana não apresentou diferença estatística entre os períodos avaliados. Foi constatado que o processo de decomposição da serapilheira é lento, apresentando perdas mais significativas nos três primeiros meses. Foram identificadas 110 espécies de fungos, sendo a maioria sapróbios e algumas espécies que também são potenciais antagonistas de organismos fitopatógenos. O modelo serie logarítmica foi o que melhor representou a comunidade. A diversidade e a riqueza foram altas, permanecendo sem grandes variações durante o período avaliado, porém a estrutura da comunidade sofre mudanças durante o processo de decomposição da serapilheira. O sistema agroflorestal apresenta dinâmica de serapilheira dentro da faixa esperada para florestas tropicais, particularmente semelhante à de Mata Atlântica, influenciada pela precipitação pluviométrica, sendo maior nas estações de estiagem.

**Palavras Chaves:** Littera. Micobiota de Solo. Agrofloresta.

## ABSTRACT

Agroforestry systems are an alternative to monoculture crops as they are recognized as models of sustainable soils using. They have greater input of litter on the soil which contributes to addition of organic matter, to increased diversity and microbial activity in the soil, fertility and productivity. Fungi are major components of soil microbial communities and are fundamental to the maintenance and functioning of land for participating in the cycling organic matter. The objective of this work was to study the litter dynamics in agroforestry system and its effect on the structure and function of soil fungi community. During three years of research, were sampled monthly litter fall and quarterly accumulation litter. Annual decomposition were also estimated by the ratio produced:accumulation litter. The rate of decomposition was determined using litterbags. Quarterly soil collections were carried out, totaling from eight samples. Soil samples were submitted to chemical analysis, isolation of fungi by the technique of serial dilutions, molecular analysis of filamentous fungi community by gel electrophoresis in denaturing gradient (DGGE) and analysis of the evolution of CO<sub>2</sub>. Using data obtained in the isolation was determined the density, diversity, richness, evenness, dominance and applied hypothetical models of distribution of species abundance. The average annual litter fall was 8,383 kg ha<sup>-1</sup> and the average annual accumulation litter was 6,320 kg ha<sup>-1</sup>. The average annual rate of decomposition of litter was estimated at 1.41. Microbial respiration rates was not significant between the periods. Has been found that litter decomposition process is slow, with more significant loss in the first three months. 110 species of fungi have been identified, most saprobes, and some species that are also potential antagonists of plant pathogens organisms. The log-series model was the better fitted the community. The diversity and the richness were high, remaining without major changes during the study period, but the community structure undergoes changes during the process of decomposition of litter. This study showed that the agroforestry system presents litterfall and litter accumulation in the expected range for tropical forests, and particularly similar to the Atlantic Forest, which is influenced by rainfall.

**Key Words:** Leaf litter. Soil Mycobiota. Agroforestry.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Vista de satélite do Sistema Agroflorestal, localizado no município de Abreu e Lima-PE. A – Altitude de 6.900 metros; B – Altitude de 433 metros.....35
- Figura 2:** Vista de satélite dos coletores distribuídos dentro da área de Sistema Agroflorestal, localizado no município de Abreu e Lima-PE. Altitude de 188 metros.....37
- Figura 3:** Litterbags distribuídas ao redor do coletor de serapilheira. A – vista superior; B – vista lateral.....39
- Figura 4:** Precipitação mensal acumulada (mm) no município de Abreu e Lima – PE e aporte mensal de serapilheira ( $\text{kg.ha}^{-1}$ ) em sistema agroflorestal.....51
- Figura 5:** Aporte mensal de frações de serapilheira ( $\text{kg.ha}^{-1}$ ) em área de Sistema Agroflorestal. Primeiro ano (agosto de 2011 a julho de 2012), Segundo ano (agosto de 2012 a julho de 2013) e terceiro ano (agosto de 2013 a julho de 2014). .....53
- Figura 6:** Serapilheira acumulada sobre o solo de Sistema Agroflorestal e respiração microbiana. As médias de serapilheira acumulada seguidas pela mesma letra (barra) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ....55
- Figura 7:** Riqueza observada e curvas de acúmulo de espécies produzidas pelos estimadores de riqueza *Jackknife 1* e *Jackknife 2* para fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal. .63
- Figura 8:** Modelo de distribuição da abundância de espécie série logarítmica ( $\chi^2=54,59$   $p=0,99$ ) ajustado à comunidade de fungos filamentosos isolados de solo de sistema agroflorestal. ....65
- Figura 9:** Precipitação mensal acumulada (mm) no município de Abreu e Lima – PE e umidade do solo (%) de sistema agroflorestal. Correlação de Pearson:  $r = 82$ . ....66
- Figura 10:** Massa remanescente de serapilheira em relação ao tempo de exposição das *litterbags* em sistema agroflorestal. Fonte: Phelipe Oller .....68
- Figura 11:** Dendograma de similaridade da comunidade de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal, detectada por DGGE, em diferentes épocas. Coletas: 1 = 0 dia; 2 = 90 dias; 3 = 180 dias; 4 = 270 dias; 5 = 360 dias; 6 = 450 dias; 7 = 540 dias; 8 = 630 dias. ....71

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1:</b> <i>Primers</i> usados para amplificar a região 18S rDNA de fungos de solo.....                                                                                                                                                                                            | 47 |
| <b>Tabela 2:</b> Espécies de fungos filamentosos isolados de solo de sistema agroflorestal. Primeiro ano (agosto de 2011 a julho de 2012) e segundo ano (agosto de 2012 a julho de 2013). Números expressos em Unidades Formadoras de Colônia x 10 <sup>3</sup> g solo <sup>-1</sup> ..... | 59 |
| <b>Tabela 3:</b> Riqueza de Espécies, Diversidade de Shannon-Wiener (H'), Equitabilidade de Pielo (e) e Dominância de Berger-Parker de fungos filamentos isolados em solo de sistema agroflorestal. ....                                                                                   | 64 |
| <b>Tabela 4:</b> Propriedades químicas do solo de sistema agroflorestal em diferentes períodos de coleta.....                                                                                                                                                                              | 67 |
| <b>Tabela 5:</b> Percentual cumulativo médio e velocidade de decomposição (K) da serapilheira em cada período de coleta*. ....                                                                                                                                                             | 69 |
| <b>Tabela 6:</b> Riqueza de Espécies, Densidade, Diversidade de Shannon-Wiener (H'), Equitabilidade de Pielo (J) e Dominância de Berger-Parker de fungos filamentos em solo de sistema agroflorestal em cada período de coleta. ....                                                       | 70 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                     |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                           | <b>11</b> |
| <b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>                                                                 | <b>13</b> |
| 2.1 Sistemas Agroflorestais .....                                                                   | 13        |
| 2.2 Serapilheira.....                                                                               | 16        |
| 2.3 Diversidade de Fungos no Solo .....                                                             | 22        |
| 2.4 Métodos para o Estudo da Diversidade de Fungos do Solo .....                                    | 28        |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                                                                  | <b>35</b> |
| 3.1 Área de Estudo .....                                                                            | 35        |
| 3.2 Produção e variação temporal de deposição da serapilheira .....                                 | 37        |
| 3.3 Estimativa do estoque de serapilheira acumulada no solo .....                                   | 38        |
| 3.4 Análises químicas da serapilheira acumulada no solo .....                                       | 38        |
| 3.5 Estimativa da taxa de decomposição da serapilheira.....                                         | 39        |
| 3.6 Avaliação da velocidade de decomposição da serapilheira.....                                    | 39        |
| 3.7 Coleta e amostragem de Solo .....                                                               | 40        |
| 3.8 Propriedades físico-químicas do solo .....                                                      | 40        |
| 3.9 Teor de umidade dos solos .....                                                                 | 41        |
| 3.10 Respiração microbiana do solo - evolução de CO <sub>2</sub> .....                              | 41        |
| 3.11 Isolamento e identificação de fungos filamentosos .....                                        | 42        |
| 3.12 Análise da diversidade de fungos filamentosos de solo .....                                    | 44        |
| 3.12.1 Estimativa de riqueza.....                                                                   | 45        |
| 3.12.2 Modelos de abundância de espécies .....                                                      | 45        |
| 3.13 Análise da estrutura das comunidades fúngicas em solo de sistema agroflorestal.....            | 46        |
| 3.13.1 Extração do DNA total do solo.....                                                           | 46        |
| 3.13.2. Amplificação do rDNA 18S por PCR ( <i>Polimerase Chain Reaction</i> ) .....                 | 46        |
| 3.13.3. Eletroforese em gel com gradiente desnaturante – DGGE.....                                  | 47        |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                               | <b>49</b> |
| 4.1 Dinâmica de serapilheira e respiração microbiana de solo em sistema agroflorestal .....         | 49        |
| 4.2 Riqueza e abundância da micobiota de solo de sistema agroflorestal .....                        | 57        |
| 4.3 Decomposição da serapilheira e diversidade de fungos filamentosos em sistema agroflorestal..... | 66        |
| <b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                                  | <b>73</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                            | <b>75</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura é uma atividade que, dependendo da forma de manejo e das culturas escolhidas, pode modificar significativamente as quantidades e disponibilidade de elementos químicos no solo, suas propriedades físicas e ainda seus componentes biológicos. Em solos de regiões tropicais, a remoção da vegetação nativa para a introdução de cultivos convencionais (monoculturas), altera a composição de espécies vegetais, os níveis de matéria orgânica e de nutrientes, bem como a estrutura da comunidade microbiana do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002). Segundo Lal (2004) e Ajayi (2007), o esgotamento de nutrientes e de matéria orgânica do solo é uma séria ameaça para a produção agrícola e segurança alimentar em muitos países tropicais.

Sistemas agroflorestais (SAFs) são preconizados como alternativa à monocultura agrícola, por serem reconhecidamente modelos de exploração de solos que minimizam o efeito antrópico, preservam e potencializam as relações ecológicas dos componentes do sistema, e por isso, são considerados como importante alternativa de uso sustentável do ecossistema tropical úmido (JOSE, 2012; COSTA et al. 2012). Uma das vantagens mais conhecidas da agrofloresta é o seu potencial para conservar o solo e manter sua fertilidade e produtividade. O dossel formado pela diversidade de espécies vegetais proporciona cobertura do solo através da deposição de camada densa de matéria orgânica, conhecida como serapilheira, gerada continuamente pela queda de folhas e ramos das diferentes culturas.

A principal função da serapilheira é de atuar na superfície do solo como um sistema de entrada e saída de nutrientes. Vindo da vegetação, o material orgânico acumulado é decomposto pelos microrganismos, resultando na transferência de nutrientes para o solo e, posteriormente, parte deles para as plantas, suprindo o solo e as raízes com nutrientes. Assim, essa matéria orgânica contribui com o estabelecimento e/ou manutenção da fertilidade do solo (POWERS et al., 2009).

Em sistemas naturais e agrícolas, a serapilheira atua como principal responsável na formação da matéria orgânica e fertilidade do solo por meio da ação decompositora de microrganismos. A composição e qualidade da serapilheira influenciam na diversidade e organização de diferentes grupos microbianos que irão atuar em diferentes tipos de substratos. Diferentes relações de carbono/nitrogênio, teores de lignina e outros, irão interferir significativamente nessa composição, pois cada material será preferencialmente decomposto por um grupo diferente de microrganismos (COTRUFO et al., 2013).

Dentre os microrganismos que atuam no processo de decomposição da serapilheira destacam-se os fungos como importantes componentes da microbiota do solo. Os fungos representam de 70 a 80% da biomassa microbiana do solo devido ao expressivo diâmetro e extensa malha de seus filamentos e sua ocorrência está condicionada a fatores como pH, umidade e quantidade de matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Foi estimado que 30% da diversidade de fungos habitantes do solo já são conhecidos (GAMS, 2007).

Os fungos atuam nos processos de mineralização e, particularmente, na degradação de materiais recalcitrantes, como a lignina e celulose. Além disso, acredita-se que os fungos são mais eficientes na utilização do substrato de carbono disponível, sendo os decompositores dominantes nos estágios iniciais da degradação da serapilheira (BLAGODASKAYA; ANDERSON, 1998).

A organização e o funcionamento das comunidades fúngicas governam as transformações bioquímicas que ocorrem no solo e são fundamentais para o desenvolvimento e manutenção de práticas agrícolas sustentáveis, as quais podem contribuir para a alteração da disponibilidade de nutrientes e elementos tóxicos no solo, como também para a alteração dos atributos químicos dos solos (GARBEVA et al., 2004; GOMES et al., 2003; LAMBAIS et al., 2005).

Neste trabalho foi admitida a hipótese de que a presença do componente arbóreo e da grande diversidade de plantas encontradas no sistema agroflorestal contribui para uma alta produção de serapilheira, com altas taxas de ciclagem de nutrientes, semelhante à encontrada em florestas tropicais e que a dinâmica de serapilheira influencia na diversidade de fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar a dinâmica da serapilheira em um sistema agroflorestal e seu efeito sobre a estrutura e função da comunidade de fungos filamentosos no solo desse sistema de cultivo.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Sistemas Agroflorestais**

No Brasil, o crescimento da produção agrícola se deu até a década de 50 motivado, basicamente, pela expansão das áreas cultiváveis. A partir da década de 60, a agricultura brasileira passou por transformações em suas bases técnicas, incorporando pacote tecnológico, visando o seu crescimento e modernização (NEVES et al., 2004).

O pacote tecnológico introduzido pela Revolução Verde consistiu em inovações que foram propostas e implementadas em países mais desenvolvidos após o término da Segunda Guerra Mundial, cuja meta era o aumento da produção agrícola por meio de um conjunto de estratégias e inovações tecnológicas que incluíam o uso intensivo de insumos químicos e agrotóxicos no controle de doenças e pragas, variedades geneticamente melhoradas de alto rendimento, irrigação, desenvolvimento de pesquisas em sementes, fertilização de solos e mecanização no campo (ANDRADES; GINIMI, 2007).

As inovações tecnológicas presentes no campo, tanto químicas quanto mecânicas, demandaram extensos investimentos em capital, ocasionando grandes transformações ambientais e sociais. Isso contribuiu para a degradação ambiental e o enfraquecimento da agricultura familiar como empreendimento econômico, principalmente pela dependência das monoculturas de insumos externos (NEVES et al., 2004).

Em função das práticas empregadas, da área que ocupa e da forma que expande suas fronteiras, este modelo de agricultura, sustentado pelo uso constante de insumos industriais, é considerado uma das mais impactantes atividades humanas no meio ambiente. O resultado desta abordagem é um sistema de agricultura que apresenta grande dificuldade de manter a qualidade ambiental, os recursos naturais, a segurança alimentar e a qualidade de vida rural (GLIESSMANN, 2005).

As práticas agrícolas adotadas na agricultura convencional muitas vezes ocasionam diminuição contínua da qualidade do solo, resultando em queda da fertilidade, sendo dependentes de insumos externos para garantir a produtividade. Assim, a busca por alternativas econômicas para o desenvolvimento da produção de alimentos, utilizando sistemas menos impactantes, é de fundamental importância para a preservação do ambiente. Diante disso, sistemas agroflorestais (SAFs) se apresentam como alternativa viável para amenizar os danos causados pela agricultura convencional, recuperando e/ou mantendo a qualidade ambiental e as vantagens econômicas do agroecossistema (GASCON et al., 2004).

Sistemas agroflorestais ou agroflorestas (SAFs) podem ser definidos como sistema sustentável de uso da terra, que favorecem a obtenção de benefícios das interações ecológicas e econômicas, e que combinam de maneira simultânea ou em sequência, a produção de cultivos agrícolas com plantações de árvores frutíferas ou florestais e/ou animais, utilizando a mesma unidade de terra e aplicando técnicas de manejo que são compatíveis com as práticas culturais da população local (MACDICKEN; VERGARA, 1990).

Os SAFs têm sido classificados de diferentes formas, segundo sua estrutura no espaço, seu desenho através do tempo, a importância relativa e a função dos diferentes componentes, assim como os objetivos da produção e suas características sociais e econômicas. Na classificação de uso mais difundida, procura-se considerar os aspectos funcionais e estruturais como base para agrupar estes sistemas em categorias (MAY et al., 2008):

- **Silviagrícolas:** caracterizados pela combinação de árvores, arbustos ou palmeiras com espécies agrícolas.
- **Silvipastoris:** caracterizados pela combinação de árvores, arbustos ou palmeiras com plantas forrageiras herbáceas e animais.
- **Agrossilvipastoris:** caracterizados pela criação e manejo de animais em consórcios silviagrícolas, por exemplo: criação de porcos em agroflorestas ou, ainda: um quintal com frutíferas, hortaliças e galinhas.

Estes sistemas têm como objetivo o cultivo de diferentes espécies vegetais com diferentes propósitos, criando diferentes estratos vegetais (multiestratificados), buscando a maior aproximação fitossociológica dos ambientes florestais nos quais as árvores e/ou os arbustos, pela influência que exercem no processo de ciclagem de nutrientes e no aproveitamento da energia solar, são considerados os elementos estruturais básicos e a chave para a estabilidade do sistema (MARTIUS et al., 2004).

Resultados de pesquisas demonstram que os Sistemas Agroflorestais são de grande aplicabilidade em áreas com atividades agrícola e pecuária. Vários autores indicam os Sistemas Agroflorestais como alternativa viável para áreas desmatadas e degradadas em diferentes ecossistemas (ARATO et al., 2003; FÁVERO et al., 2008; PINHO et al., 2012; JOSE, 2012). Através deles é realizado um melhor aproveitamento dos diferentes estratos da vegetação obtendo-se com isso, melhor diversificação da produção, do uso da terra, da mão-de-obra, da renda e da produção de serviços ambientais. Os SAFs também se apresentam como eficientes reservatórios de carbono (NAIR et al., 2009) e se constituem em fonte renovável de energia, além de se prestarem à recuperação de solos degradados.

Segundo Jose (2009; 2012), sistemas agroflorestais são considerados, ainda, como promotores da sustentabilidade ambiental por ajudarem na preservação da fauna e da flora, fixação biológica de nitrogênio e ciclagem de nutrientes. Também se considera que a adoção desses sistemas em solos anteriormente cultivados sob manejo não conservacionista pode resultar no estabelecimento de um novo estado de equilíbrio no ambiente solo, observado pela melhoria de indicadores biológicos. Além disso, a implantação de SAFs pode transformar de forma benéfica a vegetação da área utilizada, melhorando a dinâmica da serapilheira, a fertilidade do solo (PENEIREIRO, 1999).

Muitos benefícios são atribuídos à utilização dos SAFs, tais como: melhoria do ciclo dos nutrientes (BIJAYALAXMI; YADAVA, 2010); incremento das populações microbianas e conteúdos matéria orgânica do solo (COSTA et al., 2012; SOUZA et al., 2012); redução da população de plantas invasoras pelo aumento da serapilheira (RICCI et al., 2008); redução de perdas de nutrientes causado pela ativação biomassa (MONTAGNINI; NAIR, 2004; MUTUO et al., 2005); redução do escoamento superficial e aumento da infiltração de água (AGUIAR et al., 2010; BARRETO et al., 2011); redução da erosão (FRANCO et al., 2002; AGUIAR et al., 2010); e aporte de nutrientes (DAWOE et al., 2010).

Segundo Jose (2012), os sistemas agroflorestais apresentam cinco importantes papéis na conservação da biodiversidade: (1) fornece diversos habitats para espécies que podem tolerar certo nível de perturbação; (2) auxilia na preservação do germoplasma de espécies sensíveis; (3) minimiza os efeitos negativos causados pela conversão do habitat natural, por fornecer uma alternativa mais produtiva e sustentável para sistemas agrícolas tradicionais; (4) pode funcionar como corredores ecológicos, dando suporte à integridade destes remanescentes florestais, ajudando na conservação da flora e fauna; (5) ajuda a conservar a diversidade biológica.

De um modo geral, os SAFs apresentam diversificação da produção, diminuindo os efeitos da sazonalidade, incremento dos níveis da matéria orgânica no solo, fixação biológica do nitrogênio atmosférico, ciclagem de nutrientes, modificação do microclima e otimização do sistema de produção, tendo em vista o conceito de produção sustentável.

Uma das vantagens mais conhecidas das agroflorestas é o seu potencial para conservar o solo e manter sua fertilidade e produtividade (ALTIERI, 2002). O dossel formado pela diversidade de espécies vegetais proporciona melhor controle de temperatura, da umidade relativa do ar e da umidade do solo. Em áreas sem a presença do dossel (áreas abertas), estes fatores climáticos apresentam grandes alterações. A presença do componente arbóreo

contribui para regular a temperatura do ar, reduzindo sua variação ao longo do dia e, tornando o ambiente mais estável, trazendo benefícios aos organismos que compõem estes sistemas.

Também é relevante a contribuição que o componente arbóreo presente nos Sistemas Agroflorestais, exercem sobre a temperatura do solo, que se torna menor no interior das agroflorestas. Esta condição é conseguida pela presença do estrato arbóreo e da serapilheira que cobre o solo através da deposição de camada densa de matéria orgânica, gerada continuamente pela queda de folhas e ramos das diferentes culturas (ARATO et al., 2003; CORRÊA et al., 2006). Assim, a serapilheira aumenta a proteção do solo contra a erosão, diminui o escoamento superficial da água de chuva, aumentando o seu tempo de infiltração e contribuindo para redução da lixiviação do solo. Como consequência, ocorre a melhora das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (ARAÚJO et al., 2012; FIALHO et al., 2013).

A modificação do microclima se reflete sobre o balanço hídrico do solo, contribuindo para a elevação da umidade disponível para as plantas sob a copa das árvores. Em regiões semiáridas, onde a baixa disponibilidade de água é um dos principais fatores limitantes da produção agrícola, os SAFs podem amenizar os efeitos da evaporação devido aos resíduos vegetais depositados na superfície do solo, mantendo a umidade do solo em níveis mais elevados por um maior período (KINAMA et al., 2005).

O maior teor de umidade no solo favorece a atividade microbiana, resultando em aceleração da decomposição da matéria orgânica e possibilitando o aumento da sua mineralização. A atividade e o montante populacional dos microrganismos no solo estão diretamente relacionados com o volume de material orgânico disponível, que constitui uma das principais fontes de energia para esses organismos (NANNIPIERI et al., 2003)). Em sistemas agroflorestais a compreensão das funções ecológicas do sistema solo-planta é parte essencial para se estabelecer o manejo adequado da dinâmica de nutrientes.

## **2.2 Serapilheira**

A serapilheira compreende a camada mais superficial do solo e é formada por fragmentos orgânicos de origem vegetal (folhas, galhos, estruturas reprodutivas e miscelânea) e animal que caem por diversos processos, se depositam e se acumulam sobre os solos, exercendo inúmeras funções para o equilíbrio e dinâmica dos sistemas naturais. As folhas constituem a mais importante fração do material orgânico decíduo. Essa afirmativa confirma os resultados obtidos por Vital et al. (2004), Tapia-Coral et al., (2005) e Dawoe et al., (2010).

A variação da quantidade de serapilheira acumulada no solo é resultante do estado sucessional em que o ecossistema se encontra, esta pode ser maior ou menor que a quantidade depositada anualmente em função da decomposição (GAMA-RODRIGUES et al., 2003; PARSONS et al., 2014). A principal função da serapilheira é de atuar na superfície do solo como um sistema de entrada e saída de nutrientes. Vindo da vegetação, o material orgânico acumulado é decomposto pelos microrganismos, resultando na transferência de nutrientes para o solo e, posteriormente, parte deles para as plantas, suprindo o solo e as raízes com nutrientes. Assim, essa matéria orgânica contribui com o estabelecimento e/ou manutenção da fertilidade do solo (GRAÇA et al. 2005; XIONG et al., 2008).

A produção da serapilheira é condicionada por fatores bióticos e abióticos tais como: tipo de vegetação e estágio sucessional; altitude e latitude; precipitação; temperatura; regimes de luminosidade; relevo; decíduosidade da espécie; disponibilidade hídrica e características do solo (fatores físicos, químicos e biológicos); características genéticas das espécies vegetais; idade e densidade de plantio. Dependendo das características de cada ecossistema, um determinado fator pode prevalecer sobre os demais (BELLOTI et al., 2008; FIGUEIREDO FILHO et al., 2003).

Das variáveis climáticas, a precipitação e radiação solar são as que exercem maior influência na formação da serapilheira, sendo fatores limitantes para produção de serapilheira em florestas tropicais (ZHANG et al., 2014). Hoppe et al. (2006) ainda relaciona outros fatores, como a umidade e a disponibilidade de nutrientes do solo, o teor de carbono no ar, as doenças e as pragas.

A composição da vegetação de um determinado sistema influencia na produção, qualidade e composição da serapilheira, uma vez que cada espécie botânica constituinte apresenta fatores fisiológicos internos característicos como: idade, estrutura e disposição das folhas; teor de clorofila; acúmulo de carboidratos e distribuição e comportamento dos estômatos (YADAV et al., 2008; PIMENTA et al., 2011). Esses fatores resultam em padrões diferenciados de produção de serapilheira, ou seja, as quantidades de serapilheira depositadas nos ecossistemas diferem entre si, assim como as proporções das frações que irão constituí-la.

A produção de serapilheira também varia de acordo com o grau de perturbação em que se encontra o sistema. Áreas mais perturbadas apresentam um número muito elevado de espécies pioneiras que têm um crescimento rápido, ciclo de vida mais curto, investindo na produção de biomassa em um curto tempo (MARTINS; RODRIGUES, 1999). Por outro lado, as áreas menos perturbadas possuem um pequeno número de espécies pioneiras, apresentando menor produção líquida de biomassa. Segundo Selle (2007), em ecossistemas florestais a

produção de serapilheira é um processo dinâmico e contínuo no decorrer do ano, constituindo a principal fonte de nutrientes para a manutenção da vegetação, sendo que a quantidade produzida nas diferentes épocas depende do tipo de vegetação considerada. Corrêa et al., (2006) encontrou diferenças significativas entre a produção anual de serapilheira de espécies de um sistema agroflorestal e vegetação natural, sendo que a maior velocidade de decomposição da serapilheira ocorreu na área de vegetação natural.

A degradação acelerada que os ecossistemas florestais vêm sofrendo é, principalmente, em decorrência da conversão de áreas de florestas para a implantação de sistemas agrícolas convencionais e de pecuária. A intensificação da produção agrícola trouxe grandes custos ambientais e sociais. Em relação à questão ambiental, este modelo provoca perda da biodiversidade; degradação dos solos; escassez de água e energia; e contaminação tóxica; e principalmente problemas de perda de água e solo por erosão, além de menor aporte de nutrientes, devido à falta de proteção e cobertura de serapilheira (NEVES et al., 2004).

Desta forma, os sistemas agroflorestais são preconizados como alternativa à monocultura agrícola, por serem reconhecidamente modelos de exploração de solos que mais se aproximam, no aspecto ecológico, de floresta natural e que, por isso, são considerados como importante alternativa de uso sustentável do ecossistema tropical úmido (JOSE, 2012). Esses sistemas têm como princípio a sucessão natural de espécies (vegetais e animais) e o consorciamento entre espécies vegetais florestais e frutíferas nativas e/ou exóticas com culturas de ciclo médio e longo, buscando formar um sistema produtivo com estrutura, composição e funcionamento semelhantes à vegetação natural local, cuja dinâmica leva ao restabelecimento das funções ambientais e ao aumento da biodiversidade (ALTIERI, 2002).

O grande aporte de serapilheira e nutrientes aos solos dos sistemas agroflorestais é produto da alta diversidade vegetal, incluindo seu componente arbóreo. As árvores especialmente influenciam na quantidade e disponibilidade de nutrientes na zona de absorção radicular das culturas associadas, pois suas raízes profundas podem interceptar os nutrientes lixiviados acumulados no subsolo, geralmente distantes da zona de absorção radicular das culturas, e retorná-los à superfície na forma de serapilheira (ANDRADE et al., 2003).

