

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E COMUNICAÇÃO - MCTIC
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE FLORESTAS TROPICAIS-PPG-CFT

**DINÂMICA DE NITROGÊNIO NO CONTÍNUO SOLO-PLANTA EM
ÁREA ALTERADA E CULTIVADA COM FABACEAE ARBÓREAS
SUBMETIDAS À FERTILIZAÇÃO MINERAL**

LUÍS OCTÁVIO VIEIRA PEREIRA

Manaus

2017

LUÍS OCTÁVIO VIEIRA PEREIRA

**DINÂMICA DE NITROGÊNIO NO CONTÍNUO SOLO-PLANTA EM
ÁREA ALTERADA E CULTIVADA COM FABACEAE ARBÓREAS
SUBMETIDAS À FERTILIZAÇÃO MINERAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências de Florestas Tropicais (PPG-CFT) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências de Florestas Tropicais com área de concentração em Manejo Florestal.

ORIENTADOR: Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves

Manaus

2017

P436

Pereira, Luis Octávio Vieira

Dinâmica de nitrogênio no contínuo solo-planta em área alterada e cultivada com à fertilização mineral /Luis Octávio Vieira Pereira .
--- Manaus: [s.n.], 2017.

68 f.: il.

Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2017.
Orientador: José Francisco de Carvalho Gonçalves
Área de concentração: Ciências de Florestas Tropicais

1. Fabaceae arbóreas . 2. Recuperação da floresta . 3. Compostos nitrogenados . I. Título.

CDD 583.74

Sinopse: Atributos ecofisiológicos de seis espécies arbóreas da família Fabaceae (*C. fairchildiana*, *A. mangium*, *C. tocantinum*, *S. reticulata*, *D. odorata* e *I. edulis*) cultivadas em área degradada e sob regime de fertilização foram estudados sob a perspectiva do transporte, assimilação, particionamento e alocação das formas de nitrogênio mineral absorvidos (NH_4^- e NO_3^+), bem como o efeito da fertilização nas estratégias de assimilação e alocação de N inorgânico foi analisado para as espécies *A. mangium* e *D. odorata*. Aspectos como formas minerais de nitrogênio no solo, teores de nitrato e de amônio nas folhas, atividade foliar da redutase do nitrato, teores de proteínas foliares solúveis e pigmentos cloroplastídicos, teor de nitrogênio total e fotossíntese máxima foram avaliados.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado bem como toda minha vida à Regina de Fátima Vieira, minha mãe, por seu apoio incansável, conselhos sábios, exemplo austero e amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, instituição em que eu me graduei,

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, por tornar possível a realização deste estudo,

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa,

Ao meu orientador, Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves, pela orientação, ensinamentos e exemplo acadêmico,

À minha mãe pelo amparo e amor em todos os momentos,

Aos meus amigos e familiares pela preocupação e apoio,

A todos os professores que já passaram pela minha vida, pois não teria chegado aqui sem eles,

À Helena Machado, Deize Matos, Gilliane Cardoso, Diego Aguiar e Amanda Arcos, por tornarem meus dias em Manaus mais fáceis,

À Joelma Rodrigues, Josiane de Carvalho, Maquella Garcia, Nayara Fonseca, Paulo Abraão, Roberto Kimayr e demais integrantes do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal do INPA, que ajudaram na realização deste trabalho.

Muito obrigado a todas as pessoas que de maneira direta ou indireta contribuíram para a conclusão desta dissertação de mestrado

RESUMO

Estimativas recentes dão conta que um quinto da cobertura florestal da Amazônia Legal foi bastante alterada e apesar das taxas de desmatamento flutuarem elas têm se mantido crescentes e, por conseguinte, estimulam o crescimento das áreas degradadas. Espécies da família Fabaceae têm sido indicadas para recuperação de áreas alteradas devido a características funcionais como alta rusticidade, fixação de nitrogênio (N), rápido crescimento e grande produção de biomassa. Um fato importante é que somente algumas dessas espécies são capazes de fixar nitrogênio atmosférico, característica que merece destaque, uma vez que em áreas tropicais degradadas este elemento pode se tornar fator limitante para o estabelecimento e crescimento vegetal. Neste sentido, foram estudadas as diferenças interespecíficas no particionamento, assimilação e alocação de nitrogênio mineral de seis espécies da família Fabaceae (*C. fairchildiana*, *A. mangium*, *C. tocaninum*, *S. reticulata*, *D. odorata* e *I. edulis*) cultivadas em área degradada cuja disponibilidade de nutrientes no solo foi elevada via fertilização mineral. Além disso, avaliaram-se diferenças intraespecíficas no particionamento, assimilação e alocação de nitrato e amônio nas espécies *A. mangium* e *D. odorata* quando cultivadas com e sem fertilização. O experimento foi instalado em área da Usina Hidrelétrica Balbina (UHE – Balbina) no município de Presidente Figueiredo, AM. Das seis espécies estudadas três são capazes de fixar N; *A. mangium*, *C. fairchildiana* e *I. edulis*; enquanto a outra metade; *S. reticulata*, *D. odorata* e *C. tocaninum*; não fixam. As variáveis analisadas foram NH_4^+ e NO_3^- no solo, na raiz, na folha e na seiva, atividade radicular e foliar da redutase do nitrato, eficiência no uso do nitrogênio, produção de nódulos, teores de pigmentos cloroplásticos foliares e proteínas solúveis. As estratégias de particionamento e assimilação de nitrogênio mineral variaram especificamente sem separação por grupo funcional. O teor de proteínas foi maior em todas as espécies nodulíferas. A eficiência no uso de nitrogênio foi correlacionada à capacidade fotossintética, mas não ao teor total de nitrogênio foliar. A espécie *C. fairchildiana* apresentou produção de nódulos inferior às demais espécies nodulíferas. A espécie *A. mangium* exibiu estratégia similar de particionamento e assimilação de nitrato quando cultivada com e sem aplicação de fertilizantes, embora a fertilização tenha estimulado a produção de nódulos. A espécie *D. odorata* variou sua estratégia de assimilação nitrato quando fertilizada e acumulou mais nitrato nas raízes e folhas quando não fertilizada.

Palavras-chave: Fixação biológica de N, Compostos nitrogenados e Recuperação de áreas.

ABSTRACT

According to recent estimates, one-fifth of Legal Amazon forest cover has been intensely altered, and although deforestation rates fluctuate, they have remained growing and consequently have promoted forest degradation. Species of the Fabaceae family have been indicated for the recovery of altered areas due to functional characteristics such as rusticity, biological nitrogen fixation, fast growing and great biomass production. An important fact is that only some of these species are able to fix atmospheric nitrogen, a feature that deserves attention given that in degraded tropical areas this element can become a limiting factor to plant establishment and growth. In this sense, we studied the interspecific differences in the mineral nitrogen partitioning, assimilation and allocation in six Fabaceae species cultivated on a degraded area where soil nutrient availability was increased by fertilizer application. In addition, intraspecific differences in nitrate and ammonium partitioning, assimilation and allocation were evaluated in *A. mangium* and *D. odorata* species cultivated with and without fertilization. The experiment was installed in an area around the Balbina Hydroelectric Power Plant (HPP - Balbina) in the municipality of Presidente Figueiredo, AM. Of all six evaluated species, three are able to perform biological nitrogen fixation (*A. mangium*, *C. fairchildiana* and *I. edulis*) while the other half (*S. reticulata*, *D. odorata* and *C. tocaninum*) are not. The variables analyzed were soil, root, leaf and sap NH_4^+ and NO_3^- contents; root and leaf nitrate reductase activity; nitrogen use efficiency, nodule production amount of leaf chloroplastidic pigments and soluble proteins. The strategies of partitioning and assimilation of mineral nitrogen varied specifically without grouping by functional traits. Protein content was higher in all noduliferous species. Nitrogen efficiency was correlated with photosynthetic capacity, but not with total leaf nitrogen content. *C. fairchildiana* species showed lower nodule production than the other noduliferous species. *A. mangium* cultivated with and without fertilizer application exhibited similar strategy of partitioning and assimilation of nitrate, although fertilization stimulated nodule production. *D. odorata* changed its nitrate assimilation strategy when fertilized and accumulated more nitrate in roots and leaves when it was not fertilized.

Keywords: Biological nitrogen fixation, Nitrogen compounds and Recovery of degraded areas.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO I.....	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Caracterização e histórico da área de estudo.....	19
3.2 Instalação do experimento.....	20
3.3 Coleta e análises de solo.....	22
3.3.1 Coleta do solo	22
3.3.2 Extração do N mineral do solo (NO_3^- E NH_4^+).....	22
3.3.3 Determinação quantitativa do nitrato (NO_3^-) do solo	23
3.3.4 Determinação quantitativa do amônio (NH_4^+) do solo	23
3.4 Coleta e análises do material vegetal	23
3.4.1 Coleta de folhas e raízes para análise dos compostos nitrogenados	23
3.4.2 Extração de compostos nitrogenados.....	24
3.4.3 Determinação de nitrato (NO_3^-) em folhas e raízes	24
3.4.4 Determinação de amônio (NH_4^+) em folhas e raízes	24
3.4.5 Coleta de seiva do xilema para análise dos compostos nitrogenados.....	25
3.4.6 Determinação de nitrato (NO_3^-) na seiva do xilema	25
3.4.7 Determinação de amônio (NH_4^+) na seiva do xilema	25
3.4.8 Determinação de proteínas solúveis em folhas e raízes.....	26
3.4.9 Determinação “in vivo” da atividade da enzima redutase do nitrato (Rdn) em folhas e raízes	26
3.4.10 Determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos.	27
3.4.11 Determinação do teor de nitrogênio foliar total.....	27
3.4.12 Determinação da eficiência no uso de nitrogênio	27
3.4.13 Estimativa da nodulação	28
3.5 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	28

4. RESULTADOS	30
4.1 Nitrogênio no solo	30
4.2 Nitrogênio na planta	30
5. DISCUSSÃO	38
5.1 Nitrogênio no solo	38
5.2 Nitrogênio na planta	38
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO II	52
1. INTRODUÇÃO	53
2. OBJETIVOS	55
3. MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1 Caracterização e histórico da área e instalação do experimento.	55
3.2 Coleta e análises de solo.....	56
3.3 Coleta e análises do material vegetal	56
3.4 Delineamento experimental.....	56
4. RESULTADOS	57
4.1 Nitrogênio no solo	57
4.2 Nitrogênio na planta	58
5. DISCUSSÃO	60
5.1 Nitrogênio no solo	60
5.2 Nitrogênio na planta	61
6. CONCLUSÃO	62
7. REFERÊNCIAS	63
CONCLUSÃO GERAL	68

INTRODUÇÃO GERAL

O modelo desenvolvimentista implantado nas últimas décadas na Amazônia brasileira é constituído de iniciativas agrícolas, pecuárias, mineração e extrativismo predatórios, entre outras práticas pouco sustentáveis. Isso tem implicado enorme passivo ambiental e já causou a descaracterização ou degradação de aproximadamente 20% da cobertura florestal original deste bioma (Davidson et al. 2012). Sistemas de produção tais como pastagens e culturas agrícolas, têm ocupado grandes áreas na região (Barona et al. 2010; Soito e Freitas 2011; Davidson et al. 2012; Asner et al. 2013). Como resultado, as condições edafoclimáticas das áreas alteradas diferem bastante das condições originais, uma vez que a remoção da floresta causa o aumento da incidência de luz e da temperatura, aliado à redução da umidade, da matéria orgânica e de nutrientes no solo. Esse conjunto de alterações desfavorece, assim, o estabelecimento inicial da maioria das espécies, em especial durante os estágios iniciais de crescimento e de desenvolvimento das plantas (Parrotta et al. 1997; Gonçalves et al. 2005a; Santos Junior et al. 2006; Ponette-González et al. 2016).

No que se refere à fertilidade dos solos e, em particular, na contribuição de cada nutriente mineral para a estabilidade do ciclos biogeoquímicos, o nitrogênio (N) é reconhecido como fator determinante no funcionamento de ecossistemas terrestres com implicações diretas sobre o crescimento e desempenho metabólico de indivíduos e espécies (Stewart et al. 1992; Aider et al. 2003; Omena-garcia et al. 2015; Hasselquist et al. 2016; Reis et al. 2016; Sponseller et al. 2016) e, geralmente, não é apontado como um fator limitante em florestas tropicais primárias (Vitousek 1986; Hedin et al. 2009; Brookshire et al. 2012a, 2012b; Alvarez-Clare et al. 2013; Taylor et al. 2015). Entretanto, em áreas alteradas intensificam-se as perdas e reduz-se a disponibilidade do nitrogênio no solo. Isso acontece devido à dinâmica do N, o que pode torná-lo fator limitante para o crescimento e desenvolvimento da vegetação secundária em processo de regeneração (Gehring et al. 1999; Davidson et al. 2004; Batterman et al. 2013). Isto ocorre devido à alta demanda desse nutriente essencial, tanto para estrutura quanto para as diferentes funções que o N assume na síntese dos monômeros de aminoácidos e, por conseguinte, de proteínas, além da estrutura dos ácidos nucléicos, alcaloides e de outras moléculas indispensáveis aos processos metabólicos dos organismos vegetais (Vitousek 2011; Brookshire e Thomas 2013; Webster et al. 2016).

As plantas absorvem nitrogênio do solo, proveniente da decomposição da matéria orgânica e deposição atmosférica, nas formas nítrica (NO_3^-) e amoniacal (NH_4^+), contudo, algumas espécies são capazes de absorvê-lo também na forma de aminoácidos (Paungfoo-Lonhienne et al. 2008). À luz da fixação biológica de nitrogênio outra questão muito relevante no estudo da dinâmica de N é a distribuição das formas de N no solo (NO_3^- ou NH_4^+). As concentrações de nitrato e de amônio nos solos variam em função de características biogeoquímicas dos mesmos dentre as quais se destacam a umidade, a razão entre carbono e nitrogênio e a acidez do solo (Houlton et al. 2007; Zhang et al. 2013; Wang et al. 2015; Yang et al. 2017; Zhan et al. 2017). Além disso, a quantidade de nitrogênio disponível no solo está relacionada com a representatividade de espécies fixadoras de nitrogênio da família Fabaceae, que em florestas neotropicais é estimada em 10% da abundância e área basal total das espécies arbóreas (ter Steege et al. 2006; Batterman et al. 2013; Menge et al. 2014; Sullivan et al. 2014). Fabaceae apresenta em média teores de nitrogênio foliar superiores às demais famílias botânicas (Craine et al. 2009; Fyllas et al. 2009; Asner et al. 2014; Adams et al. 2016). O nitrogênio fixado nesta associação simbiótica entre bactérias e Fabaceae beneficia plantas de outras famílias, as quais podem absorvê-lo após a mineralização da matéria orgânica rica em nitrogênio proveniente do processo de fixação biológica (Rogers et al. 2009; Carnicer et al. 2015; Hu et al. 2017), em função das peculiaridades energéticas, bioquímicas e moleculares entre as moléculas de NO_3^- e NH_4^+ seus efeitos metabólicos nos vegetais são distintos (Luo et al. 2013) afetando a capacidade de diferentes espécies de plantas em absorvê-las (Bown et al. 2010). A preferência dos vegetais na absorção de nitrato e amônio está relacionada, com a forma mais abundante na solução do solo no local de crescimento da planta e características próprias das espécies. Entretanto, a maioria das espécies se desenvolve melhor em ambiente que haja disponibilidade de ambos as formas nitrogenadas (McKane et al. 2002; Bown et al. 2010; Song et al. 2015; Xiaochuang et al. 2015; Piao et al. 2017; Uscola et al. 2017).

Estudos ecofisiológicos indicam relações entre as características de aquisição, transporte, estocagem e assimilação de N em plantas e o estágio sucessional a que pertencem. Contudo, informações sobre esta temática para plantios florestais em áreas alteradas ainda são bastante difusos e algumas vezes controversos (Stewart et al. 1988; Pate et al. 1993; Aider et al. 2003; Metcalfe et al. 2011). Na literatura tem sido verificado que espécies, mesmo capazes de realizar a associação simbiótica não a estabelecem quando existe a disponibilidade de nitrogênio mineral

no solo, suprimindo desta fonte sua demanda. No entanto, o mecanismo metabólico que motiva a preferência pela absorção de nitrogênio do solo em detrimento à fixação simbiótica e, os mecanismos que possibilitam a tolerância do sistema simbiótico à existência de fontes alternativas de compostos nitrogenados, ainda não são totalmente conhecidos (Bollman e Vessey 2006; Weber et al. 2007; Glyan'ko et al. 2009; Heath et al. 2010; Britto e Kronzucker 2013; Justino et al. 2017).

Em espécies arbóreas, os metabolismos do nitrogênio e do carbono são considerados fatores determinantes para o acúmulo de biomassa (Lawlor 2002). O fato é que, os metabolismos do N e do C estão intrinsecamente relacionados, uma vez que a energia gerada pelos produtos da fotossíntese e na oxidação de açúcares é demandada na absorção, redução e fixação do N; e a capacidade das plantas em assimilar carbono varia bastante em função do conteúdo de N foliar (Pasquini e Santiago 2012). O fornecimento de nitrogênio mineral estimula o incremento em área foliar em algumas espécies (Helali et al. 2010; Andrews et al. 2013). Por sua vez, a área foliar específica está correlacionada à concentração de N foliar, assimilação de carbono, produção de tecidos fotossintetizantes e, conseqüentemente, ao aumento das taxas fotossintéticas (Konnerup e Brix 2010; Bloom et al. 2012). No processo fotossintético parte do nitrogênio foliar é alocado para síntese de proteínas e de pigmentos cloroplastídicos que participam do processo de captura de energia, sendo parte, por exemplo, dos complexos-antena, estruturas envolvidas com a cadeia transportadora de elétrons e com a fixação de carbono. Desta forma, de um lado a captura de fótons pelas moléculas de clorofilas na etapa fotoquímica da fotossíntese e de outro lado a fixação de carbono por proteínas-enzimas envolvidas com a assimilação de C são favorecidas pelo suprimento adequado de nitrogênio (Eichelmann et al. 2005; Salomon et al. 2013).

Diante das considerações acima mencionadas, com participação do N em etapas determinantes para o crescimento e desenvolvimento vegetal, esta pesquisa teve por objetivo investigar e identificar as estratégias de uso e particionamento de N em um plantio para recuperação de uma área alterada com seis espécies arbóreas da família Fabaceae com características evolutivas distintas e cultivadas sob-regime de fertilização.

Para tanto, esta dissertação foi elaborada em dois capítulos intitulados, 1- *“Dinâmica interespecífica do nitrogênio em Fabaceas fertilizadas, crescendo sobre área degradada na Amazônia Central”* e 2- *“Efeito da fertilização na dinâmica do nitrogênio em plantio de A. mangium e D. odorata estabelecido sobre área degradada na Amazônia Central”*

REFERÊNCIAS

- Adams, M. A., T. L. Turnbull, J. I. Sprent, e N. Buchmann. 2016. Legumes are different: Leaf nitrogen, photosynthesis, and water use efficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113(15):4098–4103.
- Aidar, M. P. M., S. Schmidt, G. Moss, G. R. Stewart, e C. A. Joly. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell Environ.* 26(3):389–399.
- Alvarez-Clare, S., M. C. Mack, e M. Brooks. 2013. A direct test of nitrogen e phosphorus limitation to net primary productivity in a lowland tropical wet forest. *Ecology.* 94(7):1540–1551.
- Andrews, M., J. A. Raven, e P. J. Lea. 2013. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. *Ann. Appl. Biol.* 163(2):174–199.
- Asner, G. P., W. Llactayo, R. Tupayachi, e E. R. Luna. 2013. Elevated rates of gold mining in the Amazon revealed through high-resolution monitoring. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110(46):18454–18459.
- Asner, G. P., R. E. Martin, L. Carranza-Jiménez, F. Sinca, R. Tupayachi, C. B. Anderson, e P. Martinez. 2014. Functional e biological diversity of foliar spectra in tree canopies throughout the Andes to Amazon region. *New Phytol.* 204(1):127–139.
- Barona, E., N. Ramankutty, G. Hyman, e O. T. Coomes. 2010. The role of pasture e soybean in deforestation of the Brazilian Amazon. *Environ. Res. Lett.* 5(2):24002.
- Batterman, S. A., L. O. Hedin, M. van Breugel, J. Ransijn, D. J. Craven, e J. S. Hall. 2013. Key role of symbiotic dinitrogen fixation in tropical forest secondary succession. *Nature.* 502(7470):224–227.
- Bloom, A. J., J. S. R. Asensio, L. Randall, S. Rachmilevitch, A. B. Cousins, e E. A. Carlisle. 2012. CO₂ enrichment inhibits shoot nitrate assimilation in C₃ but not C₄ plants e slows growth under nitrate in C₃ plants. *Ecology.* 93(2):355–367.
- Bollman, M. I., e J. K. Vessey. 2006. Differential effects of nitrate e ammonium supply on nodule initiation, development, e distribution on roots of pea (*Pisum sativum*). *Can. J. Bot.* 84(6):893–903.
- Bown, H. E., M. S. Watt, P. W. Clinton, e E. G. Mason. 2010. Influence of ammonium e nitrate supply on growth, dry matter partitioning, N uptake e photosynthetic capacity of *Pinus radiata* seedlings. *Trees.* 24(6):1097–1107.
- Britto, D. T., e H. J. Kronzucker. 2013. Ecological significance e complexity of N-source preference in plants. *Ann. Bot.* 112(6):957–963.
- Brookshire, E. N. J., S. Gerber, D. N. L. Menge, e L. O. Hedin. 2012a. Large losses of inorganic nitrogen from tropical rainforests suggest a lack of nitrogen limitation. *Ecol. Lett.* 15(1):9–16.
- Brookshire, E. N. J., L. O. Hedin, J. D. Newbold, D. M. Sigman, e J. K. Jackson. 2012b. Sustained losses of bioavailable nitrogen from montane tropical forests. *Nat. Geosci.* 5(2):123–126.
- Brookshire, E. N. J., e S. A. Thomas. 2013. Ecosystem consequences of tree monodominance for nitrogen cycling in lowland tropical forest Chen, H.Y. (ed.). *PLoS One.* 8(7):e70491.
- Carnicer, J., J. Sardans, C. Stefanescu, A. Ubach, M. Bartrons, D. Asensio, e J. Peñuelas. 2015. Global biodiversity, stoichiometry e ecosystem function responses to human-induced C–N–P imbalances. *J. Plant Physiol.* 172:82–91.

