



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

JANAINA DIAS FERREIRA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS CONIDIAIS DE FOLHEDO TERRESTRE EM ÁREA
DE MATA ATLÂNTICA RURAL E URBANA DE PERNAMBUCO**

Recife

2022

JANAINA DIAS FERREIRA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS CONIDIAIS DE FOLHEDO TERRESTRE EM ÁREA
DE MATA ATLÂNTICA RURAL E URBANA DE PERNAMBUCO**

Dissertação 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 Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Básica

Orientadora: Profa. Dra. Elaine Malosso

Co-orientadora: Dra. Marcela Alves Barbosa

Recife

2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Elaine Cristina Barroso, CRB4/1728

Ferreira, Janaina Dias

Diversidade de fungos conidiais de folheto terrestre em área de Mata Atlântica rural e urbana de Pernambuco / Janaina Dias Ferreira – 2022.

61 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Elaine Malosso

Coorientadora: Marcela Alves Barbosa

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Fungos 2. Biomassa 3. Pernambuco I. Malosso, Elaine (orient) II. Barbosa, Marcela Alves (coorient.). III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022- 179

JANAINA DIAS FERREIRA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS CONIDIAIS DE FOLHEDO TERRESTRE EM ÁREA
DE MATA ATLÂNTICA RURAL E URBANA DE PERNAMBUCO**

Dissertação 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 Mestre em Biologia de Fungos.

Data da defesa: 11/07/2022

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Elaine Malosso/ UFPE (Orientadora)

Dra. Marcela Alves Barbosa/ UFPE (Co-orientadora)

Dr. Phelipe Manoel Oller Costa/ UVA (Examinador Titular Externo)

Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo/ UFPE (Examinador Titular Interno)

Dr. Alexandre Reis Machado/ UFPE (Examinador Suplente Interno)

Dra. Iracema Helena Schoenlein Crusius (Examinador Suplente Externo)

Dedico essa dissertação a Deus e à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado discernimento e força em toda trajetória da minha vida, e por ter me dado amor e proteção.

Aos meus filhos, Juliana Ferreira da Silva e João Pedro Ferreira da Silva, que estão sempre comigo, nos momentos bons e difíceis.

A minha mãe, Maria de Lourdes Dias, pelo seu amor e cuidado.

A todos os meus familiares, irmãos e sobrinhos, por compartilharem meus momentos de ascensão.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa.

À professora e orientadora Elaine Malosso, pela oportunidade e paciência em todas as etapas deste trabalho.

À co-orientadora Marcela Alves Barbosa, pela companhia em momentos de descontração e difíceis da minha vida. Pela sua disposição, incentivo e força em todas as etapas deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Hifomicetos de Folhedo, Matheus, Fred, Wanderson, Ana Paula, Beatriz e Celine, pelos momentos de descontração e incentivo, e os que colaboraram em minhas coletas.

À Layanne Ferro, por sua generosidade e naturalidade.

Ao professor Renato José Reis Molica, da UFPE-Garanhuns, que permitiu e auxiliou na quantificação do ergosterol.

À equipe da ESEC-Caetés, Sandra Cavalcante, e Eduardo Ribeiro.

Ao acompanhante da mata de Caetés, Seu Benjamim.

Seu Eduardo, encarregado da Usina Trapiche.

Ao Laboratório de Micorrizas pela disponibilidade.

Ao Departamento de Micologia da UFPE.

À Débora, técnica do Laboratório de Meios, Leticia, Dani Magna e Larissa, pela atenção.

À secretaria da Pós-Graduação, e à Leonardo, secretário, pelo apoio e esclarecimentos.

Ao meu amigo do IFPE, Rarisson Danilo, pelos conselhos e incentivos.

Aos membros da banca examinadora, que aceitaram participar da minha defesa, Dr. Phelipe M. Oller Costa, Dr. Roger F.R. Melo, Dr. Alexandre R. Machado e Dra. Iracema H. Schoenlein Crusius.

A Vivianne Bormann, uma amiga de última hora, que me despertou para continuar na área de atuação.

Ao professor Gerson Tabosa; Lucineide, pela torcida pela minha conclusão.

A todos os professores do Departamento de Micologia e do PPGBF, em especial as professoras Leonor Maia, Adriana Yano Melo, Cristina Souza Motta e Oliane Magalhães pela transmissão de conhecimento de forma descontraída.

À CPRH – Agência Estadual do Meio Ambiente, e à administração da Usina Trapiche pela permissão para realização da pesquisa na Estação Ecológica de Caetés e na RPPN - Usina Trapiche em Sirinhaém.

A todos que contribuíram de alguma forma e aos que não me recordo.

E a todos os meus amigos que estiveram presentes e contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

RESUMO

Nas florestas, em áreas de mata ciliar, são depositadas grandes quantidades de matéria orgânica, composta principalmente por folhas mortas. A matéria orgânica garante nutrientes para a manutenção desse ecossistema. Entre os organismos capazes de decompor a matéria orgânica estão os fungos conidiais, cuja principal importância para os ecossistemas é promover a ciclagem dos nutrientes a partir da decomposição. O objetivo deste estudo foi comparar a diversidade de fungos conidiais de folheto terrestre entre duas áreas de floresta úmida, uma na área rural e a outra em uma área urbana de Pernambuco. Para isso, foram observados 864 fragmentos de folhas em decomposição, coletadas em oito expedições, que resultaram em 51 taxons de fungos. Destes, 48 espécies foram observadas na ESEC (Estação Ecológica de Caetés), com 25 espécies exclusivas e 23 espécies em comum com a outra área, a RPPN (Reserva Particular do Patrimônio Natural) Trapiche cujo total foi 25 taxons. O número de ocorrências para a ESEC Caetés foi de 454 e para a RPPN Trapiche foi de 275. As espécies com maior número de ocorrências foram: *Beltraniella portoricensis*, com 70 ocorrências, seguida de *Cryptophiale kakombensis* (39), *Chalara alabamensis* e *Gyrothrix circinata* (37 cada). As curvas de acumulação de espécies nas duas áreas foram consideradas tendendo ao equilíbrio, revelando a cobertura pelo esforço amostral de 96,8% e 96,4% dos taxons estimados para a ESEC Caetés e a RPPN Trapiche, respectivamente. A similaridade entre as coletas e áreas, neste trabalho, foi de aproximadamente 70% e considerada alta. Com relação à constância das espécies, a maioria foi constante nas duas áreas de estudo (72% na RPPN Trapiche e 67% na ESEC Caetés). Os dados de correlação de Pearson entre o conteúdo de ergosterol do folheto, no período de coleta (chuvoso ou seco), com a ocorrência das espécies mostram que, no período seco o ergosterol apresentou moderada correlação positiva com a ocorrência na ESEC Caetés enquanto na RPPN Trapiche houve forte correlação negativa nesse período. No período chuvoso, na ESEC Caetés houve correlação moderada negativa e na RPPN Trapiche, forte correlação negativa entre essas variáveis. O teor de ergosterol no folheto, que representa a biomassa de fungos neste substrato, foi maior na área rural da RPPN Trapiche, em relação à área urbana da ESEC Caetés. Na análise de componentes principais (PCA), não foi observada estrutura definida da comunidade de fungos conidiais entre áreas ou pontos de coleta na área, ou ainda entre períodos de amostragem, com a primeira e segunda componentes explicando apenas 17% da variação dos dados. Do ponto de vista climático, as duas áreas de estudo são consideradas similares, no entanto, quando consideradas as comunidades de fungos, a área rural reflorestada é mais impactada e tem menor riqueza e menor ocorrência de fungos conidiais.

Palavras-chaves: fungos assexuados; biomassa fúngica; diversidade taxonômica.

ABSTRACT

In the forests, in the riparian areas, large amounts of organic matter composed mainly of dead leaves is deposited. Organic matter guarantees nutrients for the maintenance of this ecosystem. Among the organisms capable of decomposing organic matter are the conidial fungi whose main importance for ecosystems is to promote nutrient cycling through decomposition. The aim of this study was to compare the diversity of terrestrial leaf litter conidial fungi between two areas of humid forest, one in a rural area and the other in an urban area in Pernambuco. In this study, 864 fragments of decomposing leaves, collected in eight expeditions, were observed, resulting in 51 fungi taxa. Among these, 48 species were observed in the ESEC Caetés with 25 exclusive species and 23 species were also found in the RPPN Trapiche area that presented 25 taxa. The number of occurrences for the ESEC Caetés was 454, and for the RPPN Trapiche it was 275. *Beltraniella portoricensis* was the species with higher (70) occurrence, followed by *Cryptophiale kakombensis* with 39 occurrences and 37 occurrences each for *Chalara alabamensis* and *Gyrothrix circinata*. The species accumulation curves in the two areas were considered tending towards stability and revealed that the sampling effort covered 96.8% and 96.4% of the estimated rates for Caetés and Trapiche, respectively. In this work, the similarity between the collections periods and areas was approximately 70% and considered high. Regarding the constancy of the species, most were constant in the two study areas (72% in Trapiche, and 67% in Caetés). Pearson's correlation data between the leaf litter content of ergosterol, in the rainy or dry periods, with the occurrence of the species showed that, in the dry period, ergosterol presented a moderate positive correlation with the occurrence in the ESEC Caetés while in the RPPN Trapiche there was a strong negative correlation. In the rainy season there was a moderate negative correlation between these variables for Caetés and a strong negative correlation for Trapiche. The content of ergosterol in the leaf litter, which represents the fungal biomass in this substrate, was higher in the rural area of RPPN Trapiche than in the urban area of ESEC Caetés. The principal component analysis (PCA) showed no defined structure of the conidial fungi community between areas or collection points in the area, or even between sampling periods, with the first and second components explaining only 17% of the data variation. From the climatic point of view, the two study areas are considered similar, however, when considering the fungal communities, the reforested rural area is more impacted and has less richness and lower occurrence of conidial fungi.

Key-words: asexual fungi; fungal biomass; taxonomic diversity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Localização e coordenadas geográficas dos pontos de coleta na ESEC de Caetés, Pernambuco, Brasil.....	22
Figura 2 -	Localização e coordenadas geográficas dos pontos de coleta na RPPN Trapiche Sirinhaém, Pernambuco, Brasil.	23
Figura 3 -	Aspectos dos pontos de coleta do folheto na ESEC de Caetés (C), Paulista, Pernambuco	25
Figura 4 -	Aspectos dos pontos de coleta do folheto das áreas de RPPN Trapiche.	26
Figura 5 -	Etapas do processamento das amostras do folheto terrestre	27
Figura 6 -	Precipitação pluviométrica durante o estudo com destaque para os meses de coleta na ESEC Caetés e na RPPN Trapiche.....	32
Figura 7 -	Frequência (Esporádica; Pouco frequente; Frequente; Muito frequente) de fungos conidiais de folheto das áreas ESEC Caetés e RPPN Trapiche	37
Figura 8 -	Frequência e constância de fungos conidiais de folheto da área de RPPN Trapiche	37
Figura 9 -	Principais fungos conidiais de folheto terrestre encontrados em ESEC Caetés e RPPN Trapiche.....	38
Figura 10 -	Curva de acumulação (A) fungos conidiais encontrados na ESEC de Caetés (B) fungos conidiais encontrados na RPPN Trapiche.	39
Figura 11 -	Dendrograma de similaridade da comunidade de fungos conidiais coletados em ESEC Caetés e em RPPN Trapiche.	41
Figura 12 -	Dendrograma de similaridade dos pontos de fungos conidiais coletados em ESEC Caetés e em RPPN Trapiche.	42
Figura 13 -	Curva padrão a ser aplicada no cálculo do teor de ergosterol do folheto terrestre das áreas de ESEC Caetés e RPPN Trapiche.....	43
Figura 14 -	
		44

Figura 15 -	Análise de componentes principais dos dados com ocorrência total dos fungos, teor de ergosterol no folheto e a riqueza total das áreas de ESEC Caeté e RPPN Trapiche.....	46
-------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Média das temperaturas do ar e do solo das áreas de estudo da ESEC Caetés e RPPN Trapiche.	33
Tabela 2 -	Media das temperaturas do Ar e do Solo das coletas de ESEC Caetés e RPPN Trapiche.....	33
Tabela 3 -	Ocorrência dos taxons (Gênero/Espécie) de fungos de folheto terrestre nas áreas de Caetés e RPPN Trapiche, coletas realizadas no período de novembro de 2020 a agosto de 2021.....	35
Tabela 4 -	Índice da riqueza de Espécies, ocorrência, Diversidade de Shannon-Wiener (H'), Equitabilidade de Pielou (e), Dominância de Berger-Parker (d) e Permanova de fungos, aplicados às áreas de Caetés e RPPN Trapiche.....	39
Tabela 5 -	Riqueza de Espécies, Ocorrência, Diversidade de Shannon-Wiener, Dominância de Berger-Parker e Equitabilidade de Pielou (e) e de fungos conidiais de folheto terrestre calculados por Coleta.....	40
Tabela 6 -	Análise de variância entre as médias de ergosterol das áreas ESEC Caetés e RPPN Trapiche. Médias que não compartilham uma mesma letra na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.....	44
Tabela 7 -	Análise de variância entre as médias de ergosterol entre as coletas de ESEC Caetés e RPPN Trapiche. Médias que não compartilham uma mesma letra na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1	ÁREAS NATURAIS DE FLORESTAS ÚMIDAS.....	15
2.2	A MATÉRIA ORGÂNICA NAS MATAS	16
2.3	O REINO <i>FUNGI</i>	17
2.3.1	Os <i>Ascomycota</i>	18
2.4	BREVE HISTÓRICO DOS SOBRE OS FUNGOS CONIDIAIS.....	19
2.5	QUANTIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE FUNGOS EM FOLHEDO TERRESTRE.....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	ÁREAS DE ESTUDO	22
3.2	COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE FOLHEDO	23
3.3	ANÁLISE MORFOLÓGICA E TAXONÔMICA	26
3.4	EXTRAÇÃO DO ERGOSTEROL DO FOLHEDO.....	27
3.4.1	Quantificação cromatográfica do ergosterol do folhedo	28
3.5	ANÁLISES DAS COMUNIDADES DE FUNGOS CONIDIAIS DA ESEC DE CAETÉS E DA RPPN TRAPICHE.....	28
3.5.1	Constância e frequência de ocorrência	29
3.5.2	Estimativa de riqueza	29
3.5.3	Diversidade de Shannon-Wiener (H')	29
3.5.4	Equitabilidade de Pielou (J')	30
3.5.5	Dominância de Berger-Parker (d)	30
3.5.6	Similaridade	30
3.6	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	31
3.6.1	Análise de variância (ANOVA)	31
3.6.2	Correlação de Pearson	31
3.6.3	Análise de componentes principais (PCA)	31
4	RESULTADOS	32
4.1	CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL.....	32
4.2	RIQUEZA, OCORRÊNCIA, CONSTÂNCIA E FREQUÊNCIA DE FUNGOS	

	CONIDIAIS DE FOLHEDO TERRESTRE.....	34
4.3	ESTIMATIVA DE RIQUEZA, ÍNDICES ECOLÓGICOS E SIMILARIDADE ENTRE AS COMUNIDADES DOS FUNGOS DE FOLHEDO TERRESTRE	38
4.4	ANÁLISES DE ERGOSTEROL COMO BIOMARCADOR DE BIOMASSA DE FUNGICA.....	42
4.5	ANÁLISE DA ESTRUTURA DA COMUNIDADE PELO MÉTODO DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA).....	45
5	DISCUSSÃO.....	47
5.1	CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL.....	47
5.2	RIQUEZA DE ESPÉCIES E OCORRÊNCIA DE FUNGOS DE FOLHEDO TERRESTRES DAS ÁREAS DE (ESEC CAETÉS E RPPN TRAPICHE).....	47
5.3	ÍNDICES ECOLÓGICOS, SIMILARIDADE E CONSTÂNCIA	49
5.4	TEOR DE ERGOSTEROL NO FOLHEDO E OS FUNGOS CONIDIAIS NAS ÁREAS DE ESTUDO.....	50
5.5	ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE FUNGOS CONIDIAIS	52
6	CONCLUSÕES	53
	REFERÊNCIAS.....	54

INTRODUÇÃO

Alguns microfungos, também conhecidos como fungos conidiais, estão distribuídos tanto no ambiente terrestre quanto no ambiente aquático, são abundantes e crescem em substratos naturais como tecidos de plantas, excrementos, insetos e artrópodes, e podem estar em simbiose, como nos líquens (Kirk et al., 2008).

A reprodução desses fungos ocorre de forma assexuada, denominada mitospórica, por meio da produção de conídios, que corresponde à fase anamorfa dos fungos. Os fungos conidiais constituem um grupo polifilético e heterogêneo com representantes dos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* (Gusmão; Maia, 2006).

Comumente, o estudo dos fungos conidiais de folheto é realizado no interior de florestas úmidas, como a Mata Atlântica, pois nestas são produzidas grandes quantidades de matéria orgânica (MO) da qual a serapilheira, composta por restos de vegetais e animais mortos, é o principal componente. Na serapilheira ocorre intensa decomposição de matéria orgânica, por meio da ação de micro-organismos decompositores, o que devolve os nutrientes para o solo. Em uma floresta, a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes servem de parâmetro para estimar a capacidade produtiva do solo da floresta (Figueiredo-Filho et al., 2003; Halme; Kotiaho, 2012). A serapilheira pode, ainda, estar relacionada com a diversidade de micro-organismos devido à diversidade de nutrientes disponíveis. Este ambiente é para os micro-organismos, incluindo os fungos, um habitat favorável para desenvolvimento (Figueiredo et al., 2018).