Alguns trabalhos avaliaram a produção de serapilheira em sistemas agroflorestais implantados em Florestas Tropicais brasileiras. Arato et al. (2003), avaliando a dinâmica de serapilheira em sistema agroflorestal implantado a 10 anos para recuperação de área degradada, estimaram a produção anual de serapilheira em 10.165,13 kg/ha, apresentando coeficiente de decomposição (K) de 1,17 e o tempo necessário para o desaparecimento de 50% da serapilheira foi estimado em 215 dias. Estes resultados são semelhantes aos

encontrados por Vital et al. (2004) em florestas estacionais semidecíduais da Região Sudeste do Brasil, mostrando que o sistema vem se comportando como uma floresta nativa em termos de dinâmica da serapilheira. Martius et al. (2004) avaliaram a sustentabilidade dos sistemas agroflorestais na Amazônia a partir da dinâmica e decomposição da serapilheira. A produção de serapilheira foi medida em quatro áreas na Amazônia central: uma floresta primária, floresta secundária (13 anos), e duas áreas de sistema de policultivo. A produção média anual de serapilheira em floresta primária (imperturbável) foi  $8.400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ , semelhante a uma das áreas de policultivo ( $8.300 \text{ kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ ), porém menor que a floresta secundária ( $7.400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ ) e no segundo local de policultura ( $6.500 \text{ kg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ ).

A avaliação do aporte de nutrientes via serapilheira faz parte do estudo de ciclagem de nutrientes, a que se refere como sendo a transferência contínua de nutrientes que estão presentes dentro de um sistema solo-planta (GRAÇA et al., 2005). A elevada taxa de decomposição da serapilheira indica favorecimento da rápida liberação e consequente reaproveitamento dos nutrientes por parte do sistema radicular da vegetação do sistema agroflorestal (BIJAYALAXMI; YADAVA, 2010). No sistema solo-planta os nutrientes estão em estado de transferência contínuo e dinâmico em que as plantas retiram os nutrientes do solo e os usam nos seus processos metabólicos, retornando-os para o solo naturalmente como liteira, em sistema sem manejo, ou através de poda em alguns sistemas agroflorestais, ou através da senescência das raízes.

Vários estudos têm sido realizados para verificar alguns aspectos da ciclagem de nutrientes em florestas naturais e implantadas, quanto à produção e decomposição de serapilheira, tais como Sanches et al. (2008); Celentano et al. (2010); Sousa Neto et al. (2011) e Zhang et al. (2014). Mostraram que a produção de serapilheira apresenta sazonalidade e é influenciada principalmente pela pluviosidade. Estes autores encontraram produção média anual acima de  $5.000 \text{ kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ .

A produção de serapilheira no sistema agroflorestal corresponde à faixa de produção de florestas tropicais, listadas por Brown e Lugo (1982), entre  $1.000$  e  $15.300 \text{ kg.ha}^{-1}$ . Em recente revisão Zhang et al. (2014) indicam que a produção média para florestas tropicais é de  $7.000 \text{ kg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ . Resultados semelhantes foram encontrados na Bacia Amazônica Brasileira por Sanches et al. (2008); na Mata Atlântica por Sousa Neto et al. (2011) e em floresta tropical de encosta na Costa Rica por Celentano et al. (2010).

A manutenção dos sistemas naturais ou agroflorestais depende da ciclagem de nutrientes via produção e decomposição da serapilheira, sendo essencial na restauração da fertilidade do solo em áreas em início de sucessão ecológica (SCORIZA et al., 2012).

Portanto, a velocidade com que esses nutrientes presentes no solo vão ser reciclados vai influenciar diretamente na produtividade primária do sistema.

Para Souza e Davide (2001), o conhecimento do processo de ciclagem é de grande importância não só para o entendimento do funcionamento dos ecossistemas, mas também na busca de informações para o estabelecimento de práticas de manejo florestal para recuperação de áreas degradadas e manutenção da produtividade do sítio degradado em recuperação. No entanto, de maior relevância do que a simples acumulação quantitativa é o processo de mineralização do material orgânico, responsável pela liberação de nutrientes para o solo.

No estudo da ciclagem de nutrientes em diversos ecossistemas, um dos métodos utilizados para estimar a decomposição da camada de serapilheira é a determinação do valor K, que é a relação entre a quantidade de material que cai do dossel e a que está depositada sobre o solo (SCORIZA et al., 2012). A velocidade da decomposição varia dependendo de diversos fatores, entre eles latitude, altitude e tipo de cobertura vegetal.

As frações da serapilheira possuem diferentes constituições e estruturas, assim a velocidade da decomposição total da serapilheira dependerá da proporção das diferentes frações (CIANCIARUSO et al., 2006). Berg (2000) mostrou que a decomposição da serapilheira é regulada pelos teores de lignina, polifenóis, celulose, carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre constituintes dos materiais vegetais que a compõe. Altas concentrações de lignina, celulose e polifenóis conferem uma taxa de decomposição mais lenta, com maior acúmulo de serapilheira e menor liberação de nutrientes ao solo.

Diferentes coberturas vegetais presentes no solo podem formar serapilheira em quantidade e qualidades diferentes, o que resultará em diferenças no solo. Assim, a organização homogênea ou heterogênea do sistema florestal ou agroflorestal irá conferir à serapilheira uma diversidade de resíduos que irá determinar uma maior diversidade de nichos para a comunidade de decompositores a ela associados. A quantidade de serapilheira e seu conteúdo de nutrientes, que são aportados ao solo pela vegetação, irão refletir na capacidade produtiva do solo e no seu potencial de recuperação ambiental, tendo em vista as modificações que irão ocorrer nas características químicas do solo e, conseqüentemente, na cadeia alimentar resultante do material orgânico adicionado ao solo (SCHUMACHER et al., 2004; MONTEIRO; GAMA-RODRIGUES, 2004).

De acordo com a relação lignina/nitrogênio (L/N) dos tecidos vegetais, Leite e Mendonça (2003) dividiram os resíduos vegetais que compõem a serapilheira nos seguintes compartimentos: a) Superficial - compreende resíduos da parte aérea; b) Do solo - compreende os resíduos do sistema radicular. Estas frações se subdividem em dois

compartimentos: Estrutural, que apresenta tempo de reciclagem de 1 a 5 anos; Metabólico, prontamente decomponível pela ação microbiana, com tempo de reciclagem de 0,1 a 1 ano. Assim, concluíram que com aumento da relação lignina/nitrogênio (L/N), maior parte do resíduo é alocada no compartimento estrutural, que apresenta taxas de decomposição menores do que o compartimento metabólico.

A presença deste material protege o solo contra a exposição direta a radiação solar e flutuações bruscas de temperatura e de umidade, que poderiam prejudicar o estabelecimento das culturas, acarretando sérios problemas de manejo, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais. Também armazena grande quantidade de sementes e abriga uma abundante diversidade de microrganismos que atuam diretamente nos processos de decomposição e incorporação do material, fornecendo nutrientes ao solo (ANDRADE et al., 2003).

No solo, os microrganismos desempenham um papel chave na decomposição da serapilheira (NANNIPIERI et al., 2003). A qualidade da serapilheira é de grande importância na composição da microbiota do solo. Diferentes relações de Carbono/Nitrogênio, teores de lignina e outros, irão interferir significativamente nessa composição, pois cada material será preferencialmente decomposto por um grupo diferente de microrganismos (GESSNER et al., 2010). A cobertura vegetal atua também de maneira indireta sobre a diversidade da microbiota dos solos e, conseqüentemente, sobre o processo de decomposição da matéria orgânica através de ação diferencial sobre as características desses solos, como temperatura, umidade, aeração, pH e disponibilidade de nutrientes minerais (COTRUFO et al., 2013).

Os processos iniciais de mineralização microbiana, e particularmente a degradação de lignina, são dependentes da disponibilidade de carbono, a qual diminui em condições de pH baixo. Os fungos podem suportar melhor as condições de pH baixo quando comparados com as bactérias. Além disso, acredita-se que os fungos são mais eficientes na utilização do substrato de carbono disponível, sendo os decompositores dominantes nos estágios iniciais da degradação da serapilheira (HANSON et al., 2008)..

A análise qualitativa e quantitativa do material orgânico da serapilheira, assim como sua taxa de decomposição, é importante para a compreensão da dinâmica e funcionamento dos ecossistemas, pois são fatores condicionantes para a manutenção da fertilidade do solo e sustentação de ecossistemas tropicais, por constituírem um importante processo de transferência de nutrientes da fitomassa para o solo.

### 2.3 Diversidade de Fungos no Solo

O solo é o elemento que mais interage com o ambiente de atividades humanas, ao mesmo tempo em que compõe a biosfera. Constitui-se não apenas de amontoado de partículas inertes oriundas de alterações rochosas e de sedimento, mas também em um corpo natural organizado, vivo e dinâmico, composto por imensa diversidade e quantidade de organismos, que desempenham inúmeras funções no ecossistema terrestre, participando não somente nos sistemas de produção agrícola, mas, principalmente, na manutenção da qualidade ambiental (CURI et al., 1993).

A agricultura moderna é caracterizada pela busca constante do aumento da produtividade das culturas agrícolas por meio da utilização da mecanização, irrigação, adubação química e aplicações de pesticidas (ANDRADES; GINIMI, 2007). Algumas dessas práticas adotadas em áreas de produção agrícola intensiva apresentam, predominantemente, alto potencial de efeitos deletérios ao meio ambiente e, em especial, à qualidade do solo, interferindo em sua capacidade de armazenamento de água, preservação da matéria orgânica, manutenção da fertilidade e aumento da perda de solo através da erosão (ALTIERI, 2002).

A qualidade do solo está relacionada com sua funcionalidade dentro dos ecossistemas naturais ou manejados e significa a capacidade deste em sustentar a atividade biológica, promover o crescimento e a saúde das plantas e animais, e manter a qualidade ambiental. Esta capacidade resulta de interações entre inúmeros processos químicos, físicos e biológicos de natureza complexa (TÓTOLA; CHAER, 2002) e sofre alterações com o manejo. A adoção de formas de manejos agrícolas não sustentáveis pode interferir na qualidade do solo, uma vez que ocorre a diminuição da qualidade dos atributos físicos, químicos e biológicos, o que, muitas vezes, pode ser de difícil reversão (COSTA et al., 2003).

Segundo Hooper et al. (2005) atividades antrópicas interferem nos processos ecológicos dos ecossistemas, causando desequilíbrios de consequências imprevisíveis e diminuição da diversidade de organismos, podendo levar à diminuição drástica de espécies essenciais à manutenção do ecossistema. Neste contexto, é imprescindível conhecer a diversidade de organismos, buscar meios de mensurá-la, a fim de, monitorar e/ou detectar possíveis mudanças no ambiente, devido à ação antrópica.

A diversidade é dinâmica, e provém da combinação da mutação, recombinação gênica e seleção natural, que produzem variabilidade, inovação e diferenciação na biota terrestre. Maior diversidade de espécies conduz à maior diferenciação de habitats e aumento na produtividade que, por sua vez, permitem diversidade ainda maior de espécies, tornando,

assim, as interações ecológicas estáveis (GLIESSMANN, 2005). Diversidade microbiana corresponde à complexidade e a variabilidade nos diferentes níveis de organização biológica, e engloba a variabilidade genética dentro de táxons (espécies), número (riqueza) e abundância relativa (regularidade) dos táxons nas comunidades (TORSVIK; OVREAS, 2002). Assim, a diversidade caracteriza-se pelo número de diferentes espécies de fungos e bactérias (riqueza) e sua relativa abundância na microbiota do solo (NANNIPIERI et al., 2003; COSTA et al., 2012).

Os microrganismos apresentam uma imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas, em virtude de estarem na base da cadeia alimentar e intrinsecamente associados aos diversos processos ecológicos do solo, figurando, assim, como um importante indicador da qualidade do solo (ZILLI et al., 2003). A parte biológica do solo abriga grande diversidade genética e é considerada o principal reservatório de microrganismos, composta por inúmeras e variadas comunidades de todos os tipos de microrganismos (bactérias, fungos, actinomicetos, vírus, protozoários etc.) (BALSER et al., 2010).

A organização e o funcionamento das comunidades microbianas governam as transformações bioquímicas que ocorrem no solo e são fundamentais para a manutenção e o funcionamento de solos naturais e agrícolas devido ao seu envolvimento em processos chave, tais como: formação da estrutura do solo; ciclagem da matéria orgânica; formação do húmus, nitrificação e fixação biológica do nitrogênio, entre outros, que podem contribuir para a alteração da disponibilidade de nutrientes e elementos tóxicos no solo, como também para a alteração dos atributos físicos dos solos (GARBEVA et al., 2004; GOMES et al., 2003; LAMBAIS et al., 2005).

Os fungos são importantes componentes da microbiota do solo. Representam de 70 a 80% da biomassa microbiana do solo devido ao expressivo diâmetro e extensa malha de seus filamentos e sua ocorrência está condicionada a fatores como pH, umidade e quantidade de matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Estimativas indicavam existir 1,5 milhão de espécies fúngicas na Terra, das quais somente cerca de 5% foram descritas (HAWKSWORTH, 1991; 2001). Em estudo recente para fungos de solo a estimativa indicou que já são conhecidos pelo menos 30% da diversidade de fungos habitantes do solo (GAMS, 2007). Além disso, pode ser ressaltado que a grande maioria das espécies fúngicas identificadas e descritas são encontradas no solo em algum estágio do seu ciclo de vida. Os fungos podem sobreviver sob a forma vegetativa (micelial) e/ou reprodutiva (esporos). A

penetração do micélio no solo forma uma rede que entrelaça partículas de solo resultando na formação de agregados e influenciando a estrutura do mesmo.

Estudos demonstram que os fungos são encontrados com densidades variando de  $10^4$  a  $10^6$  organismos por grama de solo. Porém, a estrutura da população de fungos do solo, dinâmica e diversidade ainda são pouco conhecidas devido à particularidade da maioria dos fungos não crescer em meios de cultura ou em câmaras úmidas, sendo que menos de 20% das espécies fúngicas conhecidas podem ser facilmente cultivadas (BRANDÃO, 1992; BRIDGE; SPOONER, 2001).

A função dos fungos no solo é complexa e fundamental para o ecossistema. Por serem microrganismos estritamente heterotróficos, são sapróbios, parasitas ou simbiontes. A maioria dos fungos é cosmopolita, mas alguns têm ocorrência restrita e funções específicas, como na sucessão de fungos em detritos de folhas e madeira, e na simbiose com raízes (micorrizas). As populações fúngicas são mais abundantes nas camadas mais próximas da superfície do solo, onde a condição aeróbia predomina (DOMSCH et. al., 2007).

Fungos possuem importante função ecológica, participando direta ou indiretamente na produção primária incluindo ciclagem de nutrientes, podendo decompor açúcares simples, polissacarídeos como celulose e hemiceluloses, compostos como taninos, ligninas e húmus, compostos orgânicos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos de alto peso molecular (PAHs) e outros, por meio de sistemas enzimáticos (GESSNER et al., 2010). Também participam da degradação de substâncias tóxicas, como defensivos agrícolas e corantes, e podem servir como acumuladores de metais pesados do solo, diminuindo a sua toxidez para o ambiente (SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006; SILAR; DAIROU, 2011).

Os fungos que habitam o solo podem estabelecer diferentes interações ecológicas com outros organismos, incluindo também outros microrganismos presentes no solo. Estes removem, alteram e até adicionam substâncias às áreas que ocupam no processo de modificação das condições ambientais para eles próprios e para outros organismos. Assim cada fator biótico com que o microrganismo individual se depara pode ser compreendido como uma modificação do ambiente criada por outro organismo, com grande probabilidade de que surjam efeitos indiretos importantes no sistema em razão dos diversos caminhos que essas interações podem tomar (GLIESSMANN, 2005).

Sob o ponto de vista ecológico, o maior interesse nas populações microbianas do solo está situado em sua função (nicho ecológico) dentro do ecossistema e nas interações que possam ocorrer entre elas (RICKLEFS, 2003). As interações ecológicas entre os fungos como neutralismo, comensalismo, protocooperação, simbiose mutualística, parasitismo, predação,

competição e antagonismo ocorrem em habitats onde há alta densidade de populações (HOORMAN, 2011).

O estudo da diversidade e funcionamento da comunidade de fungos é particularmente importante no solo por ser um local constituído de habitats altamente diversos. A importância destas relações reside tanto na possibilidade de se prever mudanças no funcionamento dos agrossistemas, em decorrência de alterações na sua diversidade, quanto no potencial desenvolvimento de sistemas indicadores de alterações ambientais associadas a algum distúrbio, incluindo a utilização não-sustentável de solos agrícolas (TILMAN, 1998). Para Lodge e Cantrell (1995), ambientes perturbados favorecem a diversidade e dominância de determinados grupos de fungos que, por sua vez, se refletem na amplitude do nicho dentro do agrossistema, apresentando espécies generalistas ou especialistas.

Dentre os microrganismos, os fungos possuem importante função ecológica dentro dos sistemas agroflorestais, incluindo ciclagem de nutrientes, e participam do desenvolvimento e saúde das plantas (ANDERSON; CAIRNEY, 2004; JOSE, 2012). O manejo das culturas e do solo pode influenciar na dinâmica das populações dos organismos do solo (CASTRO et al., 2008; BRESOLIN et al., 2010). Assim, práticas agrícolas que utilizam diversas espécies vegetais em rotações complexas, promovem grandes quantidades de diferentes tipos de resíduos de culturas, esterco e cultivos de cobertura, favorecendo e promovendo uma diversificada população biológica de organismos do solo.

Em agroecossistemas, a adição regular de fontes adequadas de matéria orgânica pode induzir supressividade nos solos por estimular a atividade de decompositores primários, principalmente os fungos. A supressão de patógenos por microrganismos nativos do solo é mediada por diversos processos que incluem a produção de antibióticos, competição por recursos, parasitismo e a produção de substâncias tóxicas ou enzimas, como o óxido nitroso e a quitinase. Os patógenos também são geralmente, sensíveis aos antibióticos produzidos pelos microrganismos saprofíticos e, portanto, são competidores fracos no solo, o que explica sua suscetibilidade à supressão (JANVIER et al., 2007; RAAIJMAKERS et al., 2009).

Segundo Gliessmann (2005), tanto os sistemas naturais, quanto os sistemas agrícolas são compostos de organismos e do ambiente nos quais estes habitam, e a complexidade característica de um sistema como um todo se torna a base para as interações ecológicas fundamentais no desenho de agroecossistemas sustentáveis. A diversidade de fungos encontrados no solo pode ser alterada (reduzida), quando comparada à do ambiente natural, quando o solo é submetido às práticas agrícolas (COSTA et al., 2012). Essas mudanças podem beneficiar algumas espécies, do ponto de vista quantitativo, resultando em altas

densidades populacionais de espécies mais adaptadas, causando desequilíbrio no ambiente. (VALPASSOS et al., 2001). Entretanto, atividades agrícolas que visam à conservação dos recursos ambientais podem favorecer as populações de organismos habitantes do solo, resultando em aumento de organismos benéficos e/ou possibilitando o estabelecimento de novas espécies no sistema (JOSE, 2012).

Na aplicação de diferentes tipos de manejos ou métodos de recuperação de áreas degradadas, é de se esperar, portanto, uma modificação qualitativa e quantitativa na constituição desse solo. Essa possível modificação pode significar diferentes disponibilidades de substrato que, podem favorecer ou inibir, o estabelecimento dos diferentes grupos microbianos, uma vez que a permanência de uma população no ecossistema fica condicionada à sua habilidade de adaptação e de resposta a essas mudanças ambientais (HANSON et al., 2008).

A recuperação das áreas degradadas é fortemente influenciada por parâmetros microbiológicos e bioquímicos do solo (SILVEIRA et al., 2004). Como os microrganismos respondem rapidamente às alterações impostas ao ambiente, o monitoramento de mudanças microbiológicas e a correlação dessas com as práticas de manejo das culturas tem grande potencial para o estabelecimento de indicadores da qualidade do solo (NIELSEN; WINDING, 2002).

O conhecimento dos efeitos dos cultivos agrícolas na dinâmica das populações microbianas nos solos se torna ainda mais importante, por causa das transformações que esses microrganismos promovem, influenciando a qualidade dos produtos e a produtividade agrícola (PEREIRA et al., 2000). Os microrganismos estão diretamente envolvidos nos ciclos dos nutrientes no solo e, aliada à quantificação de bactérias e fungos totais, a avaliação de determinados grupos microbianos dá indicação de como os processos bioquímicos estão ocorrendo (SILVEIRA et al., 2004).

Os microrganismos habitantes do solo desempenham papéis importantes no ecossistema, mas infelizmente, as práticas agrícolas modernas causam redução da riqueza e abundância, resultando em alteração da composição e estrutura das comunidades microbianas do solo e, conseqüentemente, os processos ecológicos são afetados (CASTRO et al., 2008; BRESOLIN et al., 2010; COSTA et al., 2012). Para garantir uma população microbiana diversa e ativa no solo de sistemas agrícolas, estes devem ser projetados para reduzir ou eliminar os insumos e agrotóxicos. Além disso, os sistemas devem promover a diversidade vegetal, através do consórcio de diferentes espécies, que contribuam com o aumento do estoque de matéria orgânica do solo.

É importante ressaltar que as práticas agrícolas aplicadas ao sistema de uso, seja qual for, monocultura ou agroflorestal, interferem de alguma forma no ecossistema, porém, a longevidade deste sistema depende do nível de agressão que tais práticas promovem. Assim, o entendimento dos processos biológicos do solo facilita a racionalização do manejo agrícola e a implementação de práticas que promovam a conservação do solo.

A diversidade de fungos do solo pode ser avaliada em termos morfológicos, fenotípicos e genotípicos (BRIDGE; SPOONER, 2001). De acordo com Zilli et al. (2003), devido às dificuldades de sua avaliação e compreensão dentro do ecossistema, a diversidade costuma ser apresentada sob a forma de índices. Alguns índices matemáticos, como o índice de diversidade de Shannon-Wiener, Simpson e Hill; de riqueza de Margalef e Menhinik; de equitabilidade de Pielou, e de dominância de Béquer Parker, fornecem informações importantes a respeito do padrão de distribuição de espécies microbianas no ecossistema (ZACK; WILLIG, 2004). Redução da comunidade de fungos, com eventual extinção de espécies, pode acarretar não só a perda de importantes funções do solo, mas também reduzir a habilidade dos sistemas naturais de superar os estresses. O fato é que a redução da diversidade de espécies e da diversidade genética implica em prejuízos para a adaptabilidade futura, tanto nos ecossistemas naturais quanto nos agroecossistemas (ALTIERI, 2002).

Dos índices gerais de diversidade, o de Shannon-Wiener representa um tipo de formulação largamente usado para se avaliar a complexidade de todos os tipos de sistemas. Este índice provém da teoria da informação e fornece a ideia do grau de incerteza em prever qual seria a espécie a que pertence um indivíduo da população, se retirado aleatoriamente (FOSTER et al., 2004). Este índice leva em consideração a riqueza de grupos taxonômicos e a intensidade de dominância, resultando maiores índices em comunidades com muitos grupos igualmente abundantes. Quanto maior o valor de  $H'$ , maior a diversidade da área em estudo. Zilli et al. (2003) mencionam que o uso da diversidade como um parâmetro indicativo das condições do ambiente ainda é limitado, em consequência da falta de informações sobre a estrutura da comunidade microbiana no solo e de como usar a diversidade para atestar que o manejo empregado no solo afeta ou não a sustentabilidade do agroecossistema.

A distribuição dos indivíduos dentro das espécies reflete o equilíbrio do sistema. Em ambientes perturbados, organismos mais adaptados tendem aumentar sua densidade e, como consequência, acabam por dominar o ambiente (VALPASSOS et al., 2001). Assim, para se mensurar a uniformidade é usado o índice de equitabilidade ou uniformidade de Pielou ( $J'$ ) que é derivado do índice de diversidade de Shannon e se refere à distribuição dos indivíduos entre as espécies, sendo proporcional à diversidade e inversamente proporcional à

dominância. Logo, o resultado é de baixos índices em situações de intensa dominância de poucos grupos taxonômicos. O valor apresenta uma amplitude de 0 (uniformidade mínima) a 1 (uniformidade máxima). Já para verificar a dominância de espécies dentro de um ambiente, são usados índices como o proposto por Berger e Parker (1970). O índice leva em conta a representatividade das espécies com maior valor de dominância, sem avaliar a contribuição do resto das espécies.

Sabendo-se da dependência entre a produtividade do sítio e a ciclagem de nutrientes, 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. Existe uma grande diversidade de fungos encontrados no solo, mas alguns gêneros são mais comuns do que outros. Os gêneros mais frequentemente isolados do solo são: *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Aspergillus*, seguidos por *Rhizopus*, *Fusarium* e *Verticillium* (DOMSCH et. al., 2007).

Estes fungos tem como função no solo a degradação da matéria orgânica, tendo um papel importante na degradação da celulose e lignina, gerando biomassa proteica ou mesmo servindo como alimento para outros organismos. A decomposição de material vegetal envolve pelo menos quatro grupos distintos de fungos: celulolíticos, hemicelulolíticos, pectinolíticos e ligninolíticos. A degradação de um substrato complexo, folhas, tecidos microbianos mortos ou exoesqueletos de insetos é processada mais rapidamente na presença de uma comunidade microbiana do que na presença de uma única população (BERG, 2000). De outro modo, no primeiro estágio de decomposição, a taxa de degradação está correlacionada com a colonização fúngica. Para conhecer o potencial de decomposição da serapilheira torna-se necessário conhecer as populações fúngicas presente no solo.

## **2.4 Métodos para o Estudo da Diversidade de Fungos do Solo**

Atualmente existem diversos métodos para se estudar a diversidade de fungos no solo, cuja maior parte envolve estudos de genética e diversidade taxonômica. Segundo Pereira et al. (2000), as avaliações qualitativas e quantitativas das populações na comunidade microbiana nos solos são relevantes, tanto na caracterização das relações entre os diferentes grupos e espécies de microrganismos quanto na identificação de fatores ambientais que exercem influência no equilíbrio microbiológico dos solos.

Alguns fatores têm contribuído para a falta de conhecimento sobre a diversidade de fungos em amostras ambientais, em grande parte, relacionados às limitações dos métodos tradicionalmente utilizados para o isolamento e cultivo de microrganismos em laboratório. Dados derivados de estudos comparativos apontam para o fato de que apenas uma pequena fração dos microrganismos na natureza, entre 0,1 a 1%, dependendo do habitat, são cultivados através do emprego de métodos microbiológicos convencionais, como o método de diluição em série (AMANN et al., 1995).

A técnica de isolamento e contagem em placas pelo método de diluição em série é amplamente empregada para estimar a população de fungos do solo. Este método permite a identificação das espécies e, assim, fornece informações sobre a estrutura das comunidades de fungos e suas funções (BRODIE et al., 2003). É uma técnica simples, baseada na diluição de uma quantidade conhecida de solo, utilizando fator de diluição apropriado para cada tipo de solo, plaqueamento de alíquota das diluições em meios de cultura apropriados, contendo antibióticos, e incubação sob condições adequadas e contagem das colônias desenvolvidas. A partir desta técnica, pode-se obter uma estimativa do número de propágulos de fungos por grama de solo.

O método é utilizado como indicador dos principais grupos microbianos cultiváveis e suas respectivas funções em dado ambiente, sendo importante na obtenção de resultados preliminares da diversidade microbiana e também dos efeitos de distúrbios ou estresses ambientais sobre tais comunidades (CAVALCANTI et al., 2006; SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006; BUNEMANN et al., 2006; FORTES-NETO et al., 2007; MELLONI, 2007; SCHOENLEIN et al., 2008).

Entretanto, este método é considerado limitado por não detectar a maioria das populações microbianas presentes no ambiente. As desvantagens deste método consistem em diferentes fatores como: perda por sedimentação de células associadas às partículas de solo durante as diluições e o plaqueamento; a morte das células durante as diluições; dessecação das células na superfície das placas; fungos que possuem *status* celular viável, mas não cultivável; interdependência entre o microrganismo e outro organismo (PAUL; CLARK, 1989). Também pode ocorrer, durante as etapas de diluição, a fragmentação de hifas ocasionando a superestimação da população, uma vez que serão contadas como colônias simples (LORCH et al., 1995).

