

**Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais**

**Influência da presença de raízes finas e disponibilidade de carbono lábil nos processos de decomposição de serapilheira na Amazônia Central**

Nathielly Pires Martins

**Manaus, Amazonas**

**Abril, 2018**

**Nathielly Pires Martins**

**Influência da presença de raízes finas e disponibilidade de carbono lábil nos processos de decomposição de serapilheira na Amazônia Central**

Orientador: Dr. Carlos Alberto Nobre Quesada

Co-orientadora: Dra. Lucia Fuchslueger

Dissertação de Mestrado apresentado ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências de Florestas Tropicais.

Manaus, Amazonas

Abril, 2018

M386i Martins, Nathielly Pires

Influência da presença de raízes finas e disponibilidade de carbono lábil nos processos de decomposição de serapilheira na Amazônia Central / Nathielly Pires Martins; orientador: Carlos Alberto Nobre Quesada; coorientadores: Lúcia Fuchslueger. - Manaus:[s. 1.], 2023.

2,4 MB

100 p. : il. color.

Dissertação (Mestrado -Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais – CFT.) - Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2023.

1. Fertilização por CO<sub>2</sub>. 2. Ciclagem de nutrientes. 3. Exsudatos radiculares. I. Quesada, Carlos Alberto Nobre . II. Fuchslueger, Lúcia III. Título.

CDD 575.581013

---

**SINOPSE:**

Considerando um cenário de mudanças climáticas e um efeito de fertilização por CO<sub>2</sub> nos ecossistemas florestais. Foi avaliado como a presença das raízes finas pode influenciar os processos envolvidos na ciclagem de nutrientes, que é a principal via de retorno de nutrientes para o solo.

**Palavras chave:** Fertilização por CO<sub>2</sub>, ciclagem de nutrientes, exsudatos radiculares, biomassa microbiana, atividade enzimática extracelular.

Dedico este trabalho a minha mãe Maria Elena Martins da Silva e ao meu pai Geraldo Pires da Silva que em nenhum momento mediu esforços para que eu me dedicasse inteiramente aos meus estudos, e hoje a ciência. A minha irmã Sabrina Pires Martins e aos meus sobrinhos Vitor Gabriel Martins Carubin e João Emanuel Pires Martins, que são responsáveis por toda a força que eu sempre tive para seguir em frente. À minha amiga, conselheira e professora Monica Elisa Bleich (*in memoriam*) por acreditar nos meus sonhos antes mesmo deles serem sonhados, o meu caminho na ciência sempre irá ser um reflexo dos seus ensinamentos.

## AGRADECIMENTOS

Ao longo dessa jornada de dois anos nós somos desafiados e surpreendidos diariamente, as emoções vão ao limite, não é fácil. Mas são nesses momentos que conseguimos identificar os reais motivos de estar nessa caminhada. Eu sou grata por ter passado por todos esses desafios, sou grata por ter descoberto a minha felicidade. Ciência, obrigada por ter feito desse nosso primeiro encontro maravilhoso, eu me apaixonei por você desde o primeiro dia. Nossa caminhada está apenas no início.

A todos aqueles que estiveram ao meu lado ao longo desses dois anos, eu sou inteiramente grata, sem vocês nada seria possível. Em especial ao meu orientador Carlos Alberto Quesada que confiou no meu potencial desde o primeiro dia, obrigado por todos os seus abraços nos momentos difíceis, pela sua paciência e por fazer o impossível para nos ajudar sempre. À minha coorientadora Lucia Fuchslueger, por todos os novos ensinamentos, por me encorajar a desbravar uma ciência pouco conhecida na Amazônia, por me receber em sua casa, no outro lado do atlântico e fazer o possível e impossível para que tudo fosse incrível e perfeito, e foi.

Aos meus irmãos e companheiros de jornadas diárias, Jéssica Schmeisk e Mateus Reis, por fazer os dias e noites serem mais tranquilos, seguros e felizes. As vizinhas, Carolina Ramirez, Amanda Longhi e Leticia Cobello por completar a nossa família e felicidade.

A todos os integrantes do laboratório de ciclos biogeoquímicos por fazer dos dias intermináveis no INPA maravilhosos. Em especial aos companheiros Juliane Menezes, Anna Carolina Martins, Yago Santos, Karst Schaap, Laynara Lugli, Amanda Longhi, Jessica Schmeisk, Fernanda Viana, Fernanda Luz, Jessica Campos, Amanda Damasceno, Cilene Palheta, Ana Paula, Iokanam Sales, Sabrina Garcia, Sheila Trierveiler, Érick, Luciano Castilho. Com certeza cada um de vocês contribuiu para que a minha jornada se tornasse mais simples e feliz. À também aqueles que hoje estão distantes, mas sempre fizeram parte dessa caminhada, Katrin Fleischer, Oscar Valverde, Florian Hofhansl, Adriana Grandis, Kelly Andersen.

Ao laboratório temático de solos e plantas (LTSP) por ceder os equipamentos e o espaço para a realização das análises, em especial ao Raimundo Filho, Gabriela Gandhi,

Erison Gome e Jonas de Oliveira por todo o suporte e esforço para que tudo saísse da melhor forma possível. Ao Dr. Plínio Camargo (CENA/ESALQ) pelo apoio técnico para a execução das análises laboratoriais de carbono e nitrogênio.

Aos membros do comitê científico do programa AmazonFACE, em especial Bruno Takeshi e David Lapola que sempre lutaram para garantir as melhores condições para os trabalhos serem realizados. Obrigada pela confiança e, por me permitirem fazer parte deste sonho.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, programa de pós-graduação em Ciências de florestas tropicais e a Capes, pela oportunidade de cursar o mestrado.

## RESUMO

A presença das raízes finas na serapilheira pode ser um mecanismo adaptativo à baixa disponibilidade de nutrientes nos solos da Amazônia Central. Além de aumentar a eficiência na utilização dos recursos disponibilizados, as raízes finas, possivelmente, também estimulam os processos de decomposição, principalmente através da exsudação de compostos de carbono lábil (C lábil). Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da presença de raízes finas e da disponibilidade de C lábil sobre a decomposição da serapilheira foliar, em uma floresta primária da Amazônia Central. Foi simulada a exsudação das raízes finas, aumentando em aproximadamente 10% as concentrações de carbono presente na serapilheira. Os compostos de C foram adicionados nas formas de glicose e ácido cítrico, além do controle (água), em duas condições distintas: a) nas condições reais da floresta, onde foi permitido o crescimento das raízes finas; b) excluindo a presença das raízes da serapilheira. Ao longo do processo de decomposição foi avaliada a dinâmica de liberação dos nutrientes, além dos principais processos envolvidos. Observamos que a presença das raízes finas aumentou a perda de massa da serapilheira, principalmente das frações mais recalcitrantes (lignina). No entanto, esse estímulo não está relacionado com o aumento na disponibilidade de C lábil, pelo contrário, quando adicionado ácido cítrico houve uma redução na decomposição da serapilheira. Em relação à liberação dos nutrientes, a presença das raízes finas por si só estimulou a mineralização de alguns elementos (P, K, Ca e Mg), porém, quando adicionado os compostos de C, o efeito positivo foi limitado para o P e na ausência das raízes finas com a adição de ácido cítrico. A imobilização de C, N e P na biomassa dos microrganismos não se diferenciou entre a presença ou ausência das raízes finas. Já quando adicionado ácido cítrico houve uma redução na imobilização de C na ausência das raízes finas e de P tanto na presença, quanto na ausência das raízes. Para a potencial atividade das enzimas extracelulares a presença das raízes finas estimulou apenas a atividade da fosfatase, o efeito da adição dos compostos de C também foi observado especificamente para a fosfatase, onde na ausência das raízes finas e com a adição do ácido cítrico sua atividade foi reduzida. Os resultados indicaram um forte efeito da presença das raízes finas na decomposição da serapilheira, e na liberação de determinados nutrientes. No entanto, quando simulado o efeito bioquímico das raízes, através da exsudação de compostos de C lábil, não observamos um aumento na decomposição da serapilheira. Demonstrando que os processos responsáveis por intermediar a decomposição da serapilheira não são limitados por energia.

## **Influence of fine roots and labile carbon availability in the processes of litter decomposition in Central Amazonia**

### **ABSTRACT**

The high presence of fine roots in the litter layer can be an adaptive mechanism by plants to the low nutrient availability in the soils of Central Amazonia. In addition to increasing the efficiency of plants in the utilization of the available resources, fine roots possibly also stimulate decomposition processes, mainly through the exudation of labile carbon compounds (labile C), but little is known yet about the influence of roots in the litter layer. The objective of the present study was therefore to evaluate the effects of the presence of fine roots and the availability of labile C on leaf litter decomposition in a primary forest of Central Amazonia. The exudation of the fine roots was simulated, by increasing the concentrations of carbon present in the litter by approximately 10%. Carbon was added as glucose and citric acid, and water was added as control, in two different conditions: a) in the real conditions of the forest, where the growth of the fine roots was allowed; b) excluding the presence of roots of the litter using fine mesh bags. During the decomposition process, the nutrient release dynamics were evaluated, in addition to the main processes involved. We observed that the presence of fine roots increased litter mass loss, mainly of the most recalcitrant fractions (lignin). However, this stimulus was not related to the increase in the availability of labile C. In contrast, when citric acid was added there was a reduction in the decomposition of the litter. The presence of fine roots alone stimulated the mineralization of some elements (P, K, Ca, and Mg), but when C compounds were added, the positive effect was limited to P, and the absence of fine roots with the addition of citric acid. The immobilization of C, N, and P into the microbial biomass colonizing the litter did not affect by the presence or absence of the fine roots. When citric acid was added microbial biomass C was reduced when roots were absent, and microbial P was both in the presence and absence of the roots. For the potential activity of the extracellular enzymes, the presence of the fine roots stimulated only the phosphatase activity. The addition of the C compounds was also observed specifically for the phosphatase, where in the absence of the fine roots and with the addition of the citric acid its activity was reduced. The results indicated a strong effect of the presence of fine roots in the decomposition of litter, and the release of certain nutrients. However, when simulating the biochemical effect of the roots, through the exudation of labile C compounds, we did not observe an increase in the decomposition of the litter. This shows that the processes responsible for mediating the decomposition of litter are not limited by energy.



## Sumário

APRESENTAÇÃO.....	1
OBJETIVOS .....	6
Objetivo geral .....	6
Objetivos específicos .....	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	7
CAPÍTULO I .....	11
CAPÍTULO II.....	47
SÍNTESE .....	85

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1– Caracterização química inicial da serapilheira composta apenas por folhas, SD= desvio padrão (n=6).....	43
Tabela 2- Constante de decomposição da serapilheira (k), na presença das raízes finas (com raízes) e excluindo o contato direto com as raízes finas (sem raízes), n=6.....	43
Tabela 3– Influência das raízes no percentual remanescente dos principais elementos presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição. Onde: C=carbono, N=nitrogênio, P=fosforo, K=potássio, Ca=cálcio, Mg=magnésio.....	44
Tabela 4 - Influência das diferentes condições propostas na biomassa dos microrganismos e potencial atividade enzimática extracelular presentes na serapilheira em processo de decomposição.....	44

## CAPÍTULO II

Tabela 1- Caracterização química inicial da serapilheira composta apenas por folhas, SD= desvio padrão (n=6)..... 80

Tabela 2– Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil nas frações estruturais remanescentes da serapilheira ao longo do processo decomposição em duas condições distintas (com raízes e sem raízes).Onde: MR= Massa remanescente da serapilheira; lábil = A diferença entre a massa remanescente da serapilheira e a soma das frações de celulose e lignina presente na massa remanescente da serapilheira; celulose= percentual de celulose presente na massa remanescente da serapilheira; lignina= percentual de lignina presente na massa remanescente da serapilheira. .... 81

Tabela 3 - Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil na concentração total e percentual remanescente dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) ao longo do processo de decomposição da serapilheira em duas condições distintas, determinados por diferentes modelos mistos lineares (*LMMs*)..... 82

Tabela 4 - Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil na biomassa microbiana composta por C, N e P e potencial atividade das enzimas extracelulares presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas condições distintas, determinados por diferentes modelos mistos lineares (*LMMs*)..... 83

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1- Percentual de massa remanescente da serapilheira ao longo do processo de decomposição nas duas condições propostas, com a presença das raízes finas (com raízes) e excluindo o contato direto com as raízes finas (sem raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.....37

Figura 2- Percentual das frações remanescentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição, com a presença das raízes finas (a), excluindo o contato direto com as raízes finas (b). Onde: Solúvel representa a massa remanescente total da serapilheira menos à soma das frações de lignina e celulose; Celulose é a porcentagem de celulose presente na massa remanescente da serapilheira; Lignina é a porcentagem de lignina presente na massa remanescente da serapilheira. As barras de erro representam o erro padrão, n=6. ....37

Figura 3- Concentração total e percentual remanescente dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) ao longo do processo de decomposição de serapilheira nas duas condições propostas (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.....38

Figura 4 - Concentração total e percentual remanescente dos elementos potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) ao longo do processo de decomposição de serapilheira nas duas condições propostas (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.....39

Figura 5 - Carbono, nitrogênio e fosforo imobilizado na biomassa dos microrganismos ao longo do processo de decomposição de serapilheira, nas duas condições propostas (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6. ....40

Figura 6 - Potencial atividade de diferentes enzimas extracelulares ao longo do processo de decomposição de serapilheira, (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). Onde: CB= exocelulanase; BG=  $\beta$  -glucosidase; NAG= exochitinase; PHOS= fosfatase. As barras de erro representam o desvio padrão, n=6 .....41

Figura 7 - Dinâmica dos parâmetros morfológicos das raízes finas presentes na serapilheira em processo de decomposição. Onde: SRL= Comprimento específico da raiz (cm g<sup>-1</sup>); SRA= Área específica da raiz (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). As barras de erro representam o erro padrão n=6.....42

## CAPÍTULO II

Figura 1 - Massa remanescente da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: a) Com a presença das raízes finas; b) Excluindo a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).....73

Figura 2 – Frações estruturais remanescentes na massa da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: a) controle com a presença das raízes finas; b) controle excluindo a presença das raízes finas; c) glicose com a presença das raízes finas; d) glicose excluindo a presença das raízes finas; e) Ácido cítrico com a presença das raízes finas; d) Ácido cítrico excluindo a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).....74

Figura 3– Concentração total dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) presentes na massa remanescente da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).....75

Figura 4 - Percentual remanescente dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) presentes na massa remanescente da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).....76

Figura 5 – Influência do aumento na disponibilidade de C lábil na imobilização de C, N e P na biomassa dos microrganismos presente na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6). ..... 77

Figura 6 – Influência do aumento na disponibilidade de C lábil na atividade das enzimas extracelulares presente na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. CB= exoglucanase; BG=  $\beta$ -Glucosidase; NAG= exochitinase. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6). ... 78

Figura 7 – Influência do aumento na disponibilidade de C lábil na atividade da enzima extracelular fosfatase (PHOS) presente na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6). ..... 79

## APRESENTAÇÃO

A floresta Amazônica é caracterizada por uma grande diversidade em suas propriedades químicas e físicas do solo (Quesada *et al.* 2010, 2011), e como tal estas propriedades influenciam diretamente o comportamento e a dinâmica da ciclagem dos nutrientes. A ciclagem de nutrientes é a principal via de retorno de nutrientes para o solo, que ocorre em grande parte através da decomposição da serapilheira. Sendo esse um dos principais processos responsáveis por favorecer a manutenção de florestas que estão localizadas em solos mais antigos, e conseqüentemente com menor disponibilidade de nutrientes (Devi and Yadava 2010; Quesada *et al.* 2011). A velocidade da decomposição da serapilheira depende da qualidade do substrato, fatores ambientais, físicos, químicos, além da atividade da fauna e comunidade microbiana (Swift *et al.*, 1979). Em florestas tropicais, onde o clima é predominantemente favorável ao processo de decomposição, a qualidade da serapilheira, principalmente a concentração e estequiometria de carbono e nutrientes (C:N:P), bem como a sua composição química (por exemplo, a concentração de lignina e celulose), são os principais fatores que controlam a perda de massa da serapilheira, e as taxas de mineralização dos nutrientes, que é mediada em grande parte pelos microrganismos (Zhang *et al.* 2008; Mooshammer *et al.* 2012).

Além disso, o processo de decomposição da serapilheira irá variar ao longo do tempo, diferenciando a quantidade e qualidade de carbono e nutrientes mineralizados entre os estágios do processo. Inicialmente os materiais mais solúveis ainda estão disponíveis, grande parte destes serão perdidos pela lixiviação (Chapin *et al.* 2002). Em seguida, a comunidade microbiana tende a intensificar a sua atuação na degradação dos compostos de celulose e posteriormente nos compostos mais lignificados e recalcitrantes. Os agentes decompositores também irão atuar em intensidades diferentes de acordo com a qualidade do material disponível, aumentando as suas atividades principalmente nos estágios mais tardios do processo de decomposição (Cotrufo *et al.* 2015). Outro fator que também vai influenciar na quantidade de nutrientes inorgânicos liberados no ecossistema através da mineralização é a disponibilidade de C em relação à demanda de nutrientes dos microrganismos, bem como o teor de nutriente presente na matéria orgânica (Mooshammer *et al.* 2014). No entanto, os nutrientes estão presentes na serapilheira em uma ampla gama de compostos orgânicos não solúveis e a disponibilidade desses elementos está principalmente ligada à despolimerização

ou hidrolise, ou seja, a atividade de enzimas extracelulares (EEs) que transformam compostos de massa molecular alta em compostos orgânicos de baixa massa molecular (Mooshammer *et al.* 2012, 2014). Assim, os microrganismos decompositores liberam as EEs para desconstruir as macromoléculas das plantas e, finalmente, disponibilizar os substratos solúveis para captação microbiana e possível absorção radicular (Schimel and Bennett 2004).

Nas últimas décadas surgiu uma intensa preocupação ambiental com o aumento das concentrações atmosféricas de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) que está diretamente associada ao aquecimento global (IPCC 2014). A concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> aumentou substancialmente desde a Revolução Industrial, atingindo uma média global de 407 ppm em 2018 (IPCC 2014; NASA 2018). Esse aumento contínuo nas concentrações de CO<sub>2</sub> pode promover impactos diretos na estrutura e função dos ecossistemas, incluindo efeitos sobre a fisiologia e o crescimento das árvores (Körner *et al.* 2005; Cernusak *et al.* 2013; Hofhansl *et al.* 2016).

São consideradas duas hipóteses principais em relação ao efeito que o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera pode promover nos ecossistemas florestais. A primeira delas refere – se ao “*feedback* negativo” (Strain and Bazzaz 1983) (Figura 1 A), onde os aumentos iniciais no crescimento das plantas e na produtividade dos ecossistemas sob CO<sub>2</sub> elevado estão associados a um aumento da eficiência no uso dos nutrientes (EUN). No entanto, o aumento da EUN pode aumentar a relação de C e nutrientes, aumentando as concentrações de C presente na serapilheira (ex: lignina) e reduzindo as concentrações dos nutrientes (Couteaux *et al.* 1999). A taxa de decomposição da serapilheira é correlacionada negativamente com o aumento da relação de C e nutrientes, nesse cenário a taxa de mineralização e a disponibilidade de nutrientes no solo tenderiam a reduzir. Assim na hipótese do *feedback* negativo há pouco ou nenhum efeito do CO<sub>2</sub> elevado sobre o aumento da produtividade florestal (PPL) porque o aumento da produtividade primária líquida (PPL) sob CO<sub>2</sub> elevado não é compatível com um aumento simultâneo da disponibilidade de nutrientes do solo (Finzi *et al.* 2001). Em contraste com a hipótese do *feedback* negativo, a hipótese 2 que refere-se ao efeito de fertilização por CO<sub>2</sub> (Figura 1 B), argumenta que as limitações dos nutrientes do solo não compensarão totalmente os efeitos do CO<sub>2</sub> elevado sobre a produtividade florestal porque o C adicional será alocado para abaixo do solo, estimulando a aquisição de nutrientes (Dijkstra *et al.* 2013). A hipótese de fertilização por CO<sub>2</sub> argumenta que a alocação de C para abaixo do solo se dá principalmente através do



aumento na produção de raízes finas (Rogers *et al.* 1994), e aumento na disponibilidade de C lábil depositado na rizosfera (Cheng 1999). O aumento nas entradas de C lábil para o solo pode aumentar a atividade dos microrganismos, aumentando assim a quantidade de matéria orgânica que é decomposta, promovendo um *feedback positivo* entre aumento de CO<sub>2</sub> na atmosfera, PPL e disponibilidade de nutrientes (Finzi *et al.* 2001).

Experimentos realizados em áreas de florestas temperadas com enriquecimento de CO<sub>2</sub> ao ar livre (Free-Air CO<sub>2</sub> Enrichment, FACE) demonstraram que inicialmente ocorre um aumento na produtividade florestal sob condições de CO<sub>2</sub> elevado (Norby *et al.* 2005), no entanto, esse incremento na produtividade é estagnado após alguns anos, devido a uma limitação de nitrogênio no solo (Norby *et al.* 2010). Uma das possibilidades para superar essa limitação nutricional seria uma maior alocação de C para abaixo do solo, garantindo um *feedback* positivo (Figura 1 B), como já descrito acima (Finzi *et al.* 2001; Iversen *et al.* 2008; Norby *et al.* 2010). Essa dedução é suportada pelo aumento da alocação C para abaixo do solo e produção de raízes finas em alguns experimentos de enriquecimento de CO<sub>2</sub> (Norby *et al.* 2004; Pritchard *et al.* 2008; Phillips *et al.* 2012).

A principal hipótese relacionando a maior alocação de C para abaixo do solo e o aumento na disponibilidade de nutrientes, supõe que, o aumento na produtividade de raízes finas será acompanhado pelo aumento na exsudação de compostos de carbono lábil. Esse pulso de energia (carbono lábil) pode estimular à procura microbiana por nutrientes, que pode ser atingida pelo aumento na síntese de enzimas extracelulares, e em seguida a despolimerização dos elementos presentes na serapilheira ou matéria orgânica do solo (Cheng and Kuzyakov 2005). Essa alteração no *turnover* da matéria orgânica após uma maior disponibilidade de carbono lábil é conhecida como efeito *priming* (Kuzyakov *et al.* 2000; Kuzyakov 2010). O efeito *priming* pode ser real, quando o aumento no fluxo de CO<sub>2</sub> liberado se traduz em uma maior mineralização da matéria orgânica, ou aparente, quando o aumento de fluxo de CO<sub>2</sub> resulta em um aumento no *turnover* da biomassa microbiana sem a mineralização da matéria orgânica do solo (Blagodatskaya and Kuzyakov 2008). Embora tais microrganismos possam inicialmente imobilizar os nutrientes recém mineralizados em sua biomassa, o pulso contínuo de C originado da exsudação pode estimular e aumentar o crescimento e taxa de reposição das populações microbianas, e assim liberar nutrientes na rizosfera (Phillips *et al.* 2011; Zhalnina *et al.* 2018). Outro mecanismo que as raízes finas possuem capaz de aumentar a disponibilidade dos nutrientes está relacionado com a liberação

de enzimas fosfatase (Hammond and White 2018). Essas enzimas promovem diretamente a hidrólise das moléculas de P que estão na forma orgânica, transformando em moléculas inorgânicas disponíveis para absorção radicular ou imobilização microbiana.

Assim, a presença das raízes finas e a ciclagem dos nutrientes são capazes de minimizar a limitação de nutrientes, desempenhando um papel de grande importância para a resiliência dos ecossistemas florestais em condições de CO<sub>2</sub> elevado. No entanto, a quantificação da entrada e perda de C do solo (Cotrufo *et al.* 2015), e como a maior disponibilização de energia pode influenciar os processos que envolvem a dinâmica de nutrientes, em grande parte dos estudos são observados em experimentos de laboratório de curto prazo utilizando marcadores isotópicos, e podendo ser inferidos a partir de cálculos de balanço de massa (Drake *et al.* 2013). Porém, abordagens disponibilizando insumos de C em grandes conjuntos de dados do campo foram pouco desenvolvidas, principalmente em florestas tropicais.

Visando preencher essa lacuna no conhecimento, e para compreender a influência da presença das raízes finas nos processos de decomposição da serapilheira em florestas tropicais, nós propomos um experimento de decomposição em campo com todas as condições reais. Onde vamos simular um aumento de aproximadamente 10% nos exsudatos radiculares nas formas de glicose e ácido cítrico em duas condições distintas: com a presença das raízes finas e excluindo totalmente as raízes finas da serapilheira. Em condições naturais (controle), espera-se observar se a presença das raízes finas influencia o comportamento de alguns dos principais fatores que controlam a decomposição, como a biomassa microbiana e a atividade enzimática extracelular. Além disso, com a adição do C lábil podemos avaliar se a possível influência das raízes finas nos fatores responsáveis por intermediar a decomposição da serapilheira está principalmente relacionada com a maior disponibilidade de energia.

Trabalhamos com a hipótese de que a presença das raízes finas, além da liberação natural dos exsudatos, também irá promover uma maior fragmentação da serapilheira e com isso aumentar a área de superfície específica para a colonização dos organismos decompositores, resultando em uma maior decomposição desse material. Além disso, a maior disponibilização de energia principalmente na forma de C lábil que apresenta estruturas mais simplificadas (glicose), irá estimular a biomassa microbiana por procura de nutrientes, aumentando assim a síntese das enzimas extracelulares responsáveis por mineralizar o

material vegetal, resultando em uma maior decomposição da serapilheira e mineralização dos nutrientes.