A Mata Atlântica é conhecida como um dos biomas mais importantes e ameaçados do planeta. Este bioma é rico em biodiversidade e contribui amplamente para o estudo de fungos de folheto. A intensa decomposição de MO que ocorre nas áreas de Mata Atlântica está entre os serviços prestados pela natureza. Dentre esses, destacam-se os que são prestados pelo solo, que são classificados como serviços de suporte. No grupo dos serviços de suporte estão incluídos o aumento da retenção de carbono, ciclagem de nutrientes e proteção de mananciais existentes no interior das matas que mantêm todas as outras funções do sistema, promovendo o equilíbrio do ecossistema que, muitas vezes, abastece parte da população do entorno (TEEB, 2010).

Para a caracterização da comunidade de fungos conidiais nos substratos foliares existem algumas técnicas que podem ser aplicadas como a análise taxonômica dos espécimes

(Ruzicka et al., 2000), e análise das variáveis ambientais e química dos substratos (Lage et al, 2017).

A quantificação da biomassa dos fungos nos substratos por meio da análise de ergosterol, substância presente nas células da grande maioria dos fungos, é uma análise química que também pode ser incluída na caracterização da comunidade de fungos (Ruzicka et al., 2000).

Este trabalho foi conduzido de acordo com a hipótese que Existe diferença entre as comunidades de hifomicetos de folhedo de duas áreas estudadas uma impactada e outra preservada. Os objetivos gerais do trabalho foram comparar as comunidades de fungos conidiais de folhedo em duas áreas naturais de floresta úmida com diferentes influências antrópicas e determinar os principais fatores abióticos que influenciam a diversidade, composição e estrutura dessas comunidades. Os objetivos específicos foram (a) identificar espécimes de fungos conidiais no folhedo sobre o solo em duas áreas de Mata Atlântica em Pernambuco; (b) caracterizar a temperatura do ar e do solo e coletar dados de pluviosidade local de agência meteorológica próxima às áreas de estudo no período de coletas; (c) quantificar a biomassa de fungos no folhedo nas áreas estudadas por meio da quantificação de ergosterol; (d) comparar a riqueza, diversidade, ocorrência e biomassa dos fungos com as variáveis ambientais e verificar se existe alguma correlação entre elas; (e) ampliar o conhecimento sobre fungos conidiais de folhedo em Pernambuco.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ÁREAS NATURAIS DE FLORESTAS ÚMIDAS

As áreas tropicais com cobertura florestal abrigam uma rica biodiversidade que se encontra ameaçada (Joly et al, 2014). Essas são áreas naturais distribuídas em três grandes blocos: América do Sul, África e ilhas do sudeste asiático, sendo eles desconectados entre si (Souza; Ribeiro, 2017). A importância dessas florestas vai além da manutenção de sua rica e diversificada biota. Esses ambientes oferecem um amplo conjunto de serviços ecossistêmicos importantes para os seres humanos, ou seja, realizam contribuições diretas e indiretas para o bem-estar humano (TEEB, 2010).

No Brasil, as Florestas Tropicais Úmidas recebem os nomes de Floresta Amazônica e Mata Atlântica. A Mata Atlântica, considerada a segunda maior floresta úmida das Américas, apresenta alta riqueza e diversidade de espécies, sendo composta por formações florestais nativas como: Florestas Ombrófilas (Aberta, Densa e Mista), Floresta Estacional Decidual e Semidecidual, além de ecossistemas associados como restingas, manguezais, campos de altitude e brejos de altitude. A Mata Atlântica é considerada um *hotspot* mundial por se tratar de uma área com alta biodiversidade e endemismo, e se encontra ameaçada de extinção (Mittermeier et al., 2004; Brasil, MMA, 2019).

O bioma Mata Atlântica se estende por 17 estados do litoral brasileiro, abrangendo desde o Rio Grande do Sul até o Rio Grande do Norte e inclui outros dois países da América Latina: Argentina e Paraguai (Pinto; Brito, 2005; MMA, 2019). Este foi um dos maiores biomas de florestas tropicais das Américas, originalmente cobrindo cerca de 150 milhões de ha em condições ambientais diversificadas (Ribeiro et al., 2009).

No interior das florestas, geralmente, são encontradas matas ciliares, que são faixas de vegetação que ficam às margens dos corpos hídricos, protegendo os rios. Devido à sua importância, a mata ciliar é considerada, de acordo com o Código Florestal Brasileiro (Lei nº 4.777/65), como Área de Preservação Permanente (APP). No entanto, é comum o desmatamento de áreas para implantação de cultivos agrícolas, criação de gado, expansão de áreas urbanas, obtenção de madeira, extração de areia dos rios, especulação imobiliária para construção de casas, entre outros tipos de desmatamento (Castro, 2012). No estado de Pernambuco, remanescentes de Mata Atlântica estão conservados em Unidades de Conservação que estão divididas em Unidades de Proteção Integral e Unidades de Uso

Sustentável. Pernambuco possui 89 Unidades de Conservação Estaduais, sendo 44 de Proteção Integral e 45 de Uso Sustentável (CPRH, 2021).

Devido aos desmatamentos das matas nativas, houve a necessidade de intervenções e decretos de proteção ambiental. Algumas áreas de vegetação estão preservadas em Unidades de Conservação inseridas em áreas urbanas, como fragmentos de mata nativa protegidas.

Em Pernambuco, a capital, Recife, está 100% inserida na região do bioma Mata Atlântica e se destaca como uma das cidades que mais preserva tal vegetação, pois possuem 4,4 mil hectares de mata conservada, com fragmentos que se estendem pela zona da mata norte e sul (INPE, 2015; MMA, 2019). Na Zona da Mata (norte e sul) de Pernambuco, uma das principais causas da fragmentação das matas foi a introdução de monoculturas de cana-de-açúcar (Cabral; Maciel, 2011).

A Lei Nº 9.985/2000, que estabelece o Sistema Nacional de Unidades de Conservação, tem como função garantir a preservação do patrimônio biológico existente em diferentes populações. Essa lei define o Plano de Manejo, um documento técnico fundamentado nos objetivos da Unidade de Conservação, em seu zoneamento, e nas normas que regem o manejo dos recursos, como o principal documento da UC (CPRH, 2021).

2.2 A MATÉRIA ORGÂNICA NAS MATAS

Em solos de florestas, a matéria orgânica (MO) depositada atua diretamente no controle da erosão e na disponibilização de nutrientes para os organismos, favorecendo o equilíbrio ecológico do ecossistema (Alcamo et al., 2007). Uma das funções mais importantes da matéria orgânica do solo é o estoque e a incorporação do nitrogênio e do carbono, com parte desses elementos sendo liberados pela ação dos micro-organismos decompositores (Azevedo et al., 2018).

A decomposição da serapilheira no solo e a redução da matéria orgânica são processos que estão sincronizados, produzindo um retorno eficiente de nutrientes, que são liberados pela ação dos decompositores e são necessários para as plantas. Os minerais obtidos por decomposição de MO são utilizados no solo das matas, que são pobres em nutrientes, ajudando no crescimento e desenvolvimento das florestas, incrementando a biomassa que volta, eventualmente, como serapilheira (Vital et al., 2004).

Dentre os fungos aptos a decompor a matéria orgânica estão às fases assexuadas dos representantes dos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota*, também chamados de fungos conidiais

ou hifomicetos e celomicetos, que formam um morfogrupo polifilético (Moore-Landecker, 1990; Gusmão; Barbosa; 2006; Shearer et al. 2007).

Nos locais com abundante matéria orgânica são encontrados variados fungos capazes de decompor diferentes tipos de substratos, dos mais complexos como madeira aos mais simples como material foliar (Halme; Kotiaho, 2012). Os fungos conidiais são considerados colonizadores chave do folheto da serapilheira, estão presentes nas florestas, realizando a decomposição da matéria orgânica e devolvendo os nutrientes para o solo (Halme; Kotiaho, 2012; Dix; Webster, 1995). A decomposição da serapilheira pode, ainda, estar relacionada com a diversidade de micro-organismos em função dos nutrientes disponíveis, contudo, a microbiota também aumenta a palatabilidade dos substratos, viabilizando o consumo pelos detritívoros, devido à biomassa fúngica gerada (Alexopoulos et al., 1996).

2.3 O REINO *FUNGI*

O Reino *Fungi* foi determinado por Whittaker (1969) após os fungos terem sido classificados como componentes do reino vegetal por muitas décadas. Depois ficaram evidentes as diferenças que os caracterizam em um reino próprio (Kirk et al., 2008).

Os fungos possuem estruturas morfológicas micro e macro visíveis, de valor taxonômico, e compartilham entre si características evolutivas semelhantes como: células eucariontes, alimentação por absorção, heterotrofia e ausência de clorofila, possuem corpo unicelular (leveduras) ou pluricelular (filamentosos), resultando em hifas cujo conjunto constitui o micélio. Em fungos superiores, essas hifas podem formar talos ou corpo de frutificação e apresentam um poderoso aparato enzimático que degrada uma rica variedade de substratos (Alexopoulos et al., 1996; Kendrick, 1992).

De acordo com Kendrick et al. (2000), foram classificados três filos e oito classes para *Eumycota* (Fungos verdadeiros): *Chytridiomycota*, *Zygomycota* e *Dicariomycota* com dois sub filos, *Ascomycotina* e *Basidiomycotina*. No entanto, uma das classificações mais atuais dos fungos, com base em filogenia e análise molecular do tempo de divergência (Tedersoo et al., 2018) posiciona os fungos no super-reino Holomycota, Reino Fungi, que abrange nove sub-reinos: *Aphelidiomycota*, *Basidiobolomycota*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota*, *Dikaria*, *Mucoromycota*, *Olpidiomycota*, *Rozelomycota* e *Zoopagomycota*, e dezoito filos: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota*, *Glomeromycota*, *Neocallimastigomycota* (Hibbett et al., 2007), *Entomophthoromycota* (Humber, 2012),

Mucoromycota e *Zoopagomycota* (Spatafora et al., 2016), *Aphelidiomycota*, *Basidiobolomycota*, *Calcarisporiellomycota*, *Entorrhizomycota*, *Kickxellomycota*, *Monoblepharomycota*, *Mortierellomycota*, *Olpidiomycota* e *Rozellomycota* (Tedersoo et al., 2018).

Nos ambientes, os fungos possuem hábitos sapróbios, habitando diversos substratos terrícolas, corticícolas, lignícolas, coprófilos. Como parasitas, são causadores de doenças em plantas e animais e também atuam como predadores de animais, protistas e de outros fungos. Os fungos atuam também como mutualistas, formando associação com plantas ectomicorrízicas e endomicorrízicas, ou com algas formando líquens, e também são endófitos (Alexopoulos et al., 1996; Seifert, et al, 2011). A maior parte das espécies de fungos existentes pertence ao filo *Ascomycota*, o maior grupo do reino *Fungi* (Hawksworth; Lücking, 2017).

2.3.1 Os *Ascomycota*

As relações dentro do filo *Ascomycota* permaneceram incertas até o uso da análise de sequência de genes para estimar a filogenia desse filo.

No que concerne ao registro fóssil, a origem dos *Ascomycota* é estimada entre 0,4 a 1,3 bilhões de anos e este é considerado grupo irmão de *Basidiomycota*. *Ascomycota* é o maior grupo do reino *Fungi*, constituído de cerca de 80% de todos os fungos descritos (Kirk et al. 2008, Spatafora et al. 2017)

Inicialmente, os *Ascomycota* foram agrupados apenas de acordo com o tipo de ascoma e arranjos dos ascos, no entanto, houve grandes desenvolvimentos na taxonomia dos fungos nos últimos anos, com muitos acréscimos e com advento de análises de sequências de DNA que forneceram subsídios para mudanças (Spatafora et al, 2016). Wijayawardene et al. (2018) consideram três subfilos: *Pezizomycotina* que possui 13 classes, 124 ordens, e 507 famílias; *Saccharomycotina* com uma classe, uma ordem, e 13 famílias; *Taphrinomycotina* com cinco classes, cinco ordens e seis famílias, que são mantidos do trabalho anterior (Wijayawardene et al., 2017). Os ascomicetos apresentam valores diversos nas áreas da biotecnologia, agricultura e medicina. Na importância ecológica eles atuam decompondo a matéria orgânica, fazendo com que ocorra o ciclo de energia e nutrientes (Alexopoulos et al, 1996).

2.4 BREVE HISTÓRICO DOS FUNGOS CONIDIAIS

Ao longo de décadas, foram diversas as contribuições para o conhecimento dos fungos. Entre essas contribuições está a identificação taxonômica, que teve início com a classificação morfológica. Em 1729, Micheli descreveu os taxons conidiais *Aspergillus* e *Botrytis* aceitos até hoje. Outra contribuição foi feita por Saccardo, em 1886, que com sua obra, *Sylloge fungorum vol. IV*, organizou e classificou os fungos embasado em arranjos estruturais, pigmentação e reprodução (Subramanian, 1983).

A partir dos trabalhos de Hughes (1953) e Tubaki (1963), as características morfológicas e ontogênicas se tornaram importantes para identificação dos fungos conidiais. Em 1972, Barron apresentou um esboço dos critérios utilizados para classificar os hifomicetos e simplificou a classificação dos fungos conidiais. Vários trabalhos referentes à conidiogênese efetivaram o estudo da ontogenia dos fungos conidiais como caráter para identificação, por exemplo, Carrol & Carrol (1974), Cole & Aldrich (1971) e Cole & Kendrick (1971).

, as quais se formam em um talo, denominado conidióforo, que pode ser simples ou, em certos fungos, podem se agregar para formar um conidioma (Kendrick, 2003).

Seifert et al. (2011) classificaram os fungos conidiais quanto à estrutura reprodutiva em três grupos artificiais: blastomicetos, hifomicetos e celomicetos. Os blastomicetos são leveduras que se reproduzem assexuadamente; os celomicetos se desenvolvem em estruturas como picnídios ou acérvulos; e os hifomicetos, normalmente, possuem conidióforos simples ou agregados em sinêmios ou esporodóquios. Dentre os três grupos, os hifomicetos são os mais pesquisados (Kirk et al, 2008). Com relação à classificação taxonômica tradicional dos fungos conidiais, esta se limita a gênero e espécie e está baseada na ontogenia do conídio e morfologia de estruturas reprodutivas assexuadas como: conidióforos, que variam em relação à coloração, organização, septação; células conidiogênicas, que diferem quanto à posição, tipo de conidiogênese, extensão percorrente; conídios, que tem como função principal a dispersão da espécie e apresentam várias formas e coloração, e ainda a presença de setas com diferentes adaptações (Kirk et al., 2008). Quanto ao desenvolvimento dos conídios, segundo Kendrick (1971) e Ellis (1971), existem dois tipos: blástico que é subdividido em holoblástico e enteroblástico, e tático que é subdividido em holotático e enterotático. Como os fungos conidiais constituem um grupo polifilético e heterogêneo, com representantes em mais de um filo (Gusmão; Maia, 2006), existiam várias propostas para sua classificação. Todas eram

artificiais, não havendo uma relação filogenética entre os taxons, e os nomes sugeridos para a utilização de classes eram uma forma prática de facilitar o uso acadêmico (Grandi, 1999).

Para ampliar o conhecimento das espécies de fungos, ferramentas moleculares têm contribuído para mostrar o caráter polifilético de vários gêneros como: *Acremonium* Link (Glenn et al., 1996), *Chalara* (Corda) Rabenh. (Paulin; Harrington, 2000) e *Sporidesmium* Link (Shenoy et al., 2006). Há quase duas décadas, o número estimado de fungos conidiais descritos no mundo era aproximadamente 15.000 espécies, distribuídas em cerca de 2.873 gêneros (Lewinsohn; Prado, 2005). Estes autores estimaram para o Brasil entre 1.280 a 1.730 espécies de fungos conidiais. No entanto, o país carece de uma estimativa atualizada para este grupo de fungos.

Uma lista desses fungos pode ser obtida no site Flora do Brasil (Flora do Brasil 2020), cujas atualizações incluem os novos taxons descritos a partir dos levantamentos taxonômicos e estudos de diversidade e ecologia em diversos biomas.

O início das pesquisas sobre microfungos na região Nordeste do Brasil se deu com Batista e colaboradores, nas décadas de 50 a 70 (Silva; Minter, 1995), seguido por Maia (1983). Estes pesquisadores analisaram os fungos responsáveis pela decomposição de folhas de vegetais específicos. Em florestas úmidas, no bioma Mata Atlântica, trabalhos com esse grupo de fungos foram desenvolvidos nos estados da Bahia (Marques et al., 2015; Gusmão, 2001; 2006; Santos et al., 2015; Santana et al., 2017; Costa et al., 2015; 2017), Pernambuco (Araújo et al., 2016; Costa et al., 2016; 2016a; 2016b; 2016c; 2017; 2018; Barbosa et al., 2016; 2016a; 2017; 2018; Malosso et al., 2018) e São Paulo (Grandi et al., 2008; 2010), principalmente.

2.5 QUANTIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE FUNGOS EM FOLHEDO TERRESTRE

Os fungos e as bactérias constituem considerável parcela da biomassa ativa em vários substratos, no entanto, os fungos contribuem com uma maior proporção para o total de biomassa microbiana devido à sua maior dimensão celular (hifas de 2 a 10 μm de diâmetro). A quantificação da molécula de ergosterol para verificação da biomassa de fungos foi inicialmente utilizada para avaliação da contaminação por fungos em grãos armazenados (Seitz et al., 1979) Em seguida, essa avaliação foi aplicada em substratos como: solos, folheto e lodo ativado (Gessner et al., 1991). O ergosterol pode fornecer uma estimativa da biomassa total dos fungos, entretanto, não fornece informações sobre as espécies envolvidas nos processos que ocorrem nos substratos, pois é um método indireto de quantificação (Hirsch;

Mauchline; Clark, 2010). Dentre as formas de se quantificar a biomassa dos fungos nos substratos, a quantificação do ergosterol é relatada como uma forma que dá resultados confiáveis (Malosso et al., 2004). No Brasil, Malosso (1999) realizou o primeiro estudo que avaliou os teores de ergosterol contidos em folheto submerso em ambientes aquáticos lóticos e lêntico no estado de São Paulo.