Durante várias décadas, o cultivo em meio de cultura foi usado para acessar a diversidade microbiana de solos. No entanto, para se obter um melhor entendimento da

diversidade e da dinâmica dos fungos de solo é ideal a utilização de outros métodos, para a complementação das técnicas tradicionais (BRIDGE; SPOONER, 2001).

Novas técnicas moleculares baseadas na caracterização de ácidos nucléicos extraídos do solo oferecem grande potencial para investigar a vasta porção da comunidade microbiana não cultivável. Elas são independentes de cultivo e, de acordo com sua sensibilidade, podem detectar espécies, gêneros, famílias ou mesmo grupos taxonômicos maiores (NANNIPIERI et al., 2003). Assim um grande avanço nos estudos de ecologia microbiana foi obtido com o advento de técnicas moleculares, baseadas na análise do DNA de microrganismos retirado diretamente dos ambientes naturais, sem a necessidade da multiplicação prévia das células (SCHLOTER et al., 2003). Para se ter sucesso no estudo da diversidade microbiana por meio de técnicas moleculares é necessária a utilização de procedimentos eficientes de extração de DNA do solo e, se necessário, deve se realizar adequações para otimização dos protocolos (ROSADO et al., 1997).

O solo é habitado por diversos organismos e os ácidos nucléicos extraídos do solo compreendem uma miscelânea de DNA e/ou RNA de bactérias, plantas, fungos, pequenos animais e protozoários. Segundo Mitchell e Zuccaro (2006), a eficiência da extração dos ácidos nucléicos depende das espécies presentes, do substrato da amostra ambiental, bem como do método utilizado. Outro aspecto que influencia na qualidade e pureza do DNA extraído é a presença de ácidos húmicos e polissacarídeos que podem ser co-precipitados durante o processo de extração (ANDERSON; CAIRNEY, 2004). A presença desses componentes inibe a reação de polimerização em cadeia (*polymerase chain reaction* - PCR), assim, a remoção destas impurezas deve ser realizada por meio de diluição ou inclusão de detergentes seletivos (MITCHELL; ZUCCARO, 2006).

Várias abordagens foram usadas para extração do DNA fúngico do solo, desde a utilização de kits comerciais que possuem eficiência e rapidez para recuperação do DNA do solo (RANJARD et al., 2003) até técnicas para otimizar a extração de ácidos nucléicos específicos do solo (YEATES et al., 1997; ANDERSON et al., 2003; RANJARD et al., 2003).

Na década de 80 foi desenvolvida a técnica de PCR (*polymerase chain reaction*) (SAIKI et al., 1988), a qual possibilitou um grande avanço no desenvolvimento de diferentes técnicas moleculares. A PCR tem como vantagens a simplicidade, rapidez e sensibilidade para pequenas quantidades de DNA (MULLIS; FALOONA, 1987).

Esta técnica permite a amplificação *in vitro* de determinado segmento do DNA, por meio da amplificação exponencial do DNA (reação em cadeia). A amplificação é feita em

ciclos, nos quais, a cada ciclo, a quantidade resultante será  $2n$  ( $n$  = moléculas do ciclo anterior). Os ciclos são realizados até que um número suficiente de cópias do fragmento alvo da molécula de DNA seja produzido. Cada ciclo é composto por três etapas: desnaturação, anelamento dos *primers* e extensão das novas fitas de DNA (MUYZER et al., 1993).

O método de PCR pode ser usado para detectar, monitorar e identificar fungos de amostras ambientais utilizando *primers* específicos (ATKINS; CLARK, 2004). Diversos *primers* foram desenvolvidos para amplificar um vasto número de grupos taxonômicos de fungos (MITCHELL; ZUCCARO, 2006). Por outro lado, as sequências da menor subunidade do rDNA, que evoluem mais lentamente, podem servir como marcadores para grupos taxonomicamente mais distantes, facilitando a resolução da diversidade fúngica total do solo dentro de um número limitado de bandas em um perfil molecular. Em fungos, a região 18S do rDNA tem sido usada como marcador por não variar no seu tamanho e conter, em sua sequência, regiões conservadas e variáveis. Portanto, são moléculas convenientes, uma vez que a síntese de ribossomos é fortemente conservada ao longo da evolução (KENNEDY; CLIPSON, 2003; ANDERSON; CAIRNEY, 2004).

Por meio de amplificações do *cluster* de genes do DNA ribossomal de fungos, utilizando conjuntos de *primers* universais e técnicas moleculares de *fingerprinting*, tal como a DGGE, é possível obter dados para análises descritivas e comparativas da estrutura de comunidades de fungos (MUYZER; SMALLA, 1998; SMIT et al., 1999; VAINIO; HANTULA, 2000; van ELSAS et al., 2000; MAY, 2001; BRODIE et al., 2003; GOMES et al., 2003; HAGN et al., 2003; HE et al., 2005; COSTA et al. 2006; MALOSSO et al., 2006; ROS et al., 2009; LOTTMANN et al., 2010; YU et al., 2010; BRESOLIN et al., 2010; COSTA et al., 2012).

A técnica de DGGE foi originalmente desenvolvida para detectar mutações específicas no genoma humano e teve seu uso expandido por Muyzer et al. (1993) para o estudo da diversidade genética microbiana. Esta técnica baseia-se na separação de fragmentos de fita dupla do DNA de mesmo tamanho, obtidos por PCR, porém com sequências divergentes. A separação dos fragmentos de DNA é realizada em gel de poliacrilamida contendo gradiente desnaturante (uréia e formamida), onde os fragmentos irão migrar diferencialmente, de acordo com o seu teor de Guanina + Citosina (GC) (MUYZER; SMALLA, 1998). Assim, quando submetidos à eletroforese, os fragmentos permanecem em dupla fita até que eles atinjam as condições necessárias para a desnaturação da molécula nos chamados “domínios de desnaturação”. Quando há a desnaturação de um domínio, processa-se uma transição na conformação da molécula, que passa de helicoidal para parcialmente desnaturada e a

migração da molécula no gel é interrompida. Assim, a posição dos fragmentos de DNA no gel é determinada pelas variações nas sequências de nucleotídeos que vão interromper sua migração em diferentes posições, influenciada pelas condições de desnaturação (ROSADO; DUARTE, 2002). No entanto, fragmentos de diferentes sequências podem ter características similares de mobilidade no gel, e uma banda poderá representar mais de um *amplicom* (GELSOMINO et al., 1999). Desta forma, não se pode estabelecer uma relação direta entre a quantidade de bandas detectadas por DGGE e o número de espécies ou os grupos taxonômicos presentes na amostra.

O estudo de Myers et al. (1985) demonstrou que esta técnica pode detectar aproximadamente 50% das variações de sequências em fragmentos de DNA com até 500 pares de bases, porém, quando se acrescenta a um dos lados do fragmento de DNA um segmento rico em GC (*GC-clamp*) esta porcentagem pode alcançar aproximadamente 100% (SHEFFIELD et al., 1989). O *GC-clamp* tem comprimento que varia entre 30 e 50 nucleotídeos (MUYZER, 1999), e é introduzido na extremidade 5' de um dos *primers* e amplificado por PCR juntamente com o DNA. O *GC-clamp*, quando anexado, age como um domínio de alta resistência à desnaturação que impede a dissociação das duas fitas do DNA em fitas simples (SHEFFIELD et al., 1989).

O DGGE é uma técnica bem estabelecida que permite o estudo da complexidade e do comportamento das comunidades microbianas em grande número de amostras, de maneira rápida, relativamente barata e reproduzível, tornando possível monitorar a dinâmica complexa da comunidade microbiana e suas flutuações sazonais ou após perturbações ambientais (MUYZER, 1999).

A utilização da DGGE já foi descrita em diversos estudos de ecologia molecular de fungos do solo abrangendo diversos enfoques. Esta técnica foi utilizada no estudo da diversidade de comunidades fúngicas em ambientes de decomposição de madeira, baseada na amplificação do gene 18S do rDNA (VAINIO; HANTULA, 2000). A técnica de DGGE foi capaz de detectar variações na comunidade de bactérias e fungos após aplicações de Clorotalonil (fungicida usado para o controle de doenças foliares, amplamente utilizado na agricultura) (SIGLER; TURCO, 2002). Também a técnica pode ser usada para detectar alterações na estrutura da comunidade de microrganismos de solo submetidos a fertilizantes orgânicos e inorgânicos (MARSCHNER et al., 2003) e a aplicações de herbicidas (YU et al., 2010).

A análise da comunidade de fungos utilizando *primers* para região 18S rDNA e posterior DGGE dos produtos de PCR se mostrou altamente eficaz em ambientes complexos

com alta diversidade de fungos e matéria orgânica (PENNANEN et al., 2001). Por meio da técnica de DGGE é possível comparar os efeitos de diferentes usos da terra sobre as comunidades de fungos e bactérias do solo (ROS et al., 2009; BRESOLIN et al., 2010). A persistência de fungos em solo contaminado artificialmente com petróleo foi verificada utilizando a técnica de DGGE (van ELSAS et al., 2000).

Através de isolamento por cultivo, DGGE e técnicas de clonagem, foi possível avaliar a diversidade de fungos filamentosos em solos marítimos da Antártida, tendo sido constatada a presença de fungos dos Filos Ascomycota (48 sequências), Basidiomycota (48 sequências), e Zygomycota (seis sequências) (MALOSSO et al., 2006).

Estudo recente utilizando a técnica de DGGE realizado por Costa et al. (2012), mostrou que o tipo de uso ao qual o solo é submetido influencia a comunidade de fungos filamentosos, no qual o Sistema Agroflorestal apresenta a micobiota do solo próxima a de ambiente de floresta.

O sucesso da técnica em trabalhos com diferentes enfoques demonstra que esta apresenta potencial para o monitoramento de solos que passam a sofrer impacto de práticas agrícolas. O acompanhamento de alterações na composição e na estrutura de comunidades de microrganismos pode ajudar na avaliação do impacto causado e na elaboração de recomendações para garantir a sustentabilidade da agricultura.

Além das técnicas quantitativas, métodos qualitativos podem auxiliar no entendimento da estabilidade e resiliência da comunidade fúngica em respostas a eventos de perturbação naturais ou antrópicas. Assim, o método da respirometria determina a quantidade de carbono liberado na forma de CO<sub>2</sub>, proveniente da decomposição da matéria orgânica pelas comunidades microbianas aeróbias do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002). Este representa o método mais antigo e mais utilizado como parâmetro para quantificar a atividade metabólica nos solos (KIEFT; ROSACKER, 1991), e esta pode ser influenciada por diversos fatores do solo, como teor de água, temperatura, estrutura do solo e disponibilidade de nutrientes (ALEF, 1995). Em experimentação, a respiração dos microrganismos pode ser dividida em dois tipos: respiração basal (sem a adição de substrato ao solo) e respiração induzida pelo substrato, quando se adiciona um substrato específico, como, por exemplo, glicose, aminoácidos, sacarose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

O método permite quantificar o carbono que está sendo degradado no solo e também a influência do clima, das propriedades físicas e químicas do solo influência de pesticidas na atividade microbiana durante a decomposição e a mineralização do carbono no solo (ANDRÉA; PETTINELLI, 2000). Também pode fornecer dados úteis sobre modificações nas

propriedades biológicas dos solos, decorrentes de práticas agrícolas como: diferentes tipos de manejo dos solos e de culturas (ALVAREZ et al., 1995; JORDAN et al., 1995; PASCUAL et al., 2001, SALINAS-GARCIA et al., 2002; FIALHO et al. 2013), efeito do uso de fertilizantes orgânicos ou minerais e biocidas em geral (RANGEL; SILVA, 2007).

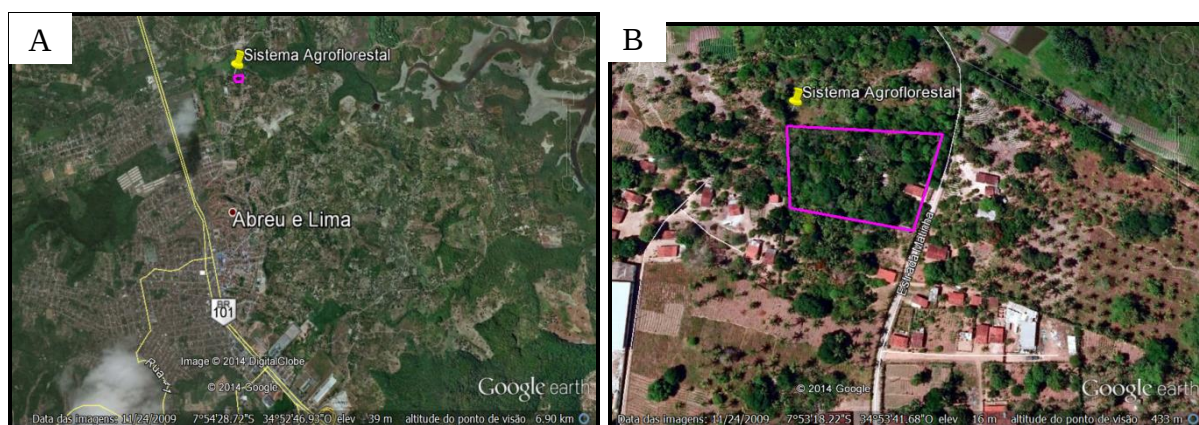
Alterações na comunidade microbiana e na sua atividade interferem diretamente nos processos biológicos e bioquímicos do solo, na produtividade agrícola e, conseqüentemente, na sustentabilidade dos agroecossistemas, atuando como indicador de degradação dos solos (MATSUOKA et al., 2003). Tais alterações são ocasionadas, entre outros fatores, pelo tipo de cultura, condições ambientais, interações entre organismos e, principalmente, pelo sistema de cultivo e sucessões de culturas adotadas (BALOTA et al., 1998). Desta forma, alguns parâmetros referentes à atividade dos microrganismos no solo podem servir como indicador biológico para a avaliação do estado de equilíbrio ou desequilíbrio (estabilidade) e produtividade dentro de um sistema (TURCO; BLUME, 1999).

A manutenção da produtividade dos ecossistemas agrícolas e florestais é dependente da biomassa microbiana que atua como agente de transformação da matéria orgânica, no ciclo de nutrientes e no fluxo de energia no solo (DE-POLLI; GUERRA, 2008; GAMA-RODRIGUES, 1999). Mudanças na qualidade da matéria orgânica do solo influenciam diretamente os microrganismos que dependem e utilizam a fração disponível para seu desenvolvimento, assim, a biomassa microbiana tem sido proposta como um indicador do estado e das mudanças da matéria orgânica total do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudo

A pesquisa foi desenvolvida no Sítio São João, localizado no município de Abreu e Lima, região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil (coordenadas 7°53'13" Sul e 34°53'43" Oeste) (Figura 1).



**Figura 1:** Vista de satélite do Sistema Agroflorestal, localizado no município de Abreu e Lima-PE. A – Altitude de 6.900 metros; B – Altitude de 433 metros.  
Fonte: Google Earth (2014)

A vegetação da região é típica de Mata Atlântica, com formação florestal do tipo Floresta Ombrófila Densa. A precipitação média anual da região do município é de aproximadamente de 1700 mm, com dois períodos bem definidos, compreendendo o período de estiagem do mês de outubro a março e o período de chuvas de abril a setembro. Em média, a temperatura anual mínima é de 20,7°C e máxima de 30°C (APAC, 2014).

As terras pertenciam ao grupo *Lundgren* (Companhia Têxtil) e através de reforma agrária, ocorreu sua divisão entre as famílias que ali estavam. O sítio São João, cujo proprietário é o Senhor Jones Severino Pereira, tem aproximadamente 80 anos de existência e possui área de 1 hectare. No início, a propriedade era formada por bananal improdutivo, pés de coco, algumas jaqueiras, e abacateiros que produziam pouco, além de cultivos tradicionais de macaxeira.

A partir de 1993, com auxílio do “Centro de Desenvolvimento Agroecológico Sabiá”, (organização não-governamental que assessora famílias agricultoras em Pernambuco), e com orientações de consórcios e introdução de espécies adaptadas as condições do sítio, do pesquisador suíço Ernest Gotsch, foi proposto a conversão do sistema tradicional de

agricultura para o modelo de sistema agroflorestal. O novo sistema trazia alternativas inovadoras segundo as quais o princípio seria a menor dependência possível de insumos externos à unidade de produção agrícola, reciclando energia e nutrientes para não haver perda durante o processo de produção. A ideia era trazer novas condições para o solo dentro do próprio sistema. Contudo, as experiências nos três primeiros anos de implantação do sistema foram mal sucedidas por não se considerar plantios de espécies adubadoras e época propícia para a implantação de determinadas espécies, além do pouco apoio da família e comunidade que não acreditavam neste novo sistema de produção.

Atualmente, este Sistema Agroflorestal conta com grande diversidade de plantas, sendo frutíferas e florestais, e está classificado como agrossilvicultural. Apresenta arranjo temporal simultâneo, com integração simultânea e contínua de culturas agrícolas anuais e/ou perenes, espécies florestais para produção de madeira, frutíferas e espécies de uso múltiplo (medicinal, adubação, lenha, etc). Foram constatadas aproximadamente 75 espécies de plantas, sendo frutíferas como abacate (*Persea americana* Mill), banana (*Musa* spp.), caju (*Anacardium occidentale* L), café (*Coffea arabica* L.), cacau (*Theobroma cacao* L.), acerola (*Malpighia* spp.), manga (*Mangifera indica* L.), coco (*Cocos nucifera* L.), açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), sapoti (*Achras sapota* L.), jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) e espécies florestais como embiriba (*Eschweilera luschnathii* Miers.), pau d'arco (*Tabebuia heptaphylla* Vell.), pau brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) e juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.).

A diversificação das espécies vegetais junto com espécies nativas da Mata Altântica, como a Biriba (*Eschweilera ovata* (Cambess.) Miers) e Cupiuba (*Tapirira guianensis* Aubl.), tanto espécies de frutas de Pernambuco quanto de outras regiões resulta em uma cultura agroecológica florestal, economicamente viável que proporciona produção estimada de 13.000 kg de alimentos/ano e 40 metros cúbicos de madeira/ano.

O manejo da área é feito por meio de podas. Todos os restos vegetais, oriundos da colheita de espécies de ciclo curto ou da poda das de ciclo longo, além dos que caem naturalmente, são deixados sobre a superfície do solo formando camada espessa de serapilheira, sofrendo o processo normal de decomposição. Também se ressalta a exclusão do uso de defensivos agrícolas e de fertilizantes; a adubação é realizada pelo cultivo e incorporação ao solo de plantas adubadoras como *Clitoria racemosa* Benth. (ciclo permanente e crescimento rápido) e leguminosas como *Canavalia ensiformis* DC.

Além de ser a fonte de renda da família assentada, a propriedade se destaca como ferramenta de ensino. O Sistema Agroflorestal já recebeu mais de 3,5 mil pessoas, sendo principalmente estudantes e professores universitários, do ensino médio, do ensino

fundamental, e também do ensino infantil. Muitos pesquisadores, técnicos, agricultores e estudantes vindos de outros estados e países já fizeram intercâmbios ou estagiaram na propriedade, com o intuito de conhecer o manejo ali utilizado.

### 3.2 Produção e variação temporal de deposição da serapilheira

Para avaliar a produção de serapilheira, foram instaladas 10 caixas coletoras (0,5 x 0,5 m), com fundo em tela de náilon com malha de 1 x 1 mm, suspensas 50 cm acima da superfície do solo e distribuídas aleatoriamente, respeitando uma distância de pelo menos 10 metros entre um coletor e outro, na área do Sistema Agroflorestal (Figura 2).



**Figura 2:** Vista de satélite dos coletores distribuídos dentro da área de Sistema Agroflorestal, localizado no município de Abreu e Lima-PE. Altitude de 188 metros.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

O material acumulado nas caixas coletoras foi recolhido regularmente em intervalos de 30 dias, sendo transferido para sacos de papel etiquetados. As coletas foram realizadas durante um período de 36 meses, entre agosto/2011 e julho/2014.

Em cada coleta, a serapilheira recolhida foi separada de acordo com os constituintes: folhas (folíolos + pecíolo), estruturas reprodutivas (flores, frutos e sementes), miscelânea (material vegetal que não pode ser determinado e material de origem animal) e ramos com até 2 cm de diâmetro. Foi determinado este limite máximo de diâmetro para ramos, para padronizar a metodologia com outros estudos realizados em florestas (MONTEIRO; GAMA-RODRIGUES, 2004; VITAL et al., 2004). Após a triagem, as frações foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para secagem em estufa a 65°C, até peso constante.

Posteriormente, cada fração foi pesada em balança analítica. Através da quantidade média de serapilheira encontrada nos coletores, foi estimada a biomassa devolvida mensal e anualmente ( $\text{kg ha}^{-1}\text{ano}^{-1}$ ) para o solo do Sistema Agroflorestal estudado (GRAÇA et al., 2005). Para se determinar diferenças entre a produção mensal e anual de serapilheira foi aplicada a análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O teste de Pearson foi aplicado para se verificar a correlação entre a precipitação mensal e a produção mensal de serapilheira.

### **3.3 Estimativa do estoque de serapilheira acumulada no solo**

A serapilheira acumulada na superfície do solo foi estimada utilizando-se molde vazado de 0,5 m x 0,5 m, com 10 repetições, lançado aleatoriamente dentro da área do Sistema Agroflorestal estudado. A serapilheira circunscrita na moldura foi coletada em sacos de papel e foi empregado o mesmo procedimento de secagem, separação e pesagem da serapilheira descrita no item 5.2 (GRAÇA et al., 2005). A técnica para coleta da serapilheira acumulada no solo foi aplicada em intervalos de 90 dias, durante um período de 36 meses, entre agosto/2011 e julho/2014. A cada 12 meses os valores obtidos foram usados para se estimar o estoque de serapilheira anual acumulada no solo. Os valores anuais obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### **3.4 Análises químicas da serapilheira acumulada no solo**

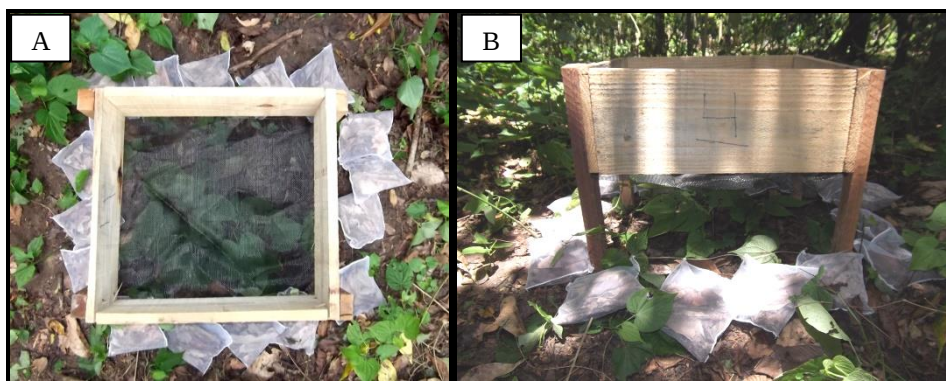
As amostras coletadas de serapilheira acumulada na superfície do solo (item 5.3) foram pesadas, moídas e enviadas para o Laboratório de Tecidos Vegetais, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo, no qual foram determinados os teores dos seguintes macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (macronutrientes); e dos micronutrientes: cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e Zinco (Zn). Para se obter o conteúdo de nutrientes, foi multiplicada a biomassa seca depositada (serapilheira) pela concentração média determinada em laboratório, para cada nutriente.

### 3.5 Estimativa da taxa de decomposição da serapilheira

Para estimativa da taxa de decomposição da serapilheira foi utilizada a equação proposta por Olson (1963):  $K = L/X$ , em que  $K$  = coeficiente de decomposição,  $L$  = produção anual de serapilheira e  $X$  = média anual da serapilheira acumulada. O tempo necessário para que ocorra decomposição de 50% da serapilheira (meia vida) foi estimado pela equação:  $T_{0,5} = -\ln 0,5/K$  (REZENDE et al., 1999).

### 3.6 Avaliação da velocidade de decomposição da serapilheira

Para avaliar a decomposição da serapilheira foi aplicada a técnica de *litterbags*. As *litterbags* foram confeccionadas utilizando tela de náilon de malha de 1,0 mm com medida de 20,0 cm x 20,0 cm. Cada *litterbag* foi preenchida com 30g de serapilheira previamente seca em estufa a uma temperatura de aproximadamente 65°C. A serapilheira foi obtida da camada superficial orgânica em diferentes graus de decomposição existente sobre solo do Sistema Agroflorestal. Após a confecção, 36 *litterbags* foram distribuídas na superfície do solo ao redor das 10 caixas coletoras de serapilheira (Figura 3), totalizando 360 *litterbags*.



**Figura 3:** Litterbags distribuídas ao redor do coletor de serapilheira. A – vista superior; B – vista lateral.

Fonte: Phelipe Oller

O tempo zero foi 08/2011 e, a cada trimestre, foram retiradas, aleatoriamente, três *litterbags* ao redor de cada coletor. O conteúdo de cada *litterbag* foi examinado para retirada de partículas de solo e, em seguida, seco em estufa a 65°C até peso constante. A massa residual foi determinada em balança analítica, estimando-se a velocidade de decomposição (g/mês) desse material em relação ao peso inicial (30g). O percentual de material

remanescente foi calculado com a equação: % Remanescente = Massa final x 100 / Massa inicial.

Para calcular a taxa de decomposição (k) foi utilizada a equação exponencial de primeira ordem:  $C = C_0 e^{-kt}$ . Onde C é a massa final das amostras;  $C_0$  é a massa inicial (30g); t, o tempo decorrido na experimentação (630 dias) e k a constante de decomposição. Para estimar o período de meia vida ou período necessário para que 50% da biomassa seja decomposta, foi aplicada a equação:  $t_{0,5} = \ln 2/k$  (SHANKS; OLSON, 1961).

### 3.7 Coleta e amostragem de Solo

Foram realizadas coletas trimestrais de solo a partir de agosto de 2011, durante dois anos, totalizando 4 coletas por ano. A cada coleta, foram retiradas 3 *litterbags* de cada caixa coletora, como mencionado no item 3.6, e o solo foi coletado imediatamente, no local onde se encontravam as *litterbags*, após sua retirada. Assim, foram coletadas três subamostras de solo, que originou uma amostra composta por coletor de serapilheira, totalizando 10 amostras compostas de solo por coleta.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas para o Laboratório de Controle Biológico, Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). No laboratório, foram retiradas alíquotas para avaliação de atributos físico-químicos, microbiológicos e estrutura de comunidades por eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE). As amostras para as análises de DGGE foram armazenadas em *freezer* a -20°C, e para as análises microbiológicas em geladeira a 4°C.

### 3.8 Propriedades físico-químicas do solo

As análises das propriedades físico-químicas do solo foram realizadas pelo Laboratório de Análises de Solo da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no qual foram determinados os teores de: ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), fósforo (P), potencial de hidrogênio (pH), potássio (K), sódio (Na), alumínio (Al), cálcio (Ca), magnésio (Mg), hidrogênio (H), matéria orgânica (M.O) e capacidade de troca catiônica (CTC), além da análise física do solo para se determinar a densidade, composição granulométrica e classe textural. Os resultados dos teores químicos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

### 3.9 Teor de umidade dos solos

O teor de umidade dos solos foi determinado pelo método tradicional de secagem em estufa, que consistiu na retirada de frações representativas das amostras de solo e estas foram colocadas em recipientes metálicas, pesadas e postas para secar na estufa a uma temperatura de aproximadamente 105 °C. Após 24 horas, as amostras secas foram pesadas novamente e os resultados foram aplicados na seguinte fórmula para se obter o teor de umidade:  $U\% = [(P_u - P_s)/P_s] * 100$ ; Onde:  $U\%$  = Teor de umidade da amostra;  $P_u$  = Peso úmido da amostra;  $P_s$  = Peso seco da amostra. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

### 3.10 Respiração microbiana do solo - evolução de CO<sub>2</sub>

A amostragem e a coleta de solo seguiram-se como descrito no item 3.7., porém, o tempo de coleta foi ampliado para 3 anos, totalizando 12 coletas. Assim foi possível correlacionar a respiração microbiana do solo com a serapilheira acumulada no solo através do teste de correlação de Pearson.