- Craine, J. M., A. J. Elmore, M. P. M. Aidar, M. Bustamante, T. E. Dawson, E. A. Hobbie, A. Kahmen, et al. 2009. Global patterns of foliar nitrogen isotopes e their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, e nitrogen availability. *New Phytol.* 183(4):980–992.
- Davidson, E. A., A. C. de Araújo, P. Artaxo, J. K. Balch, I. F. Brown, M. M. C. Bustamante, M. T. Coe, et al. 2012. The Amazon basin in transition. *Nature.* 481(7381):321–328.
- Davidson, E. A., C. J. Reis de Carvalho, I. C. G. Vieira, R. de O. Figueiredo, P. Moutinho, F. Yoko Ishida, M. T. Primo dos Santos, J. Benito Guerrero, K. Kalif, e R. Tuma Sabá. 2004. Nitrogen e phosphorus limitation of biomass growth in a tropical secondary forest. *Ecol. Appl.* 14(sp4):150–163.
- Eichelmann, H., V. Oja, B. Rasulo, E. Padu, I. Bichel, H. Pettai, P. Mand, O. Kull, e A. Laisk. 2005. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: reallocation of nitrogen. *Plant, Cell Environ.* 28(3):389–401 Available online at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3040.2004.01275.x>.
- Fyllas, N. M., S. Patiño, T. R. Baker, G. Bielefeld Nardoto, L. A. Martinelli, C. A. Quesada, R. Paiva, et al. 2009. Basin-wide variations in foliar properties of Amazonian forest: phylogeny, soils e climate. *Biogeosciences Discuss.* 6(2):3707–3769.
- Gehring, C., M. Denich, M. Kanashiro, e P. L. G. Vlek. 1999. Response of secondary vegetation in eastern amazonia to relaxed nutrient availability constraints. *Biogeochemistry.* 45(3):223–241.
- Glyan'ko, A. K., G. G. Vasil'eva, N. B. Mitanova, e A. A. Ishchenko. 2009. The influence of mineral nitrogen on legume-rhizobium symbiosis. *Biol. Bull.* 36(3):250–258.
- Gonçalves, J. F. de C., e U. M. dos Santos Júnior. 2005. Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Brazilian J. Plant Physiol.* 17(3):307–313.
- Hasselquist, N. J., D. B. Metcalfe, E. Inselsbacher, Z. Stangl, R. Oren, T. Näsholm, e P. Höglberg. 2015. Greater carbon allocation to mycorrhizal fungi reduces tree nitrogen uptake in a boreal forest. *Ecology.* 97(4):15–1222.1.
- Heath, K. D., A. J. Stock, e J. R. Stinchcombe. 2010. Mutualism variation in the nodulation response to nitrate. *J. Evol. Biol.* 23(11):2494–2500.
- Hedin, L. O., E. N. J. Brookshire, D. N. L. Menge, e A. R. Barron. 2009. The nitrogen paradox in tropical forest ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40(1):613–635.
- Houlton, B. Z., D. M. Sigman, E. A. G. Schuur, e L. O. Hedin. 2007. A climate-driven switch in plant nitrogen acquisition within tropical forest communities. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104(21):8902–8906.
- Hu, B., M. Zhou, M. Dannenmann, G. Saiz, J. Simon, S. Bilela, X. Liu, et al. 2017. Comparison of nitrogen nutrition e soil carbon status of afforested stands established in degraded soil of the Loess Plateau, China. *For. Ecol. Manage.* 389:46–58.
- Justino, G. C., R. P. Omena-Garcia, A. M. S. Santos, L. S. Camargos, L. Sodek, e J. F. C. Gonçalves. 2017. Nitrogen used strategies of Nodulated Amazonian Legume: *Inga Edulis*. *J. Trop. For. Sci.* 29(1):1–9.
- Konnerup, D., e H. Brix. 2010. Nitrogen nutrition of *Canna indica*: Effects of ammonium versus nitrate on growth, biomass allocation, photosynthesis, nitrate reductase activity e N uptake rates. *Aquat. Bot.* 92(2):142–148.
- Lawlor, D. W. 2002. Carbon e nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *J. Exp. Bot.* 53(370):773–787.
- Luo, J., H. Li, T. Liu, A. Polle, C. Peng, e Z.-B. Luo. 2013. Nitrogen metabolism of two

- contrasting poplar species during acclimation to limiting nitrogen availability. *J. Exp. Bot.* 64(14):4207–4224.
- M'rah Helali, S., H. Nebli, R. Kaddour, H. Mahmoudi, M. Lachaâl, e Z. Ouerghi. 2010. Influence of nitrate—ammonium ratio on growth e nutrition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil.* 336(1–2):65–74.
- McKane, R. B., L. C. Johnson, G. R. Shaver, K. J. Nadelhoffer, E. B. Rastetter, B. Fry, A. E. Giblin, et al. 2002. Resource-based niches provide a basis for plant species diversity e dominance in arctic tundra. *Nature.* 415(6867):68–71.
- Menge, D. N. L., J. W. Lichstein, e G. Ángeles-Pérez. 2014. Nitrogen fixation strategies can explain the latitudinal shift in nitrogen-fixing tree abundance. *Ecology.* 95(8):2236–2245.
- Metcalf, R. J., J. Nault, e B. J. Hawkins. 2011. Adaptations to nitrogen form: comparing inorganic nitrogen e amino acid availability e uptake by four temperate forest plants. *Can. J. For. Res.* 41(8):1626–1637.
- Omena-Garcia, R. P., G. C. Justino, V. B. Ferreira de Araújo, L. A. Gomes de Souza, L. S. de Camargos, e J. F. de C. Gonçalves. 2015. Mineral nitrogen associated changes in growth e xylem-n compounds in amazonian legume tree. *J. Plant Nutr.* 38(4):584–595.
- Parrotta, J. A., J. W. Turnbull, e N. Jones. 1997. Catalyzing native forest regeneration on degraded tropical lands. *For. Ecol. Manage.* 99(1–2):1–7.
- Pasquini, S. C., e L. S. Santiago. 2012. Nutrients limit photosynthesis in seedlings of a lowland tropical forest tree species. *Oecologia.* 168(2):311–319.
- Pate, J. S., G. R. Stewart, e M. Unkovich. 1993. ¹⁵N natural abundance of plant e soil components of a *Banksia* woodland ecosystem in relation to nitrate utilization, life form, mycorrhizal status e N₂-fixing abilities of component species. *Plant, Cell Environ.* 16(4):365–373.
- Paungfoo-Lonhienne, C., T. G. a Lonhienne, D. Rentsch, N. Robinson, M. Christie, R. I. Webb, H. K. Gamage, B. J. Carroll, P. M. Schenk, e S. Schmidt. 2008. Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105(11):4524–4529.
- Piao, H.-C., S.-L. Li, S.-J. Wang, e S.-H. Li. 2017. The preference of nitrate uptake in Chinese prickly ash estimated by $\delta^{15}\text{N}$ values e cation concentrations. *Environ. Earth Sci.* 76(2):87.
- Ponette-González, A. G., H. A. Ewing, M. Fry, e K. R. Young. 2016. Soil e fine root chemistry at a tropical Andean timberline. *Catena.* 137:350–359.
- Reis, C. R. G., G. B. Nardoto, e R. S. Oliveira. 2017. Global overview on nitrogen dynamics in mangroves e consequences of increasing nitrogen availability for these systems. *Plant Soil.* 410(1–2):1–19.
- Rogers, A., E. A. Ainsworth, e A. D. B. Leakey. 2009. Will elevated carbon dioxide concentration amplify the benefits of nitrogen fixation in legumes? *Plant Physiol.* 151(3):1009–1016.
- Salomon, E., L. Bar-Eyal, S. Sharon, e N. Keren. 2013. Balancing photosynthetic electron flow is critical for cyanobacterial acclimation to nitrogen limitation. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1827(3):340–347.
- dos Santos, U. M., J. F. de Carvalho Gonçalves, e T. R. Feldpausch. 2006. Growth, leaf nutrient concentration e photosynthetic nutrient use efficiency in tropical tree species planted in degraded areas in central Amazonia. *For. Ecol. Manage.* 226(1–3):299–309.
- Soito, J. L. D. S., e M. A. V. Freitas. 2011. Amazon e the expansion of hydropower in Brazil: Vulnerability, impacts e possibilities for adaptation to global climate change. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 15(6):3165–3177.

- Song, M.-H., L.-L. Zheng, K. N. Suding, T.-F. Yin, e F.-H. Yu. 2015. Plasticity in nitrogen form uptake e preference in response to long-term nitrogen fertilization. *Plant Soil*. 394(1–2):215–224.
- Sponseller, R. A., M. J. Gundale, M. Futter, E. Ring, A. Nordin, T. Näsholm, e H. Laudon. 2016. Nitrogen dynamics in managed boreal forests: Recent advances e future research directions. *Ambio*. 45(S2):175–187 Available online at: <http://link.springer.com/10.1007/s13280-015-0755-4>.
- Steege, H., N. C. A. Pitman, O. L. Phillips, J. Chave, D. Sabatier, A. Duque, J.-F. Molino, et al. 2006. Continental-scale patterns of canopy tree composition e function across Amazonia. *Nature*. 443(7110):444–447.
- Stewart, G. R., E. E. Hegarty, e R. L. Specht. 1988. Inorganic nitrogen assimilation in plants of Austrian rainforest communities. *Physiol. Plant*. 74(1):26–33.
- Stewart, G. R., C. A. Joly, e N. Smirnoff. 1992. Partitioning of inorganic nitrogen assimilation between the rotts e shoots of cerrado e forest trees of contrasting plant communities of Southeast Brazil. *Oecologia*. 91:511–517.
- Sullivan, B. W., W. K. Smith, R. Alan, M. K. Nasto, S. C. Reed, e R. L. Chazdon. 2015. Spatially robust estimates of biological nitrogen (N) fixation imply substantial human alteration of the tropical N cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 112(30):E4157–E4157.
- Taylor, P. G., W. R. Wieder, S. Weintraub, S. Cohen, C. C. Cleveland, e A. R. Townsend. 2015. Organic forms dominate hydrologic nitrogen export from a lowland tropical watershed. *Ecology*. 96(5):1229–1241 Available online at: <http://doi.wiley.com/10.1890/13-1418.1>.
- Uscola, M., P. Villar-Salvador, J. Oliet, e C. R. Warren. 2017. Root uptake of inorganic e organic N chemical forms in two coexisting Mediterranean forest trees. *Plant Soil*. :1–6.
- Vitousek, P. 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annu. Rev. Ecol. Syst*. 17(1):137–167.
- Vitousek, P. M. 1984. Litterfall, nutrient cycling, e nutrient limitation in tropical forests. *Ecology*. 65(1):285–298 Available online at: <http://doi.wiley.com/10.2307/1939481>.
- Wang, Y., S. Cheng, H. Fang, G. Yu, X. Xu, M. Xu, L. Wang, et al. 2015. Contrasting effects of ammonium e nitrate inputs on soil CO₂ emission in a subtropical coniferous plantation of southern China. *Biol. Fertil. Soils*. 51(7):815–825.
- Weber, J., F. Y. Tham, A. Galiana, Y. Prin, M. Ducouso, e S. K. Lee. 2007. Effects of nitrogen source on the growth e nodulation of acacia mangium in aeroponic culture. *J. Trop. For. Sci*. 19(2):103–112.
- Webster, J. R., J. D. Knoepp, W. T. Swank, e C. F. Miniati. 2016. Evidence for a regime shift in nitrogen export from a forested watershed. *Ecosystems*. 19(5):881–895.
- Xiaochuang, C., W. Lianghuan, Y. Ling, L. Xiaoyan, Z. Yuanhong, e J. Qianyu. 2015. Uptake e uptake kinetics of nitrate, ammonium e glycine by pakchoi seedlings (*Brassica Campestris* L. ssp. *Chinensis* L. Makino). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 186:247–253.
- Yang, W. H., R. A. Ryals, D. F. Cusack, e W. L. Silver. 2017. Cross-biome assessment of gross soil nitrogen cycling in California ecosystems. *Soil Biol. Biochem*. 107:144–155.
- Zhan, S., Y. Wang, Z. Zhu, W. Li, e Y. Bai. 2017. Nitrogen enrichment alters plant N: P stoichiometry e intensifies phosphorus limitation in a steppe ecosystem. *Environ. Exp. Bot*. 134:21–32.
- Zhang, B., C. Liang, H. He, e X. Zhang. 2013. Variations in soil microbial communities e residues along an altitude gradient on the northern slope of Changbai Mountain, China Smidt, H. (ed.). *PLoS One*. 8(6):e66184.

CAPÍTULO I

Dinâmica interespecífica do nitrogênio em Fabaceas fertilizadas, crescendo sobre área degradada na Amazônia Central

Capítulo escrito conforme normas da revista Forest Science

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio está presente no solo predominantemente sob as formas de matéria orgânica, organismos, amônio retido nas cargas da matriz, e compostos minerais como nitrato e amônio dissolvidos na solução do solo (Cameron et al. 2013, Castro-Rodríguez et al. 2017).

Na literatura existem diversos indícios sobre a limitação do nitrogênio na produção primária de florestas temperadas e boreais (Magnani et al. 2007; LeBauer e Treseder 2008; Quinn Thomas et al. 2010; Melillo et al. 2011; Fleischer et al. 2013). Contudo, em florestas tropicais a disponibilidade natural de nitrogênio, devido a altas taxas de fixação de nitrogênio por microrganismos heterotróficos ou associados a espécies da família Fabaceae, é mais elevada e este não se constitui um fator limitante (Hedin et al. 2009).

A disponibilidade de nitrogênio no solo é drasticamente reduzida em função do desflorestamento e consequente alteração ecossistêmica, devido em grande parte a sua dinâmica, intrinsicamente relacionada a fatores bióticos e abióticos, o que pode dificultar o reestabelecimento natural da vegetação (Batjes e Sombroek 1997; Murty et al. 2002; Tesfaye et al. 2016; Winsome et al. 2016; Assefa et al. 2017).

Desse modo é preciso considerar que, devido a certas características evolutivas e fenotípicas, algumas espécies apresentam melhores adequações morfoanatômicas e funcionais para tolerar ambientes “extremos”, e assim reconhecer que a escolha das espécies é um aspecto fundamental no planejamento de um plantio florestal visando à recuperação de áreas alteradas que apresentem baixa disponibilidade de nitrogênio (Holste e Kobe 2016; Luo et al. 2016).

Neste contexto, a utilização de espécies de Fabaceae arbóreas tem sido bastante recomendada para recuperação de áreas alteradas, devido à rusticidade, a capacidade de recuperar rapidamente os estoques de diversos nutrientes e da matéria orgânica no solo e do potencial econômico de diversas espécies desta família (Ducke 1981; Ramos et al. 2001; Nichols e Carpenter 2006; Siddique et al. 2008; Adams et al. 2016; Zhu et al. 2016).

Muitas espécies da família Fabaceae desenvolveram adaptações evolutivas que possibilitaram ganhos funcionais, tornando-as mais competitivas em ambientes de baixa fertilidade, tais como: alta taxa de sobrevivência, rápido crescimento, alta eficiência no uso de nutrientes e capacidade de fixar N atmosférico por meio de associações simbióticas com

bactérias do gênero rizóbio (Sprent 2007; Faria et al. 2010; Cornwell et al. 2014; Menge e Chazdon 2016; Wolf et al. 2016; Wurzburger e Hedin 2016).

A fixação biológica de nitrogênio é, inclusive, a principal fonte natural de nitrogênio para a biosfera (Vitousek et al. 2013). Aspecto que ganha mais relevância na medida da maior frequência e ocorrência destas espécies nos diferentes sítios florestais como é o caso dos ecossistemas amazônicos.

Embora diversos estudos tratem o conteúdo total de nitrogênio de forma generalizada, sem diferenciação entre suas diferentes formas (Dybzinski et al. 2013; Osada et al. 2014; Wei et al. 2014; Dong et al. 2015), estudos mostram que as formas inorgânicas nitrato e amônio afetam o crescimento e o estado nutricional das plantas de maneira distinta (Leuzinger et al. 2011; Bloom et al. 2012; Carlisle et al. 2012). Evidências de diferenças entre grupos de espécies podem ser verificadas em relação ao metabolismo do nitrogênio, principalmente, quanto à atividade da enzima nitrato redutase em folhas e raízes, a capacidade de armazenamento de nitrato e a quantidade e diversidade de aminoácidos e a proporção de nitrato carregados pelo xilema e todas essas partículas no que tange a dinâmica do N nas plantas podem implicar diferentes respostas da vegetação crescendo em ambientes estressantes. (Stewart et al. 1988, 1992, 1993; Pate et al. 1993; Aidar et al. 2003).

O investimento relativo de nitrogênio em compostos relacionados à fotossíntese apresenta grande variação interespecífica (Raaijmakers et al. 1995; Coste et al. 2005; van de Weg et al. 2012; Houter e Pons 2014), entretanto, existem evidências que espécies adaptadas a altas intensidades luminosas investem mais em compostos relacionados com a etapa bioquímica da fotossíntese que naqueles associados à captação de luz, enquanto espécies adaptadas a baixas irradiâncias apresentam comportamento oposto na síntese de compostos nitrogenados (Dusenge et al. 2015).

Considerando-se os conhecimentos obtidos até então sobre a contribuição efetiva de árvores fixadoras de N sugere-se que estas Fabaceae arbóreas podem contribuir de forma determinante para o “input” de N no sistema solo-planta de um plantio de diferentes espécies na Amazônia. No entanto, torna-se bastante interessante que as espécies selecionadas apresentem contribuições distintas dentro de uma perspectiva de recuperação de áreas alteradas, até mesmo, porque a degradação de uma área pode ter origem a partir de diferentes agentes impactantes, com magnitudes e extensões variáveis dos danos.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi investigar características interespecíficas de aquisição, transporte, estocagem, assimilação e alocação de nitrogênio mineral em seis espécies da família Fabaceae crescendo em área degradada com solo fertilizado.

Objetivos específicos

- Determinar o teor de N mineral do solo (NO_3^- e NH_4^+) cultivado com espécies arbóreas de Fabaceae;
- Determinar o conteúdo de nitrato e amônio nas folhas e raízes;
- Determinar o teor de compostos nitrogenados inorgânicos na seiva do xilema;
- Analisar a atividade da enzima redutase do nitrato (RN) em folhas e raízes;
- Analisar os teores de proteínas e pigmentos cloroplastídicos nas folhas;
- Determinar a eficiência no uso do nitrogênio;
- Inferir sobre a capacidade de nodulação das espécies fixadoras de N.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização e histórico da área de estudo

O experimento foi instalado em área de empréstimo da Usina Hidrelétrica de Balbina (UHE-Balbina), denominada “Alalau”, localizada no município de Presidente Figueiredo a 170 km de Manaus AM ($01^\circ 55' 99''\text{S}$ e $59^\circ 24' 65''\text{W}$). A formação florestal no entorno da área é composta, predominantemente, por “Floresta Ombrófila Densa de Terra Firme” (Veloso et al. 1991). O clima úmido e quente da região apresenta temperaturas médias mensais superiores a 25°C e precipitação média anual de 2280 mm. O período chuvoso ocorre entre os meses de dezembro e maio e a época de menor precipitação de julho a setembro, período em que ocorre em média 8% da precipitação anual (Eletronorte 1997). O relevo na área de estudo é homogêneo, plano e sem a presença de processos erosivos acentuados.

Os solos da área de influência da UHE-Balbina pertencem a duas classes pedológicas, os Argissolos Vermelho-Amarelos e os Latossolos Vermelho-Amarelos. Os Latossolos Vermelho-Amarelos são bem drenados e resultam da decomposição de rochas do Pré-Cambriano e do Devoniano (Eletronorte 1997).

Na área “Alalau” onde o experimento foi instalado, a vegetação foi completamente removida na época da construção da barragem e, então, abandonada por quase trinta anos. A área em questão tem três ha, é cercada por um maciço florestal relativamente bem preservado e estava, no momento da instalação do experimento, totalmente desprovida de vegetação. As características edáficas da área antes da instalação do experimento podem ser verificadas na tabela 1.

Tabela 1. Características edáficas da área de empréstimo “Alalau” da UHE-Balbina, município de Presidente Figueiredo, AM.

Profundidade	pH	C	N	P	K	Na	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
	H ₂ O	g Kg ⁻¹					mg dm ⁻³					
0-15cm	5	1,7	0,2	0,1	1,8	1,0	0,0	0,0	8,5	0,6	0,0	1,1
15-30cm	5	1,1	0,1	0,1	1,0	1,4	0,0	0,0	6,6	0,6	0,0	1,0

3.2 Instalação do experimento

Plantas jovens de *C. fairchildiana* (palheteira), *A. mangium* (acácia mangium), *C. tocaninum* (pau-pretinho) e *S. reticulata* (mata-pasto) foram produzidas no viveiro florestal do Programa de Restauração de Áreas Degradadas de Balbina (PRAD-Balbina). As demais espécies, *D. odorata* (cumarú) e *I. edulis* (ingá), foram obtidas em um viveiro na região de Manaus. As mudas de cada espécie foram selecionadas de acordo com critérios de uniformidade de tamanho com médias de 15; 20; 25; 32; 35 e 40 cm para as espécies *A. mangium*, *C. fairchildiana*, *C. tocaninum*, *I. edulis*, *S. reticulata* e *D. odorata*, respectivamente.

