

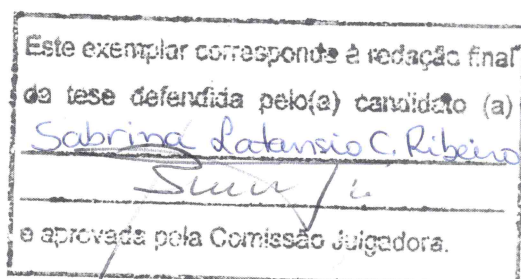
Sabrina Latansio Costa Ribeiro

ECONOMIA DO NITROGÊNIO EM ÁRVORES TROPICAIS

**CAMPINAS
2013**

Sabrina Latansio Costa Ribeiro

ECONOMIA DO NITROGÊNIO EM ÁRVORES TROPICAIS



Tese apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do título de
Doutora em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge

Campinas, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARA JANAINA DE OLIVEIRA – CRB8/6972
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

L341e Latansio, Sabrina Costa Ribeiro, 1982-
Economia do nitrogênio em árvores tropicais /
Sabrina Latansio Costa Ribeiro. – Campinas, SP: [s.n.],
2013.

Orientador: Marcos Silveira Buckeridge.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Sucessão florestal. 2. Nitrato redutases. 3.
Aminoácidos. 4. Floresta ombrofila densa montana. 5.
Cerrados. I. Buckeridge, Marcos Silveira. II.
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês Nitrogen Economy in Tropical Trees

Palavras-chave em Inglês:

Sucessão florestal

Nitrate reductase

Aminoacids

Atlantic ombrophilous dense forest

Cerrados

Área de concentração: Ecofisiologia Vegetal

Titulação: Doutora em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

Marcos Silveira Buckeridge [Orientador]

Gilberto Costa Justino

Halley Caixeta de Oliveira

Carlos Alfredo Joly

Catarina de Carvalho Nievola

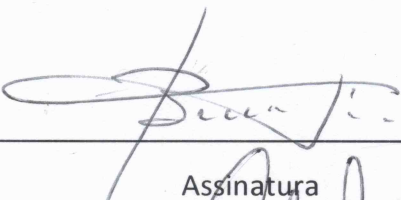
Data da defesa: 16-01-2013

Programa de Pós Graduação: Biologia Vegetal

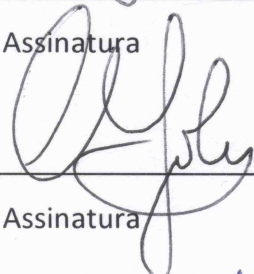
Campinas, 16 de Janeiro de 2013

BANCA EXAMINADORA

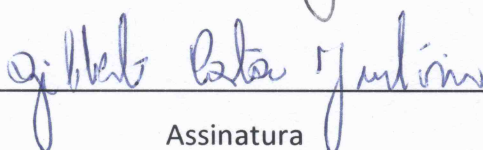
Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge (Orientador)


Assinatura

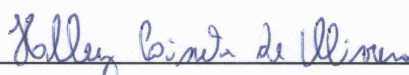
Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly


Assinatura

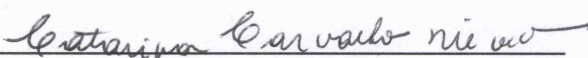
Prof. Dr. Gilberto Costa Justino


Assinatura

Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira


Assinatura

Dra. Catarina Carvalho Nievola


Assinatura

Prof. Dr. Luciano Freschi

Assinatura

Dra. Luciana Ferreira Alves

Assinatura

Profa. Dra. Gabriela Bielefeld Nardoto

Assinatura

Financiamento do trabalho:

- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**Fapesp**) no âmbito dos Projetos Temáticos que integram o Programa **BIOTA/FAPESP**: “Interação biosfera-atmosfera fase 2: cerrados e mudanças no uso da terra” (Processo nº 02/09289-9, Coordenação: Prof. Dr. Humberto Ribeiro da Rocha – IAG/USP) e “Composição florística, estrutura e funcionamento da Floresta Ombrófila Densa nos núcleos Picinguaba e Santa Virgínia do Parque Estadual da Serra do Mar” (Processo nº 03/12595-7, Coordenação: Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly – IB/UNICAMP e Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli – CENA/USP);
- Projeto “*South East Queensland Climate Adaptation Research Initiative*” (**SEQCARI, CSIRO Climate Adaptation National Research Flagship**) (Biodiversity - Vulnerability of focal habitats to climate change, Coordenação de área: Catherine Lovelock, Greg Skilleter, Susanne Schmidt e Kerrie Wilson – School of Biological Sciences, UQ);
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**Capes**), através da concessão de bolsa institucional à aluna pelo período de 31 (trinta e um) meses e de uma bolsa de doutorado sanduíche PDEE pelo período de 12 (doze) meses na School of Integrative Biology, University of Queensland (UQ), sob orientação da Prof^a. Dr^a. Susanne Schmidt (*Associate Professor in Plant Ecology*);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**), através da concessão de bolsa institucional à aluna pelo período de 05 (cinco) meses.

Instituições colaboradoras:

- Instituto de Botânica do Estado de São Paulo (IBt/SMA), Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas
- Parque Estadual da Serra do Mar: Núcleo Santa Virgínia
- Parque Estadual de Vassununga: Gléba Pé-de-gigante
- Centro de Energia Nuclear para Agricultura (CENA/USP – Piracicaba)
- Escola Superior Luiz de Queiroz (ESALQ/USP)
- School of Integrative Biology, University of Queensland (UQ), Brisbane – Austrália

Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas, valeu a intenção da semente."

Henfil

Ao meu amado pai (in memoriam)

A minha adorada mãe

As minhas queridas irmãs

As sábias florestas

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu adorado pai por me deixar uma herança de amor, paciência e compreensão, por me ensinar a ter consciência do valor do conhecimento e da importância da firmeza em não desviar do meu caminho, sentir o seu amor e lembrar-me de suas sábias palavras foi meu combustível para escrever essa Tese;

A minha amada mãe por ser meu espelho, por me lembrar das minhas virtudes, por me ensinar a viver agradecida e ser perseverante nos meus ideais, sua doçura me forneceu força para continuar;

A minhas queridas irmãs pela admirável paciência que tiveram comigo, pelo amor e compreensão em todas as fases do meu trabalho, pela força que me deram quando estive na Austrália longe de todos os meus, e pela linda recepção que me fizeram quando voltei a pisar em terras brasileiras, o amor de vocês me incentivou muito a continuar minha jornada e retomar meu trabalho em meio a tantas dificuldades;

Ao Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge por ter me acolhido com confiança, por aceitar me orientar nesse trabalho e pelo espaço oferecido no Lafieco;

Ao Dr. Marcos Aidar pela idealização dessa proposta comigo, pelo companheirismo, confiança, amizade, paciência, incentivo, pelas extensas discussões, pela ajuda irrestrita em todas as etapas deste trabalho, pela dedicação e cumplicidade;

To the dearest Dr. Susanne Schmidt, for opening the opportunity to work in her lab, for the best reception I could ever have when I arrived in Australia's lands, for sharing with me her family moments making me feel at home, for the friendship, for being so lovely always, for all the support on the Field expeditions, for the constructible scientific discussions, for including me on the Fraser Island Field Course, for including me on all the other works on her lab, it was the best way to learn as much as possible about ecophysiology in Aussie, thanks Susanne for being so awesome, I have you as an inspiration to my work and life;

Ao Dr. Mateus Luis Barradas Paciência pela super ajuda com as análises exploratórias e multivariadas, e pelo importante espaço a mim disponibilizado em sua sala nos últimos períodos de produção da Tese;

Ao Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly pela oportunidade de fazer parte do Projeto Biota Gradiente e por possibilitar em muitos aspectos a execução deste trabalho;

A João Paulo Villani, chefe do Núcleo Santa Virgínia (Parque Estadual da Serra do Mar), por permitir o estudo na Floresta e pela infra-estrutura disponibilizada para as coletas;