A respiração microbiana do solo foi determinada pelo método descrito por Grisi (1978), por meio da quantificação do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) liberado no processo de respiração microbiana durante 7 dias de incubação. O peso do solo seco foi determinado pelo método tradicional através de secagem em estufa, na qual a amostra foi mantida em temperatura entre 105°C e 110°C, até peso constante.

Das amostras coletadas retirou-se o equivalente a 50 g de solo que foram previamente peneirados e colocados em copos plásticos. Estes foram transferidos para recipientes de vidro com tampa rosqueável contendo 15 mL de água destilada para manutenção da umidade. Também, recipientes plásticos (tipo filme fotográfico) contendo 10 mL de KOH (0,5 N) foram transferidos para os frascos de vidro. Como controle (branco) foram montados dois recipientes apenas com KOH, sem o solo. Os frascos foram fechados e vedados com parafilme, e incubados por 7 dias. Após o período de incubação, o conteúdo dos recipientes contendo KOH foi transferido para frascos de *Erlenmeyer* para o procedimento de titulação.

A quantificação do CO<sub>2</sub> foi feita adicionando ao KOH duas gotas de fenolftaleína (1%), tornando a coloração rosa e titulando com HCl 0,1 N até a viragem para incolor, anotando o quantidade de HCl gasta. Em seguida, foram adicionadas duas gotas de alaranjado

de metila (0,1%) tornando a coloração amarelada e novamente titulou-se com HCl até a viragem para salmão, anotando-se a quantidade de HCl gasta.

Os valores de HCl gasto foram aplicados na seguinte fórmula:

$$\text{mg CO}_2 = (\text{VAM amostra} - \text{VF amostra}) - (\text{VAM branco} - \text{VF branco}) \times 5,866,$$

Onde:

**VAM**= volume gasto de HCl na titulação com alaranjado de metila

**VF**= volume gasto de HCl na titulação com fenolftaleína

**5,866** = normalidade do HCl x Equivalente grama do  $\text{CO}_2 \times 2 \times \frac{3}{4}$

Os resultados foram expressos em:  $\text{mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$  e foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

### 3.11 Isolamento e identificação de fungos filamentosos

A diluição usada para o isolamento de fungos em placa de Petri e a concentração do antibiótico utilizada no meio de cultura suficiente para inibir completamente o aparecimento de bactérias foi estabelecida por Costa (2011) para este mesmo sistema agroflorestal.

O isolamento de fungos filamentosos foi realizado segundo a técnica de Clark (1965), no qual 25g de solo foram adicionados a 225 mL de água destilada esterilizada. Posteriormente foram feitas diluições seriadas de 1:10 até a diluição de  $10^{-3}$ . Desta foi retirado 1mL e inoculado em meio de cultura Ágar Sabouraud (AS) (g/L de água destilada: 40 dextrose, 10 peptona, 15 ágar) com pH ajustado em 5.5, acrescido de cloranfenicol (170mg/mL) e rosa de bengala (0,05g/L). O experimento foi realizado em triplicada. As placas foram incubadas a  $27^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  em condições de laboratório por no máximo 10 dias.

Após crescimento das colônias, a densidade de fungos foi determinada por meio de contagem direta em placa e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo (UFC/g de solo). Foi calculada a média das UFC contadas nas triplicatas de placas por ponto e com os resultados foram calculadas as médias, para cada coleta, das UFC entre os 10 pontos amostrados. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi realizado o teste de correlação de Pearson entre a densidade de fungos e a precipitação pluviométrica mensal. Os valores de precipitação do município de Abreu e Lima, Pernambuco, foram obtidos no site da Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC, 2014).

Posteriormente, foi realizada uma triagem em cada placa, onde foram observadas as características morfológicas das colônias e características dos esporos (tamanho, ornamentação, forma). Dos fungos que apresentavam características iguais, crescidos na mesma placa, foi selecionado apenas um para ser repicado para meio de cultura AS com cloranfenicol (170mg/mL) até a obtenção das colônias axênicas. Estas foram armazenadas em geladeira a 4°C até a completa identificação.

Para identificação, as colônias que estavam em geladeira foram repicadas para meio específico e mantidas em temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) para crescimento da colônia. O tempo de crescimento variou de acordo com a espécie. No processo de identificação, foram observadas características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas somáticas e reprodutivas). Para o estudo dos aspectos microscópicos foi realizado o cultivo sob lamínula, em que lamínulas (18x18 mm) previamente esterilizadas são colocadas sobre o meio de cultura sólido em Placa de Petri e o fungo é inoculado ao redor dessas lamínulas. As placas foram mantidas em temperatura ambiente ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por aproximadamente sete dias. Em seguida, as lamínulas do cultivo foram retiradas, invertidas e colocadas sobre lâminas de vidro, contendo uma gota de corante Azul de Amann. Para identificação foi consultada literatura específica (RAPER; THOM, 1949; RIFAI, 1969; ELLIS, 1971, 1976; RAPER; FENELL, 1977; CARMICHAEL et al., 1980; SUTTON, 1980; PITT, 1988, 1991; DOMSCH et. al., 2007; SAMSON; FRISVAD, 2004).

Para estimular a esporulação fúngica, algumas técnicas recomendadas pela Micoteca URM foram utilizadas, entre elas: exposição à luz UV (exposição de 1min. e 2min. do inóculo e da colônia com cinco dias de crescimento); incubação no escuro; uso de diferentes meios de cultura: Ágar Extrato de Malte (g/L de água destilada: extrato de malte 20, peptona 1, dextrose 20 e ágar 16); Ágar água (g/L de água destilada: ágar 16); Ágar tomate (suco de tomate 50ml, água destilada 50mL e ágar 16 g), Czapek (g/L de água destilada: Nitrato de Sódio 3, Fosfato de Potássio 1, Sulfato de Magnésio 0.5, Cloreto de Potássio 0.5, Sulfato de Ferro 0.01, Sacarose 30 e Agar 16; BDA (g/L de água destilada: Batata 170, Dextrose 20 e Agar 16).

A identificação foi baseada em literatura especializada, e contou com o auxílio de profissionais da Micoteca URM do Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em Recife, Pernambuco, Brasil.

### 3.12 Análise da diversidade de fungos filamentosos de solo

A partir da identificação das espécies de fungos presentes no solo de sistema agroflorestal foram determinados os seguintes índices ecológicos:

#### Diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ )

O índice Shannon-Wiener ( $H'$ ) foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$H' = - \sum p_i (\log p_i)$$

Onde:  $p_i = n_i/N$ ;  $N$  = número total de indivíduos amostrados;  $n_i$  = número de indivíduos amostrados do grupo taxonômico  $i$ ;  $\ln$  = logaritmo neperiano (SHANNON; WEAVER, 1949). O termo indivíduo representa as unidades formadoras de colônias (UFC) obtidas no isolamento de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal.

#### Equitabilidade de Pielou ( $J'$ ).

A equitabilidade de Pielou ( $J$ ) foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

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

Onde:  $H'$  máximo é a diversidade máxima possível que pode ser observada se todas as espécies de fungos filamentosos apresentarem igual abundância.  $H'$  máximo =  $\log S$ , onde:  $S$  = número total de espécies de fungos amostradas (PIELOU, 1977). O índice de equitabilidade de Pielou varia de 0 (menor uniformidade) a 1 (maior equitabilidade).

#### Dominância de Berger-Parker ( $d$ )

A Dominância de Berger-Parker foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$d = \frac{N_{\max}}{N_T}$$

Onde:  $N_{\max}$  é o número de UFC da espécie mais abundante e  $N_T$  é o número total de UFC na amostra.

Os índices de Diversidade de Shannon-Wiener ( $H$ ), Equitabilidade de Pielou ( $e$ ) e Dominância de Berger-Parker foram calculados utilizando o programa PAST 2.17c (HAMMER et al., 2013).

## Riqueza de Espécies

A riqueza de espécie consiste no número total de espécies (S) de fungos filamentosos em uma unidade amostral.

### 3.12.1 Estimativa de riqueza

Para estimar a máxima riqueza de espécies de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal foram aplicados os seguintes índices:

**Jackknife 1ª Ordem ( $S_{Jack1}$ )** é a função do número de espécies que ocorre em uma e somente uma amostra, as quais são denominadas espécies únicas. É dado pela fórmula:  $S_{Jack1} = S_{obs} + L(a-1/a)$ , onde  $S_{obs}$  = número total de espécies observadas em todas as amostras;  $L$  = número de espécies que ocorrem só em uma amostra (espécies únicas);  $a$  = número de amostras.

**Jackknife 2ª Ordem ( $S_{Jack2}$ )** é a função do número de espécies que ocorre em uma amostra (únicas), bem como do número de espécies que ocorre em duas amostras (duplicatas) (COLWELL; CODDINGTON, 1994). É dado pela fórmula:  $S_{Jack2} = S_{obs} + [L(2a-3/a) - D(a-2)^2/a(a-1)]$ , onde  $S_{obs}$  = número total de espécies observadas em todas as amostras;  $L$  = número de espécies que ocorre só em uma amostra (únicas);  $D$  = número de espécies que ocorre só em duas amostras (duplicatas);  $a$  = número de amostras.

Os estimadores foram calculados com auxílio do programa EstimateS 9.10 Colwell (2013). Foram calculados intervalos de confiança de 95% associados aos valores estimados.

### 3.12.2 Modelos de abundância de espécies

Para identificar a estrutura da comunidade, foram testados modelos hipotéticos de distribuição de abundância das espécies (geométrico, série logarítmica, lognormal) utilizando-se o logaritmo na base 10 ( $\log_{10}$ ). O teste de Quiquadrado ( $\chi^2$ ) foi aplicado para testar a significância da distribuição das abundâncias das espécies em cada modelo, onde um valor abaixo do nível de probabilidade de 95% ( $P < 0,05$ ) indica a ausência de ajuste ao modelo. O ajuste foi calculado utilizando o programa PAST 2.17c (HAMMER et al., 2013).

### 3.13 Análise da estrutura das comunidades fúngicas em solo de sistema agroflorestal

#### 3.13.1 Extração do DNA total do solo

O acesso à comunidade de fungos independentemente do isolamento e cultivo foi feito pela técnica de PCR-DGGE, na qual as amostras compostas de solo tiveram o DNA total extraído de acordo com Griffiths et al. (2000). Assim, 0,5 g de solo foram colocados em tubos de microcentrífuga ao qual foram adicionados 500 µl de tampão CTAB (*hexadecyltrimethylammonium bromide*), 500 µl de fenol-cloroformio-álcool isoamílico (25:24:1 v/v/v, pH 8) e 0,5 g de pérolas de vidro. O tampão de extração CTAB foi preparado misturando-se volumes iguais de CTAB a 10% (peso/vol) dissolvido em NaCl 0,7 M com tampão fosfato de potássio 240 mM, pH 8,0, resultando em tampão fosfato 120 mM com 5% CTAB e pH 8.

Os tubos foram levados ao homogeneizador *FastPrep®* e agitados a velocidade de 5,5 m/s por 30 seg, para lise mecânica das células, posteriormente, a suspensão foi resfriada em gelo por 1 min e centrifugada a 14.000 rpm por 5 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de microcentrifuga de 1,5 ml e adicionado de igual volume de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), homogeneizado e centrifugado por 5 min.

O DNA extraído foi precipitado com a adição de acetato de sódio 3M (0,1 v) e isopropanol (0,6 v), em banho de gelo, por 2 h. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 14.000 rpm por 10 min, o sobrenadante completamente removido e o pélete lavado com 0,5 mL de etanol 70%. O DNA foi dissolvido em 30µL de água ultra pura esterilizada e armazenado em freezer a -20°C até sua utilização.

A extração do DNA total do solo foi confirmada e quantificada por eletroforese em gel de agarose 1,0 % em tampão TAE 1x.

#### 3.13.2. Amplificação do rDNA 18S por PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

O DNA do solo foi amplificado pela reação de polimerização em cadeia (PCR) usando um par de *primers* (iniciadores) (Tabela 2) para amplificar a região 18S do rDNA de fungos, gerando fragmentos de aproximadamente 350 pares de bases (pb).

**Tabela 1:** *Primers* usados para amplificar a região 18S rDNA de fungos de solo.

| Primer | *Sequência                                                                                             | Referência          |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| GCFung | 5'- <u>CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG</u><br><u>CCC CCG CCC CAT TCC CCG TTA CCC GTT G</u> -3' | MAY et al. (2001)   |
| NS1    | 5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCT C-3'                                                                        | WHITE et al. (1990) |

\* Letras sublinhadas representam as 40 bases de nucleotídeos que compõe o *GC clamp*, bases necessárias para a electroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE).

A solução de reação de PCR foi preparada utilizando 12,5µL do *Kit Top Taq Master Mix* (Quiagen®), 0,5µL dos iniciadores GCFung e NS1, 25ng de DNA e completou-se com água ultra pura esterilizada para um volume final de 25µL. Para o sucesso da amplificação do DNA fez-se necessário a diluição das amostras em água ultra pura na concentração 1:50.

A amplificação foi conduzida em termociclador programado para uma desnaturação inicial por 8 min a 95°C, seguida de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 60°C e 1 min a 72°C; após os ciclos, uma extensão final de 10 min a 72 °C. O produto da PCR foi verificado, juntamente com marcador de peso molecular 1 kb (*Fermentas*), em gel de agarose 1%, corado com *GelRed* e fotodocumentado em luz Ultra Violeta (UV).

### 3.13.3. Eletroforese em gel com gradiente desnaturante – DGGE

Os produtos de PCR fúngicos foram separados em gel de acrilamida a 6% com gradiente desnaturante variando de 20 a 30%. O gel foi preparado utilizando duas soluções desnaturantes com volumes proporcionais, sendo a primeira solução com 3 ml de solução acrilamida 40% (v/v); 0,4 ml de 50 x TAE, 1,6 ml de solução de formamida e 1,68 g de uréia, completando 20 ml com água deionizada. Assim, a solução final ficou com 6% (peso/v) de solução acrilamida com 20% de desnaturante e a segunda solução com 3 ml de solução acrilamida 40% (v/v); 0,4 ml de 50 x TAE, 2,4 ml de solução de formamida e 2,52 g de uréia. A solução foi completada com água deionizada para 20 ml. Assim, a solução final ficou com 6% (peso/v) de solução acrilamida com 30% de desnaturante.

O gel foi vertido verticalmente entre duas placas de vidro previamente limpas com álcool e separadas por dois espaçadores de 1 mm. Imediatamente antes da montagem do gel, 200µl de solução de persulfato de amônio 0,1% (peso/v) e 20µl de TEMED (*Tetramethylethylenediamine*) foram adicionados a cada 20 ml de solução, como agentes polimerizantes. Por último, foi acoplado o pente para formação dos poços. Os géis foram mantidos em geladeira a 4°C por 16 h para completa polimerização (MALOSSO et al., 2006).

As placas contendo o gel foram colocadas em um suporte apropriado e levado à cuba de DGGE. Na cuba foram colocados 7 L de água deionizada e 140 ml de TAE 50x. Após a temperatura atingir 60°C, 25 µL de cada produto de PCR foi aplicado no gel juntamente com 7 µL de tampão de corrida (azul de bromofenol 0,05%, sacarose 20%, 0,05 mM de EDTA, xilenocianol 5%). A eletroforese foi realizada a 60°C, com voltagem de 200 V, durante aproximadamente 4 h. Em seguida, o gel foi retirado da cuba e corado com *SYBR Green I Nucleic Acid Gel Stain* (Invitrogen).

As imagens obtidas das bandas foram analisadas no software Quantity One (*Quantity One Quantitation Software* versão 4.4.0, *The Discovery Series*, BioRad). A partir de variáveis binárias geradas pelo *Quantity One*, foi realizado o cálculo de similaridade com o coeficiente DICE (Sorensen) e construído o dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA utilizando o programa PAST 1.7 (HAMMER et al., 2013).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Dinâmica de serapilheira e respiração microbiana de solo em sistema agroflorestal

#### Produção de serapilheira

A produção total de serapilheira foi de 8.077 kg.ha<sup>-1</sup> no primeiro ano (agosto de 2011 a julho de 2012), 8.486 kg.ha<sup>-1</sup> no segundo ano (agosto de 2012 a julho de 2013) e 8.586 kg.ha<sup>-1</sup> terceiro ano (agosto de 2013 a julho de 2014), não apresentando diferença estatística entre os anos de avaliação. A produção de serapilheira no sistema agroflorestal corresponde à faixa de produção de florestas tropicais, listadas por Brown e Lugo (1982), entre 1.000 e 15.300 kg.ha<sup>-1</sup>. Em recente revisão Zhang et al. (2014) indicam que a produção média para florestas tropicais é de 7.000 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup>. Resultados semelhantes foram encontrados na Bacia Amazônica Brasileira por Sanches *et al.* (2008); na Mata Atlântica por Sousa-Neto et al. (2011) e em floresta tropical de encosta na Costa Rica por Celentano et al. (2010).

O grande aporte de serapilheira e nutrientes aos solos dos SAFs é produto da alta diversidade vegetal, incluindo seu componente arbóreo. O dossel formado pela diversidade de espécies vegetais proporciona cobertura do solo através da deposição de camada densa de matéria orgânica, gerada continuamente pela queda de folhas e ramos das diferentes culturas, contribuindo para conservar o solo e manter sua fertilidade e produtividade.

Em sistema agroflorestal, a presença da serapilheira protege o solo contra exposição direta à radiação solar e flutuações de temperatura e de umidade que poderiam prejudicar o estabelecimento das culturas, acarretando sérios problemas de manejo, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais. Também é um banco natural de grande diversidade de sementes e abriga inúmeras espécies de microrganismos que atuam diretamente nos processos de decomposição e incorporação do material fornecendo nutrientes ao solo (SCHUMACHER et al., 2004; JOSE, 2009). Este processo é essencial para garantir a fertilidade do solo, uma vez que o sistema agroflorestal estudado não utiliza fertilizantes agrícolas.

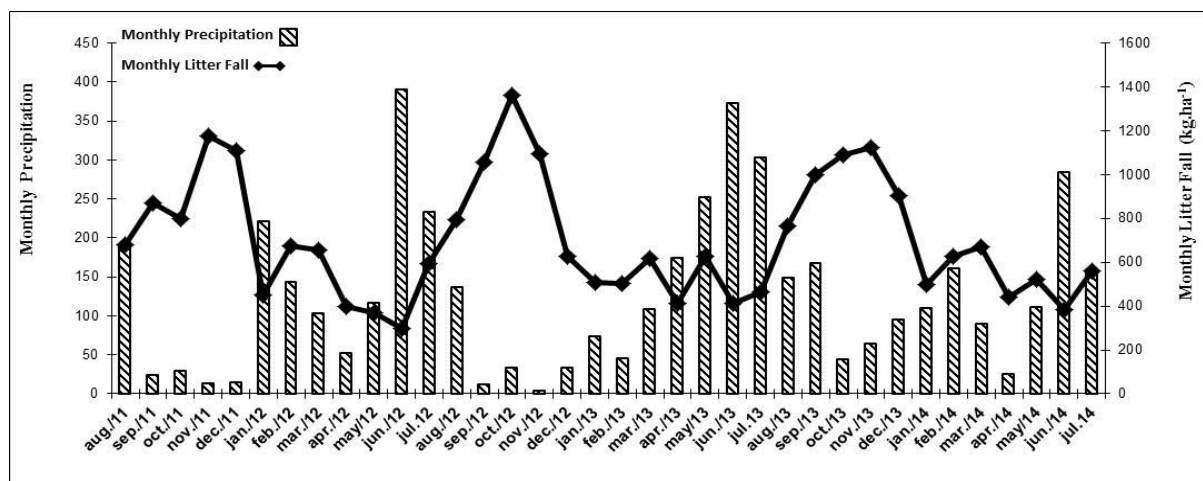
O sistema agroflorestal apresentou produção anual de serapilheira superior aos encontrados em diferentes fitofisionomias do bioma da Mata Atlântica, podendo indicar que o sistema agroflorestal tende a se comportar como uma floresta nativa quanto ao aporte de serapilheira. Estudos em Floresta Ombrófila Densa estimaram produção anual de serapilheira de 8.600 kg ha<sup>-1</sup> no nordeste do estado brasileiro de Sergipe (WHITE et al. 2013) e Sousa-Neto et al. (2011) encontraram variação na produção de serapilheira de acordo com a altitude em que as áreas de Mata Atlântica no litoral de São Paulo se encontravam em relação ao nível

do mar (100m, 400m e 1000m), respectivamente, 8.400 kg ha<sup>-1</sup>, 7.400 kg ha<sup>-1</sup> e 5.500 kg ha<sup>-1</sup>. Em Floresta Ombrófila Mista na costa do nordeste do estado do Paraná, a produção de serapilheira foi estimada em 6.400 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup> (SCHEER, 2009) e no estado do Rio Grande do Sul, Backes et al. (2005) estimaram 10.306 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup>. Segundo Scheer (2009), florestas tropicais e subtropicais, como a maioria das formações de Floresta Ombrófila Densa e Mista, apresentam solos com baixa fertilidade e é devido ao eficiente processo de ciclagem de nutrientes que ocorre nas camadas mais superficiais do solo que sua produtividade é garantida.

Comparando estudos de produção de serapilheira em sistemas agroflorestais implantados em Florestas Tropicais brasileiras, os resultados se diferenciam. Martius et al. (2004) avaliaram a sustentabilidade dos sistemas agroflorestais na Amazônia a partir da dinâmica e decomposição da serapilheira. A produção de serapilheira foi medida em quatro áreas na Amazônia central: uma floresta primária, floresta secundária (13 anos), e duas áreas de sistema de policultivo. A produção média anual de serapilheira em floresta primária (imperturbável) foi 8.400 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup>, semelhante a uma das áreas de policultivo (8.300 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup>), porém menor que a floresta secundária (7.400 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup>) e no segundo local de policultura (6.500 kg ha<sup>-1</sup> a<sup>-1</sup>). Corrêa et al. (2006) avaliaram a produção anual de serapilheira de uma agrofloresta multiestratificada (espécies frutíferas e florestais) e encontraram uma produção de 4.020 kg ha<sup>-1</sup>, resultados inferiores aos valores observados por Arato et al. (2003) em sistema agroflorestal com 10 anos de implementação para recuperação de áreas degradadas, em que foi estimada a produção anual de serapilheira em 10.165 kg ha<sup>-1</sup>.

A variação da produção de serapilheira nos diferentes estudos pode estar relacionada com o tipo de solo, clima, composição e idade da comunidade vegetal (MARTIUS et al., 2004). Cada espécie de planta possui características específicas, tais como fisiologia, estrutura e arranjo das folhas, teor de clorofila e distribuição de carboidratos, influenciando a composição e qualidade da serapilheira.

A produção de serapilheira foi ocorreu durante todo o ano, com variações mensais de deposição (Figura 4).



**Figura 4:** Precipitação mensal acumulada (mm) no município de Abreu e Lima – PE e aporte mensal de serapilheira ( $\text{kg.ha}^{-1}$ ) em sistema agroflorestal.

Fonte: Phelipe Oller, 2015.

A deposição mensal de serapilheira apresenta comportamento influenciado pela precipitação pluviométrica mensal. Zhang et al. (2014), indicaram que a precipitação e radiação solar foram fatores limitantes para a regulação da produção de serapilheira em florestas tropicais. Os dados demonstram duas estações bem definidas, de estiagem e de chuva, variando a quantidade de meses que compõem cada estação, podendo apresentar períodos mais longos de estiagem ou chuvosos (Figura 4). No período de avaliação, junho de 2012 apresentou a maior precipitação e a menor deposição de serapilheira, e outubro apresentou a maior deposição de serapilheira e baixo índice pluviométrico.

A deposição de serapilheira apresentou correlação moderada negativa ( $r = -61$ ) com a precipitação pluviométrica, indicando que o decréscimo da pluviosidade acarreta aumento da deposição da serapilheira. Assim, a produção mensal de serapilheira está diretamente relacionada com a precipitação. Os períodos de estiagem foram caracterizados pela maior produção de serapilheira, ou seja, com a redução das chuvas ocorre diminuição da disponibilidade de água no solo, acarretando estresse hídrico às espécies vegetais do sistema agroflorestal que, em resposta, aumentam a queda das folhas para diminuir a superfície de transpiração (VALENTINI et al., 2008; ZHANG et al., 2014). Para as florestas tropicais, as maiores produções de serapilheira foram encontradas principalmente na primavera ou no inverno, o que corresponde à estação seca (VITAL et al., 2004; DAWOE et al., 2010; ZHANG et al., 2014).

A menor produção de serapilheira detectada no período chuvoso pode estar ligada a fatores fisiológicos da planta. O brotamento sazonal das folhas é uma característica das florestas tropicais, e é promovida quando há um aumento na disponibilidade de água e luz

(MORELLATO et al., 2000). Com a ocorrência das chuvas, há aumento da disponibilidade de água, que induz a planta ao brotamento de novas folhas (renovação foliar), fazendo com que a planta potencialize o processo de fotossíntese, produzindo e acumulando reservas nutritivas para desencadear todos os fenômenos cíclicos das árvores nesse período de maior suprimento hídrico.

Os resultados encontrados para o sistema agroflorestal no presente estudo são muito semelhantes aos encontrados por Espig et al. (2009) em área relativamente próxima à deste estudo, com vegetação remanescente de Mata Atlântica preservada na formação de Floresta Ombrófila Densa, localizada na região metropolitana do Recife, PE. O total anual de material aportado foi de  $10.070 \text{ kg.ha}^{-1}$ , com maior deposição nos períodos de estiagem, com picos de deposição nos meses de outubro e setembro, sendo a deposição de serapilheira inversamente relacionada ( $r = -0,55$ ) à precipitação média anual. Assim, pode-se inferir que o sistema agroflorestal comporta-se como uma floresta de Mata Atlântica, quanto ao aporte de serapilheira.

### **Frações da serapilheira aportada**

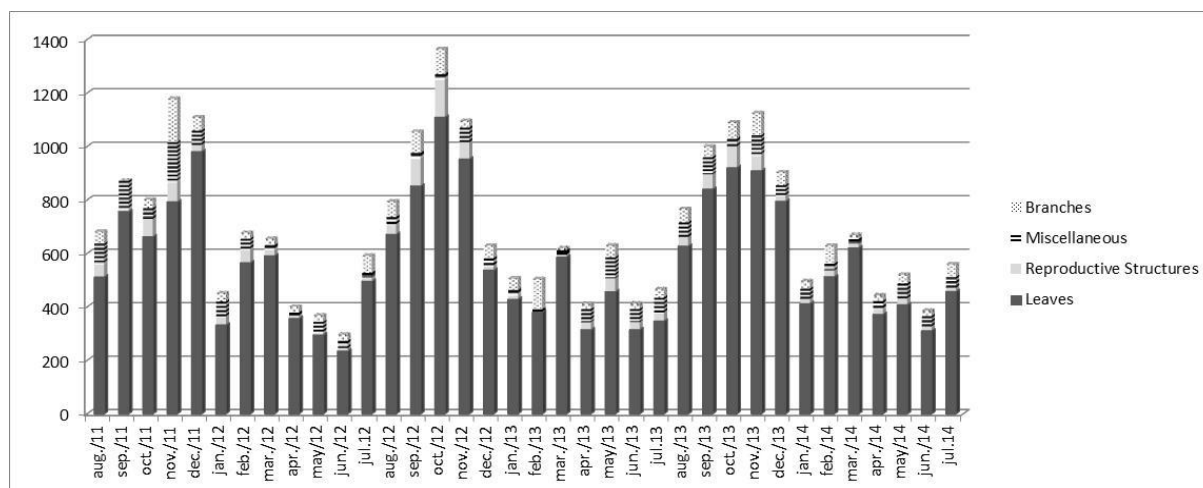
A fração foliar foi predominante em ambos os anos de amostragem, sendo  $6.569 \text{ kg.ha}^{-1}$  (81.3%),  $6.946 \text{ kg.ha}^{-1}$  (81.8%) e  $7.180 \text{ kg.ha}^{-1}$  (83.6 %) nos respectivos anos. Esses percentuais são maiores do que os sugeridos por Zhang et al. (2014) (63-73%) para os ecossistemas florestais e por Chave et al. (2010) (71%) para as florestas tropicais na América do Sul.