O plantio foi realizado em uma área da Usina Hidrelétrica de Balbina (UHE-Balbina), denominada “Alalau”, localizada no município de Presidente Figueiredo a 170 km de Manaus AM – Brasil (Figura 1).



Figura 1. Fotografia ilustrativa da área do experimento antes da implantação do plantio e no período da coleta de dados.

O plantio foi instalado na área, desconsiderando-se as 4 primeiras linhas próximas às margens da floresta, com cinco blocos constituídos de 12 parcelas cada uma com quatro indivíduos de cada tratamento composto pela combinação entre as seis espécies estudadas e dois regimes de fertilização: sem adição e com adição de fertilizante, sendo ao todo plantadas 240 mudas.

As covas foram abertas manualmente e calcariadas 20 dias antes do plantio das mudas para incorporação do adubo e, foram dimensionadas com 30 x 30 x 40 cm. O espaçamento utilizado foi de 3 X 3 m conforme a metodologia utilizada no Programa de Restauração de Áreas Degradadas de Balbina (PRAD-Balbina), com espaço adicional de 1 m de distância entre os blocos. A fertilização foi realizada nas datas e com as quantidades indicadas na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade, formulação e datas de aplicação dos fertilizantes no tratamento de adubação. Composição do FTE BR-12[®] - 7,1% Ca; 5,7% S; 1,8% B; 0,8% Cu; 2,0% Mn; 0,1% Mo e 9,0% Zn.

Aplicação	Data	Esterco de galinha	Calcário	NPK	FTE BR-12 (micro)
Cova	Jan/2014	3 Kg	100 g	200 g	20 g
1ª cobertura	Jun/2014		100 g	200 g	20 g
2ª cobertura	Nov/2014		100 g	300 g	20 g
3ª cobertura	Mai/2015		100 g	300 g	20 g

As espécies nodulíferas foram adicionalmente inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio. Soluções líquidas em meio YM com pH 6,0, sem ágar e sem corante, foram preparadas com a coleção de rizóbios do Laboratório de Microbiologia do Solo do Inpa (LMS-INPA), sendo as seguintes estirpes utilizadas: 944, 949 e 959 para *C. fairchildiana*; 563 para *A. mangium* e 831, 841, 842, 844 e 852 para *I. edulis*. As soluções para cada espécie permaneceram sob agitação constante durante aproximadamente 10 dias e a inoculação foi, então, realizada diretamente no campo em duas doses de 10 mL, aplicadas apenas no tratamento com adubação.

3.3 Coleta e análises de solo

3.3.1 Coleta do solo

As amostras, compostas de três sub-amostras simples de solo, foram coletadas no final do experimento com cinco repetições para cada tratamento nas profundidades de 0-2,5cm; 2,5-5 cm; 5-10 cm; 10-20 cm e 20-40 cm e a distância de 20 cm do caule. As amostras foram devidamente acondicionadas em gelo, para minimizar a atividade microbiana sobre os compostos nitrogenados e possíveis perdas por volatilização, e levadas imediatamente para extração em laboratório.

3.3.2 Extração do N mineral do solo (NO_3^- e NH_4^+)

O N mineral (NO_3^- e NH_4^+) disponível no solo foi extraído com a utilização de K_2SO_4 (0,5 M) de acordo com metodologia descrita por Keeney e Nelson (1982). Para cada 5 g de solo fresco, foram adicionados 50 mL do extrator e, em seguida, as amostras foram agitadas durante 30 minutos e, em seguida, centrifugadas. Os sobrenadantes resultantes foram então filtrados com o auxílio de filtro Whatman, armazenados em frascos e congelados a $-80^\circ C$ para análise posterior das formas de N.

3.3.3 *Determinação quantitativa do nitrato (NO_3^-) do solo*

O teor de nitrato (NO_3^-) no solo foi determinado de acordo com metodologia de Anderson e Ingram (1993). O padrão ou as amostras foram pipetados no volume 0,5 mL em tubos de ensaio e, em seguida, foram adicionados 1,0 mL de ácido salicílico a 5%. Os tubos foram agitados e deixados em repouso durante 30 minutos, período após o qual, aos tubos foram adicionados 10 mL de uma solução de hidróxido de sódio (4M). O material foi agitado e permaneceu em repouso durante 1 hora quando então foi determinado no $\lambda = 410$ nm contra o branco, que foi constituído de todos os reagentes acrescidos de 0,5mL de água destilada.

3.3.4 *Determinação quantitativa do amônio (NH_4^+) do solo*

O NH_4^+ do solo foi determinado de acordo com metodologia descrita por Anderson e Ingram (1993), com a utilização de 0,5 ml de amostras ou padrões e 2,5 mL do reagente I (salicilato de sódio, citrato de sódio, tartarato de sódio e nitroprussiato de sódio) e do reagente II (hidróxido de sódio e hipoclorito de sódio). Após a adição do reagente I e das amostras ou aos padrões, os tubos foram agitados e se acrescentou o reagente II. Os tubos de ensaio foram ,então, novamente agitados, tampados com bolas de vidro e transferidos para banho-maria a 37°C durante 35 minutos. Em seguida, o material foi mantido em repouso até atingir temperatura constante e a densidade ótica a 655 nm contra o branco foi obtida para os padrões e as amostras.

3.4 Coleta e análises do material vegetal

3.4.1 *Coleta de folhas e raízes para análise dos compostos nitrogenados*

Para análises destrutivas, um indivíduo foi escolhido aleatoriamente por parcela para a coleta de material e medição das variáveis em estudo em cada uma das 40 parcelas. Folhas (filódios, no caso da *A. mangium*) saudas, completamente expandidas e situadas no terço superior de um único indivíduo, escolhido aleatoriamente, foram coletadas, assim como as amostras de raízes na profundidade de 0-10 cm e a distância de 20 cm do fuste. Este material envolvido com

papel alumínio, colocado dentro de sacos plásticos, acondicionado em caixas térmicas contendo gelo e transportado até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (INPA).

3.4.2 Extração de compostos nitrogenados

A extração dos compostos nitrogenados das folhas e raízes das plantas foi realizada a partir de 0,5 g de material fresco, triturado em almofariz de porcelana, ao qual foi adicionado 5 mL de solução MCA (Metanol, Clorofórmio e Água, 60:25:15, v/v/v). O material foi centrifugado e, posteriormente, 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada para cada 4 mL de sobrenadante foram adicionados. Após 24 horas em repouso para separação de fases, o sobrenadante foi separado do precipitado e submetido ao banho-maria a 38°C durante 18 horas para concentração das amostras. Ao final, o volume do extrato foi aferido e armazenado em freezer temperatura de -80°C para posteriores análises de quantificação de nitrato e amônio. O precipitado foi ressuspendido em solução NaOH (0,1 M) a uma relação de 10 mL de solução para cada grama de amostra (tecido fresco). Após homogeneização, a amostra foi centrifugada e o sobrenadante armazenado em freezer -80°C para posterior análise de proteínas solúveis (Bielecki e Turner 1966).

3.4.3 Determinação de nitrato (NO_3^-) em folhas e raízes

A determinação do NO_3^- foi realizada de acordo com metodologia descrita por Cataldo et al. (1975). Os tubos com as amostras foram agitados durante 20 minutos em temperatura ambiente após a adição de 0,2 mL do reagente ácido salicílico (ácido salicílico 5% p/v em H_2SO_4 concentrado), e então, 4,75 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2 M foram adicionados lentamente. Após as amostras serem resfriadas suas densidades óticas foram lidas em espectrofotômetro a $\lambda=410$ nm.

3.4.4 Determinação de amônio (NH_4^+) em folhas e raízes

Ao volume de 0,2 mL das amostras de folhas e raízes foram adicionados 2 mL de uma solução de fenol e nitroprussiato de sódio e 2 mL de uma solução contendo hidróxido de sódio,

fosfato de sódio e hipoclorito de sódio. Em seguida, os tubos foram incubados a 37°C durante 35 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, as absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro a $\lambda=625$ nm. O padrão utilizado foi sulfato de amônio (McCullough 1967).

3.4.5 *Coleta de seiva do xilema para análise dos compostos nitrogenados*

A coleta da seiva do xilema foi realizada entre 8:00 e 12:00 horas. Galhos da porção mediana da copa foram coletados, desfolhados e sua extremidade inferior foi moldada para ser acoplada a um aparato de coleta de seiva ligado a uma bomba de vácuo manual. As amostras de seiva extraídas foram mantidas em banho de gelo para transporte até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal - INPA, onde foram armazenadas em freezer a - 80°C para as análises posteriores.

3.4.6 *Determinação de nitrato (NO_3^-) na seiva do xilema*

A determinação do NO_3^- foi realizada de acordo com metodologia descrita por Cataldo et al. (1975). Os tubos com as amostras foram agitados durante 20 minutos em temperatura ambiente após a adição de 0,2 mL do reagente ácido salicílico (ácido salicílico 5% p/v em H_2SO_4 concentrado), e então, 4,75 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2 M foram adicionados lentamente. Após as amostras serem resfriadas suas densidades óticas foram lidas em espectrofotômetro a $\lambda=410$ nm.

3.4.7 *Determinação de amônio (NH_4^+) na seiva do xilema*

Ao volume de 0,2 mL das amostras de seiva foram adicionados 2 mL de uma solução de fenol e nitroprussiato de sódio e 2 mL de uma solução contendo hidróxido de sódio, fosfato de sódio e hipoclorito de sódio. Em seguida, os tubos foram incubados a 37°C durante 35 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, as absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro a 625 nm. O padrão utilizado foi sulfato de amônio (McCullough 1967).

3.4.8 *Determinação de proteínas solúveis em folhas e raízes*

A determinação de proteínas solúveis foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Bradford (1976). Em tubos de ensaio foram adicionados 0,1 mL de amostra e 5,0 mL do reagente de Bradford (solução filtrada composta por 100 mg de coomassie brilliant G dissolvido em 50 mL de etanol 95%, 100 mL de H₃PO₄ 85% p/v e volume de água suficiente para completar 1 L). Os tubos foram agitados e a densidade ótica das amostras determinadas em espectrofotômetro a $\lambda=595$ nm.

3.4.9 *Determinação “in vivo” da atividade da enzima redutase do nitrato (Rdn) em folhas e raízes*

A determinação da atividade enzimática foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Stewart et al. (1986). O material vegetal obtido a partir de indivíduos aleatoriamente selecionados (folhas e raízes) no campo foi protegido em papel alumínio e dentro de sacos plásticos, acondicionado em caixas térmicas contendo gelo e transportado até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (INPA). Deste material discos foliares com 0,3 cm de diâmetro e filamentos radiculares com diâmetro inferior a 0,2 cm foram obtidos e o equivalente a 0,1 g do material vegetal fresco foi transferido para seringas (5 ml) contendo 2,5 mL de solução de incubação composta de fosfato de potássio (0,1M), álcool n-propílico (1,5%) e KNO₃ (0,1 M) com pH ajustado para 7,5. As seringas tiveram suas extremidades vedadas e a solução com as amostras foi submetida ao vácuo por meio do deslocamento do êmbolo (Majerowicz et al. 2003). Em seguida, as amostras foram incubadas a 30°C na ausência de luz. Após 60 minutos alíquotas de 1mL das amostras, 1mL de água destilada e 1mL de sulfanilamida foram agitadas vigorosamente e mantidas em repouso durante 15min, decorrido este período 1mL de N-(1-naftil)-etilenodiamina foi adicionado e após homogeneização e repouso durante 30 min foi realizada a determinação da absorbância do conteúdo do tubo em espectrofotômetro $\lambda=540$ nm. A curva padrão foi construída com solução padrão de nitrito de potássio. A atividade enzimática foi expressa em $\mu\text{mol de NO}_2^- \text{ h}^{-1}\text{gMF}^{-1}$.

3.4.10 Determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos.

A determinação dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foi realizada de acordo com Lichtenthaler e Wellburn (1983). Os pigmentos foram extraídos de 0,1 g de folha macerados em acetona 80% (v/v) e carbonato de magnésio 0,05 (p/v). O extrato resultante da maceração do material vegetal foi filtrado e as absorvâncias foram aferidas em espectrofotômetro ajustado para os comprimentos de onda de $\lambda = 644, 663$ e 480 nm, para inferência, respectivamente, dos teores de clorofila “a” e “b” e carotenoides. As concentrações dos pigmentos cloroplastídicos foram calculadas tendo como referência a massa foliar fresca ($\mu\text{mol g}^{-1}$) a partir das equações descritas por (Hendry e Price 1993).

3.4.11 Determinação do teor de nitrogênio foliar total

O teor de nitrogênio foliar total foi determinado utilizando um analisador elementar CHNS/O modelo Perkin Elmer 2400 Series II, no Laboratório de Manejo Florestal (LMF/CDAM) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) em Manaus-AM. Este aparelho oxida por combustão os elementos carbono, nitrogênio e hidrogênio (C, H e N) das amostras foliares, os converte nos gases dióxido de carbono, vapor de água e nitrogênio molecular (CO_2 , H_2O e N_2) e remove outros elementos como os halogênios e o enxofre. Após esta etapa os gases são homogeneizados, despressurizados e passam por uma coluna na qual são separados pela fase estacionária e quantificados em porcentagem (g/g) em função da condutividade térmica (Jimenez e Ladha 1993).

3.4.12 Determinação da eficiência no uso de nitrogênio

A medida da taxa de fotossíntese líquida (P_n), diferença entre a fotossíntese na saturação de luz e respiração, foi realizada em dez indivíduos por tratamento ($n = 10$) entre 8:00 e 12:00 horas, em folhas completamente expandidas, situadas no terço médio das plantas, expostas a pleno sol e em bom estado fitossanitário. Para tanto, foi utilizado um analisador de gás infravermelho (IRGA) portátil, de sistema aberto (LI-COR 6400, Nebraska, USA). As configurações no equipamento foram ajustadas para uma densidade de fluxo de fótons (PPFD)

de $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, concentração de CO_2 de $400 \pm 1 \mu\text{mol mol}^{-1}$, temperatura de $31 \pm 1^\circ\text{C}$ e vapor de H_2O de $21 \pm 1 \text{mmol mol}^{-1}$ (Santos Junior et al. 2006). A eficiência no uso do nitrogênio (EUN) foi calculada pela razão entre os valores de fotossíntese líquida (P_n) e o teor de nitrogênio na folha.

3.4.13 Estimativa da nodulação

A coleta de raízes das espécies nodulíferas foi realizada em cada parcela, a uma distância de 20 cm do caule, utilizando-se cilindro oco de metal com 10 cm de diâmetro e 15 cm de profundidade. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas imediatamente ao laboratório para triagem e análises dos nódulos. No laboratório a triagem foi realizada encharcando-se as amostras em água por 12h seguida de lavagem com água destilada. Dos tratamentos foram obtidos dados de massa seca e número de nódulos.

A massa seca total foi determinada por meio do acondicionamento dos nódulos em estufa a 65°C por 72 horas e posterior pesagem. O peso médio dos nódulos foi obtida pela razão entre a massa seca total e o número de nódulos de cada indivíduo.

3.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi em blocos casualizados visando realizar avaliações interespecíficas entre as espécies *C. fairchildiana*, *A. mangium*, *C. tocantinum*, *S. reticulata*, *D. odorata* e *I. edulis*, todas sob regime de fertilização.

Os indivíduos de cada uma das espécies foram marcados aleatoriamente nas parcelas de cada um dos cinco blocos instalados no experimento e os dados obtidos foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e do Fmax de Hartley para verificar, respectivamente, a normalidade dos dados e a homocedasticidade das variâncias, premissas fundamentais para aplicação de estatística paramétrica. Quando necessário para atender essas premissas os dados foram devidamente transformados. Para variáveis em que não foi possível a avaliação por métodos paramétricos, estatística não paramétrica foi utilizada.

Para os testes paramétricos as médias das variáveis estudadas de cada espécie foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e, quando detectados efeitos significativos pelo

teste Fisher (Teste F), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste post-hoc de Tukey ($p < 0,05$). Para os testes não paramétricos a existência de diferenças significativas foi avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste post-hoc de Student-Newman-Keuls.

Análises exploratórias de componentes principais (ACP) também foram realizadas para agrupamento de variáveis segundo os coeficientes de correlação de Pearson e facilitar a distinção de padrões nas características das espécies.

As análises estatísticas foram processadas no programa R 3.3.2 e os gráficos foram feitos no programa Sigmaplot 12.0.

4. RESULTADOS

4.1 Nitrogênio no solo

Os teores de amônio no solo foram superiores aos de nitrato em todas as profundidades avaliadas. As concentrações médias de nitrato variaram entre 1,53 e 2,49 $\mu\text{mol g}^{-1}$ e as de amônio entre 4,85 e 6,00 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de acordo com a profundidade (Figura 1).

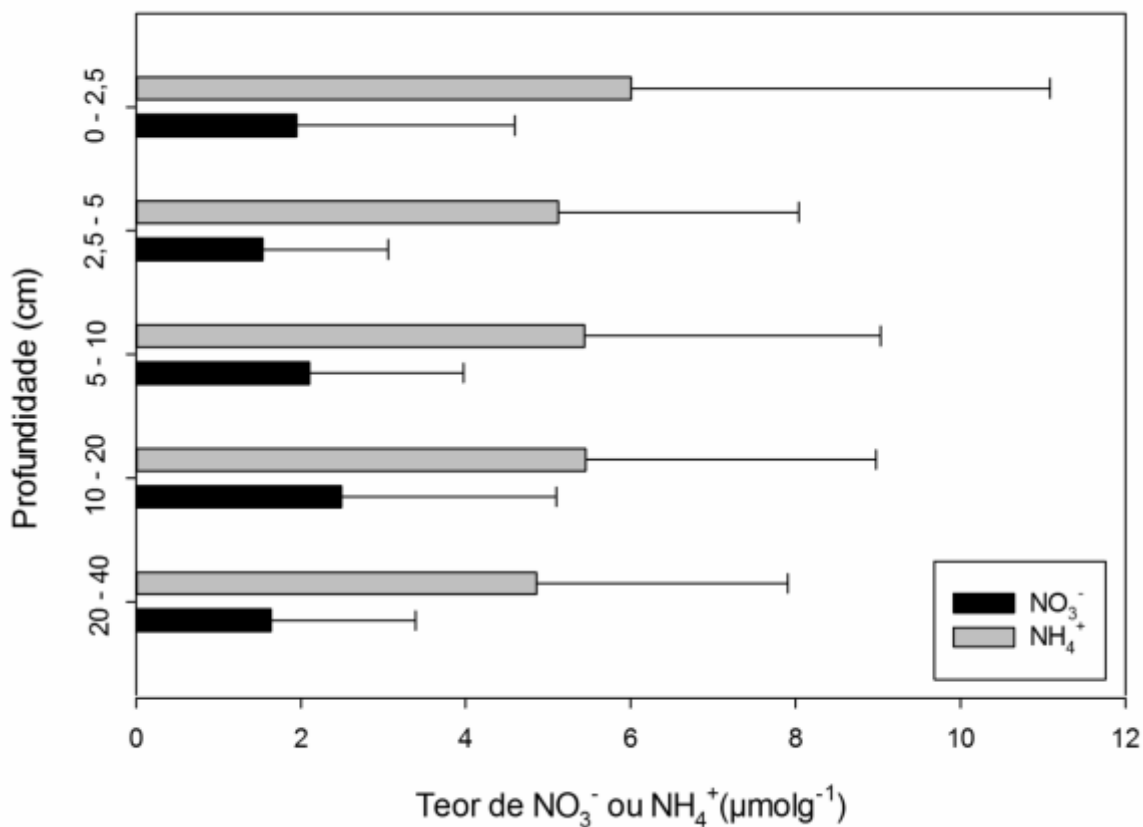


Figura 1. Teores de nitrato e de amônio, em diferentes profundidades, do solo provenientes de área degradada fertilizada e cultivada com Fabaceas arbóreas.

4.2 Nitrogênio na planta

O conteúdo de nitrato nas folhas (N-F) e seiva do xilema (N-S) foi significativamente superior na espécie *A. mangium* em relação às demais espécies avaliadas, já nas raízes (N-R) este não foi estatisticamente superior apenas a espécie *C. tocantinum* (Tabela 1).

Os maiores conteúdos de amônio radicular (A-R) foram encontrados para a espécie *C. fairchildiana*. Já as espécies *A. mangium*, *D. odorata* e *I. edulis* apresentaram concentrações superiores de amônio nas folhas (A-F) em relação às demais espécies, com o oposto ocorrendo na seiva do xilema (A-S) (Tabela 1).

Os maiores valores de atividade da redutase do nitrato foram verificados para *S. reticulata* tanto na raiz quanto nas folhas. As atividades da redutase do nitrato foram 3,1; 76,6 e 51,5% maiores nas raízes que nas folhas para *A. mangium*, *C. fairchildiana* e *C. tocaninum* respectivamente. Já para *D. odorata*, *I. edulis* e *S. reticulata* as atividades radiculares da redutase do nitrato foram respectivamente 10,6; 51,7 e 46,2% inferiores às atividades foliares (tabela 1).