Ao Dr. Everton Ribeiro, chefe do Parque Estadual de Vassununga, por autorizar o estudo na Gleba Pé-de-Gigante;

Ao Programa de Pós-graduação da Biologia Vegetal da Unicamp, no nome dos coordenadores Marcelo Dornelas, Eliana Forni Martins e Sandra Guerreiro, por todo o suporte e à secretária Maria Roseli por toda ajuda, gentileza e eficiência;

A Fapesp pelo suporte financeiro através do Programa Biota que possibilitou a realização das expedições de campo e análises laboratoriais do trabalho;

A Capes pelas bolsas institucional e sanduíche concedidas;

Ao CNPq pela bolsa institucional concedida nos últimos cinco meses da pesquisa;

Ao queridíssimo colega Renato Belinello, o Pezão, que realizou um incrível trabalho de coleta das plantas, sem o qual seria impossível uma amostragem tão ampla, obrigada pelas suas ideias, pela sua leveza e serenidade nos trabalhos tão suados de campo, e por participar de tudo sempre tão bem humorado, você é mesmo o nosso Pé Grande das florestas;

A minha querida mestre Claudia Ruschel Lima, por me acompanhar no meu caminho de autoconhecimento e com isso fazer parte dessa conquista, também a Cristina Previdelli e ao pessoal da OPL pela força e amor, pelas vivências e convivências, por compartilhar o sucesso e me acompanhar no trajeto;

A Emiliano de Brito Rossi pelos momentos que se colocou disponível para ouvir meus lamentos e angústias, compartilhar minhas alegrias e conquistas pessoais, por dividir comigo os momentos difíceis de parte desse período tão estressante que foi o de criação de uma tese de doutorado em meio à doença e falecimento de meu pai, e tantas outras mudanças pessoais, agradeço sua paciência;

A minha querida amiga Giseli Areias Nóbrega pela força motivacional na fase final desse trabalho, pela amizade sincera, pela invencível parceria nas expedições de campo, pelas calorosas e construtivas discussões, pelo carinho, pela companhia, enfim, por ser simplesmente você e por fazer parte da minha vida;

A minha querida amiga Fernanda Tresmondi pelas altas horas de conversas telefônicas sobre infindáveis assuntos durante todo o período de desenvolvimento desse trabalho, pelo carinho e amizade, paciência e compreensão, por compartilhar minhas aflições e alegrias com admirável leveza e cumplicidade;

Aos colegas e amigos que participaram das exaustivas expedições de campo, sob chuva, neblina ou sol, obrigada pelo esforço e por compartilharem comigo ótimos momentos: Giampiero Bini Cano, Fernanda Macedo, Eduardo Rinaldi, Larissa Pereira (Larissão), Bruno Rosado, Pedro Cavalin, André Rochelle, José Ataliba, Maira Padgurschi, Viviane Camila de Oliveira (Vivi), Ewerton Manarin, Fernanda Susi (Ferdz), Pablo (Lokinho);

Aos colegas e amigos que fiz na Pós-graduação da Unicamp pelas altas discussões filosóficas e pela amizade: Lucas Kaminski, Rafael Costa, Arildo Dias, Nivea Dias, Júlia Sfair, Érico Pereira-Silva, Chris Corrêa, Pedro Eisenlohr, Valéria Martins, Carol Scultori, Rubem Ávila (Rubão), Carol Virillo, Lígia Sims, Felipe Amorim, Larissa Veiga (Larissinha), Lorena Fonseca, Juliano “Pequeno” van Melis, Leo Meirelles, Enio Sosinski, Bruno Aranha, Lívia Cordi, Gabriela Bieber e Paulinho, Janaína Cortinoz, Adaíses Maciel;

To the lovely friends I’ve made in Australia on Susanne’s lab, for all the support on the lab work, field work and for the friendship: Richard Bradkin, Nicole Robinson, Robert Price, Jirko Holst, Jessica Voght;

E por último agradeço as florestas, as árvores e a todas as entidades que as protegem, por muito me ensinarem!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama conceitual do modelo de uso de nitrogênio (N) ao longo de uma sucessão florestal na Mata Atlântica, como proposto por Aidar *et al.* (2003), indicando os principais compostos nitrogenados de baixo peso molecular transportados na seiva do xilema e as tendências dos parâmetros analisados ao longo do contínuo existente entre as diferentes estratégias de regeneração, onde: leaf $\delta^{15}\text{N}$ – assinatura isotópica foliar (‰); transporte na seiva do xilema (xylem sap): Arg – arginina, Asn – asparagina, Gln – glutamina, NO_3^- – nitrato; sucessão florestal: early – estágio inicial de sucessão (15 anos após abandono), mid – estágio médio de sucessão (25 anos), late – estágio avançado de sucessão (>36 anos) (Aidar *et al.* 2001, 2003).....31

Figura 2. Aparato para extração de seiva. A – bomba de vácuo manual, B–tubo de silicone, C–ramo da planta, D – suporte com filme de parafina, E – reservatório de seiva e F-frasco com tampa de rosca (retirada de Pereira-Silva 2008).....41

Figura 3. Contextualização geográfica e localização da área de estudo no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP.....44

Figura 4. Precipitação média mensal para o período de 1973 a 2008 nos quatro diferentes postos de precipitação dos municípios de São Luís do Paraitinga e Ubatuba, SP (Martins 2010).....46

Figura 5. Contextualização geográfica e localização da área de estudo no Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, mapa de localização das parcelas selecionadas.....48

Figura 6. Balanço hídrico normal segundo Thornthwaite & Mather (1955) para o período de 1975 a 2011, calculado com uso de dados das estações meteorológicas Hinze Dam (40584 - 28.05°S 153.29°L, 111 m) e MT Tamborine Fern (040197 - 27.97 °S 153.20 °L, 515m). Onde: (–□–) precipitação e (–×–) temperatura atmosférica. Fonte: www.bom.gov.au/climate/data (Australian Government - Bureau of Meteorology).....50

Figura 7. Balanço hídrico para o ano de 2010 no Parque Nacional de Lamington, QLD – Austrália, calculado com uso de dados das estações meteorológicas O'Reillys Alert (40931 - 28.23°S 153.14°L, 913 m) e Hinze Dam (40584 - 28.05°S 153.29°L, 111 m). Onde: (–□–) precipitação e (–x–) temperatura atmosférica. Fonte: www.bom.gov.au/climate/data (Australian Government - Bureau of Meteorology).....50

Figura 8. Contextualização geográfica do cerrado no Brasil, localização do Parque Estadual de Vassununga no estado de São Paulo e da Gleba Pé-de-gigante (PDG – foto aérea e distribuição das fitofisionomias de cerrado), em Santa Rita do Passa Quatro – SP, com a localização da parcela selecionada.....53

Figura 9 – Balanço hídrico normal segundo Thornthwaite & Mather (1955), calculado com uso de dados da estação meteorológica do DAEE/SP C4-107, para o período de 1941 a 1970 em Santa Rita do Passa Quatro/SP. Onde: (–□–) precipitação, (–x–) temperatura atmosférica, (–○–) evapotranspiração real e (■) déficit hídrico..55

Figura 10 – Balanço hídrico para o ano de 2008 no município de Santa Rita do Passa Quatro, SP (Dados obtidos em CIIAGRO <http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>). Onde: (–□–) precipitação, (–x–) temperatura atmosférica, (–○–) evapotranspiração real e (■) déficit hídrico.....55

Figura 11. Ordenação (PCA) das 41 espécies estudadas em SV, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 1.....62

Figura 12. Ordenação (PCA) das 41 espécies estudadas em SV, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 1.....63

Figura 13. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – $\mu\text{kat.g}^{-1}$ MF) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).64

Figura 14. Concentração de NO_3^- foliar (NO_3^- folha – $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).65

Figura 15. Conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (N-NO_3^- – %) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).66

Figura 16. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO_3 = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.67

Figura 17. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).68

Figura 18. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).....69

Figura 19. Área foliar específica (AFE – $\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$ MS) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).....69

Figura 20. Densidade da madeira (DM – g.cm^{-3}) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).....70