Este trabalho foi seguido pelos de Moreira (2006; 2011) que avaliou a biomassa fúngica por ergosterol durante a decomposição de folheto de *Tibouchina pulchra* Cogn. submerso em reservatórios do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga e de *Caesalpinia echinata* Lam. e *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum submersos em lagos artificiais na cidade de São Paulo, respectivamente. E também pelo de Araújo (2016), que estudou, junto com a diversidade, a biomassa de fungos conidiais em folheto sobre o solo em sistema agroflorestal (SAF) comparando-o com um fragmento de Mata Atlântica.

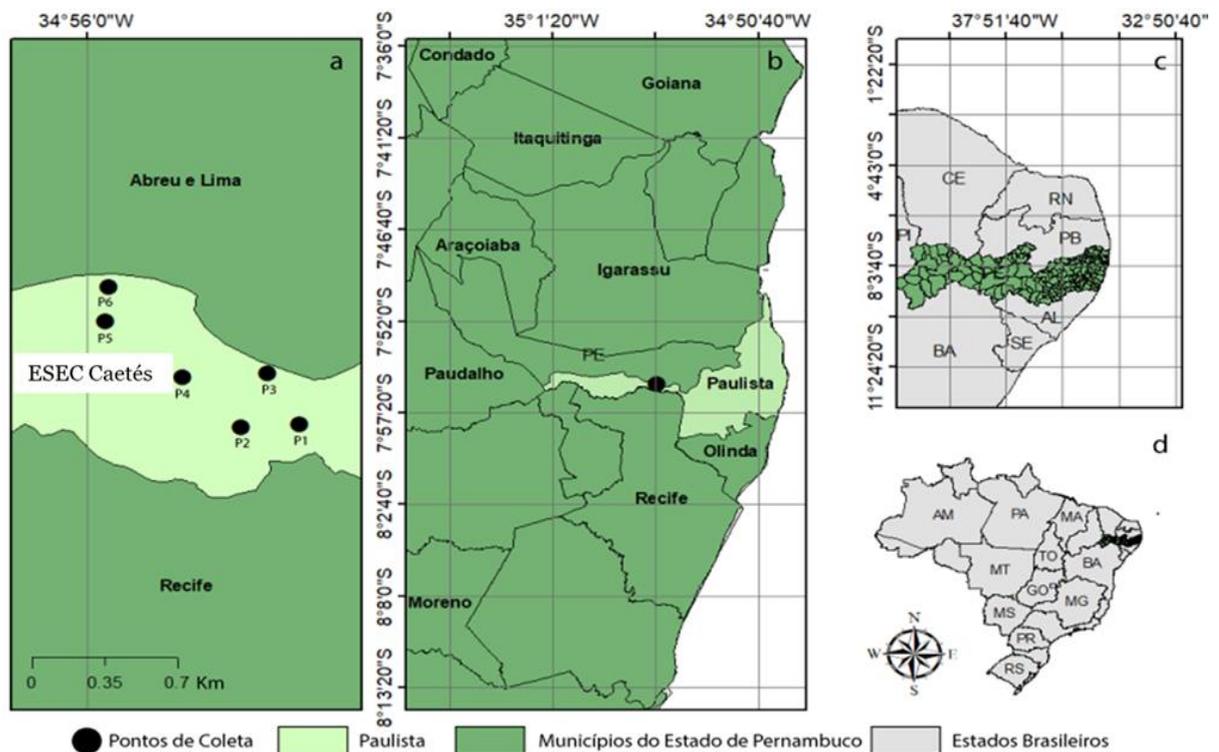
Koivusaari et al (2019) estudaram fungos originários de folhas de árvores e outros substratos submersos em um curso d'água, comparando o teor de ergosterol, e determinaram o teor de ergosterol maior em outros substratos do que nas folhas caídas. Silva et al (2019) compararam as comunidades de hifomicetos aquáticos em folheto submerso entre ambientes lênticos e lóticos na floresta tropical atlântica de Pernambuco e relacionaram altos teores de ergosterol com alta ocorrência de hifomicetos aquáticos. No Brasil, estudos que visaram avaliar as comunidades de fungos e incluíram metodologia para mensuração da biomassa de fungos em folheto são mais comuns associados aos substratos submersos do que aos terrestres. Estudos contemplando a quantificação da biomassa fúngica em folheto terrestre no Brasil são escassos e pontuais quando comparados com outras regiões tropicais ou de clima temperado (Gessner et al, 2007; Moreira, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREAS DE ESTUDO

A pesquisa foi realizada em duas áreas de floresta úmida em Pernambuco. Uma delas é a Estação Ecológica de Caetés (ESEC), localizada no município de Paulista, que é inserida na porção norte da Região Metropolitana do Recife ($7^{\circ}55'15''$ e $7^{\circ}56'30''$ S e $34^{\circ}55'15''$ e $34^{\circ}56'30''$ O), que se trata de uma Unidade de Conservação de Proteção Integral e faz parte da APA Aldeia de Beberibe. A ESEC possui área aproximada de 157 ha, com mata classificada de Floresta Ombrófila de Terras Baixas (IBGE, 2012; CPRH, 2021).

Figura 1 - Localização e coordenadas geográficas dos pontos de coleta na ESEC de Caetés, Paulista, Pernambuco, Brasil.

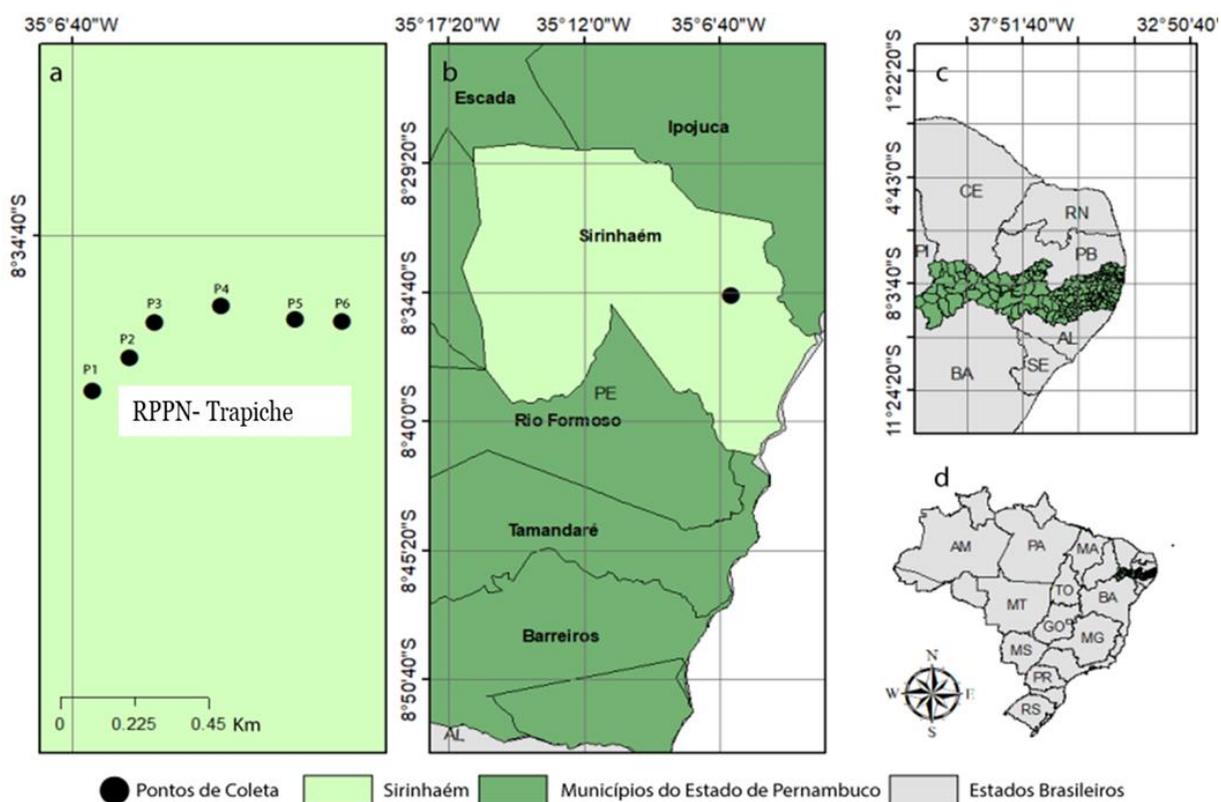


Fonte: Este trabalho, 2021.

A outra área é a Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Trapiche, localizada no município de Sirinhaém, na região da Zona da Mata - litoral sul do estado ($8^{\circ}36'22,55''$ e $8^{\circ}41'06,29''$ S e $35^{\circ}03'02''$ e $35^{\circ}15'44,14''$ O), que ocupa uma área de 768 hectares, do total de 2,2 mil hectares pertencente à Usina Trapiche S.A, tendo sido estabelecida em 2018 por meio da portaria CPRH nº018/2018.

O clima da região é marcado por um período seco, entre os meses de outubro e fevereiro, com temperatura máxima de 34°C, e um período chuvoso, de maio a agosto, com temperatura mínima chegando aos 21°C. Os dados pluviométricos desse trabalho foram compilados do sítio na internet do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e as temperaturas do ar e do solo foram aferidas nos locais de coleta com o auxílio de um termômetro digital.

Figura 2 - Localização e coordenadas geográficas dos pontos de coleta na RPPN Trapiche, Sirinhaém, Pernambuco, Brasil.



Fonte: Este trabalho, 2021.

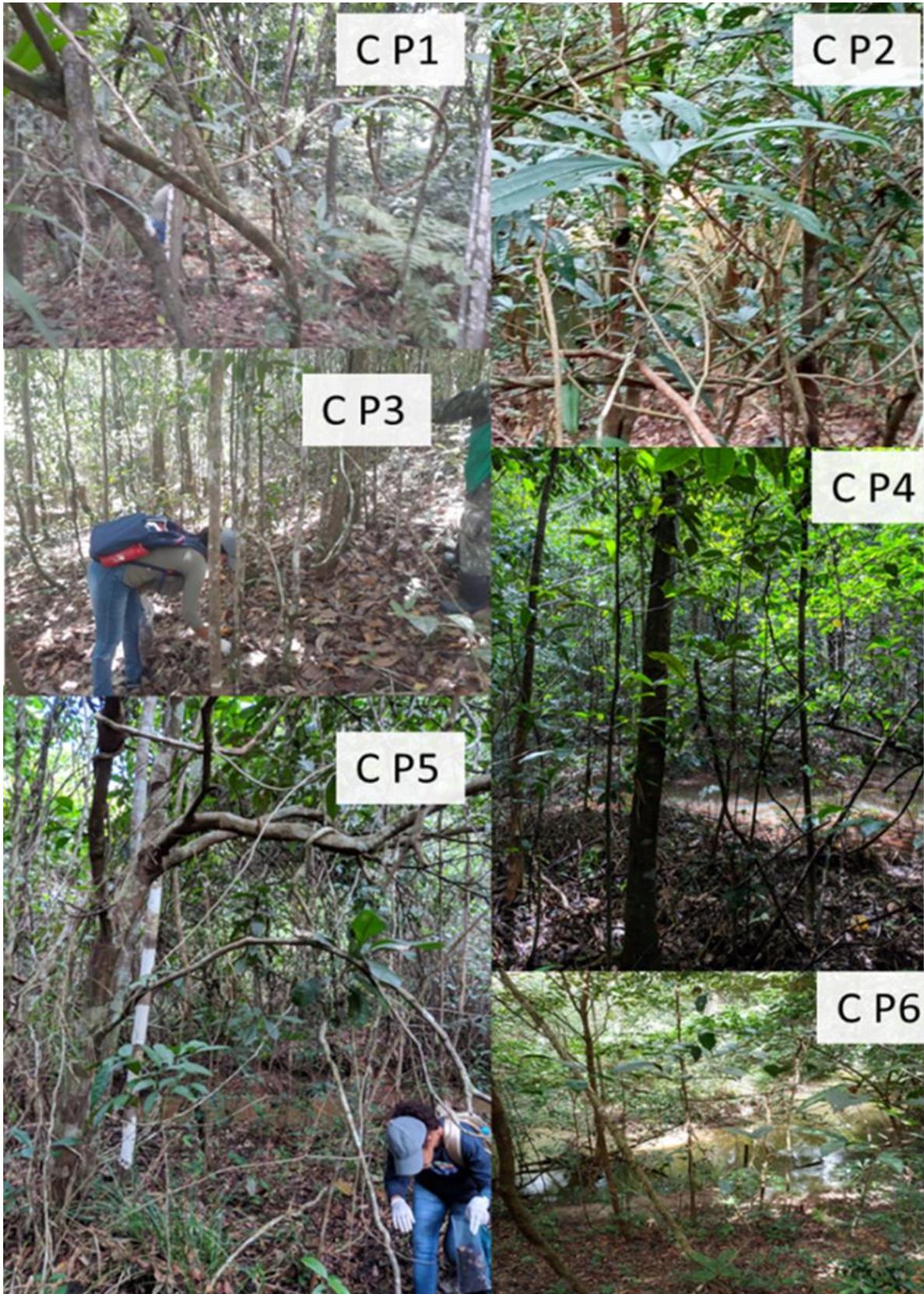
3.2 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE FOLHEDO

Foram realizadas oito expedições (quatro na ESEC de Caetés e quatro na RPPN Trapiche) de novembro de 2020 a agosto de 2021, com intervalos de dois meses entre as coletas. Foram selecionados seis pontos de coleta em cada área, distribuídos ao longo do curso hídrico, cada um distando 4,5 m da calha do rio e cerca de 500 m um do outro (Figura 3).

Em cada ponto se fez a busca aleatória por folhas em decomposição sobre o solo, sem especificidade de espécie vegetal, em um quadrante de 5 m x 5 m (Figura 3). As folhas

coletadas foram colocadas em sacos plásticos, trazidas ao laboratório e lavadas por 30 minutos em recipiente plástico com o fundo perfurado, sobre uma bandeja posicionada em um ângulo de 45° abaixo da torneira, sem incidência direta da água sobre as folhas, para eliminação de detritos e nematóides, seguindo o tratamento descrito por Castañeda-Ruiz et al. (2016). Após a lavagem, as folhas foram acomodadas em papel jornal para absorver o excesso de água, e depois foram cortadas em fragmentos, sendo metade do fragmento colocado em câmaras úmidas para a análise taxonômica e a outra metade guardada no freezer a -20°C para posterior análise de ergosterol. As câmaras úmidas consistem de placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada. Estas foram armazenadas em caixa de isopor cujas laterais internas foram forradas com papel toalha umedecido e no fundo foi colocado um cm de água+glicerol. As câmaras ficaram sobre um suporte plástico para evitar contato com a água.

figura 3 - Aspectos dos pontos de coleta do folheto na ESEC de Caetés (C), Paulista, Pernambuco.



Fonte: Este trabalho, 2021.

Figura 4 - Aspectos dos pontos de coleta do folheto na RPPN Trapiche (T), Sirinhaém, Pernambuco

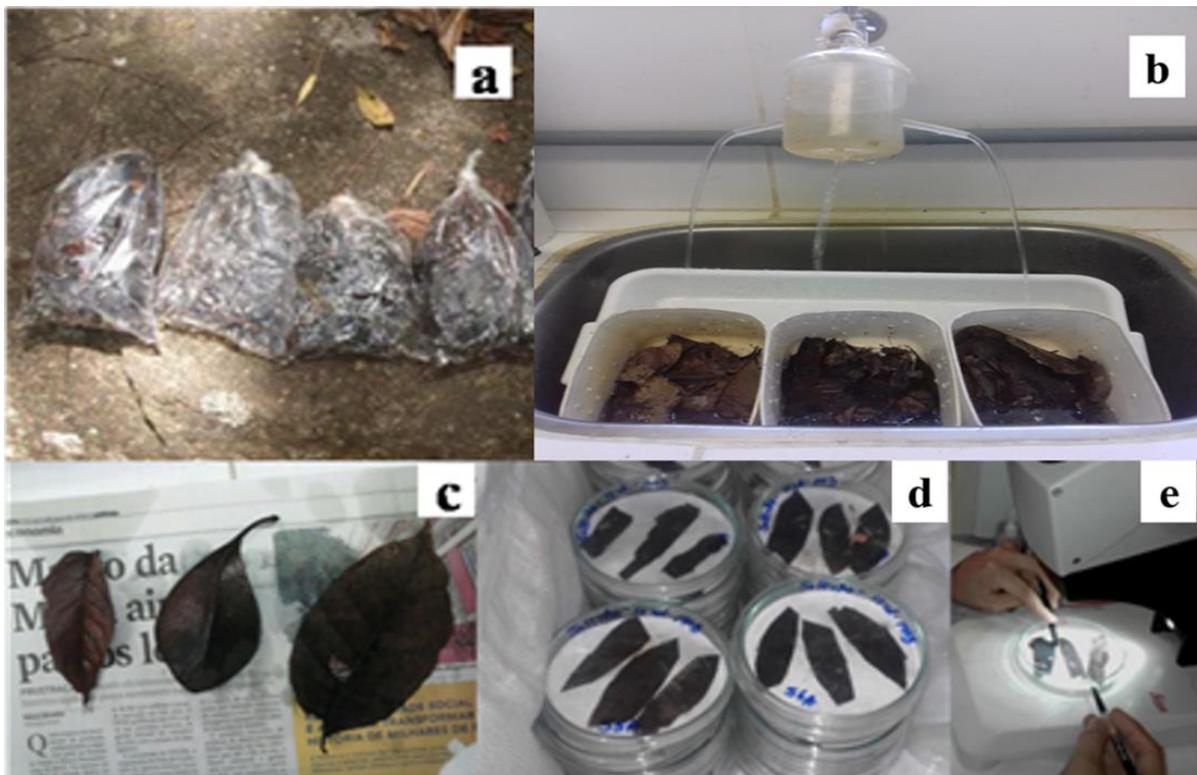


Fonte: Este trabalho, 2021.

