

## QUANTIFICAÇÃO DA POPULAÇÃO DE FUNGOS EM DOIS TIPOS FLORESTAIS DA AMAZÔNIA CENTRAL

Karina Gloria CANTO<sup>1</sup>, Danielle SANDOVAL<sup>2</sup>, Ademir CASTRO E SILVA<sup>2</sup>

### RESUMO

A biota do solo tem relação direta com a cobertura vegetal sendo um importante indicador da qualidade desse solo. Assim, o presente trabalho objetivou quantificar a população de fungos presentes em dois tipos florestais (primária e secundária). Amostras foram obtidas através de um transecto de 40 m de comprimento, retirando-se amostras do solo a cada 20m a duas diferentes profundidades (10 e 20 cm). Parte dessa amostra foi processada imediatamente (A) e outra foi colocada em geladeira durante 20 dias (B). Dessas amostras 1 g de solo foi usado para diluições de  $10^{-2}$  à  $10^{-8}$  onde de cada diluição foi transferida uma alíquota de 1mL para placa de Petri contendo meio de cultura BDA. De modo geral, ocorreu a maior presença de fungos em solo da floresta primária nas amostras processadas logo após a coleta. Nestas amostras ocorreu crescimento de 6,2% na população de fungos na profundidade de 20 cm. Nas amostras da floresta primária observou-se um aumento de 35% na população de fungos na profundidade 10 cm. Nas amostras de solo congelado em ambos os tipos florestais a densidade populacional de fungos decresceu em torno de 25%. Conclui-se que a cobertura florestal contribui para a população de microrganismo no solo, o que por sua vez agrega valor de importância para o crescimento das árvores.

### ABSTRACT

The soil biota is directly related to the vegetation cover being an important indicator of the soil quality. Thus, the present study aimed to quantify the fungi population present in two forest types (primary and secondary). Samples were obtained by transection of a 40 m long, removing soil samples every 20m at two different depths (10 and 20 cm). Part of this sample was immediately processed (A) and another was placed in the refrigerator for 20 days (B). These samples 1 g of soil was used for  $10^{-2}$  to  $10^{-8}$  dilutions where from each one was transferred to Petri plate containing PDA culture medium an aliquot of 1 ml. In general, there was a greater presence of fungi in soil of primary forest in samples processed immediately after collection. These samples was 6.2% growth in the population of fungi in the depth of 20 cm. In samples of primary forest there was a 35% increase in the population of fungi in 10 cm depth. In samples frozen in both forest types the population density of soil fungi decreased around 25%. It concludes that the forest cover contributes to the population of microorganisms in the soil, which in turn adds value to the importance of tree growth.

### Introdução

A devastação excessiva nas regiões tropicais úmidas causa mudanças no cenário natural desses ambientes, onde a floresta primária dá lugar para campos e plantios (ROYAL et al. 2006). O forte índice de migração faz com que essas áreas sejam abandonadas, fazendo com que a área total das florestas secundárias ou de capoeira como são conhecida, cresça cada vez mais (WATRIN, 1996 apud. ROYAL et al. 2006).

Estudos levantam a hipótese que a cobertura vegetal esta relacionada à quantidade de microrganismos presentes no solo, transformando esse fator como indicativo de qualidade do solo. (CARDOSO, 1992). Fortes Neto et al.(2007) por outro lado, fala que a qualidade do solo

---

<sup>(1)</sup> Engenheira Florestal. UEA <sup>(2)</sup> Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara-CESIT/UEA.

está relacionada a sua habilidade de aceitar e estocar todos os nutrientes, bem como reter, dispersar e transformar, os componentes químicos e biológico, exercendo uma função de filtro para o ambiente.

A preocupação com a avaliação da qualidade do solo tem merecido destaque, pela intensificação de sistemas de seu uso e manejo. Os microrganismos aceleram as reações biológicas e bioquímicas do solo, relacionando essa atividade com suas qualidades (FORTES NETO et al., 2007). Melloni (2007) define indicador microbiológico, como a caracterização ambiental peculiar de uma área, dada pela presença ou atividades de uma espécie ou por grupos de microrganismos.