Figura 21. Disponibilidade de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no solo da Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). As barras representam o desvio padrão.....71

Figura 22. Ordenação (PCA) das 24 espécies estudadas em LAM, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 2.....84

Figura 23. Ordenação (PCA) das 24 espécies estudadas em LAM, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 2.....85

Figura 24. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – pkat.g⁻¹ MF) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*).....86

Figura 25. Concentração de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻ folha – μmol.g⁻¹ MF) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*).....87

Figura 26. Conteúdo de N sob a forma de NO₃⁻ na seiva do xilema (N-NO₃⁻ – %) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*).....88

Figura 27. Teor de N na forma de aminoácidos e NO₃⁻ na seiva do xilema (%) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO₃ = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.....89

Figura 28. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*)......90

Figura 29. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*)......90

Figura 30. Área foliar específica (AFE – $\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$ MS) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*)......91

Figura 31. Densidade da madeira (DM – g.cm^{-3}) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*)......92

Figura 32. Disponibilidade de nitrato ($\text{NO}_3^- - \mu\text{g.g}^{-1}$) no solo da Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). As barras representam o desvio padrão.....93

Figura 33. Ordenação (PCA) das 27 espécies estudadas no PDG, e suas classes fenológicas (D,S e P), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %N_{Xxx} – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 3.....100

Figura 34. Ordenação (PCA) das 27 espécies estudadas em PDG, e suas classes fenológicas (D, S e P), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 3.....101

Figura 35. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – pkat.g⁻¹ MF) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*)......102

Figura 36. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – pkat.g⁻¹ MF) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*)......103

Figura 37. Concentração de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻ folha – μmol.g⁻¹ MF) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*)......104

Figura 38. Concentração de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻ folha – μmol.g⁻¹ MF) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*)......104

Figura 39. Conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (N-NO_3^- – %) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).105

Figura 40. Conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (N-NO_3^- – %) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).105

Figura 41. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO_3 = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.107

Figura 42. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO_3 = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.108

Figura 43. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).109

Figura 44. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).109

Figura 45. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).110

Figura 46. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).110

Figura 47. Área foliar específica (AFE – $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ MS) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).111

Figura 48. Área foliar específica (AFE – $\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$ MS) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).....112

Figura 49. Densidade da madeira (DM – g.cm^{-3}) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).....113

Figura 50. Densidade da madeira (DM – g.cm^{-3}) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).....113

Figura 51. Disponibilidade de nitrato (NO_3^- e NH_4^+ – $\mu\text{g.g}^{-1}$) no solo do cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). As barras representam o desvio padrão.....115

Figura 52. Ordenação (PCA) das espécies das três áreas estudadas (SV, LAM e PDG), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados nas Tabelas 1, 2 e 3.....122

Figura 53. Ordenação (PCA) das espécies das três áreas estudadas (SV, LAM e PDG), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados nas Tabelas 1, 2 e 3.....123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista das 41 espécies selecionadas em duas parcelas do Projeto Biota Gradiente Funcional, no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP. Siglas: cod – código da espécie, n – número de indivíduos, ER – estratégia de regeneração das espécies onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial e St = secundária tardia e IVI – Índice de Valor de Importância.....45

Tabela 2. Lista das 24 espécies selecionadas nas parcelas do Projeto IBISCA-Queensland, no Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália. Siglas: cod – código da espécie, n – número de indivíduos, ER – estratégia de regeneração das espécies onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial e St = secundária tardia e IVI – Índice de Valor de Importância. As espécies marcadas com o símbolo (*) encontravam-se fora das parcelas levantadas, portanto, não têm valor de IVI.....49

Tabela 3. Lista das 27 espécies selecionadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP. Siglas: cod – código da espécie, n – número de indivíduos, hábito – hábito fenológico da espécie, onde D = decídua, S = semi-decídua e P = perenifólia e IVI – Índice de Valor de Importância.....54

Tabela 4. Colonização radicular total (CRT – %) e colonização radicular por micorriza arbuscular (CA – %) médias, das amostras de raiz em solo retirado da Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.....71

Tabela 5. Colonização radicular total (CRT – %) e colonização radicular por micorriza arbuscular (CA – %) médias, das amostras de raiz em solo retirado da Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.....92

Tabela 6. Colonização radicular total (CRT – %) e colonização radicular por micorriza arbuscular (CA – %) médias, das amostras de raiz em solo retirado do cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.....	114
Tabela 7. Valores médios de ANR (pkat.g ⁻¹ MF), NO ₃ ⁻ folha (μmol.g ⁻¹ MF), razão CN e δ ¹⁵ N (‰), das espécies nas áreas estudadas (SV, LAM e PDG), em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.....	124
Tabela 8. Valores médios de AFE (cm ² .g ⁻¹ MS) e DM (g.cm ⁻³) das espécies nas áreas estudadas (SV, LAM e PDG), em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.....	125
Tabela 9. Valores médios de CRT (%) e CA (%) das amostras de raiz em solo retirado das áreas estudadas (SV, LAM e PDG), em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.....	125
Tabela A1. Valores médios foliares da ANR (pkat.g ⁻¹ MF), conteúdo de N (%), δ ¹⁵ N (‰) e NO ₃ ⁻ folha (μmol.g ⁻¹ MF) das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. Desvio padrão entre parêntesis.....	170
Tabela A2. Valores médios foliares da ANR (pkat.g ⁻¹ MF), conteúdo de N (%), δ ¹⁵ N (‰) e NO ₃ ⁻ folha (μmol.g ⁻¹ MF) das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. Desvio padrão entre parêntesis.....	171
Tabela A3. Valores médios foliares da ANR (pkat.g ⁻¹ MF), conteúdo de N (%), δ ¹⁵ N (‰) e NO ₃ ⁻ folha (μmol.g ⁻¹ MF) das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. Desvio padrão entre parêntesis.....	172

ABREVIATURAS

aa	– Aminoácidos
ANR	– Atividade da enzima nitrato redutase
NO ₃ ⁻ folha	– Concentração de nitrato foliar
NO ₃ ⁻ seiva	– Teor relativo de nitrato na seiva do xilema
%N-NO ₃ ⁻	– Teor relativo de nitrato na seiva do xilema
%N-Asp	– Teor relativo de ácido aspártico na seiva do xilema
%N-Asn	– Teor relativo de asparagina na seiva do xilema
%N-Arg	– Teor relativo de arginina na seiva do xilema
%N-Gln	– Teor relativo de glutamina na seiva do xilema
%N-Glu	– Teor relativo de glutamato na seiva do xilema
AfE	– Área foliar específica
PDG	– Cerrado <i>sensu stricto</i> do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante
PESM	– Parque Estadual da Serra do Mar
MIC	– Colonização por micorrizas
CRT	– Colonização radicular total por micorrizas
CA	– Colonização radicular por micorriza arbuscular
DM	– Densidade da madeira
St	– Espécies seundárias tardias na sucessão florestal
Si	– Espécies secundárias iniciais na sucessão florestal
Pi	– Espécies pioneiras na sucessão florestal
TrARG	– Espécies transportadoras de arginina
TrASN	– Espécies transportadoras de asparagina
TrGLN	– Espécies transportadoras de glutamina
D	– Espécies de hábito fenológico decíduo
S	– Espécies de hábito fenológico semidecíduo
P	– Espécies de hábito fenológico perenifólio
SV	– Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia
LAM	– Floresta Subtropical Úmida Montana do Parque Nacional de Lamington, Austrália
δ ¹⁵ N	– Isótopo estável ¹⁵ N foliar

Nr	– Nitrogênio reativo
NO _x	– Óxidos de nitrogênio
CN	– Razão Carbono/Nitrogênio foliar
SULF	– Sulfanilamida
NEDD	– N-(1-Naftil) etilenodiamida diidroclorídeo
VCl ₃	– Cloreto de Vanádio III