3.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA E TAXONÔMICA

Após 72 horas de incubação, o material começou a ser observado. As observações foram continuadas por aproximadamente 30 dias. As estruturas fúngicas foram montadas em lâminas com PVLG para identificação dos fungos conidiais segundo a literatura específica [e.g. Ellis (1971, 1976), Matsushima (1971, 1975, 1985, 1993), Seifert et al. (2011) entre outros].

Figura 5 - Etapas do processamento das amostras do folheto terrestre. (a) Amostras acondicionadas em sacos plásticos na coleta; (b) Processo de lavagem das folhas em água corrente; (c) Secagem das folhas em papel jornal, para serem cortadas; (d) Câmaras úmidas contendo três fragmentos de folhas; (e) Análise taxonômica dos fragmentos das folhas em estereomicroscópio.



Fonte: Este trabalho, 2021.

3.4 EXTRAÇÃO DO ERGOSTEROL DO FOLHEDO

O procedimento para a extração de ergosterol foi realizado conforme a técnica publicada por Seitz et al. (1977) com adaptações para as amostras do presente estudo. Foram pesados 2 g de amostras do folheto macerado em almofariz, com nitrogênio líquido, que foram colocados em tubos grandes de extração e adicionados 10 ml da solução extratora (etanol absoluto + ácido pirogálico). Os tubos foram agitados por 2 horas em agitador orbital e, em seguida, o conteúdo foi transferido para novos tubos e centrifugados a 12.000 G por 10 min a 10 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo e adicionado 1 ml de KOH 60%, seguido de incubação em banho-maria a 90 °C por 30 min. Após esse tempo, foram adicionados 1 ml de água destilada e 4 ml de hexano à cada tubo, que foi agitado em vórtex e deixado sobre a bancada para separação das fases. A fase hexânica foi removida para novo tubo e o processo repetido com mais 2 ml de hexano. Em seguida, foram colocados os tubos com a fase hexânica abertos, em capela, sobre placa aquecida para

evaporação completa do hexano. Após secos, os tubos receberam 2 ml de metanol e foram agitados em agitador orbital (TA) por ~ 1 hora.

O ergosterol eluído foi transferido para tubos escuros com tampa rosqueável e armazenados em freezer a -20°C.

3.4.1 Quantificação cromatográfica do ergosterol do folheto

O ergosterol foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Shimadzu - Modelo Prominence) no laboratório de apoio à pesquisa CENLAG da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE), em Garanhuns-PE. Foram injetados 10µl da amostra no sistema cromatográfico, no qual foi utilizado metanol como fase móvel a um fluxo de 1ml/min. e uma coluna cromatográfica C18 fase reversa (Kinetex- C18 – 5µm 150 x 4.6 mm, Phenomenex). O ergosterol foi identificado com detector de ultravioleta (Photodiode Array (PDA) Detector, SPD-M20A, Shimadzu) com comprimento de onda ajustado em 282 nm, a uma temperatura de 35 °C. O tempo de retenção do ergosterol na análise foi de aproximadamente de 3.5 a 4 minutos. Após a leitura da curva padrão, foram feitas as análises das amostras do folheto.

O conteúdo de ergosterol nas amostras foi calculado a partir da curva padrão da substância pura (SIGMA), construída com as seguintes concentrações de ergosterol: 0,0005 µg/mL, 0,001 µg/mL, 0,003 µg/mL, 0,007 µg/mL, 0,01 µg/mL, 0,03 µg/mL, 0,06 µg/mL. A quantificação foi realizada a partir da medida da área integrada do pico correspondente ao ergosterol contido na amostra, comparado com a área do pico correspondente ao padrão de ergosterol.

3.5 ANÁLISES DAS COMUNIDADES DE FUNGOS CONIDIAIS DA ESEC CAETÉS E RPPN TRAPICHE

Os fungos do folheto terrestre foram observados nos fragmentos foliares e contabilizados uma única vez nos substratos durante o estudo. Os substratos foliares correspondem a 864 fragmentos, de um total de oito expedições, sendo quatro expedições para cada área de estudo. Após a identificação morfológica das espécies, foi determinada a riqueza, estimadas constância e frequência de ocorrência e calculados os índices ecológicos diversidade, equitabilidade, dominância e similaridade entre as comunidades.

3.5.1 Constância e frequência de ocorrência

Foi realizado um cálculo para determinar a constância das espécies detectadas nas duas áreas de estudo, aplicando a seguinte fórmula: $C = p \cdot 100 / P$, em que: p = número de expedições em que uma espécie de fungo foi encontrada e P = número total de expedições. Os taxons foram divididos segundo as seguintes categorias de constância: $C \leq 25\%$ acidental, $25\% < C \leq 50\%$ acessória e $C > 50\%$ = constante (Dajoz, 1983).

Para determinar a frequência das espécies detectadas nas duas áreas de estudo, foi aplicada a seguinte fórmula: $F = n \cdot 100 / N$ onde, n = número de amostras em que uma espécie foi registrada; N = total de amostras. As classes de frequência foram: $F < 10\%$ = esporádica, $10 < F < 30\%$ = pouco frequente, $30 < F < 70\%$ = frequente e $F > 70\%$ = muito frequente (Dajoz 1983).

3.5.2 Estimativa de riqueza

A fim de avaliar a máxima riqueza de espécies de fungos conidiais nas duas áreas de coleta, foi aplicado o índice de Bootstrap (S_{boot}), inicialmente desenvolvido por Efron (1979) como um método correspondente ao Jackknife, mas que, em um estudo posterior foi tratado como um estimador mais amplamente aplicável e confiável (Smith; van Belle, 1984). A estimativa é calculada pela seguinte fórmula, somando-se a riqueza observada à soma do inverso da proporção de amostras em que ocorre cada espécie.

$$S_{boot} = S_{obs} + \sum_{k=1}^{S_{obs}} (1 - p_k)^m$$

Na equação, P_k é a proporção de amostras que contém a espécie “ k ”, e m é o número amostral. O estimador foi calculado com auxílio do programa EstimateS 9.10 (Colwell, 2013). Foram calculados intervalos de confiança de 95% associados aos valores estimados.

3.5.3 Diversidade de Shannon-Wiener (H')

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

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

Na qual: $p_i = n_i/N$; 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 os taxons identificados no folheto misto em decomposição das áreas de coleta.

3.5.4 Equitabilidade de Pielou (J')

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

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

Na qual: H' máximo é a diversidade máxima possível que pode ser observada se todas as espécies de fungos conidiais apresentarem igual abundância. H' máximo = $\log S$, onde: S = número total de espécies de fungos conidiais amostrados (Pielou, 1977). O índice de equitabilidade de Pielou varia de zero (menor uniformidade) a um (maior uniformidade).

3.5.5 Dominância de Berger-Parker (d)

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

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

Na qual: N_{\max} é o número de ocorrência da espécie mais abundante e N_T é o número total de ocorrência na amostra.

3.5.6 Similaridade

O índice de similaridade foi calculado a partir de variáveis binárias geradas. Foi realizado o cálculo de similaridade com o coeficiente DICE (Sorensen) e construído o dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA.

Os índices ecológicos de Diversidade de Shannon-Wiener (H), Equitabilidade de Pielou (e), Dominância de Berger-Parker e Similaridade foram calculados utilizando o programa PAST 3.18c (Hammer et al., 2013).

3.6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Inicialmente, o teste de normalidade foi aplicado aos dados a fim de estabelecer o tipo de teste estatístico (paramétrico ou não paramétrico) que seria utilizado neste estudo. Desta forma, foi realizado o teste de Normalidade de Shapiro-Wilk (S-W), utilizando o programa PAST 3.18c (Hammer et al, 2013), com nível de confiança de 95% (nível de significância (α) de 5%).

3.6.1 Análise de variância (ANOVA)

A análise de variância foi aplicada com a finalidade de identificar se há diferença significativa entre as áreas estudadas ou entre as coletas, relacionada com a temperatura do ar ou do solo, com os períodos seco e chuvoso, ou com o teor de ergosterol. Nos casos em que diferenças significativas foram detectadas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

3.6.2 Correlação de Pearson

A análise de correlação de Pearson foi aplicada, com auxílio do programa R (THE R CORE TEAM, 2018), com a finalidade de identificar se havia correlação entre a ocorrência de fungos e teor de ergosterol no folheto misto em decomposição referente às áreas e às coletas. A classificação dos valores resultantes de r foi: $r = 0,1-0,3$ (correlação fraca), $r = 0,4-0,6$ (correlação moderada) e $r = 0,7-1$ (correlação forte) (Dancey; Reidy, 2006).

3.6.3 Análise de componentes principais (PCA)

O método de análise por componentes principais (PCA) (Turk; Pentland, 1991) foi aplicado para testar diferenças na composição da comunidade de fungos conidiais do folheto entre os locais de coleta, ou seja, estrutura das comunidades influenciada pelas variáveis abióticas.

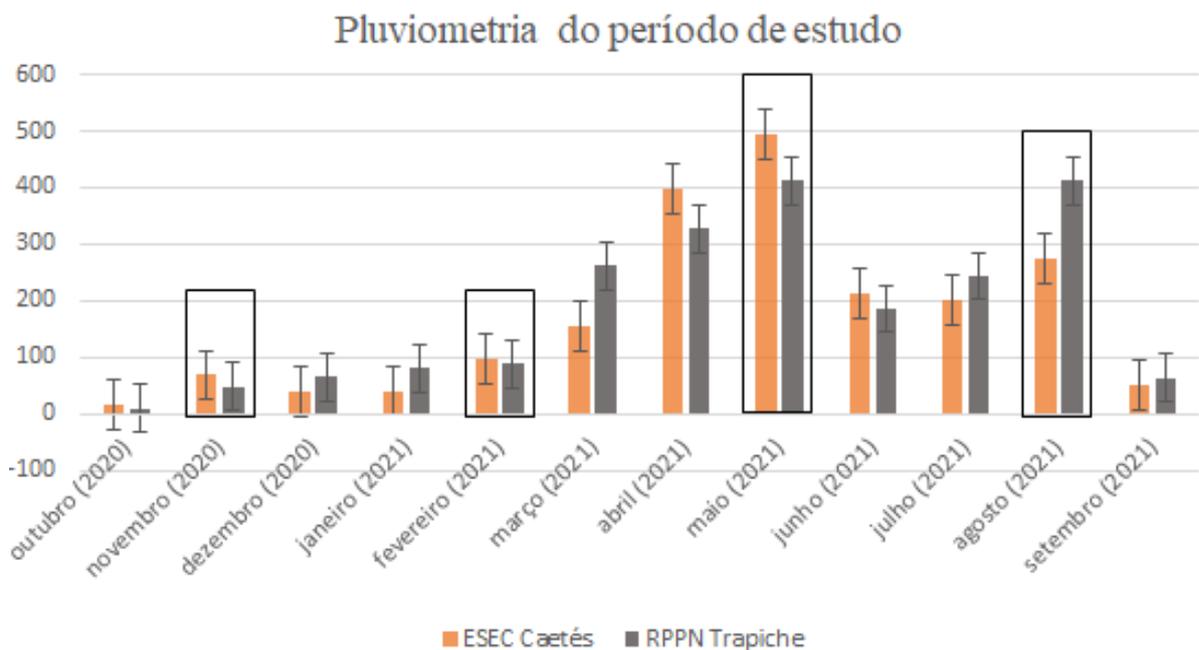
4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL

O clima típico na macrorregião onde se realizou o estudo apresenta invernos úmidos (abril a setembro) e verões secos (outubro a março). A pluviosidade mínima para a ESEC Caetés foi de 69 mm em novembro e a máxima foi de 493,8 mm em maio, enquanto na RPPN Trapiche, a pluviosidade mínima foi de 49 mm em novembro e a máxima de 412,4 mm em agosto (Figura 6).

Em relação aos períodos chuvoso e seco, foi observado que houve diferença significativa entre eles, com média de precipitação no período chuvoso de 307,2 mm na região da RPPN Trapiche e 288,8 mm na região da ESEC Caetés. A média de precipitação no período seco foi de 59,7 mm para a RPPN Trapiche e 52,6 mm para a ESEC Caetés. Entre as áreas não teve diferença significativa na quantidade de chuva exceto na coleta de agosto de 2021, quando choveu significativamente mais na RPPN Trapiche (Figura 6).

Figura 6 – Precipitação pluviométrica durante o estudo com destaque para os meses de coleta na ESEC Caetés e na RPPN Trapiche.



Fonte: Este trabalho, 2021.

A temperatura do ar na ESEC Caetés variou entre 24 °C e 30 °C, e a temperatura do solo variou entre 23 °C e 27 °C (Tabelas 1 e 2). A temperatura do ar na RPPN Trapiche variou entre 26 °C e 31 °C, e do solo variou entre 26 °C e 27 °C durante as coletas.

Em relação à temperatura do ar, foi observada diferença significativa entre a ESEC Caetés e a RPPN Trapiche, com os valores médios de 27.7 e 26.3 °C, respectivamente. A temperatura do solo também apresentou diferença significativa entre as áreas, com valores médios de 26.3 e 24.3 °C para a ESEC Caetés e RPPN Trapiche, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1- Média das temperaturas do ar e do solo das áreas de estudo da ESEC Caetés e RPPN Trapiche.

Médias que não compartilham a mesma letra na coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

ÁREAS	AR (°C)	SOLO (°C)
ESEC C	27.75 ^a	26.37 ^a
RPPN T	26.33 ^b	24.33 ^b

Fonte: Este trabalho, 2021.

Na ESEC Caetés foi observada diferença significativa entre as médias da temperatura do ar. A C1, com valor de 30.0 °C diferiu das demais coletas (Tabela 2), além disso, C3 e C4 não diferiram entre si. Para RPPN Trapiche foi observado diferença significativa entre as medias da temperatura do ar, pois 29 °C em C1 foi significativamente diferente do restante das coletas. Além disso, C3 e C4 também não diferiram entre si. Para a temperatura do solo, na ESEC Caetés foi observado que as coletas não diferiram entre si enquanto na RPPN Trapiche a temperatura do solo foi significativamente diferente entre as coletas C1 e C4.

Tabela 2- Media das temperaturas do ar e do solo das coletas ESEC Caetés e RPPN Trapiche. Médias que não compartilham a mesma letra na coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

	AR (°C)		SOLO (°C)	
	ESEC C	RPPN T	ESEC C	RPPN T
Coleta 1	30.0 ^a	29.0 ^a	26.8 ^a	25.8 ^a
Coleta 2	28.0 ^b	28.7 ^b	26.3 ^a	24.5 ^{ab}
Coleta 3	26.5 ^c	24.5 ^c	26.3 ^a	24.0 ^{bc}
Coleta 4	26.0 ^c	24.0 ^c	26.0 ^a	23.0 ^c

Fonte: Este trabalho, 2021.

4.2 RIQUEZA, OCORRÊNCIA, CONSTÂNCIA E FREQUÊNCIA DE FUNGOS CONIDIAIS DE FOLHEDO TERRESTRE

Nesse estudo foram analisados 864 fragmentos de folheto oriundos de oito expedições a campo e foi identificada uma riqueza total de 51 espécies de fungos nas duas áreas (Tabela 3). Dos 51 taxons identificados, 49 espécies foram da ESEC Caetés, com 26 espécies exclusivas e 23 em comum com a RPPN Trapiche. Na RPPN Trapiche, foram identificadas 25 espécies, com 2 espécies exclusivas. O número de ocorrências para a ESEC Caetés foi 454 e para a RPPN Trapiche foi 275. As espécies com maiores números de ocorrência foram: *Beltraniella portoricensis* com 70 ocorrências, seguida de *Cryptophiale kakombensis* com 39 ocorrências, e *Chalara alabamensis* e *Gyrothrix circinata* com 37 ocorrências cada.

Foram observados dois taxons exclusivos na RPPN Trapiche: *Circinotrichum maculiforme* e *Dendryphion vinosum*, enquanto 23 taxons foram exclusivos de Caetés (Tabela 3) *Castanediella* sp, *Chaetochalara laevis*, *Circinotrichum olivaceum*, *Cryptophialoidea fasciculata*, *Cylindrocarpon* sp, *Ellisembia photiniae*, *Gyrothrix grisea*, *Gyrothrix ramosa*, *Helicosporium vegetum*, *Inesiosporium longispirale*, *Lauriomyces heliocephalus*, *Linodochium sideroxyli*, *Paramyrothecium roridum*, *Periconia byssoides*, *Pseudobeltrania* sp, *Rhinochloidiella selenoides*, *Selenodriella fertilis*, *Speiropsis pedatospora*, *Sporidesmiella parva*, *Subulispora procurvata*, *Vermiculariopsiella cornuta*, *Vermiculariopsiella cubensis* e *Zanclospora* sp.

Das espécies detectadas na ESEC Caetés, 4,1% foram classificados na categoria acidental, 30,6% na categoria acessória e 65,3% na categoria constante (Figura 7). No fragmento de Mata Atlântica da RPPN Trapiche foram observados 8% de taxons acidentais, 20% acessórias e 72% constantes (Figura 8). Em relação à frequência de ocorrência das espécies, em ambas as áreas de estudo foram registradas apenas espécies esporádicas (83,7% na ESEC Caetés e 72% na RPPN Trapiche) e espécies pouco frequentes (16,3% e 28%, respectivamente, Figuras 7 e 8).