Neste mister, os fungos são organismos extremamente importantes para o funcionamento dos ecossistemas; embora estejam entre os organismos mais importantes do mundo, existem informações limitadas ou incompletas para a maioria das espécies (MUELLER e SCHMIT, 2007 apud. MONTEIRO, 2012).

Ressalta-se que microrganismos, nem sempre é possível realizar as análises logo após a coleta, o que é o procedimento correto. Por esse motivo sugere-se a realização de congelamento, considerado um dos métodos de manutenção mais simples e baratos, oferecendo boa segurança para o armazenamento de diversos microrganismos que variam de meses a dois anos (TORTORA et al., 2011).

Assim, diante da importância dos microrganismos para a qualidade do solo, o presente trabalho objetiva quantificar a população de microrganismos fúngicos em duas florestas com diferentes coberturas florestais.

## **Metodologia**

### Localização e descrição da área de estudo

A coleta foi realizada em uma floresta primária e outra secundária, situadas na Fazenda Rancho Bahia localizado no município de Itacoatiara, no quilometro 16, da rodovia AM- 010. Com base na classificação de Köppen, o clima característico é Amw (Tropical úmido chuvoso), apresentando uma estação seca de pequena duração em função do elevado índice de precipitação na região. A temperatura média anual é de 26°, máximas de 32,2°C e mínimas de 23,6° C, e os índices pluviométricos ocorrem em torno de 2.200 mm/ano e uma umidade relativa do ar de 80%. Os solos dessa região são classificados no grupo dos Latossolo Amarelos Distróficos, com uma textura muito argilosa, com o relevo semi-ondulado e ondulado ou com relevo plano ondulado (RADAMBRASIL, 1978).

### Coleta das amostras

Amostras foram obtidas em num transecto, com 40 metros de comprimento de fora para dentro da floresta. A cada 20 metros foram retiradas duas amostras de solo a 0 - 10 cm e 10 - 20 cm de profundidade. Após coletadas, as amostras foram misturadas e homogeneizadas em balde plástico, para gerar uma amostra composta para cada uma das respectivas profundidades. Após a homogeneização, as amostras foram colocadas em sacos plásticas com dimensões de 2,5x25, e armazenadas em um isopor para mantê-lo a temperatura ambiente, até serem transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Centro de Estudo Superiores de Itacoatiara- CESIT/UEA, onde as amostras foram analisadas.

## Tratamentos aplicados

Foram considerados dois tipos de tratamentos: I. Solo armazenado em freezer (4°C), por um período de 20 dias; II. Solo natural, testado logo após sua coleta. Os códigos usados para a identificação e diferenciação das amostras e tratamentos são expressos no quadro 1.

Quadro 1. Códigos usados para descrever as amostras.

CÓDIGO	DESCRIÇÃO
FP-10	Floresta Primária- Inoculação 24h profundidade de 10 cm.
FP-20	Floresta Primária- Inoculação 24h profundidade de 20 cm.
FS-10	Floresta Secundária- Inoculação 24h profundidade de 20 cm
FS-20	Floresta Secundária- Inoculação 24 após a coleta profundidades de 20 cm.
FP <sub>c</sub> -10	Floresta Primária – inoculação 20 dias após a coleta congelada a 4°C em freezer, profundidade de 10 cm.
FP <sub>c</sub> -20	Floresta Primária – inoculação 20 dias após a coleta congelada a 4°C em freezer, profundidade de 20 cm.
FS <sub>c</sub> -10	Floresta Secundária- Inoculação 20 dias após a coleta congelada a 4°C em freezer, profundidade de 20 cm.
FS <sub>c</sub> -20	Floresta Secundária- Inoculação 20 dias após a coleta congelada a 4°C em freezer, profundidade de 20 cm.

## Preparação das amostras

As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia proposta por Menezes e Silva-Hanlin (1997). Foi utilizado o método de inoculação de suspensões diluída de solos em meio de cultura BDA acrescido de glicose, com duas repetições para as seguintes diluições:  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  e  $10^{-8}$ . As inoculações foram realizadas após agitação dos tubos de ensaio que continham as diluições e transferidas 1 ml das diluições correspondentes, para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA, procedimento realizado em câmara de fluxo laminar vertical. Após a transferência das diluições as placas foram vedadas e colocadas a temperatura ambiente para crescimento fungico. A contagem das colônias de fungos presentes nas placas foi realizada de forma direta na placa segundo a metodologia proposta por Atlas (1984).