A produção desta fração depende principalmente das espécies e idade das árvores (ZIMMERMANN et al., 2002), mas a maioria dos estudos descrevem a fração foliar como principal componente, que pode contribuir para 70% ou mais dos materiais adicionados à serapilheira (ARATO et al., 2003; MARTIUS et al., 2004; VITAL et al., 2004; DAWOE et al., 2010). Esse percentual está acima do valor de 70% sugerido para ecossistemas florestais (MEENTMEYER et al., 1982). Segundo Zimmermann et al. (2002), a produção desta fração depende, principalmente, das espécies e da idade das árvores. Por ser seu maior componente, a produção mensal da fração foliar acompanha, basicamente, o padrão de produção mensal da serapilheira total. O material foliar é o mais expressivo em quantidade de nutrientes, o que evidencia a importância dessa fração na devolução de nutrientes para o solo (CHAVE et al., 2010; DAWOE et al., 2010).

A diversidade de espécies de plantas dentro de um sistema agroflorestal é determinante para a formação da serapilheira já que diferentes coberturas vegetais presentes

no solo podem formar serapilheira em quantidade e qualidades diferentes, o que resulta em diferenças na fertilidade do solo. Assim, a organização homogênea ou heterogênea do sistema florestal ou agroflorestal confere à serapilheira uma diversidade de resíduos que determina uma maior diversidade de nichos para a comunidade de decompositores e ela associados. A produção de serapilheira é um processo dinâmico e contínuo no decorrer do ano, podendo apresentar variações, constituindo a principal fonte de nutrientes para a manutenção da vegetação, sendo que a quantidade produzida nas diferentes épocas depende do tipo de vegetação considerada.

As folhas constituíram a fração mais representativa na formação da serapilheira, seguidas por ramos, estruturas reprodutivas e miscelânea. Em todos os meses avaliados, a fração foliar ficou acima de 70%, alcançando valor máximo (93%) em outubro de 2012 (Figura 5). Os resultados mostram que ocorre queda contínua de folhas ao longo do ano, porém, com variações na quantidade, apresentando maiores volumes nas estações de estiagem. Uma das características da floresta tropical e subtropical úmida é a produção de serapilheira, com máximos valores na estação seca, sendo a folha a fração mais importante da serapilheira.



**Figura 5:** Aporte mensal de frações de serapilheira (kg.ha<sup>-1</sup>) em área de Sistema Agroflorestal. Primeiro ano (agosto de 2011 a julho de 2012), Segundo ano (agosto de 2012 a julho de 2013) e terceiro ano (agosto de 2013 a julho de 2014).

Fonte: Phelipe Oller, 2015.

### Serapilheira acumulada no solo e respiração microbiana

A média de serapilheira acumulada foi de 5.407 kg.ha<sup>-1</sup> para o primeiro ano (agosto/2011 a maio/2012), 6.375 kg.ha<sup>-1</sup> para o segundo ano (agosto/2012 a maio/2013) e de 6.051 para o terceiro ano (agosto/2013 a maio/2014) de avaliação, não apresentando diferença

estatística (Tukey 5%) entre os anos. A variação encontrada na serapilheira acumulada entre os anos de pesquisa é uma resposta à pluviosidade. Em anos que o período de estiagem é mais prolongado as plantas do sistema aumentam a queda das folhas para diminuir a perda de água, além de atrasar o período de brotamento de folhas novas que é influenciado pela maior disponibilidade de água.

Os valores de serapilheira acumulada no sistema agroflorestal estão de acordo com os relatados por Vital et al. (2004) em Floresta Semidecídua no Sudeste do Brasil ( $6.227,3 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) e em floresta de transição Amazônia-Cerrado no norte de Mato Grosso ( $6.494 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) (SILVA et al., 2009). A serapilheira acumulada sobre o solo tem importante papel na dinâmica dos ecossistemas, uma vez que corresponde ao reservatório de nutrientes e matéria orgânica e as transformações que ocorrem neste compartimento são responsáveis pela maior parcela do fluxo de energia dentro de ecossistemas (MACEDO et al., 2008).

No sistema solo-planta, os nutrientes estão em estado de transferência contínuo e dinâmico em que as plantas retiram os nutrientes do solo e os usam nos seus processos metabólicos, retornando-os para o solo naturalmente como serapilheira em sistema sem manejo, ou através de podas em alguns sistemas agroflorestais. A importância desse ciclo que se forma entre a comunidade de organismos e o seu meio é evidenciada nas florestas que se mantêm em áreas com solos de baixa fertilidade (SCHUMACHER et al., 2003; MARTIUS et al., 2004).

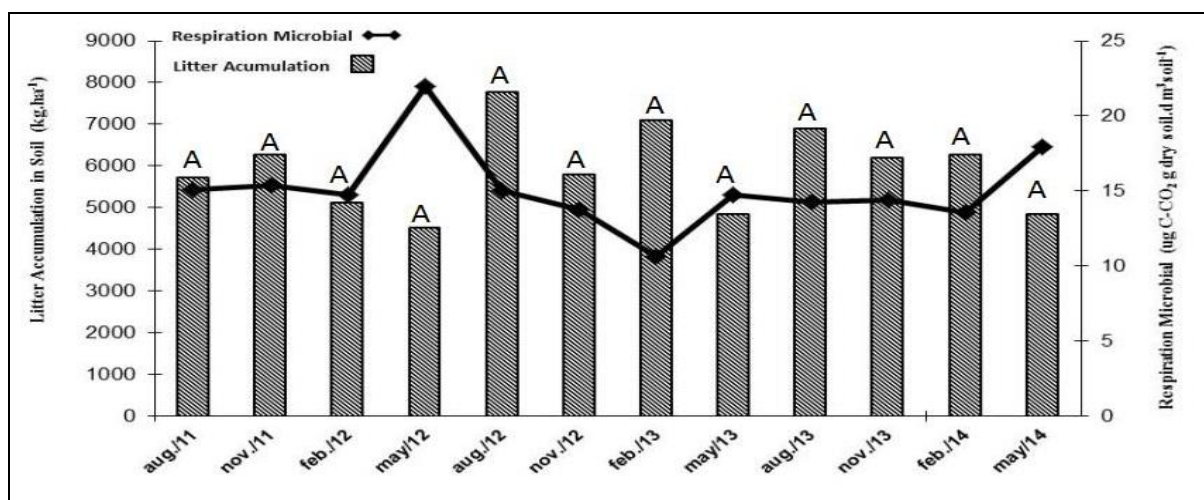
A acumulação de serapilheira é variável de acordo com o ecossistema considerado e seu estágio sucessional. Em sistemas agroflorestais também ocorre variação na acumulação de serapilheira, apresentando diferentes resultados de acordo com a organização do sistema em estrutura espacial, componentes vegetais e função dos diferentes componentes dentro do sistema. Arato et al. (2003) estimaram a deposição anual de serapilheira em  $8.700 \text{ kg.ha}^{-1}$  em sistema agroflorestal composto por espécies arbóreas nativas e frutíferas em Minas Gerais. Corrêa et al. (2006), em sistema agroflorestal multirestratificado, observaram diferença na deposição de serapilheira entre as coberturas vegetais estudadas (espécies frutíferas e madeireira).

A serapilheira acumulada, ao longo dos três anos de experimento, não apresentou diferença estatística entre as épocas de coleta (Figura 6), demonstrando que o sistema apresenta cobertura de serapilheira permanente sobre o solo. Os valores constantes de serapilheira acumulada ao longo do tempo mostram que o sistema é menos suscetível aos regimes de precipitação pluviométrica que monoculturas, que não apresentam cobertura vegetal, principalmente em períodos mais longos de estiagem. A presença da serapilheira auxilia na

atenuação da influência desses fatores, devido ao aumento da capacidade de retenção de água e diminuição da evaporação.

A cobertura permanente de serapilheira no solo é proveniente de diversas espécies vegetais que compõe o sistema, e influenciou diretamente na constância da taxa de respiração microbiana, que não apresentou diferença entre os períodos avaliados (Figura 6). Segundo Grayston et al. (2001), solos com teor elevado de matéria orgânica tendem a manter a população microbiana mais estável ao longo de um período, provavelmente em decorrência da riqueza de nichos ecológicos e heterogeneidade das fontes de carbono.

A taxa de respiração microbiana apresentou correlação moderada negativa ( $r = -63$ ) com a serapilheira acumulada no solo, indicando que o aumento da atividade microbiana acarreta diminuição da serapilheira acumulada no solo, mostrado no período de coleta de maio de 2012. Neste período ocorreu a menor quantidade de serapilheira acumulada ( $4.515 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) e maior valor de respiração microbiana ( $21,97 \text{ ug C-CO}_2 \text{ g solo seco}^{-1}.\text{dm}^3\text{solo}^{-1}$ ), indicando alta atividade microbiana (Figura 6).



**Figura 6:** Serapilheira acumulada sobre o solo de Sistema Agroflorestal e respiração microbiana. As médias de serapilheira acumulada seguidas pela mesma letra (barra) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Phelipe Oller, 2015.

O aumento da atividade microbiana é decorrente de maior variedade de detritos (restos de folhas e raízes) com diferentes características químicas disponíveis aos microrganismos decompositores. Uma vez que os grupos de microrganismos variam em suas capacidades bioquímicas de explorar diferentes recursos, maior variedade de detritos permite melhor aproveitamento dos diferentes recursos por uma ampla gama de microrganismos, acelerando o processo de liberação de nutrientes para o solo (COTRUFO et al., 2013).

Os dados mostram também que a respiração do solo foi maior nos meses de seca e menor nos meses de chuva, apresentando correlação positiva moderada (0.61) com a umidade do solo. As variações sazonais na disponibilidade de água (umidade do solo e precipitação) tem uma profunda influência sobre a produção de serapilheira, respiração do solo e decomposição da serapilheira (VALENTINI et al., 2008). Sayer et al., (2011) indicam que a decomposição microbiana e a respiração heterotrófica são inibidas em condições de seca, reduzindo a liberação C do solo.

Porém, as árvores respondem ao estresse hídrico aumentando a queda de folhas, resultando em um aumento de serapilheira acumulada no solo, como visto neste estudo. Com o aumento das chuvas e retorno das condições favoráveis, a serapilheira que foi acumulada, pode ocasionar o efeito de “*priming*” positivo, o qual ocorre quando a adição de material orgânico estimula atividade da microbiota do solo que, além de consumir todo o carbono adicionado, também pode degradar a matéria orgânica nativa do solo (KUZYAKOV, 2010; SAYER, et al., 2011). Estes resultados indicam que a estrutura da comunidade microbiana do solo sofre alterações em resposta a serapilheira.

### **Decomposição da serapilheira**

O acompanhamento da produção de serapilheira e de sua acumulação sobre o solo permitiu calcular a taxa de decomposição (constante K) que, indiretamente, representa a velocidade com que os nutrientes do compartimento da serapilheira estocada sobre o solo tornam-se disponíveis (OLSON, 1963). As taxas de decomposição da serapilheira estimadas para o sistema agroflorestal para o primeiro, segundo e terceiro ano de avaliação foi respectivamente, 1.49, 1.33 e 1.42. As taxas de decomposição são consideradas altas, características de florestas tropicais, que apresentam valores maiores que 1 (VITAL et al., 2004; SILVA et al., 2009). Resultados próximos ou superiores a de florestas naturais indicam que o sistema de manejo agrícola estudado é eficiente quanto à decomposição da serapilheira, disponibilizando mais rapidamente os nutrientes no solo, contribuindo para a fertilidade do solo.

As taxas de decomposição encontradas no presente estudo estão de acordo com Monteiro e Gama-Rodrigues (2004), os quais afirmam que o acúmulo de serapilheira na superfície do solo é mediado pela quantidade de material que cai da parte aérea das plantas e por sua taxa de decomposição. Este processo, segundo Scheer (2009), é essencial para a manutenção da fertilidade do solo e produtividade do ecossistema, uma vez que a

decomposição da serapilheira resulta no acúmulo de matéria orgânica do solo e liberação de nutrientes para a o solo, que podem ser utilizados pela vegetação.

Os tempos necessários para decomposição de 50% ( $t_{0,5}$ ) e 95% ( $t_{0,95}$ ) foram, respectivamente, de 0,46 anos (169 dias) e 2,01 anos (723 dias) para o primeiro ano, de 0,52 anos (187 dias) e 2,25 anos (811 dias) para o segundo e de 0,49 anos (176 dias) e 2,11 anos (761 dias) para o terceiro ano. A maior taxa de decomposição de serapilheira no primeiro ano foi devida à menor deposição e acumulação de serapilheira sobre o solo. As taxas de decomposição da serapilheira são consideradas rápidas se os coeficientes de decomposição, na condição de equilíbrio dinâmico (K), são maiores que 1,0 (OLSON, 1963). A manutenção dos sistemas naturais ou agroflorestais depende da ciclagem de nutrientes via produção e decomposição da serapilheira, sendo essencial na restauração da fertilidade do solo em áreas em início de sucessão (SCORIZA et al., 2012). Portanto, a velocidade com que os nutrientes presentes no solo vão ser reciclados vai influenciar diretamente na produtividade primária do sistema.

O sistema agroflorestal apresenta aporte e acumulação de serapilheira dentro da faixa esperada para florestas tropicais e particularmente semelhante ao de Mata Atlântica. O aporte é influenciado pela precipitação pluviométrica, sendo maior na estação de seca. A massa de serapilheira acumulada sobre solo tem pouca variação ao longo do ano, assim como a atividade microbiana (respiração). A taxa de decomposição da serapilheira é alta, portanto, o sistema agroflorestal apresenta dinâmica de serapilheira semelhante à de Mata Atlântica.

## **4.2 Riqueza e abundância da microbiota de solo de sistema agroflorestal**

### **Composição da microbiota em solo de sistema agroflorestal**

A densidade de fungos para o primeiro e segundo ano foi, respectivamente, de 1793 e 1766 UFC x  $10^3$  g solo<sup>-1</sup>, não apresentando diferença significativa. A densidade fúngica apresentou forte correlação positiva ( $r = 85$ ) com a precipitação pluviométrica, indicando que o aumento da pluviosidade acarreta aumento na densidade de fungos nos solos estudados. Este aumento pode estar relacionado aos teores de umidade, uma vez que Souto et al. (2008) verificaram mudanças nas populações de fungos conforme os níveis de umidade do solo, indicando que a umidade do solo regula as flutuações da população de fungos.

Estes gêneros de fungos são frequentemente relatados em ecossistemas de solo (CAVALCANTI et al., 2006; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2006; TANGJANG et al., 2009).

A predominância de *Penicillium* pode estar diretamente relacionada ao antagonismo destas espécies em relação a outras por antibiose, pela produção de metabólitos secundários ou indiretamente pela competição nutricional, maior produção de esporos e maior capacidade de crescimento em meio de cultura (DOMSCH et. al., 2007). A maior frequência de isolados do gênero *Penicillium* também pode contribuir para a fertilidade do solo já que espécies desse gênero apresentam capacidade de solubilização de fosfato (PANDEY et al., 2008; DEEPA et al., 2010).

O gênero *Aspergillus* é considerado cosmopolita e frequentemente isolado de solo de regiões tropicais. Klich (2002), estudando a biogeografia de *Aspergillus* em amostras de solo e serapilheira, observou que não há nenhum padrão distinto de ocorrência de espécies de *Aspergillus* em zonas úmidas, floresta, ou em solos cultivados.

Espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* são produtoras de diversas enzimas hidrolíticas, o que confere a capacidade de utilizar diferentes substratos no solo, principalmente materiais lignocelulósicos, e por esta razão, predominam sobre as outras populações fúngicas que usam apenas substratos específicos e/ou lábeis (SETÄLÄ; MCLEAN, 2004; GOMEZ et al., 2007). Silva et al. (2011) isolaram fungos de solo de sistema agroflorestal no município de Bom Jardim, PE e avaliaram a produção enzimática destes fungos e constataram que as espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* foram mais eficientes na degradação da celulose quando comparados a outras enzimas testadas. 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.

Em sistemas agroflorestais é comum a presença de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., sendo isoladas em vinhedos agroecológicos (RECH et al., 2013), culturas integradas de amora, framboesa e mirtilo (PINOTTI et al., 2011) e pomares de *Citrus* (PRADE et al., 2007) no sul do Brasil, assim como em solo de agrofloresta multiestratificada no estado de Pernambuco (COSTA et al., 2012).

As espécies de fungos identificadas neste trabalho são consideradas habitantes comuns do solo, no entanto, a distribuição da comunidade fúngica do solo está relacionada com o clima, vegetação e qualidade da matéria orgânica do solo (DOMSCH et. al., 2007). As espécies mais representativas foram, respectivamente, *Talaromyces verruculosus* (n.syn. *Penicilium verruculosum*); *Purpureocillium lilacinum* (n.syn. *Paecilomyces lilacinus*); *Trichoderma harzianum*; *Aspergillus brasiliensis* (n.syn. *A. niger*); *Penicillium simplicissimum*; *Penicillium aurantiogriseum*; *Trichoderma viride*; *Talaromyces pinophilus* (n. syn. *Penicillium pinophilum*) (Tabela 2).

**Tabela 2:** Espécies de fungos filamentosos isolados de solo de sistema agroflorestal. Primeiro ano (agosto de 2011 a julho de 2012) e segundo ano (agosto de 2012 a julho de 2013). Números expressos em Unidades Formadoras de Colônia x 10<sup>3</sup> g solo<sup>-1</sup>.

| Espécies/Frequência de Ocorrência                                    | Primeiro Ano | Segundo Ano | Total  |
|----------------------------------------------------------------------|--------------|-------------|--------|
| <i>Absidia cylindrospora</i> Hagem (1908)                            | 0,33         | 0,00        | 0,33   |
| <i>Acremonium curvulum</i> Gams (1971)                               | 8,33         | 23,00       | 31,33  |
| <i>Acremonium recifei</i> (Leão & Lôbo) Gams (1971)                  | 12,67        | 67,00       | 79,67  |
| <i>Acremonium terricola</i> Gams (1971)                              | 5,00         | 2,00        | 7,00   |
| <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> (Link) Zare, Gams & Schroers (2004)  | 4,00         | 2,00        | 6,00   |
| <i>Aspergillus aculeatus</i> Lizuka (1953)                           | 59,33        | 28,00       | 87,33  |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> Varga, Frisvad & Samson (2007)       | 106,00       | 108,00      | 214,00 |
| <i>Aspergillus deflectus</i> Fennell & Raper (1955)                  | 0,33         | 0,00        | 0,33   |
| <i>Aspergillus flavus</i> Link (1809)                                | 7,33         | 7,33        | 14,67  |
| <i>Aspergillus funiculosus</i> G. Sm. (1956)                         | 3,00         | 0,33        | 3,33   |
| <i>Aspergillus japonicus</i> Saito (1906)                            | 32,67        | 73,67       | 106,33 |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> Wilh. (1877)                            | 4,00         | 1,67        | 5,67   |
| <i>Aspergillus parasiticus</i> Speare (1912)                         | 0,00         | 31,67       | 31,67  |
| <i>Aspergillus puniceus</i> Kwon-Chung & Fennell (1965)              | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Aspergillus repens</i> (Corda) Sacc., Michelia (1882)             | 0,33         | 0,00        | 0,33   |
| <i>Aspergillus sclerotiorum</i> Huber (1933)                         | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Aspergillus sulphureus</i> Desm. (1831)                           | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Aspergillus tamarii</i> Kita (1913)                               | 10,00        | 0,00        | 10,00  |
| <i>Aspergillus terreus</i> Thom (1918)                               | 11,00        | 9,67        | 20,67  |
| <i>Aspergillus terricola</i> Marchal & Marchal (1893)                | 2,00         | 0,00        | 2,00   |
| <i>Aspergillus unguis</i> (Émile-Weill & Gaudin) Thom & Raper (1934) | 0,33         | 0,00        | 0,33   |
| <i>Aspergillus ustus</i> (Bainier) Thom & Church (1926)              | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) Arnaud (1918)   | 1,67         | 0,00        | 1,67   |
| <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch (1926)                   | 4,67         | 0,33        | 5,00   |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) Vries (1952)           | 8,00         | 13,33       | 21,33  |
| <i>Clonostachys candelabrum</i> (Bonord.) Schroers (2001)            | 7,33         | 2,00        | 9,33   |
| <i>Clonostachys rosea</i> (Preuss) Mussat (1900)                     | 2,67         | 3,00        | 5,67   |
| <i>Cunninghamella elegans</i> Lendn. (1905)                          | 8,33         | 28,33       | 36,67  |
| <i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn (1933)                     | 4,33         | 9,33        | 13,67  |
| <i>Curvularia senegalensis</i> (Speg.) Subram. (1956)                | 0,67         | 3,00        | 3,67   |
| <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. (1824)                            | 14,33        | 10,67       | 25,00  |
| <i>Fusarium redolens</i> Wollenw. (1913)                             | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Geotrichum candidum</i> Link (1809)                               | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Gibberella baccata</i> (Wallr.) Sacc., Michelia (1878)            | 2,00         | 2,00        | 4,00   |
| <i>Gliomastix murorum</i> (Corda) Hughes (1958)                      | 8,67         | 5,00        | 13,67  |
| <i>Gongronella butleri</i> (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco (1955)      | 44,67        | 52,00       | 96,67  |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i> (Sacc.) Hughes (1952)                 | 0,00         | 0,67        | 0,67   |
| <i>Haematonectria haematococca</i> Samuels & Rossman (1999)          | 14,33        | 8,33        | 22,67  |
| <i>Humicola fuscoatra</i> Traaen (1914)                              | 12,00        | 10,67       | 22,67  |
| <i>Ilyonectria radicola</i> (Rossman & Samuels (2011)                | 1,67         | 2,33        | 4,00   |
| <i>Lecanicillium fungicola</i> (Preuss) Zare & Gams (2008)           | 0,67         | 0,00        | 0,67   |
| <i>Metacordyceps chlamydosporia</i> Hywel-Jones & Spatafora (2007)   | 19,00        | 2,00        | 21,00  |
| <i>Metarhizium anisopliae</i> Sorokín (1883)                         | 14,33        | 3,67        | 18,00  |

|                                                                         |        |        |        |
|-------------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|
| <i>Microascus brevicaulis</i> Abbott (1998)                             | 2,67   | 0,00   | 2,67   |
| <i>Monographella nivalis</i> (Schaffnit) Müll, (1977)                   | 4,67   | 12,67  | 17,33  |
| <i>Myrothecium verrucaria</i> (Alb. & Schwein.) Ditmar (1813)           | 2,33   | 4,33   | 6,66   |
| <i>Paecilomyces marquandii</i> (Masse) Hughes (1951)                    | 4,00   | 0,00   | 4,00   |
| <i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx (1901)                       | 55,67  | 93,00  | 148,67 |
| <i>Penicillium bilaiae</i> Chalab. (1950)                               | 3,67   | 0,00   | 3,67   |
| <i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx (1901)                        | 22,00  | 20,33  | 42,33  |
| <i>Penicillium canescens</i> Sopp (1912)                                | 0,33   | 0,00   | 0,33   |
| <i>Penicillium citreonigrum</i> Dierckx (1901)                          | 19,00  | 24,67  | 43,67  |
| <i>Penicillium citrinum</i> Thom (1910)                                 | 35,33  | 21,33  | 56,67  |
| <i>Penicillium commune</i> Thom (1910)                                  | 20,33  | 0,00   | 20,33  |
| <i>Penicillium corylophilum</i> Dierckx (1901)                          | 3,00   | 14,33  | 17,33  |
| <i>Penicillium decumbens</i> Thom (1910)                                | 8,00   | 4,00   | 12,00  |
| <i>Penicillium dierckxii</i> Biourge (1923)                             | 0,00   | 1,33   | 1,33   |
| <i>Penicillium dipodomyis</i> Banke, Frisvad & Rosend (2000)            | 7,33   | 0,00   | 7,33   |
| <i>Penicillium echinulatum</i> (Dale 1923)                              | 0,67   | 0,00   | 0,67   |
| <i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling (1911)                     | 17,67  | 12,00  | 29,67  |
| <i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx (1901)                          | 5,00   | 4,67   | 9,67   |
| <i>Penicillium implicatum</i> Biourge (1923)                            | 12,33  | 5,00   | 17,33  |
| <i>Penicillium janczewskii</i> Zalesky (1927)                           | 12,33  | 4,00   | 16,33  |
| <i>Penicillium janthinellum</i> Biourge (1923)                          | 41,33  | 21,33  | 62,67  |
| <i>Penicillium javanicum</i> Beyma, Verh. Akad. Wet.(1929)              | 0,00   | 4,33   | 4,33   |
| <i>Penicillium lividum</i> Westling (1911)                              | 0,67   | 0,00   | 0,67   |
| <i>Penicillium melinii</i> Thom (1930)                                  | 33,67  | 18,33  | 52,00  |
| <i>Penicillium miczynskii</i> Zalesky (1927)                            | 14,00  | 7,33   | 21,33  |
| <i>Penicillium parvum</i> Raper & Fennell (1948)                        | 0,00   | 4,67   | 4,67   |
| <i>Penicillium restrictum</i> Gilman & Abbott (1927)                    | 27,67  | 7,00   | 34,67  |
| <i>Penicillium sclerotiorum</i> Beyma (1937)                            | 7,00   | 0,00   | 7,00   |
| <i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom (1930)                  | 60,33  | 132,00 | 192,33 |
| <i>Penicillium solitum</i> Westling (1911)                              | 36,66  | 42,67  | 79,33  |
| <i>Penicillium turbatum</i> Westling (1911)                             | 32,00  | 20,33  | 52,33  |
| <i>Penicillium vinaceum</i> Gilman & Abbott (1927)                      | 0,00   | 2,00   | 2,00   |
| <i>Penicillium vulpinum</i> (Cooke & Masse) Seifert & Samson (1986)     | 0,00   | 6,33   | 6,33   |
| <i>Penicillium waksmanii</i> Zalesky (1927)                             | 12,67  | 6,67   | 19,33  |
| <i>Pestalotiopsis maculans</i> (Corda) Nag Raj (1985)                   | 11,67  | 11,00  | 22,67  |
| <i>Phialophora cyclaminis</i> Beyma (1942)                              | 9,67   | 0,00   | 9,67   |
| <i>Phoma eupyrena</i> Sacc. (1879)                                      | 0,00   | 1,67   | 1,67   |
| <i>Pseudallescheria boydii</i> McGinnis, Padhye & Ajello (1982)         | 7,33   | 19,67  | 27,00  |
| <i>Pseudocochliobolus pallescens</i> Tsuda & Ueyama (1983)              | 0,00   | 14,33  | 14,33  |
| <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Hywel-Jones & Samson (2011)     | 127,67 | 126,33 | 254,00 |
| <i>Sarocladium strictum</i> (Gams) Summerb. (2011)                      | 11,00  | 6,67   | 17,67  |
| <i>Scopulariopsis asperula</i> (Sacc.) Hughes (1958)                    | 2,00   | 0,00   | 2,00   |
| <i>Sordaria fimicola</i> (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not. (1863)       | 0,00   | 0,67   | 0,67   |
| <i>Sporothrix</i> sp. Hektoen & Perkins (1901)                          | 5,67   | 6,00   | 11,67  |
| <i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.) Hughes 1958                     | 0,33   | 0,33   | 0,67   |
| <i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex Schröt. (1886)                 | 7,33   | 0,00   | 7,33   |
| <i>Talaromyces duclauxii</i> (Delacr.) Samson, Frisvad & Seifert (2011) | 0,00   | 5,67   | 5,67   |

|                                                                       |             |             |             |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>Talaromyces funiculosus</i> Samson, Frisvad & Seifert (2011)       | 0,00        | 0,67        | 0,67        |
| <i>Talaromyces islandicus</i> (Sopp) Samson, Frisvad & Seifert (2011) | 0,33        | 0,00        | 0,33        |
| <i>Talaromyces minioluteus</i> Samson, Frisvad & Seifert (2011)       | 15,00       | 4,67        | 19,67       |
| <i>Talaromyces pinophilus</i> Samson, Frisvad & Seifert (2011)        | 64,33       | 64,00       | 128,33      |
| <i>Talaromyces purpureogenus</i> Varga & Frisvad (2011)               | 50,33       | 46,67       | 97,00       |
| <i>Talaromyces varians</i> (G. Sm.) Samson, Yilmaz & Frisvad (2011)   | 0,00        | 0,33        | 0,33        |
| <i>Talaromyces verruculosus</i> Samson, Frisvad & Seifert (2011)      | 150,33      | 140,00      | 290,33      |
| <i>Talaromyces wortmannii</i> Benj. (1955)                            | 3,67        | 0,00        | 3,67        |
| <i>Tiarosporella paludosa</i> (Sacc. & Fiori) Höhn. (1924)            | 0,00        | 0,33        | 0,33        |
| <i>Torula caligans</i> (Bat. & Upadhyay) Ellis (1971)                 | 0,33        | 0,00        | 0,33        |
| <i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai (1969)                           | 30,67       | 40,33       | 71,00       |
| <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai (1969)                             | 113,33      | 133,00      | 246,33      |
| <i>Trichoderma koningii</i> Oudem. (1902)                             | 33,00       | 29,00       | 62,00       |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai (1969)                       | 0,67        | 0,00        | 0,67        |
| <i>Trichoderma piluliferum</i> Webster & Rifai (1969)                 | 35,00       | 33,67       | 68,67       |
| <i>Trichoderma pseudokoningii</i> Rifai (1969)                        | 1,00        | 0,00        | 1,00        |
| <i>Trichoderma virens</i> (Mill., Giddens & Foster) Arx (1987)        | 26,33       | 0,00        | 26,33       |
| <i>Trichoderma viride</i> Pers. (1794)                                | 83,67       | 48,00       | 131,67      |
| <i>Trichosporon sporotrichoides</i> Oorschot & de Hoog 1981           | 60,00       | 27,00       | 87,00       |
| <i>Wiesneriomyces laurinus</i> (Tassi) Kirk (1984)                    | 0,00        | 0,67        | 0,67        |
| <b>Total</b>                                                          | <b>1793</b> | <b>1766</b> | <b>3559</b> |

Das espécies identificadas, a maioria pode ser considerada como sapróbias, porém, algumas também são biocontroladoras de doenças e pragas. A adição regular e o manejo adequado de fontes de matéria orgânica, como ocorre em sistema agroflorestal, estimula a atividade de decompositores primários, principalmente os fungos, que também são potenciais antagonistas de patógenos de planta (outros fungos, insetos, nematoides e bactérias) (JANVIER et al., 2007; RAAIJMAKERS et al., 2009).