Por fim, nós avaliamos se a presença das raízes finas irá influenciar os principais processos que controlam a ciclagem de nutrientes nas florestas da Amazônia Central. Paralelamente observamos se essa possível influência positiva está relacionada com um aumento na disponibilidade de energia (exsudatos). Este processo pode ter implicações fundamentais na resposta de florestas tropicais ao aumento de CO<sub>2</sub> na atmosfera.

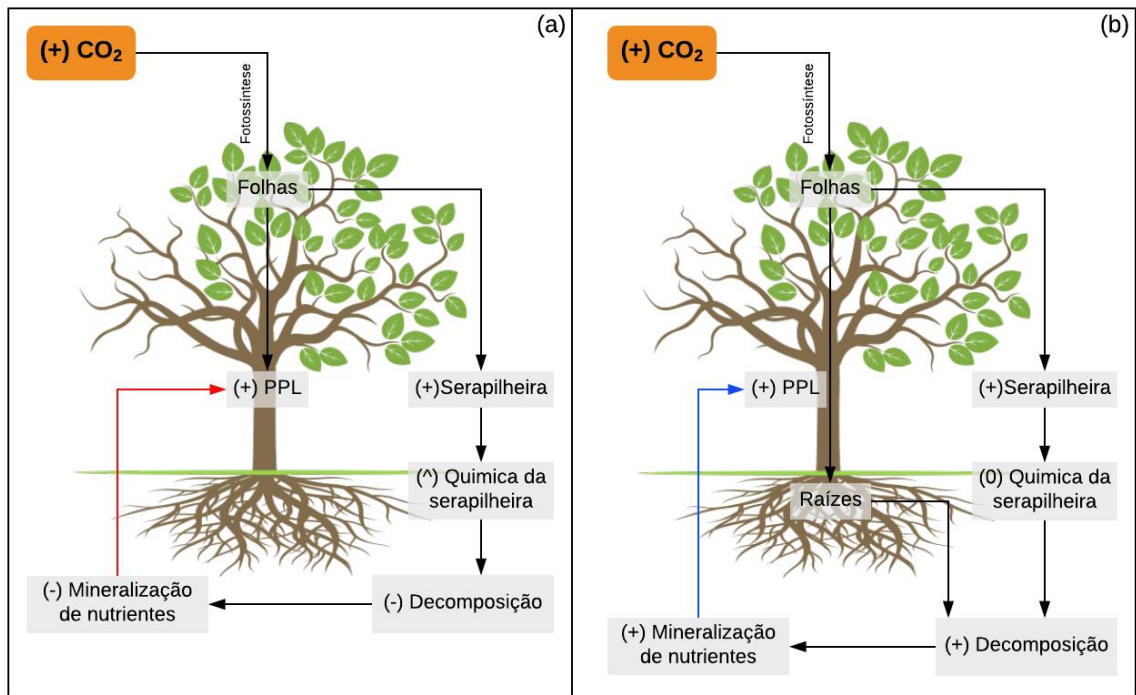


Figura 1 – Diagrama adaptado de (Finzi *et al.* 2001), representando o efeito do aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico na produtividade primária líquida e ciclagem de nutrientes. a) Hipótese de limitação de nutrientes. b) Hipótese de fertilização por CO<sub>2</sub>. Onde: O símbolo “+” significa um efeito positivo, “^” significa que ocorreu alguma alteração, “-” indica uma redução, “0” ocorreu nenhuma alteração. As setas pretas indicam a continuidade dos processos, as setas vermelhas indicam redução e as setas azuis significa aumento.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Avaliar o efeito da presença de raízes finas e da disponibilidade de C lábil sobre a decomposição da serapilheira foliar, em uma floresta primária da Amazônia Central.

### **Objetivos específicos**

1. **Capítulo I:** Caracterizar a dinâmica das raízes finas na serapilheira, e avaliar como a presença das mesmas pode influenciar os processos de decomposição.
2. **Capítulo II:** Avaliar se a possível influência das raízes finas nos processos de decomposição da serapilheira está relacionada com o aumento na disponibilidade de energia fornecida através dos exsudatos radiculares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blagodatskaya, E.; Kuzyakov, Y. 2008. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. *Biology and Fertility of Soils* 45: 115–131.
- Cernusak, L.A.; Winter, K.; Dalling, J.W.; Holtum, J.A.; Jaramillo, C.; Körner, C.; et al. 2013. Tropical forest responses to increasing atmospheric CO<sub>2</sub>: current knowledge and opportunities for future research. *Functional Plant Biology* 40: 531–551.
- Chapin, F.S.I.; Matson, P.A.; Mooney, H.A. 2002. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. 219-229p.
- Cheng, W. 1999. Rhizosphere feedbacks in elevated CO<sub>2</sub>. *Tree physiology* 19: 313–320.
- Cheng, W.; Kuzyakov, Y. 2005. Root Effects on Soil Organic Matter Decomposition. *Agronomy*: 119–144.
- Cotrufo, M.F.; Soong, J.L.; Horton, A.J.; Campbell, E.E.; Haddix, M.L.; Wall, D.H.; et al. 2015. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience* 8: 776–779.
- Couteaux, M.M.; Kurz, C.; Bottner, P.; Raschi, A. 1999. Influence of increased atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on quality of plant material and litter decomposition. *Tree Physiology* 19: 301–311.
- Devi, N.B.; Yadava, P.S. 2010. Influence of climate and litter quality on litter decomposition and nutrient release in sub-tropical forest of Northeast India. *Journal of Forestry Research* 21: 143–150.
- Dijkstra, F.A.; Carrillo, Y.; Pendall, E.; Morgan, J.A. 2013. Rhizosphere priming: A nutrient perspective. *Frontiers in Microbiology* 4: 1–8.
- Drake, J.E.; Darby, B.A.; Giasson, M.A.; Kramer, M.A.; Phillips, R.P.; Finzi, A.C. 2013. Stoichiometry constrains microbial response to root exudation-insights from a model and a field experiment in a temperate forest. *Biogeosciences* 10: 821–838.
- Finzi, A.C.; Allen, A.S.; DeLucia, E.H.; Ellsworth, D.S.; Schlesinger, W.H. 2001. Forest litter production, chemistry, and decomposition following two years of free-air

- CO<sub>2</sub>enrichment. *Ecology* 82: 470–484.
- Hammond, J.P.; White, P.J. 2018. Sucrose transport in the phloem : integrating root responses to phosphorus starvation. 59: 93–109.
- Hofhansl, F.; Andersen, K.M.; Fleischer, K.; Fuchslueger, L.; Rammig, A.; Schaap, K.J.; et al. 2016. Amazon Forest Ecosystem Responses to Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> and Alterations in Nutrient Availability: Filling the Gaps with Model-Experiment Integration. *Frontiers in Earth Science* 4: 1–9.
- IPCC. 2014. *Summary for Policymakers*. 2-26p.
- Iversen, C.M.; Ledford, J.; Norby, R.J. 2008. CO<sub>2</sub> enrichment increases carbon and nitrogen input from fine roots in a deciduous forest. *New Phytologist* 179: 837–847.
- Körner, C.; Asshoff, R.; Bignucolo, O.; Keel, S.G.; Pela, S.; Pepin, S.; et al. 2005. Carbon Flux and Growth in Mature Deciduous Forest Trees Exposed to Elevated CO<sub>2</sub>. *Science* 309: 1360–1362.
- Kuzyakov, Y. 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1363–1371.
- Kuzyakov, Y.; Friedel, J.K.; Stahr, K. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1485–1498.
- Mooshammer, M.; Wanek, W.; Zechmeister-Boltenstern, S.; Richter, A. 2014. Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: Mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Frontiers in Microbiology* 5: 1–10.
- Mooshammer, M.; Wanek, W.; Schneckler, J.; Wild, B.; Leitner, S.; Hofhansl, F.; et al. 2012. Stoichiometric controls of nitrogen and phosphorus cycling in decomposing beech leaf litter. *Ecology* 93: 770–782.
- Norby, R.J.; Ledford, J.; Reilly, C.D.; Miller, N.E.; O’Neill, E.G. 2004. Fine-root production dominates response of a deciduous forest to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 9689–9693.
- Norby, R.J.; Warren, J.M.; Iversen, C.M.; Medlyn, B.E.; McMurtrie, R.E. 2010. CO<sub>2</sub>

- enhancement of forest productivity constrained by limited nitrogen availability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 19368–19373.
- Norby, R.J.; DeLucia, E.H.; Gielen, B.; Calfapietra, C.; Giardina, C.P.; King, J.S.; et al. 2005. Forest response to elevated CO<sub>2</sub> is conserved across a broad range of productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 18052–18056.
- Phillips, R.P.; Finzi, A.C.; Bernhardt, E.S. 2011. Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO<sub>2</sub> fumigation. *Ecology Letters* 14: 187–194.
- Phillips, R.P.; Meier, I.C.; Bernhardt, E.S.; Grandy, S.; Wickings, K.; Finzi, A.C.; et al. 2012. Roots and fungi accelerate carbon and nitrogen cycling in forests exposed to elevated CO<sub>2</sub>. *Ecology letters* 15: 1042–1049.
- Pritchard, S.G.; Strand, A.E.; McCormack, M.L.; Davis, M.A.; Finzi, A.C.; Jackson, R.B.; et al. 2008. Fine root dynamics in a loblolly pine forest are influenced by free-air-CO<sub>2</sub>-enrichment: A six-year-minirhizotron study. *Global Change Biology* 14: 588–602.
- Quesada, C.A.; Lloyd, J.; Schwarz, M.; Patiño, S.; Baker, T.R.; Czimczik, C.; et al. 2010. Variations in chemical and physical properties of Amazon forest soils in relation to their genesis. *Biogeosciences* 7: 1515–1541.
- Quesada, C.A.; Lloyd, J.; Anderson, L.O.; Fyllas, N.M.; Schwarz, M.; Czimczik, C.I. 2011. Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosciences* 8: 1415–1440.
- Rogers, H.H.; Runion, G.B.; Krupa, S. V. 1994. Plant responses to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. *Environmental Pollution* 83: 155–189.
- Schimel, J.P.; Bennett, J. 2004. NITROGEN MINERALIZATION: CHALLENGES OF A CHANGING PARADIGM. *Ecological Society of America*: 14–20.
- WMO. 2017. Wmo Greenhouse Gas Bulletin 2017. .
- Zak, Donald R., KURT S. PREGITZER, PETER S. CURTIS, JAMES A. TEERI, ROBERT FOGEL, D.L.R. 1993. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and feedback between carbon and nitrogen cycles. *Plant and Soil* 151: 105–117.

- Zhalnina, K.; Louie, K.B.; Hao, Z.; Mansoori, N.; Nunes da Rocha, U.; Shi, S.; et al. 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*. in press.
- Zhang, D.; Hui, D.; Luo, Y.; Zhou, G. 2008. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology* 1: 85–93.



## **CAPÍTULO I**

---

Martins, N. P., Fuchslueger, L., Quesada, C. A. 2018. Influência da presença das raízes finas nos processos de decomposição da serapilheira na Amazônia Central.

## **Influência da presença das raízes finas nos processos de decomposição da serapilheira na Amazônia Central**

### **RESUMO**

A alta presença das raízes finas na serapilheira pode ser um mecanismo adaptativo à baixa disponibilidade de nutrientes nos solos da Amazônia Central, aumentando a eficiência na utilização dos recursos disponibilizados e estimulando os processos de decomposição. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar se a presença das raízes finas estimula os processos envolvidos na decomposição da serapilheira e dinâmica de nutrientes. O processo de decomposição foi avaliado nas condições naturais, possibilitando o estabelecimento das raízes finas na serapilheira e em uma condição de exclusão total das raízes finas. Ao longo do processo foram analisadas a biomassa dos microrganismos, potencial atividade das enzimas extracelulares, dinâmica dos nutrientes e os parâmetros morfológicos das raízes finas. Observamos que na presença das raízes houve uma maior perda de massa da serapilheira, principalmente das frações mais recalcitrantes (lignina). Esse aumento na perda de massa da serapilheira também refletiu em uma maior liberação dos nutrientes, principalmente para o P, K, Ca e Mg. A presença das raízes finas também aumentou a atividade da enzima extracelular responsável por hidrolisar o P (fosfatase). No entanto, essa mineralização do P não refletiu em um aumento na imobilização pelos microrganismos. Em relação aos parâmetros morfológicos das raízes, a biomassa apresentou uma relação positiva com a perda de massa da serapilheira, e o comprimento e área específica foram maiores nos estágios finais do processo de decomposição. Os resultados indicam que a presença das raízes finas estimula alguns dos processos envolvidos na decomposição da serapilheira, principalmente quando relacionado à disponibilidade do P, além disso, possivelmente há uma competição entre as raízes finas e os microrganismos pelos recursos disponibilizados, já que o aumento na mineralização de P não refletiu em um aumento na imobilização dos microrganismos.

### **Palavras-chave:**

Ciclagem de nutrientes, lignina, biomassa microbiana, atividade enzimática extracelular.

## INTRODUÇÃO

A floresta Amazônica é caracterizada por uma ampla variação em suas propriedades químicas e físicas do solo (Quesada *et al.* 2010, 2011), formando um mosaico ambiental e nutricional fortemente influenciado pelo desenvolvimento pedogenético. Nos solos mais antigos, que são altamente intemperizados e apresentam boas condições físicas, geralmente ocorre limitação de nutrientes (Quesada *et al.* 2010). Isso está principalmente relacionado com a disponibilidade de fósforo (P) no solo, e tende a diminuir ao longo do tempo devido à lixiviação, oclusão em minerais secundários e a formação de matéria orgânica do solo mais recalcitrante (Walker and Syers 1976; Vitousek *et al.* 2010).

A ciclagem de nutrientes é uma das principais vias de retorno de nutrientes para o solo, favorecendo a manutenção de florestas como as citadas acima, que estão localizadas em solos mais antigos, e conseqüentemente com menor disponibilidade de nutrientes (Quesada *et al.* 2010). Grande parte da ciclagem dos nutrientes ocorre através da decomposição da serapilheira, esse processo de decomposição varia ao longo do tempo, apresentando características específicas para cada estágio (Cotrufo *et al.* 2015). Inicialmente os materiais mais solúveis ainda estão disponíveis, grande parte destes vão ser perdidos através da lixiviação. Em seguida, a comunidade microbiana tende a intensificar a sua atuação na degradação dos compostos de celulose e posteriormente nos compostos mais lignificados e recalcitrantes (Chapin *et al.* 2002; Cotrufo *et al.* 2015). Uma das principais características adaptativas para a economia de nutrientes em locais com limitações nutricionais que está diretamente ligada a ciclagem de nutrientes é a proliferação das raízes finas na camada da serapilheira (Herrera *et al.* 1978; Cuevas and Medina 1988; Lambers *et al.* 2006). Essa camada de raízes superficiais possibilita a absorção dos nutrientes recém mineralizados por meio da decomposição da serapilheira antes que eles sejam perdidos para a solução do solo, mecanismo conhecido como “ciclagem direta” (Went e Stark 1968; Jordan e Stark 1978). Poucos estudos foram realizados sobre a caracterização das raízes finas na serapilheira em florestas tropicais (Herrera *et al.* 1978; Sayer *et al.* 2006) e se as mesmas podem influenciar na decomposição da serapilheira (Cuevas and Medina 1988; Luizão *et al.* 2007). No entanto, a literatura é escassa quando se trata das alterações físicas, químicas e

biológicas que a presença das raízes finas pode provocar, e como isso influencia a dinâmica de ciclagem dos nutrientes.

As raízes finas (<2 mm de diâmetro) formam redes altamente complexas, com ramos variando em comprimento e diâmetro (Trumbore and Gaudinski 2003; Philippot *et al.* 2013), exibindo ampla variação interespecífica em termos morfológicos e características químicas (Holdaway *et al.* 2011). Essas variações nas características das raízes podem ser conduzidas por *trade-offs* entre investimentos em carbono e captura de recursos, como os nutrientes (Valverde-Barrantes *et al.* 2015). A principal via de disponibilização de C realizado pelas raízes é através da exsudação de compostos orgânicos. Em condições naturais, aproximadamente 11 a 17% de todo o C líquido assimilado via fotossíntese são exsudados pelas raízes (Jones *et al.* 2009). Estes exsudatos radiculares são liberados principalmente na forma de açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos (Neumann e Romheld 2001), e podem desempenhar um papel importante na disponibilidade de nutrientes do solo (Dijkstra *et al.* 2013), através da estimulação da atividade microbiana e no estímulo à produção de enzimas extracelulares microbianas (Asmar *et al.* 1994).

Os decompositores microbianos liberam enzimas extracelulares (EEs) que realizam a despolimerização do material orgânico das plantas e, finalmente, liberam substratos solúveis (nutrientes inorgânicos) para absorção dos microrganismos ou interceptação radicular (Schimel; and Bennett 2004; Kuzyakov and Xu 2013). Dependendo do recurso recém disponibilizado, os microrganismos imobilizam parte destes substratos para a produção de sua própria biomassa e síntese de novas EEs (Mooshammer *et al.* 2012), e o restante dos substratos ficam disponíveis para possível absorção radicular. As diferentes exigências de nutrientes e a maior disponibilidade de C lábil na rizosfera, através da liberação dos exsudatos radiculares, pode favorecer o crescimento de certos grupos de microrganismos sobre os outros, levando a mudanças das comunidades microbianas (Brant *et al.* 2006; Philippot *et al.* 2013; Zhelnina *et al.* 2018). Essas alterações na comunidade microbiana, promove diferentes grupos microbianos, com capacidade para degradar as diferentes frações do material vegetal, desde o material mais lábil até o material que apresenta estruturas mais recalcitrantes, como a lignina e celulose, e com isso, promover maior liberação dos nutrientes (Koranda *et al.* 2013).

Embora, já existam informações sobre o mecanismo pelo qual as árvores alocam substratos de carbono para acessar os recursos do solo, e possivelmente diretamente da serapilheira, a extensão em que as raízes finas aceleram a ciclagem de nutrientes é amplamente desconhecida (Lambers *et al.* 2009). Nesse sentido, este trabalho tem como objetivos: 1) avaliar se a presença das raízes finas influencia na perda de massa da serapilheira e suas frações remanescentes ao longo do tempo; 2) avaliar se a presença das raízes finas afeta a dinâmica dos nutrientes ao longo do processo de decomposição da serapilheira, através dos principais processos responsáveis por realizar essa ciclagem (biomassa microbiana e atividade enzimática extracelular); 3) descrever a dinâmica da biomassa das raízes finas e os principais parâmetros morfológicos (comprimento específico (SRL) e área específica (SRA), presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição.

Trabalhamos com a hipótese de que a presença das raízes finas irá promover uma maior fragmentação da serapilheira através do contato físico direto, e com isso aumentar a área de superfície específica para a colonização dos organismos decompositores, além disso, esperamos que a liberação natural dos exsudatos possa estimular a atividade microbiana promovendo a decomposição da serapilheira, principalmente das frações mais recalcitrantes (lignina e celulose). Paralelamente nós hipotetizamos que ao longo do processo de decomposição a biomassa das raízes finas irá aumentar, em resposta à maior disponibilidade de nutrientes inorgânicos. Os principais parâmetros morfológicos (Comprimento específico; Área específica) também vão ser alterados de forma a aumentar a eficiência na exploração e interceptação das raízes finas por esses recursos disponíveis.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

O estudo foi realizado na área experimental do programa Amazon FACE (Lapola; Norby, 2014; Norby et al., 2015), localizado na reserva Biológica do Cuieiras – ZF2 (2° 35'40''S, 60° 12'28''W) pertencente ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA. A área é um platô, com topografia plana e a vegetação é composta

por uma floresta tropical ombrófila densa, madura e bem preservada. O solo é altamente argiloso, do tipo *ferralsols* (World Reference Base for Soil Resources, WRB), que é altamente intemperizado e apresenta uma baixa concentração de nutrientes em geral, porém com P total sendo particularmente baixo, e em sua maior parte adsorvido em formas indisponíveis (Quesada et al., 2010, 2011; Smeck, 1985). A precipitação média anual é de 2400 mm, com uma estação de menor precipitação (seca, <100 mm por mês) no período de julho a setembro, com temperatura média anual de 26 °C (Araújo et al., 2002; Chambers et al., 2004).

### **Desenho experimental**

Para o experimento de decomposição foram utilizados dois tipos de *litterbags* (25 x 30 cm). Um, com malha de 2 mm, a qual não impede a colonização da serapilheira por raízes finas, possibilitando o acompanhamento dos processos de decomposição da serapilheira nas condições reais, portanto, pode ser considerado um controle. O outro *litterbag* foi desenhado para impedir a colonização da serapilheira por raízes finas. Estas *litterbags* foram feitas com malha mais finas <0.2 mm. No local do estudo, foram alocados 6 blocos, cada bloco ficou afastado no mínimo 5 m uns dos outros. Em cada bloco foram instalados os dois tipos de *litterbags* (controle e sem a presença das raízes), sendo 4 para cada condição, totalizando 48 *litterbags*.

As amostras referentes à última coleta do processo de decomposição da serapilheira foram instaladas dentro de anéis de PVC (785 cm<sup>3</sup>) com a malha de 2 mm ao fundo, o objetivo foi de acompanhar a mineralização do carbono (fluxo de CO<sub>2</sub>) durante todo o processo de decomposição. Em cada bloco foram distribuídos 2 anéis de respiração, um referente ao controle e o outro excluindo a presença das raízes finas, no total foram instalados 12 anéis. Os dados que envolvem o fluxo de CO<sub>2</sub> da serapilheira não vão ser abordados neste capítulo, porém as amostras que estavam dentro dos anéis foram utilizadas para determinar as demais variáveis, totalizando 60 amostras para todo o período de incubação do experimento.

## Decomposição da serapilheira

Para o experimento de decomposição foram utilizadas amostras de serapilheira compostas apenas por folhas, coletadas em cestas 1 m acima do chão, durante o período de um ano nas parcelas do programa Amazon FACE. Após as amostras de folhas serem secas em estufa de fluxo de ar a 65°C, foi adicionado 8 g de folhas em cada *litterbag* que permite a proliferação das raízes, e 6 g de folhas nos *litterbags* que impedem a proliferação das raízes. Os *litterbags* foram distribuídos acima do solo em contato direto com a serapilheira no mês de agosto de 2016, e o processo de decomposição foi avaliado até fevereiro de 2017, totalizando 188 dias de incubação do experimento.

Para a determinação das características iniciais da serapilheira foi realizado análises de 6 bolsas decompositoras (Tabela 1). As mesmas ficaram expostas as condições de campo por uma semana, para obter o comportamento inicial dos processos biológicos. As coletas dos *litterbags* foram realizadas em intervalos de aproximadamente quatro semanas a partir da instalação do experimento, totalizando cinco coletas. Em cada coleta foram recolhidas 6 *litterbags* para cada tratamento, e logo em seguida transportadas para o laboratório de ciclos biogeoquímicos (INPA). Após cada coleta, foram retiradas manualmente todas as raízes dos tratamentos que permitiam a entrada destas, para a determinação da biomassa de raízes finas (metodologia descrita abaixo). Em seguida, a serapilheira de todas as amostras foi pesada, cortada, e dividida em três sub amostras. Uma sub amostra desse material foi pesada novamente e em seguida seca em estufa a 65°C por 72 h para determinação da massa seca e realização das análises químicas. A segunda sub amostra foi utilizada para determinação da biomassa microbiana e a terceira para determinação da potencial atividade enzimática extracelular.

O percentual de massa remanescente (% MR) foi obtido pela relação entre a massa inicial ( $P_0$ ) e a massa seca de cada coleta ( $P_f$ ), de acordo com a equação 1:

$$\% \text{ MR} = \left( \frac{P_0}{P_f} \right) \times 100$$

Os valores da constante de decomposição da serapilheira ( $k$ ) foram obtidos a partir dos valores de massas remanescentes verificados ao longo dos 188 dias de

experimento, ajustados ao modelo exponencial proposto por Thomas and Asakawa (1993), equação 2:

$$P_t = P_0 \times e^{-kt}$$

onde,  $P_t$  descreve o peso seco remanescente da amostra após tempo (t) em dias;  $P_0$  era o peso seco inicialmente inserido nos *litterbags* no tempo zero (t=0); O  $k$  descreve a constante de decomposição.

### **Dinâmica de nutrientes**

As sub amostras secas de folhas foram moídas em moinho de facas para realização das análises nutricionais e posterior determinação da dinâmica nutricional. C e N foram analisados em um analisador automático de C e N (Vario Max CN, Elementar, Alemanha), conforme método descrito por Pella (1990). Para determinação do fósforo, potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foi utilizado o protocolo de digestão nitro-perclórica descrito por Malavolta et al., (1989). Após a digestão o P foi determinado colorimetricamente (Olsen e Sommers, 1982; Murphy e Riley, 1962) usando um espectrofotômetro UV (Modelo 1240, Shimadzu, Kyoto, Japão). As bases (K), (Ca) e (Mg) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (AAS, 1100 B, Perkin-Elmer, Ueberlingen, Germany) conforme descrito por Anderson e Ingram (1993). A composição estrutural da serapilheira, nomeadamente seus teores de lignina e celulose, foram determinados a partir do método proposto por Van Soest (1963).