## Análise estatística

A análise estatística dos dados coletados foi realizada com o auxílio de software estatístico (BioESTAT), onde obteve-se os dados descritivos (média, desvio padrão, etc.) e análise inferencial através do teste ANOVA para verificar a ocorrência de diferença estatística entre os tratamentos. Para atender os pressupostos de normalidade e igualdade da variância os dados foram transformados pela equação  $\log x+1$ . Teste de Tukey, quando necessário, foi utilizado para verificar a diferença média dos tratamentos, realizados a 5% de significância.

## Resultados

Em média, a maior quantidade de indivíduos fúngicos foi observada no tratamento FP-10cm , enquanto que a menor foi observada no tratamento FS-10 (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios dos fungos nos tratamentos analisados. Letras iguais significam que não existe diferença significativa entre as médias ( $p=0,05$ ). Análise realizada através do teste ANOVA.

	FLORESTA PRIMÁRIA				FLORESTA SECUNDÁRIA			
	TRATAMENTOS							
	Não congelado		Congelado		Não congelado		Congelado	
	10 cm	20 cm	10 cm	20 cm	10 cm	20 cm	10 cm	20 cm
$\bar{X}$	1.1142 <sup>a</sup>	0.992 <sup>a</sup>	1.0725 <sup>a</sup>	1.0471 <sup>a</sup>	0.685 <sup>a</sup>	0.7856 <sup>a</sup>	0.8804 <sup>a</sup>	0.865 <sup>a</sup>
D.P	0.4316	0.4308	0.4644	0.4114	0.4079	0.3026	0.3122	0.3014

Teste de ANOVA evidenciou que não existe diferença a 95% de probabilidade nas médias entre os diferentes tratamentos e profundidades (Tabela 1). Ou seja, em média os dois tipos florestais apresentam a mesma diversidade fungica independente da profundidade.

O crescimento populacional dos fungos nas diluições, aconteceu de forma decrescente da diluição. Em ambas as florestas e nas duas profundidades a quantidade de fungos foi maior na primeira diluição, com a última diluição apresentando uma menor densidade populacional (Figura 1A e B).

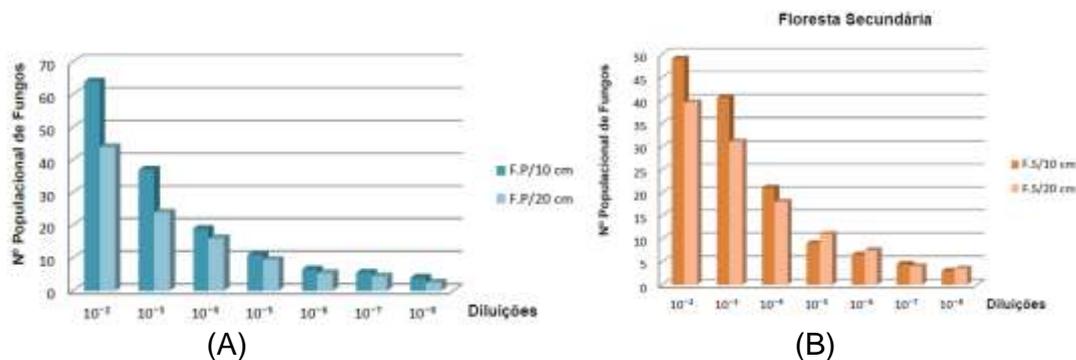


Figura 1. Crescimento de fungos em diferentes diluições e duas profundidades no solo. (A) Floresta primária (B) Floresta secundária.

Na floresta primária ocorreu uma maior diversidade fungica no tratamento FP-10 do que no tratamento FP-20 (Figura 1A). Esse resultado se manteve em todas as diluições.