Algumas espécies foram consideradas relevantes por se tratarem de nova ocorrência para o Brasil (*Circinotrichum flexuosum*), novos registros para a Mata Atlântica (*Gyrothrix circinata* e *Zanclospora* sp.), nova ocorrência para o Neotrópico (*Ellisembia photiniae*) (Figura 9).

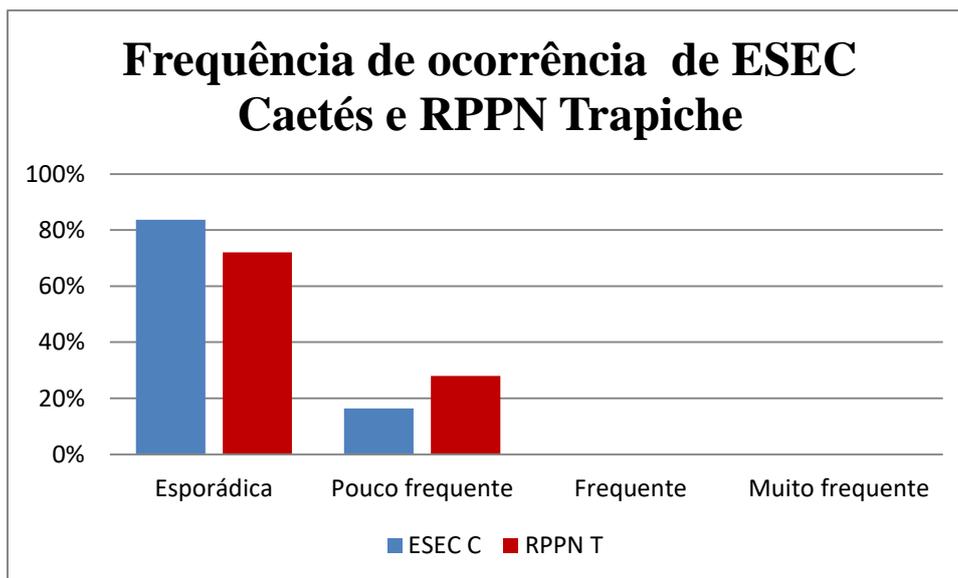
Tabela 3- Ocorrência de fungos conidiais no folheto terrestre da ESEC Caetés e da RPPN Trapiche de acordo com as coletas realizadas no período de novembro de 2020 a agosto de 2021.

Taxons	Área - RPPN Trapiche				Total	Área- ESEC Caetés				Total
	C1	C2	C3	C4		C1	C2	C3	C4	
1 <i>Akanthomyces lecanii</i> (Zimm.) Spatafora, Kepler & B. Shrestha	2	0	1	2	5	5	2	1	2	12
2 <i>Beltrania querna</i> Harkn	1	3	1	4	9	11	3	1	5	24
3 <i>Beltrania rhombica</i> Penz	5	1	3	0	9	7	7	6	2	22
4 <i>Beltraniella portoricensis</i> (F. Stevens) Piroz. & S.D. Patil	9	5	8	9	31	10	9	12	10	39
5 <i>Calonectria candelabrum</i> (Viégas) Rossman, L. Lombard & Crous	2	5	3	2	12	6	0	3	1	5
6 <i>Castanediella</i> sp.	0	0	0	0	0	4	0	1	7	10
7 <i>Chaetochalara laevis</i> B. Sutton & Hodges	0	0	0	0	0	8	5	6	5	12
8 <i>Chalara alabamensis</i> Morgan-Jones & E.G. Ingram	6	0	3	4	13	3	0	2	3	24
9 <i>Circinotrichum flexuosum</i> K.G. Karand., S.M. Kulk. & Patw.	1	0	0	4	5	0	6	5	0	8
10 <i>Circinotrichum maculiforme</i> Nees	6	2	3	0	11	0	0	0	0	0
11 <i>Circinotrichum olivaceum</i> Piroz.	0	0	0	0	0	1	2	1	1	11
12 <i>Cryptophiale kakombensis</i> Piroz	2	4	8	5	19	3	3	6	8	20
13 <i>Cryptophiale udagawae</i> Piroz. & Ichinoe	1	0	0	6	7	2	0	3	1	6
14 <i>Cryptophialoidea fasciculata</i> Kuthub. & Nawawi	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
15 <i>Cylindrocarpon</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3
16 <i>Cylindrocladium</i> sp.	4	0	0	0	4	2	0	3	0	8
17 <i>Dactylaria</i> sp.	0	0	0	0	0	0	3	0	2	5
18 <i>Dendryphion vinosum</i> (Berk. & M.A. Curtis) S. Hughes	2	9	0	5	16	0	0	0	0	0
19 <i>Dictyochaeta fertilis</i> (S. Hughes & W.B. Kendr.) Hol.-Jech.	4	3	0	5	12	3	4	0	1	5
20 <i>Dictyochaeta</i> sp.	0	0	3	5	8	1	3	1	2	7
21 <i>Dinemasporium lanatum</i> Nag Raj & R.F. Castañeda	2	4	2	0	8	2	0	0	0	2
22 <i>Ellisemia photiniae</i> Jian Ma & X.G. Zhang	0	0	0	0	0	2	1	0	0	3
23 <i>Gyrothrix circinata</i> (Berk. & M.A. Curtis) S. Hughes	6	3	5	4	18	5	4	9	1	19
24 <i>Gyrothrix grisea</i> Piroz	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3
25 <i>Gyrothrix podosperma</i> (Corda) Rabenh.	2	2	2	0	6	3	2	1	0	6
26 <i>Gyrothrix ramosa</i> Zucconi & Onofri	0	0	0	0	0	1	1	2	1	5
27 <i>Helicosporium vegetum</i> Nees	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
28 <i>Hemibeltrania decorosa</i> R.F. Castañeda & W.B. Kendr	0	0	0	2	2	0	5	1	0	6
29 <i>Idriella acerosa</i> R.F. Castañeda & W.B. Kendr.	3	0	0	2	5	6	6	3	5	20
30 <i>Inesiosporium longispirale</i> (R.F. Castañeda) R.F. Castañeda & W. Gams	0	0	0	0	0	0	3	2	1	6
31 <i>Leptodiscella</i> sp.	0	0	0	0	0	0	3	2	0	4
32 <i>Lauriomyces heliocephalus</i> (V. Rao & de Hoog) R.F. Castañeda & W.B. Kendr.	0	0	0	0	0	0	0	1	5	6
33 <i>Linodochium sideroxyli</i> Dulym., P.M. Kirk & Peerally	0	0	0	0	0	0	4	8	1	7

34	<i>Menisporopsis pirozynskii</i> Varghese & V.G. Rao	1	1	1	1	4	1	4	1	1	3
35	<i>Mycoleptodiscus disciformes</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	4	5
36	<i>Mycoleptodiscus terrestris</i> (Gerd.) Ostaz	3	6	5	5	19	1	0	0	2	7
37	<i>Paramyrothecium roridum</i> (Tode) L. Lombard & Crous	0	0	0	0	0	2	1	2	2	10
38	<i>Periconia byssoides</i> Pers	0	0	0	0	0	3	2	2	3	3
39	<i>Pseudobeltrania</i> sp.	0	0	0	0	0	1	2	1	0	7
40	<i>Repetophragma filiferum</i> (Piroz.) R.F. Castañeda, Gusmão & Heredia	7	0	5	4	16	2	1	4	0	4
41	<i>Rhinocladiella selenoides</i> (de Hoog) Onofri & Castagn.	0	0	0	0	0	2	2	0	0	13
42	<i>Selenodriella fertilis</i> (Piroz. & Hodges) R.F. Castañeda & W.B. Kendr.	0	0	0	0	0	0	2	2	3	7
43	<i>Speiopsis pedatospora</i> Tubaki	0	0	0	0	0	2	3	0	5	10
44	<i>Sporidesmiella parva</i> (M.B. Ellis) P.M. Kirk	0	0	0	0	0	0	2	2	2	6
45	<i>Subulispora procurvata</i> Tubaki	0	0	0	0	0	1	2	1	0	4
46	<i>Thozetella</i> sp.	0	5	5	3	13	7	5	3	6	21
47	<i>Vermiculariopsiella cornuta</i> (V. Rao & de Hoog) Nawawi, Kuthub. & B. Sutton	0	0	0	0	0	2	3	0	0	5
48	<i>Vermiculariopsiella cubensis</i> (R.F. Castañeda) Nawawi, Kuthub. & B. Sutton	0	0	0	0	0	3	0	1	0	4
49	<i>Volutella Minima</i> Hohn	2	0	4	2	8	4	3	4	0	11
50	<i>Wiesneriomyces laurinus</i> (Tassi) P.M. Kirk	3	4	3	5	15	3	3	6	2	13
51	<i>Zanclospora</i> sp.	0	0	0	0	0	0	6	0	5	9
Ocorrência		74	57	65	79	275	121	118	113	102	454
Total		729									

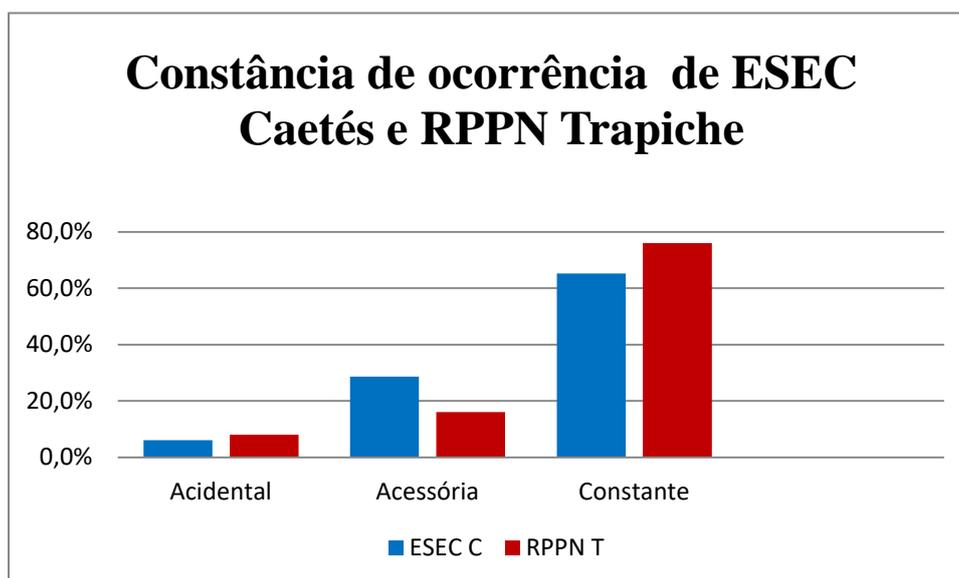
Fonte: Este trabalho, 2021.

Figura 7 - Frequência (Esporádica; Pouco frequente; Frequente; Muito frequente) de fungos conidiais de folhede das áreas ESEC Caetés e RPPN Trapiche.



Fonte: Este trabalho, 2021.

Figura 8 Constância (Acidental; Acessória; Constante) de fungos conidiais de folhede da ESEC Caetés e RPPN Trapiche



Fonte: Este trabalho, 2021.

Figura 9 - Principais fungos conidiais de folheto terrestre encontrados em ESESC Caetés e RPPN Trapiche.

Circinotricum flexuosum conidioforo 1- **Nova ocorrência para o Brasil***. *Gyrothrix circinata* seta 2. *Zanclospora* sp. conídio 3 - **Novo registro para a Mata Atlântica***. *Ellisembia photiniae* conídios 4- **Nova ocorrência para Neotrópico***. *Wiesneriomyces laurinus* setas 5 e conídio 5.1**. *Volutella* sp conidio 6 e esporodóquio e setas 6.1. *Speiropsis pedatospora* conidio 7**. *Beltrania rhombica* conídios 8 e conidióforo, célula conidiogênica e conídio 8.1**. *Helicosporium vegetum* conidio 9-Aeroaquático*. *Menisporopsis pirozynskii* seta e conidióforos 10*. *Gyrothrix verticiclada* setas 11**.



Fonte: Este trabalho, 2021.

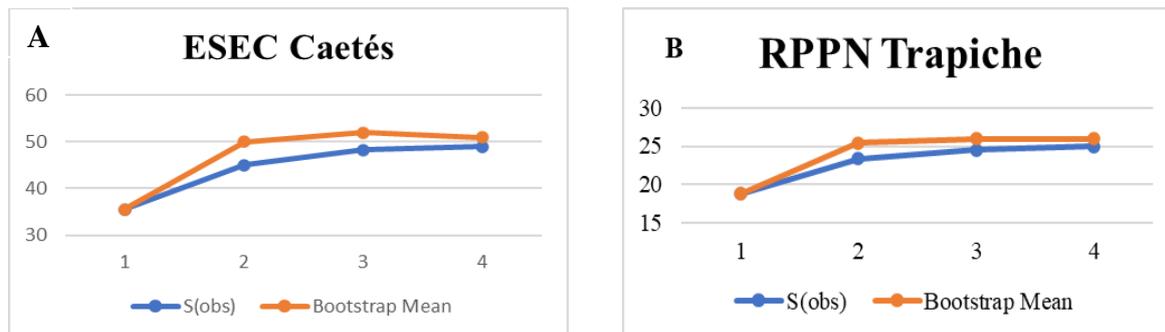
*Novidade taxonômica; **Ocorre com frequência no folheto; • fungo aeroaquático.

4.3 ESTIMATIVA DE RIQUEZA, ÍNDICES ECOLÓGICOS E SIMILARIDADE ENTRE AS COMUNIDADES DOS FUNGOS DE FOLHETO TERRESTRE.

Na ESEC Caetés, a curva de acumulação de taxons foi considerada com tendência a atingir o equilíbrio (saturação) em relação às espécies de fungos, indicando riqueza máxima de ~50 taxons, sendo que foram encontradas nesse estudo 48 espécies, correspondendo a 96,7% dos taxons estimados (Figura 10A).

Na RPPN Trapiche, a curva também foi considerada com tendência de equilíbrio em relação às espécies de fungos, indicando riqueza máxima esperada de ~27 taxons, tendo sido encontradas nesse estudo 25 espécies, logo, 96,4% dos taxons estimados (Figura 10B).

Figura 10- Curva de acumulação de fungos conidiais encontrados na (A) ESEC de Caetés e (B) RPPN Trapiche. Estimativas de riqueza do estimador não-paramétrico *Bootstrap* (linha azul escuro), S(obs): riqueza observada (linha laranja claro).



Fonte: Este trabalho, 2021.

Os dados de riqueza, ocorrência e diversidade, entre as áreas da ESEC Caeté e RPPN Trapiche apresentaram diferenças significativas. Os índices de equitabilidade e dominância não diferiram significativamente entre as duas áreas de estudo (Tabela 4).

Tabela 4 – Índices de riqueza, ocorrência, diversidade de Shannon-Wiener (H'), equitabilidade de Pielou (e), dominância de Berger-Parker (d) dos fungos conidiais, estimados para a ESEC de Caetés e RPPN Trapiche.

$P < 0,05$ significativo.

ÍNDICES	ESEC Caetés	RPPN Trapiche	Perm p(eq)
Riqueza	49	25	0,0001*
Ocorrência	453	275	0*
Shannon H	3,615	3,061	0,0001*
Equitability J	0,929	0,950	0,106 ^{ns}
Berger-Parker (d)	0,087	0,1127	0,2953 ^{ns}

Fonte: Este trabalho, 2021.

Comparando numericamente os índices de diversidade entre as áreas, foi possível perceber que a riqueza, ocorrência e diversidade foram maiores na ESEC Caetés. A equitabilidade foi alta nas duas áreas, mas esta e o índice de dominância foram maiores na RPPN Trapiche.

A quarta coleta (agosto/ 2021), que corresponde ao período chuvoso apresentou maior riqueza de fungos para ambas as áreas (Tabela 5). Maior riqueza de espécies foi observada em Caetés, onde foram verificados 37 taxons, na terceira coleta (maio/ 2021) e a menor com 33 taxons na segunda coleta (fevereiro/2021). Na RPPN Trapiche, a riqueza variou entre 22 taxons na primeira coleta e 20, na quarta coleta.

Os índices de diversidade, dominância e equitabilidade entre as coletas nas áreas não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 5 - Riqueza de Espécies, Ocorrência, Diversidade de Shannon-Wiener, Dominância de Berger-Parker e Equitabilidade de Pielou (e) e de fungos conidiais de folheto terrestre calculados por Coleta.

ÍNDICES	ESEC de Caetés				RPPN Trapiche			
	C1	C 2	C3	C4	C1	C2	C 3	C 4
Riqueza (S)	35	35	38	33	22	15	18	20
Ocorrência	121	118	113	102	74	57	65	79
Diversidade(H)	3,4	3,25	3,35	3,27	2,89	2,57	2,73	2,89
Equitability (J)	0,94	0,93	0,93	0,94	0,93	0,94	0,94	0,96
Berger-Parker (d)	0,07	0,1	0,09	0,09	0,12	0,15	0,12	0,11

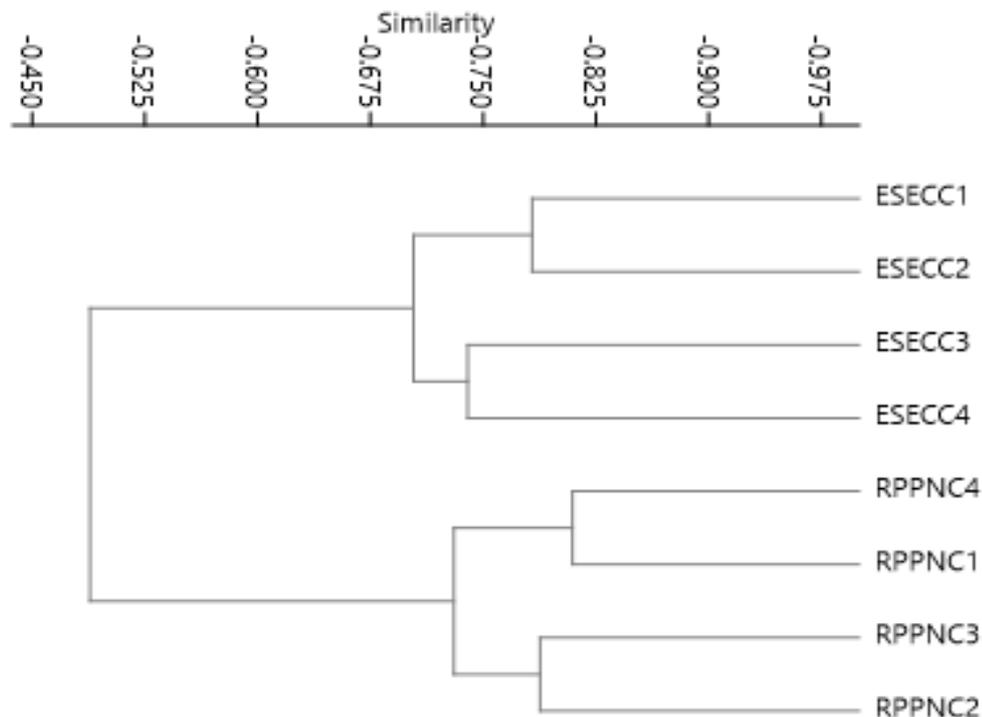
Fonte: Este trabalho, 2021.