Os nutrientes e compostos estruturais remanescentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição foram calculados de acordo com a expressão proposta por McGroddy *et al.* (2004), equação 3:

$$NR. FR = \frac{X_t * W_t}{X_0 * W_0} * 100$$



onde, NR são os nutrientes remanescentes, FR são as frações remanescentes,  $X_0$  é a concentração inicial média dos nutrientes ou compostos estruturais da serapilheira (n=6) (tabela 1),  $X_t$  é a concentração de nutrientes em um determinado tempo de coleta (t),  $W_0$  é o peso seco inicial da serapilheira e  $W_t$  é o peso seco em determinado tempo de coleta (t).

### **Biomassa microbiana**

A biomassa microbiana foi determinada a partir das sub amostras frescas da serapilheira, utilizando o método de extração de fumigação por clorofórmio (Vance e Nadkarni 1990). Foi utilizado 1 g de folhas de cada sub amostra para o processo de fumigação com clorofórmio por 24 horas. E, em seguida as amostras foram divididas em duas alíquotas (0,5 g), para a primeira foi adicionado 20 ml de KCl 1M onde foi extraído C orgânico extraível e N total extraível. Na segunda sub amostra foi adicionado 20 ml de  $\text{NaHCO}_3$  0,5 M pH 8,5 para a extração do P orgânico e inorgânico extraível. Paralelamente outro conjunto de amostras foram preparadas para a extração direta com os mesmos extratores, sem passar pelo processo de fumigação. Todos os extratos preparados nos dois procedimentos (fumigados e não fumigados) foram agitados no agitador durante o período de 1 hora, e em seguida filtrados. O conteúdo de C e N microbiano foi estimado a partir da diferença de C orgânico e N orgânico solúvel fumigado e não fumigado medido por um analisador TOC/TN analyzer (TOC-V CPH E200V/TNM-1 220V; Shimadzu, Vienna, Austria), para o P total microbiano também foi utilizada a diferença entre as amostras fumigadas e não fumigadas. O P total nos extratos foi medido em um espectrofotômetro UV (Modelo 1240, Shimadzu, Kyoto, Japão).

### **Atividade de enzimas extracelulares**

A atividade das enzimas extracelulares da serapilheira foram quantificadas após cada coleta dos *litterbags*, em um prazo de 48 h após a coleta (Kaiser et al., 2010). Os ensaios foram realizados para quatro enzimas hidrolíticas: Exoglucanase (CB) utilizando o substrato 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-cellobioside;  $\beta$ -Glucosidase (BG) a partir do substrato 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucopyranoside; Exochitinase (NAG) a partir do

substrato 4-methylumbelliferyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide; e fosfatase ácida (PHOS) utilizando o substrato 4-methylumbelliferyl-phosphate.

Os ensaios enzimáticos foram realizados utilizando protocolos adaptados a partir de (Saiya-Cork et al., 2002; Marx et al., 2001; DeForest, 2009). A extração das enzimas foi realizada em 0,5 g de folhas de cada amostra contendo 50 ml de tampão acetato de sódio 100 mM, pH 5,5. Essa solução foi homogeneizada por 1 min com forte agitação usando um vortex. Em seguida, para analisar a atividade enzimática para cada substrato, foram pipetados 200  $\mu$ L da solução de enzimas extraídas para cada 50  $\mu$ L dos substratos específicos (3 repetições técnicas por amostra e enzima) em placas de microtitulação pretas. Adicionalmente, 200  $\mu$ L de tampão foram pipetados em triplicadas que servirão como referência, e de controle negativo. Para a curva padrão é necessário preparar diferentes matrizes padrão methylumbelliferyl (MUF), pois o sinal de diferentes enzimas mostra diferentes intensidades. Assim, foi preparada uma solução de trabalho de várias concentrações. De acordo com a intensidade de respostas das enzimas é pipetado 50  $\mu$ L da concentração adequada da solução padrão (MUF) e 200  $\mu$ L de buffer. As placas são incubadas durante 40 minutos e a fluorescência foi medida a uma excitação a 365 nm e 450 nm de emissão. A potencial atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol g}^{-1} (\text{seco}) \text{ h}^{-1}$  segundo German *et al.* (2011). A fluorescência foi medida em um analisador de microplacas (TECAN i-control 200Pro, Groedig, Austria).

### **Biomassa e morfologia das raízes finas**

A biomassa de raízes finas foi quantificada levando em consideração todas as raízes com diâmetro inferior a 2 mm encontradas manualmente dentro dos *litterbags* em cada coleta. Todas as amostras foram digitalizadas em alta resolução (600 dpi), e em seguida secas a 65 °C por 72 horas, a biomassa das raízes foi considerada em  $\text{g}^{-1}$  de massa seca por  $\text{m}^2$ . As imagens foram processadas com o auxílio do software de análise de imagem WinRhizo Pro (versão 2016a, Regent Instruments, Canadá). Os parâmetros morfológicos, comprimento específico da raiz (SRL) e área específica da raiz (SRA) foram obtidos dividindo – se os valores de comprimento e área das raízes, estimadas pelo software, pela massa seca das raízes digitalizadas (Metcalf et al., 2008).

## **Análise de dados**

Para testar o efeito da presença ou ausência das raízes finas nas diferentes variáveis resposta foi utilizado LMMs (*linear mixed models*) com o suporte do pacote *lme4* (Bates *et al.* 2015), inicialmente consideramos como fator fixo as diferentes condições propostas (com a presença das raízes finas; excluindo a presença das raízes finas) e para explicar a heterogeneidade espacial e a variabilidade temporal, usamos os “blocos” e o “tempo” como fatores aleatórios. Como um pré-requisito dos LMMs os dados que não apresentaram uma distribuição normal dos resíduos foram ajustados utilizando transformação logarítmica. Em seguida, para verificar se havia interação entre o efeito das raízes e o tempo, foi construído um outro modelo linear misto, considerando como fator fixo os tratamentos e o tempo, e como fator aleatório apenas os blocos, para verificar em qual período (tempo) específico ocorreu alguma diferença entre as condições foi realizado um teste de comparações entre as médias (Tukey-HSD) com o auxílio do pacote *emmeans* (Lenth *et al.* 2018). Todas as análises foram realizadas no software R versão 3.3.2 (R Core Team 2017).

## **RESULTADOS**

### **Decomposição da serapilheira**

Após 188 dias foi observado uma perda de 44% da massa da serapilheira, onde as raízes poderiam colonizar o material. Já as amostras onde o contato direto com as raízes foi excluído, perderam apenas 34% de sua massa. A dinâmica do processo de decomposição da serapilheira foi bem ajustada por um modelo exponencial para as duas condições propostas (Tabela 2), onde, o contato com as raízes finas estimulou a perda diária de massa, resultando em uma perda anual até 30% maior do que nas amostras que excluíram a presença das raízes. No período inicial do processo de decomposição (30 dias) não foi identificada uma diferença significativa na perda de massa da serapilheira entre as duas condições avaliadas (Figura 1), pelo fato de não haver uma colonização significativa das raízes finas na serapilheira (Figura 7). No entanto, no momento em que as raízes começaram a se estabelecer (72 dias) foi observado uma maior perda de massa

nas amostras que poderiam ser colonizadas pelas raízes (Figura 1), esse padrão se mostrou significativo ao longo do experimento ( $p= 0.03$ ).

Em relação às frações estruturais presentes na massa remanescente da serapilheira, a degradação de todas as frações (solúvel, celulose, lignina) na presença das raízes finas foi superior (Figura 2a), no entanto, não significativamente. Esse padrão demonstrou uma tendência mais forte para o material mais solúvel ( $p=0.08$ ) e para a lignina ( $p=0.06$ ). Em concordância, após os 188 dias a maior diferença na perda de massa entre as duas condições propostas foi observada para a lignina, onde, o material mais recalcitrante perdeu 7.13 % a mais de sua massa na presença das raízes finas.

### **Dinâmica de nutrientes**

A concentração total de C e N na serapilheira em decomposição não foi influenciada pela presença ou ausência das raízes finas (Figura 3a, b), já para o P foi observado um efeito significativo da presença das raízes finas (Tabela s1). No último mês (188 dias) do experimento as amostras que estavam em contato direto com as raízes apresentaram uma concentração significativamente menor de P ( $p=0.03$ ) (Figura 3c).

Entretanto quando consideramos o percentual de C, N e P remanescente na massa da serapilheira, não foram constatadas diferenças significativas entre as condições propostas para nenhum dos elementos (Figura 3d, e, f). Para o C e N observou-se em geral um padrão de redução ao longo do processo de decomposição com a presença e ausência das raízes finas (Figura 3 d, e), ocorrendo uma imobilização na presença das raízes entre 72 e 101 dias para o N, no entanto após os 101 dias o padrão de redução continua. Para o P, no estágio inicial do processo de decomposição foi observado um aumento em sua concentração em ambas as condições (Figura 3f). Tal período de acumulação do P se estende pelos três primeiros meses (até o dia 101) na ausência das raízes finas. Após este período ocorre uma contínua perda de P (Figura 3f), o que coincide com o período de maior colonização da serapilheira por raízes (Figura 7a). Ao final do experimento (188 dias), as amostras com raízes haviam perdido 42.81% de seu P inicial, em contraste com apenas 9.31% nas amostras sem raízes ( $p = 0,03$ ). Para os demais elementos avaliados (K; Ca; Mg) a presença das raízes finas apresentou um efeito significativo em suas concentrações totais (Tabela s1), havendo uma menor

concentração dos elementos nas amostras com a presença das raízes. Ca e Mg, também apresentaram uma redução contínua em suas concentrações ao longo do processo de decomposição na presença das raízes finas (Figura 4 b, c). Considerando o percentual remanescente dos elementos, foi observado um efeito significativo para o Ca e Mg da presença das raízes finas, que intensificou a mineralização dos elementos, ocorrendo maior perda dos nutrientes da massa remanescente da serapilheira (Figura 4 e, f). Ca perdeu 42.3% de sua concentração inicial na presença de raízes, e apenas 15.84% nas amostras sem raízes. Mg por sua vez teve efeitos ainda maiores, com uma redução de 69.67% de sua concentração inicial na presença de raízes, contra apenas 47.8% nas amostras sem raízes. Já para o percentual remanescente do K não foi observado um efeito direto da presença das raízes finas, mas foi registrado uma interação entre o tempo e as condições, com uma maior perda do K aos 101 dias na presença das raízes finas ( $p=0.003$ ). Ao final do experimento as amostras com raízes haviam perdido 39.4% da concentração inicial de K, em comparação com 32.14% nas amostras sem raízes, (Figura 4 d).

### **Biomassa e atividade microbiana**

As diferentes condições propostas no experimento não alteraram de forma significativa a imobilização de C, N e P na biomassa dos microrganismos (Tabela 4). Foi observado um padrão similar para a biomassa microbiana de C e N, onde na ausência das raízes finas ocorreu uma imobilização contínua dos elementos ao longo de todo o processo da decomposição. Entretanto na presença das raízes esse padrão se manteve até os 101 dias, após esse período pode ser observado um declínio na biomassa microbiana (Figura 5 a b). Já para o P microbiano o comportamento nas duas diferentes condições se manteve igual ao longo do processo, ocorrendo uma imobilização crescente de P até os 101 dias e após esse período uma redução na imobilização de P pelos microrganismos (Figura 5 c).

Em relação a potencial atividade das enzimas extracelulares (CB, BG, NAG, PHOS), com exceção da PHOS que foi influenciada significativamente pela presença das raízes finas (Figura 6 d), não foi observada uma influência significativa das diferentes condições propostas para as demais enzimas extracelulares (Tabela 4).

Ocorrendo de modo geral o mesmo padrão nas diferentes condições (Figura 6 a b c). Observamos que no controle, ou seja, na presença das raízes finas no primeiro mês (38 dias) todas as enzimas extracelulares apresentaram um aumento em sua atividade, com uma variação ao longo do tempo. A CB após os 72 dias reduziu a sua atividade abaixo do observado inicialmente. A PHOS apresentou uma atividade superior ao longo de todo o processo de decomposição, apresentando uma diferença significativa principalmente aos 72 dias ( $p=0.03$ ).

### **Dinâmica das raízes finas na serapilheira**

A produtividade média anual das raízes finas ( $< 2\text{mm}$ ) na serapilheira foi  $9.52 \text{ g m}^{-2}\text{ano}^{-1}$ . Entre os parâmetros morfológicos avaliados (biomassa, comprimento específico (SRL), área específica (SRA) apenas a biomassa das raízes aumentou significativamente ao longo do tempo do experimento de decomposição ( $p<0.05$ ). Após os 188 dias de experimento o crescimento das raízes finas não estava saturado, no entanto, não sabemos a dinâmica que as raízes podem desenvolver em um processo contínuo de decomposição do material vegetal (serapilheira). No período de incubação estabelecido (188 dias) observamos uma relação positiva entre o aumento da biomassa das raízes finas e a perda de massa da serapilheira. Os parâmetros morfológicos SRL e SRA parecem não ser alterados ao longo do processo de decomposição, ambos apresentaram seu máximo no período dos 156 dias (Tabela S2; figura 7).

## **DISCUSSÃO**

### **Decomposição da serapilheira**

Nossos resultados indicam que a presença de raízes pode induzir o aumento na decomposição do material vegetal através de diferentes mecanismos. O efeito físico do crescimento das raízes parece favorecer a fragmentação do material, de forma análoga à realizada pelos invertebrados da serapilheira (Milton and Kaspari 2007), aumentando a área de superfície específica da serapilheira, e assim trazendo condições favoráveis para colonização microbiana (Chapin *et al.* 2002). A presença de raízes e sua competição

com microrganismos por nutrientes parece intensificar processos bioquímicos de decomposição por meio da liberação de exsudatos que podem estimular a atividade dos microrganismos (Kuzyakov *et al.* 2000; Cheng and Kuzyakov 2005).

Apesar do nosso desenho experimental não permitir separar os efeitos físicos e químicos das raízes finas no processo de decomposição, nós observamos um efeito geral positivo em relação a sua presença. Houve uma perda de aproximadamente 10% a mais na massa da serapilheira em comparação com o material que excluiu totalmente a presença das raízes finas. Resultados semelhantes foram encontrados por Cuevas e Medina (1988) em uma floresta no Sul da Venezuela, onde o contato direto das raízes finas com a serapilheira acelerou o processo de decomposição. Já Luizão *et al.* (2007) estudando três tipologias florestais na Amazônia Central registraram resultados opostos, onde a presença das raízes finas não estimulou o processo de decomposição.

Além de estimular a perda de massa da serapilheira, observamos que a presença das raízes finas também apresentou uma forte tendência em aumentar a degradação das três frações estruturais avaliadas (solúvel, celulose, lignina). A principal diferença foi encontrada na degradação da lignina, que compõe o material mais recalcitrante. Na ausência das raízes finas após os 188 dias, a proporção de lignina (por peso) aumentou 1.35 % em relação ao percentual encontrado antes da incubação. Já na presença das raízes finas houve uma redução de 7.13% em relação ao percentual encontrado no início. Apesar de não ser possível determinar em nosso estudo o mecanismo pelo qual as raízes promoveram a degradação do material mais recalcitrante, este resultado sugere a existência de um *efeito priming* (Kuzyakov *et al.* 2000), onde, o material recalcitrante que está em contato direto com as raízes finas possivelmente sofreu uma maior colonização e decomposição por microrganismos que teriam sido estimulados pela liberação de compostos de C lábil diretamente pelas raízes.

### **Dinâmica de nutrientes**

A influência da presença das raízes finas na liberação dos nutrientes da serapilheira apresentou padrões diferentes para cada elemento específico. As principais características que podem explicar os padrões de liberação ou imobilização dos nutrientes estão ligadas à natureza de cada elemento e sua abundância relativa no sistema, além das demandas dos microrganismos (e raízes), as quais tendem a ser

reguladas por razões estequiométricas dos organismos consumidores (Sterner e Elser 2002).

A mineralização do C e N seguiu um padrão contínuo de redução ao longo de todo o processo (Figura 3d). Tal padrão é esperado visto que não existem grandes limitantes ao processo de decomposição como por exemplo variações em temperatura e umidade. Para o P, no estágio inicial do processo de decomposição foi observado um aumento em sua concentração em ambas as condições (Figura 3f) seguido de uma maior perda de P nas amostras com a presença de raízes. O efeito inicial parece refletir uma imobilização nos microrganismos, devido a limitação de fosforo nos solos da Amazônia central (Anderson et al. 1983; Vitousek and Sanford 1986), enquanto a quantidade de P perdido ao final do experimento estar relacionado à maior competição por recursos escassos. Este resultado sugere que as raízes finas podem apresentar estratégias específicas para aumentar a eficiência na liberação dos elementos essenciais e limitados no sistema.

Entretanto, o comportamento de alguns elementos durante o processo de decomposição pode variar amplamente. Anderson et al. (1983) trabalhando em florestas tropicais em Sarawak, reportaram acúmulo do P (e N) na serapilheira ao longo de 10 meses de decomposição, com apenas 10% do N e P da sua concentração inicial foram perdidos ao final do experimento. Luizão *et al.* (2007) não observaram estímulos na liberação do N e P na presença das raízes, no entanto, observaram um aumento na liberação do Ca e Mg. Cuevas e Medina (1986) também registraram uma maior liberação de Ca e Mg na presença das raízes finas. No presente estudo, um padrão similar foi observado, onde, a presença das raízes finas estimulou a liberação do Ca e Mg e K da massa da serapilheira. O K é usualmente considerado um dos nutrientes mais móveis do sistema. Por exemplo, Anderson et al. (1983) reportou uma perda de 80% do K nos dois primeiros meses de decomposição, o que contrasta com nossos resultados que apontam à uma menor liberação deste elemento. Já para o Ca e Mg que tendem a ficar mantidos e acumulados na estrutura da serapilheira em decomposição, a intensificação na liberação desses elementos com a presença das raízes finas não pode ser explicada apenas por possível lixiviação. Possivelmente as raízes finas atuam diretamente na mineralização desses elementos. Cuevas e Medina (1988) sugeriram que a exsudação de ácidos orgânicos poderia enfraquecer as ligações desses elementos com



o material vegetal, ficando mais prontamente disponíveis. Apesar de registrarem os mesmos padrões já observados por Cuevas e Medina (1988) e Luizão *et al.* (2007), os processos específicos estimulados pela presença das raízes finas responsável por promover uma maior liberação do Ca e Mg ainda não estão totalmente claros.

### **Biomassa e atividade microbiana**

Em geral, a biomassa microbiana e os produtos microbianos tendem a aumentar ao longo do processo de decomposição da serapilheira (Chapin *et al.* 2002). Inicialmente, observamos uma baixa concentração de C, N e P imobilizado na biomassa dos microrganismos, porém, essa imobilização aumentou significativamente ao longo do tempo. No estágio final do processo de decomposição houve um aumento discreto, embora não significativo, de C e N microbianos nas amostras em que as raízes finas foram excluídas. Já para P microbiano houve um declínio na imobilização tanto com a presença das raízes, quanto na ausência das raízes finas.

A biomassa dos microrganismos, ou seja, a concentração de C microbiano, e dos elementos N e P imobilizados pelos microrganismos, não foi estimulada pela presença das raízes finas, pelo contrário, os resultados obtidos sugerem competição por recursos entre microrganismos e raízes. Em relação as enzimas extracelulares, houve uma diferença entre as duas condições apenas para a potencial atividade da fosfatase, onde a presença das raízes promoveu um aumento na atividade enzimática, indicando que a presença das raízes pode estimular a competição por recursos, induzindo os microrganismos a produzir enzimas extracelulares responsáveis por disponibilizar elementos limitados no sistema, os quais são essenciais para a sua manutenção, crescimento e reprodução. Outro mecanismo que explicaria esse aumento na potencial atividade da fosfatase na presença das raízes finas é a capacidade que o sistema radicular possui de excretar diferentes tipos de fosfatases, principalmente em solos com limitação de fósforo (Hammond and White 2018), como na Amazônia Central. No entanto, no presente estudo não conseguimos diferenciar a origem real (microrganismos ou raízes) das fosfatases presentes na serapilheira em processo de decomposição. É importante salientar esse aumento na atividade enzimática não resultará obrigatoriamente em um aumento na imobilização dos nutrientes (recém mineralizados)

pelos microrganismos, como foi identificado no presente estudo, isto porque pode ocorrer uma competição interespecífica simultânea entre as plantas e os microrganismos por esse recurso disponibilizado (Kuzyakov and Xu 2013). Alguns trabalhos já foram realizados sobre a potencial atividade enzimática extracelular em solos de florestas tropicais (Nottingham *et al.* 2012; Waring *et al.* 2014), no entanto, poucos consideraram a atividade enzimática durante a degradação da serapilheira (Allison and Vitousek 2004; Waring 2013), e além disso, a dinâmica temporal é pouco relatada.

Além da competição interespecífica, uma das principais formas que a presença das raízes finas pode estimular a ciclagem de nutrientes é através da disponibilização de compostos de carbono lábil via exsudação. Essa maior disponibilidade de energia estimula os microrganismos a procurar por nutrientes, e conseqüentemente aumentar a produção de enzimas extracelulares responsáveis por degradar o material orgânico e promover a liberação de substratos solúveis (Burns, 1982, Asmar *et al.* 1994; Kuzyakov *et al.* 2000).

### **Dinâmica das raízes finas na serapilheira**

As raízes finas não colonizam apenas o material orgânico mais antigo, mas também as folhas recém caídas no solo (Herrera *et al.* 1978; Sayer *et al.* 2006; Luizão *et al.* 2007), no entanto, os mecanismos que direcionam essa proliferação das raízes finas ainda são controversos. Herrera *et al.* (1978) e Jordan e Stark (1978) sugeriram que a proliferação das raízes finas nas camadas orgânicas do solo varia de acordo com o nível de fertilidade do solo, reduzindo a espessura da “esteira” das raízes de acordo com o aumento da disponibilidade de nutrientes. Em contradição Sayer *et al.* (2006), propôs que a proliferação das raízes finas na serapilheira ocorre em resposta aos nutrientes de fácil obtenção através da ciclagem direta, e não como uma adaptação à baixa fertilidade do solo, assim, a proliferação das raízes na serapilheira ocorrerá em qualquer local, independentemente da fertilidade do solo desde que haja uma camada orgânica persistente e umidade suficiente. Nesse sentido, a baixa proliferação das raízes finas em locais com maior disponibilidade de nutrientes deve-se à ausência da camada de serapilheira espessos como consequência de altas taxas de decomposição (Vogt *et al.*,

1983), e não necessariamente como resultado de maior disponibilidade de nutrientes do solo.

Foi registrada uma relação positiva entre a decomposição da serapilheira e o aumento da biomassa das raízes finas. Essa relação também foi observada para o comprimento específico (SRL) e a área específica das raízes (SRA), que apresentaram um incremento no estágio final do processo de decomposição, sugerindo que as raízes podem se adaptar morfológicamente para conseguir interceptar uma maior quantidade de nutrientes disponibilizados através da decomposição da serapilheira. Há indícios de que a presença das raízes finas pode estimular diretamente a liberação de nutrientes presente na serapilheira fresca, e simultaneamente se adaptar morfológicamente para interceptar uma maior quantidade desses elementos disponibilizados. No entanto, nossos dados referentes a morfologia representam apenas um curto período do processo de decomposição, o que pode não refletir realmente o que ocorre ao longo de todo o processo. Novos estudos devem ser realizados com um maior tempo experimental (Allison and Vitousek 2004), e assim reafirmar os mecanismos que as raízes finas utilizam para aumentar a sua eficiência em obter os recursos disponibilizados, bem como seu papel para promover a disponibilização dos recursos.

## **INCERTEZAS**

É importante considerar que a barreira imposta às raízes pelos *litterbags* possa ter influenciado no processo de decomposição da serapilheira. Um possível efeito seria sobre o acesso de invertebrados fragmentadores à amostra. A restrição de invertebrados fragmentadores poderia, ao menos parcialmente, influenciar nos resultados reduzindo a taxa de decomposição da serapilheira nas amostras onde foi excluído a presença das raízes. Entretanto, estudos de exclusão de fauna com *litterbags* na Amazônia reportam grande dificuldade de impedir sua entrada, e efetivamente observamos que estes entravam nas amostras. Além disso, é possível que malhas maiores nos *litterbags* que permitem a entrada de raízes poderiam permitir que pequenos fragmentos de serapilheira saíssem do *litterbag*, sendo contabilizados como perda de massa. Este feito foi minimizado neste estudo ao evitar mover os *litterbags* durante a duração do estudo.

Tais incertezas são inerentes ao método e podem apenas ser minimizadas. Porém aparentemente não tiveram efeitos significativos nos resultados.

## CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que a presença das raízes finas aumentou a decomposição da serapilheira. Quanto à dinâmica de ciclagem de nutrientes, esta apresentou padrões distintos para os diferentes elementos, e variações entre os estágios do processo de decomposição. Além disso, as raízes finas apresentaram uma capacidade de estimular alguns dos processos responsáveis por promover a ciclagem de nutrientes, principalmente quando relacionados à disponibilidade de fósforo. No entanto, possivelmente ocorre uma competição entre os microrganismos e as raízes finas para obtenção dos recursos recém disponibilizados, reduzindo a imobilização microbiana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allison, S.D.; Vitousek, P.M. 2004. Extracellular Enzyme Activities and Carbon Chemistry as Drivers of. *Biotropica* 36: 285–296.
- Anderson JM, Swift MJ (1983) Decomposition in tropical forests. In: Sutton SL, Whitmore TC, Chadwick AC (eds) Tropical rain forest: ecology and management. Blackwell Science, Oxford.
- Araújo, A.C.; Nobre, A.D.; Kruijt, B.; Elbers, J.A.; Dallarosa, R.; Stefani, P.; et al. 2002. Comparative measurements of carbon dioxide fluxes from two nearby towers in a central Amazonian rainforest: The Manaus LBA site. *Journal of Geophysical Research* 107: 1–20.
- Asmar F, Eiland F, Nielsen NE (1994) Effect of extracellular-enzyme activities on solubilization rate of soil organic nitrogen. *Biol Fert Soils* 17:32–38
- Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. 67.

- Brant, J.B.; Sulzman, E.W.; Myrold, D.D. 2006. Microbial community utilization of added carbon substrates in response to long-term carbon input manipulation. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2219–2232.
- Burns, R.G., 1982. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.* 14, 423–427.
- Chambers, J.Q.; Tribuzy, E.S.; Toledo, L.C.; Crispim, B.F.; Santos, J.; Araújo, A.C.; et al. 2004. Respiration from a Tropical Forest Ecosystem : Partitioning of Sources and Low Carbon Use Efficiency Published by : Ecological Society of America  
RESPIRATION FROM A TROPICAL FOREST ECOSYSTEM: PARTITIONING OF SOURCES AND LOW CARBON USE EFFICIENCY. *Ecological Applications* 14: 72–88.
- Chapin, F.S.I.; Matson, P.A.; Mooney, H.A. 2002. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. 219-229p.
- Cheng, W.; Kuzyakov, Y. 2005. Root Effects on Soil Organic Matter Decomposition. *Agronomy*: 119–144.
- Cotrufo, M.F.; Soong, J.L.; Horton, A.J.; Campbell, E.E.; Haddix, M.L.; Wall, D.H.; et al. 2015. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience* 8: 776–779.
- Cuevas, E.; Medina, E. 1986. Nutrient dynamics within amazonian forest ecosystems - I. Nutrient flux in fine litter fall and efficiency of nutrient utilization. *Oecologia* 68: 466–472.
- Cuevas, E.; Medina, E. 1988. Nutrient dynamics within Amazonian forests. II. Fine root growth, nutrient availability and leaf litter decomposition. *Oecologia* 76: 222–235.
- DeForest, J.L. 2009. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and l-DOPA. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 1180–1186.
- Dijkstra, F.A.; Carrillo, Y.; Pendall, E.; Morgan, J.A. 2013. Rhizosphere priming: A nutrient perspective. *Frontiers in Microbiology* 4: 1–8.
- German, D.P.; Weintraub, M.N.; Grandy, A.S.; Lauber, C.L.; Rinkes, Z.L.; Allison,

- S.D. 2011. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1387–1397.
- Hammond, J.P.; White, P.J. 2018. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. 59: 93–109.
- Herrera, R.; Jordan, C.F.; Klinge, H.; Medina, E. 1978. Amazon ecosystems. Their structure and functioning with particular emphasis on nutrients. *Interciencia* 3: 223–232.
- Holdaway, R.J.; Richardson, S.J.; Dickie, I.A.; Peltzer, D.A.; Coomes, D.A. 2011. Species- and community-level patterns in fine root traits along a 120000-year soil chronosequence in temperate rain forest. *Journal of Ecology* 99: 954–963.
- Jones, D.L.; Nguyen, C.; Finlay, R.D. 2009. Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil-root interface. *Plant and Soil* 321: 5–33.
- Jordan, N.; Stark, C.F. 1978. Nutrient Retention by the Root Mat of an Amazonian Rain Forest. *Ecological Society of America* 59: 434–437.
- Kaiser, C.; Koranda, M.; Kitzler, B.; Fuchslueger, L.; Schweiger, P.; Rasche, F.; et al. 2010. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil. *New Phytologist* 187: 843–858.
- Koranda, M.; Kaiser, C.; Fuchslueger, L.; Kitzler, B.; Sessitsch, A.; Zechmeister-boltenstern, S.; et al. 2013. on substrate complexity and N availability. .
- Kuzyakov, Y.; Xu, X. 2013. Tansley review Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. : 656–669.
- Kuzyakov, Y.; Friedel, J.K.; Stahr, K. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1485–1498.
- Lambers, H.; Mougel, C.; Jaillard, B.; Hinsinger, P. 2009. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: An evolutionary perspective. *Plant and Soil* 321: 83–115.
- Lambers, H.; Shane, M.W.; Cramer, M.D.; Pearse, S.J.; Veneklaas, E.J. 2006. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching

- morphological and physiological traits. *Annals of Botany* 98: 693–713.
- Lapola, D.M.; Norby, R.J. 2014. Amazon FACE: Assessing the effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> on the ecology and resilience of the Amazon forest. Science Plan & Implementation Strategy. .
- Lenth, M.R.; Love, J.; Herve, M. 2018. Package ‘ emmeans ’ R topics documented : 34: 216–221.
- Luizão, R.C.C.; Luizão, F.J.; Proctor, J. 2007. Fine root growth and nutrient release in decomposing leaf litter in three contrasting vegetation types in central Amazonia. *Plant Ecology* 192: 225–236.
- Marx, M.C.; Wood, M.; Jarvis, S.C. 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1633–1640.
- McGroddy, M.E.; Silver, W.L.; Oliveira, R.C. De. 2004. The Effect of Phosphorus Availability on Decomposition Dynamics in a Seasonal Lowland Amazonian Forest. *Ecosystems* 7: 172–179.
- Metcalf, D.B.; Meir, P.; Aragao, L.E.O.C.; Da Costa, A.C.L.; Braga, A.P.; Goncalves, P.H.L.; et al. 2008. The effects of water availability on root growth and morphology in an Amazon rainforest. *Plant and Soil* 311: 189–199.
- Milton, Y.; Kaspari, M. 2007. Bottom-up and top-down regulation of decomposition in a tropical forest. *Oecologia* 153: 163–172.
- Mooshammer, M.; Wanek, W.; Schneck, J.; Wild, B.; Leitner, S.; Hofhansl, F.; et al. 2012. Stoichiometric controls of nitrogen and phosphorus cycling in decomposing beech leaf litter. *Ecology* 93: 770–782.
- Murphy J; Riley JP. 1962. A MODIFIED SINGLE SOLUTION METHOD FOR THE DETERMINATION OF PHOSPHATE IN NATURAL WATERS. *Analytical Chemistry ACTA* 27: 31–36.
- Neumann, G. & Romheld, V. (2001). The release of root exudates as affected by the plant's physiological status. In: *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface* (eds Pinto, R., Varanini, Z. & Nannipieri, P.). Dekker, New York, pp. 41–93.

- Norby, R.J.; De Kauwe, M.G.; Domingues, T.F.; Duursma, R.A.; Ellsworth, D.S.; Goll, D.S.; et al. 2015. Viewpoint Model – data synthesis for the next generation of forest free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) experiments. *New Phytologist*.
- Nottingham, A.T.; Turner, B.L.; Chamberlain, P.M.; Stott, A.W.; Tanner, E.V.J. 2012. Priming and microbial nutrient limitation in lowland tropical forest soils of contrasting fertility. *Biogeochemistry* 111: 219–237.
- Olsen S R and Sommers L E 1982 Phosphorus. In *Methods of Soil Analysis Part 2*. Eds. A L Page, K H Miller and D R Keeney. pp 414-416. American Society of Agronomy Publications, Madison, Wisconsin, USA.
- Pella, E.: Elemental organic analysis, Part 2, State of the art, *Am. Lab.*, 22, 28–32, 1990.
- Philippot, L.; Raaijmakers, J.M.; Lemanceau, P.; Van Der Putten, W.H. 2013. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* 11: 789–799.
- Quesada, C.A.; Lloyd, J.; Schwarz, M.; Patiño, S.; Baker, T.R.; Czimczik, C.; et al. 2010. Variations in chemical and physical properties of Amazon forest soils in relation to their genesis. *Biogeosciences* 7: 1515–1541.
- Quesada, C.A.; Lloyd, J.; Anderson, L.O.; Fyllas, N.M.; Schwarz, M.; Czimczik, C.I. 2011. Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosciences* 8: 1415–1440.
- Saiya-Cork, K.; Sinsabaugh, R.; Zak, D.. 2002. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1309–1315.
- Sayer, E.J.; Tanner, E.V.J.; Cheesman, A.W. 2006. Increased litterfall changes fine root distribution in a moist tropical forest. *Plant and Soil* 281: 5–13.
- Schimel, J.P.; Bennett, J. 2004. NITROGEN MINERALIZATION: CHALLENGES OF A CHANGING PARADIGM. *Ecological Society of America*: 14–20.
- Smeck, N.E. 1985. Phosphorus dynamics in soils and landscapes. *Geoderma* 36: 185–199.



- Sterner, R. & Elser, J. (2002). *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton University Press, New Jersey.
- Thomas, R.J.; Asakawa, N.M. 1993. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1351–1361.
- Trumbore, S.E.; Gaudinski, J.B. 2003. The Secret Lives of Roots. *Science* 302: 1344–1345.
- Valverde-Barrantes, O.J.; Smemo, K.A.; Blackwood, C.B. 2015. Fine root morphology is phylogenetically structured, but nitrogen is related to the plant economics spectrum in temperate trees. *Functional Ecology* 29: 796–807.
- Vance, E.D.; Nadkarni, N.M. 1990. Microbial biomass and activity in canopy organic matter and the forest floor of a tropical cloud forest. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 677–684.
- Van Soest, P.J. (1963) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 46, 829–835.
- Vitousek, P.M.; Sanford, R.L. 1986. NUTRIENT CYCLING IN MOIST. .
- Vitousek, P.M.; Porder, S.; Houlton, B.Z.; Chadwick, O.A. 2010. Terrestrial phosphorus limitation: Mechanisms, implications, and nitrogen-phosphorus interactions. *Ecological Applications* 20: 5–15.
- Walker, T.W.; Syers, J.K. 1976. The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma* 15: 1–19.
- Waring, B.G. 2013. Exploring relationships between enzyme activities and leaf litter decomposition in a wet tropical forest. *Soil Biology and Biochemistry* 64: 89–95.
- Waring, B.G.; Weintraub, S.R.; Sinsabaugh, R.L. 2014. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial nutrient acquisition in tropical soils. *Biogeochemistry* 117: 101–113.
- Zhalnina, K.; Louie, K.B.; Hao, Z.; Mansoori, N.; Nunes da Rocha, U.; Shi, S.; et al. 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*. in press.



## Lista de Figuras (Capítulo I)

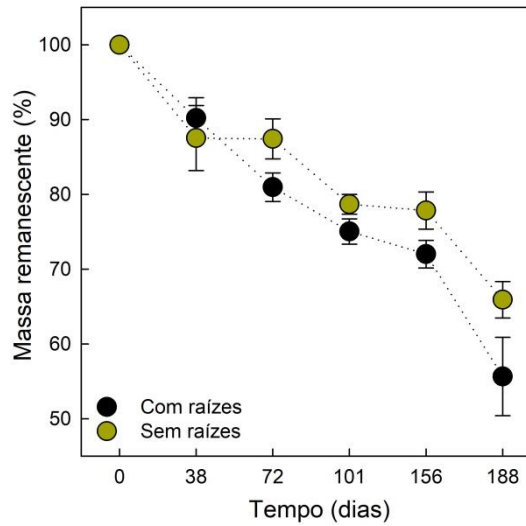


Figura 1- Percentual de massa remanescente da serapilheira ao longo do processo de decomposição nas duas condições propostas, com a presença das raízes finas (com raízes) e excluindo o contato direto com as raízes finas (sem raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.

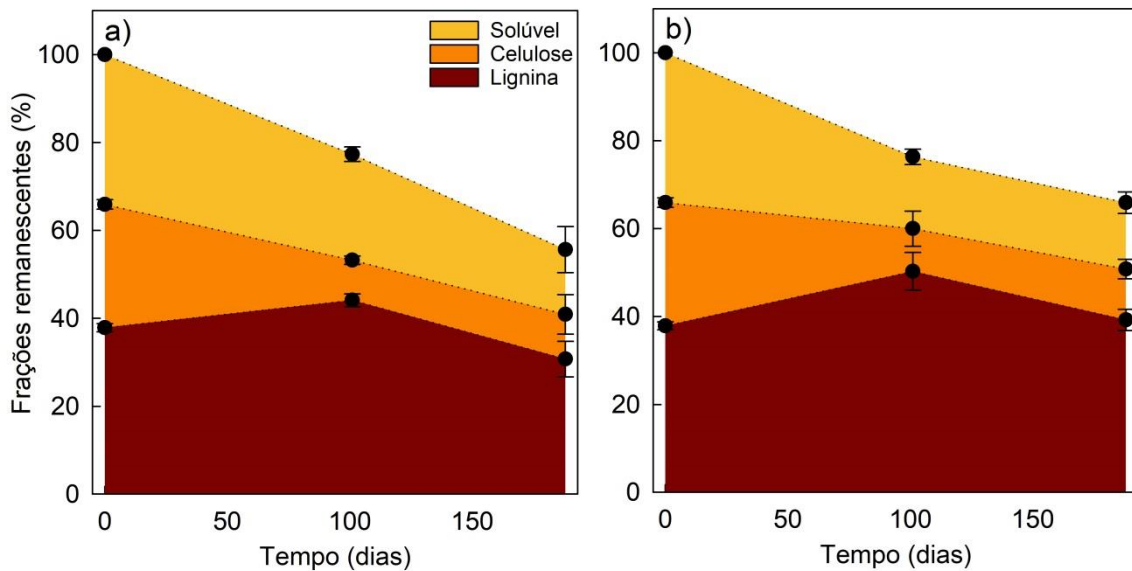


Figura 2- Percentual das frações remanescentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição, com a presença das raízes finas (a), excluindo o contato direto com as raízes finas (b). Onde: Solúvel representa a massa remanescente total da serapilheira menos à soma das frações de lignina e celulose; Celulose é a porcentagem de celulose presente na massa remanescente da serapilheira; Lignina é a porcentagem de lignina presente na massa remanescente da serapilheira. As barras de erro representam o erro padrão, n=6.

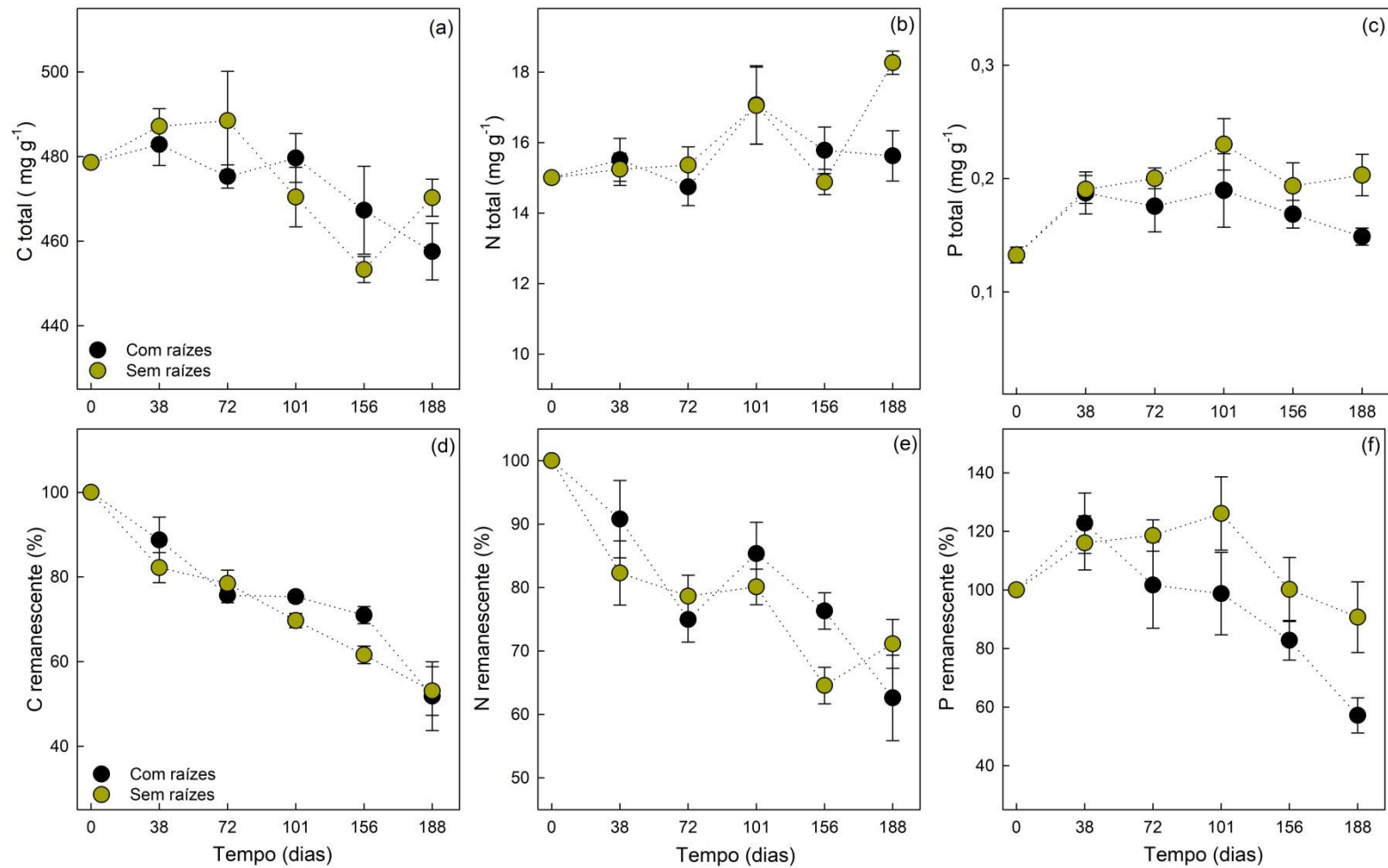


Figura 3- Concentração total e percentual remanescente dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) ao longo do processo de decomposição de serapilheira nas duas condições propostas (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.

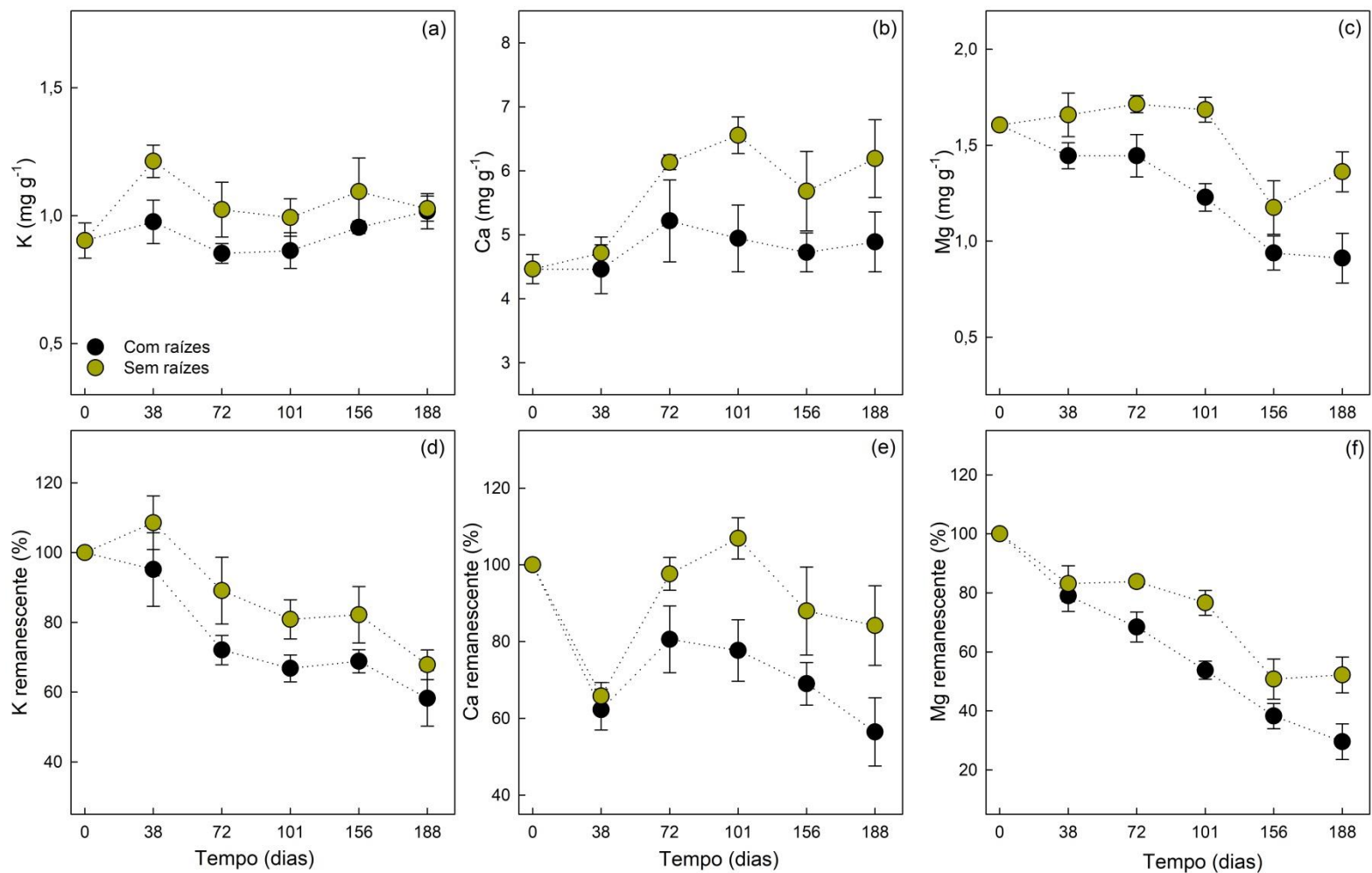


Figura 4 - Concentração total e percentual remanescente dos elementos potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) ao longo do processo de decomposição de serapilheira nas duas condições propostas (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.

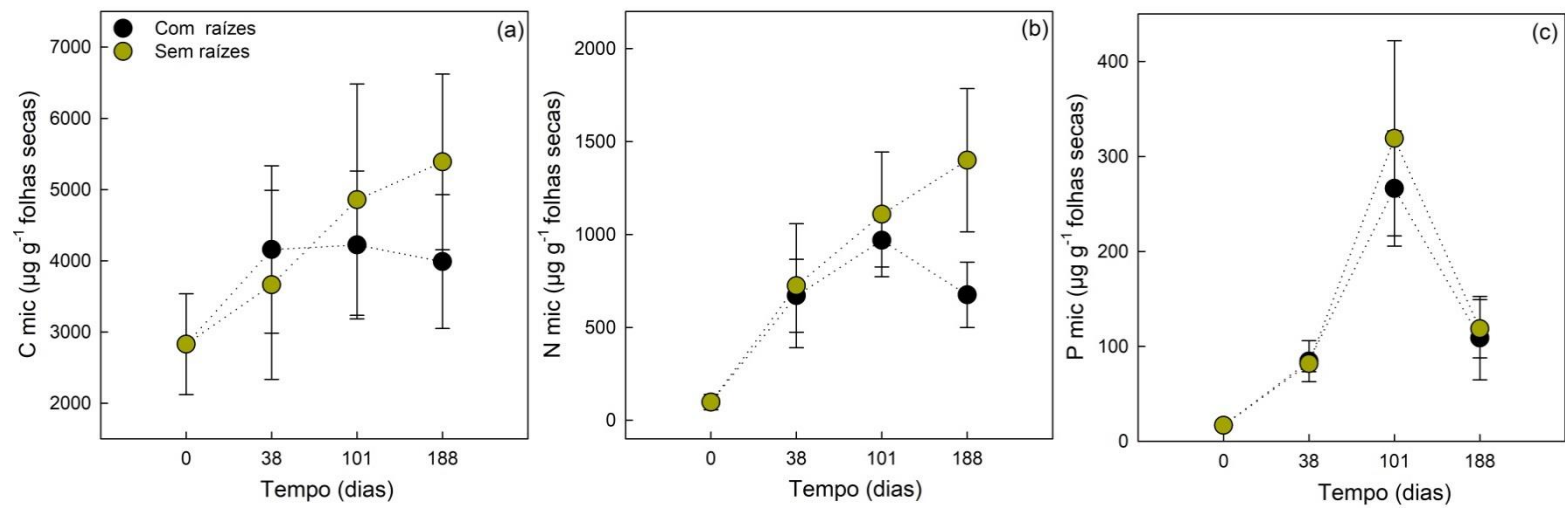


Figura 5 - Carbono, nitrogênio e fósforo imobilizado na biomassa dos microrganismos ao longo do processo de decomposição de serapilheira, nas duas condições propostas (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). As barras de erro representam o erro padrão, n=6.