O solo de Sistema Agroflorestal abriga espécies de *Trichoderma*. De acordo Vinale et al. (2008), *Trichoderma* spp, produzem diversas enzimas hidrolíticas, atuam no controle de patógenos de plantas (fungos, bactérias e nematoides), são decompositores da matéria orgânica e podem promover o crescimento de plantas.

A grande ocorrência do gênero *Trichoderma* no solo pode estar também relacionada com a grande diversidade de espécies vegetais encontradas nesta área. Estudos demonstraram que *T. harzianum* e *T. viride* são conhecidas por apresentarem alta afinidade com a rizosfera e se desenvolvem melhor quando há uma abundância de raízes saudáveis (YEDIDIA, 1999). Estas espécies de fungos são atraídas por exsudatos liberados pelas raízes.

A espécie *Purpureocillium lilacinum* (n.syn. *Paecilomyces lilacinus*) apresentou alta densidade, sendo a segunda espécie mais abundante no sistema agroflorestal (Tabela 2). No

Brasil, existem registros de *P. lilacinum* em diferentes tipos de solo (CAVALCANTI et al., 2006; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2006). Frequentemente, tem sido isolado a partir de diferentes hospedeiros ou de substratos provenientes de várias localidades, com distribuição cosmopolita e maior frequência em solos agricultáveis (DOMSCH et. al., 2007) nos quais tem se mostrado efetivo no biocontrole de espécies de *Meloidogyne* (nematoides) (KHAN et al., 2006; CADIOLI et al., 2009). O efeito controlador caracteriza-se pela penetração do fungo nos ovos dos nematoides, destruindo o embrião, podendo exercer forte pressão na capacidade reprodutiva das fêmeas que são colonizadas e, posteriormente, mortas (CADIOLI et al., 2009).

Foram isolados os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e, com maior frequência, *Metarhizium anisopliae* (Tabela 2). A presença destes fungos pode auxiliar no controle de pragas que poderiam causar sérios danos ao sistema. *M. anisopliae* infecta mais de 300 espécies de insetos de diferentes ordens, é amplamente distribuído na natureza e pode ser encontrado em solos como sapróbio e também colonizando a rizosfera de plantas, onde pode auxiliar no controle de insetos de solo (TIAGO et al., 2014).

A ocorrência de espécies com potencial para controle de organismos que poderiam prejudicar e causar danos às culturas inseridas no sistema agroflorestal está diretamente relacionada com o manejo adotado e a diversidade de espécies vegetais que visa o equilíbrio biológico. Segundo Gliessmann (2005), o manejo do solo e das culturas pode influenciar as dinâmicas populacionais dos organismos do solo. Rotações complexas, com várias culturas, grandes quantidades de distintos tipos de resíduos de culturas, esterco e cultivos de cobertura são práticas que promovem uma população biologicamente diversificada de organismos do solo. O fato de não se observar severidade de doenças e pragas dentro do sistema agroflorestal estudado pode influenciar na produção e qualidade dos cultivos, estando relacionado com o desenvolvimento favorável de fungos antagonistas, os quais atuam nos processos de decomposição da matéria orgânica do solo e contribuem para a supressividade dos solos.

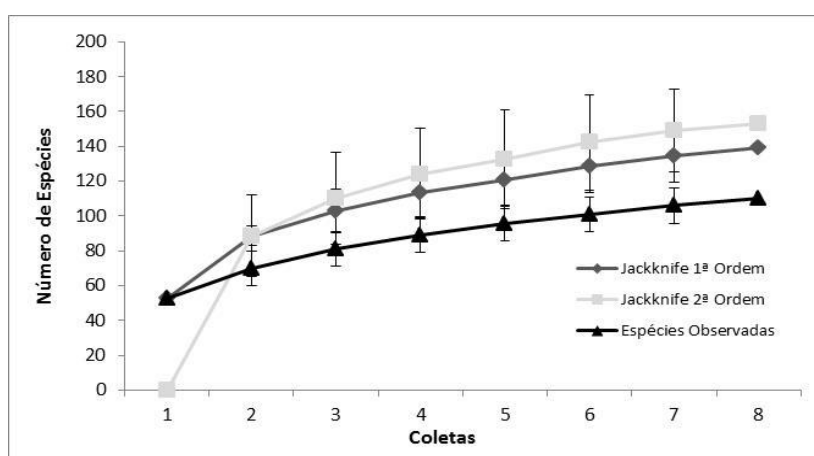
### **Índices ecológicos de fungos filamentosos de solo**

A partir dos dados obtidos no isolamento de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal, foram estimados os índices ecológicos. A riqueza observada foi de 95 espécies no primeiro ano e de 78 espécies no segundo ano (Tabela 3). No total foram identificadas 110 espécies, com 63 espécies comuns entre os dois anos de avaliação.

O número de espécies encontradas neste estudo é maior do que o encontrado por Tangjang et al. (2009), que isolaram 22 espécies de fungos filamentosos de solo em três

áreas sob sistema agroflorestal localizadas no nordeste indiano. No Brasil, Prade et al. (2007) avaliaram a comunidade de fungos de solo em SAF de *Citrus sinensis* durante três anos (8 coletas) e isolaram 28 espécies de fungos.

O número total de espécies de fungos registrado foi expressivo, entretanto a curva de rarefação produzida a partir das espécies observadas não atingiu a assíntota. As curvas de acúmulo de espécies produzidas pelos estimadores de riqueza *Jackknife 1* e *Jackknife 2*, também mostram que ainda existe a tendência de aumento da riqueza de espécies de fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal (Figura 7).



**Figura 7:** Riqueza observada e curvas de acúmulo de espécies produzidas pelos estimadores de riqueza *Jackknife 1* e *Jackknife 2* para fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

A riqueza encontrada em campo ( $n = 110$  espécies) representou 79% e 72% da riqueza estimada pelos índices de *Jackknife 1* e *Jackknife 2*. Quando a curva de acúmulo atinge a assíntota, ou seja, atinge um ponto em que o aumento do esforço de coleta não resulta no aumento do número de espécies, significa que praticamente toda riqueza da área foi amostrada. No entanto, a estabilização da curva é bastante difícil, principalmente em regiões tropicais, nas quais muitas espécies raras costumam ser adicionadas após muitas amostragens (COLWELL; CODDINGTON, 1994).

A riqueza e a diversidade de espécies dependem da própria natureza da comunidade e do esforço amostral despendido, uma vez que o número de espécies é proporcional ao número de indivíduos amostrados. Segundo Barros (2007), em uma comunidade real, as espécies possuem diferentes contribuições, sendo impossível uma comunidade apresentar diversidade máxima, onde todas as espécies definidas possuem importância igual. Em um ambiente natural, a maioria das espécies é rara, com poucos indivíduos, enquanto poucas espécies são

dominantes ou comuns (altos valores de importância), corroborando os resultados achados neste trabalho para fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal (Tabela 2).

Até o momento não foram encontrados trabalhos publicados que estimam a riqueza de fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal ou outros tipos de solo (manejado ou não) no Brasil. No entanto, resultados semelhantes foram verificados para fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Pereira et al. (2014) avaliando a riqueza de FMAs em áreas de Mata Atlântica sob diferentes tipos de manejo conseguiu recuperar 70 à 77% das espécies presentes nas áreas. Silva et al. (2012), com o esforço amostral aplicado, conseguiu avaliar 70 à 80% das espécies de FMAs estimadas para as áreas de restinga e duna no nordeste brasileiro.

O índice de diversidade de fungos apresentou diferença significativa entre os anos de pesquisa, sendo maior no primeiro ano (Tabela 3). No entanto, ambos os valores são considerados índices altos, próximos aos encontrados para ambientes de floresta (COSTA, et al., 2012).

**Tabela 3:** Riqueza de Espécies, Diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ), Equitabilidade de Pielou ( $e$ ) e Dominância de Berger-Parker de fungos filamentosos isolados em solo de sistema agroflorestal.

| Índices                 | <sup>1</sup> Primeiro Ano | <sup>1</sup> Segundo Ano | <sup>2</sup> Boot $p(eq)$ |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Riqueza (S)             | 95                        | 78                       | 0,001                     |
| Diversidade ( $H'$ )    | 3,77                      | 3,58                     | 0,001                     |
| Equitabilidade ( $J'$ ) | 0,82                      | 0,82                     | 0,278                     |
| Dominância (d)          | 0,08                      | 0,08                     | 0,528                     |

<sup>1</sup> Primeiro ano (agosto de 2011 a julho de 2012) e segundo ano (agosto de 2012 a julho de 2013).

<sup>2</sup> Boot  $p(eq)$ : probabilidade de ter igual diversidade (*probability of having equal diversities*). Se  $p(eq)$  for maior que 0.05, não há diferença significativa.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

A diversidade de fungos encontrada no solo do sistema agroflorestal reflete o equilíbrio dentro deste sistema, uma vez que apresentam grande abundância de espécies vegetais que são responsáveis pelo fornecimento e composição dos resíduos vegetais sobre a superfície do solo, proporcionando maior riqueza e abundância de fungos que utilizam este material como uma das principais fontes de energia (RAAIJMAKERS et al., 2009; JOSE, 2012). Desta forma, uma diversidade elevada de espécies contribui para o uso mais eficiente dos recursos disponíveis (BERG et al., 2001).

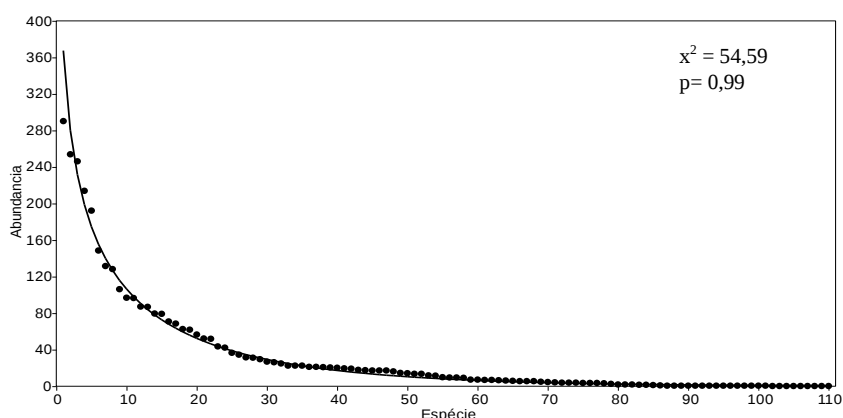
A distribuição dos isolados entre as espécies detectadas apresentou boa uniformidade, com índices de equitabilidade de 0,82 e baixa dominância de espécies para ambos os anos de pesquisa (Tabela 3). Solos de sistemas agroflorestais apresentam teores significativos de matéria orgânica, devido a constante deposição de folhas que formam a serapilheira (MAIA et al., 2007), assim, tendem a manter as populações fúngicas mais estáveis ao longo do ano,

provavelmente, em decorrência da riqueza de nichos ecológicos formados pela heterogeneidade das fontes de carbono.

### Abundância de fungos filamentosos de solo

Dentre os três modelos de abundância testados o que melhor descreveu a comunidade de fungos de solo de sistema agroflorestal foi o modelo série logarítmica (Figura 8). Este modelo indica padrões de sobreposição de nicho e uma uniformidade intermediária, ou seja, comunidades com concentração de dominância (poucas espécies se apoderam da maioria dos recursos) e demais espécies dividem equilibradamente o restante dos recursos (BARROS, 2007).

Foi verificado que aproximadamente 10% das espécies identificadas são dominantes, com muitas espécies raras. Resultado semelhante foi encontrado por Polishook et al. (1996), no qual examinaram as distribuições de abundância de microfungos isolados de serapilheira em decomposição em uma floresta tropical em Porto Rico e encontraram comunidades de fungos compostas principalmente de espécies raras, seguido de apenas algumas moderadamente abundante e poucos táxons super abundantes.



**Figura 8:** Modelo de distribuição da abundância de espécie série logarítmica ( $x^2=54,59$   $p=0,99$ ) ajustado à comunidade de fungos filamentosos isolados de solo de sistema agroflorestal.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

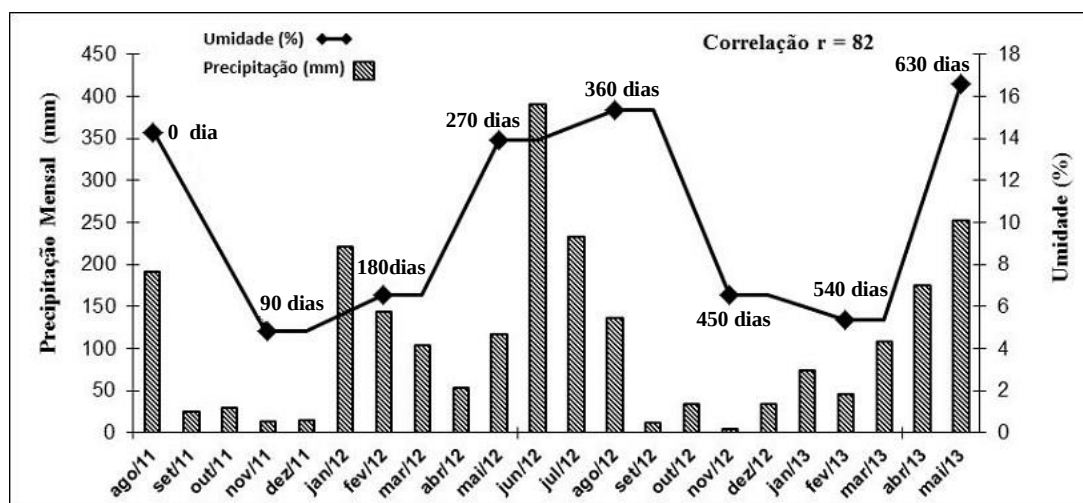
No caso da série logarítmica, a distribuição seria resultante de espécies chegando num habitat a intervalos de tempo aleatórios, ou seja, antes que a espécie anterior ocupe totalmente a fração de nicho potencial, sendo a maioria das espécies raras (ZACK; WILLIG, 2004). Possivelmente, no sistema agroflorestal, um dos fatores que regula a ativação ou inibição de espécies de fungos é adição ao solo do material fornecido constantemente pelas plantas do sistema, devido à heterogeneidade das fontes de carbono.

Assim, conclui-se que comunidade de fungos filamentosos em solo do Sistema Agroflorestal é constituída principalmente por fungos sapróbios que atuam na decomposição da matéria orgânica, além de espécies com potencial para a promoção do crescimento vegetal e controle de doenças e pragas. A diversidade e a riqueza de fungos filamentosos encontradas em solo de sistema agroflorestal são altas, possivelmente influenciadas pela diversidade vegetal. O esforço amostral foi suficiente para isolar aproximadamente 75% da comunidade de fungos filamentosos. O modelo de distribuição da abundância que melhor descreve a comunidade de fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal é série logarítmica.

#### 4.3 Decomposição da serapilheira e diversidade de fungos filamentosos em sistema agroflorestal

##### Pluviosidade e conteúdo de água no solo

A distribuição da precipitação ao longo do período de avaliação apresentou variações, com dois períodos bem definidos, chuva e estiagem, que são característicos da região da Zona da Mata de Pernambuco. Assim, quatro períodos de avaliação foram efetuados na estação de chuva (0, 180, 360, 630 dias) e quatro na estação de estiagem (90, 270, 450, 540 dias) (Figura 9).



**Figura 9:** Precipitação mensal acumulada (mm) no município de Abreu e Lima – PE e umidade do solo (%) de sistema agroflorestal. Correlação de Pearson:  $r = 82$ .

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

Com relação ao conteúdo de água no solo (umidade) ao longo do período experimental, observou-se que os valores acima de 10% foram registrados nos períodos de chuvas. Umidade apresentou forte correlação positiva ( $r = 82$ ) com a precipitação

pluviométrica, indicando que nos períodos em que ocorreram as maiores precipitações, houve tendência de aumento no conteúdo de água no solo, com decréscimos nos períodos de estiagem.

### Propriedades químicas do solo de sistema agroflorestal

A análise química do solo de sistema agroflorestal demonstrou que os teores de ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), fósforo (P), pH, potássio (K) e matéria orgânica (MO) são considerados bons para diversas culturas comerciais (CALVANCANTI, 1998) e apresentaram pouca variação ou nenhuma diferença significativa entre os períodos de avaliação (Tabela 4).

**Tabela 4:** Propriedades químicas do solo de sistema agroflorestal em diferentes períodos de coleta.

| <sup>1</sup> Propriedades Químicas do Solo de Sistema Agroflorestal |                                       |         |        |         |         |         |        |        |
|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|
| Coletas                                                             | mg dm <sup>3</sup> solo <sup>-1</sup> |         |        |         |         | pH      | *      | %      |
|                                                                     | Fe                                    | Cu      | Zn     | Mn      | P       |         |        |        |
| 0 dias                                                              | 85,76 a                               | 0,46 ab | 5,50 a | 4,75 b  | 70,00 a | 5,84 ab | 0,11 a | 2,88 a |
| 90 dias                                                             | 108,24 a                              | 0,82 a  | 4,70 a | 5,29 ab | 88,00 a | 6,07 ab | 0,12 a | 2,50 a |
| 180 dias                                                            | 111,84 a                              | 0,15 b  | 5,36 a | 6,92 ab | 88,00 a | 5,84 ab | 0,12 a | 2,38 a |
| 270 dias                                                            | 96,14 a                               | 0,09 b  | 5,30 a | 7,54 a  | 79,00 a | 6,13 a  | 0,12 a | 2,66 a |
| 360 dias                                                            | 97,40 a                               | 0,26 b  | 6,46 a | 4,51 b  | 85,00 a | 5,68 b  | 0,12 a | 2,49 a |
| 450 dias                                                            | 103,48 a                              | 0,69 a  | 6,69 a | 5,71 ab | 86,00 a | 6,26 a  | 0,12 a | 2,36 a |
| 540 dias                                                            | 107,56 a                              | 0,16 b  | 5,63 a | 6,23 ab | 83,50 a | 6,03 ab | 0,12 a | 2,64 a |
| 630 dias                                                            | 93,10 a                               | 0,09 b  | 6,64 a | 6,93 ab | 80,00 a | 6,24 a  | 0,10 a | 2,81 a |

<sup>1</sup> As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. \* ppm K = cmol<sub>c</sub> dm<sup>3</sup> x 390.

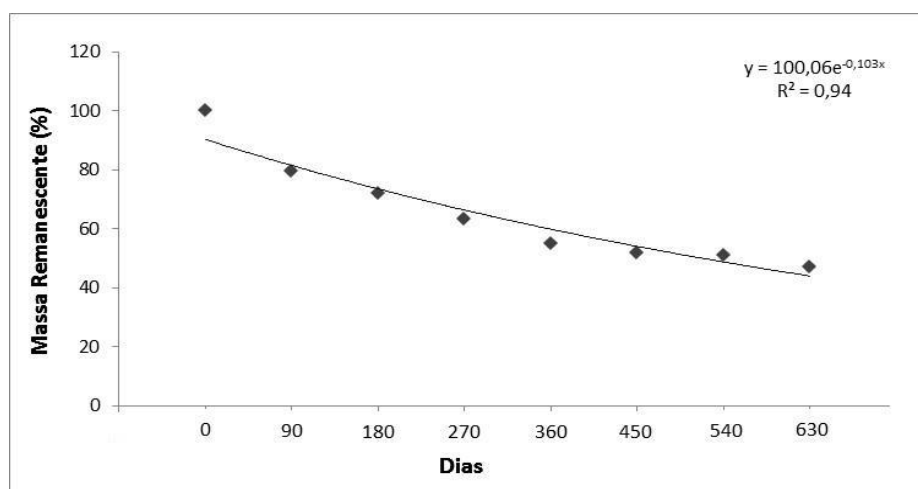
Fonte: Phelipe Oller, 2015.

A fertilidade do solo do sistema agroflorestal é atribuída, principalmente, à ciclagem de nutrientes, permanecendo com pouca variação, mesmo com as saídas de nutrientes provenientes das colheitas. Em sistema convencional de agricultura, os nutrientes do solo são perdidos por retirada e exportação pela parte colhida da planta, e também por lixiviação e erosão. Em geral, quanto maior a produtividade, maior é a retirada de nutrientes do solo, tanto através do produto colhido quanto das partes aérea e radicular das plantas. Por isto, após sucessivos cultivos, o rendimento das culturas diminui muito devido à modificação da fertilidade do solo, principalmente ao decréscimo nos teores de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio, sendo necessária a utilização de fertilizantes para garantir a produção (LUZ et al., 2002).

Além das plantas, os microrganismos também se beneficiam com os nutrientes disponíveis no solo. Em relação aos metais, estes são parte integrante dos processos vitais dos microrganismos. Alguns deles como o cobre, ferro e zinco são nutrientes essenciais e são usados como catalizadores de reações bioquímicas, estabilizadores de proteínas e mantenedores do equilíbrio osmótico da célula. O fósforo e o nitrogênio estão envolvidos na síntese de DNA e ATP (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

### Decomposição da Serapilheira

O processo de decomposição do material de serapilheira ocorreu com maior intensidade nos primeiros 90 dias após a instalação das *litterbags*, apresentando perda de massa de 20,4%. Após 360 dias, as perdas foram menores, não ultrapassando 5% nos períodos subsequentes. Após os 630 dias foram decompostos 52,84% do material das *litterbags* (Figura 10). Segundo Monteiro e Gama-Rodrigues (2004), o primeiro momento parece corresponder à liberação de compostos menos resistentes e/ou mais facilmente lixiviáveis e nas fases posteriores decorre a degradação de estruturas mais resistentes e de compostos mais estáveis e de difícil decomposição.



**Figura 10:** Massa remanescente de serapilheira em relação ao tempo de exposição das *litterbags* em sistema agroflorestal.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

O fato de o processo de decomposição ao longo do tempo seguir uma curva do tipo exponencial indica que a decomposição não é constante ao longo do tempo, uma vez que, está sujeita à influencia de diversos fatores abióticos e bióticos do ambiente, e químico-físicos do próprio material, visto que ao longo do tempo a composição e a qualidade do material se modificam (CIANCIARUSO et al., 2006).

As velocidades de decomposição foram maiores para o primeiro período de avaliação (0-90 dias;  $0,0030 \text{ g g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ) e para o segundo período (90-180 dias;  $0,0021 \text{ g g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ). Nos três últimos períodos de avaliação, a velocidade de decomposição manteve-se estável, com degradação gradativa da serapilheira sem pico de perda de massa (Tabela 5). Esse comportamento pode ser atribuído à permanência, nas sacolas, de estruturas residuais com altos teores de lignina, taninos e outros componentes que as tornam mais resistentes, dificultando a ação dos organismos decompositores que irão agir na degradação de forma mais lenta (BERG, 2000).

**Tabela 5:** Percentual cumulativo médio e velocidade de decomposição ( $K$ ) da serapilheira em cada período de coleta\*.

| Período (Dias) | % Decomposto | Desvio Padrão | Valor $K1 \text{ (g g}^{-1} \text{ dia}^{-1})$ |
|----------------|--------------|---------------|------------------------------------------------|
| 0              | 0,00         | 0,0           | 0                                              |
| 90             | 20,37        | 1,8           | 0,0030                                         |
| 180            | 27,94        | 3,4           | 0,0021                                         |
| 270            | 36,69        | 3,3           | 0,0017                                         |
| 360            | 44,95        | 4,4           | 0,0017                                         |
| 450            | 48,11        | 4,6           | 0,0015                                         |
| 540            | 49,15        | 4,6           | 0,0012                                         |
| 630            | 52,84        | 4,6           | 0,0012                                         |

\*Velocidade de decomposição entre um período de coleta e seu subsequente.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

Os valores encontrados para a constante  $k$  estão abaixo dos relatados na maioria dos trabalhos de decomposição (VITAL et al. 2004; CIANCIARUSO et al., 2006; VALENTI et al., 2008; TAPASI; KUMAR, 2010). Essa diferença pode estar relacionada principalmente ao fato de nestes trabalhos terem sido utilizadas somente folhas frescas, enquanto que no presente trabalho foi avaliada a decomposição da serapilheira total, tentando retratar o mais fielmente possível o que acontece no ambiente estudado que apresenta serapilheira constituída de todas as frações com as mais variadas composições (frações lábeis e frações estáveis que demoram mais tempo para se decompor) que favorecem e/ou inibem a ação dos microrganismos decompositores. Assim, foi constatada a lenta decomposição do material.

O tempo de meia vida da serapilheira, ou o tempo que levaria para que 50% da serapilheira fosse decomposta, foi estimado em 1,6 anos (583 dias). Apesar de mais lenta a decomposição, quando comparados a outros trabalhos, esta parece estar adequada às necessidades do sistema agroflorestal já que o solo apresentou quantidades significativas de nutrientes (Tabela 4) suprimindo as necessidades das plantas. Vale ressaltar que o sistema agroflorestal não faz uso de fertilizantes e a única fonte de nutrientes para o solo é a serapilheira. Segundo Valenti et al. (2008), a decomposição do material vegetal depositado

sobre o solo libera os nutrientes necessários às plantas, que os absorverem para produzir biomassa.