O coeficiente DICE (Sorensen) foi utilizado para avaliar o grau de similaridade da composição taxonômica entre as áreas e períodos de coletas. O dendrograma construído a partir dessas comparações está representado na (Figura 1) e apresenta coeficiente de correlação cofenético de 0.8756.

Foi observado, tanto nos agrupamentos da ESEC Caetés quanto nos da RPPN Trapiche, que as amostras tiveram quase o mesmo padrão de distribuição no dendrograma, com 50% de similaridade mínima para ambas as áreas. As áreas se dividiram em ramos de aproximadamente em 69% de similaridade e foram formados dois agrupamentos com aproximadamente 50% de similaridade entre as áreas.

O primeiro agrupamento é formado pelos períodos de coleta da ESEC Caetés, e mostrou que C1 e C2 se agruparam com mais de 80% de similaridade, e as coletas C3 e C4, apesar de terem se separado desse ramo, apresentaram aproximadamente 70% de similaridade entre si.

Figura 11 - Dendrograma de similaridade da comunidade de fungos conidiais coletados na ESEC Caetés e na RPPN Trapiche de acordo com os períodos de coleta.

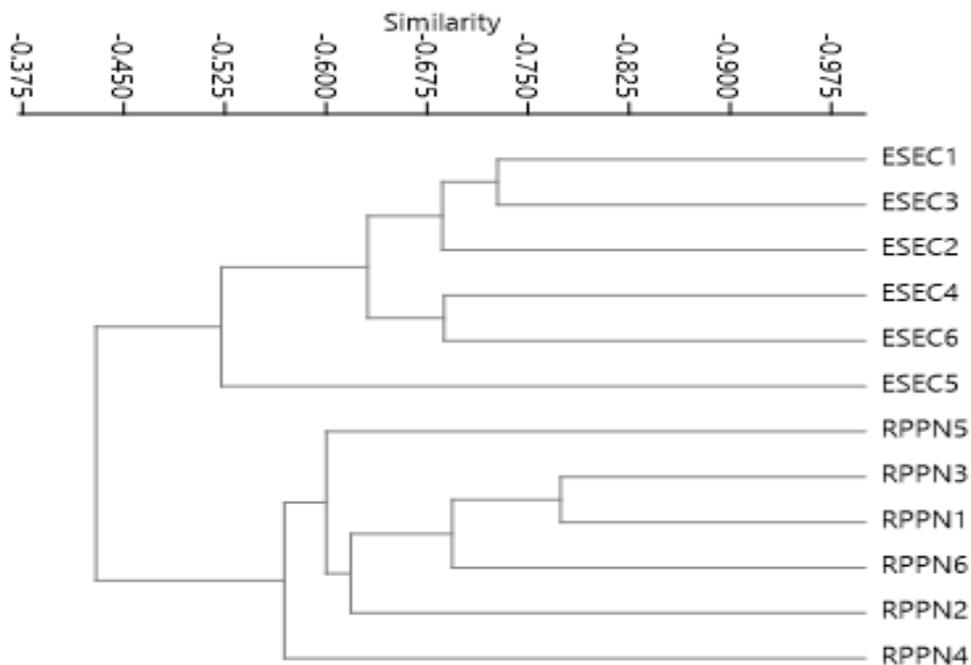


Fonte: Este trabalho, 2021.

O segundo agrupamento corresponde aos períodos de coleta da RPPN Trapiche. Também foi observado que C1 e C4 se agruparam com mais de 81% de similaridade, e as coletas C2 e C3 se separaram deste ramo, com aproximadamente 80% de similaridade entre si.

O coeficiente DICE (Sorensen) foi também utilizado para avaliar o grau de similaridade da composição taxonômica entre os pontos de coletas de cada área, resultando no dendrograma apresentado na Figura 12, com coeficiente de correlação cofenético de 0.8457.

Figura 12 - Dendrograma de similaridade da comunidade de fungos conidiais coletados na ESEC Caetés e na RPPN Trapiche de acordo com os pontos de coleta em cada área.



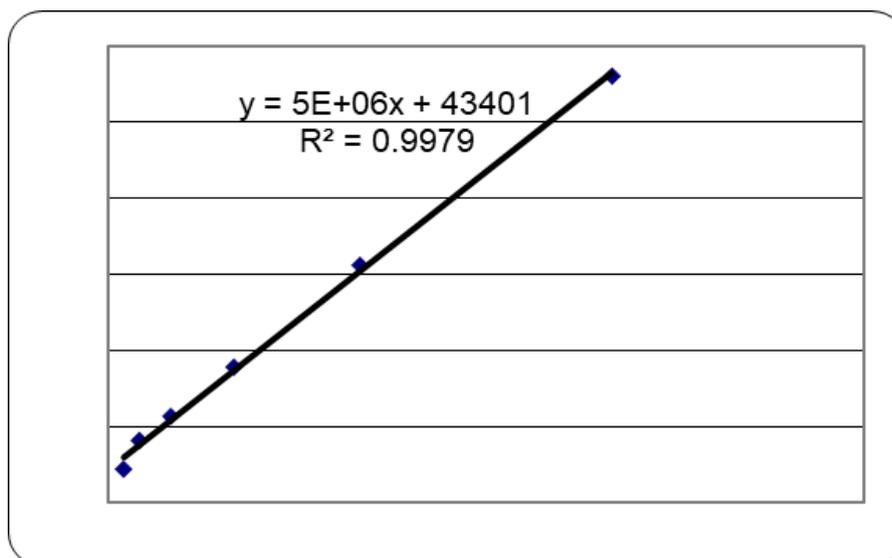
Fonte: Este trabalho, 2021.

A similaridade geral entre as áreas de estudo e os pontos de coletas foi de aproximadamente 42%. Na área da ESEC Caetés, a similaridade entre os pontos de coleta foi de aproximadamente 52% e na RPPN Trapiche, de aproximadamente 60%.

4.4 ANÁLISE DE ERGOSTEROL COMO BIOMARCADOR DE BIOMASSA DE FUNGOS

A análise cromatográfica do padrão de ergosterol resultou na curva padrão apresentada na Figura 13, da qual foi inferida a equação da reta de regressão para o cálculo da quantidade de ergosterol nas amostras. O valor de $R^2 = 0,9979$ indica um forte ajuste entre a reta estimada e os pontos amostrais do padrão.

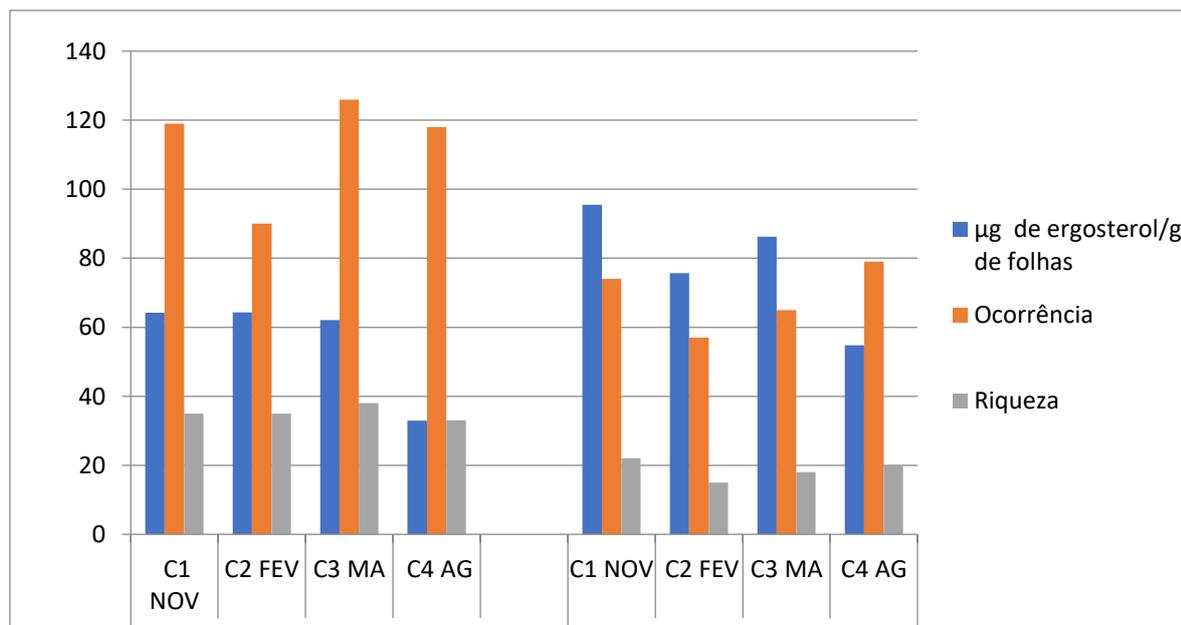
Figura 13– Curva padrão a ser aplicada no cálculo do teor de ergosterol do folheto terrestre das áreas de ESEC Caeté e RPPN Trapiche.



Fonte: Este trabalho, 2021.

As amostras foram quantificadas em HPLC e analisadas segundo as áreas de estudo ($p < 0,05$), períodos ($p < 0,05$) e pontos de coletas ($p > 0,05$, não significativo). O teor de ergosterol do folheto por períodos de coleta está representado na Figura 14. Foi possível observar que as maiores concentrações de ergosterol no folheto foram encontradas na RPPN Trapiche, com valores médios de 9,12 a 15,91 $\mu\text{g/g}$. Na ESEC Caetés, as médias de ergosterol no folheto entre os períodos de coletas variaram de 5,48 a 10,7 $\mu\text{g/g}$. O teor de ergosterol contido no folheto variou pouco entre os períodos seco e chuvoso na ESEC Caetés, resultando em maior teor na segunda coleta (fev/2021, 12,97 $\mu\text{g/g}$), período considerado seco, e menor teor de 5,06 $\mu\text{g/g}$ na quarta coleta (ago/2021), período considerado chuvoso. Na RPPN Trapiche, entre os períodos de coletas, o maior teor de ergosterol foi detectado na primeira coleta (nov/2020, 19,64 $\mu\text{g/g}$), período considerado seco, e o menor teor (2,85 $\mu\text{g/g}$) foi aferido na quarta coleta (ago/2021), período considerado chuvoso (Figura 14).

Figura 14 - Concentração de ergosterol no folheto terrestre entre as coletas da ESEC Caetés e na RPPN Trapiche, comparada com a ocorrência e a riqueza dos fungos conidiais.



Fonte: Este trabalho, 2021.

O gráfico plotado entre as áreas de coletas mostram que, na área da ESEC Caetés a ocorrência de fungos encontrados sobressaiu sobre as medias do teor de ergosterol, enquanto na área de RPPN Trapiche, as medias do teor de ergosterol sobressaíram em relação a ocorrências de fungos exceto na C4 (Figura 14)

Os valores de ergosterol detectados foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey para comparação das médias entre a ESEC Caetés e a RPPN Trapiche (Tabela 6) e entre os períodos de coleta (C1 a C4) de cada área (Tabela 7). O teor de ergosterol detectado na área da ESEC Caetés foi significativamente menor que o da RPPN Trapiche.

Tabela 6. Análise de variância do teor de ergosterol nas amostras de folheto coletadas na ESEC Caetés e na RPPN Trapiche. Médias que não compartilham a mesma letra na coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

ÁREAS	ERGOSTEROL
ESEC C	13.01 ^b
RPPN T	9.31 ^a

Fonte: Este trabalho, 2021.

Na comparação dos teores de ergosterol no folheto entre os períodos de coleta, na ESEC Caetés apenas a coleta C4 diferiu significativamente das demais. Na RPPN Trapiche, a coleta C1 diferiu significativamente da C4.

Tabela 7. Análise de variância do teor de ergosterol nas amostras de folheto coletadas na ESEC Caetés e na RPPN Trapiche de acordo com os períodos de coleta. Médias que não compartilham a mesma letra na coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

N° COLETAS	ERGOSTEROL	
	ESEC C	RPPN T
C 1	10.71 ^a	15.92 ^a
C 2	10.70 ^a	14.38 ^{ab}
C 3	10.34 ^a	12.62 ^{ab}
C 4	5.48 ^b	9.12 ^b

Fonte: Este trabalho, 2021.

A análise de correlação de Pearson entre o teor de ergosterol no folheto misto em decomposição e a comunidade de fungos detectada resultou em valores baixo a moderado de correlação. Na ESEC Caetés, no período seco (coletas 1 e 2), o ergosterol apresentou moderada correlação com a ocorrência dos fungos ($r= 0,4803$ e $r=0,4843$, respectivamente). Nas coletas 3 e 4, no período chuvoso, a correlação foi moderada e fraca ($r= 0,6033$ e $r = -0,0117$, respectivamente) com a ocorrência.

Os dados de correlação para a RPPN Trapiche mostram que, no período seco (coletas 1 e 2), o ergosterol apresentou uma correlação negativa forte e uma positiva fraca com a ocorrência ($r= -0,7071$ e $r=0,1346$). E nas coletas 3 e 4 (período chuvoso) desta área se detectou uma correlação negativa forte e uma positiva fraca ($r= -0,7039$ e $r= 0,1358$) com a ocorrência.

Nos pontos de coleta da ESEC Caetés se observou forte correlação positiva do ergosterol com a ocorrência, com exceção do ponto P3, no qual a correlação foi positiva fraca com a ocorrência. Nos pontos de coleta da RPPN Trapiche, P1 e P5 apresentaram uma fraca correlação negativa do ergosterol com a ocorrência. O ponto P2 apresentou moderada correlação negativa e o ponto P6, forte correlação negativa com a ocorrência. Os pontos P3 (moderada) e P4 (forte) apresentaram correlação positiva do teor de ergosterol com a ocorrência dos fungos registrada pela observação de estruturas de reprodução.

4.5 ANÁLISE DA ESTRUTURA DA COMUNIDADE PELO MÉTODO DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

5 DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL

A pouca variação entre as áreas com relação ao índice pluviométrico reforça que as duas áreas estudadas pertencem à mesma região climática, reduzindo a importância desta variável na diferenciação das comunidades de fungos de folheto entre as áreas. No entanto, a diferença significativa na precipitação entre os períodos seco e chuvoso pode ser um indicativo de que a quantidade de água disponível no ambiente tem potencial para afetar a comunidade de fungos. De acordo com as características climáticas das áreas de estudo, a ESEC Caetés, apesar de ser mais distante do litoral, apresentou maiores níveis de chuva em relação à RPPN Trapiche. Essa observação foi verificada em todas as coletas, exceto na quarta coleta em que, na RPPN, choveu quase o dobro do que foi registrado na ESEC.

As temperaturas do ar e do solo diferiram, neste trabalho, entre as áreas de estudo e foram maiores na ESEC Caetés (Tabelas 1 e 2). Além disso, a temperatura do ar também diferiu significativamente entre as expedições de coleta, sendo mais altas no período de seca que corresponde ao verão. A temperatura do solo na RPPN Trapiche apresentou diferença significativa entre as coletas C1 (início do verão) e C4 (fim do inverno), porém, o mesmo não foi observado na ESEC Caetés, onde a temperatura do solo permaneceu estável.

A diferença das temperaturas entre a ESEC Caetés e a RPPN Trapiche pode ser resultado das condições florestais, pois, em Caetés, a vegetação mais densa e fechada, com árvores altas muito próximas umas das outras favorece temperaturas mais amenas. Além disso, o riacho às margens do qual foram estabelecidos os pontos de coleta, e que desagua no Rio Paratibe, é de pequeno porte e não cria uma abertura da copa, permanecendo sombreado e contribuindo para atenuação da variação na temperatura. Na área da RPPN Trapiche onde foram estabelecidos os pontos de coleta, estes margeiam o Rio Sirinhaém que, na localidade, tem largura de 43 m, no mínimo, criando junto com a vegetação mais esparsa, uma área de maior insolação e conseqüente maior temperatura.

5.2 RIQUEZA DE ESPÉCIES E OCORRÊNCIA DE FUNGOS NO FOLHETO TERRESTRE

A contribuição deste estudo para o registro de espécies de microfungos de folheto para o estado de Pernambuco foi de 51 taxons. A riqueza determinada para a RPPN Trapiche (25

taxons) foi a metade daquela encontrada para a ESEC Caetés (49 taxons) e, em ambos os casos, foi considerada baixa porque estudos realizados em fragmentos de Mata Atlântica nesta mesma macrorregião relataram números maiores. Por exemplo, Araújo (2016), estudando um sistema agroflorestal (SAF) e um fragmento de Mata Atlântica em Pernambuco por um ano (5 expedições de coletas em cada área), registrou 63 taxons, sendo 54 taxons encontrados na área de Mata Atlântica preservada. Também Barbosa (2018) registrou 177 taxons de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica que foram amostradas bimestralmente durante dois anos (12 expedições). Marques et al. (2008) identificaram 106 espécies de fungos conidiais no somatório de cinco expedições de coletas a duas áreas de Mata Atlântica na Bahia, nesse trabalho, Marques et al (2008) não apresenta o esforço amostral das espécies.