Economia do Nitrogênio em Árvores Tropicais – Diante da urgente necessidade de mais informações sobre os mecanismos fisiológicos e ecológicos que regulam o crescimento das plantas e a composição de espécies nas comunidades vegetais tropicais, que possam elucidar a dinâmica do nitrogênio (N) nos processos biogeoquímicos de ciclagem interna e das características ecofisiológicas das espécies nessas comunidades, e auxiliar na compreensão sobre a funcionalidade do ciclo do N nos ecossistemas tropicais que estão altamente ameaçados pelas mudanças no clima e por pressões antrópicas, buscou-se com o presente trabalho ampliar o conhecimento sobre as capacidades de assimilação, transporte, estocagem e reciclagem de N nas espécies arbóreas de uma Floresta Ombrófila Densa Montana do estado de São Paulo, uma Floresta Montana Subtropical Australiana e um cerrado *sensu stricto* do estado de São Paulo. Para isso, avaliaram-se os seguintes parâmetros: atividade da enzima nitrato redutase (ANR); conteúdo de nitrato (NO_3^-) nos tecidos foliares; conteúdo de N e C totais (%N, %C, e razão CN) e composição isotópica ($\delta^{15}\text{N}$) foliares; concentração de compostos nitrogenados na seiva do xilema (aminoácidos, amidas e NO_3^-); disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo através do uso de resina de troca iônica; ocorrência de simbiose radicular (micorriza) e identificação das espécies através dos esporos encontrados no solo; área foliar específica (AFE) e densidade da madeira (DM). Demonstrou-se que mesmo em diferentes ecossistemas, o desempenho das plantas parece seguir alguns padrões de economia no uso do recurso N, que concordam com os teoremas econômicos que preveem como o lucro deve ser maximizado com os recursos otimamente alocados, propostos por Bloom *et al.* (1985) e se encaixam no modelo proposto por Aida *et al.* (2003) que preveem a existência de um contínuo de estratégias entre plantas de diferentes grupos funcionais, e desse modo, numa análise da economia do N em árvores tropicais, mostrou-se que coexistem árvores com estratégias diferentes mas igualmente econômicas. Nesse contexto, três grupos funcionais se destacaram: o de espécies da classe mais tardia na sucessão florestal (St) e das pertencentes principalmente à família Myrtaceae no cerrado (TrARG), que adotam uma estratégia mais conservativa no uso do N, baseada no estoque e reciclagem de reservas internas, sustentando ciclo de vida longo, crescimento lento e folhas mais longevas, são caracterizadas pelo transporte de arginina na seiva do xilema, alta razão CN, baixa ANR, alta DM e baixa AFE; o de espécies da classe inicial da sucessão florestal (Pi) e de outras quatro espécies do cerrado pertencentes à diferentes famílias (Araliaceae, Annonaceae, Apocinaceae, Myristicaceae) (TrGLN), que adotam uma estratégia mais especialista e de alto custo no uso do N, que é compensada pelo acoplamento da assimilação do NO_3^- diretamente à fotossíntese, sustentam ciclo de vida curto e crescimento rápido que demanda alta luminosidade, são caracterizadas pelo

transporte de NO_3^- e/ou Gln, Asn na seiva do xilema, baixa razão CN, alta ANR, baixa DM e alta AFE; e o de espécies da classe secundária inicial da sucessão florestal (Si) e pertencentes principalmente à família Leguminosae no cerrado (TrASN), que ajustam a alocação dos recursos até igualar o efeito de todos os recursos na limitação ao crescimento ou se ajustam fisiologicamente às mudanças na disponibilidade dos recursos para reduzir a “taxa de câmbio” fazendo um balanço entre as reservas internas e externas numa proporção ótima para o crescimento, sustentando assim estratégias mais variáveis entre os dois extremos anteriores, com ANR e AFE médios, alta DM como nas primeiras, baixa razão CN como nas segundas e transportando Asn além de diversos outros compostos também eficientes nessa função como Arg, e são caracterizadas por uma alta plasticidade no uso dos recursos. Concluiu-se que os melhores indicadores dessa economia do N nas árvores tropicais são os compostos transportados na seiva do xilema, mas também o conteúdo de N e a razão CN, ANR, AFE e DM são importantes na definição dessas estratégias. Confirmou-se a validade do modelo de uso de N proposto por Aida *et al.* (2003) ao incluir as plantas de uma Floresta Ombrófila Densa Montana, concedeu-se ao mesmo uma amplitude Intercontinental ao inserir as plantas de uma Floresta Subtropical Montana Australiana e adicionou-se uma nova perspectiva em relação ao cerrado ao aplicar esse modelo às plantas do cerrado, que se utilizam das mesmas estratégias de uso de N propostas pelo modelo, porém em grupos funcionais diferentes que não demonstram sucessão cronológica clara como os das plantas nas florestas.

Palavras-chave: sucessão florestal, nitrato redutase, aminoácidos, floresta montana, cerrado, mata atlântica, grupos funcionais

ABSTRACT

Nitrogen Economy in Tropical Trees – There is an urgent need to better understand physiological and ecological mechanisms that regulate plant growth and species composition in tropical plant communities. Nitrogen (N) dynamics of vegetation interact with biogeochemical processes of internal cycling and on ecophysiological traits of those species, and likewise assist the comprehension about the N cycle functionality in tropical ecosystems that are highly threatened by the climate changes and anthropical pressures, we aimed, in the present research, to broaden the knowledge on aquisition capacity, transport, storage and recycling of N in tree species of an Ombrophill Dense Montane Forest of São Paulo State, a Subtropical Montane Forest of Australia and a cerrado *sensu stricto* of São Paulo State. We evaluated the following parameters: nitrate (NO_3^-) reductase activity (NRA); NO_3^- and total N and C concentrations (%N, %C, and CN ratio) and isotopic composition ($\delta^{15}\text{N}$) of leaf tissues; N compounds of the xylem sap (aminoacids, amides and NO_3^-); availability of NO_3^- and NH_4^+ in the soil using ion exchange resin bags; ocurrence and species identification of root symbiosis (mychorriza); specific leaf area (SLA) and wood density (WD). We demonstrated that even in different ecossystems, plant establishment and success follows some economical patterns in terms of N use, which agree with the economic theorems that assume that every profit must be maximized toward an optimal allocation of resources, as proposed by Bloom *et al.* (1985), and which fit the model proposed by Aidar *et al.* (2003) that assumes the existence of a *continuum* of strategies among plants from different functional groups. Hence, an economic analysis of N in tropical trees showed that coexistent trees are able to deal with N using peculiar but equally profitable strategies. Thus, three functional groups stand out: firstly the group of late sucessional species (St) and the ones belonging to the Myrtaceae family in the cerrado (TrARG), which adopt a more conservative strategy on the N use, based on storage and recycling of internal reserves, therefore sustaining a long life cycle, slow growth and long leaf life span, and characterized by the preference of arginine as a transport compound on the xylem sap, high CN ratio, low NRA, high WD and low SLA; secondly the group of pioneer species (Pi) and four cerrado species of specific families (Araliaceae, Anonnaceae, Apocinaceae, Myristicaceae) (TrGLN), which adopt a more specialized strategy marked by high costs on the N use, that are compensated by coupling NO_3^- uptake to photosynthesis, thereby sustaining a short life cycle and rapid growth (that demand high light), and are characterized by the transport of NO_3^- and glutamine or asparagine in the xylem sap, low CN ratio, high NRA, low WD and high SLA; and thirdly the group of early sucessional species (Si) and the ones belonging mainly to the Leguminosae family in the cerrado (TrASN), which either adjust resource allocation in order to achieve an equal influence of all resources on growth limitation, or adjust physiologically

to the resources availability changes by reducing the “exchange ratio” through balancing the internal and external reserves approaching optimal proportions to benefit growth, therefore sustaining more variable strategies between both previous extremes, exhibiting average NRA and SLA, high WD as the former, low CN ratio as the latter, and transporting asparagine as well as arginine (also functionally efficient), being thus characterized by high plasticity on resource use. We conclude that the most suitable indicators in terms of N economy on tropical trees to define those strategies are the xylem sap N compounds, but N content, CN ratio, and NRA, as well as SLA and WD are also important. In summary, we validated the N use model proposed by Aida *et al.* (2003) by providing new evidences from an Ombrophill Dense Montane Forest of Brasil, raised it to an Intercontinental range by including plants of a Subtropical Montane Forest of Australia, and placed it in a new perspective related to cerrado ecosystem plants, that performed the same N use strategies as suggested by the model, however with different functional groups that do not fit in a clear cronological sucession as the forest plants do.