Na diluição  $10^{-2}$  do tratamento FP-10 ocorreu cerca de 45,5% mais fungos do que no tratamento FP-20, enquanto que na diluição  $10^{-8}$  a diferença entre as duas profundidades foi de 60%.

Assim como na floresta primária, na diluição  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  a floresta secundária, tratamento FS-10, apresentou uma maior quantidade de fungos. Entretanto, nas diluições  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  ocorreu

o inverso, ou seja, na profundidade de 20 cm ocorreu uma maior diversidade fungica (Figura 1B).

Nas amostras congeladas o crescimento populacional de fungos ocorreu de forma diferenciada daquela não-congelada (Figura 2).

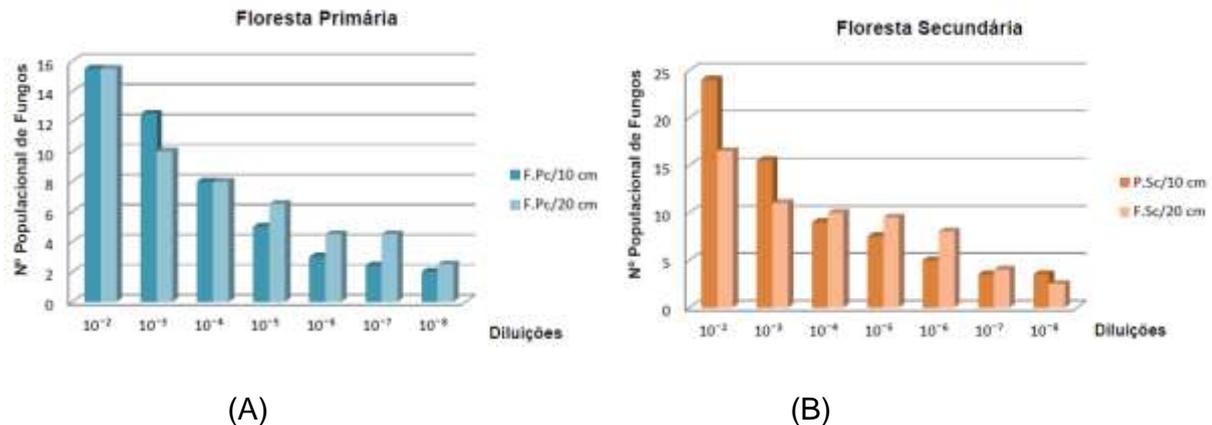


Figura 2. Crescimento populacional dos fungos nas diferentes diluições, realizado com o congelamento do solo. (A) FP<sub>c</sub> Floresta primária. (B) Floresta secundária.

De modo geral, ocorreu um menor crescimento de fungos nessas amostras do que naquelas que não sofreram congelamento. No caso específico da floresta primária na diluição de  $10^{-2}$  ocorreu a mesma quantidade de fungos, enquanto que na diluição  $10^{-3}$  desse tipo florestal na profundidade de 10 cm é onde cresceu a maior quantidade de fungos. Diferente das amostras que não sofreram congelamento, na profundidade de 20 cm foi onde cresceu a maior quantidade de fungos para as diluições  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  para ambos os tipos florestais.

## Discussão

Vários autores comentam sobre a melhor diluição para detectar fungos de solos. Melloni (2001), por exemplo, afirma que é possível observar a presença de fungos visíveis na diluição  $10^{-5}$ . Martins (2002) realizou seu estudo com fungos a partir das diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ . Já Alexander apud Cavalcante et al (2006), diz que os fungos de solo podem ser encontrados entre as diluições  $10^{-4}$  e  $10^{-6}$ . No presente estudo detectamos a presença desses microrganismos entre as diluições de  $10^{-2}$  e  $10^{-8}$ .

A presença de uma maior quantidade de fungos na floresta primária encontrada no presente estudo corrobora com resultados de outros autores, Alves (2011), por exemplo, ao analisar uma comunidade microbiana que se encontrava em solos de vegetação nativa obteve uma maior expectativa para a população fúngica em relação, a solos com outras características de coberturas vegetais como os de solos cultivados. O autor comenta que esses solos são favorecidos por uma cobertura vegetal, que colabora para maior acúmulo de matéria orgânica oferecendo maior quantidade de nutrientes para o desenvolvimento da planta. Por não haver agitação do solo em vegetação nativa, a presença de raízes é maior, fazendo com que as hifas fúngicas intactas sejam mantidas no solo, sendo que estas são facilmente degradadas por atividades perturbadoras à estrutura do solo (JASPER et al., 1989 apud. AVES, 2011).