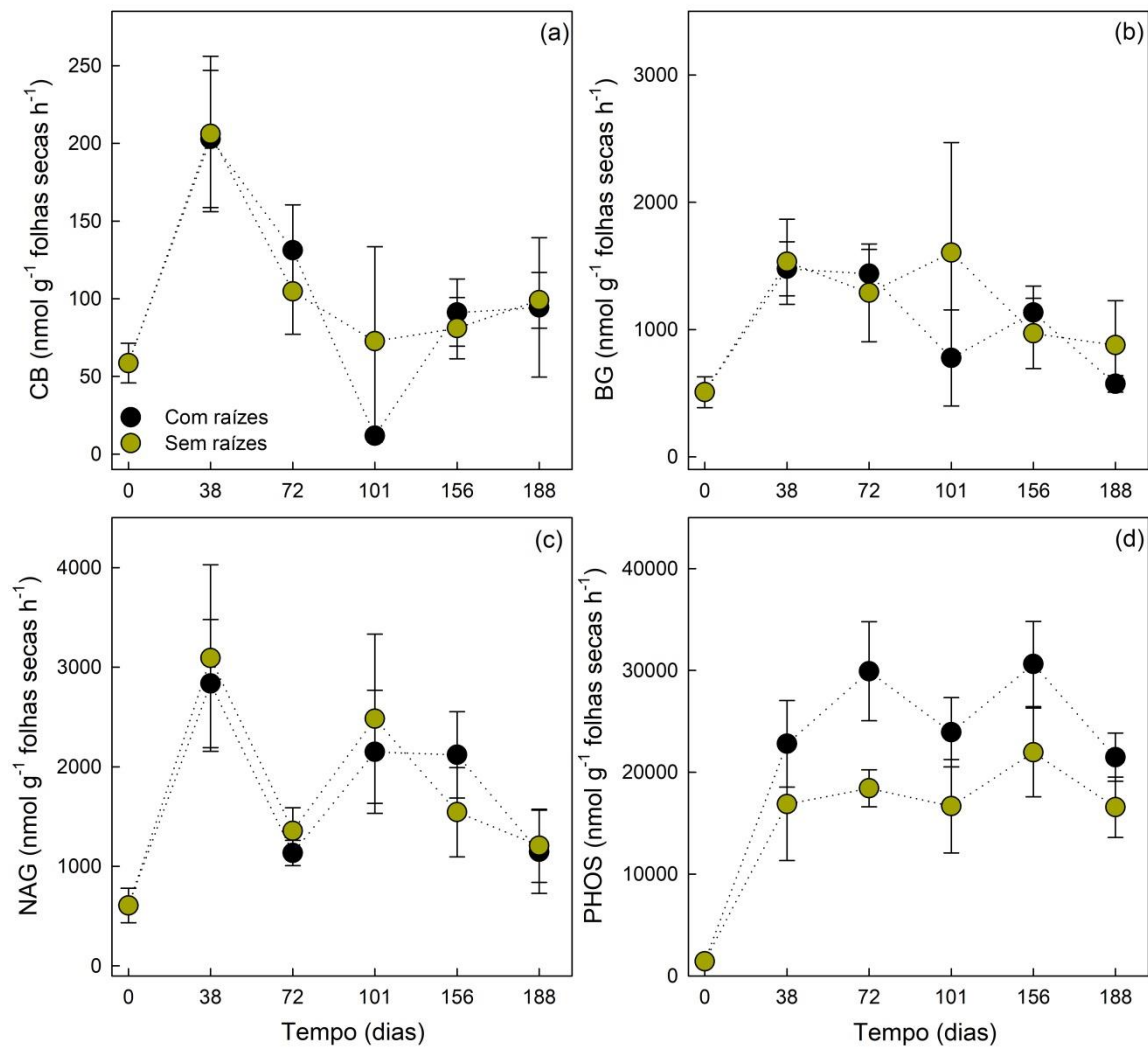


Figura 6 - Potencial atividade de diferentes enzimas extracelulares ao longo do processo de decomposição de serapilheira, (com a presença das raízes, excluindo a presença das raízes). Onde: CB= exocelulase; BG=  $\beta$ -glucosidase; NAG= exocitinaase; PHOS= fosfatase. As barras de erro representam o desvio padrão, n=6

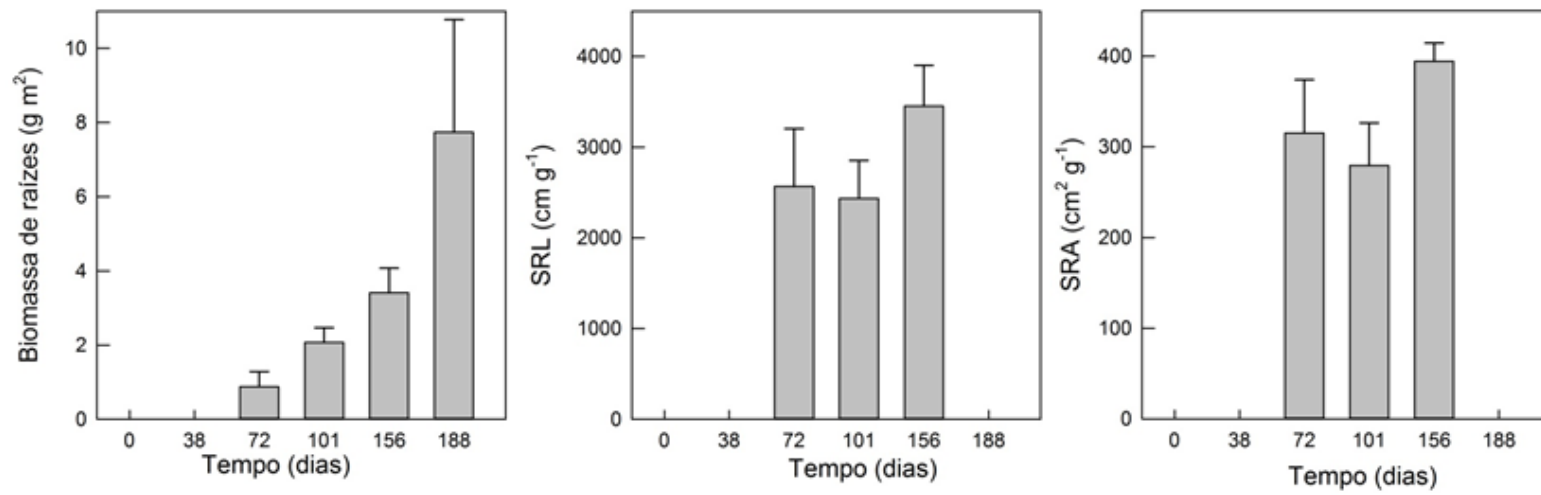


Figura 7 - Dinâmica dos parâmetros morfológicos das raízes finas presentes na serapilheira em processo de decomposição. Onde: SRL= Comprimento específico da raiz (cm g<sup>-1</sup>); SRA= Área específica da raiz (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). As barras de erro representam o erro padrão  $n=6$ .



## Lista de tabelas (Capítulo I)

Tabela 1– Caracterização química inicial da serapilheira composta apenas por folhas, SD= desvio padrão (n=6).

	Média	SD
Lignina (%)	37.87	± 2.20
Celulose (%)	28.06	± 1.06
C (%)	47.86	± 0.19
N (%)	1.5	± 0.02
P (mg g <sup>-1</sup> )	0.13	± 0.01
C:N molar	37.22	
C:P molar	9714.6	
Lignin:N (%)	25.2	
K (mg g <sup>-1</sup> )	0.9	± 0.16
Ca (mg g <sup>-1</sup> )	4.46	± 0.55
Mg (mg g <sup>-1</sup> )	1.6	± 0.05

Tabela 2- Constante de decomposição da serapilheira (k), na presença das raízes finas (com raízes) e excluindo o contato direto com as raízes finas (sem raízes), n=6.

	$k$ (g g <sup>-1</sup> dia)	$R^2$	$t$	$p$	Massa perdida/ano (%)
Com raízes	0.0027	0.7963	11.0787	<0.0001	98.55
Sem raízes	0.0019	0.7291	9.3159	<0.0001	69.35

*Os valores da constante de decomposição (k) representam a média dos valores calculados a partir de um modelo de decaimento exponencial para cada condição (com raízes, sem raízes) durante um período de 188 dias.*

Tabela 3– Influência das raízes no percentual remanescente dos principais elementos presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição. Onde: C=carbono, N=nitrogênio, P=fosforo, K=potássio, Ca=cálcio, Mg=magnésio.

	Modelo I		Modelo II					
	Condição		Condição		Tempo		Interação	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
C (%)	1.51	ns	1.43	ns	38.19	***	1.02	ns
N (%)	1.20	ns	0.97	ns	18.33	**	2.26	*
P (%)	0.00008	ns	0.004	ns	5.62	***	1.32	ns
K (%)	0.59	ns	0.58	ns	9.13	***	2.22	*
Ca (%)	3.31	*	4.24	*	10.23	***	4.81	**
Mg (%)	2.95	*	3.83	*	35.66	***	5.52	***

Resultados dos modelos lineares mistos (LMM), modelo I os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , .  $P < 0.1$ , ns= não significativo).

Tabela 4 - Influência das diferentes condições propostas na biomassa dos microrganismos e potencial atividade enzimática extracelular presentes na serapilheira em processo de decomposição

	Modelo I		Modelo II					
	Condição		Condição		Tempo		Interação	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Biomassa mic. C	0.31	ns	0.22	ns	1.16	ns	0.25	ns
Biomassa mic. N	2.25	ns	1.35	ns	3.95	*	0.8	ns
Biomassa mic. P	0.31	ns	0.2	ns	18.30	***	0.18	ns
Exoglucanase (CB)	0.02	ns	0.11	ns	3.94	**	0.42	ns
$\beta$ -Glucosidase (BG)	0.57	ns	0.3	ns	3.06	*	0.20	ns
Exochitinase (NAG)	0.18	ns	0.15	ns	6.00	***	0.24	ns
Fosfatase (PHOS)	9.44	**	9.30	**	11.72	***	0.54	ns

Resultados dos modelos lineares mistos (LMM), modelo I os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , .  $P < 0.1$ , ns= não significativo).

## Material suplementar (Capítulo I)

Tabela S1 – Influência das diferentes condições propostas na concentração total dos principais elementos presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição. Onde: C = carbono, N = nitrogênio, P= fosforo, K= potássio, Ca=Cálcio, Mg= magnésio.

	Modelo I		Modelo II					
	Condição		Condição		Tempo		Interação	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
C (mg g <sup>-1</sup> )	0.01	ns	0.004	ns	2.39	*	0.17	ns
N (mg g <sup>-1</sup> )	0.37	ns	0.84	ns	4.14	**	1.52	ns
P (mg g <sup>-1</sup> )	6.09	*	5.95	*	4.27	**	0.73	ns
K (mg g <sup>-1</sup> )	6.10	*	5.91	*	0.87	ns	1.06	ns
Ca (mg g <sup>-1</sup> )	12.85	***	13.23	***	3.66	**	1.17	ns
Mg (mg g <sup>-1</sup> )	27.44	***	30.10	***	13.46	***	1.98	ns

Resultados dos modelos lineares mistos (LMM), modelo I os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , .  $P < 0.1$ , ns= não significativo).

Tabela S2- Média dos parâmetros morfológicos e bioquímicos das raízes presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição. Onde: SRL = Comprimento específico da raiz ( $\text{cm g}^{-1}$ ); SRA= Área específica da raiz ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ); RTD= Densidade do tecido radicular ( $\text{g cm}^3$ ); SD= Desvio padrão; Min e Max= valores mínimos e máximos encontrados para cada variável,  $n = 6$  para todos os parâmetros avaliados.

Dias	Biomassa ( $\text{g m}^2$ )				SRL ( $\text{cm g}^{-1}$ )				SRA ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ )				RTD ( $\text{g cm}^3$ )			
	Média	Max.	Min.	SD	Média	Max.	Min.	SD	Média	Max.	Min.	SD	Média	Max.	Min.	SD
72	0.57	2.60	0.02	1.00	2296.32	5446.71	754.86	1562.61	275.39	580.80	179.06	144.32	0.33	0.56	0.20	0.12
101	1.90	3.65	1.00	0.97	2105.19	4191.48	1556.03	1031.35	242.90	434.68	144.96	115.30	0.46	0.93	0.17	0.25
156	3.32	5.99	1.58	1.64	3251.69	5388.02	2250.20	1100.13	384.37	482.54	350.65	49.13	0.27	0.62	0.16	0.16
188	3.72	17.07	1.49	6.78												

## **CAPÍTULO II**

---

Martins, N. P., Fuchslueger, L., Quesada, C. A. Alterações nos processos de decomposição da serapilheira em resposta a simulação de um aumento nos exsudatos radiculares.

## **Alterações nos processos de decomposição da serapilheira em resposta a simulação de um aumento nos exsudatos radiculares**

### **RESUMO**

A maior alocação de carbono para abaixo do solo é um importante mecanismo para minimizar uma possível limitação de nutrientes por plantas, e promover um *feedback* positivo entre a produtividade das florestas tropicais e o aumento nas concentrações de CO<sub>2</sub> na atmosfera. As raízes finas exsudam compostos de carbono lábil (C lábil) que podem estimular a ciclagem de nutrientes, aumentando a disponibilidade dos recursos. Logo, o objetivo do presente estudo foi identificar os efeitos do aumento na disponibilidade de carbono lábil nos processos de decomposição da serapilheira. Foi simulada a exsudação das raízes finas, aumentando em aproximadamente 10% as concentrações de carbono presente na serapilheira. Os compostos de C foram adicionados nas formas de glicose e ácido cítrico, além do controle (água), nas amostras com a presença das raízes finas, e excluindo a presença das raízes. Observamos que o aumento na disponibilidade de C lábil não estimulou a decomposição da serapilheira, ao contrário a adição do ácido cítrico retardou a perda de massa da serapilheira. A mineralização de alguns nutrientes, principalmente do C, N não foi positivamente influenciada pelo aumento da disponibilidade de C lábil, em contradição com a adição de ácido cítrico houve uma maior liberação de P. Em relação à biomassa dos microrganismos, a imobilização ao longo do processo de decomposição não se diferiu entre os compostos de C disponibilizados e o controle. Um efeito negativo na adição do ácido cítrico foi observado para a enzima extracelular fosfatase, já para as demais enzimas não foram observadas diferenças entre os tratamentos e o controle. Os resultados indicam que o processo de decomposição da serapilheira não é limitado por energia, no entanto a exsudação de alguns compostos de C lábil (ácido cítrico) pode promover a liberação direta de determinados nutrientes (P). Indicando que outros mecanismos intermediados pelas raízes finas podem ser mais eficientes para superar a limitação nutricional em condições de CO<sub>2</sub> elevado.

**Palavras-chave:** Fertilização por CO<sub>2</sub>, ciclagem de nutrientes, raízes finas, biomassa microbiana, enzimas extracelulares.

## INRODUÇÃO

A quantidade de C assimilado através da fotossíntese que é atribuído aos exsudatos radiculares varia amplamente entre as espécies de plantas, com a idade da planta, o tipo de solo e a disponibilidade de nutrientes, e são, em média, entre 11 e 17% do C fixado líquido (Jones *et al.* 2009). Os exsudatos são liberados na rizosfera, que é definida como um volume de solo ou serapilheira que está diretamente em contato com as raízes vivas e é diretamente influenciado por elas (Haichar *et al.* 2014). Os principais compostos liberados ( rizosfera) são de baixo peso molecular, como aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e outros metabolitos secundários (Badri and Vivanco 2009). Esses compostos regulam uma ampla gama de funções e propriedades ecológicas do solo, como mobilização de nutrientes específicos e disponibilidade de nutrientes (Hütsch *et al.* 2002), estruturação e atividade dos microrganismos (Philippot *et al.* 2013; Kuzyakov and Blagodatskaya 2015; Zhalnina *et al.* 2018).

Nos últimos anos, alguns estudos verificaram que a proporção dos exsudatos radiculares pode aumentar em árvores submetidas ao enriquecimento de CO<sub>2</sub>, explicando alterações na dinâmica do C, principalmente abaixo do solo (Iversen 2009; Phillips *et al.* 2009, 2011; Dieleman *et al.* 2010). Possivelmente em resposta a esse aumento nos exsudatos ocorre um estímulo na biomassa dos microrganismos, que poderia aumentar a sua procura por nutrientes, aumentando a decomposição da matéria orgânica. Uma das possibilidades pra atender a demanda por nutrientes dos microrganismos pode ser atingida pelo aumento da síntese de enzimas extracelulares, e em seguida a despolimerização dos elementos presentes na serapilheira ou matéria orgânica do solo (Figura 1). Essa alteração no *turnover* da matéria orgânica em resposta a uma maior disponibilidade de carbono lábil é conhecida como efeito *priming* (Kuzyakov *et al.* 2000; Kuzyakov 2010). O efeito *priming* pode ser real, quando o aumento no fluxo de CO<sub>2</sub> liberado se traduz em uma maior mineralização da matéria orgânica, ou aparente, quando o aumento no fluxo de CO<sub>2</sub> resulta em um aumento no *turnover* da biomassa microbiana sem a mineralização da matéria orgânica (Blagodatskaya and Kuzyakov 2008). Embora os microrganismos possam inicialmente imobilizar os nutrientes recém mineralizados, o pulso contínuo de C originado da exsudação pode estimular o crescimento das comunidades microbianas (*turnover*), e

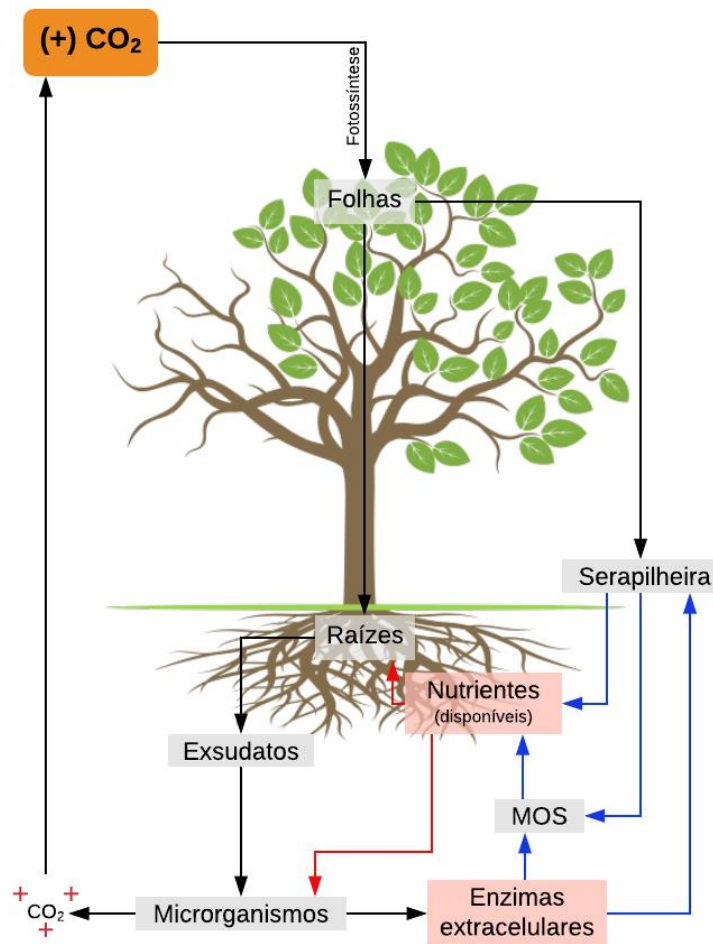
assim, liberar nutrientes na rizosfera (Phillips *et al.* 2011; Philippot *et al.* 2013; Zhalnina *et al.* 2018).

Grande parte da literatura considera a alteração na biomassa dos microrganismos apenas na matéria orgânica do solo (Blagodatskaya *et al.* 2007; Blagodatskaya and Kuzyakov 2008; Kuzyakov 2010; Qiao *et al.* 2016; Liu *et al.* 2017), poucos estudos relataram as alterações dos processos que envolvem a ciclagem de nutrientes diretamente da serapilheira, a qual tem grande importância na ciclagem de nutrientes em florestas tropicais (Kuzyakov *et al.* 2007; Boberg *et al.* 2008; Chigineva *et al.* 2009; Soares *et al.* 2017). Porém, os dados são insuficientes para concluir quais mecanismos são os principais responsáveis pelo estímulo da decomposição da serapilheira submetidas ao aumento na disponibilidade de C lábil (Kuzyakov 2002; Kuzyakov *et al.* 2007).

Nesse sentido, para aumentar a compreensão sobre quais podem ser as consequências de uma maior disponibilidade de C lábil (exsudatos) nos processos de decomposição da serapilheira em florestas tropicais. No presente estudo, propomos um experimento de decomposição de serapilheira (folhas) em campo com todas as condições reais, onde foi simulado um aumento de aproximadamente 10% nos exsudatos radiculares. A simulação dos exsudatos radiculares foi realizada particularmente nas formas de glicose, com o intuito de aumentar a concentração de energia na forma disponível para os microrganismos, e ácido cítrico, que além de atuar como substrato de energia também pode introduzir uma mudança química na rizosfera (pH, oxidação). Os compostos de carbono foram disponibilizados em duas condições distintas: a) Com a presença das raízes finas, onde, além da adição de C extra, está incluso a liberação de C natural e o efeito físico das raízes (fragmentação); b) excluindo totalmente as raízes finas da serapilheira, e com isso, a liberação de C natural e o efeito físico da presença das raízes, considerando apenas a adição extra de C. Os objetivos foram: I) Avaliar se o aumento na disponibilidade de C lábil influencia a perda de massa da serapilheira (que é um substrato de C mais complexo), e dinâmica dos nutrientes remanescentes ao longo do processo de decomposição; II) avaliar se o aumento na disponibilidade e C lábil afeta os processos microbianos, expressos em biomassa e atividade dos microrganismos, e a potencial atividade enzimática extracelular durante o processo de decomposição.



A primeira hipótese prevê que a presença das raízes finas somada ao aumento na disponibilidade de C lábil estimule a perda de massa da serapilheira e simultaneamente aumente a mineralização de C e nutrientes. Ainda, na presença das raízes finas os recursos recém disponibilizados podem promover uma competição interespecífica entre as raízes finas e os microrganismos, o que pode limitar a imobilização dos recursos recém disponibilizados pelos microrganismos. Já para a segunda hipótese nós consideramos que a adição de compostos de C lábeis aumente a biomassa microbiana na forma de C, e reduza a atividade das enzimas extracelulares responsáveis por mineralizar o C. Paralelamente, ocorra um aumento na atividade da fosfatase, porque com mais C disponível os microrganismos tenderiam a aumentar a procura por P para equilibrar a sua demanda estequiométrica.



**Figura 1-** Modelo conceitual representando a influência do aumento na alocação de carbono (C) para abaixo do solo nos processos de ciclagem de nutrientes em condições de CO<sub>2</sub> elevado. Onde, MOS = matéria orgânica do solo; as caixas de texto em cinza representam os *pools* de C; as setas inteiras na cor preta indicam a sequência dos processos; as setas azuis representam transformações nos estoques de C; as

setas vermelhas indicam uma possível competição entre os recursos recém disponibilizados. Definir “MOS”

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

O estudo foi realizado na área experimental do programa Amazon FACE (Lapola; Norby, 2014; Norby et al., 2015), localizado na reserva Biológica do Cuieiras – ZF2 (2° 35'40''S, 60° 12'28''W) pertencente ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA. A área é um platô, com topografia plana e a vegetação é composta por uma floresta tropical ombrófila densa, madura e bem preservada. O solo é altamente argiloso, do tipo *ferralsols* (World Reference Base for Soil Resources, WRB), que é altamente intemperizado e apresenta uma baixa concentração de nutrientes em geral, porém com P total sendo particularmente baixo, e em sua maior parte adsorvido em formas indisponíveis (Quesada et al., 2010, 2011; Smeck, 1985). A precipitação média anual é de 2400 mm, com uma estação de menor precipitação (seca, <100 mm por mês) no período de julho a setembro, com temperatura média anual de 26 °C (Araújo et al., 2002; Chambers et al., 2004).

### **Desenho experimental**

Para o experimento de decomposição foram utilizados dois tipos de *litterbags* (25 x 30 cm). Um, com malha de 2 mm, a qual não impede a colonização da serapilheira por raízes finas. O outro *litterbag* foi desenhado para impedir a colonização da serapilheira por raízes finas. Estes foram feitos com malha < 0.2 mm. No local do estudo, foram alocados 6 blocos, (3 x 6m), cada bloco ficou afastado no mínimo 5 m uns dos outros. O delineamento é fatorial completo (c/s raízes; água glicose, ácido cítrico) para cinco. Em cada bloco foram instalados 24 *litterbags*, e no total 144, sendo 48 *litterbags* por tratamentos (24 com a presença das raízes e 24 excluindo a presença das raízes)

As amostras referentes à última coleta do processo de decomposição de serapilheira foram instaladas dentro de anéis de PVC (785 cm<sup>3</sup>) com a malha de 2 mm

ao fundo, com objetivo de acompanhar a mineralização do carbono (fluxo de CO<sub>2</sub>) durante todo o processo de decomposição. Em cada bloco foram distribuídos anéis emparelhados (com e sem raízes) para cada tratamento (glicose, ácido cítrico, água), e 3 anéis para medir o fluxo de CO<sub>2</sub> apenas do solo (controle, glicose, ácido cítrico) no total foram instalados 54 anéis de respiração. Os dados que envolvem o fluxo de CO<sub>2</sub> da serapilheira não vão ser abordados neste capítulo, porém as amostras que estavam dentro dos anéis foram utilizadas para determinar as demais variáveis.