Key-words: forest sucession, nitrate reductase, aminoacids, montane forest, cerrado, atlantic forest, functional groups

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XXI
ABREVIATURAS.....	XXIII
RESUMO.....	XXV
ABSTRACT	XXVII
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUTIFICATIVAS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1. O Nitrogênio.....	7
<i>Nutrição e o elemento N</i>	<i>7</i>
<i>Oligotrofia e as inovações nutricionais</i>	<i>7</i>
<i>O ciclo biogeoquímico do N e as plantas</i>	<i>8</i>
<i>Uso de N pelas plantas – absorção e assimilação</i>	<i>10</i>
<i>Uso de N pelas plantas – estoque e remobilização.....</i>	<i>14</i>
<i>Uso de N nas comunidades vegetais – a sucessão florestal</i>	<i>16</i>
3.2. Alteração do ciclo pelo homem.....	18
3.3. Nitrogênio nos ecossistemas tropicais.....	22
<i>Ciclagem de N nos ecossistemas tropicais.....</i>	<i>22</i>
<i>O paradoxo do N nas florestas tropicais.....</i>	<i>24</i>
<i>Florestas montanas.....</i>	<i>25</i>
<i>Florestas no Brasil e Austrália.....</i>	<i>27</i>
<i>Uso de N por plantas de florestas tropicais no Brasil e Austrália.....</i>	<i>29</i>
3.4. Nitrogênio nas savanas tropicais.....	31
<i>Savanas tropicais no mundo</i>	<i>31</i>
<i>Savana brasileira – Cerrado no estado de São Paulo</i>	<i>33</i>

3.5. Área foliar específica e densidade da madeira	35
4. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	38
5. MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1. Material Vegetal	39
5.1.1. Seleção e caracterização das espécies vegetais estudadas.....	39
5.1.2. Estratégia de coleta e desenho experimental.....	40
5.1.3. Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia (SV)	42
5.1.4. Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM).....	47
5.1.5. Cerrado sensu stricto do Parque Estadual de Vassununga, Gleba Pé-de-gigante (PDG)	51
5.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)	56
5.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)	56
5.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (NO_3^- seiva)	57
5.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema.....	57
5.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN).....	58
5.7. Área foliar específica (AFE)	58
5.8. Densidade da madeira (DM).....	58
5.9. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)	59
5.10. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo	59
5.11. Tratamento estatístico.....	60
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
6.1. Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia (SV)...	61
6.1.1. Análise de ordenação – SV.....	61
6.1.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)	64
6.1.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha).....	65
6.1.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (%N- NO_3^-).....	65
6.1.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema.....	66
6.1.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN).....	67
6.1.7. Isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N}$)	68

6.1.8. Área foliar específica (AFE)	69
6.1.9. Densidade da madeira (DM)	70
6.1.10. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)	70
6.1.11. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo	71
6.1.12. Discussão SV – O Modelo do uso de N na Floresta Ombrófila Densa Montana	72
6.2. Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM)	83
6.2.1. Análise de ordenação – LAM	83
6.2.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)	86
6.2.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)	87
6.2.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (%N- NO_3^-)	87
6.2.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema	88
6.2.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN)	89
6.2.7. Isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N}$)	90
6.2.8. Área foliar específica (AFE)	91
6.2.9. Densidade da madeira (DM)	91
6.2.10. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)	92
6.2.11. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo	93
6.2.12. Discussão LAM – O Modelo de uso de N em uma Floresta Subtropical Australiana	93
6.3. Cerrado sensu stricto do Parque Estadual de Vassununga, Gleba Pé-de-gigante (PDG)	98
6.3.1. Análise de ordenação – PDG	98
6.3.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)	102
6.3.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)	103
6.3.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (%N- NO_3^-)	105
6.3.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema	106
6.3.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN)	108
6.3.7. Isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N}$)	110
6.3.8. Área foliar específica (AFE)	111
6.3.9. Densidade da madeira (DM)	112
6.3.10. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)	114
6.3.11. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo	114
6.3.12. Discussão PDG – O uso de N por plantas de Cerrado	115

6.4. <i>Análise geral comparando as áreas estudadas</i>	121
6.5. <i>Discussão geral – análises de solo</i>	125
6.6. <i>Discussão geral – Economia do uso de N em árvores tropicais</i>	130
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	139
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	143
ANEXO 1 – SV	170
ANEXO 2 – LAM	171
ANEXO 3 – PDG	172

1. INTRODUÇÃO

A floresta atlântica brasileira, bem como o cerrado, vem sofrendo crescentes pressões antrópicas e poucos remanescentes ainda restam dessas formações vegetais no Brasil. Em relação à primeira, estes estão na sua maioria localizados no litoral do estado de São Paulo, e os segundos estão concentrados principalmente na região central do Brasil, porém é no limite sul de sua ocorrência, no estado de São Paulo, que se concentra a maior biodiversidade nessa vegetação (Weiser & Godoy 2001), justamente pelo maior contato com as florestas atlânticas. Ambos foram considerados por Myers *et al.* (2000) como “hotspots” para a conservação da biodiversidade, dentre outros motivos, devido ao alto grau de ameaça que sofrem e por terem mais de 70% de suas áreas originais já desmatadas.

Similarmente, do outro lado do planeta, a floresta subtropical úmida australiana também se restringe atualmente a poucas áreas (Steffen *et al.* 2009), principalmente ao sul do estado de Queensland, sofre crescentes pressões antrópicas (Mackey *et al.* 2008), e abriga uma enorme riqueza de espécies vegetais com alta significância biológica, possuindo 13 das 19 famílias de angiospermas primitivas ainda existentes (Vandernbeld 1988), e estão entre os ecossistemas mais ameaçados do mundo (Malcom *et al.* 2006).

Por outro lado, apesar da urgência em se proteger estes remanescentes florestais, o que pressupõe o conhecimento sobre o funcionamento das comunidades vegetais que os compõe, relativamente pouco se sabe sobre as características ecofisiológicas da vegetação. Além disso, os estudos sobre o comportamento das espécies do ponto de vista da sucessão ecológica ainda são escassos e têm se limitado principalmente à Mata Atlântica (Gandolfi *et al.* 1995, Gandolfi 2000, Aida *et al.* 2001; Aida *et al.* 2003, Godoy 2007, Campos 2009, Silva 2012, Marchiori 2012), mas nestes, têm-se observado um avanço, traduzido através de propostas de investigação de outras evidências que influenciam o caráter sucessional e as estratégias de regeneração das espécies, na tentativa de melhorar o entendimento do processo de sucessão de uma comunidade vegetal (Pereira-Silva 2008).

A organização das espécies em grupo ecofisiológicos traz informações de que a sucessão secundária e a dinâmica da regeneração são intimamente relacionadas e dependem de diversos fatores que determinam quais espécies da comunidade terão êxito no estabelecimento (Bazzaz & Pickett 1980, Whitmore 1996).

Então, considerando que o crescimento e estabelecimento das plantas é essencialmente limitado pelo elemento N (nitrogênio) (Rennenberg *et al.* 2009), dentre outros aspectos, o estudo da ciclagem do N nas comunidades vegetais é de grande importância para o entendimento dessas e para subsidiar futuras

intervenções nas mesmas no sentido de preservação e/ou conservação.

Nesse contexto, o presente trabalho investigou a ecofisiologia do uso do N em três ecossistemas altamente ameaçados: a Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia, ao litoral do estado de São Paulo – Brasil; a Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington, ao sul do estado de Queensland – Austrália; e o cerrado *sensu stricto* do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-Gigante, ao nordeste do estado de São Paulo – Brasil; de forma a gerar ferramentas que contribuam para futuros projetos de recuperação de áreas degradadas nos domínios fitogeográficos relacionados, bem como fornecer informações úteis para a modelagem utilizada em previsões de possíveis efeitos da deposição de N nos ecossistemas estudados ou outros agravantes provocados pelas mudanças no clima global, e quiçá possibilitar o planejamento de remediação desses efeitos na vegetação.