Toda et. al (2010), comenta que as matas nativas e as áreas reflorestadas, que não sofreram nenhuma perturbação por vários anos, mostram bons índices de biomassa de microrganismos do solo. Podendo tal efeito estar relacionado à ausência de intervenções antrópicas a esses solos.

Em relação do efeito do congelamento na quantidade de fungos verificamos que no congelamento por mais de 20 dias a quantidade de fungos foi menor para ambos os tipos florestais. Martins (2002) estudou solos contaminados em diferentes tratamentos, sendo eles: sem tratamento, refrigerado e outro congelado. Observou que o solo congelado mostrou estabilidade na quantidade de fungos quando foram inoculados há três dias, no entanto, esse valor foi decaindo nas inoculações realizadas com o solo congelado por mais tempo.

Soulides e Allison apud. Martins (2002) observaram que as amostras congeladas decaíram de 14 a 44% comparadas às amostras que não sofreram tal efeito.

## Conclusão

- Os tipos florestais não apresentaram diferenças estatística na média da quantidade fungica encontrada em todas as diluições testadas;
- Se observadas as diluições utilizadas para a execução desse estudo, o comportamento em todas as profundidades e tratamentos das duas florestas foi igual, mostrando um decréscimo na população fúngica das diluições  $10^{-2}$  para as  $10^{-8}$ ;

## Referências

ALVES, T.D. S; ET al. Biomassa e Atividade Microbiana de Solo sob Vegetação Nativa e Diferentes Sistemas de Manejos. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011

CARDOSO, E.J.B.N. **Ecologia Microbiana do Solo**. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. Microbiologia do Solo. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.

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 Botânica Brasílica**, v.20, p.831-837, 2006.

FORTE NETO, P. S.; FERNANDES, S. A. P.; JAHNEL, M. C. **Microbiota do Solo como Indicadora da Poluição do Solo e do Ambiente**. In: SILVEIRA, A. P. D. Da; FREITAS, S. Microbiologia do Solo e Qualidade Ambiental. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. 312 p.: il.

MARTINS, Kennedy Fernandes. **Determinação da População de Fungos e Bactérias do Solo Contaminado com Petróleo e Armazenado sob Refrigeração e Congelamento**. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo) Departamento de Solos do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2002 .

MELLONI, Rogério. **Quantificação Microbiana da Qualidade do Solo**. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. Microbiologia do Solo e Qualidade Ambiental. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007.

MELLONI, Rogério et. al. Características Biológicas de Solos sob Mata Ciliar e Campo Cerrado no Sul de Minas Gerais. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.1, p.7-13, jan./fev., 2001

MENEZES, Maria; SILVA-HANLIN, Denise M.W. **Guia Prática de fungos fitopatogênicos**. Imprensa Universitária.UFPE. Recife, 1997.

MONTEIRO, Mônica Cristina Monteiro. **Identificação de Fungos dos Gêneros Aspergillus e Penicillium em Solos Preservados do Cerrado**. 2012. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2002

RADAMBRASIL. **Programa de integração Nacional. Levantamentos de Recursos Naturais**. V. 18 (Manaus) - RADAM (Projeto) DNPM, Ministério de Minas e Energia. Brasil, 1978.

RAYOL, B. P; SILVA; M. F. F. Dinâmica da Regeneração Natural de Floresta Secundária no Município de Capitão Poço, Pará, Brasil. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**. Belém, v. 2, n°3, jul./dez.2006.

TODA, F.E., VASQUES, T.; ARAÚJO, F. F. de. Biomassa Microbiana e sua Correlação com a Fertilidade do Solo em diferentes Sistemas de Cultivo. **Colloquium Agrariae**, v. 6, n° 2, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 964, 2011.