Os teores de clorofilas “a” (Clf-A), clorofila “b” (Clf-B), clorofila total (Clf-T) e carotenoides (Ctn), bem como as razões entre as clorofilas “a” e “b” (Clf-a / Clf-b) e entre clorofila total e carotenoides (Clf-T / Ctn) são apresentados na tabela 2.

Os maiores valores de conteúdo de clorofila “a”, clorofila total e carotenoides foram encontrados nas espécies *A. mangium* e *C. fairchildiana*. Já para clorofila “b” e para as razões calculadas não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 1. Teores de nitrato e amônio radiculares, foliares e na seiva do xilema e da atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes de Fabaceae arbóreas

	<i>A. mangium</i>			<i>D. odorata</i>			<i>I. edulis</i>			<i>S. reticulata</i>			<i>C. fairchildiana</i>			<i>C. tocaninum</i>								
N-R ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	5,017	±	2,099	A	1,433	±	0,396	B	2,477	±	0,741	B	2,261	±	0,277	B	2,021	±	0,069	B	4,901	±	1,959	A
N-F ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	74,176	±	13,626	A	12,173	±	4,296	D	41,558	±	3,372	B	21,557	±	0,846	CD	22,475	±	3,182	CD	30,946	±	7,064	BC
N-S ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0,666	±	0,224	A	0,249	±	0,160	B	0,188	±	0,134	B	0,113	±	0,015	B	0,184	±	0,052	B	0,193	±	0,113	B
A-R ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0,227	±	0,062	C	0,573	±	0,220	B	0,381	±	0,080	BC	0,474	±	0,056	BC	1,036	±	0,222	A	0,648	±	0,189	B
A-F ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0,805	±	0,132	A	0,732	±	0,030	A	0,677	±	0,084	A	0,218	±	0,055	C	0,442	±	0,108	B	0,334	±	0,131	BC
A-S ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0,016	±	0,005	B	0,044	±	0,017	B	0,035	±	0,006	B	0,126	±	0,032	A	0,121	±	0,020	A	0,103	±	0,022	A
Rdn-R ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	0,271	±	0,040	B	0,255	±	0,063	B	0,136	±	0,022	B	0,422	±	0,140	A	0,230	±	0,053	B	0,163	±	0,061	B
Rdn-F ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	0,263	±	0,005	B	0,285	±	0,071	B	0,282	±	0,088	B	0,783	±	0,129	A	0,054	±	0,009	C	0,079	±	0,001	C

Médias ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra em uma determinada linha não são significativamente diferentes segundo teste Tukey ao nível de significância de 5%. Nitrato radicular (N-R); nitrato foliar (N-F); nitrato na seiva (N-S), amônio radicular (A-R); amônio foliar (N-F); amônio na seiva (A-S); atividade radicular da redutase do nitrato (Rdn-R); atividade foliar da redutase do nitrato (Rdn-F).

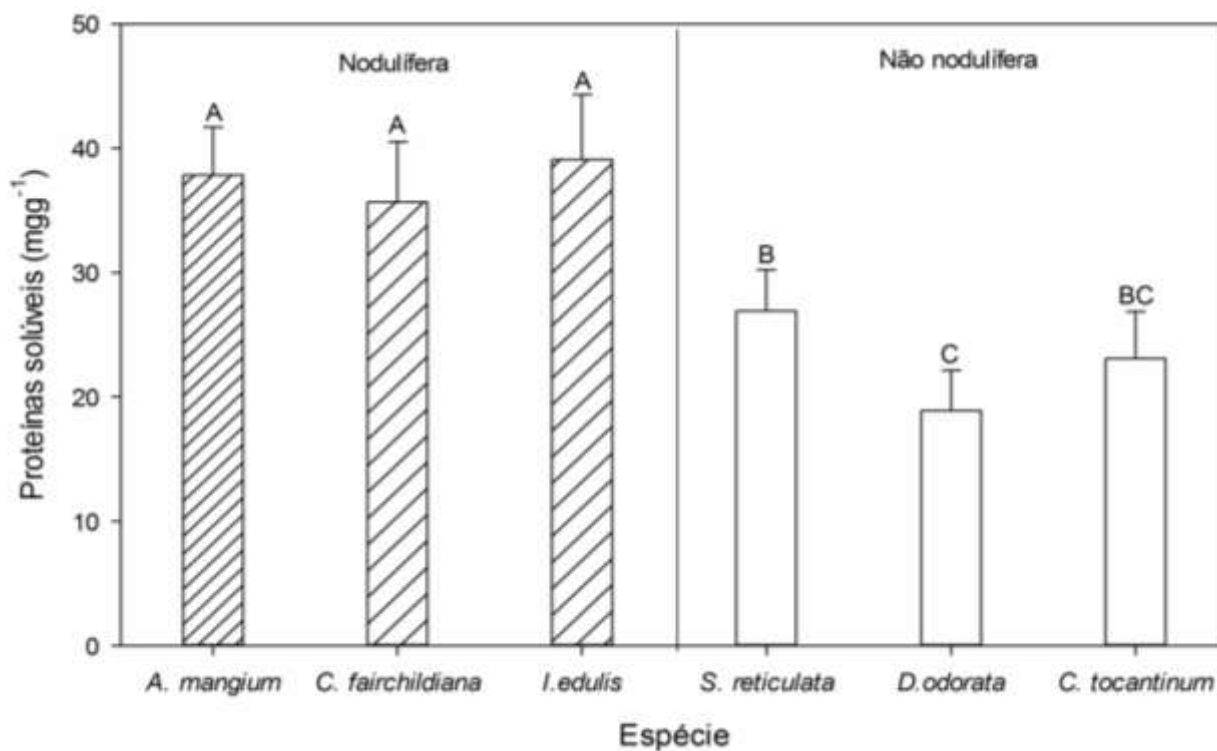
Tabela 2. Teores de clorofilas “a” e “b”, carotenoides, clorofila total e razões entre clorofila a e b e entre clorofila total e carotenoides nas de folhas de espécies de Fabaceae.

	<i>A. mangium</i>			<i>D. odorata</i>			<i>I. edulis</i>			<i>S. reticulata</i>			<i>C. fairchildiana</i>			<i>C. tocaninum</i>								
Clf-A ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0,028	±	0,006	A	0,012	±	0,005	C	0,016	±	0,007	BC	0,014	±	0,005	BC	0,023	±	0,004	AB	0,010	±	0,004	C
Clf-B ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0,009	±	0,002	-	0,004	±	0,002	-	0,006	±	0,003	-	0,005	±	0,002	-	0,008	±	0,001	-	0,005	±	0,005	-
Clf-A / Clf-B ($\text{cm}^2 \text{cm}^{-2}$)	3,052	±	0,070	-	2,784	±	0,226	-	2,887	±	0,463	-	3,001	±	0,121	-	3,026	±	0,466	-	2,512	±	0,773	-
Clf-T ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0,037	±	0,008	A	0,016	±	0,007	B	0,022	±	0,010	AB	0,018	±	0,007	B	0,031	±	0,004	AB	0,015	±	0,009	B
Ctn ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0,011	±	0,002	A	0,005	±	0,002	C	0,007	±	0,003	BC	0,006	±	0,001	C	0,010	±	0,002	AB	0,006	±	0,002	C
Clf-T / Ctn ($\text{cm}^2 \text{cm}^{-2}$)	3,281	±	0,387	-	3,122	±	0,538	-	3,238	±	0,464	-	3,029	±	0,443	-	3,221	±	0,645	-	2,593	±	0,628	-

Médias ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra em uma determinada linha não são significativamente diferentes segundo teste Tukey ao nível de significância de 5%. Valores seguidos por um traço representam variáveis estatisticamente iguais em todos os tratamentos segundo análise de variância para dados paramétricos e teste de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos. Clorofila “a” (Clf-A); Clorofila “b” (Clf-B); Clorofila total (Clf-T); carotenoides (Ctn).

O conteúdo de proteínas solúveis nas folhas (PtnS) foi significativamente superior nas espécies nodulíferas, *A. mangium*, *C. fairchildiana* e *I. edulis*, em comparação com as espécies não nodulíferas, *C. tocaninum*, *S. reticulata* e *D. odorata* (Figura 3).

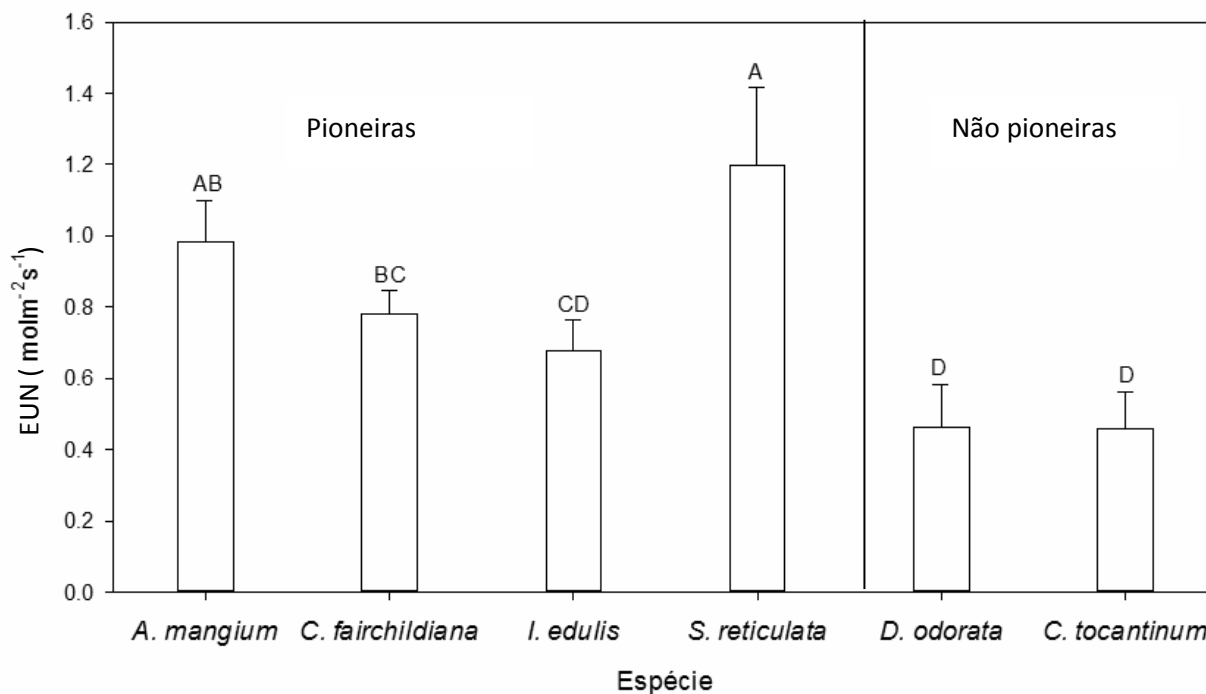
Figura 3. Teor de proteínas solúveis foliares em diferentes espécies de Fabaceae arbóreas.



Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente segundo teste Tukey ao nível de significância de 5%.

A eficiência no uso do nitrogênio variou entre as espécies de 0,46 á 1,20 molm⁻²s⁻¹g⁻¹. Os maiores valores encontrados foram para as espécies *S. reticulata* e *A. mangium* enquanto os menores foram verificados nas espécies *C. tocaninum* e *D. odorata* (Figura 4).

Figura 4. Médias foliares da eficiência no uso do nitrogênio para cada tratamento.



Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente segundo teste Tukey ao nível de significância de 5%.

No presente estudo foi possível verificar correlações positivas entre os conteúdos de nitrogênio foliar e a fotossíntese líquida (P_n) ($P < 5\%$), todavia apenas a fotossíntese teve correlação significativa com a eficiência no uso do nitrogênio (Figura 5). O teor de nitrogênio foliar total (NT) apresentou correlação significativa com os conteúdos de clorofila “a” e proteínas solúveis totais (Tabela 3). A regressão entre nitrogênio total e o teor proteico foliar (P_{tn}) apresentou maiores coeficientes de correlação (44,04%) em relação à regressão entre NT e Clf-A (12,39%). Os teores de nitrato foliar correlacionaram-se positivamente também com as concentrações de clorofila “b”, clorofila total e carotenoides (Tabela 3).

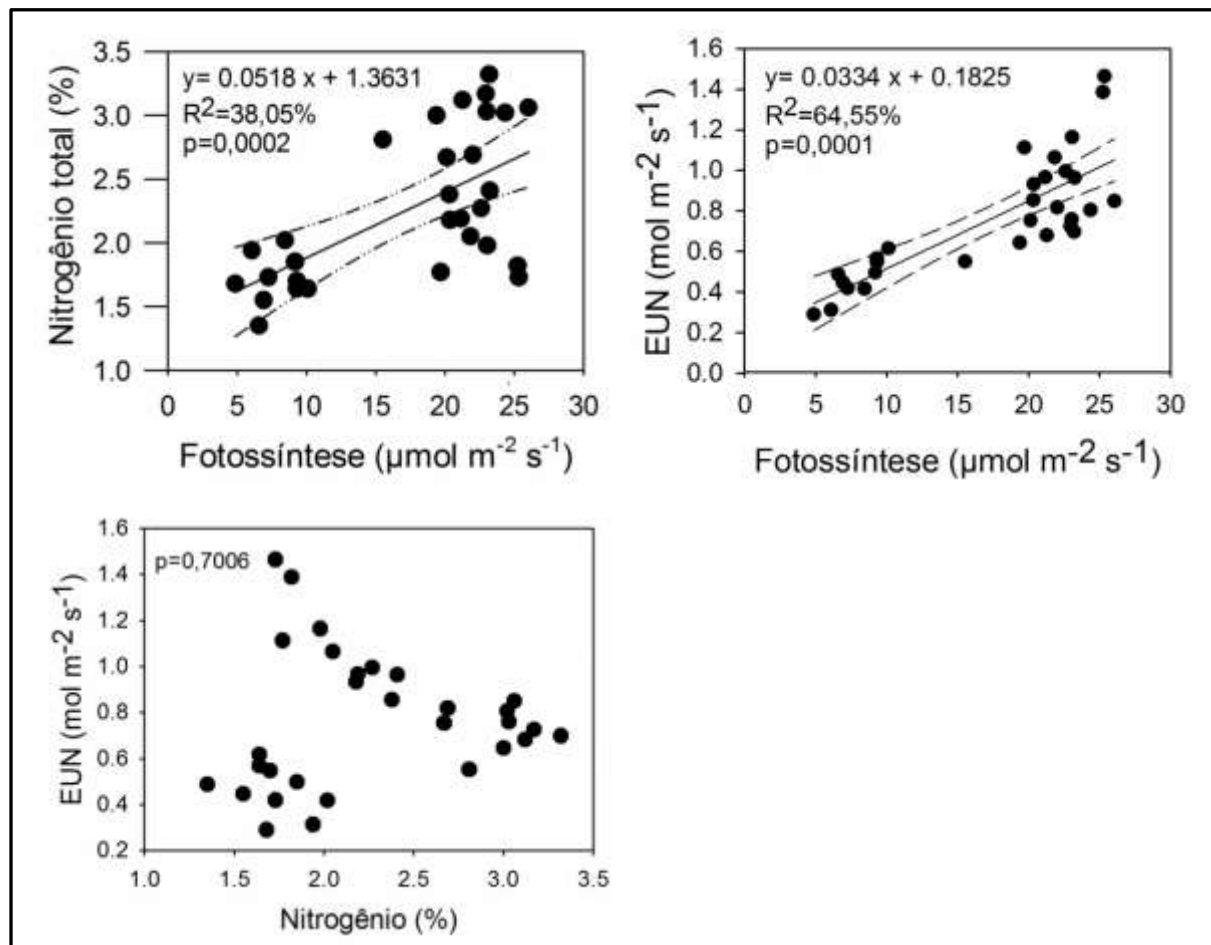


Figura 5. Correlações entre Nitrogênio total, Fotossíntese líquida e Eficiência no uso de nitrogênio (EUA). P representa a probabilidade de significância e R^2 o coeficiente de determinação da regressão. A linha contínua representa a tendência dos dados e as pontilhadas o intervalo de confiança a 95%.

Tabela 3. Correlação das variáveis nitrogênio total (NT) e nitrato foliar (NF) com as variáveis clorofilas “a” e “b”, (Clf-A e ClfB), clorofila total (Clf-T), carotenoides (Cc) e proteínas solúveis totais (Ptn).

		Clf-A	Clf-B	Clf-T	Cc	Ptn
		$\mu\text{mol cm}^{-2}$				mgg^{-1}
NT (gg^{-1})	p (%)	3,19	32,38	5,95	7,33	0,01
	R^2 (%)	12,39	-	-	-	44,04
NF ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	p (%)	0,21	3,46	0,35	0,31	0,01
	R^2 (%)	26,49	11,94	23,96	24,65	30,85

p (%) e R^2 (%) representam, respectivamente, a probabilidade de significância e o coeficiente de correlação das regressões em porcentagem.

A. mangium e *I. edulis* não apresentaram diferenças entre si quanto ao número, peso total e peso médio dos nódulos, sendo superiores a *C. fairchildiana* em todos esses parâmetros (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de número, peso total e peso médio dos nódulos das espécies nodulíferas estudadas.

Espécie	Número *	Peso (g) *	Peso médio (mg/nódulo)
<i>A. mangium</i>	356 (A)	1,912 (A)	6,14 (A)
<i>I. edulis</i>	428 (A)	1,676 (A)	4,55 (A)
<i>C. fairchildiana</i>	74 (B)	0,089 (B)	1,03 (B)

Letras iguais significam médias iguais. (*) significa que as diferenças de médias foram determinadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e separadas em grupos pelo teste post-hoc de Student-Newman-Keuls.

Quanto à forma de nitrogênio mineral e seu local de assimilação preferencial na planta as espécies *A. mangium* e *S. reticulata* exibiram comportamento ímpar em relação às demais espécies. Não sendo, entretanto, possível separar as espécies nodulíferas e pioneiras segundo essa característica. As espécies apresentaram comportamentos específicos independentes dos grupos a que pertencem gerando uma distribuição não normal dos dados (Figura e Tabela 6).

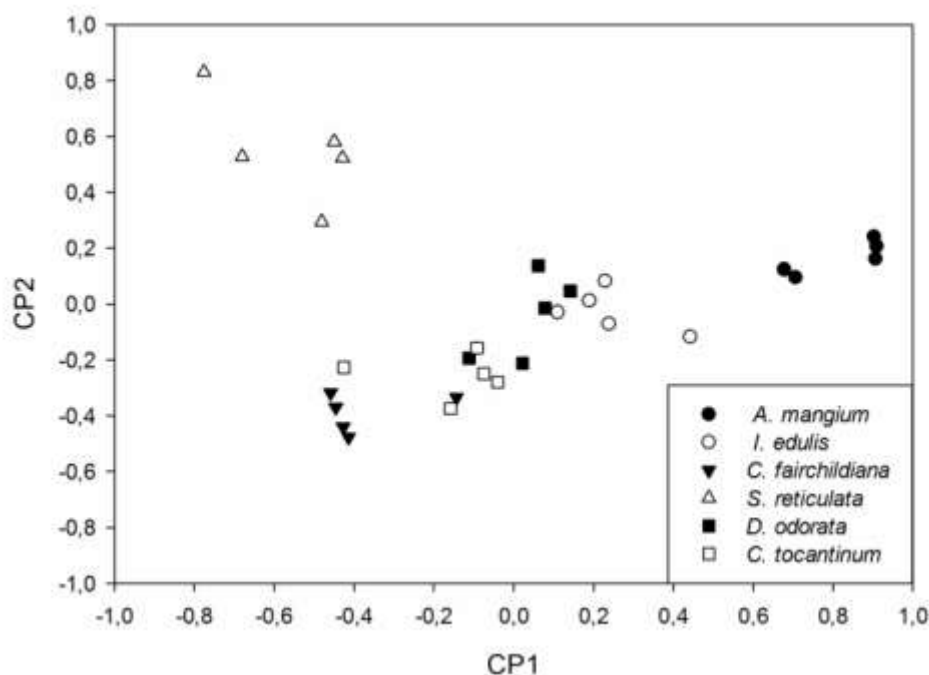


Figura 6. Análise de componentes principais (CP) com eixos 1 e 2 explicando 47,2 e 22,3% da variação dos dados.

Tabela 5. Carga explicativa de cada variável em cada um dos dois eixos representativos dos componentes principais.

Variável	N-F	N-R	N-S	A-F	A-R	A-S	Rdn-F	Rdn-R
CP1	0.41	0.19	0.42	0.43	-0.29	-0.55	-0.16	-0.12
CP2	0.11	-0.02	0.06	-0.12	-0.44	-0.04	0.77	0.42

Já em relação à alocação do nitrogênio foi possível separar as espécies e grupos distintos de nodulíferas e não nodulíferas em função da síntese de proteínas e teores de nitrogênio total ($p < 0,001$) e de pioneiras e não pioneiras em função da produção de pigmentos cloroplastídicos ($p < 0,001$) (Figura 7).