### **Decomposição da serapilheira**

Para o experimento de decomposição foram utilizadas amostras de serapilheira compostas apenas por folhas, coletadas em cestas 1 m acima do chão, durante o período de um ano nas parcelas do programa Amazon FACE. Após as amostras de folhas serem secas em estufa de fluxo de ar a 65°C, foi adicionado 8 g de folhas em cada *litterbag* que permite a proliferação das raízes, e 6 g de folhas nos *litterbags* que impedem a proliferação das raízes. Os *litterbags* foram distribuídos acima do solo em contato direto com a serapilheira no mês de agosto de 2016, e o processo de decomposição foi avaliado até fevereiro de 2017, totalizando 188 dias de incubação do experimento.

Para a determinação das características químicas iniciais da serapilheira (Tabela 1), foi realizado análises de 6 bolsas decompositoras, as mesmas foram expostas as condições de campo por uma semana, para obtenção do comportamento inicial dos processos biológicos (Biomassa microbiana, potencial atividade enzimática extracelular). As coletas dos *litterbags* foram realizadas em intervalos de aproximadamente quatro semanas a partir da instalação do experimento, totalizando cinco coletas.

Em cada coleta foram recolhidas 18 *litterbags* com raízes e 18 *litterbags* sem raízes (total 36 amostras), sendo 6 *litterbags* para cada tratamento, e logo em seguida transportadas para o laboratório de ciclos biogeoquímicos (INPA). Após cada coleta, foram retiradas manualmente todas as raízes dos tratamentos que permitiam a entrada destas, para a determinação da biomassa de raízes finas (metodologia descrita abaixo). Em seguida, a serapilheira de todas as amostras foi pesada, cortada, e dividida em três sub amostras. Uma sub amostra desse material foi pesada novamente e em seguida seca

em estufa a 65°C por 72 h para determinação da massa seca e realização das análises químicas. A segunda sub amostra foi utilizada para determinação da biomassa microbiana e a terceira para determinação da potencial atividade enzimática extracelular.

O percentual de massa remanescente (% MR) foi obtido pela relação entre a massa inicial ( $P_0$ ) e a massa seca de cada coleta ( $P_t$ ), de acordo com a equação 1:

$$\% \text{ MR} = \left(\frac{P_t}{P_0}\right) \times 100$$

Os valores da constante de decomposição da serapilheira ( $k$ ) foram obtidos a partir dos valores de massas remanescentes verificados ao longo dos 188 dias de experimento, ajustados ao modelo exponencial proposto por Thomas and Asakawa (1993), equação 2:

$$P_t = P_0 \times e^{-kt}$$

onde,  $P_t$  = peso seco remanescente da amostra após  $t$  dias;  $P_0$  = peso seco inicial, inserido nos *litterbags* no tempo zero ( $t=0$ );  $t$  = tempo em dias;  $K$  = constante de decomposição.

### **Adição de C lábil**

Para simular o aumento na disponibilidade de carbono lábil na serapilheira, foram adicionados em diferentes *litterbags* e nos anéis de respiração soluções de glicose e ácido cítrico e água como controle. Para o cálculo da quantidade de C que foi aplicado por semana para cada amostra, levamos em consideração a produção anual de serapilheira em um platô, a entrada anual de C na serapilheira e o conteúdo de C presente nas folhas, a partir de dados já disponibilizados na literatura (Luizão; Schubart, 1987; Luizão et al., 2004). Em seguida foi realizado uma estimativa para aumentar a concentração de carbono no material vegetal em processo de decomposição em aproximadamente 10%. Semanalmente foi adicionado com auxílio de borrifadores manuais 2.5 mg C para cada amostra referente a cada tratamento.

## **Dinâmica de nutrientes**

Sub amostras secas de folhas foram moídas em moinho de facas para realização das análises químicas e posterior determinação da dinâmica nutricional. A composição estrutural da serapilheira, nomeadamente seus teores de lignina e celulose, foram determinados a partir do método proposto por Van Soest (1963). C e N foram analisados em um analisador automático de C e N (Vario Max CN, Elementar, Alemanha), conforme método descrito por Pella (1990). Para determinação do fósforo, potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foi utilizado o protocolo de digestão nitro-perclórica descrito por Malavolta et al., (1989). Após a digestão o P foi determinado colorimetricamente (Olsen e Sommers, 1982; Murphy e Riley, 1962) usando um espectrofotômetro UV (Modelo 1240, Shimadzu, Kyoto, Japão). As bases (K), (Ca) e (Mg) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (AAS, 1100 B, Perkin-Elmer, Ueberlingen, Germany) conforme descrito por Anderson e Ingram (1993)..

Os nutrientes e compostos estruturais remanescentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição foram calculados de acordo com a expressão proposta por McGroddy *et al.* (2004), equação 3:

$$NR.FR = \frac{X_t * W_t}{X_0 * W_0} * 100$$

onde, NR são os nutrientes remanescentes, FR são as frações remanescentes,  $X_0$  é a concentração inicial média dos nutrientes ou compostos estruturais da serapilheira (n=6) (Tabela 1),  $X_t$  é a concentração de nutrientes em um determinado tempo de coleta (t),  $W_0$  é o peso seco inicial da serapilheira e  $W_t$  é o peso seco em determinado tempo de coleta (t).

## **Biomassa microbiana**

A biomassa microbiana foi determinada a partir das sub amostras frescas da serapilheira, utilizando o método de extração de fumigação por clorofórmio (Vance e

Nadkarni 1990). Foi utilizado 1 g de folhas de cada sub amostra para o processo de fumigação com clorofórmio por 24 horas. E, em seguida as amostras foram divididas em duas alíquotas (0,5 g), para a primeira foi adicionado 20 ml de KCl 1M onde foram extraídos C orgânico extraível e N total extraível. Na segunda sub amostra foi adicionado 20 ml de NaHCO<sub>3</sub> 0,5 M pH 8,5 para a extração do P orgânico e inorgânico extraível. Paralelamente outro conjunto de amostras foram preparadas para a extração direta com os mesmos extratores, sem passar pelo processo de fumigação. Todos os extratos preparados nos dois procedimentos (fumigados e não fumigados) foram agitados no agitador durante o período de 1 hora, e em seguida filtrados. O conteúdo de C e N microbiano foi estimado a partir da diferença de C orgânico e N orgânico solúvel fumigado e não fumigado medido por um analisador TOC/TN analyzer (TOC-V CPH E200V/TNM-1 220V; Shimadzu, Vienna, Austria), para o P total microbiano também foi utilizada a diferença entre as amostras fumigadas e não fumigadas. O P total nos extratos foi medido em um espectrofotômetro UV (Modelo 1240, Shimadzu, Kyoto, Japão).

#### **Atividade de enzimas extracelulares**

A atividade das enzimas extracelulares da serapilheira foram quantificadas após cada coleta dos *litterbags*, em um prazo de 48 h após a coleta (Kaiser et al., 2010). Os ensaios foram realizados para quatro enzimas hidrolíticas: Exoglucanase (CB) utilizando o substrato 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-cellobioside;  $\beta$ -Glucosidase (BG) a partir do substrato 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucopyranoside; Exochitinase (NAG) a partir do substrato 4-methylumbelliferyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide; e fosfatase ácida (PHOS) utilizando o substrato 4-methylumbelliferyl-phosphate.

Os ensaios enzimáticos foram realizados utilizando protocolos adaptados a partir de (Saiya-Cork et al., 2002; Marx et al., 2001; DeForest, 2009). A extração das enzimas foi realizada em 0,5 g de folhas de cada amostra contendo 50 ml de tampão acetato de sódio 100 mM, pH 5,5. Essa solução foi homogeneizada por 1 min com forte agitação usando um vortex. Em seguida, para analisar a atividade enzimática para cada substrato, foram pipetados 200  $\mu$ L da solução de enzimas extraídas para cada 50  $\mu$ L dos substratos específicos (3 repetições técnicas por amostra e enzima) em placas de microtitulação pretas. Adicionalmente, 200  $\mu$ L de tampão foram pipetados em triplicadas que servirão como referência, e de controle negativo. Para a curva padrão é necessário preparar

diferentes matrizes padrão methly-umbelliferyl (MUF), pois o sinal de diferentes enzimas mostra diferentes intensidades. Assim, foi preparada uma solução de trabalho de várias concentrações. De acordo com a intensidade de respostas das enzimas é pipetado 50  $\mu\text{L}$  da concentração adequada da solução padrão (MUF) e 200  $\mu\text{L}$  de buffer. As placas são incubadas durante 40 minutos e a fluorescência foi medida a uma excitação a 365 nm e 450 nm de emissão. A potencial atividade enzimática é expressa em  $\mu\text{mol g}^{-1} (\text{seco}) \text{h}^{-1}$  segundo German *et al.* (2011). A fluorescência foi medida em um analisador de microplacas (TECAN i-control 200Pro, Groedig, Austria).

### **Análise de dados**

Para testar o efeito dos tratamentos (controle, glicose, ácido cítrico) e das condições em que as amostras foram submetidas (com a presença das raízes finas e excluindo a presença das raízes) nas diferentes variáveis respostas foi utilizado LMMs (*linear mixed models*) com o suporte do pacote *lme4* (Bates *et al.* 2015). Inicialmente as diferentes condições e os tratamentos foram considerados como fatores fixos, e para explicar a heterogeneidade espacial e a variabilidade temporal, utilizamos os blocos e o tempo (dias de incubação) como fatores aleatórios. Em seguida, os dados foram divididos em duas categorias distintas referente às duas condições, para cada condição foi construído outros LMMs com o objetivo de verificar alguma interação entre os tratamentos e o tempo, foi considerado como fatores fixos os tratamentos e o tempo, e como fator aleatório apenas os blocos. Para verificar em qual período (tempo) específico ocorreu alguma diferença entre os tratamentos foi realizado teste de comparações entre as médias (Tukey) com o auxílio do pacote *emmeans* (Lenth *et al.* 2018). Como um pré-requisito dos LMMs os dados que não apresentaram uma distribuição normal dos resíduos foram ajustados utilizando transformação logarítmica. Todas as análises foram realizadas no software R versão 3.3.2 (R Core Team 2017).

## **RESULTADOS**

## Efeitos da adição de C lábil na decomposição da serapilheira

O aumento na disponibilidade de C lábil influenciou significativamente a decomposição da serapilheira, no entanto, a presença ou ausência das raízes finas foi o fator determinante na perda de massa (Tabela 2). Ao final do experimento (188 dias) as amostras em contato direto com as raízes finas já haviam perdido em média 40.53 % de sua massa inicial, já as amostras sem o contato com as raízes, foi perdido apenas 31.11 % da massa inicial. Para as amostras que estavam em contato com as raízes (Figura 1a), observamos que no período inicial (38 dias) o aumento na disponibilidade da glicose apresentou uma forte tendência em estimular a perda de massa da serapilheira. No entanto, o efeito significativo dos tratamentos só foi observado no estágio final do processo (188 dias). Onde, ocorreu diferença significativa entre os compostos de carbono disponibilizados (glicose, ácido cítrico) além da diferença entre o ácido cítrico e controle ( $p=0.003$ ;  $p=0.009$ ). De forma geral a maior disponibilidade do ácido cítrico retardou o processo de decomposição. O controle e a glicose apresentaram o mesmo padrão, não diferindo os efeitos entre si. Já para as amostras que excluiu a presença das raízes (Figura 1b), os três tratamentos apresentaram um padrão similar ao longo de todo o processo de decomposição. No entanto, em estágios específicos do processo de decomposição (38 e 188 dias) o ácido cítrico se diferiu do controle ( $p=0.004$ ;  $p=0.05$ ), inibindo a perda de massa da serapilheira.

Em relação as frações estruturais presentes na massa remanescente da serapilheira (Figura 2), com exceção do material mais solúvel que não se diferenciou entre os tratamentos e entre as condições experimentais (Tabela 2), foi observado uma influência dos tratamentos para as frações de celulose e lignina, e das condições experimentais (com ou sem raízes) para a fração da lignina (Tabela 2). A adição de glicose se diferiu do controle ( $p=0.03$ ) na fração celulose, e o ácido cítrico se diferiu do controle ( $p=0.01$ ) na fração lignina, o aumento na disponibilidade de C reduziu a perda de ambas as frações da massa remanescente da serapilheira (Figura 2). De forma geral na presença das raízes finas ocorreu uma maior perda das três frações avaliadas em todos os tratamentos testados (Figura 2), no entanto, essa redução só se mostrou significativa para a fração de lignina. Considerando apenas os dados referentes as amostras com a presença das raízes finas (Figura 2a, c, e), pode ser observado uma interação entre os tratamentos e o tempo para o material solúvel (Tabela 2), onde, nos



101 dias ocorreu uma maior perda do material solúvel com o aumento na disponibilidade dos dois compostos de C lábil (glicose, ácido cítrico), as demais frações avaliadas não se diferiram entre os tratamentos. Já para as amostras que excluíram a presença das raízes (Figura 2b, d, f) foi observado uma diferença significativa na perda da fração de lignina quando comparamos o tratamento de ácido cítrico com o controle ( $p=0.01$ ), onde a maior disponibilidade do C na forma de ácido cítrico reduziu a degradação da lignina. A celulose e o material solúvel na ausência das raízes finas não foram influenciadas diretamente pelos diferentes tratamentos (Tabela 2), no entanto, houve uma interação entre os tratamentos e o tempo para a fração solúvel, ocorrendo uma diferença entre o controle e o ácido cítrico ( $p=0.05$ ) nos 101 dias, nesse momento ocorreu uma maior degradação da fração solúvel com a maior disponibilidade de ácido cítrico.

### **Dinâmica de nutrientes**

A concentração total dos elementos C, N e P não foi diretamente influenciada pelo o aumento na disponibilidade de C lábil. No entanto, foi observado um efeito significativo das condições propostas, e uma interação entre as condições e os tratamentos (Tabela 3; figura 3). Na ausência das raízes finas ocorreu uma maior concentração de P total em comparação com as amostras na presença das raízes, nessas mesmas condições com a adição do ácido cítrico houve uma redução na concentração do P comparada com o controle ( $p=0.02$ ) e uma tendência de redução comparada a aplicação de glicose ( $p=0.06$ ). Quando observamos apenas os dados referente as amostras com a presença das raízes (Figura 3a, c, e), os três elementos avaliados (C, N, P) apresentaram um padrão similar entre os tratamentos ao longo do processo de decomposição, com exceção de uma aparente queda na concentração do C aos 188 dias com a adição de glicose e uma menor concentração de P no estágio inicial (38 dias) também com a adição de glicose, no entanto, as diferenças não foram significativas. As adições dos substratos de C lábil também não influenciaram de forma significativa a dinâmica do C, N e P nas amostras que excluiu o contato com as raízes (Tabela 3). Na ausência das raízes, no estágio inicial (38 dias) foi observado uma redução na concentração de N com o aumento na disponibilidade de C lábil (Figura 3d), no entanto, esse padrão não se manteve ao longo do processo de decomposição, onde no final do

processo (188 dias) foi observado um aumento nas concentrações de C e N em ambos os tratamentos (Figura 3d).

O percentual de C, N e P remanescente na massa da serapilheira também não foi influenciado significativamente pelos tratamentos (Tabela 3). Entretanto, a presença das raízes finas promoveu uma maior taxa de redução de N indicando um aumento em sua mineralização (Figura 4c). Um padrão similar foi registrado entre todos os elementos (C, N, P) no estágio inicial do processo de decomposição na presença das raízes finas, nesse momento o aumento na disponibilidade da glicose aparentemente acelerou a mineralização e perda desses elementos da massa da serapilheira (Figura 4a, c, e). Na ausência das raízes finas, nenhum dos elementos (C, N, P) foi influenciado diretamente pela adição de C lábil.

### **Biomassa e atividade microbiana**

O aumento na disponibilidade de C lábil também não apresentou um efeito significativo na imobilização do C e N na biomassa dos microrganismos presentes na serapilheira (Tabela 4), por outro lado a concentração do P microbiano apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). O carbono lábil disponibilizado na forma de ácido cítrico se diferiu do controle ( $p=0.03$ ), reduzindo as concentrações do P microbiano presentes na serapilheira.

Quando consideramos apenas as amostras com a presença das raízes finas, também não há influência significativa dos tratamentos na biomassa do C, N, e P microbiano. No entanto, observamos uma redução na biomassa do C e N microbiano aos 101 dias com o aumento na disponibilidade de C lábil, com um pico de imobilização logo após esse período. Neste mesmo momento (101 dias) nos controles há uma redução nas concentrações de C e N microbiano (Figura 5). Ocorreu um processo inverso para o P microbiano principalmente com a maior disponibilidade de glicose e no controle (Figura 5), onde, nos estágios iniciais do processo da decomposição há um aumento constante na imobilização, já, no estágio final do processo ocorre uma redução na biomassa para ambos os tratamentos. Em contrapartida foi observado diferenças significativas entre os tratamentos para as concentrações de C e P microbiano na ausência das raízes finas (Tabela 4), para ambos a adição de C lábil

na forma do ácido cítrico reduziu a biomassa dos microrganismos comparado ao controle (Figura 5b, f). As principais diferenças foram registradas aos 101 dias, nesse período para o C microbiano o ácido cítrico se diferiu da glicose ( $p=0.03$ ) e para o P microbiano o ácido cítrico se diferiu da glicose ( $p=0.04$ ) e do controle ( $p=0.03$ ). O N microbiano na ausência das raízes finas apresentou um aumento contínuo em sua biomassa ao longo de todo o processo de decomposição para ambos os tratamentos (Figura 5d).

A atividade das enzimas extracelulares exoglucanase,  $\beta$ -Glucosidase e exochitinase também não foram influenciadas pelo aumento na disponibilidade de C lábil (Tabela 4), a exceção novamente está relacionada com a disponibilidade de P. A enzima responsável por sua degradação (fosfatase) apresentou uma resposta diferente de acordo com o composto de C disponibilizado ( $p=0.01$ ), de uma forma geral com a adição do ácido cítrico foi reduzido a potencial atividade da fosfatase na degradação da serapilheira. Além disso, todas as enzimas extracelulares avaliadas apresentaram uma alta atividade no estágio inicial da decomposição em ambas as condições propostas (com raízes, sem raízes), porém ao longo do processo essa atividade foi reduzindo, apenas para a fosfatase foi registrado um aumento na atividade até os 72 dias (Figura 6, 7). Considerando apenas as amostras com a presença das raízes finas não foi possível observar uma diferença significativa entre o efeito dos tratamentos na atividade de todas as enzimas extracelulares avaliadas. Os tratamentos com aumento na disponibilidade de C e o controle apresentaram um comportamento similar ao longo do processo de decomposição (Figura 6a, c, e,7a). Já para as amostras que excluíam o contato direto com as raízes, foi observada uma diferença significativa entre os tratamentos na atividade das enzimas exoglucanase e fosfatase (Tabela 4). Para a fosfatase foi observado uma forte tendência na redução da atividade com a maior disponibilidade do ácido cítrico ( $p=0.07$ ), já para a exoglucanase a maior disponibilidade de glicose estimulou a atividade após os 72 dias se diferenciando do controle ( $p=0.06$ ).

## **DISCUSSÃO**

## Efeitos da adição de C lábil na decomposição da serapilheira

No capítulo 1 foi avaliado o efeito da presença das raízes finas no processo de decomposição da serapilheira, e foi constatado um efeito positivo na presença das raízes em relação a perda de massa da serapilheira. No entanto, não foi possível diferenciar a ação dos fatores físicos ou químicos causados pela presença das raízes. Neste capítulo foi possível explorar com mais detalhe a diferença entre as duas situações. Com a adição de C lábil nas amostras com a presença das raízes nós aumentamos a disponibilidade de compostos de C para os microrganismos, temos o efeito físico da fragmentação, e simultaneamente a competição entre as raízes e os microrganismos. Ao excluir as raízes e com a adição dos compostos de C lábil foi possível observar somente os fatores químicos envolvidos no processo.

Na presença das raízes finas e no estágio inicial do processo de decomposição, os compostos de C disponibilizados na forma de glicose apresentaram uma forte tendência em aumentar a decomposição da serapilheira. No entanto, quando excluimos as raízes e observamos apenas o efeito da disponibilização do C lábil, observamos um efeito significativo, porém ao contrário do esperado esse efeito foi negativo. A adição de ácido cítrico reduziu a decomposição da serapilheira em diferentes estágios do processo.

Estudos anteriores demonstraram que o aumento nas entradas de compostos de C lábil (exemplo: glicose; sacarose; celulose) pode estimular as taxas de mineralização da matéria orgânica recalcitrante através do efeito *priming* (Fontaine *et al.* 2007; Kuzyakov 2010; Qiao *et al.* 2016). O motivo mais provável para explicar o efeito *priming* positivo é uma ativação dos microrganismos através da maior disponibilização de energia. Sob condições de energia limitada, a adição de um substrato lábil pode desencadear um aumento da atividade metabólica, permitindo que os microrganismos produzam enzimas extracelulares energeticamente caras, porém capazes de degradar a matéria orgânica do solo (Kuzyakov *et al.* 2000). No entanto, a maioria dos estudos avaliaram o efeito da disponibilidade de C lábil na matéria orgânica do solo, e raramente considerando a serapilheira fresca, o que por um lado dificulta a compreensão dos processos envolvidos enquanto por outro torna este estudo pioneiro, ao menos na Amazônia. Em um dos poucos estudos considerando a adição de C lábil na serapilheira Chigineva *et al.* (2009), em um experimento de campo realizado em uma floresta na Rússia, relataram um efeito

negativo da disponibilização de sacarose na decomposição da serapilheira. Os autores sugeriram que a baixa decomposição da serapilheira está associada principalmente ao aumento na abundância de fungos oportunistas de crescimento rápido (r estrategistas), enquanto que os fungos especializados em substratos mais recalcitrantes (k estrategistas) foram reduzidos, essa alteração na composição da comunidade decompositora também foi interpretada como a principal razão para a ausência de qualquer efeito *priming*. Um resultado similar foi observado por Barantal *et al.* (2012), os autores observaram uma redução na perda de massa da serapilheira nas parcelas com adição de celulose em relação as parcelas de controle. Além disso, o efeito negativo da adição de celulose na decomposição da serapilheira foi impulsionado pela presença da fauna do solo, ou seja, na presença da fauna e com a adição de C a perda de massa da serapilheira foi reduzida. Os autores sugeriram que a fauna que se alimenta da serapilheira pode de fato ser limitada pela qualidade do C fornecido através da serapilheira natural, assim possivelmente a fauna detritívora utilizou diretamente a celulose como fonte de energia.

No presente estudo foi observado resultados similares aos relatados anteriormente, onde de forma geral a adição de C lábil não aumentou a decomposição da serapilheira, pelo contrário, quando adicionado compostos de C na forma de ácido cítrico a decomposição foi reduzida. Isso demonstra que possivelmente os processos responsáveis pela degradação da serapilheira não são limitados por energia. Como a serapilheira é um material fresco e mais solúvel, com maior percentual de compostos de C fáceis de serem degradados e um percentual menor de compostos mais recalcitrantes, a comunidade microbiana não necessariamente precisa de energia extra pra realizar a degradação do material. Além disso, os resultado encontrados no presente estudo levam a acreditar que possivelmente ocorra uma interação positiva entre agentes fragmentadores, disponibilidade de C lábil e decomposição da serapilheira, visto que o efeito da adição de C lábil na forma de glicose foi intensificada na presença das raízes finas. Além de processos químicos, ao longo de sua proliferação no material vegetal possivelmente contribuiu com a fragmentação da serapilheira, porem, cabe ressaltar que as raízes finas só se estabeleceram diretamente nas amostras após os 72 dias, o que leva a acreditar que a fauna do solo já estava presente contribuindo para a fragmentação do material vegetal. Os 10% a menos de perda de massa da serapilheira na ausência das

raízes finas, possivelmente pode ser explicada pela ausência de agentes fragmentadores, nas condições de exclusão das raízes finas devido a malha utilizada nos *litterbags* (<2mm), indiretamente também pode ter sido reduzido o efeito da fauna de fragmentadores. Sem a fragmentação do material vegetal os microrganismos podem limitar os seus processos, devido a uma menor área de superfície específica para a sua colonização e restrições em sua disseminação.

### **Dinâmica de nutrientes**

Não foi encontrado um efeito significativo entre o aumento na disponibilidade de C lábil e a liberação dos nutrientes ao longo do processo de decomposição. Já na ausência das raízes, ou seja, efeitos unicamente químicos no processo de decomposição, o estágio inicial mostrou um efeito de ácido cítrico, o qual promoveu uma maior liberação do P, possivelmente uma resposta à redução do pH provocado pelo o aumento na disponibilidade de ácidos orgânicos. De acordo com Jones (1998) as plantas exsudam ácidos orgânicos em resposta a deficiência de P e Fe, reduzindo o pH da rizosfera e em sequência disponibilizando os elementos. No entanto, a acidez abaixo de 5,5 pode fazer com que os principais macronutrientes se tornem limitantes (Dakora and Phillips 2002), não encontramos um efeito negativo no aumento da disponibilidade de ácido cítrico e a liberação dos macronutrientes da massa da serapilheira, pelo contrário, houve uma maior liberação do K no estágio inicial do processo de decomposição (material suplementar).