Os resultados do presente estudo mostram que a diversidade encontrada nestas duas áreas é menor em relação ao encontrado em outras pesquisas que utilizaram o mesmo método de análise de fungos conidiais. A perda de área por fragmentação, agricultura, e atividades industriais pode ter influenciado a estrutura dessas comunidades, especialmente na área da RPPN Trapiche, pois esta é uma área selecionada para preservação dentro da propriedade da Usina Trapiche, cujas atividades de produção de álcool vêm sendo realizadas desde 1887.

Algumas espécies foram predominantes neste estudo, como *Beltraniella portoricensis*, *Cryptophiale kakombensis*, *Chalara alabamensis* e *Gyrothrix circinata*. No México, Heredia (1993) também registrou a presença constante de *Beltraniella portoricensis* e *Cryptophiale kakombensis* quando analisaram a micota associada a três tipos de folhas em floresta. Barbosa (2018), no estudo dos fungos conidiais de duas unidades de conservação de Mata Atlântica de Pernambuco registrou *Beltraniella portoricensis* como uma das espécies de maior ocorrência.

Beltraniella portoricensis e *Cryptophiale kakombensis* foram detectadas na maior parte das coletas deste estudo e são consideradas espécies com ampla ocorrência e distribuição no Brasil e em outros países como Venezuela (Castañeda-Ruiz *et al.* 2003), México (Heredia-Abarca, 1994) e Austrália (Matsushima, 1989). Esses taxons, presumivelmente, requerem temperatura e umidade mais elevadas como em regiões tropicais, subtropicais ou temperadas quentes (Maia, 1983), e são recorrentes sobre o folheto nessas condições abióticas, além de serem favorecidas pelo tempo de decomposição da folha e aeração (Barbosa, Maia e Gusmão, 2009).

A maioria das espécies registradas neste estudo apresenta registros anteriores no Brasil. Nenhuma espécie nova foi proposta neste trabalho, no entanto, este parece ser o primeiro registro para o Brasil de *Circinotrichum flexuosum* K.G. Karand., S.M. Kulk. & Patw., pois

não se encontrou registro da espécie nas plataformas de pesquisas. *Ellisembia photinia* Jian Ma & X.G. Zhan está sendo registrada pela primeira vez no Neotrópico e não se tem relato anterior de *Zanclospora* sp em mata ciliar.

Neste estudo foram registradas em ambas as áreas apenas espécies esporádicas (ESEC Caetés 82,6%; RPPN Trapiche 72%) e espécies pouco frequentes (ESEC 17,4%; RPPN 28%). Essas espécies esporádicas e pouco frequentes, geralmente, aparecem em condições ambientais favoráveis como, por exemplo, ambientes diversificados do ponto de vista nutricional e com muita diferenciação de nichos.

A maioria dos estudos ecológicos e taxonômicos relata a constância dos fungos conidiais relacionada com a espécie vegetal específica ou com tipos específicos de substratos como folhas, galhos, pecíolos e cascas oriundos de vegetais diversos (Marques, 2008; Santana, 2017). Neste estudo prevaleceram os taxons constantes para as duas áreas (72% para Trapiche e 67,4% para Caetés) o que é contrário ao relatado por Santana et al (2017) que, em um estudo de microfungos na Mata Atlântica, verificaram que as espécies acidentais predominaram com 58,44% dos taxons. Barbosa (2018), estudando os fungos conidiais em dois fragmentos de Mata Atlântica, também constatou que as espécies acidentais prevaleceram com 75,5% dos taxons. Os taxons constantes parecem ser os que sofrem menos influência do meio e encontram-se mais adaptados às condições do ambiente. Essa ideia concorda com a de Santana et al. (2017) que afirmam que os taxons acidentais sofrem mais influência das condições ambientais como temperatura, umidade, disponibilidade de nutrientes e outros, enquanto taxons constantes sofrem menos influência. Espécies constantes podem ser mais resistentes à variação das condições ambientais e, assim, estão presentes em mais de 50% das amostras.

5.3 ÍNDICES ECOLÓGICOS E SIMILARIDADE ENTRE AS COMUNIDADES DE FUNGOS

As curvas de acumulação de espécies das duas áreas foram consideradas com tendência ao equilíbrio, mostrando que o esforço amostral foi suficiente para revelar 96,8% e 96,4% dos taxons estimados para as áreas da ESEC Caetés e da RPPN Trapiche, respectivamente. Em regiões tropicais, não atingir a assíntota da curva de acumulação é comum e pode depender do esforço amostral para se chegar ou não à estabilidade da curva (Santos, 2006). No entanto, neste estudo, com um esforço amostral de quatro coletas, obteve-se quase 100% da riqueza estimada e isso pode ser um indicativo de que os impactos gerados pelas ações

antrópicas nas áreas estudadas estão afetando a diversidade biológica, ou pelo menos a de fungos conidiais, como observado em outros estudos.

A similaridade geral entre as áreas neste trabalho foi da ordem de 50% (Fig 11), ou seja, similaridade moderada que pode ser decorrente das espécies mais comuns que são encontradas abundantemente nesta região do país. Marques (2008), estudando a riqueza de espécies de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica, analisou substratos vegetais como folhas, pecíolos, galhos e cascas e obtiveram 25% de similaridade entre as comunidades de fungos conidiais das duas áreas analisadas, isso reforça uma alta similaridade neste trabalho, comparado com o de Marques que obteve apenas 25% de similaridade em áreas de mesmo bioma. Santana et al (2017) em biomas distintos um fragmento de Mata Atlântica e um fragmento de Caatinga e observou 38,96% de similaridade entre as áreas. Quanto aos períodos de coleta, na ESEC Caetés houve maior similaridade entre as coletas do mesmo período sazonal, como era esperado, enquanto na RPPN Trapiche coletas de diferentes períodos sazonais se agruparam. Com relação aos pontos de coleta, a variação entre eles foi maior, ou seja, menor similaridade entre os pontos foi observada quando comparada com a similaridade entre períodos. No entanto, os pontos se agruparam de acordo com cada área de estudo e se pode inferir que as diferenças na comunidade se devam às características microclimáticas de cada ponto.

5.4 TEOR DE ERGOSTEROL NO FOLHEDO E OS FUNGOS CONIDIAIS NAS ÁREAS DE ESTUDO

Neste trabalho, os níveis de ergosterol foram considerados altos em ambas as áreas de estudo, porém, as maiores concentrações de ergosterol no folheto foram encontradas na RPPN Trapiche, que é a área mais impactada pelas atividades humanas e com baixa riqueza e ocorrência de fungos. Barbosa (2018), no estudo de folheto misto sobre o solo de Mata Atlântica, encontrou baixas concentrações de ergosterol e pouca variação em ambas as áreas protegidas na mata atlântica e alta riqueza e ocorrência de espécies. Ao observar o gráfico (Figura 14) do teor de ergosterol confrontado com a riqueza da coleta e a ocorrência dos fungos, uma possível explicação para essa relação da quantidade de ergosterol com as demais variáveis, nas áreas de estudos, é a esporulação, pois, na ESEC Caetés a maior produção de conídios permitiu a identificação de maior número de espécies enquanto na RPPN Trapiche, a menor riqueza, que foi determinada pela identificação de estruturas reprodutivas, é contradita

pela maior quantidade de ergosterol que indica maior quantidade de micélio nesta área de estudo.

Neste trabalho, o teor de ergosterol contido no folheto variou entre os períodos chuvoso e seco em ambas as áreas resultando em maior teor no período considerado seco, (Figura 14). Em oposição a esse resultado, Araújo (2016) verificou maior concentração de ergosterol na área de Mata Atlântica no mês em que houve mais chuva.

O teste de correlação de Pearson do ergosterol com a ocorrência de fungos entre as áreas mostrou dados contraditórios. Na ESEC Caetés, no período seco (coletas 1 e 2), o ergosterol apresentou correlação positiva moderada com a ocorrência e no período chuvoso foi de positiva moderada a negativa fraca. Ao contrário, na RPPN Trapiche, os resultados mostram que nos dois períodos o ergosterol apresentou correlação negativa forte a positiva fraca com a ocorrência dos fungos que é detectada pela visualização das estruturas reprodutivas.

Trabalhos como este, realizados em Mata Atlântica, relataram forte relação do teor de ergosterol contido no folheto com a ocorrência de taxons, como o de Barbosa (2018) na REBIO Saltinho, porém a relação foi fraca entre essas variáveis no RVS Gurjaú. Araujo (2016), em seu trabalho de diversidade de fungos conidiais em folheto de um sistema agroflorestal e um fragmento de Mata Atlântica em Pernambuco, também encontrou correlação positiva forte entre o teor de ergosterol no folheto e a ocorrência dos fungos conidiais, e verificou uma associação, pois, à medida que a concentração de ergosterol no folheto aumentou, observou-se maior ocorrência de espécies.

Apesar de o ergosterol ser considerado um bom indicador da biomassa de fungos em associação com substratos em decomposição (Gessner et al., 2010), Malosso (1999) e Schoenlein-Crusius et al. (2014), estudando a diversidade de espécies de fungos aquáticos do Sistema Monjolinho/Jacaré-Guaçú e da represa do Guarapiranga verificaram que nem sempre amostras de folheto colonizadas por fungos associados à decomposição possuem teores altos do marcador de biomassa.

Outros trabalhos que utilizaram ergosterol em diferentes tipos de substratos também encontraram uma relação do ergosterol com a ocorrência de fungos. Gulis et al. (2008) compararam a atividade fúngica em madeira e folhas mistas na corrente de água com os nutrientes e concluiu que a biomassa fúngica por unidade de carbono detrital na madeira era cerca de duas a três vezes menor que a associada às folhas. Koivusaari et al. (2019) fizeram associação de fungos originários de folhas de árvores e substratos submersos em um curso d'água com ergosterol e concluíram que o conteúdo de ergosterol era 5 a 14 vezes maior no

substrato submerso do que nas folhas senescentes, indicando uma colonização fúngica ativa. Por fim, Silva et al (2019), estudando fungos conidiais em folheto submerso em ambiente lótico e lêntico de áreas de Mata Atlântica em Pernambuco, discutiram que não havia correlação do ergosterol com a ocorrência de fungos no ambiente lêntico e correlação moderada negativa no ambiente lótico.

5.5 ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE FUNGOS CONIDIAIS

A análise conjunta da maioria das variáveis observadas neste estudo por um método de análise multivariada (PCA) revelou que as comunidades de fungos conidiais da ESEC Caetés e da RPPN Trapiche não apresentam uma estrutura clara que possa ser sistematicamente relacionada com os períodos ou pontos de coleta, pois a máxima variação dos dados explicada pelas duas primeiras componentes foi baixa (17%).

A estrutura das comunidades nesse trabalho parece ter sido mais influenciada pela área de estudo em si do que por qualquer outro fator que tenha sido aferido neste trabalho. O agrupamento mais próximo dos pontos amostrais representados na Fig 15A indica que o ambiente na RPPN Trapiche é mais homogêneo (menos espécies vegetais, menos diversidade de substratos a serem decompostos, constante interferência humana criando perturbação), em contraste com o ambiente da ESEC Caetés que, por ter mais diversidade vegetal e ficar protegida da interferência humana na maior parte do tempo, cria microambientes que proporcionam maior diversidade de fungos que pode variar ao longo do tempo, se sobrepondo à diferença relacionada com a incidência de chuva, por exemplo (Fig 15C).

Desta forma, a ocorrência dos fungos e o teor de ergosterol no folheto representando a biomassa foram as variáveis que mais contribuíram para a separação das amostras em um gráfico de duas dimensões, o que reforça as diferenças significativas observadas nos dados ecológicos das áreas. Barbosa (2018), estudando fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica, realizou análise dos Componentes Principais dos taxons e observou que não apresentaram diferenças, pois os pontos das duas áreas estão distribuídos nos dois eixos de forma semelhante. Santa Izabel et al. (2018) utilizaram NMDS para analisar a estrutura da comunidade de fungos em seu estudo sobre a riqueza e diversidade de fungos conidiais associados a restos vegetais em três enclaves de Mata Atlântica no bioma Caatinga. A análise deles revelou diferenças na composição da comunidade fúngica em relação ao substrato e à área.

CONCLUSÕES

Do ponto de vista climático, as duas áreas de estudo são consideradas similares.

A Estação Ecológica (ESEC) de Caetés é uma área de proteção integral com rica diversidade vegetal e maior riqueza e ocorrência de fungos conidiais.

A Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Trapiche é uma área rural reflorestada, com plantações de cana de açúcar e tráfego intenso de veículos de grande porte ao redor da mata, além de utilização regular pela comunidade do engenho para recreação e coleta de frutas, o que pode ser a causa de menor riqueza e menor ocorrência de fungos conidiais.

Beltraniella portoricensis e *Cryptophiale kakombensis* são as espécies com maior ocorrência nas duas áreas, reforçando o status de espécies cosmopolitas e com ampla distribuição em regiões tropicais, acrescidas da observação de serem resistentes a impactos de origem antrópica.

O ergosterol é um bom estimador de biomassa fúngica, porém, neste trabalho, não apresentou relação direta com a riqueza e ocorrência de fungos detectadas por método tradicional de levantamento taxonômico. O nível de preservação do local de estudo parece interferir com essa correlação, pois o micélio estéril não é detectado pela taxonomia tradicional, mas é quantificado pelo ergosterol.

Este estudo trouxe à reflexão que a descaracterização de uma área pelas atividades antrópicas pode levar à perda (despercebida) de taxons, especialmente dos micro-organismos que não são visíveis a olho nu e, com isso, diminuir a diversidade biológica daquele local. O estudo contribuiu também para aumentar o conhecimento sobre a ocorrência e distribuição dos fungos conidiais em Pernambuco.

REFERÊNCIAS

- Alcamo, J.; Moreno, J. M.; Nováky, B.; Bindi, m.; corobov, R.; Devoy, R.; Araujo, M. Europe. Climate Change 2007: **Impacts, Adaptation and Vulnerability**: Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In: Ipcc Wgii Fourth Assessment Report. Cambridge: Cambridge University Press, p. 541-580.
- Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W.; Blackwell, M. 1996. **Introductory Mycology**.4 ed. New York: John Wiley, Sons. 869 p. 140
- Araújo, M. 2016. A new species of *Selenodriella* from Brazil. **Mycotaxon** , v. 130, p. 621-624.
- Araújo, M. A. G. D. (2016). Diversidade de fungos conidiais em folhede de um sistema agroflorestal e um fragmento de mata atlântica em Pernambuco (**Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco**).
- Azevedo, A.D.; Camara, R.; Francelino, M. R.; Pereira, M. G.; Leles, P. S. S. estoque de carbono em áreas de restauração florestal da Mata Atlântica. **Floresta**, v. 48, n. 2, p. 183-194, 2018.
- Barbosa, F.R.; Maia, L.C.; Gusmão, L.F.P. 2009. Fungos conidiais associados ao folhede de *Clusia melchiorii* Gleason e *C. nemorosa* G. Mey. (Clusiaceae) em fragmento de Mata Atlântica, BA, Brasil. **Acta botanica brasílica**, v.23, n.1, p.79-84.
- Barbosa, M. 2016. Two new records of microfungi from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon** , v. 130, p. 967-970.
- Barbosa, M. 2016a, *Codinaea leomaia*esp. nov. from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon**, v. 131, p. 423-428.
- Barbosa, M. 2017, Two new species of and (Ascomycota) from the Brazilian Atlantic Forest. **Nova hedwigia** , v. 105, p. 65-73.
- Barbosa, M.A. Diversidade de fungos conidiais em folhede de mata ciliar em floresta úmida de Pernambuco, (**Tese de Doutorado**) - **Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018**.
- Brasil, **Ministério do Meio Ambiente**. 2021. Disponível em:<<http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=conteudo.monta;idEstrutura=27;idMenu=816;idConteudo=1473>>. Acesso em: 16 jun. 2021.
- Cabral G. A. L., Maciel, J.R. 2011. Levantamento etnobotânico da coleção de plantas medicinais do Jardim Botânico do Recife, PE. **Natureza on line** (3): 146-15.
- Campanili, M.; Prochnow, M. 2010. **Mata Atlântica – uma rede pela floresta**. Brasília: RMA, 332p.: il.. ISBN: 85-99824-01-5.
- Carroll, F.e. & Carroll, G.C. 1974. The fine structure of conidium initiation in *Ulocladium atrum*. **Canadian Journal of Botany** 52: 443-446.

Castañeda-Ruiz RF, Heredia G, Gusmão LFP, Li DW. 2016. **Fungal diversity of Central and South America**. 197–217, in: DW Li (ed.). *Biology of Microfungi*, Springer International Publishing.

Castro, D.; Mello, R.S.P.; Poester, G.C. 2012. *Práticas para restauração da mata ciliar*. / organizado por Dilton de Castro; Ricardo Silva Pereira Mello e Gabriel Collares Poester. -- Porto Alegre : Catarse – **Coletivo de Comunicação**, p. 60.

Cole, G.T. & Aldrich, H.C. 1971. Ultrastructure of conidiogenesis in *Scopulariopsis brevicaulis*. **Canadian Journal of Botany** 49: 745-755.

Cole, G.T. & Kendrick, W. B. 1971. Conidium ontogeny in Hyphomycetes: Development and morphology of *cladobotryum*. **Canadian Journal of Botany** 49: 595-599.