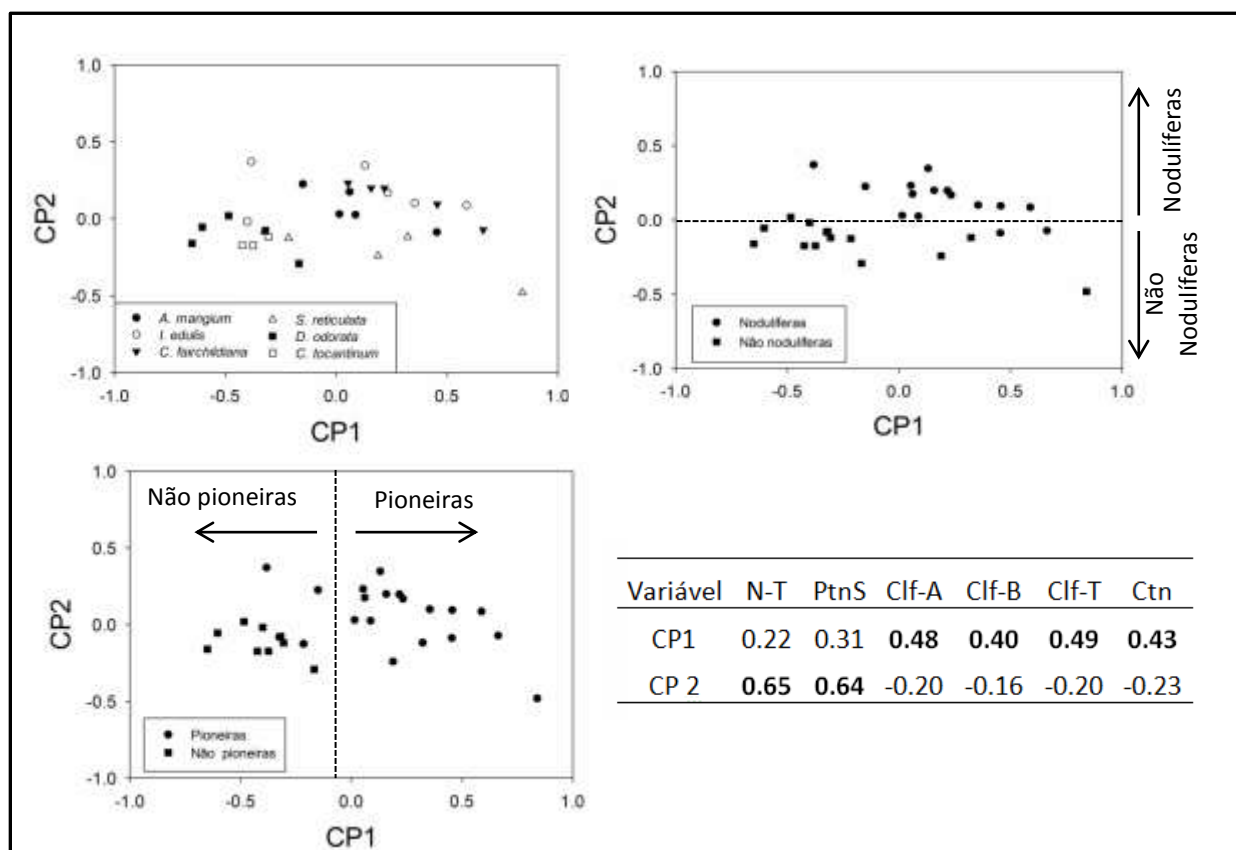


Figura 7. Análise de componentes principais (CP) evidenciando separação das espécies em grupos em função da síntese de pigmentos cloroplastídicos (CP1) e proteínas solúveis (CP2). Com eixos 1 e 2 representando 67,5 e 16,4% da variação respectivamente.

5. DISCUSSÃO

5.1 Nitrogênio no solo

O ciclo do nitrogênio inorgânico do solo pode ser regulado por diferentes características edáficas que afetam sua transformação (Zhang et al. 2013; Wang et al. 2015). Em solos com pHs mais alcalinos e em função da atividade de bactérias ocorre a oxidação de amônio livre por meio da nitrificação e o teor de nitrato é maior em relação ao teor de amônio. No presente de estudo o pH do solo onde os tratamentos foram implantados era 5, esta característica química pode explicar maiores valores de amônio ao longo de todo perfil em relação ao nitrato, uma vez que nestas condições a atividade microbiológica pode ser inibida e os íons amônio continuam protonados e retidos na carga líquida negativa do solo. Além disso, considerando que solos ácidos possuem carga líquida negativa, o nitrato é incapaz de estabelecer ligações eletrostáticas, sendo facilmente lixiviado caso não seja absorvido pelo sistema radicular das plantas (Ward et al. 2007; Galloway et al. 2008; Klotz e Stein 2008; Zhang et al. 2016). O predomínio da forma amoniacal pode ocorrer também em função de fatores como favorecimento da desnitrificação quando espaço poroso do solo está saturado com água, assim como pode haver preferência das plantas e dos microrganismos do solo pela assimilação de nitrato, resultando em um saldo de N amoniacal (NH_4^+ , catiônico) em detrimento do N nítrico (NO_3^- , aniônico) (Owen e Jones 2001; Metay et al. 2007; Crusciol et al. 2011).

5.2 Nitrogênio na planta

Há indícios de que as plantas tropicais tenham desenvolvido estratégias específicas para a obtenção e mobilização interna de nitrogênio, adaptando-se a distintas condições de concentração e distribuição deste nutriente no solo em que se desenvolvem (Aoyagi e Kitayama 2016; Tanaka-Oda et al. 2016). Os conteúdos de nitrato radicular para *A. mangium* e *C. tocanthum* foram iguais entre si e aproximadamente duas vezes maiores que nas demais espécies. Enquanto a atividade da redutase do nitrato variou apenas 2,95% entre raízes e folhas de *A. mangium*, esta foi mais que duas vezes maior nas raízes que nas folhas de *C. tocanthum*. Além disso, as concentrações de nitrato nas folhas e na seiva do xilema foram superiores na *A.*

mangium, que apresentou atividade da redutase do nitrato foliar 233% superior às encontradas em *C. tocaninum*, o qual acumulou e assimilou nitrato majoritariamente nas raízes. Deste modo a análise desses resultados sugere que *A. mangium* e *C. tocaninum* utilizam estratégias distintas para assimilação do nitrato quando fertilizadas. O acúmulo de nitrato nas raízes de *C. tocaninum* ser superior ao das demais espécies é provavelmente consequência de preferência nesta espécie de assimilação radicular em detrimento a assimilação foliar. Os teores de nitrato encontrados para *A. mangium* sugerem uma maior capacidade de acessar esse recurso, permitindo assim, de forma simultânea, maiores teores de nitrato nas raízes, folhas e seiva do xilema, e elevada atividade da redutase do nitrato foliar e radicular.

Em espécies secundárias a ciclagem interna de nitrogênio é a estratégia principal de obtenção deste nutriente, ocasionando menor atividade assimilatória de nitrato nas folhas e reduzido conteúdo de nitrato (Aider et al. 2003). Embora, os teores de nitrato foliar e radicular de *D. odorata*, espécie secundária, tenham sido os menores dentre todas as espécies estudadas estes teores podem estar relacionados à elevada intensidade da atividade da redutase do nitrato em ambos os órgãos das plantas. Isto indica que a espécie é capaz de se adaptar a condições de alta intensidade luminosa nas quais há excesso de energia fotoquímica e favorecimento à saturação da assimilação do carbono. Nestas condições a assimilação de nitrato nas folhas ocorre com menor gasto de energia, pois sua redução é induzida de forma direta por produtos das reações fotoquímicas e sem concorrência com a fixação do dióxido de carbono (Sodek 2004; Nicodemus et al. 2008; Bloom 2015).

Devido a toxicidade celular do amônio tecidos vegetais requerem que sua assimilação seja rápida de modo a evitar seu acúmulo e por esta razão, os tecidos detêm um sistema de assimilação eficiente com alta afinidade, que funciona em concentrações baixas de amônio (Sodek 2004; Xu et al. 2012).

Uma vez que o amônio é rapidamente assimilado quando absorvido o seu acúmulo nas raízes da espécie *C. fairchildiana* pode estar associado a elevadas taxas de absorção e assimilação radicular. Além dos elevados teores de amônio radicular a espécie *C. fairchildiana* apresentou a maior diferença percentual entre a atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes (325,9% maior nas raízes), indicando preferência da espécie pela assimilação do nitrogênio nas raízes independente da forma mineral considerada.

Muitas espécies têm preferência em absorver nitrogênio mineral na forma de amônio, o que possivelmente está relacionado ao menor gasto de energia quando comparado com o processo de assimilação de nitrato, o qual precisa ser reduzido a amônio antes de ser assimilado em compostos nitrogenados. Outros fatores relacionados com a regulação osmótica, balanço nutricional e formas nitrogenadas predominantes no solo podem, porém, influenciar a forma de nitrogênio preferencialmente absorvida pelas plantas (Warren 2009; Helali et al. 2010).

A produção de nódulos de *C. fairchildiana* foi baixa, tanto em números quanto em massa, sendo inferior às produções das demais espécies nodulíferas fertilizadas, o que deve estar relacionado a diferentes estratégias de utilização de nitrogênio nessa espécie. Na literatura há relatos da redução da produção e crescimento de nódulos como consequência da fertilização de espécies fixadoras de nitrogênio tanto com nitrato quanto com amônio (Bollman e Vessey 2006; Dan e Brix 2009; Glyan'ko et al. 2009; Barron et al. 2011). Entretanto, efeitos positivos do amônio no tamanho e quantidade de nódulos já foram também descritos em espécies florestais tropicais (Camargos e Sodek 2010; Omena-garcia et al. 2011) indicando que a influência inibitória do amônio e do nitrato na nodulação não é um efeito generalizado, variando interespecificamente. Os dados sugerem que a eficiência da simbiose pode ser influenciada pela forma nitrogenada preferencialmente assimilada por cada espécie, por exemplo *C. fairchildiana* quando comparada com as demais espécies nodulíferas apresentou além de menor quantidade e tamanho dos nódulos as menores taxas de atividade da redutase do nitrato foliar, menores teores de nitrato nas folhas e maior concentração de amônio nas raízes.

A redutase do nitrato desempenha papel chave no processo de redução do nitrato e pode fornecer informações importantes sobre a utilização do nitrato nas plantas, o que varia em função das características de cada espécie (Pfautsch et al. 2009; Lima et al. 2015). *S. reticulata* apresentou os mais altos níveis de atividade da enzima redutase do nitrato tanto na raiz quanto na folha dentre todas as espécies estudadas e, como reflexo, baixos conteúdos foliares e radiculares de ambos NO_3^- e NH_4^+ . A atividade da redutase do nitrato foliar foi 85% superior a radicular, indicando preferência dessa espécie pela assimilação do nitrato nas folhas. Além disso, a espécie apresentou elevada concentração de amônio na seiva do xilema em contraposição ao baixo teor deste cátion nas folhas, indicando que ocorre intensa assimilação de amônio na folha. *I. edulis* apresentou valores de atividade da redutase do nitrato mais de duas vezes maiores nas folhas que nas raízes, entretanto a razão entre o conteúdo de nitrato foliar e radicular foi a maior entre todas

as espécies. Desta maneira, a espécie manteve estoques elevados de nitrato nas folhas em detrimento a sua assimilação radicular.

Os teores proteicos foliares foram maiores nas espécies *A. mangium*, *I. edulis* e *C. fairchildiana*, todas com a capacidade de realizar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio. Este resultado sugere que a fixação biológica de nitrogênio tem efeito positivo sobre a produção de proteínas mesmo em condições nas quais nitrogênio não é um fator limitante. Estes resultados corroboram com o trabalho de Ramana *et al.* no qual se verificou maiores concentrações de proteína bruta nas folhas de espécies fixadoras de nitrogênio em comparação com espécies não fixadoras (2000).

D. odorata e *C. tocaninum* apresentaram as menores concentrações de clorofila “a” e clorofila total, além dos menores teores proteicos dentre as espécies avaliadas. Estes resultados estão associados com as, também menores, eficiências no uso do nitrogênio, já que o nitrogênio é essencial para o funcionamento adequado do aparato fotossintético, principalmente por ser componente das moléculas de clorofila e da enzima Rubisco (Makoto e Koike 2007).

Em *S. reticulata*, mesmo apresentando teores de clorofila “a” e clorofila total semelhantes aos teores verificados para *D. odorata* e *C. tocaninum*, a eficiência no uso do nitrogênio foi maior e esta pode estar relacionada a mecanismos mais eficientes de captura e uso de energia como proposto para esta espécie (Gonçalves *et al.* 2005).

A Clf-A absorve energia em níveis mais elevados que a Clf-B, enquanto os carotenoides são componentes essenciais a fotoproteção do aparato fotossintético. (Krause *et al.* 2001; Kalaji *et al.* 2012). Dessa forma, as razões Clf-A/Clf-B e Clf-T/Cc estão diretamente relacionadas com a eficiência na absorção de energia e na prevenção a danos fotooxidativos (Hendry e Price 1993; Müller *et al.* 2001; Hallik *et al.* 2012). Por isso, as razões entre os teores de clorofila total e carotenoides e entre clorofilas “a” e “b” não apresentarem diferenças significativas entre as espécies indica que todas exibem potencial para fazer frente a eventuais danos fotooxidativos desenvolvendo fotoproteção e aclimatação em ambientes com alta irradiância.

A correlação positiva entre as variáveis nitrogênio total e capacidade fotossintética encontrada neste estudo, vai ao encontro de vários outros estudos realizados com espécies tropicais (Carswell *et al.* 2000; Meir *et al.* 2002, 2007; Domingues *et al.* 2005; Kumagai *et al.* 2006; Vårhammar *et al.* 2015). Existem, entretanto na literatura trabalhos que relatam a existência de correlação fraca ou inexistente entre estas variáveis. No entanto, os autores

atribuem como causa da diferença entre as espécies a distribuição relativa de nitrogênio para as funções fotossintéticas, com espécies alocando proporcionalmente quantidades de nitrogênio distintas para compostos relacionados às atividades fotossintéticas (Coste et al. 2005; van de Weg et al. 2012; Dusenge et al. 2015).

Cabe ainda destacar que, apesar do conteúdo de nitrogênio foliar e da fotossíntese líquida (Pn) apresentarem correlação significativa entre si, apenas a fotossíntese tem correlação significativa com a eficiência no uso do nitrogênio. Isto ocorre provavelmente porque as espécies não estão em condições de limitação de nitrogênio e dessa forma a capacidade fotossintética em si é mais relevante que a capacidade de reduzir o consumo de nitrogênio.

A correlação mais forte entre os teores de nitrogênio total e os teores de proteínas solúveis em comparação com a correlação entre os teores de nitrogênio total e os teores de pigmentos cloroplastídicos foliares pode estar relacionada à alocação preferencial de nitrogênio para produção de proteínas foliares em detrimento à produção de pigmentos fotossintéticos nas folhas. Uma vez que, nas condições de exposição das plantas do experimento à luz são esperados menores investimentos em compostos destinados à captação de luz e maior síntese de compostos relacionados à carboxilação fotossintética, como a Rubisco que compõem, aproximadamente, 30% das proteínas em folhas fotossintetizantes. Estas características foram associadas a espécies intolerantes a sombra (Dusenge et al. 2015). Existe correlação positiva entre as concentrações de clorofila “b”, clorofila total e carotenoides com os teores de nitrato foliar, mas não com os teores de nitrogênio total. Além disso, a diferença entre os coeficientes de correlação entre os teores de nitrogênio total e os teores de pigmentos cloroplastídicos e proteínas foliares são próximos. Isto indica que o excesso de nitrato que é acumulado no vacúolo (Martinoia et al. 1981; Granstedt e Huffaker 1982; Hawkesford et al. 2012) tem influência mais proporcional que o conteúdo total de nitrogênio na produção de pigmentos fotossintéticos e proteínas.

A análise de componentes principais com variáveis relacionadas ao acúmulo, transporte e assimilação das formas de nitrogênio mineral não foi capaz de separar as espécies em grupos funcionais distintos, fortalecendo a relação específica dessas variáveis (Stewart et al. 1988, 1992, 1993; Pate et al. 1993; Aidar et al. 2003; Aoyagi e Kitayama 2016; Tanaka-Oda et al. 2016). Já para características relacionadas a alocação de nitrogênio entre proteínas e pigmentos cloroplastídicos foi possível distinguir as espécies entre os grupos de pioneiras e não pioneiras e

os grupos nodulíferas e não nodulíferas. Isso reforça a relação entre estratégias de alocação do nitrogênio e traços funcionais (Dusenge et al. 2015).

6. CONCLUSÃO

As formas de N no solo, nitrato ou amônio, se mantiveram com pequenas variações ao longo do período experimental sugerindo que o tempo de cultivo das espécies não foi o suficiente para ocasionar mudanças nos teores de compostos inorgânicos nitrogenados no solo em função das espécies.

As estratégias de mobilização e assimilação de nitrato variaram entre as espécies e não em função das subfamílias ou da capacidade de estabelecimento de relações com bactérias fixadoras de nitrogênio.

A capacidade de produção proteica foi positivamente associada à capacidade das espécies de associar-se simbioticamente com bactérias fixadoras de nitrogênio e a capacidade fotossintética específica foi mais determinante na eficiência do uso do nitrogênio que o conteúdo de nitrogênio foliar total. E assim dois grupos de espécies associados aos traços funcionais das fixadoras de nitrogênio e de pioneiras parecem estar mais relacionados com estoque de proteínas foliares e com a alta fotossíntese/EUN, respectivamente.

A alocação de nitrogênio foliar foi maior na produção de proteínas que de pigmentos fotossintéticos e o conteúdo de nitrato foliar se relacionou positivamente com o conteúdo de todos os pigmentos fotossintéticos. Estes resultados indicam que a variação na mobilização, assimilação e alocação do nitrogênio ocorre principalmente em nível específico, no entanto padrões gerais na alocação de nitrogênio em proteínas e pigmentos fotossintéticos são observados em função do conteúdo nítrico e nitrogenado, bem como em razão dos grupos funcionais aos quais as espécies pertencem.

7. REFERÊNCIAS

- Adams, M. A., T. L. Turnbull, J. I. Sprent, e N. Buchmann. 2016. Legumes are different: Leaf nitrogen, photosynthesis, e water use efficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113(15):4098–4103.
- Aidar, M. P. M., S. Schmidt, G. Moss, G. R. Stewart, e C. A. Joly. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell Environ.* 26(3):389–

399.

- Anderson, S. E., e J. S. I. Ingram. 1993. *Tropical soil biology e fertility: A handbook of methods*,. 2nd ed. CAB international, washington. 221 p.
- Aoyagi, R., e K. Kitayama. 2016. Nutrient allocation among plant organs across 13 tree species in three Bornean rain forests with contrasting nutrient availabilities. *J. Plant Res.* 129(4):675–684.
- Assefa, D., B. Rewald, H. Sandén, C. Rosinger, A. Abiyu, B. Yitaferu, e D. L. Godbold. 2017. Deforestation e land use strongly effect soil organic carbon e nitrogen stock in Northwest Ethiopia. *Catena*. 153:89–99.
- Barron, A. R., D. W. Purves, e L. O. Hedin. 2011. Facultative nitrogen fixation by canopy legumes in a lowland tropical forest. *Oecologia*. 165(2):511–520.
- Batjes, N. H., e W. G. Sombroek. 1997. Possibilities for carbon sequestration in tropical e subtropical soils. *Glob. Chang. Biol.* 3(2):161–173.
- Bialeski, R. L., e N. A. Turner. 1966. Separation e estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis e chromatography. *Anal. Biochem.* 17(2):278–293.
- Bloom, A. J. 2015. The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. *Curr. Opin. Plant Biol.* 25(2):10–16.
- Bloom, A. J., J. S. R. Asensio, L. Randall, S. Rachmilevitch, A. B. Cousins, e E. A. Carlisle. 2012. CO₂ enrichment inhibits shoot nitrate assimilation in C₃ but not C₄ plants e slows growth under nitrate in C₃ plants. *Ecology*. 93(2):355–367.
- Bollman, M. I., e J. K. Vessey. 2006. Differential effects of nitrate e ammonium supply on nodule initiation, development, e distribution on roots of pea (*Pisum sativum*). *Can. J. Bot.* 84(6):893–903.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid e sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72(1–2):248–254.
- Camargos, L. S., e L. Sodek. 2010. Nodule growth e nitrogen fixation of *Calopogonium mucunoides* L. show low sensitivity to nitrate. *Symbiosis*. 51(2):167–174.
- Cameron, K. C., H. J. Di, e J. L. Moir. 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Ann. Appl. Biol.* 162(2):145–173.
- Carlisle, E., S. Myers, V. Raboy, e A. Bloom. 2012. The effects of inorganic nitrogen form e co₂ concentration on wheat yield e nutrient accumulation e distribution. *Front. Plant Sci.* 3(September):1–13.
- Carswell, F. E., P. Meir, E. V. Wandelli, L. C. M. Bonates, B. Kruijt, E. M. Barbosa, A. D. Nobre, J. Grace, e P. G. Jarvis. 2000. Photosynthetic capacity in a central Amazonian rain forest. *Tree Physiol.* 20(3):179–186 Available online at: <https://academic.oup.com/treephys/article-lookup/doi/10.1093/treephys/20.3.179>.