Apesar de não encontrar resultados significativos em relação a adição de compostos de C lábil e a mineralização dos nutrientes, observamos um padrão de maior liberação dos elementos na presença das raízes finas (capítulo 1). Nossa interpretação é de que pode ocorrer uma competição direta entre as raízes finas e os microrganismos pelos recursos recém-disponibilizados, principalmente na rizosfera (Kuzyakov and Xu 2013). Como na presença das raízes houve maior liberação do fósforo da massa da serapilheira, e na ausência das raízes observamos um padrão de maior imobilização desses elementos na biomassa dos microrganismos, podemos dizer que as raízes conseguem absorver os nutrientes recém mineralizados diretamente da serapilheira, confirmando a hipótese da “ciclagem direta” (Went e Stark 1968). Além disso, as raízes

finas se mostraram mais eficientes em adquirir os nutrientes recém-disponibilizados do que os microrganismos em imobilizá-los em sua biomassa, considerando que ambos estavam presentes nas amostras que permitiam a colonização das raízes finas. Os resultados evidenciam a importância das raízes para a ciclagem de nutrientes, porém os mecanismos envolvidos na liberação dos diversos elementos podem variar de acordo com as características de cada um. O cálcio, por exemplo, é um importante componente estrutural das paredes celulares de plantas e fungos, o que dificulta a sua lixiviação, exigindo mecanismos específicos para a sua mineralização, o potássio, por outro lado, ocorre principalmente no citoplasma celular e é liberado principalmente através da lixiviação (Chapin *et al.* 2002). É sabido que os compostos químicos liberados pelas raízes finas (exsudatos) desempenham um papel fundamental na nutrição das plantas através de diversos mecanismos, alguns compostos atuam como reguladores de crescimento e função microbológica, outros possuem moléculas que controlam diretamente os processos de rizosfera que aumentam a absorção e a assimilação de nutrientes (Dakora and Phillips 2002). No entanto, a compreensão dos reais mecanismos que estão por trás da dinâmica de ciclagem de cada elemento específico com o aumento na disponibilidade de C lábil ainda são limitados.

### **Biomassa e atividade microbiana**

Em oposição a nossa hipótese, não foi observado um efeito positivo em relação ao aumento na disponibilidade de C lábil e aumento na imobilização dos nutrientes pelos microrganismos em ambas as condições propostas. Pelo contrário, em estágios específicos do processo de decomposição, a disponibilização do ácido cítrico promoveu uma redução da imobilização de C e P na biomassa dos microrganismos. Em um dos poucos estudos realizados sobre a influência da disponibilidade de C lábil na decomposição da serapilheira, Chigineva *et al.* (2009) encontraram um efeito positivo da adição de sacarose na abundância dos microrganismos, no entanto, foi observado uma forte diminuição na taxa de decomposição da serapilheira.

Um aspecto importante é em relação a atividade metabólica dos microrganismos que em condições de energia limitada, a adição de substratos prontamente disponíveis leva a um aumento da atividade metabólica, permitindo que os microrganismos

produzam enzimas energeticamente caras capazes de degradar a matéria orgânica do solo (Kuzyakov *et al.* 2000), no entanto, com a adição dos compostos de C lábil também não foi registrado um aumento significativo na atividade das enzimas extracelulares responsáveis por degradar os principais compostos exigidos pelos microrganismos. Apesar de não encontrar resultados significativos, observamos alguns padrões relevantes na potencial atividade enzimática extracelular, principalmente no estágio inicial do processo de decomposição, o aumento na disponibilidade de C lábil, principalmente na forma de glicose, levou a um aumento na potencial atividade da  $\beta$ -glucosidase (BG) que é a enzima responsável por degradar a celulose. Mondini *et al.* (2006) avaliaram a adição de glicose em amostras de solos, e observaram um padrão similar, os autores sugeriram que o aumento na potencial atividade da BG pode indicar uma melhora no metabolismo extracelular ou possíveis reservas de energia. Por outro lado Heitkötter *et al.* (2017) em um experimento de incubação, onde foi avaliado a adição de ácido cítrico em amostras de solos obtidas de diferentes profundidades, observaram um aumento considerável na atividade da fosfatase com a adição de ácido cítrico em solos mais profundos. Os autores explicaram os resultados como um aumento na biodisponibilidade de P através da desestabilização da matéria orgânica do solo pela quebra de pontes polivalentes em metais do solo (Fe e Al) ocorridos com a adição do ácido cítrico. Resultados opostos foram observados no presente estudo em ambas as situações avaliadas, ou seja, com a presença ou ausência das raízes finas a adição de ácido cítrico de certa forma reduziu a potencial atividade da fosfatase. Jones (1998) afirmou que com a adição de ácidos orgânicos a liberação do P pode ocorrer naturalmente, através da troca de ligações diretas entre as moléculas de ácido e o P que está ligado a outros minerais, nesse sentido não necessitaria das enzimas extracelulares para realizar a hidrólise e mineralização do P, assim, faz sentido a adição de ácido cítrico reduzir a síntese da fosfatase, como o ocorrido no presente estudo. No entanto, é importante ressaltar que nós trabalhamos com serapilheira fresca, e não matéria orgânica do solo, a qual é mais estável e onde grande parte dos estudos considerando a adição de carbono lábil foi realizada. Obviamente mecanismos similares poderão responder de forma distinta em diferentes substratos. Nossos resultados sugerem que possivelmente ocorra um padrão diferente nos processos que regulam a decomposição da serapilheira fresca, já que poucos estímulos nos processos responsáveis por



promover a decomposição da serapilheira foram observados com o aumento na disponibilidade de C lábil.

## **CONCLUSÃO**

Em contradição a nossa hipótese, a maior disponibilidade de C lábil (exsudatos radiculares) não estimulou a decomposição da serapilheira e mineralização dos nutrientes. Com exceção do fósforo, onde, a adição de ácido cítrico promoveu uma redução em sua concentração total, o que indica uma maior liberação deste elemento da massa da serapilheira. Além disso a adição de compostos de C lábil não aumentou a imobilização de C na biomassa dos microrganismos, indicando que os microrganismos responsáveis por intermediar a decomposição da serapilheira não são limitados por energia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, J.M.; Ingram, J.S.I. 1993. Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. CAB International, Wallingford, Oxford, UK.
- Araújo, A.C.; Nobre, A.D.; Kruijt, B.; Elbers, J.A.; Dallarosa, R.; Stefani, P.; et al. 2002. Comparative measurements of carbon dioxide fluxes from two nearby towers in a central Amazonian rainforest: The Manaus LBA site. *Journal of Geophysical Research* 107: 1–20.
- Badri, D. V.; Vivanco, J.M. 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment* 32: 666–681.
- Barantal, S.; Schimann, H.; Fromin, N.; Hattenschwiler, S. 2012. Nutrient and Carbon Limitation on Decomposition in an Amazonian Moist Forest. *Ecosystems* 15: 1039–1052.
- Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. 67.
- Blagodatskaya, E.; Kuzyakov, Y. 2008. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. *Biology and Fertility of Soils* 45: 115–131.
- Blagodatskaya, E. V; Blagodatsky, S.A.; Anderson, T.H.; Kuzyakov, Y. 2007. Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. *Applied Soil Ecology* 37: 95–105.
- Chambers, J.Q.; Tribuzy, E.S.; Toledo, L.C.; Crispim, B.F.; Santos, J.; Araújo, A.C.; et al. 2004. Respiration from a Tropical Forest Ecosystem : Partitioning of Sources and Low Carbon Use Efficiency Published by : Ecological Society of America  
RESPIRATION FROM A TROPICAL FOREST ECOSYSTEM:  
PARTITIONING OF SOURCES AND LOW CARBON USE EFFICIENCY.  
*Ecological Applications* 14: 72–88.
- Chapin, F.S.I.; Matson, P.A.; Mooney, H.A. 2002. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. 219-229p.
- Chigineva, N.I.; Aleksandrova, A. V.; Tiunov, A. V. 2009. The addition of labile carbon

- alters litter fungal communities and decreases litter decomposition rates. *Applied Soil Ecology* 42: 264–270.
- Dakora, F.D.; Phillips, D.A. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil* 245: 35–47.
- DeForest, J.L. 2009. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and l-DOPA. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 1180–1186.
- Dieleman, W.I.J.; Luysaert, S.; Rey, A.; De Angelis, P.; Barton, C.V.M.; Broadmeadow, M.S.J.; et al. 2010. Soil [N] modulates soil C cycling in CO<sub>2</sub>-fumigated tree stands: A meta-analysis. *Plant, Cell and Environment* 33: 2001–2011.
- Fontaine, S.; Barot, S.; Barré, P.; Bdioui, N.; Mary, B.; Rumpel, C. 2007. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature* 450: 277–280.
- German, D.P.; Weintraub, M.N.; Grandy, A.S.; Lauber, C.L.; Rinkes, Z.L.; Allison, S.D. 2011. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1387–1397.
- Haichar, F. el Z.; Santaella, C.; Heulin, T.; Achouak, W. 2014. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry* 77: 69–80.
- Heitkötter, J.; Heinze, S.; Marschner, B. 2017. Relevance of substrate quality and nutrients for microbial C-turnover in top- and subsoil of a Dystric Cambisol. *Geoderma* 302: 89–99.
- Hütsch, B.W.; Augustin, J.; Merbach, W. 2002. Plant rhizodeposition - An important source for carbon turnover in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 397–407.
- Iversen, C.M. 2009. Digging deeper: Fine-root responses to rising atmospheric CO<sub>2</sub> concentration in forested ecosystems. *New Phytologist* 186: 346–357.
- Jones, D. 1998a. Organic acids in the rhizosphere &#x2013; a critical review - 02e7e537737bb95f68000000.pdf. *Plant and Soil* 205: 25–44.

- Jones, D.L. 1998b. Organic acids in the rhizosphere – a critical review. : 25–44.
- Jones, D.L.; Nguyen, C.; Finlay, R.D. 2009. Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil-root interface. *Plant and Soil* 321: 5–33.
- Kaiser, C.; Koranda, M.; Kitzler, B.; Fuchslueger, L.; Schweiger, P.; Rasche, F.; et al. 2010. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil. *New Phytologist* 187: 843–858.
- Kuzyakov, Y. 2002. Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 382–396.
- Kuzyakov, Y. 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1363–1371.
- Kuzyakov, Y.; Xu, X. 2013. Tansley review Competition between roots and microorganisms for nitrogen : mechanisms and ecological relevance. : 656–669.
- Kuzyakov, Y.; Blagodatskaya, E. 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry* 83: 184–199.
- Kuzyakov, Y.; Friedel, J.K.; Stahr, K. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1485–1498.
- Kuzyakov, Y.; Hill, P.W.; Jones, D.L. 2007. Root exudate components change litter decomposition in a simulated rhizosphere depending on temperature. *Plant and Soil* 290: 293–305.
- Lapola, D.M.; Norby, R.J. 2014. Amazon FACE: Assessing the effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> on the ecology and resilience of the Amazon forest. Science Plan & Implementation Strategy. .
- Lenth, M.R.; Love, J.; Herve, M. 2018. Package ‘ emmeans ’ R topics documented : 34: 216–221.
- Liu, X.J.A.; Sun, J.; Mau, R.L.; Finley, B.K.; Compson, Z.G.; van Gestel, N.; et al. 2017. Labile carbon input determines the direction and magnitude of the priming effect. *Applied Soil Ecology* 109: 7–13.

- Luizão, R.C.C.; Luizão, F.J.; Paiva, R.Q.; Monteiro, T.F.; Sousa, L.S.; Kruijt, B. 2004. Variation of carbon and nitrogen cycling processes along a topographic gradient in a central Amazonian forest. *Global Change Biology* 10: 592–600.
- Marx, M.C.; Wood, M.; Jarvis, S.C. 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1633–1640.
- McGroddy, M.E.; Silver, W.L.; Oliveira, R.C. De. 2004. The Effect of Phosphorus Availability on Decomposition Dynamics in a Seasonal Lowland Amazonian Forest. *Ecosystems* 7: 172–179.
- Mondini, C.; Cayuela, M.L.; Sanchez-Monedero, M.A.; Roig, A.; Brookes, P.C. 2006. Soil microbial biomass activation by trace amounts of readily available substrate. *Biology and Fertility of Soils* 42: 542–549.
- Murphy J; Riley JP. 1962. A MODIFIED SINGLE SOLUTION METHOD FOR THE DETERMINATION OF PHOSPHATE IN NATURAL WATERS. *Analytical Chemistry ACTA* 27: 31–36.
- Norby, R.J.; De Kauwe, M.G.; Domingues, T.F.; Duursma, R.A.; Ellsworth, D.S.; Goll, D.S.; et al. 2015. Viewpoint Model – data synthesis for the next generation of forest free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) experiments. *New Phytologist*.
- Philippot, L.; Raaijmakers, J.M.; Lemanceau, P.; Van Der Putten, W.H. 2013. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* 11: 789–799.
- Phillips, D.L.; Johnson, M.G.; Tingey, D.T.; Storm, M.J. 2009. Elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> effects on fine-root survivorship in ponderosa pine mesocosms. *Oecologia* 160: 827–837.
- Phillips, R.P.; Finzi, A.C.; Bernhardt, E.S. 2011. Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO<sub>2</sub> fumigation. *Ecology Letters* 14: 187–194.
- Qiao, N.; Xu, X.; Hu, Y.; Blagodatskaya, E.; Liu, Y.; Schaefer, D.; et al. 2016. Carbon and nitrogen additions induce distinct priming effects along an organic-matter decay continuum. *Scientific Reports* 6: 19865.

- Quesada, C.A.; Lloyd, J.; Anderson, L.O.; Fyllas, N.M.; Schwarz, M.; Czimczik, C.I. 2011. Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosciences* 8: 1415–1440.
- Saiya-Cork, K.; Sinsabaugh, R.; Zak, D.. 2002. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1309–1315.
- Smeck, N.E. 1985. Phosphorus dynamics in soils and landscapes. *Geoderma* 36: 185–199.
- Thomas, R.J.; Asakawa, N.M. 1993. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1351–1361.
- Vance, E.D.; Nadkarni, N.M. 1990. Microbial biomass and activity in canopy organic matter and the forest floor of a tropical cloud forest. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 677–684.
- Zhalnina, K.; Louie, K.B.; Hao, Z.; Mansoori, N.; Nunes da Rocha, U.; Shi, S.; et al. 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*. in press.

## Lista de figuras(capítulo II)

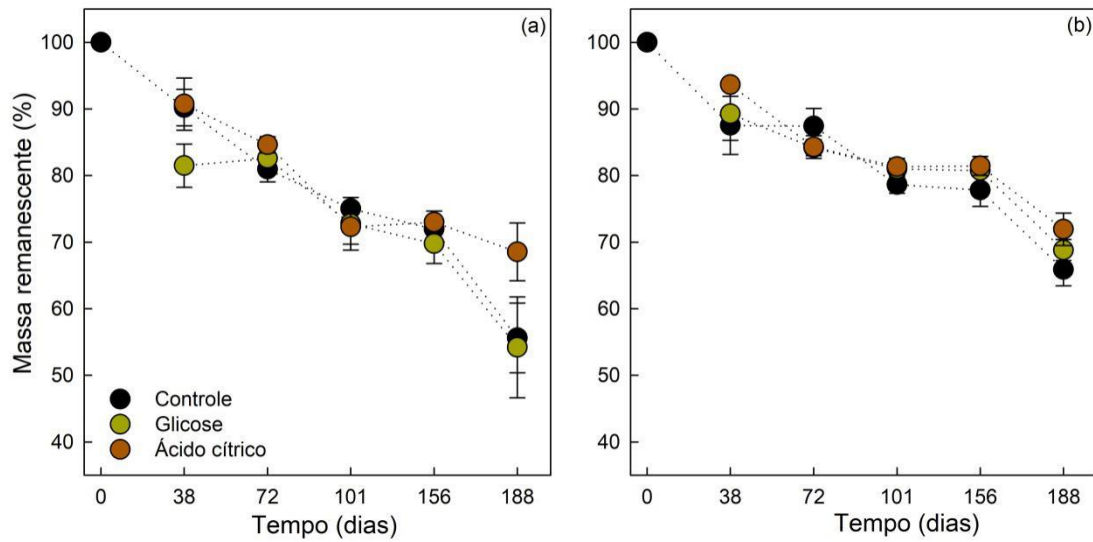


Figura 1 - Massa remanescente da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: a) Com a presença das raízes finas; b) Excluindo a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).

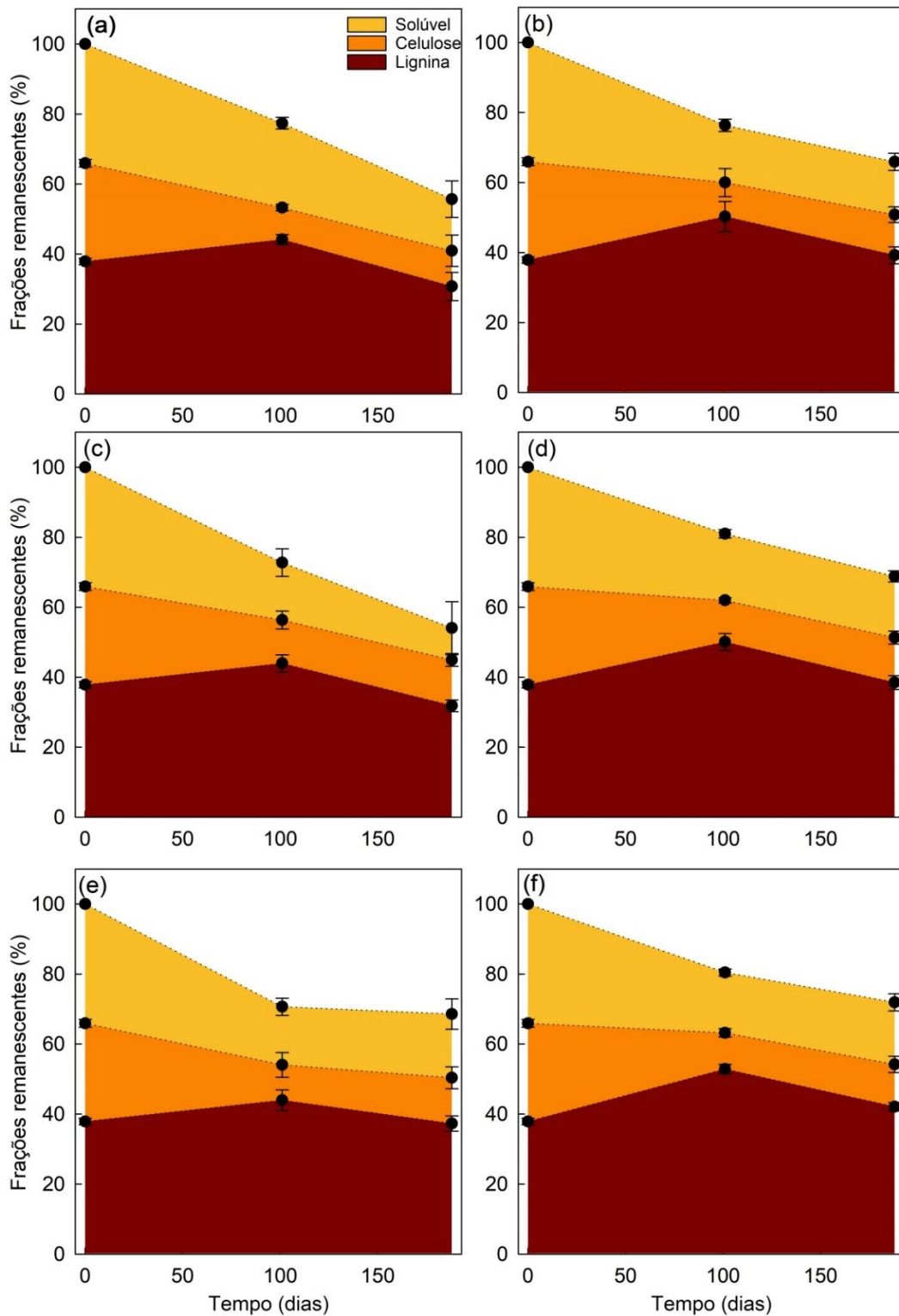


Figura 2 – Frações estruturais remanescentes na massa da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: a) controle com a presença das raízes finas; b) controle excluindo a presença das raízes finas; c) glicose com a presença das raízes finas; d) glicose excluindo a presença das raízes finas; e) Ácido cítrico com a presença das raízes finas; f) Ácido cítrico excluindo a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).



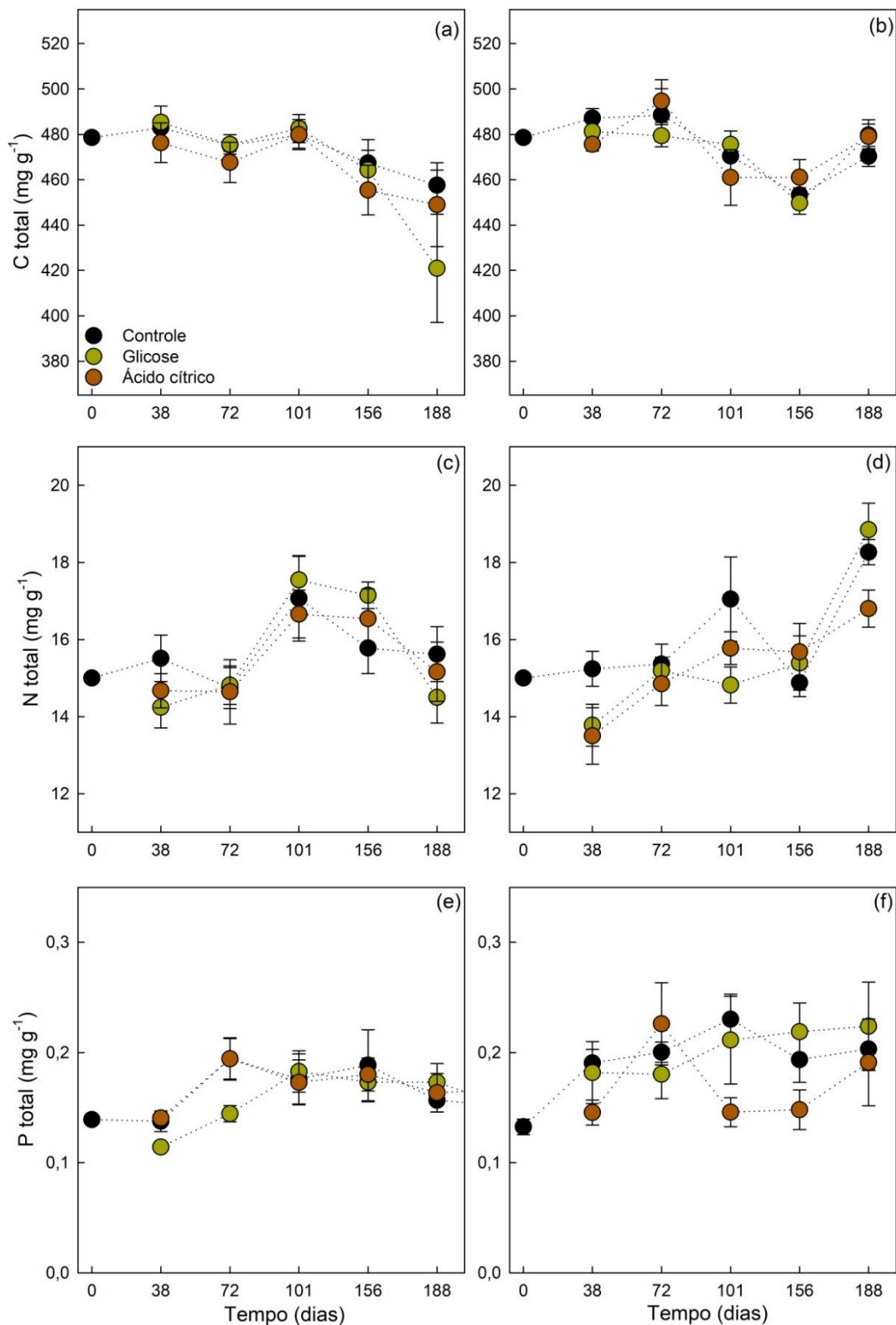


Figura 3– Concentração total dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) presentes na massa remanescente da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).