### Estrutura e diversidade de fungos filamentosos em solo de sistema agroflorestal

A densidade de fungos apresentou diferenças significativas entre os períodos de amostragem (Tabela 6). As flutuações encontradas na densidade coincidem com as variações da pluviosidade, quando períodos de maior pluviosidade apresentam maiores valores de densidade fúngica. Desta forma, verificou-se forte correlação positiva ( $r = 85$ ) da densidade com precipitação pluviométrica, indicando que o aumento da pluviosidade acarreta aumento na densidade de fungos. Segundo Gama-Rodrigues et al. (2003), a variação da pluviosidade e umidade do solo pode interferir na decomposição da serapilheira já que a velocidade da ciclagem de nutrientes está atrelada, principalmente, à atividade microbiana e da fauna edáfica do solo. Em estações chuvosas ocorre aumento da população de organismos decompositores, o que proporciona maior taxa de decomposição e transferência de nutrientes ao solo.

**Tabela 6:** Riqueza de Espécies, Densidade, Diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ), Equitabilidade de Pielo (J) e Dominância de Berger-Parker de fungos filamentos em solo de sistema agroflorestal em cada período de coleta.

| Índices Ecológicos   | Coleta 1<br>0 Dia | Coleta 2<br>90 Dias | Coleta 3<br>180 Dias | Coleta 4<br>270 Dias | Coleta 5<br>360 Dias | Coleta 6<br>450 Dias | Coleta 7<br>540 Dias | Coleta 8<br>630 Dias |
|----------------------|-------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Riqueza (S)          | 60                | 49                  | 53                   | 57                   | 53                   | 51                   | 45                   | 54                   |
| Densidade*           | 56,30 a           | 27,70 d             | 44,93 ab             | 53,20 a              | 49,07ab              | 38,50 bcd            | 34,57 cd             | 52,77 a              |
| Diversidade ( $H'$ ) | 3,60              | 3,27                | 3,41                 | 3,51                 | 3,46                 | 3,32                 | 3,27                 | 3,51                 |
| Equitabilidade (J)   | 0,88              | 0,84                | 0,86                 | 0,87                 | 0,87                 | 0,85                 | 0,86                 | 0,88                 |
| Dominância (d)       | 0,08              | 0,12                | 0,10                 | 0,09                 | 0,10                 | 0,10                 | 0,09                 | 0,08                 |

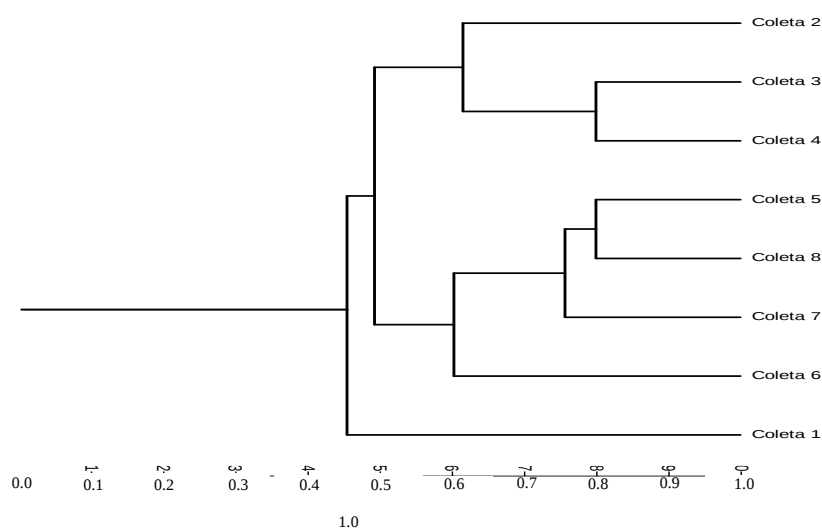
\*Densidade expressa em Unidade Formadora de Colônia  $\times 10^3$  (UFC) por grama de solo<sup>-1</sup>. As médias de densidade seguidas pela mesma letra (linha) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

A diversidade e riqueza de espécies de fungos apresentaram correlação moderada positiva com a precipitação ( $r = 64$  e  $63$ , respectivamente), demonstrando ser menos susceptível a esse fator. A riqueza de espécies foi maior no primeiro período (60), seguida do terceiro período (57) e menor no sétimo período (45) (Tabela 6). Foram identificadas 110 espécies comuns entre todos os períodos de amostragem. A caracterização taxonômica detalhada das espécies não foi objetivo deste artigo, mas é importante ressaltar que foram isoladas espécies de Basidiomycota, Ascomycota e Zygomycota, sendo *Penicillium*, *Aspergillus* e *Trichoderma* os gêneros mais representativos.

A diversidade, equitabilidade e dominância de fungos não apresentaram diferenças significativas entre um período e outro de amostragem (Tabela 6). Em geral, a distribuição dos isolados entre as espécies detectadas apresentou boa uniformidade e baixa dominância de espécies. Quanto à diversidade, todos os valores obtidos são considerados altos, próximos aos encontrados para ambientes de floresta (COSTA, et al. 2012; CRUZ et al., 2013; SHI et al., 2014). Esses resultados demonstram que a diversidade de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal permanece alta e sem variações significativas durante o processo de decomposição da serapilheira.

No entanto, a estrutura da comunidade não permanece estável e sofre mudanças durante o processo de decomposição da serapilheira, como é mostrado na Figura 11.



**Figura 11:** Dendrograma de similaridade da comunidade de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal, detectada por DGGE, em diferentes épocas. Coletas: 1 = 0 dia; 2 = 90 dias; 3 = 180 dias; 4 = 270 dias; 5 = 360 dias; 6 = 450 dias; 7 = 540 dias; 8 = 630 dias.

**Fonte:** Phelipe Oller, 2015.

A microbiota presente na primeira coleta apresentou baixa similaridade ( $< 50\%$ ) com as microbiotas encontradas nas outras épocas, mostrando a presença de um grupo diferente de espécies fúngicas. Foram formados dois grandes clados com 50% de similaridade: o primeiro compreendendo as etapas iniciais e intermediárias da decomposição da serapilheira (coletas 2, 3 e 4) e o segundo compreendendo as etapas finais (coletas 5, 6, 7 e 8). Segundo Kjølner e Struwe (2003), os fungos exibem vasta gama de adaptações para degradar compostos químicos específicos, indicando que ocorre partilha de recursos dentro do nicho e isso se reflete em padrões bem definidos de sucessão.

Hanson et al. (2008) mostraram que a riqueza e a estrutura da comunidade fúngica de solo se altera em resposta a diferentes fontes de carbono e que, em particular, diferentes

táxons de fungos atingem diferentes compostos orgânicos no microcosmo do solo, indicando partilha de nicho através do uso de recursos especializados. Esse mecanismo é importante para a manutenção da diversidade microbiana do solo nos ecossistemas. Possivelmente, a alta diversidade de fungos encontrada no solo de sistema agroflorestal contribui para sustentar processos ecológicos e manter a estabilidade deste sistema agroflorestal.

Na comunidade de fungos ocorre a partilha de recursos quando diferentes espécies possuem enzimas complementares para degradar uma variedade de polímeros que compõe a serapilheira. A visão clássica é que os chamados fungos de açúcar (*sugar fungi*) possuem capacidade limitada para degradar polímeros estruturais e, assim, são dominantes no estágio inicial de decomposição. Fungos que degradam celulose e outros polímeros da serapilheira assumem importância durante a segunda etapa, e fungos lignolíticos, especialmente os Basidiomycota, dominam a fase final (GESSNER et al., 2010).

Sistemas agroflorestais são caracterizados por apresentarem estrutura florística composta de diferentes espécies de plantas, no qual cada uma desempenha um papel determinado dentro do sistema. Algumas são usadas para produção de alimentos, outras para lenha, adubação do solo, etc. A heterogeneidade vegetal, evidenciada principalmente no componente arbóreo, é responsável pela formação da serapilheira com quantidade e qualidades diferentes, o que proporciona uma maior diversidade de nichos para a comunidade de decompositores a ela associados. Assim, solos de sistema agroflorestais com teor elevado de matéria orgânica tendem a manter a diversidade fúngica mais estável ao longo de um período, porém, com variações na função e estrutura dessa comunidade, provavelmente em decorrência da riqueza de nichos ecológicos e heterogeneidade das fontes de carbono.

Desta forma conclui-se que: o solo de sistema agroflorestal apresenta boa fertilidade, permanecendo com pouca variação dos teores de nutrientes, mesmo com as saídas provenientes das colheitas. A decomposição da serapilheira é lenta, apresentando perdas mais significativas nos três primeiros meses. A velocidade de decomposição é influenciada pela escolha do material avaliado, apresentando taxas menores para material de serapilheira quando comparadas com folhas frescas. A diversidade de fungos filamentosos de solo de sistema agroflorestal permanece alta e sem grandes variações durante o processo de decomposição da serapilheira. A estrutura da comunidade de fungos não é estável e sofre mudanças durante o processo de decomposição da serapilheira.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema agroflorestal adota estratégia de consórcio de plantas de diferentes portes e estádios sucessionais, o que favorece a produção de material vegetal que se deposita sobre o solo e forma a serapilheira e sofre processo natural de decomposição. A dinâmica da serapilheira dentro do sistema agroflorestal foi semelhante à descrita para Mata Atlântica, confirmando uma das hipóteses levantadas nesse estudo. Agroflorestas são alternativas de uso dos recursos naturais que tentam minimizar os efeitos negativos da ação antrópica, principalmente por tentarem imitar estratégias desenvolvidas pela natureza.

Neste estudo foram adotadas as duas formas mais utilizadas mundialmente para a determinação da taxa decomposição da serapilheira (constante  $k$ ), sendo: a) a relação entre o material produzido e acumulado e b) o método das *litterbags*. Os valores obtidos foram diferentes, sendo o valor obtido utilizando o primeiro método mais alto e o que mais se aproximou dos valores obtidos em estudos para floresta de Mata Atlântica.

Valores mais baixos de  $k$  foram determinados com o método de *litterbags*, indicando uma decomposição mais lenta do material. Fato este que pode ser explicado pela a escolha do material utilizado para decompôr. No presente estudo, procurou-se avaliar a decomposição da serapilheira total, sendo esta composta por todas as frações (galhos, folhas, estruturas reprodutivas, etc), com o intuito de retratar o mais fielmente possível o que acontece no ambiente estudado. A maioria dos trabalhos utilizam somente folhas frescas que, além de contribuir com maior percentual na formação da serapilheira, é a fração mais facilmente degradável no ecossistema, já que apresentam distintas características físicas, químicas e estruturais que as diferenciam da serapilheira total que é composta por frações lábeis e frações estáveis que demoram mais tempo para serem decompostas.

Independentemente da velocidade de decomposição, a serapilheira está cumprindo seu papel na fertilidade do solo. Os teores de nutrientes no solo são satisfatórios e não apresentam grandes variações. A adubação ocorre naturalmente por meio da decomposição da serapilheira, não sendo necessário o uso de insumos químicos.

Os fungos são um dos principais responsáveis pela decomposição da serapilheira. A micobiota do solo do sistema agroflorestal estudado é composta, na grande maioria, por fungos sapróbios que atuam no processo de decomposição da matéria orgânica e por algumas espécies que são potenciais antagonistas de organismos fitopatógenos, o que contribui com fertilidade do solo e a fitossanidade do sistema.

A diversidade de plantas e aporte de serapilheira estão relacionados com a riqueza e diversidade de fungos filamentosos encontrados no solo do sistema agroflorestal. Poucas variações foram observadas, e sempre foram altos os índices calculados de diversidade e riqueza de fungos do solo, refletindo na atividade constata dos microrganismos evidenciada pela evolução do CO<sub>2</sub>.

A estrutura da comunidade sofre alterações, possivelmente, em resposta a diferentes fontes de carbono que compõem a serapilheira. Espécies de fungos possuem afinidade a determinados substratos, de acordo com sua capacidade de produzir enzimas específicas para degradá-los. A utilização de diferentes substratos por diferentes espécies fúngicas indica partilha de nicho, processo importante para a manutenção da diversidade de fungos de solo.

Os princípios e benefícios observados pela dinâmica da serapilheira devem ser aplicados no desenvolvimento e manutenção de sistemas agrícolas, principalmente para a agricultura familiar. Para isso, além da preservação e introdução de árvores no sistema, é necessário adotar intensa reciclagem de resíduos e formas de manejo que os mantenham sobre o solo, procurando reproduzir estratégias que a natureza já desenvolveu há milhões de anos.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. I.; MAIA, S. M. F.; XAVIER, F. A. S.; MENDONÇA, E. S.; ARAÚJO FILHO, J. A.; OLIVEIRA, T. S. Sediment, nutrient and water losses by water erosion under agroforestry systems in the semi-arid region in northeastern Brazil. **Agroforestry systems**, n. 79, p. 277–289, 2010.
- AJAYI, O. C. User acceptability of sustainable soil fertility technologies: lessons from farmers' knowledge, attitude and practice in Southern Africa. **Journal of Sustainable Agriculture**, v. 30, n. 3, p. 21-40, 2007.
- ALEF, K. 1995. Soil Respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p. 214-219.
- ALTIERI, M. A. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. Guaíba: Editora Agropecuária, 2002.
- ALVAREZ, R.; DÍAZ, R. A.; BARBERO, N.; SANTANATOGLIA, O. J.; BLOTTA, L. Soil organic carbon, microbial biomass and CO<sub>2</sub>-C production from three tillage systems. **Soil and Tillage Research**, v. 33, n. 1, p. 17-28, 1995.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. **Microbiological Reviews**, v. 59, n. 1, p. 143–169, 1995.
- ANDERSON, I. C.; CAIRNEY, J. W. G. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. **Environmental Microbiology**, v. 6, p. 769–779, 2004.
- ANDERSON, I. C.; CAMPBELL, C. D.; PROSSER, J. I. Diversity of fungi in organic soils under a morrland – Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) gradient. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 11, p. 1121-1132, 2003.
- ANDRADE, A. G.; TAVARES, S. R. L.; COUTINHO, H. L. C. Contribuição da serapilheira para recuperação de áreas degradadas e para manutenção da sustentabilidade de sistemas agroecológicos. **EMBRAPA Informe agropecuário**, v. 24, n. 220, p. 55-63, 2003.
- ANDRADES, T. O.; GANIMI, N. R. Revolução verde e a apropriação capitalista. **CES Revista**, v. 21, p. 43-56, 2007.
- ANDRÉA, M. M.; PETTINELLI Jr, A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microrganismos de solos. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 67, n. 2, p. 223-228, 2000.
- APAC - **AGÊNCIA PERNAMBUCANA DE ÁGUA E CLIMA**. Disponível em: <http://www.apac.pe.gov.br/meteorologia/monitoramento-pluvio.php>. Acesso em: 01 sep. 2014.

ARATO, H. D.; MARTINS, S. V.; FERRARI, S. H. S. Produção e decomposição de serapilheira em um sistema agroflorestal implantado para recuperação de área degradada em Viçosa-MG. **Revista Árvore**, v. 27, p. 715-721, 2003.

ARAUJO, A. S. F.; LEITE, L. F. C.; IWATA, B. F.; LIRA JR, M. A.; XAVIER, G. R.; FIGUEIREDO, M. V. B. Microbiological process in agroforestry systems: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, p. 215–226, 2012.

ATKINS, S. D.; CLARK, I. M. Fungal molecular diagnostics: a mini review. **Journal Applied Genetics**, v. 45, n. 1, p. 3-15, 2004.

BACKES, A.; PRATES, F. L.; VIOLA, M. G. Produção de serapilheira em Floresta Ombrófila Mista, em São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 155-160, 2005.

BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 641-649, 1998.

BALSER, T. C.; WIXON, D.; MORITZ, L. K.; LIPPS, L. The microbiology of natural soils. In: DIXON, G. R.; TILSTON, E.L. **Soil microbiology and sustainable crop production**. Dordrecht: Springer, 2010. p. 27–57.

BARRETO, P. A. B.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; FONTES, A. G.; POLIDRO, J. C.; MOCO, M. K. S.; MACHADO, R. C. R.; BALIGAR, V. C. Distribution of oxidizable organic C fractions in soils under cacao agroforestry systems in Southern Bahia, Brazil. **Agroforestry System**, v. 81, p. 213–220, 2011.

BARROS, R. S. M. **Medidas de diversidade biológica**. Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada ao Manejo e Conservação de Recursos Naturais, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. MG, 2007.

BELLOTE, F. J. A.; DEDECEK, R. A.; SILVA, H. D. Nutrientes minerais, biomassa e deposição de serapilheira em plantio de Eucalyptus com diferentes sistemas de manejo de resíduos florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 56, p. 31-41, 2008.

BERG, B. Litter decomposition and organic matter turnover in northern forest soil. **Forest Ecology and Management**, v.133, p. 13-22, 2000.

BERG, M.; RUITER, P.; DIDDEN, W.; JANSSEN, M.; SCHOUTEN, T.; VERHOEF, H. Community food web, decomposition and nitrogen mineralisation in a stratified Scots pine forest soil. **Oikos**, v. 94, p. 130–142, 2001.

BERGER, W. H.; PARKER, F. L. Diversity Planktonic Foraminifera in Deep-Sea sediments. **Science**, v. 168, p. 1345-1347, 1970.

BIJAYALAXMI, N.; YADAVA, D. P. S. Influence of climate and litter quality on litter decomposition and nu-trient release in sub-tropicalforest of Northeast India. **Journal of Forestry Research**, n. 21, v. 2, p.143–150, 2010.

BLAGODATSKAYA, E. V.; ANDERSON, T. H. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and QCO<sub>2</sub> of microbial communities in Forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, p. 1269–1274, 1998.

BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (eds.) **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 1-16.

BRESOLIN, J. D.; BUSTAMANTE, M. M. C.; KRÜGER, R. H.; SILVA, M. R. S. S.; PEREZ, K. S. Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 391-403, 2010.

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

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

BROWN, S.; LUGO, A. E. The storage and production of organic matter in tropical forest and their role in global carbon cycle. **Biotropica**, v. 3, n. 14, p. 161–187, 1982.

BUNEMANN, E. K.; SCHWENKE, G. D.; VAN ZWIETEN, L. Impact of agricultural inputs on soil organisms: a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 44, p. 379-406, 2006.

CADIOLI, M. C.; SANTIAGO, D. C.; OLIVEIRA, A. D.; PAES, V. S.; ARIEIRA, G. O.; BAIDA, F. C. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaensis*. **Ciência Agrotécnica**, v. 3, n. 33, p. 713-720, 2009.

CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, I. L.; SINGLER, L. Genera of Hyphomycetes. Canada: University of Alberta Press, 1980.

CASTRO, A. P. C.; QUIRINO, B. F.; PAPPAS JR, G.; KUOKAWA, A. S.; NETO, E. L.; KRÜGER, R. H. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture. **Archives of microbiology**, v. 190, p. 129–139, 2008.

CAVALCANTI, M. A. Q.; OLIVEIRA, L. G.; FERNANDES, M. J.; LIMA, D. M. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 831-837, 2006.

CELENTANO, D.; ZAHAWI, R. A.; FINEGAN, B.; OSTERTAG, R.; COLE, R. J.; HOLL, K. D. Litterfall dynamics under different tropical forest restoration strategies in Costa Rica. **Biotropica**, v. 43, p. 279–287, 2011.

CHAVE, J.; NAVARRETE, D.; ALMEIDA, S.; ÁLVAREZ, E.; ARAGÃO, L. E. O. C.; BONAL, D.; CHÂTELET, P.; SILVA, E. J.; GORET, J. Y.; VON HILDEBRAND. P.; JIMÉNEZ, E.; PATIÑO, S.; PEÑUELA, M. C.; PHILLIPS, O. L.; STEVENSON, P.; MALHI, Y. Regional and temporal patterns of litterfall in tropical South America. **Biogeosciences**, v. 7, p. 43–55, 2010.

CIANCIARUSO, M. V.; PIRES, J. S. R.; DELITTI, W. B. C.; SILVA, E. F. L. P. Produção de serapilheira e decomposição do material foliar em um cerradão na Estação Ecológica de Jataí, município de Luiz Antônio, SP, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 49-59, 2006.

CLARK, F. E. Agar-plate method for total microbial count. In: Black, C.A.; EVANS, D.D.; WHITE, J.L.; ENSMINGER, L.E.; CLARK, F. E.; DINAVER, R. C. (eds.). **Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties**. New York: Madson Inc. 1965. p. 1460-1466.

COLWELL, R. K. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9. Disponível em: <http://purl.oclc.org/estimates>. Acesso em: 05 dez. 2013.

COLWELL, R. K.; Coddington, J. A. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. **Philosophical Transactions: Biological Science**, v. 345, n. 1311, p. 101-118, 1994.

CORRÊA, F. L. O.; RAMOS, J. D.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; MÜLLER, M. W. Produção de serapilheira em sistema agroflorestal multiestratificado no Estado de Rondônia, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1099-1105, 2006.

COSTA, F. S.; ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; FONTOURA, S.M.V.; WOBETO, C. Propriedades físicas de um Latossolo Bruno afetadas pelos sistemas plantio direto e preparo convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 527-535, 2003.

COSTA, P. M. O.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MALOSSO, E. Diversity of filamentous fungi in different systems of land use. **Agroforestry Systems**, v. 85, n. 1, p. 195-203, 2012.

COSTA, R.; GÖTZ, M.; MROTZEK, N.; LOTTMANN, J.; BERG, G.; SMALLA, K. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 56, n. 2, p. 236-249, 2006.

COTRUFO, M. F.; WALLENSTEIN, M. D.; BOOT, C. M.; DENEFF, K.; PAUL, E. The microbial efficiency-matrix stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter? **Global Change Biology**, p. 988–995, 2013.

CRASWELL, E. T.; LEFROY, R. D. B. The role and function of organic matter in tropical soils. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 61, p. 7–18, 2001.

CRUZ, R.; SANTOS, C.; LIMA, J. S.; MOREIRA, K. A.; SOUZA-MOTTA, C. M. Diversity of *Penicillium* in soil of Caatinga and Atlantic Forest areas of Pernambuco, Brazil: an ecological approach. **Nova Hedwigia**, v. 97, n. 3-4, p. 543-556, 2013.

CURI, N.; LARACH, J. O. I.; KAMPF, N.; MONIZ, A. C.; FONTES, L. E. F. **Vocabulário de ciência do solo**. Campinas: SBCS, 1993.

DAWOE, E. K.; ISAAC, M.; QUASHIE-SAM, J. Litterfall and litter nutrient dynamics under cocoa ecosystems in lowland humid Ghana. **Plant and Soil**, v. 330, p. 55–64, 2010.

DEEPA, V.; PRASANNA, A.; MURTHY, P. B.; SRIDHAR, R. Efficient phosphate solubilization by fungal strains isolated from rice-rhizosphere soils for the phosphorus release. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 6, p. 487-492, 2010.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. Carbono, nitrogênio e fósforo na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. (eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do Solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 263-276.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. San Francisco: IHW-Verlag, 2007.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971.

ELLIS, M. B. **More Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976.

ESPIG, S. A.; FREIRE, F. J.; MARANGON, J. C.; FERREIRA, R. L. C.; FREIRE, M. B. G. S.; ESPIG, D. B. Sazonalidade, composição e aporte de nutrientes da serapilheira em fragmento de Mata Atlântica. **Revista Árvore**, v. 33, p. 949-956, 2009.

FÁVERO, C.; LOVO, I. C.; MENDONÇA, E. S. Recuperação de área degradada com sistema agroflorestal no Vale do Rio Doce, Minas Gerais. **Revista Árvore**, v. 32, p. 861-868, 2008.

FIALHO, J. S.; AGUIAR, M. I.; MAIA, L. S.; MAGALHÃES, R. B.; ARAÚJO, F. C. S.; CAMPANHA, M. M.; OLIVEIRA, T. S. Soil quality, resistance and resilience in traditional agricultural and agroforestry ecosystems in Brasil's semiarid region. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, p. 5020-5031, 2013.

FIGUEIREDO-FILHO, A.; MORAES, G. F.; SCHAAF, L. B.; FIGUEIREDO, D. J. Avaliação estacional da deposição de serapilheira em uma floresta ombrófila mista localizada no sul do Estado do Paraná. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 1, p. 11-18, 2003.

FORTES-NETO, P.; FERNANDES, S. A. P.; JAHNEL, M. C. Microbiota do solo como indicadora da poluição do solo e do ambiente. In: Silveira, A. P. D.; Freitas, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. p. 259-274.

FOSTER, M.; MUELLER, G.; BILLS, G. **Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods**. Elsevier Academic Press, 2004.

FRANCO, F. S.; COUTO, L.; CARVALHO, A. F.; JUCKSCH, I.; FERNANDES FILHO, E. I.; SILVA, E.; MEIRA NETO, J. A. A. Quantificação da erosão em sistemas agroflorestais e convencionais na zona da mata de Minas Gerais. **Revista Árvore**, v. 26, p. 751–760, 2002.

FROUFE, L. C. M.; RACHWAL, M. F. G.; SEOANE, C. E. S. Potencial de sistema agroflorestais multiestrata para sequestro de carbono em áreas de ocorrência de Floresta Atlântica. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, p. 143-154, 2011.

GAMA-RODRIGUES, A. C.; BARROS, N. F.; SANTOS, M. L. Decomposição e liberação de nutrientes do folheto de espécies florestais nativas em plantios puros e mistos no sudeste da Bahia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 1021-1031, 2003.

GAMA-RODRIGUES, E. F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: Santos, G. A.; Camargo, F. A. O. (eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 227-243.

GAMS, W. Biodiversity of soil-inhabiting fungi. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, p. 69-72, 2007.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 243-270, 2004.

GASCON, C.; FONSECA, G. A. B.; SECHREST, W.; BILLMARK, K. A.; SANDERSON, J. 2004. Biodiversity conservation in deforested and fragmented tropical landscapes: an overview. In: SCHROTH, G.; FONSECA, G. A. B.; HARVEY, C. A.; GASCON, C.; VASCONCELOS, H. L.; IZAC, A. M. N. (eds). **Agroforestry and biodiversity conservation in tropical landscapes**, Washington: Island Press, 2004. p. 15-32.

GELSOMINO, A.; KEIJZER-WOLTERS, A. C.; CACCO, G.; VAN ELSAS, J. D. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 38, p. 1-15, 1999.

GESSNER, M. O.; SWAN, C. M.; DANG, C. K.; MCKIE, B. G.; BARDGETT, R. D.; WALL, D. H.; HÄTTENSCHWILER, S. Diversity meets decomposition. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, n. 6, p. 372-380, 2010.

GIEßELMANN, U. C.; MARTINS, K. G.; BRÄNDLE, M.; SCHÄDLER, M.; MARQUES, R.; BRAND, R. Diversity and ecosystem functioning: litter decomposition dynamics in the Atlantic Rainforest. **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 283-290, 2010.

GLIESSMANN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.

GOMES, N. C. M.; FAGBOLA, O.; COSTA, R.; RUMJANEK, N. G.; BUCHNER, A.; MENDONÇA-HAGLER, L.; SMALLA, K. Dynamics of fungal communities in bulk and maize rhizosphere soil in the tropics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 3758-3766, 2003.

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

GONÇALVES JR, J. F.; FRANÇA, S. F.; CALLISTO, M. Dynamics of allochthonous organic matter in a tropical brazilian headstream. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 967–973, 2006.

GRAÇA, M. A. S.; BÄRLOCHER, F.; GESSNER, M. O. **Methods to study litter decomposition**: a practical guide. Netherlands: Spring Publications, 2005.

GRAYSTON, S. J.; GRIFFITH, G. S.; MAWDSLEY, J. L.; CAMPBELL, C. D.; BARDGETT, R. D. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 533–551, 2001.

GRIFFITHS, R. I.; WHITELEY, A. S.; O' DONNELL, A. G.; BAILEY, M. J. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA- based microbial community composition. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 5488–5491, 2000.

GRISI, B. M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e Cultura**, v. 30, n. 1, p. 82–88, 1978.

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

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 9, 2013.