2. JUTIFICATIVAS

Os aspectos de grande diversidade, endemismos e alto grau de ameaça aos ecossistemas tidos como foco deste estudo, levaram à inclusão da Mata Atlântica e do cerrado brasileiro como dois dos principais “hotspots” para a conservação da biodiversidade (Myers *et al.* 2000) (<http://www.biodiversityhotspots.org/xp/Hotspots/>) e das florestas úmidas australianas como patrimônio natural da humanidade (<http://whc.unesco.org/>). Mas apesar da importância destes para a conservação da biodiversidade, são praticamente desconhecidas as características do metabolismo primário de N das espécies vegetais que ocorrem nos remanescentes desses ecossistemas no estado de São Paulo (Brasil) e no estado de Queensland (Austrália).

Aidar *et al.* (2003) indicam que as espécies arbóreas que ocorrem ao longo da sucessão florestal sobre solo eutrófico no alto Vale do Ribeira de Iguape, sul do estado de São Paulo, apresentam um contínuo de estratégias no uso de N, com dois extremos marcados por plantas pioneiras e tardias, que usam NO_3^- e reciclam N interno respectivamente. O trabalho de Pereira-Silva (2008) em Floresta Ombrófila Densa Baixo Montana (300 m) no Parque Estadual de Carlos Botelho, sul do estado de São Paulo, sob solo ácido e distrófico, indicou que as espécies pioneiras utilizam principalmente NO_3^- como fonte de N. Também o trabalho de Campos (2009) em Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (100 m) no PESH, Núcleo Picinguaba, norte do estado de São Paulo, indica a existência desse contínuo de estratégias de uso de N pelas plantas ao longo da sucessão, estando de acordo com o modelo proposto por Aidar *et al.* (2003).

Além destes trabalhos, o estudo de Pereira-Silva (2009), que avaliou as plantas numa Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (PESH) no centro-sul do estado de São Paulo, demonstrou a existência do mesmo contínuo de estratégias de uso de N pelas espécies numa sucessão florestal, validando o modelo inicialmente proposto por Aidar *et al.* (2003) naquela comunidade, e com isso, mudou a abrangência desse modelo de local para regional.

Na Austrália, o trabalho de Stewart *et al.* (1988) indicou que as espécies pioneiras de uma floresta úmida no sudeste do estado de Queensland, Parque Nacional de Lamington, têm potencial para uso de NO_3^- enquanto que as demais espécies parecem se utilizar de outras fontes de N, porém não houve investigação mais profunda com relação ao que acontece nas outras classes sucessionais.

Em relação ao Cerrado, praticamente nenhum trabalho abordou em profundidade o estudo da preferência quanto ao uso de N pelas espécies. Pereira-Silva *et al.* (2006) indicaram que 30 espécies lenhosas presentes em um cerradão na Estação Ecológica de Jataí, Luís Antônio (SP) apresentam baixa ANR, sugerindo que não

utilizam NO_3^- como principal fonte de N do solo. Os autores também mostraram que, de modo geral, o conteúdo de N foliar foi bastante baixo nestas espécies, quando comparados aos valores de espécies florestais, sugerindo que aquele é um ambiente pobre em N. De acordo, Macedo *et al.* (2006), em estudo com a espécie *Anadenanthera falcata* do Cerrado *sensu stricto* da Gleba Pé-de-gigante, que mostrou clara preferência pelo uso de NH_4^+ , corroborou a afirmação de que o NH_4^+ é a principalmente fonte disponível de N em áreas de Cerrado, como indicado por Nardoto e Bustamante (2003). Porém, pouca informação existe sobre a ecofisiologia do uso de N por espécies de Cerrado.

Existe uma grande ameaça do aquecimento climático global como resultado da intensificação do efeito estufa provocado pelas emissões atmosféricas de origem antrópica, que tem provocado crescente preocupação e debate nos últimos anos. Um consenso é de que as alterações climáticas previstas trarão sérias consequências para todos os ecossistemas (Vitousek *et al.* 1997), principalmente os já bastante ameaçados focos deste estudo, além de grande impacto sobre o estilo de vida contemporâneo.

Muitos autores indicam que as atividades humanas já dobraram a taxa de entrada do N nos ecossistemas terrestres resultando em sérios impactos (Vitousek *et al.* 1997). Estes mesmos autores apontam que florestas e áreas úmidas variam significativamente em relação à suas capacidades de retenção de N, e que o estado atual do conhecimento na área é ainda muito restrito. O principal problema é que a compreensão dos possíveis efeitos das alterações climáticas globais e os impactos da deposição de N sobre a estabilidade e funcionamento dos ecossistemas é ainda incipiente, mais ainda devido ao escasso conhecimento que se tem sobre o funcionamento dos ecossistemas antes mesmo de sofrerem qualquer alteração. Phoenix *et al.* (2006) indicam que a deposição de N nos “hotspots” de Mata Atlântica e Cerrado vem aumentando muito nos últimos anos e a previsão é de que atinjam valores acima daqueles considerados críticos, podendo levar espécies adaptadas à baixa disponibilidade de N à exclusão competitiva. O que reforça a importância do presente estudo nesses ecossistemas.

Além disso, muita atenção vem sendo dada nos últimos anos à contribuição potencial dos ecossistemas tropicais na incorporação líquida na biosfera terrestre do CO_2 de origem antropogênica. Com a evolução da tecnologia da instrumentação micro-meteorológica, a técnica de “eddy-covariance” (co-variação de vórtices turbulentos – ferramenta estatística utilizada para analisar vento em alta frequência e séries de dados atmosféricos que resultam em valores de fluxos das variáveis analisadas, p.e. CO_2 e água) tem sido aplicada para avaliar a troca de massa (água e carbono) e energia em ecossistemas, aumentando nosso conhecimento sobre a troca de carbono no sistema solo – vegetação – atmosfera que integra os fluxos no solo e vegetação (Curtis *et al.* 2002).

Os estudos dos fluxos de carbono em ecossistemas terrestres têm sido raramente acompanhados de abordagens ecofisiológicas de modo a explorar a relação funcional das espécies que compõem o ecossistema e os valores líquidos obtidos para o mesmo. Segundo Buchmann (2002) apenas 14% dos estudos de fluxo de vórtices turbulentos em florestas incluem avaliações ecofisiológicas das plantas ou estimativas de biomassa. Desse modo, a combinação de estudos micrometeorológicos, ecológicos e ecofisiológicos é fortemente recomendada para uma melhor compreensão das dinâmicas dos fluxos associados ao funcionamento dos ecossistemas em geral.

Assim, também diante dessa necessidade, o presente trabalho deu continuidade ao estudo ecofisiológico tido como um dos focos do Projeto Temático Biota/Fapesp “Interação Biosfera-Atmosfera Fase 2: Cerrados e Mudanças de Uso da Terra” (“Biota Interação”, processo nº 02/09289-9, coordenação do Prof. Dr. Humberto Ribeiro da Rocha – IAG/USP) onde o estudo de fluxos e balanço de energia, água e carbono foi um dos principais objetivos, podendo posteriormente contribuir para o aprimoramento e compreensão das dinâmicas dos fluxos mensurados pelas torres instaladas nas áreas de floresta e cerrado brasileiros.

Além disso, o presente estudo foi parte integrante do Projeto Temático Biota/Fapesp nomeado “Composição florística, estrutura e funcionamento da Floresta Ombrófila Densa dos Núcleos Picinguaba e Santa Virgínia do PESM, São Paulo, Brasil” (“Biota Gradiente”, processo nº 03/12595-7, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly – UNICAMP), que teve como um dos objetivos estudar a dinâmica do N no gradiente altitudinal na floresta Atlântica do PESM, Núcleos Picinguaba (Ubatuba/SP) e Santa Virgínia (São Luís do Paraitinga/SP), e nesse contexto, o estudo foco desta Tese de Doutorado avaliou a dinâmica do uso de N pelas espécies de uma das altitudes consideradas pelo Projeto.