Costa, L., Gusmão, L.F.P, 2015 Characterization saprobic fungi on leaf litter of two species of trees in the Atlantic Forest, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** (Online) , v. 46.

Costa, L., Gusmão, L.F.P, 2017. Communities of saprobic fungi on leaf litter of *Vismia guianensis* in remnants of the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Forestry Research** , v. 28, p. 163-172.

Costa, P. 2016. Dynamics of leaf litter and soil respiration in a complex multistrata agroforestry system, Pernambuco, **Brazil. Environment, Development and Sustainability** , v. 18, p. 1-15.

Costa, P. 2016a. *Phaeodactylium cymbisporum* sp. nov. from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon** , v. 131, p. 435-438.

Costa, P. 2016b. *Ana verticicladius uncinatus* gen. & sp. nov. from decaying leaves from Brazil. **Mycotaxon** , v. 131, p. 687-691.

Costa, P. 2016c. *Stachybotryna longispiralis* sp. nov. from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon** , v. 131, p. 429-433.

Costa, P. 2017 Richness and abundance of filamentous fungi in complex agroforestry multistrata system soil. **Revista Brasileira de Agroecologia** (Online) , v. 12, p. 232-241.

Costa, P. 2018. *Acumisporea delicata* sp. nov. from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon** , v. 132, p. 971-975.

Colwell, R.K. 2013. "**EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples**". Disponível em: <<http://purl.oclc.org/estimates>>. Acesso em: 29 set. 2021.

Da Silva, G. V. R., Castañeda-Ruiz, R. F., & Malosso, E. (2019). Comparison of aquatic hyphomycetes communities between lotic and lentic environments in the Atlantic rain forest of Pernambuco, Northeast Brazil. **Fungal biology**, 123(9), 660-668.

Dancey, C. P.; Reidy, J. 2006. Análise de correlação: o r de Pearson. In: Dancey C.P.; Reidy, J. *Estatística sem matemática para psicologia*. Porto Alegre: **Artemed**, p. 178-216.

Dajoz, R. 1983. **Ecologia geral**. Vozes, Petrópolis, 472p.

- Dix, N.J. ; Webster, J. 1995. **Fungal Ecology**. Chapman; Hall, London.
- Efron, B. 1979. Bootstrap methods: Another look at jackknife. **Annals of Statistics**, n.7, p.1-26.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. *Common wealth Mycological Institute*, London.
- Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. *Common wealth Mycological Institute*, London.
- Figueiredo, A.A., Augusto, F.G., Coletta, L.D., Duarte-Neto, P.J., Mazzi, E.A., Martinelli, L.A., 2018. Comparison of microbial processing of *Brachiaria brizantha*, a C4 invasive species and a rainforest species in tropical streams of the Atlantic Forest of south-eastern Brazil. **Mar. Freshw. Res.** 69, 1397e1407.
- Figueiredo-filho. 2003, Avaliação estacional da deposição de serapilheira em uma Floresta Ombrófila Mista localizada no sul do Estado do Paraná. **Ciência Florestal**, 13(1): 11-18.
- Flora do Brasil 2020. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 26 jan. 2022.
- Gessner, M. O. 1991 Differences in processing dynamics of fresh and dried leaf litter in a stream ecosystem. **Freshwater Biology**, n. 26, p. 387-398.
- Gessner, M. O., Gulis, V., Kuehn, K. A., Chauvet, E., & Suberkropp, K. (2007). 17 fungal decomposers of plant litter in aquatic ecosystems. **CP Kubicek**, 512, 301-324.
- Gessner, M. O. et al. (2010). Diversity meets decomposition. **Trends Ecol. Evol.** 25, 372–380.
- Glenn, A.E.; Bacon, C.W.; Price, R.; Hanlin, R.T. 1996. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. **Mycologia**, v.88, p.369-383.
- CPRH - **Agência Estadual de Meio Ambiente do Estado de Pernambuco** Disponível em:<<http://www2.cprh.pe.gov.br/>>. Acessado em: 09 out. 2021.
- Gulis, V., Suberkropp, K., & Rosemond, A. D. 2008. Comparison of fungal activities on wood and leaf litter in unaltered and nutrient-enriched headwater streams. **Applied and environmental microbiology**, 74(4), 1094-1101.
- Grandi, R., Silva, P. 2010 Caracterização morfológica de fungos conidiais decompositores de folheto provenientes de Cubatão, SP, Brasil. **Hoehnea**, v.37, n.4.
- Grandi, R., Silva, P., Vital, D. 2008 Hyphomycetes (fungos conidiais) associados a briófitas em decomposição. **Acta bot. bras.**, v.22, n.2, p. 599-606.
- Grandi, R.A.P. 1999. Hifomicetes decompositores do folheto de *Euterpe edulis* Mart. **Hoehnea**, v.26, p.87-101.

Gusmão, L.F.P., Grandi, R.A.P. ; Milanez, A. I. 2001. Hyphomycetes from leaf litter of *Miconia cabussu* in the Brazilian Atlantic rain forest. **Mycotaxon**, v.79, p.201-213.

Gusmão, L. F. P., Barbosa, F. R., Barbosa, F. F., Gusmão, L. F. P., & Maia, L. C. (2006). Diversidade e caracterização dos fungos no semi-árido do estado da Bahia, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 22, 29-36..

Halme, P; Kotiaho, J. S. 2012. The importance of timing and, number of surveys in fungal biodiversity research. **Biodiversity and Conservation**, 21(1): 205-219.

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

Heredia, G. 1993. Mycoflora associated with green leaves and leaf litter of *Quercus germana*, *Quercus sartorii* and *Liquidambar styraciflua* in a Mexican cloud forest. **Cryptogamie Mycologie**, v.14, p.171-183.

Heredia-Abarca, G. 1994. Hifomicetes dematiaceos en bosque mesofilo de montana. Registros nuevos para Mexico. **Acta Botanica Mexicana**, v.27, p.15-32.

Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology spectrum**, 5(4), 5-4.

Hibbett, D.; Binder, M.; Bischoff, J.F.; Blackwell, M. et al. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v.111, p.509-547.

Hirsch, P.R.; Mauchline, T.H.; Clark, I.M. 2010. Culture-independent molecular techniques for soil microbial ecology. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.42, p.878-887.

Hughes, S.J. 1953. Conidiophores, conidia, and classification. **Canadian Journal of Botany** 31: 577-659.

Humber, R.A. 2012. Entomophthoromycota: a new phylum and reclassification for entomophthoroid fungi. **Mycotaxon**, v.120, p.477-492.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística –. 2012. **Manual técnico da vegetação brasileira**. Rio de Janeiro. 275 p.

INPE - Instituto Nacional De Pesquisas Espaciais. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**: Disponível em:<https://www.sosma.org.br/link/Atlas_Mata_Atlantica_20152013_relatorio_tecnico_2014.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2021.

IPA, **Instituto Agrônomo de Pernambuco** 2021 Disponível em: <<http://www.ipa.pe.gov.br/meteorologia/chuvas-rmr.php>>. Acesso em: 16 dez 2021.

Joly, C.A.; Metzger, J.P.; Tabarelli, M. 2014. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. **New Phytologist**, v.204, p.459–473.

Kendrick B. 2000. The Fifth Kingdom, 3rd edition. Newburyport, Massachusetts, USA: **Focus Publishing**, 373.

Kendrick, B. (ed.) 1971. Taxonomy of fungi Imperfecti. **University of Toronto Press Toronto.**

Kendrick, B. 1992. The Fifth Kingdom. Micologie Publications. **Waterloo, Ontario.**

Kendrick, B. 2003. Analysis of morphogenesis in Hyphomycetes: new characters derived from considering some conidiophores and conidia as condensed hyphal systems. **Canadian Journal of Botany** 81: 75-100.

Kirk, P.; Cannon, P.F.; Minter, D.W.; Stalpers, J.A. 2008. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 10th ed. CAB International, Wallingford, UK.

Koivusaari, P., Tejesvi, M. V., Tolkkinen, M., Markkola, A., Mykrä, H., & Pirttilä, A. M. 2019. Fungi originating from tree leaves contribute to fungal diversity of litter in streams. **Frontiers in microbiology**, 10, 651.

Lage, M. R., Piuzana, D., Pereira, I. M., Farnezi, M. M., & Gonzaga, A. P. D. (2017). Caracterização do substrato de áreas degradadas pela extração de cascalho. **Espacios, Venezuela.**

Lewinsohn e Prado 2005. How Many Species Are There in Brazil, **Conservation Biology**, Volume 19, No. 3, Pages 619–624.

Maia, L.C. 1983. Sucessão de fungos em folheto de floresta tropical úmida. Recife, **Ed. Universitária.**

Malosso, 1999. E. Hyphomycetes em Ambientes Aquáticos Lótico e Lêntico - Ocorrência e Biomassa. **Dissertação, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, p. 98.**

Malosso, et al, 2004. Use of C-13-labelled plant materials and ergosterol, PLFA and NLFA analyses to investigate organic matter decomposition in Antarctic soil, **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 36, n. 1, fan. p. 165-175.

Malosso, E. 2018, *Paliphora bicolorata* sp. nov. from the Brazilian Atlantic Forest . **Mycotaxon** , v. 132, p. 903-907.

Marques, M. F. O; Gusmão, L. F. P.; Maia, L. C. 2008, Riqueza de espécies de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica no Morro da Pioneira, Serra da Jibóia, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 954-961.

Marques, M. 2015. Diversity of filamentous fungi in leaf litter and aerial litter in semi-deciduous forest, Bahia, Brazil. **Journal of Forestry Research**, v. 26, p. s11676-015-0035, 2015.

Micheli, P. A. 2002. Nova plantarum genera juxta Tournefortii methodum disposita. In: Klich, M. A. Identification of common *Aspergillus* species. Netherlands: **Centraal bureau voor Schimmelcultures**, 116 p.

Matsushima, T. 1971. Microfungi of the Solomon Islands and Papua-New Guinea. **Publicado pelo autor, Kobe.** *esalpinia echinata* Lam. e *Campomanesia phaea*

Matsushima, T. 1975. Icones Microfungorum a Matsushima Lectorum. **Publicado pelo autor, Kobe.**

Matsushima, T. 1985. **Matsushima Mycological Memoirs n. 4.** Published by the author. Kobe.

Matsushima, T. 1993. **Matsushima Mycological Memoirs n.7.** Published by the author. Kobe.

Mittermeier, R. A. et al. 2004. Hotspots revisited. Mexico City, Mexico: **Cemex, S.A. Press.**

MMA - **Ministério do Meio Ambiente** – Disponível em:<<http://www.mma.gov.br/>>. Acessado em: 22 abr. 2019.

Moore-Landecker, E. 1990. **Fundamentals of the fungi.** 3 ed. New Jersey: Prentice Hall.

Moreira, C. G. M. 2006 Avaliação da diversidade e biomassa de fungos associados a folhas em decomposição de *Tibouchina pulchra* Cogn. submersas em reservatórios do Parque Estadual das Fontes Do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP. **Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, Brasil.**

Moreira, C. G. M. 2011 Sucessão de hifomicetos e avaliação da biomassa fúngica durante a decomposição de folheto de *Ca (O. Berg.) Landrum* submersos em lagos artificiais na cidade de São Paulo, SP. **Tese (Doutorado) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, Brasil.**

Mueller, G.M.; Bills, G.F.; Foster, M.S (Eds). 2004. Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods. Amsterdam: **Elsevier Academic Press.** 777p

Paulin, A.; Harrington, T.C. 2000. Phylogenetic placement of anamorphic species of *Chalara* amongst *Ceratocystis* species and other ascomycetes. **Studies in Mycology**, v.45, p.209-222.

Pinto, L.P.; Brito, C.W. 2005. Dinâmica da perda da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira: uma introdução. Belo Horizonte: **SOS Mata Atlântica/Conservação Internacional do Brasil.**

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

Polishook, J.D.; Bills, G.F.; Lodge, D.J. 1996. Microfungi from decaying leaves of two rain forest trees in Puerto Rico. **Journal of Industrial Microbiology**, n. 17, p. 284-294.

Ribeiro, M.C.; Metzger, J.P.; Martensen, A.C.; Ponzoni, F.J.; Hirota, M.M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v.142, n.6, p.1141–1153.

Rohlf, F. J. 2000. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. **Exeter Software**, New York, 98p.

Ruzicka, S. 2000. The utility of ergosterol as a bioindicator of fungi in temperate soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, n. 7, p. 989-1005.

Saccardo, P.A. 1886. **Sylloge Fungorum IV**. Hyphomycetae.

Santana, M. V., Andrade, J. P., Monteiro, J. S., Gusmão, L. F. P., & Bezerra, J. L. (2017). Microfungos associados à serapilheira na Mata Atlântica e Caatinga, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, 15(3).

Izabel, S., dos Santos, T., & Gusmão, L. F. (2018). Richness and diversity of conidial fungi associated with plant debris in three enclaves of Atlantic Forest in the Caatinga biome of Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, 151(1), 35-47.

Santos, A. J. 2003. Estimativas de riqueza em espécies. In: Rudran, R., Cullen, L.; Valladares-Padua, C. (Orgs.) Métodos de estudo em biologia da conservação e manejo da vida terrestre. **Ed. Da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba. P.19-41.

Santos, A.J. 2006. Estimativas de riqueza em espécies. Em: L. Cullen Jr., R. Rudran e C. Valladares-Padua (eds.) Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. 2.ed. p.19-41. Curitiba: **Editora UFPR**.

Santos, M. 2015. Ascomycetos (anamórficos e teleomórficos) associados ao folheto da Mata Atlântica no sul da Bahia. **Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, 83 folhas, Recife**.

Seifert K, Morgan-Jones G, Gams W, Kendrick B. The Genera of Hyphomycetes. 2011. **CBS Biodiversity Series no. 9: 1–997**. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherlands.

Seitz, L. M.; Mohr, H. E.; Burroughs, R.; Sauer, D. B.; Hubbard, J. D. 1979. Ergosterol as a Measure of fungal growth. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 11, p. 1202-1203.

Shannon, C.E.; Weaver, W. 1949. **The Mathematical Theory of Communication**. Urbana, University of Illinois Press.

Shearer, C.; Descals, E.; Kohlmeyer, B.; Kohlmeyer, J.; Marvanova, L.; Padgett, D.; Porter, D.; Raja, H.A.; Schmit, J.P.; Thorton, H.A.; Voglymayr, H. 2007. **Fungal biodiversity in aquatic habitats. Biodiversity and Conservation**, v.16, p.49-67.

Shenoy, B.D.; Jeewon, R. Wu, W.P.; Bhat, D.J.; Hyde, K.D. 2006. Ribosomal and RPB2 DNA sequence analyses suggest that *Sporidesmium* and morphologically similar genera are polyphyletic. **Mycological Research**, v.110, p. 916-928.

Schoenlein-Crusius, I.H., Moreira, C.G., Takahashi, J.P. & Gomes, E.P.C. Riqueza dos fungos ingoldianos e aquáticos facultativos no Parque Municipal do Ibirapuera, São Paulo, SP, Brasil. **Hoehnea** 41: 61–76, 2014.

Silva, M.; Minter, D.W. 1995. Fungi from Brazil. **Mycological Papers**, v.169, p.1-585.

Smith, E; van Belle, G.1984. “Nonparametric Estimation of Species Richness.” **Biometrics**, v.40, 119–129.

Souza T.A; Ribeiro M.S.O 2017, De Volta Ao Passado: Revisitando A História Biogeográfica das Florestas Neotropicais Úmidas, **ecologia Australis** 21(2): 93-107.

Spatafora, J.W.; Chang, Y.; Benny, G.L.; Lazarus, K.; Smith, M.E.; Berbee, M.L.; Bonito, G., Corradi, N.; Grigoriev, I.; Gryganskyi, A.; James, T.Y.; O'donnell, K.; Roberson, R.W.; Taylor, T.N.; Uehling, J.; Vilgalys, R.; White, M.M.; Stajich, J.E.2016.. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. **Mycologia**, v.108, p.1028–1046.

Subramanian, C.V. 1983. **Hyphomycetes: Taxonomy and Biology**. Academic Press, London.

Tedersoo, L.; Sánchez-Ramírez, S.; Kõljalg U. Bahram, M.; Doring M.; Schigel, D.; May, T. Ryberg, M. & Abarenko V, K..2018. **Fungal Diversity**.

TEEB. 2010. The Economics of Ecosystems and Biodiversity: Mainstreaming the Economics of Nature: A Synthesis of the Approach, Conclusions and Recommendations of **TEEB**.

Tubaki, K. 1963. Taxonomic study of Hyphomycetes. **Annual Report Institute of Fermentation**, Osaka 1: 25-54 v. 48, n. 2, p. 183-194, 2018.

The R Core Team. 2018. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, **R Foundation for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 30 jun 2018.

Turk, M.A.; Pentland, A.P. 1991. Face Recognition Using Eigenfaces. **Proceedings of IEEE Computer Vision and Pattern Recognition**, Maui, 586-591.

Vital, A. R. T.; Guerrini, I.A.; Franken, W.K., Fonseca, R.C.B.2004. Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de uma floresta estacional semidecidual em zona ripária. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.28, n.6, p.793-800.

Whittaker, R. H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. **Science** 163:150-160.

Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Rajeshkumar, K. C., Hawksworth, D. L., Madrid, H., Kirk, P. M., Kukwa, M. 2017. Notes for genera: Ascomycota . **Fungal Diversity**, 86(1), 1–594. doi:10.1007/s13225-017-0386-0.

Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Lumbsch, H. T., Liu, J. K., Maharachchikumbura, S. S. N., Ekanayaka, A. H., ... Phookamsak, R. 2018. Outline of Ascomycota: 2017. **Fungal Diversity**, 88(1), 167–263. doi:10.1007/s13225-018-0394-8.