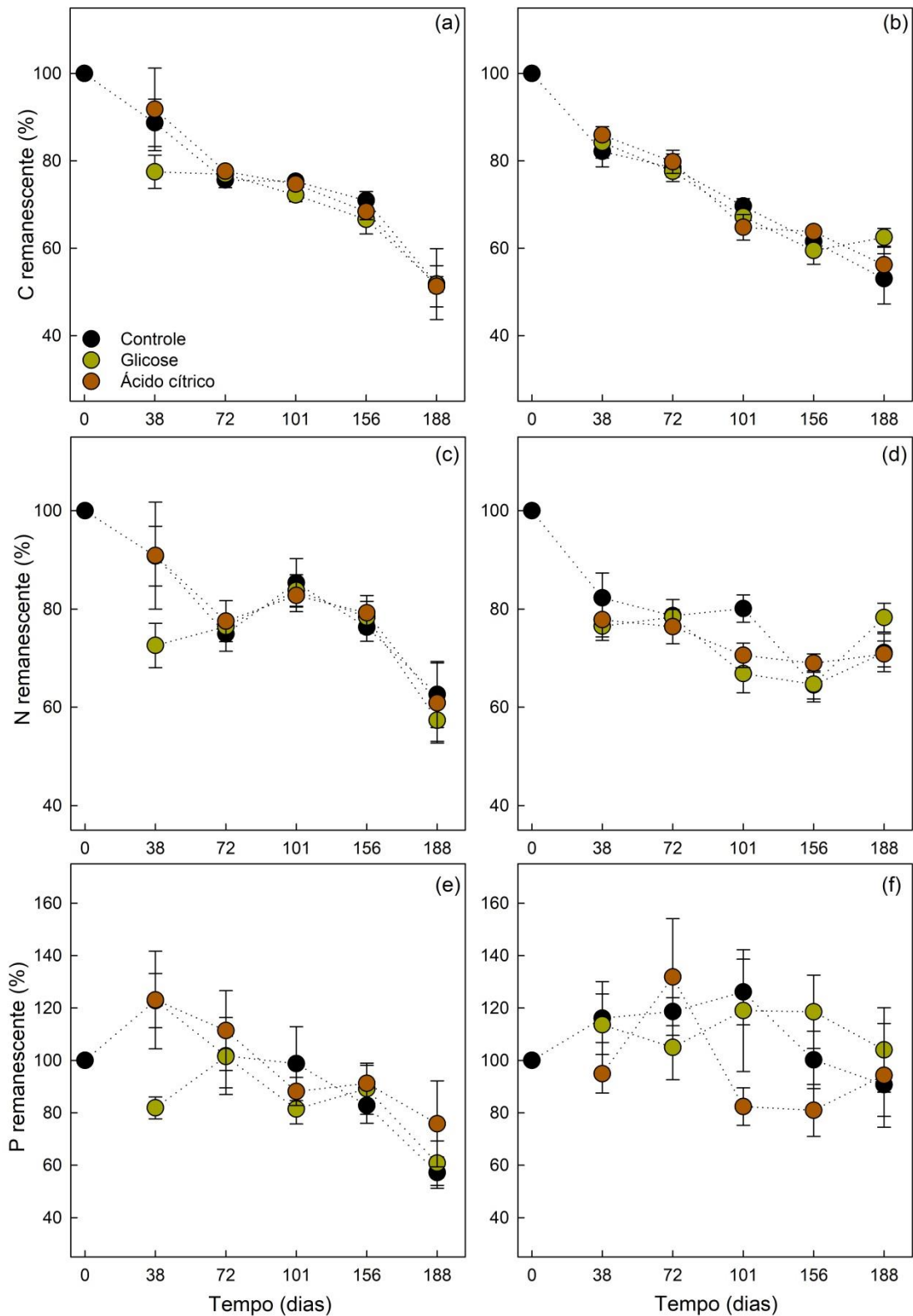


Figura 4 - Percentual remanescente dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) presentes na massa remanescente da serapilheira (folhas) ao longo do processo de decomposição, sob influência dos tratamentos (glicose, ácido cítrico) e o controle (água), em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).

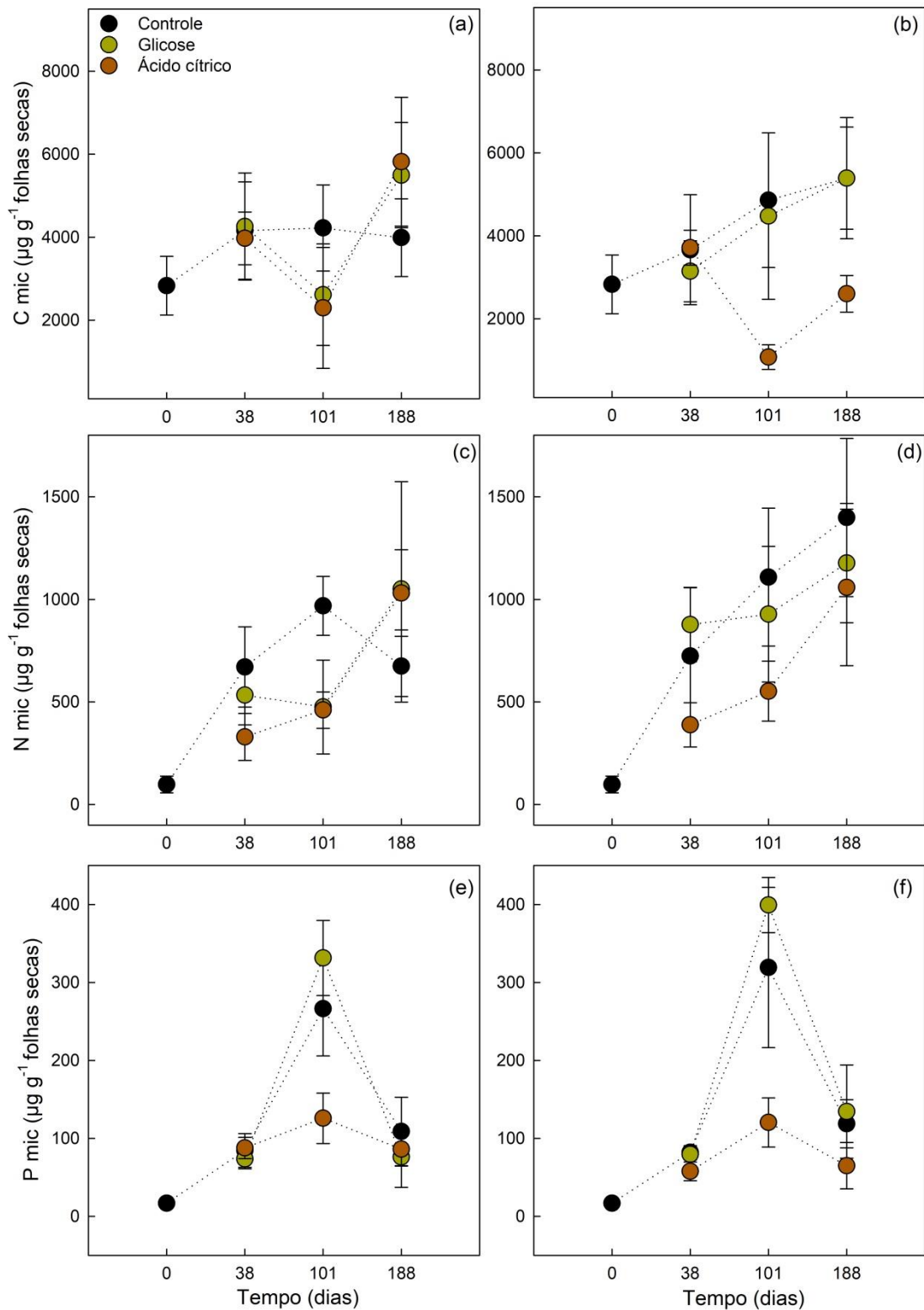


Figura 5 – Influência do aumento na disponibilidade de C lábil na imobilização de C, N e P na biomassa dos microrganismos presente na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).

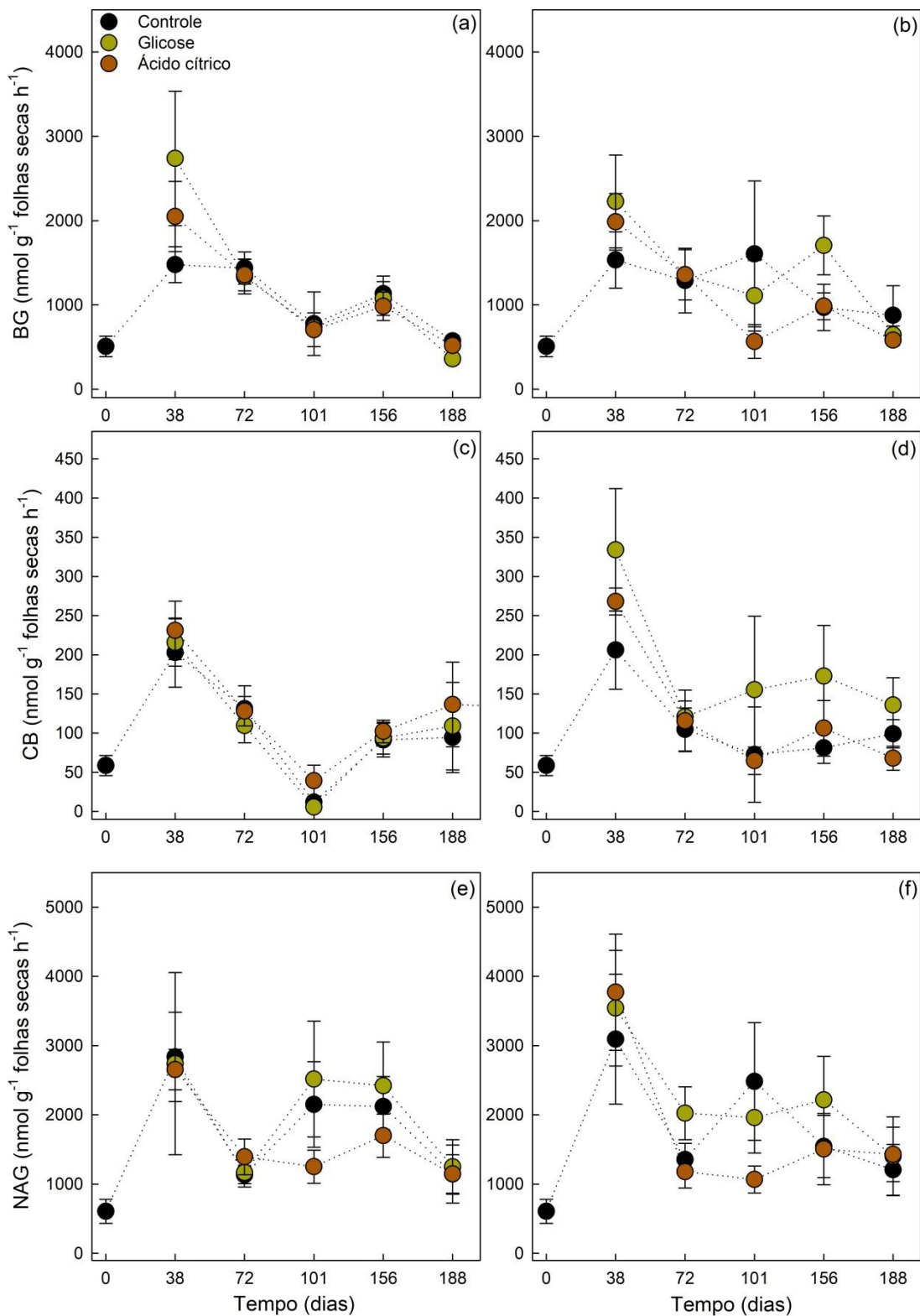


Figura 6 – Influência do aumento na disponibilidade de C lábil na atividade das enzimas extracelulares presente na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. CB= exoglucanase; BG=  $\beta$ -Glucosidase; NAG= exochitinase. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).

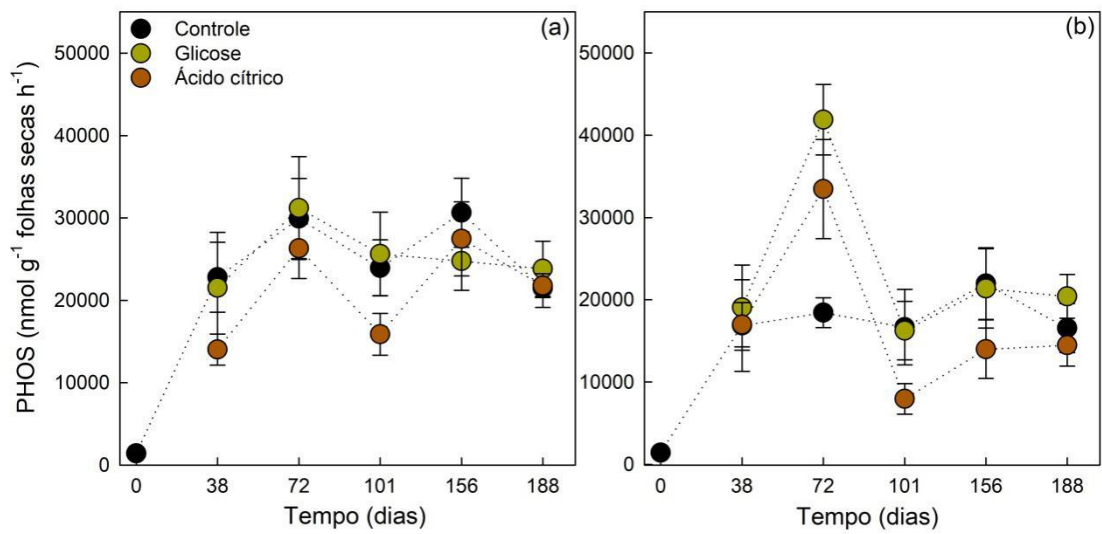


Figura 7 – Influência do aumento na disponibilidade de C lábil na atividade da enzima extracelulare fosfatase (PHOS) presente na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas diferentes condições: A direita as amostras com a presença das raízes finas; a esquerda as amostras onde foi excluído a presença das raízes finas. Os valores representam a média e o erro padrão (n=6).

## LISTA DE TABELAS – Capítulo II

Tabela 1- Caracterização química inicial da serapilheira composta apenas por folhas, SD= desvio padrão (n=6).

	Média	SD
Lignina (%)	37.87	± 2.20
Celulose (%)	28.06	± 1.06
C (%)	47.86	± 0.19
N (%)	1.5	± 0.02
P (mg g <sup>-1</sup> )	0.13	± 0.01
C:N molar	37.22	
C:P molar	9714.6	
Lignin:N (%)	25.2	
K (mg g <sup>-1</sup> )	0.9	± 0.16
Ca (mg g <sup>-1</sup> )	4.46	± 0.55
Mg (mg g <sup>-1</sup> )	1.6	± 0.05

Tabela 2– Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil nas frações estruturais remanescentes da serapilheira ao longo do processo decomposição em duas condições distintas (com raízes e sem raízes).Onde: MR= Massa remanescente da serapilheira; lábil = A diferença entre a massa remanescente da serapilheira e a soma das frações de celulose e lignina presente na massa remanescente da serapilheira; celulose= percentual de celulose presente na massa remanescente da serapilheira; lignina= percentual de lignina presente na massa remanescente da serapilheira.

	Modelo 1						Modelo 2 - Raízes						Modelo 3 - Sem raízes					
	Tratamentos		Condição		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
MR	5.38	**	28.73	***	1.87	ns	3.7	*	55.98	***	1.42	ns	4.8	*	89.31	***	0.99	ns
Lábil	0.88	ns	0.005	ns	1.36	ns	1.45	ns	133.104	***	5.05	**	0.07	ns	322.23	***	3.13	*
Celulose	3.33	*	0.02	ns	0.39	ns	2.67	0.08	247.14	***	1.05	ns	0.8	ns	200.35	***	0.268	ns
Lignina	4.62	*	16.32	***	0.03	ns	2.22	ns	48.44	***	1.56	ns	4.76	*	56.63	***	2.16	0.09

Resultados dos modelos lineares mistos (LMM), Onde: Os tratamentos representam os compostos de glicose, ácido cítrico e controle (água), as condições representam duas diferentes condições em que as amostras foram submetidas (Com a presença das raízes finas, excluindo a presença das raízes finas). Para o modelo I foi considerado como variável resposta as diferentes frações remanescentes nas duas condições (com raízes, sem raízes), os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II como variável resposta foi considerado as diferentes frações remanescentes das amostras com raízes e o modelo III representa as diferentes frações remanescentes das amostras sem raízes, para ambos os modelos (II e III) apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P< 0.001, . P<0.1, ns= não significativo, n=6).

Tabela 3 - Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil na concentração total e percentual remanescente dos elementos carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) ao longo do processo de decomposição da serapilheira em duas condições distintas, determinados por diferentes modelos mistos lineares (LMMs).

	Modelo 1						Modelo 2 - Raízes						Modelo 3 - Sem raízes					
	Tratamentos		Condição		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
C (mg g <sup>-1</sup> )	1.46	ns	0.21	ns	0.25	ns	0.71	ns	8.72	***	0.43	ns	0.26	ns	2.63	*	0.60	ns
N (mg g <sup>-1</sup> )	1.30	ns	0.37	ns	0.59	ns	0.18	ns	5.97	***	0.72	ns	0.86	ns	10.49	***	1.06	ns
P (mg g <sup>-1</sup> )	1.78	ns	6.12	*	2.82	*	0.51	ns	3.04	*	0.43	ns	2.45	ns	4.09	**	1.09	ns
C (%)	0.77	ns	1.49	ns	0.88	ns	1.18	ns	51.07	***	0.63	ns	0.09	ns	96.64	***	1.1684	*
N (%)	1.24	ns	4.71	*	0.52	ns	1.23	ns	21.15	***	0.9	ns	0.86	ns	50.45	***	1.52	ns
P (%)	0.51	ns	0.14	ns	0.44	ns	0.28	ns	791	***	0.54	ns	0.07	ns	2.13	*	0.72	ns

Concentração total dos nutrientes (mg g<sup>-1</sup>), percentual remanescente (%). Onde: Os tratamentos representam os compostos de glicose, ácido cítrico e controle (água), as condições representam duas diferentes condições em que as amostras foram submetidas (Com a presença das raízes finas, excluindo a presença das raízes finas). Para o modelo I foi considerado como variável resposta o percentual remanescente ou concentração total dos nutrientes nas duas condições (com raízes, sem raízes), os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II como variável resposta foi considerado o percentual remanescente ou concentração total dos nutrientes das amostras com raízes e o modelo III representa a o percentual remanescente ou concentração total dos nutrientes das amostras sem raízes, para ambos os modelos (II e III) apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P< 0.001, . P<0.1, ns= não significativo, n=6).



Tabela 4 - Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil na biomassa microbiana composta por C, N e P e potencial atividade das enzimas extracelulares presentes na serapilheira ao longo do processo de decomposição, em duas condições distintas, determinados por diferentes modelos mistos lineares (LMMs).

	Modelo 1						Modelo 2 - Raízes						Modelo 3 - Sem raízes					
	Tratamentos		Condição		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	P	F
C mic	1.79	ns	0.50	ns	0.91	ns	0.42	ns	3.74	*	1.06	ns	2.77	*	1.08	ns	1.22	ns
N mic	1.68	ns	3.26	*	0.42	ns	0.28	ns	5.62	**	1.09	ns	0.68	ns	18.87	***	0.36	ns
P mic	3.17	*	0.01	ns	0.82	ns	1.51	ns	12.09	***	1.44	ns	2.67	*	15.65	***	0.84	ns
CB	0.56	ns	1.67	ns	1.08	ns	1.14	ns	5.07	***	0.93	ns	2.57	*	11.88	***	0.75	ns
BG	0.97	ns	0.13	ns	0.53	ns	0.04	ns	11.60	***	0.36	ns	0.71	ns	6.99	***	0.23	ns
NAG	0.52	ns	0.09	Ns	0.48	ns	0.66	ns	7.37	***	0.35	ns	0.92	ns	11.21	***	0.61	ns
PHOS	2.84	*	12.80	***	1.39	ns	1.42	ns	119.36	***	0.54	ns	2.79	*	65.35	***	1.21	ns

Os tratamentos representam os compostos de glicose, ácido cítrico e controle (água), as condições representam duas diferentes condições em que as amostras foram submetidas (Com a presença das raízes finas, excluindo a presença das raízes finas). Para o modelo I foi considerado como variável resposta a biomassa dos microrganismos e potencial atividade enzimática extracelular nas duas condições (com raízes, sem raízes), os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II como variável resposta foi considerado biomassa dos microrganismos e potencial atividade enzimática extracelular das amostras com raízes e o modelo III representa biomassa dos microrganismos e potencial atividade enzimática extracelular das amostras sem raízes, para ambos os modelos (II e III) apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P< 0.001, . P<0.1, ns= não significativo, n=6).

## Material suplementar – Capítulo II

Tabela S2 – Efeito do aumento na disponibilidade de C lábil na concentração total e percentual remanescente dos elementos potássio (K), cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) ao longo do processo de decomposição da serapilheira em duas condições distintas, determinados por diferentes modelos mistos lineares (LMMs).

	Modelo 1						Modelo 2 - Raízes						Modelo 3 - Sem raízes					
	Tratamentos		Condição		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação		Tratamentos		Tempo		Interação	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	P	F
K (mg g <sup>-1</sup> )	0.13	ns	11.44	***	2.07	ns	4.81	**	2.79	*	1.06	ns	0.35	ns	1.50	ns	0.89	ns
Ca (mg g <sup>-1</sup> )	0.11	ns	16.71	***	1.03	ns	0.70	ns	2.10	ns	0.30	ns	0.27	ns	16.54	***	0.65	ns
Mg (mg g <sup>-1</sup> )	0.35	ns	54.47	***	0.53	ns	0.58	ns	3.25	***	1.17	ns	0.37	ns	8.97	***	0.60	ns
K (%)	1.50	ns	2.80	*	0.36	ns	0.99	ns	4.55	***	0.43	ns	0.32	ns	7.24	***	1.55	ns
Ca (%)	0.55	ns	1.12	ns	0.98	ns	0.05	ns	25.01	***	1.46	ns	1.64	ns	8.63	***	0.37	ns
Mg (%)	0.57	ns	1.36	ns	1.12	ns	1.47	ns	53.49	***	0.33	ns	0.89	ns	81.01	***	0.93	ns

Concentração total dos nutrientes (mg g<sup>-1</sup>), percentual remanescente (%). Onde: Os tratamentos representam os compostos de glicose, ácido cítrico e controle (água), as condições representam duas diferentes condições em que as amostras foram submetidas (Com a presença das raízes finas, excluindo a presença das raízes finas). Para o modelo I como foi considerado como variável resposta a massa remanescente nas duas condições (com raízes, sem raízes), os blocos (n=6), e o tempo (dias de incubação) foram controlados como variáveis aleatórias. Modelo II como variável resposta foi considerado a massa remanescente das amostras com raízes e o modelo III representa a massa remanescente das amostras sem raízes, para ambos os modelos (II e III) apenas os blocos foram controlados como variáveis aleatórias (Os asteriscos marcam o nível de significância: \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P< 0.001, . P<0.1, ns= não significativo, n=6).

## SÍNTESE

A proposta do presente estudo foi avaliar se a presença das raízes finas estimula os processos responsáveis por intermediar a decomposição da serapilheira. Além disso, simulamos um aumento na alocação de C para o solo, na forma de exsudatos radiculares com o objetivo de verificar se o possível estímulo das raízes finas na decomposição da serapilheira está relacionado principalmente com o aumento na disponibilidade de energia para a comunidade microbiana.

No capítulo I, a decomposição da serapilheira foi avaliada em condições naturais, onde as raízes finas poderiam se estabelecer na serapilheira e em condições controladas, excluindo totalmente o estabelecimento das raízes na serapilheira. Observamos uma maior decomposição com a presença das raízes finas, além disso, a mineralização do P e a potencial atividade da fosfatase foram reduzidas quando as raízes foram excluídas. Demonstrando que os processos relacionados a mineralização do P foram estimulados com a presença das raízes finas. No entanto, metodologicamente não conseguimos diferenciar se os estímulos causados pela presença das raízes finas estão relacionados à efeitos físicos (fragmentação), competição por recursos entre as raízes e os microrganismos ou um efeito bioquímico, que nesse caso seria a falta de energia para a decomposição microbiana na ausência das raízes.

No capítulo II, para tentar compreender se o efeito da presença das raízes finas no processo de decomposição está relacionado principalmente com o efeito bioquímico, foi simulada a exsudação de compostos de C lábil pelas raízes finas, aumentando em aproximadamente 10% as concentrações de C presente na serapilheira. Os compostos de C foram adicionados nas formas de glicose e ácido cítrico, além do controle (água), nas duas condições distintas testadas no capítulo I. Ou seja em amostras que permitiu o estabelecimento das raízes finas, e amostras que excluiu a presença das raízes. Não observamos um efeito positivo em relação ao aumento da disponibilidade de C lábil e a decomposição da serapilheira, pelo contrário quando foi adicionado ácido cítrico houve uma redução na perda de massa. A adição de ácido cítrico também reduziu a atividade da enzima fosfatase e a imobilização de P na biomassa dos microrganismos. No entanto, nas mesmas condições a adição de ácido cítrico promoveu a liberação direta de P.

Os resultados demonstraram que as raízes finas são de grande importância para a decomposição da serapilheira, no entanto, esse efeito positivo não se mostrou relacionado com a maior disponibilização de C lábil (exsudatos). Como a serapilheira é um material fresco e mais solúvel, com maior percentual de compostos de C fáceis de serem degradados e um percentual menor de compostos mais recalcitrantes, a comunidade microbiana não necessariamente precisa de energia extra pra realizar a degradação do material. Considerando que grande parte da ciclagem de nutrientes nas florestas tropicais se dá através da decomposição da serapilheira, acreditamos que em um cenário de fertilização por CO<sub>2</sub> as respostas em relação a limitação de nutrientes pode ser diferente das situações relatadas anteriormente em florestas temperadas. Sugerimos que a camada espessa de raízes finas presente na serapilheira pode acelerar a dinâmica da ciclagem de nutrientes, no entanto, outros estudos devem ser realizados para compreender os mecanismos envolvidos. Além disso, a presença das raízes pode promover a liberação de P diretamente, através da exsudação de enzimas fosfatases, ou até mesmo com a exsudação de ácidos orgânicos, sendo esses um dos principais mecanismos que pode superar a limitação de P em condições de CO<sub>2</sub> elevado.