- Coste, S., J.-C. Roggy, P. Imbert, C. Born, D. Bonal, e E. Dreyer. 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration e shade tolerance. *Tree Physiol.* 25(9):1127–1137.
- Crusciol, C. A. C., R. A. Garcia, G. S. A. Castro, e C. A. Rosolem. 2011. Nitrate role in basic cation leaching under no-till. *Rev. Bras. Ciência do Solo.* 35(6):1975–1984.
- Dan, T. H., e H. Brix. 2009. Growth responses of the perennial legume *Sesbania sesban* to NH₄ e NO₃ nutrition e effects on root nodulation. *Aquat. Bot.* 91(3):238–244.
- Domingues, T. F., J. a Berry, L. a Martinelli, J. Ometto, e J. R. Ehleringer. 2005. Parameterization of canopy structure e leaf-level gas exchange for an eastern Amazonian tropical rain forest (Tapajos National Forest, Para, Brazil). *Earth Interact.* 9(17):23.
- Dong, T., J. Li, Y. Zhang, H. Korpelainen, U. Niinemets, e C. Li. 2015. Partial shading of lateral branches affects growth, e foliage nitrogen- e water-use efficiencies in the conifer *Cunninghamia lanceolata* growing in a warm monsoon climate. *Tree Physiol.* 35(6):632–643.
- Ducke, J. A. 1981. *Handbook of Legumes of World Economic Importance*. Plenum Press. 345 p.
- Dusenge, M. E., G. Wallin, J. Gårdesten, F. Niyonzima, L. Adolfsson, D. Nsabimana, e J. Uddling. 2015. Photosynthetic capacity of tropical montane tree species in relation to leaf nutrients, successional strategy e growth temperature. *Oecologia.* 177(4):1183–1194.
- Dybzinski, R., C. E. Farrior, S. Ollinger, e S. W. Pacala. 2013. Interspecific vs intraspecific patterns in leaf nitrogen of forest trees across nitrogen availability gradients. *New Phytol.* 200(1):112–121.
- Eletronorte. 1997. *Memória Técnica, Usina Hidrelétrica Balbina/ Centrais Elétricas do Norte do Brasil-Eletronorte*. Brasília. 550 p.
- Faria, S. M., A. G. Diedhiou, H. C. de Lima, R. D. Ribeiro, A. Galiana, A. F. Castilho, e J. C. Henriques. 2010. Evaluating the nodulation status of leguminous species from the Amazonian forest of Brazil. *J. Exp. Bot.* 61(11):3119–3127.
- Fleischer, K., K. T. Rebel, M. K. van der Molen, J. W. Erisman, M. J. Wassen, E. E. van Loon, L. Montagnani, et al. 2013. The contribution of nitrogen deposition to the photosynthetic capacity of forests. *Global Biogeochem. Cycles.* 27(1):187–199.
- Galloway, J. N., A. R. Townsend, J. W. Erisman, M. Bekunda, Z. Cai, J. R. Freney, L. A. Martinelli, S. P. Seitzinger, e M. A. Sutton. 2008. Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, e Potential Solutions. *Science (80-.).* 320(5878):889–892.
- Glyan'ko, A. K., G. G. Vasil'eva, N. B. Mitanova, e A. A. Ishchenko. 2009. The influence of mineral nitrogen on legume-rhizobium symbiosis. *Biol. Bull.* 36(3):250–258.
- Gonçalves, J. F. de C., e U. M. dos Santos Júnior. 2005. Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Brazilian J. Plant Physiol.* 17(3):307–313.

- Granstedt, R. C., e R. C. Huffaker. 1982. Identification of the leaf vacuole as a major nitrate storage pool. *Plant Physiol.* 70(2):410–413.
- Hallik, L., Ü. Niinemets, e O. Kull. 2011. Photosynthetic acclimation to light in woody e herbaceous species: a comparison of leaf structure, pigment content e chlorophyll fluorescence characteristics measured in the field. *Plant Biol.* 14(1):no-no.
- Hawkesford, M., W. Horst, T. Kichey, H. Lambers, J. Schjoerring, M. I. Skrumsager, e P. White. 2012. Functions of macronutrients. P. 135–190 in *Marscher's mineral nutrition of higher plants*, Ed. P Marschner.
- Hedin, L. O., E. N. J. Brookshire, D. N. L. Menge, e A. R. Barron. 2009. The nitrogen paradox in tropical forest ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40(1):613–635.
- Hendry, G. A. F., e A. H. Price. 1993. Stress indicators: chlorophylls e carotenoids. P. 148–152 in *Methods in Comparative Plant Ecology*, Hendry, G.A.F., e J.P. Grime (eds.). Chapman e Hall.
- Holste, E. K., e R. K. Kobe. 2017. Tree species e soil nutrients drive tropical reforestation more than associations with mycorrhizal fungi. *Plant Soil.* 410(1–2):283–297 Available online at: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-3013-z>.
- Houter, N. C., e T. L. Pons. 2014. Gap effects on leaf traits of tropical rainforest trees differing in juvenile light requirement. *Oecologia.* 175(1):37–50.
- Jimenez, R. R., and J. K. Ladha. 1993. Automated elemental analysis: A rapid and reliable but expensive measurement of total carbon and nitrogen in plant and soil samples. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 24(15–16):1897–1924.
- Kalaji, H. M., R. Carpentier, S. I. Allakhverdiev, e K. Bosa. 2012. Fluorescence parameters as early indicators of light stress in barley. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 112:1–6.
- Keeney, D. R. e Nelson, D. W. 1982. Nitrogen-Inorganic forms. P. 643–698 in *Methods of Soil Analysis part 2*, Miller, R. H, Keeney, D.R. (ed.). American society of Agronomy, Madison.
- Klotz, M. G., e L. Y. Stein. 2008. Nitrifier genomics e evolution of the nitrogen cycle. *FEMS Microbiol. Lett.* 278(2):146–156.
- Krause, G. H., O. Y. Koroleva, J. W. Dalling, e K. Winter. 2001. Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. *Plant, Cell Environ.* 24(12):1345–1352.
- Kumagai, T., T. Ichie, M. Yoshimura, M. Yamashita, T. Kenzo, T. M. Saitoh, M. Ohashi, M. Suzuki, T. Koike, e H. Komatsu. 2006. Modeling CO₂ exchange over a Bornean tropical rain forest using measured vertical e horizontal variations in leaf-level physiological parameters e leaf area densities. *J. Geophys. Res. Atmos.* 111(D10):n/a-n/a.
- LeBauer, D. S., e K. K. Treseder. 2008. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology.* 89(2):371–379.

- Leuzinger, S., Y. Luo, C. Beier, W. Dieleman, S. Vicca, e C. Körner. 2011. Do global change experiments overestimate impacts on terrestrial ecosystems? *Trends Ecol. Evol.* 26(5):236–241.
- Lichtenthaler, H. K., e A. R. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids e chlorophylls a e b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11(5):591–592.
- Lima, E. G. da S., B. M. Maltarolo, G. A. dos S. Nogueira, D. T. de F. Teixeira, K. P. S. Cardoso, G. G. Dantas, T. B. Oliveira, L. C. Souza, R. C. L. Costa, e C. F. Oliveira Neto. 2015. Nitrate reductase activity (Nra) e levels of nitrogenous compounds in leaves of crabwood (*Carapa guianensis* Aubl.) under three water regimes e suspension of the stresses. *Aust. J. Crop Sci.* 9(11):1035–1041.
- Luo, D., R. Cheng, Z. Shi, W. Wang, G. Xu, e S. Liu. 2016. Impacts of nitrogen-fixing e non-nitrogen-fixing tree species on soil respiration e microbial community composition during forest management in subtropical China. *Ecol. Res.* 31(5):683–693.
- M'rah Helali, S., H. Nebli, R. Kaddour, H. Mahmoudi, M. Lachaâl, e Z. Ouerghi. 2010. Influence of nitrate—ammonium ratio on growth e nutrition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil.* 336(1–2):65–74.
- Magnani, F., M. Mencuccini, M. Borghetti, P. Berbigier, F. Berninger, S. Delzon, A. Grelle, et al. 2007. The human footprint in the carbon cycle of temperate e boreal forests. *Nature.* 447(7146):849–851.
- Majerowicz, N., M. G. C. França, L. E. P. Peres, L. O. Médiçi, e S. A. Figueiredo. 2003. *Fisiologia Vegetal - Curso Prático*. Âmbito Cultural Edições Ltda. 138 p.
- Makoto, K., e T. Koike. 2007. Effects of nitrogen supply on photosynthetic e anatomical changes in current-year needles of *Pinus koraiensis* seedlings grown under two irradiances. *Photosynthetica.* 45(1):99–104.
- Martinoia, E., U. Heck, e A. Wiemken. 1981. Vacuoles as storage compartments for nitrate in barley leaves. *Nature.* 289(5795):292–294.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clin. Chim. Acta.* 17(2):297–304.
- Meir, P., B. Kruijt, M. Broadmeadow, E. Barbosa, O. Kull, F. Carswell, A. Nobre, e P. G. Jarvis. 2002. Acclimation of photosynthetic capacity to irradiance in tree canopies in relation to leaf nitrogen concentration e leaf mass per unit area. *Plant, Cell Environ.* 25(3):343–357.
- Meir, P., P. E. Levy, J. Grace, e P. G. Jarvis. 2007. Photosynthetic parameters from two contrasting woody vegetation types in West Africa. *Plant Ecol.* 192(2):277–287.
- Melillo, J. M., S. Butler, J. Johnson, J. Mohan, P. Steudler, H. Lux, E. Burrows, et al. 2011. Soil warming, carbon-nitrogen interactions, e forest carbon budgets. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108(23):9508–9512.
- Menge, D. N. L., e R. L. Chazdon. 2016. Higher survival drives the success of nitrogen-fixing

- trees through succession in Costa Rican rainforests. *New Phytol.* 209(3):965–977.
- Metay, A., R. Oliver, E. Scopel, J.-M. Douzet, J. Aloisio Alves Moreira, F. Maraux, B. J. Feigl, e C. Feller. 2007. N₂O e CH₄ emissions from soils under conventional e no-till management practices in Goiânia (Cerrados, Brazil). *Geoderma.* 141(1–2):78–88.
- Muller, P., X.-P. Li, e K. K. Niyogi. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125(4):1558–1566.
- Murty, D., M. U. F. Kirschbaum, R. E. Mcmurtrie, e H. Mcgilvray. 2002. Does conversion of forest to agricultural land change soil carbon e nitrogen? a review of the literature. *Glob. Chang. Biol.* 8(2):105–123.
- Nichols, J. D., e F. L. Carpenter. 2006. Interplanting *Inga edulis* yields nitrogen benefits to *Terminalia amazonia*. *For. Ecol. Manage.* 233(2–3):344–351.
- Nicodemus, M. A., K. F. Salifu, e D. F. Jacobs. 2008. Nitrate reductase activity e nitrogen compounds in xylem exudate of *Juglans nigra* seedlings: relation to nitrogen source e supply. *Trees.* 22(5):685–695 Available online at: <http://link.springer.com/10.1007/s00468-008-0226-7>.
- Omena-garcia, R. P., G. C. Justino, e C. Eduardo. 2011. Fixação biológica e transporte de nitrogênio em *Inga edulis* Mart. submetida ao tratamento com nitrogênio fixado (NO₃⁻ e NH₄⁺). (3):1–4.
- Osada, N., Y. Yasumura, e A. Ishida. 2014. Leaf nitrogen distribution in relation to crown architecture in the tall canopy species, *Fagus crenata*. *Oecologia.* 175(4):1093–1106.
- Owen, A. ., e D. . Jones. 2001. Competition for amino acids between wheat roots e rhizosphere microorganisms e the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biol. Biochem.* 33(4–5):651–657.
- Pate, J. S., G. R. Stewart, e M. Unkovich. 1993. 15N natural abundance of plant e soil components of a *Banksia* woodland ecosystem in relation to nitrate utilization, life form, mycorrhizal status e N₂-fixing abilities of component species. *Plant, Cell Environ.* 16(4):365–373.
- Pfautsch, S., A. Gessler, M. A. Adams, e H. Rennenberg. 2009. Using amino-nitrogen pools e fluxes to identify contributions of understory *Acacia* spp. to overstory *Eucalyptus regnans* e stand nitrogen uptake in temperate Australia. *New Phytol.* 183(4):1097–1113.
- Quinn Thomas, R., C. D. Canham, K. C. Weathers, e C. L. Goodale. 2010. Increased tree carbon storage in response to nitrogen deposition in the US. *Nat. Geosci.* 3(1):13–17.
- Raaimakers, D., R. G. A. Boot, P. Dijkstra, e S. Pot. 1995. Photosynthetic rates in relation to leaf phosphorus content in pioneer versus climax tropical rainforest trees. *Oecologia.* 102(1):120–125.
- Ramana, D. B. ., S. Singh, K. . Solanki, e A. . Negi. 2000. Nutritive evaluation of some nitrogen e non-nitrogen fixing multipurpose tree species. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88(1–2):103–111.

- Ramos, M. 2001. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops e the residual benefit to a subsequent maize crop using ^{15}N -isotope techniques. *J. Biotechnol.* 91(2–3):105–115.
- dos Santos, U. M., J. F. de Carvalho Gonçalves, e T. R. Feldpausch. 2006. Growth, leaf nutrient concentration e photosynthetic nutrient use efficiency in tropical tree species planted in degraded areas in central Amazonia. *For. Ecol. Manage.* 226(1–3):299–309.
- Siddique, I., V. L. Engel, J. A. Parrotta, D. Lamb, G. B. Nardoto, J. P. H. B. Ometto, L. A. Martinelli, e S. Schmidt. 2008. Dominance of legume trees alters nutrient relations in mixed species forest restoration plantings within seven years. *Biogeochemistry.* 88(1):89–101.
- Sodek, L. 2004. Metabolismo do nitrogênio. *Fisiol. Veg.* (1):470.
- Sprent, J. I. 2007. Evolving ideas of legume evolution e diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation. *New Phytol.* 174(1):11–25.
- Stewart, G. R., E. E. Hegarty, e R. L. Specht. 1988. Inorganic nitrogen assimilation in plants of Austrian rainforest communities. *Physiol. Plant.* 74(1):26–33.
- Stewart, G. R., C. A. Joly, e N. Smirnoff. 1992. Partitioning of inorganic nitrogen assimilation between the roots e shoots of cerrado e forest trees of contrasting plant communities of Southeast Brazil. *Oecologia.* 91:511–517.
- Stewart, G. R., J. S. Pate, e M. Unkovich. 1993. Characteristics of inorganic nitrogen assimilation of plants in fire-prone Mediterranean-type vegetation. *Plant, Cell Environ.* 16(4):351–363.
- Stewart, G. R., M. Popp, I. Holzappel, J. A. Stewart, e A. Dickie-Eskew. 1986. Localization of nitrate reduction in ferns e its relationship to environment e physiological characteristics. *New Phytol.* 104(3):373–384 Available online at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8137.1986.tb02905.x>.
- Tanaka-Oda, A., T. Kenzo, Y. Inoue, M. Yano, K. Koba, e T. Ichie. 2016. Variation in leaf e soil $\delta^{15}\text{N}$ in diverse tree species in a lowland dipterocarp rainforest, Malaysia. *Trees.* 30(2):509–522.
- Tesfaye, M. A., F. Bravo, R. Ruiz-Peinado, V. Pando, e A. Bravo-Oviedo. 2016. Impact of changes in land use, species e elevation on soil organic carbon e total nitrogen in Ethiopian Central Highlands. *Geoderma.* 261:70–79.
- Vårhammar, A., G. Wallin, C. M. McLean, M. E. Dusenge, B. E. Medlyn, T. B. Hasper, D. Nsabimana, e J. Uddling. 2015. Photosynthetic temperature responses of tree species in Rwanda: evidence of pronounced negative effects of high temperature in montane rainforest climax species. *New Phytol.* 206(3):1000–1012.
- Veloso, H. P., A. L. R. Rangel Filho, e J. C. A. Lima. 1991. *Classificação da Vegetação Brasileira Adaptada a um Sistema Universal.* 1-124 p.
- Vendrell, P. F., e J. Zupancic. 1990a. Determination of soil nitrate by transnitration of salicylic

- acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 21(13–16):1705–1713.
- Vendrell, P. F., e J. Zupancic. 1990b. Determination of soil nitrate by transnitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 21(13–16):1705–1713.
- Vitousek, P. M., D. N. L. Menge, S. C. Reed, e C. C. Cleveland. 2013. Biological nitrogen fixation: rates, patterns e ecological controls in terrestrial ecosystems. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 368(1621):20130119–20130119.
- Wang, Y., S. Cheng, H. Fang, G. Yu, X. Xu, M. Xu, L. Wang, et al. 2015. Contrasting effects of ammonium e nitrate inputs on soil CO₂ emission in a subtropical coniferous plantation of southern China. *Biol. Fertil. Soils.* 51(7):815–825.
- Ward, M. H., J. A. Rusiecki, C. F. Lynch, e K. P. Cantor. 2007. Nitrate in public water supplies e the risk of renal cell carcinoma. *Cancer Causes Control.* 18(10):1141–1151.
- Warren, C. R. 2009. Does nitrogen concentration affect relative uptake rates of nitrate, ammonium, e glycine? *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172(2):224–229.
- van de Weg, M. J., P. Meir, J. Grace, e G. D. Ramos. 2012. Photosynthetic parameters, dark respiration e leaf traits in the canopy of a Peruvian tropical montane cloud forest. *Oecologia.* 168(1):23–34.
- Wei, G., Z. Zhou, Y. Guo, Y. Dong, H. Dang, Y. Wang, e J. Ma. 2014. Long-term effects of tillage on soil aggregates e the distribution of soil organic carbon, total nitrogen, e other nutrients in aggregates on the semi-arid loess plateau, China. *Arid L. Res. Manag.* 28(3):291–310.
- Werner, G. D. A., W. K. Cornwell, J. I. Sprent, J. Kattge, e E. T. Kiers. 2014. A single evolutionary innovation drives the deep evolution of symbiotic N₂-fixation in angiosperms. *Nat. Commun.* 5(May):1–9.
- Winsome, T., L. C. R. Silva, K. M. Scow, T. A. Doane, R. F. Powers, e W. R. Horwath. 2017. Plant-microbe interactions regulate carbon e nitrogen accumulation in forest soils. *For. Ecol. Manage.* 384:415–423.
- Wolf, A. A., J. L. Funk, e D. N. L. Menge. 2017. The symbionts made me do it: legumes are not hardwired for high nitrogen concentrations but incorporate more nitrogen when inoculated. *New Phytol.* 213(2):690–699.
- Wurzburger, N., e L. O. Hedin. 2016. Taxonomic identity determines N₂ fixation by canopy trees across lowland tropical forests Knops, J. (ed.). *Ecol. Lett.* 19(1):62–70.
- Xu, G., X. Fan, e A. J. Miller. 2012. Plant nitrogen assimilation e use efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63(1):153–182.
- Zhang, B., C. Liang, H. He, e X. Zhang. 2013. Variations in soil microbial communities e residues along an altitude gradient on the northern slope of Changbai Mountain, China Smidt, H. (ed.). *PLoS One.* 8(6):e66184.

- Zhang, J., P. Tian, J. Tang, L. Yuan, Y. Ke, Z. Cai, B. Zhu, e C. Müller. 2016. The characteristics of soil N transformations regulate the composition of hydrologic N export from terrestrial ecosystem. *J. Geophys. Res. Biogeosciences*. 121(6):1409–1419.
- Zhu, X., H. Chen, W. Zhang, J. Huang, S. Fu, Z. Liu, e J. Mo. 2016. Effects of nitrogen addition on litter decomposition e nutrient release in two tropical plantations with N₂-fixing vs. non-N₂-fixing tree species. *Plant Soil*. 399(1–2):61–74.

CAPÍTULO II

Efeito da fertilização na dinâmica do nitrogênio em plantio de *A. mangium* e *D. odorata* estabelecido sobre áreas degradadas na Amazônia Central

Capítulo escrito conforme normas da revista Journal of Soil Science and Plant Nutrition

1. INTRODUÇÃO

O desflorestamento de área de floresta nativa têm impactado muitas áreas em todo o mundo, na Amazônia, dados recentes apontam para o alarmante número de 20% (Davidson et al. 2012). As causas desse desflorestamento são as mais variadas possíveis com destaque para a exploração madeireira, atividades agropecuárias e de mineração que tem sido citadas como fatores determinantes no processo de degradação da Floresta Amazônica (Matricardi et al. 2010; Van Solinge 2010; Pedro et al. 2017). Mas, outras ações inclusive governamentais como construção de hidroelétricas, estradas e barragens também propiciam mudanças no uso da terra e geram áreas degradadas. Em contrapartida o cultivo florestal é, reconhecidamente, um método eficaz na redução da pressão de exploração sobre florestas tropicais nativas (Binkley 1997; Brockerhoff et al. 2013; Pirard et al. 2016) capaz de reduzir em mais de 25% a extração de toras nestes ambientes, recuperar áreas de pasto abandonadas e revegetar áreas que tiveram seu solo removido (Buongiorno e Zhu 2014).

Os investimentos em plantios florestais em áreas tropicais, em especial na América do Sul, têm apresentado tendências de crescimento (Cubbage et al. 2010, 2014). E estes além de contribuir, indiretamente, para conservação de florestas nativas, ao suprir parte da demanda de mercado por produtos madeireiros, (Sedjo e Botkin 1997; Paquette e Messier 2010; Pawson et al. 2013) também tendem a reestabelecer o equilíbrio local e produzem melhores serviços ambientais quando comparados a outras formas de uso do solo (Hartley 2002; Carnus et al. 2006; Bausch e Schmerbeck 2010; Felton et al. 2010; Pawson et al. 2010).

O plantio inicial de espécies tolerantes a condições ambientais adversas pode favorecer a sobrevivência e o crescimento de espécies mais vulneráveis nestes locais (Otsamo et al. 1995; Ashton et al. 1997; Otsamo 2000). A *A. mangium* é uma espécie Australiana tolerante a acidez e baixa disponibilidade de nutrientes (Cole et al. 1996; Tilki e Fisher 1998) que assim como outras espécies exóticas favorece a reabilitação de áreas alteradas devido sua elevada taxa de sobrevivência e rápido crescimento (Feyera et al. 2002). Mesmo em ambiente exótico esta espécie demonstra aptidão como espécie facilitadora para estabelecimento de espécies nativas, pois proporciona sombreamento (Norisada et al. 2005; Yang et al. 2009) e melhorias físicas (Duan et al. 2010) e químicas do solo (Tchichelle et al. 2016; Koutika et al. 2017; Santos et al. 2017). No âmbito econômico, a principal aplicação da *A. mangium* é a produção de papel e

celulose, porém a espécie também pode ser utilizada para produção de madeira serrada, compensados e aglomerados (Midgley e Turnbull 2003).