HANSON, C. A.; ALLISON, S. D.; BRADFORD, M. A.; WALLENSTEIN, M. D.; TRESEDER, K. K. Fungal taxa target different carbon sources in forest soil. **Ecosystems**, v. 11, p. 1157–1167, 2008.

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

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

HE, J. Z.; XU, Z.; HUGHES, J. Analyses of soil fungal communities in adjacent natural forest and hoop pine plantation ecosystems of subtropical Australia using molecular approaches based on 18S rRNA genes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 247, n. 12, p. 91–100, 2005.

HOOPER, D. U.; CHAPIN, F. S.; EWEL, J. J.; HECTOR, A.; INCHAUSTI, P.; LAVOREL, S.; LAWTON, J. H.; LODGE, D. M.; LOREAU, M.; NAEEM, S.; SCHMID, B.; SETALA, H.; SYMSTAD, A. J.; VANDERMEER, J.; WARDLE, D. A. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. **Ecological Monographs**, v. 75, n. 1, p. 3–35, 2005.

HOORMAN, J. J. **The role of soil fungus**. Agriculture and Natural Resources: Ohio State University, Columbus, 2011.

HOPPE, J. M.; WITSCHORECK, R.; SCHUMACHER, M. V. Estimativas de biomassa em povoamentos de *Platanus x Acerifolia* (Aiton) Willd. Estabelecido no município de Dom Feliciano, RS. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 4, p. 463-471, 2006.

HOSHINO, Y. T. Molecular analyses of soil fungal community: methods and applications. In: HERNANDEZ-SORIANO, M. C. (ed). **Soil health and land use management**, 2012. p. 46-71.

HOSSAIN, M.; SIDDIQUE, M. R. H.; RAHMAN, M. S.; HOSSAIN, M. Z.; HASAN, M. M. Nutrient dynamics associated with leaf litter decomposition of three agroforestry tree species (*Azadirachta indica*, *Dalbergia sissoo* and *Melia azadirachta*) of Bangladesh. **Journal of Forestry Research**, v. 22, p. 577-582, 2011.

JANVIER, C.; VILLENEUVE, F.; ALABOUVETTE, C.; EDEL-HERMANN, V.; MATEILLE, T.; STEINBERG, C. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1-23, 2007.

JORDAN, D.; KREMER, R. J.; BERGFELD, W. A.; KIM, K. Y.; CACNIO, V. N. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. **Biology and Fertility of Soils**, v. 19, n. 4, p. 297-302, 1995.

JOSE, S. Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. **Agroforestry System**, v. 76, n. 1, p. 1-10, 2009.

JOSE, S. Agroforestry for conserving and enhancing biodiversity. **Agroforestry System**, v. 85, n. 1, p. 1-8, 2012.

KENNEDY, N.; CLIPSON, N. Fingerprinting the fungal community. **Mycologist**, v. 17, n. 2, p. 158-164, 2003.

KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. M. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. **Biological Control**, v. 51, p. 659-678, 2006.

KIEFT, T. L.; ROSACKER, L. L. Application of respiration and adenylate-basead soil microbiological assay to deep subsurface terrestrial sediments. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, p. 563-568, 1991.

KINAMA, J. M.; STIGER, C. J.; ONG, C. K.; NYGNAA, J. K; GICHAKI, F. N. Evaporation from soils below sparse crops in cartour hedgerow agroforestry in semi-arid Kenya. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 30, p. 149-162, 2005.

KJØLLER, A.; STRUWE, S. Fungal communities, succession, enzymes and decomposition. In: BURNS, R. G.; DICK, R. P. **Enzymes in the Environment**. New York: Marcel Dekker Incorporated, 2003. p. 267-284.

KLICH, M. A. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. **Mycologia**, v. 94, p. 21-27, 2002.

KUZYAKOV, Y. Priming effects: interactions between living and dead organic matter. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1363-371, 2010.

LAL, R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. **Science**, v. 304, p. 1623–1627, 2004.

LAMBAIS, M. R.; CURY, J. C.; MALUCHE-BARETTA, C.; BULL, R. C. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. R.; COOPER, M.; SILVA, A. P.; CARDOSO, E. J. (eds.) **Tópicos em ciência do solo**, v. 4. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p. 43-84.

LEITE, L. F. C.; MENDONÇA, E. S. Modelo century de dinâmica da matéria orgânica do solo: Equações e pressupostos. **Revista Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 679-686, 2003.

LÉON, J. D.; OSORIO, N. W. Role of litter turnover in soil quality in tropical degraded lands of Colombia. **The Scientific World Journal**, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/693981>, 2014.

LODGE, D. J.; CANTRELL, S. Fungal communities in wet tropical forests: variation in time and space. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. 1391-1398, 1995.

LORCH, H. J.; BENCKIESER, G.; OTTWI, J. C. G. Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In: ALEF, K.; NANINIPIERI, P. (eds.) **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. Academic Press, London, 1995. p. 146-161.

LOTTMANN, J.; CALLAGHAN, M.O.; BAIRD, D.; WALTER, C. Bacterial and fungal communities in the rhizosphere of field-grown genetically modified pine trees (*Pinus radiata* D.). **Environmental Biosafety Research**, v. 9, p. 25-40, 2010.

LUZ, M. J. S.; FERREIRA, G. B.; BEZERRA, J. R. C. Adubação e correção do solo: procedimentos a serem adotados em função dos resultados da análise do solo. **EMBRAPA Circular Técnico**, v. 63, 2002.

MACDICKEN, K. G.; VERGARA, N. T. **Agroforestry: classification and management**. New York: John Wiley & Sons, 1990.

MACEDO, M. O.; RESENDE, A. S.; GARCIA, P. C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; URQUIAGA, S.; CAMPELLO, E. F. C.; FRANCO, A. A. Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing trees. **Forest Ecology and Management**, v. 255, p. 1516–1524, 2008.

MAIA, S. M. F.; XAVIER, F. A. S.; OLIVEIRA, T. S. O.; MENDONÇA, E. S.; ARAÚJO FILHO, J. Organic carbon pools in a Luvisol under agroforestry and conventional farming systems in the semi-arid region of Ceará, Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 71, p. 127-138, 2007.

MALOSSO, E., WAITE, I. S., ENGLISH, L., HOPKINS, D. W., O'DONNELL, A. G. Microbial diversity of Antarctic soils determined using a combination of culture isolation, molecular fingerprinting and cloning techniques. **Polar Biology**, v. 29, p. 552-561, 2006.

MARSCHNER, P.; KANDELER, E.; MARSCHNER, B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 453-461, 2003.

MARTINS, S. V.; RODRIGUES, R. R. Produção de serapilheira em clareiras de uma floresta estacional semidecídua no Município de Campinas, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 3, p. 405-412, 1999.

MARTIUS, C.; HÖFER, H.; GARCIA, M. V. B.; RÖMBKE, J.; HANAGARTH, W. Litter fall, litter stocks and decomposition rates in rain forest and agroforestry sites in central Amazonia. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 68, p. 137-154, 2004.

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste/MT. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 425-433, 2003.

MAY, L. A.; SMILEY, B.; SCHMIDT, M. G. 2001. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities associated with whole plant corn silage. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 829-841, 2001.

MAY, P. H.; TROVATTO, C. M. M.; DEITENBACH, A.; FLORIANI, G. S.; DUBOIS, J. C. L.; VIVAN, J. L. **Manual Agroflorestal para Mata Atlântica**. Brasília: MDA/SAF, 2008.

MEENTMEYER, V.; BOX, E. O.; THOMPSON, R. 1982. World patterns and amounts of terrestrial plant litter production. **BioScience**, v. 32, p. 125-128, 1982.

MELLONI, R. Quantificação Microbiana da Qualidade do Solo. In: SILVEIRA, A. P. D; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. p. 193-217.

MITCHELL, J. I.; ZUCCARO, A. Sequences, the environment and fungi. **Mycologist**, v. 20, p. 62-74, 2006.

MONTAGNINI, F.; NAIR, P. K. R. Carbon sequestration: an underexploited environmental benefit of agroforestry systems. **Agroforestry Systems**, v. 61, p. 281-295, 2004.

MONTEIRO, M. T.; GAMA-RODRIGUES, E. F. Carbono, nitrogênio e atividade da biomassa microbiana em diferentes estruturas de serapilheira de uma floresta natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 819-826, 2004.

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

MORELLATO, L. P. C.; TALORA, D. C.; TAKAHASI, A.; BENKLE, C. C.; ROMERA, E. C.; ZIPPARRO, W. B. Phenology of Atlantic Rain Forest trees: a comparative study. **Biotropica**, v. 32, p. 811-823, 2000.

MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods in Enzymology**, v. 55, n. 2, p. 335-350, 1987.

MUROVHI, N. R.; MATERECHERA, S. A.; MULUGETA, S. D. Seasonal changes in litter fall and its quality from three subtropical fruit tree species at Nelspruit. South Africa. **Agroforestry Systems**, v. 86, p. 61–71, 2012.

MUTUO, P. K.; CADISCH, G.; ALBRECHT, A.; PALM, C. A.; VERCHOT, L. Potential of agroforestry for carbon sequestration and mitigation of greenhouse gas emissions from soils in the tropics. **Nutrient Cycling Agroecosystems**, v. 71, p. 43-54, 2005.

MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, n. 3, p. 317-322, 1999.

MUYZER, G.; SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 73, p. 127-141, 1998.

MUYZER, G.; WAAL, E.C.; UITTERLINDEN, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction - amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 695-700, 1993.

MYERS, R.; FISCHER, S.; LERMAN, L.; MANIATIS, T. Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. **Nucleic Acids Research**, v. 13, p. 3131-3145, 1985.

NAIR, P. K. R.; KUMAR, B. M.; NAIR, V. D. Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 172, p. 10–23, 2009.

NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M. T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, v. 54, p. 655-70, 2003.

NEVES, M. C. P.; ALMEIDA, D. L.; DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. L. D. **Agricultura orgânica: uma estratégia para o desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis**. Rio de Janeiro, Seropédica: EDUR, 2004.

NIELSEN, M. N.; WINDING, A. **Microorganisms as indicators of soil health**. Denmark: National Environmental Reserch Institute, Technical Report, 2002.

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

PANDEY, A.; DAS, N.; KUMAR, B.; RINU, K.; TRIVEDI, P. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 97-102, 2008.

PARSONS, S. A.; CONGDON, R. A.; SHOO, L. P.; VALDEZ-RAMIREZ, V.; WILLIAMS, S. E. Spatial variability in litterfall, litter standing crop and litter quality in a tropical rainforest region. **Biotropica**, v. 46, p. 378–386, 2014.

PASCUAL, J. A.; ROS, M.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C. Effect of long-term monoculture on microbiological and biochemical properties in semiarid soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, p. 537-552, 2001.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989.

PENEIREIRO, F. M. Sistemas agroflorestais dirigidos pela sucessão natural: um estudo de caso. 138f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Florestal) – ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

PENNANEN, T.; PAAVOLAINEN, L.; HANTULA, J. Rapid PCR-based method for the direct analysis of fungal communities in complex environmental samples. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 697-699, 2001.

PEREIRA, C. M. R.; SILVA, D. K. A.; FERREIRA, A. C. A.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. M. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Atlantic forest areas under different land uses. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 185, p. 245–252, 2014.

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

PIELOU, E. C. **Mathematical ecology**. New York: John Wiley and Sons, 1977.

PIMENTA, J. A.; ROSSI, L. B.; TOREZAN, J. M. D.; CAVALHEIRO, A. L.; BIANCHINI, E. Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de um reflorestamento e de uma floresta estacional semidecidual no sul do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 53-57, 2011.

PINHO, R. C.; MILLER, R. P.; ALFAIA, S. S. Agroforestry and the improvement of soil fertility: a view from Amazonia. **Applied and Environmental Soil Science**, p. 1-12, 2012.

PINOTTI, M. M. Z.; SANTOS, J. C. P.; KLAUBERG FILHO, O.; MICHELLUTI, D. J.; CASTRO, D. R. L. Isolamento de fungos de solo associados a culturas de amora, framboesa e mirtilo no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 1, p. 67- 80, 2011.

PIRES, L. A.; BRITEZ, R. M.; MARTEL, G.; PAGANO, S. N. Produção, acúmulo e decomposição da serapilheira em uma restinga da Ilha do Mel, Paranaguá, PR, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 173-184, 2006.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. North Ryde, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1998.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. North Wales, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1991.

POLISHOOK, J. D.; BILLS, G. F.; LODGE, D. J. Microfungi from decaying leaves of two rain forest trees in Puerto Rico. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 17, p. 284–294, 1996.

POWERS, J. S.; MONTGOMERY, R. A.; ADAIR, E. C.; BREARLEY, F. Q.; DEWALT, S. J.; CASTANHO, C. T.; CHAVE, J.; DEINERT, E.; GANZHORN, J. U.; GILBERT, M. E.; GONZÁLEZ-ITURBE, J. A.; BUNYAVEJCHEWIN, S.; GRAU, H. R.; HARMS, K. E.; HIREMATH, A.; IRIARTE-VIVAR, S.; MANZANE, E.; DE OLIVEIRA, A. A.; POORTER, L.; RAMANAMANJATO, J. B.; SALK, C.; VARELA, A.; WEIBLEN, G. D.; LERDAU, M. T. Decomposition in tropical forests: a pan-tropical study of the effects of litter type, litter placement and mesofaunal exclusion across a precipitation gradient. **Journal Ecology**, v. 97, p. 801–811, 2009.

PRADE, C. A.; MATSUMURA, A. T.; OTT, A. P.; PORTO, M. L. Diversidade de fungos do solo em sistemas agroflorestais de *Citrus* com diferentes tipos de manejo no município de Roca Sales, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, v. 15, p. 73-81, 2007.

RAAIJMAKERS, J. M.; PAULITZ, C. T.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C.; MOENNE-LOCCOZ, Y. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 341–361, 2009.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A. Estoques de carbono e nitrogênio e frações orgânicas de latossolo submetido a diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1609-1623, 2007.

RANJARD, L.; LEJON, D. P. H.; MOUGEL, C.; SCHEHRER, L.; MERDINOGLU, D.; CHAUSSOD, R. Sampling strategy in molecular microbial ecology: influence of soil sample size on DNA fingerprinting analysis of fungal and bacterial communities. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 11, p. 1111-1120, 2003.

RAPER, K. B.; FENNEL, D. I. **The genus *Aspergillus***. Florida: Robert & Krieger, 1977.

RAPER, K. B.; THOM, C. **A manual of the *Penicillia***. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1949.

RECH, M.; PANSERA, M. R.; SARTORI, V. C.; RIBEIRO, R. T. S. Microbiota do solo em vinhedos agroecológico e convencional e sob vegetação nativa em Caxias do Sul, RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 3, p. 141-151, 2013.

REZENDE, C. P.; CANTARUTTI, R. B.; BRAGA, J. M.; GOMIDE, J. A.; PEREIRA, J. M.; FERREIRA, E.; TARRE, R.; MACEDO, R.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; CADISCH, G.; GILLER, K. E.; BODDEY, R. M. Litter deposition and disappearance in *Brachiaria* pastures in the Atlantic Forest region of the South of Bahia, Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 54, p. 99-112, 1999.

RICCI, M. S. F.; VIRGINIO FILHO, E. M.; COSTA, J. R. Diversidade da comunidade de plantas invasoras em sistemas agroflorestais com café em Turrialba, Costa Rica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 7, p. 825-834, 2008.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

RIFAI, M. A. A revision of the genus *Trichoderma*. **Mycological Papers**, v. 116, p. 1-56, 1969.

ROS, M.; PASCUAL, J. A.; HERNÁNDEZ, M. T.; GARCÍA, C. Long-term effects of revegetation on composition and activities (including transcription) of fungal communities of a semi-arid soil. **Biology & Fertility of Soils**, v. 45, p. 435–44, 2009.

ROSADO, A. S.; DUARTE, G. F. Utilização de eletroforese em gel com gradiente de desnaturantes (DGGE) e gel com gradiente de temperatura (TGGE) para estudar diversidade microbiana. In: MELLO, I. S. (ed.) **Genética e Melhoramento de Microrganismos**. São Paulo: EdUSP, 2002. p. 97-128.

ROSADO, A. S.; DUARTE, G. F.; SELDIN, L.; VAN ELSAS, J. D. Molecular microbial ecology: a minireview. **Revista de Microbiologia**, v. 28, n. 2, p. 135-147, 1997.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOEFFEL, S.; SHCARF, S. J.; HIGUCHI, G.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v. 239, p. 487-491, 1988.

SALINAS-GARCÍA, J. R.; VELÁZQUEZ-GARCÍA, J. J.; GALLARDO-VALDEZ, M.; DÍAZ-MEDEROS, P.; CABALLERO-HERNÁNDEZ, F.; TAPIA-VARGAS, L. M.; ROSALES-ROBLES, E. 2002. Tillage effects on microbial biomass and nutrient distribution in soils under rain-fed corn production in central-western Mexico. **Soil & Tillage Research**, v. 66, p. 43-152, 2002.

SAMSON, R. A.; FRISVAD, J. C. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomics schemes, mycotoxins and other extrolites. **Studies in Mycology**, v. 49, p. 260, 2004.

SANCHES, L.; VALENTINI, C. M. A.; PINTO-JÚNIOR, O. B.; NOGUEIRA, J. S.; VOURLITIS, G. L.; BIUDES, M. S.; SILVA, C. J.; BAMBI, P.; LOBO, F. A. Seasonal and interannual litter dynamics of a tropical semideciduous forest of the southern Amazon Basin, Brazil. **Journal of Geophysical Research**, v. 113, p. G04007, 2008.

SANTIAGO, A. L. C. M. A.; MOTA, C. M. Mucorales isolados do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 641-647, 2006.

SAYER, E. J.; HEARD, M. S.; GRANT, H. K.; MARTHEWS, T. R.; TANNER, E. V. J. Soil carbon release enhanced by increased tropical forest litterfall. **Nature Climate Change**, v. 1, p. 304-307, 2011.

SCHEER, M. B.; GATTI, G.; WISNIEWSKI, C.; MOCOCHINSKI, A. Y.; CAVASSANI, A. T.; LORENZETTO, A.; PUTINI, F. Patterns of litter production in a secondary alluvial Atlantic Rain Forest in southern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, p. 805-817, 2009.

SCHLOTTER, M.; DILLY, O.; MUNCH, J. C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 98, p. 255-262, 2003.

SCHOENLEIN, N. C.; CORSO, C. R.; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; SOUZA, J. I. DE; OLIVEIRA, L. H. S. Fungos anamorfos do solo da região dos lagos no Município de Santa Gertrudes, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 4, p. 667-678, 2008.

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

SCHUMACHER, M. V.; BRUN, E. J.; RODRIGUES, L. M.; SANTOS, E. M. Produção de serapilheira em uma floresta de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no município de Pinhal Grande-RS. **Revista Árvore**, v. 28, n. 1, p. 29-37, 2004.

SCORIZA, R. N.; PEREIRA, M. G.; PEREIRA, G. H. A.; MACHADO, D. L.; SILVA, E. M. R. Métodos para coleta e análise de serrapilheira aplicados à ciclagem de nutrientes. **Floresta & Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 01-18, 2012.

SELLE, G. L. Ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 4, p. 29-39, 2007.

SETÄLÄ, H.; MCLEAN, M. A. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. **Oecologia**, v. 139, n. 1, p. 98-107, 2004.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **The Mathematical: theory of communication**. Urbana: University of Illinois Press, 1949.

SHEFFIELD, V. C.; COX, D. R.; MYERS, R. M. Attachment of a 40 bp G+C rich sequence (GC-clamp) to genomic DNA fragments by polymerase chain reaction results in improved detection of single-base changes. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, v. 86, p. 232-236, 1989.

SHI, L.; MORTIMER, P. E.; SLIK, J. W. F.; ZOU, X. M.; XU, J.; FENG, W. Y.; QIAO, L. Variation in forest soil fungal diversity along a latitudinal gradient. **Fungal Diversity**, v. 64, p. 305-315, 2014.

SIGLER, W. V.; TURCO, R. F. The impact of chlorothalonil application on soil bacterial and fungal populations as assessed by denaturing gradient gel electrophoresis. **Applied Soil Ecology**, v. 21, n. 2, p. 107-118, 2002.

SILAR, P.; DAIROU, J. Fungi as a promising tool for bioremediation of soils contaminated with aromatic amines, a major class of pollutants. **Nature Reviews Microbiol**, v. 9, n. 6, p. 477, 2011.

SILVA, C. J.; LOBO, F. A.; BLEICH, M. E.; SANCHES, L. Contribuição de folhas na formação da serrapilheira e no retorno de nutrientes em floresta de transição no norte de Mato Grosso. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 591-600, 2009.

SILVA, D. C. V.; TIAGO, P. V.; MATTOS, J. L. S.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M. Isolamento e seleção de fungos filamentosos do solo de sistemas agroflorestais do Município de Bom Jardim (PE) com base na capacidade de produção de enzimas hidrolíticas. **Brazilian Journal of Botany**, v. 34, n. 4, p. 607-610, 2011.

SILVA, D. K. A.; PEREIRA, C. M. R.; SOUZA, R. G.; SILVA, G. A.; OEHL, F.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in resting and dunes areas in Brazilian Northeast. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, p. 2361–2373, 2012.

SILVEIRA, R. B.; MELLONI, R.; MELLONI, E. P. G. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, em Itajubá/MG. **Cerne**, v. 12, n. 1, p. 48-55, 2004.

SMIT, E.; LEEFLANG, P.; GLANDORF, B.; VAN ELSAS, J. D.; WERNARD, K. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNA and temperature gradient gel electrophoresis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2614-2621, 1999.

SOUSA-NETO E.; CARMO, J. B.; KELLER, M.; MARTINS, S. C.; ALVES, L. F.; VIEIRA, S. A.; PICCOLO, M. C.; CAMARGO, P.; COUTO, H. T. Z.; JOLY, C. A.; MARTINELLI, L. A. Soil-atmosphere exchange of nitrous oxide, methane and carbon dioxide in a gradient of elevation in the coastal Brazilian Atlantic Forest. **Biogeosciences**, v. 8, p. 733-742, 2011.

SOUTO, P. C.; SOUTO, J. S.; MIRANDA, J. R. P.; SANTOS, R. V.; ALVES, A. R. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob Caatinga no semiárido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 151-160, 2008.

SOUZA J. A.; DAVIDE A. C. Deposição de serapilheira e nutrientes em uma mata não minerada e em plantações de bracatinga (*Mimosa scabrella*) e de eucalipto (*Eucalyptus saligna*) em áreas de mineração de bauxita. **Cerne**, v. 7, n. 1, p. 101-113, 2001.

SOUZA, H. N. D.; DE GOEDE, R. G.; BRUSSAARD, L.; CARDOSO, I. M.; DUARTE, E. M.; FERNANDES, R. B. A.; PULLEMAN, M. M. Protective shade, tree diversity and soil properties in coffee agroforestry systems in the Atlantic rainforest biome. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 146, p. 179-196, 2012.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes**: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980.

TANGJANG, S.; ARUNACHALAM, K.; ARUNACHALAM, A.; SHUKLA, A. K. Microbial population dynamics of soil under traditional agroforestry systems in Northeast India. **Research Journal of Soil Biology**, v. 1, p. 1-7, 2009.

TAPASI, D.; KUMAR, A. D. Litter production and decomposition in the forested áreas of Traditional homegardens: a case study from Barak Valley, Assam, northeast India. **Agroforestry System**, v. 79, p. 57-170, 2010.

TAPIA-CORAL, S. C.; LUIZÃO, F.; WANDELII, E.; FERNANDES, E. C. M. Carbon and nutrient stocks in the litter layer of agroforestry systems in central Amazonia, Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 65, p. 33-42, 2005.

TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T.; LIMA, E. A. L. A. Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 645-651, 2014.

TILMAN, D. The greening of the green revolution . **Nature**, v. 396, p. 211-212, 1998.

TORSVIK, V.; OVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 3, p. 240–245, 2002.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V. H; SCHAEFER, C. E. G. R; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M. (eds.) **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 2. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p. 195-276.

TURCO, R. F.; BLUME, E. Indicators of soil quality. In: SIQUEIRA, J.O; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.G.R.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Org.) **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa, SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 529-549.

VAINIO, E. J.; HANTULA, J. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. **Mycological Research**, v. 104, p. 927-936, 2000.

VALENTI, M. W.; CIANCIARUSO, M. V.; BATALHA, M. A. Seasonality of litterfall and leaf decomposition in a Cerrado site. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 3, p. 459-465, 2008.

VALENTINI, C. M. A.; SANCHES, L.; DE PAULA, S. R.; VOURLITIS, G. L.; NOGUEIRA, J. D.; PINTO, O. B. P.; LOBO, F. D. 2008. Soil respiration and aboveground litter dynamics of a tropical transitional forest in northwest Mato Grosso, Brazil. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 113, p. G00B10, 2008.

VALPASSOS, M. A. R.; CAVALCANTE, E. G. S.; CASSIOLATO, A. M. R.; ALVES, M. C. Effects of soil management systems on soil microbial activity, bulk density and chemical properties. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1539-1545, 2001..

VAN ELSAS, J. D.; DUARTE, G. F.; WOLTERS, A. K.; SMIT, E. Analysis of the dynamics of fungal communities in soil via fungal-specific PCR of soil DNA followed by denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 43, n. 2, p. 133-151, 2000.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 1-10, 2008.

VITAL, A. R. T; GUERRINI, I. A.; FRANKEN, W. K.; FONSECA, R. C. B. Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de uma floresta estacional semidecidual em zona ripária. **Revista Árvore**, v. 28, p. 793-800, 2004.

WARDLE, D. A. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. **Ecology Letters**, v. 9, p. 870–86, 2006.

WHITE, A. B. L.; NASCIMENTO, D. L.; PAES-DANTAS, T. V.; DE SOUZA-RIBEIRO, A. Dynamics of the production and decomposition of litterfall in a Brazilian Northeastern

Tropical Forest (Serra de Itabaiana National Park, Sergipe State). **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 35, p. 195-201. 2013.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (eds). **PCR Protocols: a guide to methods and applications**. New York: Academic Press, 1990.

XIONG, Y. M.; LI, Z. A.; CAI, X. A.; FU, S. L. 2008. Impacts of litter and understory removal on soil properties in a subtropical *Acacia mangium* plantation in China. **Plant and Soil**, v. 304, p. 179–188, 2008.

YADAV, R. S.; YADAV, B. L.; CHHIPA, B. R. Litter dynamics and soil properties under different tree species in a semi-arid region of Rajasthan, India. **Agroforestry Systems**, v. 73, p. 1-12, 2008.

YEATES, C.; GILLINGS, M. R.; DAVISON, A. D. ALTAVILLA, N.; VEAL, D. A. PCR amplification of crude microbial DNA extracted from soil. **Letters in Applied Microbiology**, v. 25, n. 4, p. 303-307, 1997.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; CHET, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 1061-1070, 1999.

YU, L. X.; ZHEN-CHENG, S.; XU, L.; CHENG-GANG, Z.; HUI-WEN, Z. Assessing the effects of acetochlor on soil fungal communities by DGGE and clone library analysis. **Ecotoxicology**, v. 19, p. 1111–1116, 2010.

ZACK, J.C.; WILLIG, M.R. Analysis and interpretation of fungal biodiversity patterns. In: GREGORY M. MUELLER, G.M.; BILLS, G.F.; FOSTER, M.S. (eds). **Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods**, Elsevier Academic Press, Burlington, Massachusetts, 2004.

ZHANG, H.; WENPING, Y.; WENJIE, D. Seasonal patterns of litterfall in forest ecosystem worldwide. **Ecological Complexity**, doi: 10.1016/j.ecocom.2014.01.003, 2014.

ZILLI, J. E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M. C. P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.

ZIMMERMANN, S.; BRAUN, S.; CONEDERA, M.; BLASER, P. Macronutrient inputs by litterfall as opposed to atmospheric deposition into two contrasting chestnut forest stands in southern Switzerland. **Forest Ecology and Management**, v. 161, p. 289-302, 2002.