Ainda, este estudo se inseriu no contexto do Projeto “South East Queensland Climate Adaptation Research Initiative” (SEQCARI), financiado por CSIRO Climate Adaptation National Research Flagship e Australian Government, dentro da subarea “Biodiversity - Vulnerability of focal habitats to climate change” (Coordenação de área: Catherine Lovelock, Greg Skilleter, Susanne Schmidt e Kerrie Wilson – School of Biological Science – University of Queensland – Austrália), que teve como foco o estudo dos possíveis impactos das mudanças climáticas globais nos ecossistemas australianos, e dentro deste contexto, a presente pesquisa avaliou a ecofisiologia do uso de N em uma das áreas consideradas pelo Projeto.

Na busca de fornecer dados possíveis de contribuir com os diferentes Projetos acima mencionados, dos quais o presente trabalho foi integrante, considerou-se o conhecimento de que os ciclos de carbono (C) e N são intimamente associados. A eficiência no uso de N para a estruturação e funcionamento do aparato fotossintético é um dos fatores mais importantes na variação interespecífica da capacidade de assimilação de

CO₂ pelas plantas (Takashima *et al.* 2004). Então, as relações custo-benefício das interações entre o N e o C disponível podem ser determinantes nas características morfo-anatômicas e na duração da vida útil das folhas, interagindo com a disponibilidade e eficiência no uso da água.

Por outro lado, a ciclagem do estoque de C na vegetação e solo pode ser afetada pelo teor de N disponível. Assim, para entender as formas de variabilidade na retenção ou perda de C e N dos ecossistemas em estudo, é necessário entender as variações na estrutura e na dinâmica do ecossistema, especialmente das árvores; na forma, quantidade e taxa de decomposição da serapilheira; na matéria orgânica dos solos e suas inter-relações com os processos físicos e químicos, que determinam a sua dinâmica, sua biomassa e a sua relação com os teores nutrientes, especialmente N, e a fertilidade (Neff *et al.* 2002).

Dado que a ciclagem de N regula em última instância muitas respostas em escala ecossistêmica, este é potencialmente um grande lapso no nosso entendimento sobre como as plantas respondem ao elevado CO₂ atmosférico (Millard & Grelet 2010).

Em suma, todos esses aspectos indicam a urgente necessidade de mais informação sobre a relação entre o suprimento de N, associações microbianas, mecanismos fisiológicos e ecológicos que regulam o crescimento e/ou estabelecimento das plantas e a composição de espécies das comunidades vegetais (Nordin 1998), sendo o armazenamento, a capacidade de assimilação e o transporte, consideradas características fundamentais para um melhor entendimento dos processos de utilização de N pelas plantas.

Assim, um maior conhecimento sobre as capacidades de assimilação, transporte, estocagem e reciclagem de N em espécies arbóreas é essencial na compreensão dos processos e mecanismos de utilização de N pelas populações e comunidades vegetais tropicais. Por sua vez, um maior entendimento sobre a interação solo – planta através do estudo da dinâmica do N nos processos biogeoquímicos de ciclagem interna e das características ecofisiológicos das espécies vegetais deverão auxiliar na compreensão sobre a funcionalidade do ciclo de N nos ecossistemas estudados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O Nitrogênio

Nutrição e o elemento N

No universo das plantas o termo nutrição pode ser definido como aquisição e assimilação de nutrientes, sendo nutrientes entendidos como compostos químicos que contêm elementos essenciais em uma forma que possam ser utilizados pelas plantas. Elemento essencial, por sua vez, é aquele necessário para a conclusão do ciclo de vida de uma planta sob condições ideais (Raven & Andrews 2010), sendo estes, reconhecidamente definidos pela comunidade científica: N, P, K, S, Mg, Ca, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, Ni, Cl, Br. O nitrogênio (N) é considerado, portanto, um nutriente mineral essencial a vida e está presente na composição de biomoléculas como o ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas e enzimas (Harper 1994).

A maior parte do N terrestre, entretanto, encontra-se indisponível para a maioria dos organismos vivos, pois aproximadamente 78% desse N existem na forma de N₂ atmosférico (N molecular ou azoto), o qual se torna indisponível devido à força da tripla ligação que ocorre entre os dois átomos de N nessa molécula (Galloway *et al.* 2004). As rochas primárias são o maior reservatório do N no planeta, contendo 98% do N existente (Werner *et al.* 2001). Com relação à biosfera, 96% do N orgânico terrestre encontra-se na matéria orgânica morta e 4% nos organismos vivos, sendo 94% em plantas, 4% na microbiota e 2% nos animais (Moreira & Siqueira 2006).

Durante a história evolutiva, apenas um limitado número de bactérias desenvolveu a habilidade de converter o N₂ em N reativo (Nr) tornando-os disponíveis aos demais organismos vivos (Galloway *et al.* 2004). Apesar de muitas adaptações para o uso mais eficiente do N por organismos vivos terem surgido durante o processo evolutivo, muitos ecossistemas do mundo têm o N como recurso limitante (Galloway *et al.* 2004).

Oligotrofia e as inovações nutricionais

Como uma determinante da evolução das muitas adaptações desenvolvidas pelas plantas no processo evolutivo para obtenção de N, a oligotrofia merece destaque (Raven & Andrews 2010). Oligotrofia é a capacidade de um organismo em completar seu ciclo de vida em ambientes com disponibilidade muito baixa de um ou mais nutrientes, e nesse contexto, várias simbioses são consideradas importantes na aquisição de nutrientes pelas plantas (Raven & Andrews 2010). Com base em evidências fósseis, as ectomicorrizas foram

uma clara inovação nutricional das plantas arbóreas no período Cretáceo, bem como a maioria das associações simbióticas, tais como simbioses com protobactérias genericamente conhecidas como *Rhizobium* (Raven & Andrews 2010) que ocorrem na maioria das plantas da família Leguminosae e em *Parasponia*, membro da família Ulmaceae (Sprent 2007). Micorrizas arbusculares, apesar de terem evoluído em plantas herbáceas, são também uma importante associação simbiótica das plantas arbóreas no processo de aquisição de N (Raven & Andrews 2010).

Segundo Raven & Andrews (2010), estas simbioses devem ter muito provavelmente evoluído nas plantas juntamente com a oligotrofia durante as alterações ambientais ocorridas nos períodos interglaciais do Pleistoceno, resultando na evolução sequencial de novas espécies arbóreas. Sequência esta que pode ser explicada de um ponto de vista nutricional, quando solos glaciais com pouca ou nenhuma matéria orgânica e consequentemente nenhum ou pouco N, possibilitavam a existência de organismos diazotróficos, i.e., que têm habilidade de crescer sem uma fonte externa de N fixado, não existia planta arbórea até então. Com pouco N no solo, P se tornou mais limitante e isso pode ter restringido a possibilidade da diazotrofia ocorrer. Entretanto, não existe evidência real das mudanças no balanço: ocorrência de plantas arbóreas com ectomicorriza ou com micorriza arbuscular durante a sequência evolutiva de espécies arbóreas no período interglacial, por exemplo, não se sabe se durante essa evolução, plantas com ectomicorrizas que ocorriam pela limitação de N foram sendo substituídas por plantas com micorrizas arbusculares ocorrendo pela limitação de P (Smith & Read 2008). O mesmo deve ser provavelmente válido para outras cronosequências (Lambers *et al.* 2008), como por exemplo a sucessão ecológica que acontece nas florestas.