Do ponto de vista ecológico, no entanto, espécies nativas, como a *D. odorata*, são consideradas mais apropriadas para recuperação de áreas alteradas (Lugo 1997). *D. odorata* é uma espécie sucessional tardia, bem adaptada a áreas degradadas e com potencial para recuperação de áreas alteradas (Jaquetti et al. 2016). A espécie apresenta madeira de excelente qualidade (Almeida et al. 2014a, 2014b; Maltarolo et al. 2016) e possui compostos bioativos utilizados com propósitos medicinais (Jang et al. 2003; Barot et al. 2015).

Então se considerando o aumento das áreas desflorestadas e, por conseguinte, o aumento das áreas degradadas percebe-se que o plantio de espécies arbóreas que promovam vantagens ecológicas e potenciais ganhos econômicos representa uma alternativa importante na reintrodução dessas áreas na linha dos serviços ambientais das florestas, mas ainda verifica-se a ausência de informações mais consistentes sobre a ecofisiologia das espécies arbóreas tropicais no que tange a lógica da silvicultura para recuperação de áreas alteradas, relacionados aos pressupostos de classificação sucessional, traços ecofuncionais e eficiência no uso de nutrientes.

O nitrogênio compõe entre 1 e 5% da matéria seca das plantas e é constituinte de biomoléculas que integram complexas vias metabólicas altamente reguladas, podendo limitar o crescimento e desenvolvimento vegetal (Pasquini e Santiago 2012; Pereira-Silva et al. 2012). Existem indícios que o metabolismo do nitrogênio seja influenciado pelo estágio sucessional a que a espécie pertence, embora seja comum elevada variação entre indivíduos pertencentes a um mesmo grupo funcional (Coste et al. 2005; van de Weg et al. 2012; Houter e Pons 2014). Já a alocação foliar relativa entre compostos nitrogenados associados à captação de luz e a carboxilação parece variar em função da tolerância da espécie a luz (Dusenge et al. 2015). Além disso, disponibilidade de nutrientes é fator determinante na absorção, transporte e assimilação de nitrogênio (Treseder e Vitousek 2001; Iivonen et al. 2006).

Para as espécies *A. mangium* e *D. odorata* percebe-se que alguns avanços já foram feitos quanto a performance de crescimento destas espécies, mas confrontar perspectivas ecofuncionais dos mesmos em condições de campo que estas espécies estejam submetidas a tratamentos de fertilização pode contribuir de forma significativa para aperfeiçoar as técnicas de recuperação de áreas uma vez que seria possível monitorar as contribuições relativas dos diferentes pressupostos: 1 (nativo X exótico); 2 (pioneira X sucessional tardia); 3 (espécie fixadora X não

fixadora) e sob a lógica do crescimento e ganho de biomassa (fertilizada e não fertilizada). Todo esse conjunto de informações pode ainda ser revertido para entender a dinâmica do N no contexto da ecofisiologia de árvores como importante abordagem na recuperação de áreas desflorestadas na Amazônia.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da fertilização sobre a dinâmica do nitrogênio nas Fabaceas: *A. mangium*, espécie pioneira e nodulífera, e na *D. odorata*, espécie secundária tardia e não fixadora de nitrogênio.

Objetivos específicos

- Determinar o teor de N mineral do solo (NO_3^- e NH_4^+);
- Mensurar o conteúdo de nitrato e amônio nas folhas e raízes;
- Determinar a atividade da enzima redutase do nitrato (RN) em folhas e raízes;
- Avaliar os teores de proteínas e pigmentos cloroplastídicos nas folhas;
- Inferir a capacidade de nodulação das espécies nodulíferas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização e histórico da área e instalação do experimento.

Os dados analisados neste capítulo são provenientes do mesmo experimento descrito no primeiro capítulo, entretanto, as taxas de mortalidade dos tratamentos não fertilizados com as espécies *Senna reticulata* (Willd.) Irwin & Barneby (20%) e *Inga edulis* Mart.(15%), calculadas pela razão entre os indivíduos vivos do tratamento no momento da coleta pelo número total de indivíduos plantados, e a produção de biomassa insuficiente para realização das análises pelas espécies *Clitoria fairchildiana* Howard e *Cenostigma tocantinum* Ducke não fertilizadas impossibilitaram a obtenção de dados para estes tratamentos dois anos e dois meses após a

implantação do plantio, quando as coletas foram realizadas. Deste apenas foi possível avaliar o efeito da fertilização nas espécies *D. odorata* e *A. mangium*.

3.2 Coleta e análises de solo

A coleta e análise do solo foram realizadas conforme descrito no capítulo I.

3.3 Coleta e análises do material vegetal

Os métodos de coleta das folhas e raízes, de extração de seus compostos nitrogenados e de determinação dos teores de nitrato, de amônio, de proteínas solúveis e de pigmentos cloroplastídicos bem como os procedimentos para estimar a atividade da enzima redutase do nitrato e a produção de nódulos foram os mesmos descritos no capítulo anterior.

3.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC) visando realizar avaliações interespecíficas e intraespecíficas das espécies *A. mangium* e *D. odorata* fertilizadas e não fertilizadas. Para tanto se depreende em um DBC segundo delineamento experimental em blocos casualizados DBC em esquema 2 X 2 cujos tratamentos foram formados pela combinação das 2 espécies com 2 tratamentos de fertilização e não fertilização com 5 repetições cada.

Os indivíduos de cada uma das espécies foram designados aleatoriamente nas parcelas de cada um dos cinco blocos instalados no experimento e os dados obtidos foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e do F_{\max} de Hartley para verificar, respectivamente, a normalidade dos dados e a homocedasticidade das variâncias, premissas fundamentais para aplicação de estatística paramétrica. Quando necessário para atender essas premissas os dados foram devidamente transformados. Para variáveis em que não foi possível a avaliação por métodos paramétricos, estatística não paramétrica foi utilizada.

Para os testes paramétricos as médias das variáveis estudadas de cada espécie foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e, quando detectados efeitos significativos pelo

teste Fisher (Teste F), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste post-hoc de Tukey ($p < 0,05$). Já para os testes não paramétricos a existência de diferenças significativas foi avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste post-hoc de Student-Newman-Keuls.

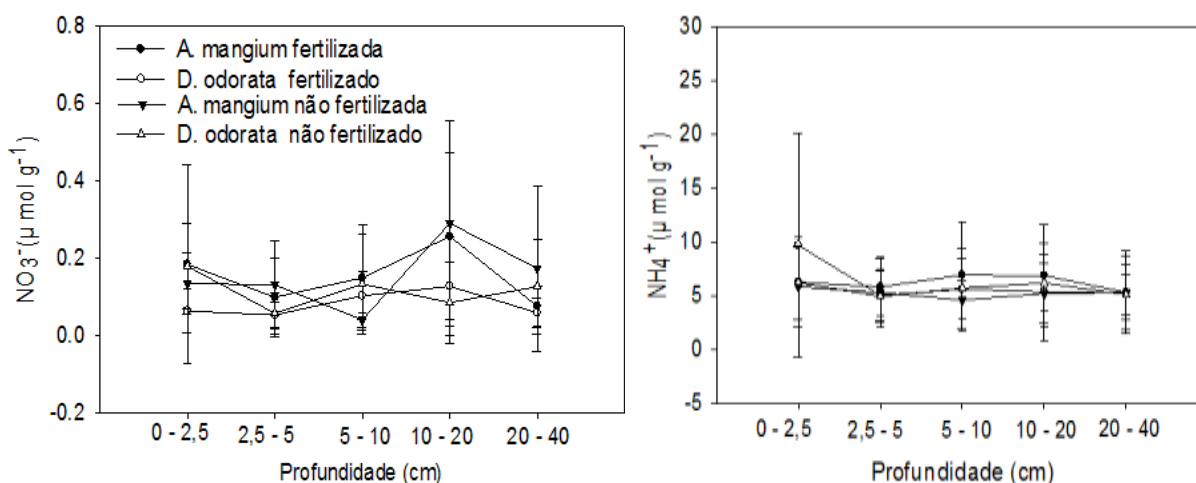
As análises estatísticas foram processadas no programa R 3.3.2 e os gráficos foram confeccionados no programa Sigmaplot 12.0.

4. RESULTADOS

4.1 Nitrogênio no solo

Os teores de amônio no solo foram superiores aos de nitrato em todas as profundidades analisadas nos tratamentos cultivados com as duas espécies quando estas foram fertilizadas ou não. A concentração média de nitrato variou de 0,04 a 0,29 $\mu\text{mol g}^{-1}$ e de 0,057 a 0,179 $\mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente, nas espécies *A. mangium* e *D. odorata* não fertilizadas. No tratamento fertilizado a amplitude da concentração de nitrato foi de 0,076 a 0,256 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para *A. mangium* e de 0,053 a 0,127 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para *D. odorata*. Já a concentração média de amônio quando as espécies não receberam fertilização variou de 4,605 a 5,839 $\mu\text{mol g}^{-1}$ e de 4,941 a 6,226 $\mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente, nas espécies *A. mangium* e *D. odorata* não fertilizadas. No tratamento fertilizado a amplitude da concentração de amônio foi de 5,817 a 6,881 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para *A. mangium* e de 5,037 a 9,697 $\mu\text{mol g}^{-1}$ para *D. odorata* (Figura 4).

Figura 4. Teores de nitrato e de amônio no solo provenientes de áreas degradadas cultivadas com *A. mangium* e *D. odorata* com e sem fertilização e em diferentes profundidades.

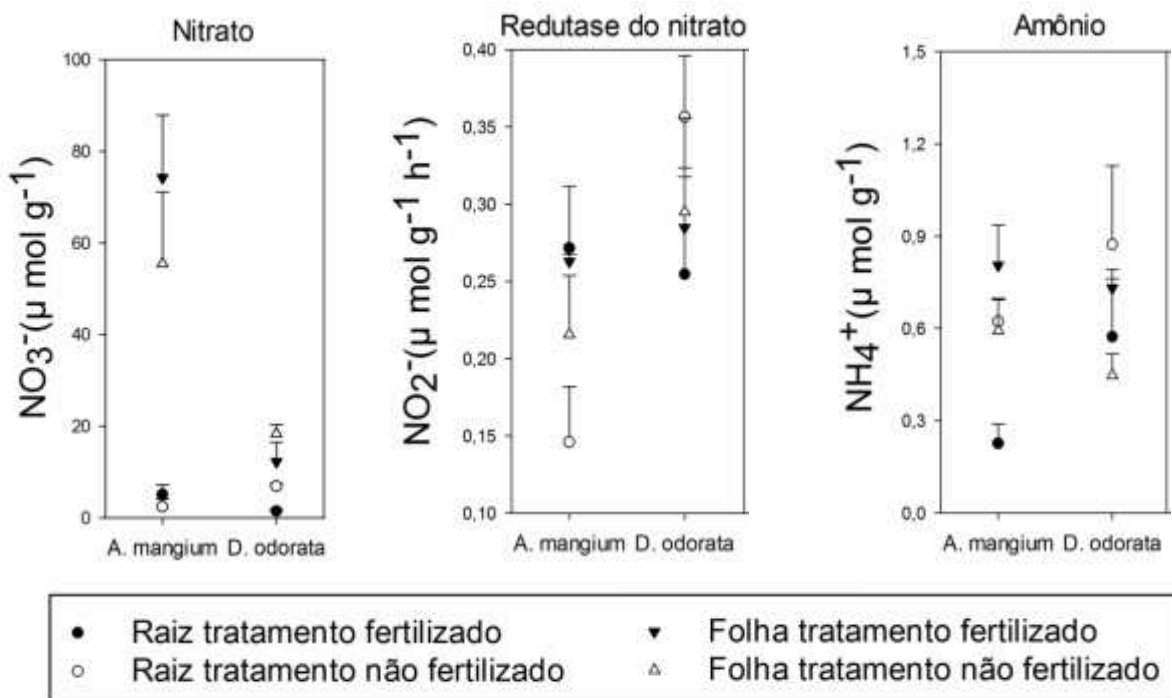


4.2 Nitrogênio na planta

O teor de nitrato foliar foi superior na espécie *A. mangium* em ambos os tratamentos em relação à espécie *D. odorata*. Para a espécie *A. mangium* a fertilização aumentou significativamente a concentração de nitrato foliar a qual aumentou 33,85%. Já para a *D. odorata* os teores de nitrato foliar foram estatisticamente iguais com médias de 18,30 e 12,17 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nos tratamentos não fertilizado e fertilizado respectivamente (Figura 5).

Os teores de nitrato radicular apresentaram padrões inversos entre as espécies. Enquanto nas raízes da espécie *A. mangium* a concentração de amônio foi maior quando fertilizada, médias de 5,02 e 2,41 $\mu\text{mol g}^{-1}$, para a espécie *D. odorata* esses teores foram superiores no tratamento sem correção nutricional do solo, médias de 6,82 e 1,43 $\mu\text{mol g}^{-1}$ (Figura 5).

Figura 5. Médias dos conteúdos de nitrato e amônio e atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes de *A. mangium* e *D. odorata*.



A atividade da redutase do nitrato não foi distinta entre folhas e raízes para ambas as espécies quando fertilizadas com médias radiculares de 0,271 e 0,254 $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ e foliares de 0,284 e 0,262 $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ para as espécies *A. mangium* e *D. odorata* respectivamente (Figura 5). A atividade da redutase do nitrato foliar da espécie *A. mangium* no tratamento não fertilizado foi estatisticamente superior à atividade radicular, com médias 0,215 e 0,146 $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ respectivamente. A atividade da redutase do nitrato na espécie *D. odorata*, quando não fertilizada, foi 20,78% superior nas raízes em relação a folhas, mas não houve diferenças significativas devido a grande variabilidade dos dados (Figura 5).

A concentração de amônio foi inferior a de nitrato em todos os tratamentos. O conteúdo de amônio foliar foi superior ao radicular em ambas às espécies no tratamento fertilizado, com o oposto ocorrendo no tratamento não fertilizado no qual a concentração de amônio nas raízes foi maior que nas folhas para as duas espécies (Figura 5).

A espécie *A. mangium* apresentou os maiores valores para clorofila “a” (Clf-A) e clorofila “b” (Clf-B), bem como para clorofila total, tanto no tratamento fertilizado quanto no não fertilizado, em comparação com a espécie *D. odorata* (Tabela 3). As razões entre clorofila “a” e clorofila “b” e entre clorofila total e carotenoides não foram distintas entre as espécies em nenhum dos tratamentos. As concentrações de carotenoides nas folhas não diferiram em função da fertilização em ambas as espécies sendo, estatisticamente inferiores na espécie *D. odorata* nos dois tratamentos avaliados (Tabela 3).

Tabela 3. Concentrações de clorofilas “a” e “b”, de carotenoides e de clorofila total; das razões entre clorofila “a” e “b” e clorofila total e carotenoides e dos teores de proteínas solúveis totais nas das espécies estudadas.

	Fertilizada			Não fertilizada				
	<i>A. mangium</i>		<i>D. odorata</i>	<i>A. mangium</i>		<i>D. odorata</i>		
Clf-A ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.028 ± 0.006	A	0.012 ± 0.005	BC	0.021 ± 0.004	AB	0.009 ± 0.009	C
Clf-B ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.009 ± 0.002	A	0.004 ± 0.002	B	0.007 ± 0.005	AB	0.004 ± 0.002	B
Clf-A / Clf-B ($\text{cm}^2 \text{cm}^{-2}$)	3.052 ± 0.070	-	2.784 ± 0.226	-	3.07 ± 0.447	-	2.614 ± 0.651	-
Clf-T ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.037 ± 0.008	A	0.016 ± 0.007	BC	0.028 ± 0.014	AB	0.012 ± 0.006	C
Ctn ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.011 ± 0.002	A	0.005 ± 0.002	B	0.01 ± 0.003	A	0.004 ± 0.001	B
Clf-T / Ctn ($\text{cm}^2 \text{cm}^{-2}$)	3.281 ± 0.387	-	3.122 ± 0.538	-	2.682 ± 0.455	-	2.869 ± 0.565	-
PtnS (mgg-1)	37.867 ± 3.865	A	18.901 ± 3.272	C	39.348 ± 5.114	A	24.852 ± 1.991	B

Médias ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra em uma determinada linha não são significativamente diferentes segundo teste Tukey ao nível de significância de 5%. Valores seguidos por um traço representam variáveis estatisticamente iguais em todos os tratamentos segundo análise de variância.

O número (356), peso total (1,912 g) e peso médio (6,14g/nód) dos nódulos da *A. mangium* fertilizada foram superior estatisticamente àqueles encontrados para *A. mangium* não fertilizada, cujas médias foram: 133 nódulos; 0,282g e 1,83g/nódulo.

5. DISCUSSÃO

5.1 Nitrogênio no solo

Algumas características do solo são determinantes para a transformação e para a lixiviação de compostos nitrogenados, em geral destacam-se as seguintes: reduzidas taxas de mineralização e nitrificação; eficiente imobilização de nitrato associada a elevadas taxas de nitrificação causando rápida ciclagem e reduzida disponibilidade de nitrato no solo e transformação de nitrato diretamente a amônio por meio da redução dissimilatória do nitrato a amônia, processo que compete com perdas de nitrogênio do solo por volatilização e lixiviação sem, no entanto, afetar negativamente a produtividade do sistema (Davidson et al. 1992; Perakis et al. 2005; Huygens et al. 2008; Wieder et al. 2013; Minick et al. 2016). A disponibilidade de nitrogênio no solo pode ser reduzida devido às baixas taxas de nitrificação e elevada incorporação biológica de nitrato (Zhang et al. 2013) e em área de floresta com limitação deste nutriente é mais afetada pela erosão e fixação de nitrogênio na biomassa vegetal e microbiana que pelos processos de lixiviação e desnitrificação (Perakis et al. 2015). Desse modo, é provável que no momento da avaliação, um ano após a última fertilização, as concentrações de nitrato não tenham apresentado amplitude de variação entre os tratamentos fertilizados e não fertilizados em função da elevada demanda por NO_3^- e consequente consumo desta forma de N pela vegetação implantada, assim como pela microbiota associada. De maneira semelhante, isto também pode ter ocorrido com NH_4^+ . Os resultados sobre os teores de NO_3^- e NH_4^+ também parecem sugerir que a predominância da forma amoniacal em relação à nítrica pode estar relacionada à intensa lixiviação do nitrato que, devido a sua característica aniônica, possui limitada adsorção às partículas de solos ácidos (Corre et al. 2007; Brookshire et al. 2012a, 2012b).

Além disso, vale ressaltar que as coletas foram feitas um ano após a última fertilização um período de tempo longo se considerarmos a intensa dinâmica do nitrogênio no solo.

5.2 Nitrogênio na planta

Os teores de nitrato foliar foram iguais para *A. mangium* entre os tratamentos fertilizado e não fertilizado. Assim como os teores de nitrato radicular não diferiram foram diferentes entre a *A. mangium* fertilizada e não fertilizado. Entretanto em ambos os tratamentos os teores de nitrato foliar foram superiores aos teores de nitrato radicular. Já atividade da redutase do nitrato foi inferior apenas nas raízes do tratamento não fertilizado. Isto sugere que a elevada atividade da redutase do nitrato radicular na *A. mangium* fertilizada ocorre em função de uma maior facilidade na aquisição deste elemento considerando que a biossíntese da enzima redutase de nitrato é rapidamente induzida pela presença de nitrato, podendo também ser induzida pela luz, o que não é o caso de órgãos subterrâneos (Wang et al. 2004; Krouk et al. 2010). Em condições alta disponibilidade luminosa a assimilação de nitrato nas folhas pode aumentar em função do menor gasto energético necessário, pois as moléculas NADH e ATP, produtos das reações fotoquímicas, podem ser utilizados na redução do nitrato, sem que haja necessidade de transporte via floema para outros órgãos ou que ocorra concorrência com a fixação do dióxido de carbono (Aider et al. 2003; Sodek 2004; Nicodemus et al. 2008). Enquanto o conteúdo de amônio no tratamento não fertilizado foi igual para tecidos foliares e radiculares, no tratamento fertilizado o conteúdo foliar foi maior. A assimilação do amônio ocorre principalmente nas raízes sendo atribuído este fato à alta atividade da enzima glutamina sintetase. Mas, existem evidências de que amônio também pode ser transportado para ser assimilado nas folhas (Glass 2002; Husted et al. 2002; Schjoerring et al. 2002). Desse modo, o padrão encontrado para espécie *A. mangium* indica que o seu status nutricional influencia o acúmulo de amônio nas folhas. A eficiência na nodulação foi superior nos indivíduos fertilizados de *A. mangium* o que indica que o status nutricional da espécie tem influência positiva na associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio. O efeito positivo da fertilização na produção de nódulos em *A. mangium* também foram relatados por Umali-Garcia et al. (1988) e Inagaki et al. (2009). Mas, também há na literatura relatos sobre o potencial efeito inibitório da fertilização nitrogenada sobre a associação simbiótica entre *A. mangium* e bactérias fixadoras de nitrogênio estabelecendo-se como contraditórios, neste trabalho predominou o efeito positivo (Kerala 2015).

Os teores de pigmentos cloroplastídicos e proteínas solúveis não diferiram entre os tratamentos fertilizado e não fertilizado para a espécie *A. mangium*. Isso demonstra a

adaptabilidade desta espécie à indisponibilidade de nutrientes (Breugel et al. 2011), a qual não afetou o investimento relativo em captação de luz e produção de proteínas.

Os conteúdos de nitrato e de amônio, e a atividade da redutase do nitrato nas folhas de *D. odorata* foram iguais para os tratamentos fertilizado e não fertilizado. Entretanto, os conteúdos de nitrato e amônio quando as plantas não foram fertilizadas foram superiores em relação às plantas fertilizadas, sugerindo acúmulo mais intenso de N mineral nas raízes nessa condição. Isto possivelmente decorre da tendência a um maior investimento no crescimento radicular quando há imposição de limitações nutricionais no solo (Fageria et al. 2008; Epron et al. 2011; Chen et al. 2015; Jaquetti et al. 2016). A dinâmica do nitrogênio na espécie pode ser afetada pela indisponibilidade de algum dos outros nutrientes essenciais. Estudos já verificaram elevada demanda da espécie *D. odorata* por potássio, zinco e magnésio (Gonçalves et al. 2005b), além da capacidade acima da média para transloucar e reaproveitar nitrogênio e fósforo em comparação a outras espécies tropicais (Gonçalves et al. 2005; Jaquetti et al. 2016; Machado et al. 2016). Os teores de pigmentos cloroplastídicos não diferiram entre os tratamentos de fertilização para *D. odorata*, mas o teor de proteínas solúveis foi maior no tratamento não fertilizado, portanto, o acúmulo proteico foliar relativo parece ter ocorrido em função de restrições ao crescimento ocasionadas por outro fator que não somente o nitrogênio.

6. CONCLUSÃO

A espécie *A. mangium* é capaz de manter elevadas taxas de assimilação do nitrato tanto nas raízes quanto nas folhas quando fertilizada, apresentando, no entanto, preferência por sua assimilação foliar em condições de reduzida disponibilidade de nutrientes no solo.

A fertilização estimulou a associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio em *A. mangium*.

D. odorata intensifica a assimilação de nitrogênio radicular em detrimento à foliar quando submetido a condições de baixa fertilidade do solo e de acordo com o teor proteico foliar parece ter o crescimento da parte aérea limitada por outro fator que não a disponibilidade de nitrogênio.

Os resultados aqui apresentados indicam que *A. mangium* apresenta plasticidade em relação à dinâmica do nitrogênio em função da disponibilidade de nutrientes no solo. Enquanto,

D. odorata altera a estratégia de assimilação de nitrogênio em função da disponibilidade de nutrientes no solo não conseguindo, contudo, manter a proporção entre proteínas e biomassa foliares incorporadas.

7. REFERÊNCIAS

- Aidar, M. P. M., S. Schmidt, G. Moss, G. R. Stewart, e C. A. Joly. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell Environ.* 26(3):389–399.
- Almeida, D. H., E. Chahud, F. S. Ferro, S. F. S. Poletto, T. H. Almeida, A. L. Christoforo, e F. A. R. Lahr. 2014a. Physical e Mechanical Properties of *Dipteryx odorata* (Aublet) Willd. *Adv. Mater. Res.* 1025–1026:46–49.
- Almeida, D. H., E. Chahud, F. S. Ferro, S. F. S. Poletto, T. H. Almeida, A. L. Christoforo, F. A. R. Lahr, T. H. de Almeida, A. L. Christoforo, e F. A. Rocco Lahr. 2014b. Physical e Mechanical Properties of *Dipteryx odorata* (Aublet) Willd. *Adv. Mater. Res.* 1025–1026:46–49.
- Ashton, P. M. S., S. Gamage, I. A. U. N. Gunatilleke, e C. V. S. Gunatilleke. 1997. Restoration of a Sri lankan rainforest: using caribbean pine *pinus caribaea* as a nurse for establishing late-successional tree species. *J. Appl. Ecol.* 34(4):915.
- Barot, K. P., S. V. Jain, L. Kremer, S. Singh, e M. D. Ghate. 2015. Recent advances e therapeutic journey of coumarins: current status e perspectives. *Med. Chem. Res.* 24(7):2771–2798.
- Bauhus, J., e J. Schmerbeck. 2010. Silvicultural options to enhance e use forest plantation biodiversity. P. 96–139 in *Ecosystem goods e services from plantaton forests*, Bauhus, J., P. Van der Meer, e M. Kanninen (eds.). Earthscan, London.
- Binkley, C. S. 1997. Preserving nature through intensive plantation forestry: The case for forestland allocation with illustrations from British Columbia. *For. Chron.* 73(5):553–559.
- Boakye, E. Y., I. Y. D. Lawson, E. Owusu-Bennoah, e S. K. A. Danso. 2015. Growth e nodulation response of six indigenous trees e two shrubby legumes to phosphorus e nitrogen fertilizers in two soils of Ghana. *J. Trop. Agric.* 53(1):21–34.
- Boekhout van Solinge, T. 2010. Deforestation crimes e conflicts in the amazon. *Crit. Criminol.* 18(4):263–277.
- Breugel, M. van, J. S. Hall, D. J. Craven, T. G. Gregoire, A. Park, D. H. Dent, M. H. Wishnie, et al. 2011. Early growth e survival of 49 tropical tree species across sites differing in soil fertility e rainfall in Panama. *For. Ecol. Manage.* 261(10):1580–1589.
- Brockhoff, E. G., H. Jactel, J. A. Parrotta, e S. F. B. Ferraz. 2013. Role of eucalypt e other planted forests in biodiversity conservation e the provision of biodiversity-related ecosystem services. *For. Ecol. Manage.* 301:43–50.
- Brookshire, E. N. J., S. Gerber, D. N. L. Menge, e L. O. Hedin. 2012a. Large losses of inorganic nitrogen from tropical rainforests suggest a lack of nitrogen limitation. *Ecol. Lett.* 15(1):9–16.
- Brookshire, E. N. J., L. O. Hedin, J. D. Newbold, D. M. Sigman, e J. K. Jackson. 2012b. Sustained losses

- of bioavailable nitrogen from montane tropical forests. *Nat. Geosci.* 5(2):123–126.
- Bruno, M. M., G. da S. L. Ellen, R. do N. Vitor, P. S. C. Kerolem, E. de A. B. Ana, B. de O. Tamires, A. dos S. N. Glauco, et al. 2016. Chlorophyll, nitrogen e antioxidant activities in Cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd) (Fabaceae) in two water regimes. *African J. Biotechnol.* 15(44):2480–2489.
- Buongiorno, J., e S. Zhu. 2014. Assessing the impact of planted forests on the global forest economy. *New Zeal. J. For. Sci.* 44(Suppl 1):S2.
- Carnus, J.-M., J. Parrotta, E. Brockerhoff, M. Arbez, H. Jactel, A. Kremer, D. Lamb, K. O'Hara, e B. Walters. 2006. Planted forests e biodiversity. *J. For.* 104(2):65–77.
- Chen, Y., Z. Liu, X. Rao, X. Wang, C. Liang, Y. Lin, L. Zhou, X. Cai, e S. Fu. 2015. Carbon storage e allocation pattern in plant biomass among different forest plantation stands in Guangdong, China. *Forests.* 6(3):794–808.
- Cole, T. G., R. S. Yost, R. Kablan, e T. Olsen. 1996. Growth potential of twelve *Acacia* species on acid soils in Hawaii. *For. Ecol. Manage.* 80(1–3):175–186.
- Corre, M. D., R. Brumme, E. Veldkamp, e F. O. Beese. 2007. Changes in nitrogen cycling e retention processes in soils under spruce forests along a nitrogen enrichment gradient in Germany. *Glob. Chang. Biol.* 13(7):1509–1527.
- Coste, S., J.-C. Roggy, P. Imbert, C. Born, D. Bonal, e E. Dreyer. 2005. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration e shade tolerance. *Tree Physiol.* 25(9):1127–1137.
- Cubbage, F., P. Mac Donagh, G. Balmelli, V. Morales Olmos, A. Bussoni, R. Rubilar, R. De La Torre, et al. 2014. Global timber investments e trends, 2005-2011. *New Zeal. J. For. Sci.* 44(Suppl 1):S7.
- Cubbage, F., S. Koesbandana, P. Mac Donagh, R. Rubilar, G. Balmelli, V. M. Olmos, R. De La Torre, M. Murara, V. A. Hoeflich, e H. Kotze. 2010. Global timber investments, wood costs, regulation, e risk. *Biomass e Bioenergy.* 34(12):1667–1678.
- Davidson, E. A., A. C. de Araújo, P. Artaxo, J. K. Balch, I. F. Brown, M. M. C. Bustamante, M. T. Coe, et al. 2012. The Amazon basin in transition. *Nature.* 481(7381):321–328.
- Davidson, E. A., S. C. Hart, e M. K. Firestone. 1992. Internal Cycling of Nitrate in Soils of a Mature Coniferous Forest. *Ecology.* 73(4):1148–1156.
- Duan, W., H. Ren, S. Fu, J. Wang, J. Zhang, L. Yang, e C. Huang. 2010. Community Comparison e Determinant Analysis of Understory Vegetation in Six Plantations in South China. *Restor. Ecol.* 18(2):206–214.
- Dusenage, M. E., G. Wallin, J. Gårdesten, F. Niyonzima, L. Adolfsson, D. Nsabimana, e J. Uddling. 2015. Photosynthetic capacity of tropical montane tree species in relation to leaf nutrients, successional strategy e growth temperature. *Oecologia.* 177(4):1183–1194.
- Epron, D., J.-P. Laclau, J. C. R. Almeida, J. L. M. Goncalves, S. Ponton, C. R. Sette, J. S. Delgado-Rojas, J.-P. Bouillet, e Y. Nouvellon. 2012. Do changes in carbon allocation account for the growth response to potassium e sodium applications in tropical *Eucalyptus* plantations? *Tree Physiol.* 32(6):667–679.
- Fageria, N. K., V. C. Baligar, e Y. C. Li. 2008. The Role of Nutrient Efficient Plants in Improving Crop

- Yields in the Twenty First Century. *J. Plant Nutr.* 31(6):1121–1157.
- Felton, A., M. Lindbladh, J. Brunet, e Ö. Fritz. 2010. Replacing coniferous monocultures with mixed-species production stands: An assessment of the potential benefits for forest biodiversity in northern Europe. *For. Ecol. Manage.* 260(6):939–947.
- Feyera, S., E. Beck, e U. Lüttge. 2002. Exotic trees as nurse-trees for the regeneration of natural tropical forests. *Trees.* 16(4):245–249.
- Glass, A. D. M. 2002. The regulation of nitrate e ammonium transport systems in plants. *J. Exp. Bot.* 53(370):855–864.
- Gonçalves, J. F. de C., G. Vieira, R. A. Marenco, J. B. S. Ferraz, U. M. dos Santos Junior, e F. C. F. Barros. 2005. Nutritional status e specific leaf area of mahogany e tonka bean under two light environments. *Acta Amaz.* 35(1):23–27.
- Hartley, M. J. 2002. Rationale e methods for conserving biodiversity in plantation forests. *For. Ecol. Manage.* 155(1–3):81–95.
- Houter, N. C., e T. L. Pons. 2014. Gap effects on leaf traits of tropical rainforest trees differing in juvenile light requirement. *Oecologia.* 175(1):37–50.
- Husted, S., M. Mattsson, C. Möllers, M. Wallbraun, e J. K. Schjoerring. 2002. Photorespiratory nh_4^+ production in leaves of wild-type e glutamine synthetase 2 antisense oilseed rape. *Plant Physiol.* 130(2):989–998.
- Huygens, D., P. Boeckx, P. Templer, L. Paulino, O. Van Cleemput, C. Oyarzún, C. Müller, e R. Godoy. 2008. Mechanisms for retention of bioavailable nitrogen in volcanic rainforest soils. *Nat. Geosci.* 1(8):543–548.
- Iivonen, S., S. Kaakinen, A. Jolkkonen, E. Vapaavuori, e S. Linder. 2006. Influence of long-term nutrient optimization on biomass, carbon, e nitrogen acquisition e allocation in Norway spruce. *Can. J. For. Res.* 36(6):1563–1571.
- Inagaki, M., Y. Inagaki, K. Kamo, e J. Titin. 2009. Fine-root production in response to nutrient application at three forest plantations in Sabah, Malaysia: higher nitrogen e phosphorus demand by *Acacia mangium*. *J. For. Res.* 14(3):178–182.
- Jang, D. S., E. J. Park, M. E. Hawthorne, J. S. Vigo, J. G. Graham, F. Cabieses, B. D. Santarsiero, et al. 2003. Potential cancer chemopreventive constituents of the seeds of *Dipteryx odorata* (Tonka bean). *J. Nat. Prod.* 66(5):583–587.
- Jaquetti, R., J. Gonçalves, J. Ferraz, M. Ferreira, e U. Santos Junior. 2016. Ecofunctional traits e biomass production in leguminous tree species under fertilization treatments during forest restoration in amazonia. *Forests.* 7(4):76.
- Koutika, L.-S., S. V. Tchichelle, L. Mareschal, e D. Epron. 2017. Nitrogen dynamics in a nutrient-poor soil under mixed-species plantations of eucalypts e acacias. *Soil Biol. Biochem.* 108:84–90.
- Krouk, G., N. M. Crawford, G. M. Coruzzi, e Y.-F. Tsay. 2010. Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13(3):265–272.
- Lugo, A. E. 1997. The apparent paradox of reestablishing species richness on degraded lands with tree monocultures. *For. Ecol. Manage.* 99(1–2):9–19.

- Machado, M. R., P. de T. B. Sampaio, J. Ferraz, R. Camara, e M. G. Pereira. 2016. Nutrient retranslocation in forest species in the Brazilian Amazon. *Acta Sci. Agron.* 38(1):93.
- Matricardi, E. A. T., D. L. Skole, M. A. Pedlowski, W. Chomentowski, e L. C. Fernandes. 2010. Assessment of tropical forest degradation by selective logging e fire using Landsat imagery. *Remote Sens. Environ.* 114(5):1117–1129.
- Midgley, S. J., e J. W. Turnbull. 2003. Domestication e use of Australian acacias: case studies of five important species. *Aust. Syst. Bot.* 16(1):89.
- Minick, K. J., C. B. Pandey, T. R. Fox, e S. Subedi. 2016. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium e N₂O flux: effect of soil redox potential e N fertilization in loblolly pine forests. *Biol. Fertil. Soils.* 52(5):601–614.
- Nicodemus, M. A., K. F. Salifu, e D. F. Jacobs. 2008. Nitrate reductase activity e nitrogen compounds in xylem exudate of *Juglans nigra* seedlings: relation to nitrogen source e supply. *Trees.* 22(5):685–695 Available online at: <http://link.springer.com/10.1007/s00468-008-0226-7>.
- Norisada, M., G. Hitsuma, K. Kuroda, T. Yamanoshita, M. Masumori, T. Tange, H. Yagi, T. Nuyim, S. Sasaki, e K. Kojima. 2005. Acacia mangium, a nurse tree candidate for reforestation on degraded sandy soils in the Malay Peninsula. *For. Sci.* 51(5):498–510.
- Otsamo, A., G. Ådjers, T. S. Hadi, J. Kuusipalo, K. Tuomela, e R. Vuokko. 1995. Effect of site preparation e initial fertilization on the establishment e growth of four plantation tree species used in reforestation of *Imperata cylindrica* (L.) Beauv. dominated grasslands. *For. Ecol. Manage.* 73(1–3):271–277.
- Otsamo, R. 2000. No Title. *New For.* 19(1):51–68.
- Paquette, A., e C. Messier. 2010. The role of plantations in managing the world's forests in the Anthropocene. *Front. Ecol. Environ.* 8(1):27–34.
- Pasquini, S. C., e L. S. Santiago. 2012. Nutrients limit photosynthesis in seedlings of a lowland tropical forest tree species. *Oecologia.* 168(2):311–319.
- Pawson, S. M., A. Brin, E. G. Brockerhoff, D. Lamb, T. W. Payn, A. Paquette, e J. A. Parrotta. 2013. Plantation forests, climate change e biodiversity. *Biodivers. Conserv.* 22(5):1203–1227.
- Pawson, S. M., C. E. Ecroyd, R. Seaton, W. B. Shaw, e E. G. Brockerhoff. 2010. New Zealand's exotic plantation forests as habitats for threatened indigenous species. *N. Z. J. Ecol.* 34(3):342–355.
- Pedro, G. de A. V., A. Humberto, N. de A. Alexandre, A. T. M. Eraldo, P. M. Eder, N. de S. Álvaro, F. de P. Maristela, C. G. Joaquim, e Maísa. 2017. Determinants of the Brazilian Amazon deforestation. *African J. Agric. Res.* 12(3):169–176.
- Perakis, S. S., J. E. Compton, e L. O. Hedin. 2005. Nitrogen retention across a gradient of 15 n additions to an unpolluted temperate forest soil in Chile. *Ecology.* 86(1):96–105.
- Perakis, S. S., A. J. Tepley, e J. E. Compton. 2015. Disturbance e topography shape nitrogen availability e $\delta^{15}\text{N}$ over long-term forest succession. *Ecosystems.* 18(4):573–588.
- Pereira-Silva, E. F. L., E. Hardt, e A. O. Fernandes. 2012. The soil-plant relationship of nitrogen use in three tropical tree species. *Web Ecol.* 12(1):57–64.

- Pirard, R., L. Dal Secco, e R. Warman. 2016. Do timber plantations contribute to forest conservation? *Environ. Sci. Policy*. 57:122–130.
- Santos, F. M., G. M. Chaer, A. R. Diniz, e F. de C. Balieiro. 2017. Nutrient cycling over five years of mixed-species plantations of Eucalyptus e Acacia on a sandy tropical soil. *For. Ecol. Manage.* 384:110–121.
- Schjoerring, J. K. 2002. The regulation of ammonium translocation in plants. *J. Exp. Bot.* 53(370):883–890.
- Sedjo, R. A., e D. Botkin. 1997. Using forest plantations to spare natural forests. *Environ. Sci. Policy Sustain. Dev.* 39(10):14–30.
- Sodek, L. 2004. Metabolismo do nitrogênio. *Fisiol. Veg.* (1):470.
- Stark, J. M., e S. C. Hart. 1997. High rates of nitrification e nitrate turnover in undisturbed coniferous forests. *Nature*. 385(6611):61–64.
- Tchichelle, S. V, D. Epron, F. Mialoundama, L. S. Koutika, J.-M. Harmand, J.-P. Bouillet, e L. Mareschal. 2016. Differences in nitrogen cycling e soil mineralisation between a eucalypt plantation e a mixed eucalypt e Acacia mangium plantation on a sandy tropical soil. *South. For.* 2620(October):1–8.
- Tilki, F., e R. F. Fisher. 1998. Tropical leguminous species for acid soils: studies on plant form e growth in Costa Rica. *For. Ecol. Manage.* 108(3):175–192.
- Treseder, K. K., e P. M. Vitousek. 2001. Effects of soil nutrient availability on investment in acquisition of n e p in hawaiian rain forests. *Ecology*. 82(4):946–954.
- Umali-Garcia, M., J. S. Libuit, e R. L. Baggayan. 1988. Effects of Rhizobium inoculation on growth e nodulation of Albizia falcataria (L.) Fosh. and Acacia mangium Willd. in the nursery. *Plant Soil*. 108(1):71–78.
- Wang, R., R. Tischner, R. A. Gutiérrez, M. Hoffman, X. Xing, M. Chen, G. Coruzzi, e N. M. Crawford. 2004. Genomic Analysis of the Nitrate Response Using a Nitrate Reductase-Null Mutant of Arabidopsis. *PLANT Physiol.* 136(1):2512–2522.
- van de Weg, M. J., P. Meir, J. Grace, e G. D. Ramos. 2012. Photosynthetic parameters, dark respiration e leaf traits in the canopy of a Peruvian tropical montane cloud forest. *Oecologia*. 168(1):23–34.
- Wieder, W. R., C. C. Cleveland, P. G. Taylor, D. R. Nemergut, E.-L. Hinckley, L. Philippot, D. Bru, S. R. Weintraub, M. Martin, e A. R. Townsend. 2013. Experimental removal e addition of leaf litter inputs reduces nitrate production e loss in a lowland tropical forest. *Biogeochemistry*. 113(1–3):629–642.
- Yang, L., N. Liu, H. Ren, e J. Wang. 2009. Facilitation by two exotic Acacia: Acacia auriculiformis e Acacia mangium as nurse plants in South China. *For. Ecol. Manage.* 257(8):1786–1793.
- Zhang, B., C. Liang, H. He, e X. Zhang. 2013. Variations in soil microbial communities e residues along an altitude gradient on the northern slope of Changbai Mountain, China Smidt, H. (ed.). *PLoS One*. 8(6):e66184.

CONCLUSÃO GERAL

O particionamento do acúmulo e da assimilação das formas nítricas e amoniacais de N entre raízes e folhas variou especificamente não tendo sido possível a definição de estratégias para grupos de espécies segundo a capacidade de realizar simbiose com bactérias fixadoras de N ou em função de seu estágio sucessional. Entretanto, foi possível distinguir os grupos de espécies em função da capacidade nodulífera e grupo funcional a partir de diferenças na alocação dos recursos nitrogenados entre proteínas e pigmentos cloroplastídicos. Isto sugere que embora a forma nitrogenada mineral preferencialmente absorvida e o compartimento vegetal onde ocorre seu acúmulo e assimilação variem interespecificamente a alocação desses recursos pode ser um traço funcional mais generalizado.

A fertilização afeta diferentemente a *A. mangium*, espécie pioneira nodulífera, e a *D. odorata*, espécie secundária tardia que não realiza simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio. O acúmulo e assimilação de nitrogênio mineral pela espécie pioneira são menos afetados pelo déficit nutricional, elevada assimilação de nitrato nas folhas em ambos os casos. Já a espécie secundária realiza a assimilação de nitrogênio preferencialmente nas raízes, a qual se intensifica em condição de deficiência nutricional.