O ciclo biogeoquímico do N e as plantas

O ciclo biogeoquímico do N no ecossistema pode ser dividido em duas partes, interno e externo (Martinelli *et al.* 1999). O ciclo externo inclui os processos que adicionam ou removem N do ecossistema, tais como a denitrificação (que se refere ao processo de conversão de formas reativas de N a N molecular – N_2), deposição seca e úmida, fertilização, lixiviação e fixação biológica (Vitousek *et al.* 2002). Já o ciclo interno consiste nos processos que convertem o N de uma forma química para outra e/ou o transferem entre os diferentes compartimentos de um ecossistema (Martinelli *et al.* 1999), isso inclui os processos de nitrificação (oxidação do amônio – NH_4^+ a nitrito – NO_2^- e então a nitrato – NO_3^-), de assimilação e reciclagem de N pelas plantas, mineralização da matéria orgânica (transformação desta em compostos inorgânicos) e imobilização microbiana (Pereira-Silva 2008).

Os processos biogeoquímicos que ocorrem no solo refletem a disponibilidade de N dentro do ecossistema e podem diferir não somente na quantidade e na forma de produção de N mineralizado, mas também na sua distribuição sazonal e espacial (Campos 2009). Uma maneira de avaliar o balanço líquido de N no ecossistema é através da abundância natural de isótopos estáveis de N ($\delta^{15}\text{N}$) (Högberg 1997), e esta ferramenta tem sido sugerida como sendo eficiente e não invasiva no acesso e monitoramento da dinâmica do N nos ecossistemas, uma vez que processos como a mineralização, a nitrificação, a denitrificação e a volatilização de amônia discriminam contra o ^{15}N (Kahmen *et al.* 2008).

A comparação da abundância natural do isótopo estável ^{15}N com os valores de ^{15}N foliar podem refletir a origem do N de uma fonte específica assimilada pela planta (NO_3^- ou NH_4^+ por exemplo) quando estes são marcados com ^{15}N previamente e oferecidos às plantas, podendo revelar informações sobre o padrão de absorção de N naquele indivíduo (Houlton *et al.* 2007).

Bustamante *et al.* (2004) indicam que as grandes diferenças no $\delta^{15}\text{N}$ das espécies vegetais do Cerrado brasileiro sugerem que plantas podem explorar diferentes fontes de N, e que esta variabilidade pode indicar mecanismos que manteriam a alta diversidade em um ambiente com baixa disponibilidade de nutrientes e estresse hídrico, por exemplo. Amundson *et al.* (2003) sugerem que o clima possui um papel fundamental nos processos de retenção de N no solo assim como na sua composição isotópica. Portanto, considerando que a disponibilidade de nutrientes é indiretamente afetada pela disponibilidade de água, a ocorrência de um gradiente natural de precipitação (Austin & Vitousek 1998) e diferenças no comprimento da estação seca podem atuar como forças diretrizes que afetam a “abertura” ou o “fechamento” da ciclagem de N e como consequência, a quantidade e a forma na qual o N estará disponível para as plantas que compõem dado ecossistema (Martinelli *et al.* 1999).

Dentre as formas em que o N está disponível para plantas superiores terrestres destacam-se o N mineral (nitrato – NO_3^- e amônio – NH_4^+) que são assimilados pelas raízes das plantas; o N_2 na forma gasosa que pode ser fixado por associação simbiótica de algumas plantas com bactérias diazotróficas, através de relâmpagos ou por fixação biológica de bactérias livres do solo; o N na forma de óxidos de nitrogênio (NO_x) e NH_4^+ voláteis que são assimilados após deposição seca ou úmida destes compostos, e o N na sua forma orgânica (aminoácidos, peptídeos e proteínas), assimilados através de associações das plantas com micorrizas ou mesmo diretamente pelas raízes (Näsholm *et al.* 2009). Está claro que o N orgânico dissolvido constitui o maior componente de N solúvel em grande parte dos solos e que as plantas podem potencialmente acessar essa fonte de N (Jones *et al.* 2005), com ou sem a presença de associações micorrízicas (Näsholm *et al.* 2009). A assimilação direta de N orgânico dissolvido pelas plantas tem o potencial de ser o fator primário no

funcionamento de ecossistemas e na sucessão da vegetação, particularmente em ambientes limitados por N (Jones *et al.* 2005).

Existem evidências de que a sazonalidade também é promotora de variabilidade na disponibilidade de certos elementos no solo, incluindo N (Fayers & Trewin 2004, Channing & Edwards 2009). Nos episódios de seca pode ocorrer a nitrificação em solos bem aerados, tornando o NO_3^- disponível para as plantas (Raven 2003) enquanto restringe a disponibilidade de Fe e P, enquanto que nos episódios de umidade parece haver uma queda na nitrificação e então apenas formas reduzidas de N combinado ficam disponíveis, bem como Fe e P ficam mais disponíveis (Raven & Andrews 2010). Também, em solos mais secos, o papel da micorriza arbuscular na aquisição de P e N deve ser mais significativo (Raven & Andrews 2010). A ocorrência de NO_3^- como fonte de N para as plantas, mesmo que descontínua, pode ter permitido a evolução de pelo menos alguns dos mecanismos de regulação ácido-base relativos às sínteses de ácidos orgânicos, envolvendo a assimilação de NO_3^- pelas folhas de plantas terrestres (Raven & Smith 1976, Andrews *et al.* 2004, 2009).

Knops *et al.* (2002) indicam que a composição de espécies de uma formação vegetal tem grande impacto sobre a ciclagem de N no solo além da quantidade e qualidade da serapilheira, através da interferência nos processos de entrada e saída de N do ecossistema como: deposição atmosférica, perda induzida pelo fogo, lixiviação e fixação, composição da comunidade microbiana do solo que pode levar a alterações nos processos de nitrificação e denitrificação. Ainda, as plantas podem interferir no comportamento dos animais herbívoros e, portanto têm o potencial de facilitar movimentos de N entre diferentes ecossistemas (Knops *et al.* 2002).

Uso de N pelas plantas – absorção e assimilação

A utilização das diferentes formas de N pelas plantas superiores é possível devido a um complexo e sensível sistema interno de absorção, assimilação, transporte, e mobilização nos tecidos (Camargos 2002). Nesses sistemas, os mecanismos de absorção e assimilação assinalam o início dos processos biológicos intrínsecos da planta seguidos pela distribuição e circulação internas, que são, por sua vez, mediadas pelo movimento de íons no solo e acúmulo nas raízes, seu transporte via xilema e sua redução e incorporação (Haag 1985).

A quantidade de nutrientes absorvidos e assimilados pelas plantas depende de fatores diversos, tais como: pH do solo e da rizosfera, variações espaciais e temporais no conteúdo da matéria orgânica do solo, temperatura e umidade do solo (Dias *et al.* 2006), disponibilidade dos nutrientes na rizosfera, microorganismos do solo (que atuam na mineralização da matéria orgânica resultante do processo de

decomposição (Bonato *et al.* 1998)), bem como as estratégias utilizadas pelas plantas para efetivar esses processos (Pereira-Silva 2008). Nesse contexto, o crescimento e a sobrevivência das espécies vegetais são influenciados ou podem ser resultado das variações nesses aspectos, que levam também a interações competitivas por recursos em comunidades vegetais (James & Richards 2006).

Dentre as fontes de N mineral possíveis de ser assimiladas pelas raízes das plantas superiores, o NO_3^- tem sido considerado a principal delas (Aidar *et al.* 2003), principalmente em solos aeróbios (Xu *et al.* 2012) mas há evidências de que NH_4^+ pode ser predominante em muitas situações (Stewart *et al.* 1993, Nardoto & Bustamante 2003), especialmente em solos ácidos ou alagados (Xu *et al.* 2012). A assimilação de NO_3^- ou NH_4^+ pelas raízes constantemente resulta em acidificação ou alcalinização da rizosfera, que leva a mudanças na disponibilidade de N para as plantas (Xu *et al.* 2012).

Porém, alguns estudos têm demonstrado que o NH_4^+ é absorvido a maiores taxas, seguido dos aminoácidos (aa) e depois do NO_3^- (Falkengren-Grerup *et al.* 2000, Thornton 2001, Thornton & Robinson 2005), apesar de em alguns casos a assimilação de aa ser maior que de NH_4^+ e NO_3^- (Persson *et al.* 2006, Kielland *et al.* 2006). Porém esse quadro pode ser bastante diverso quando as fontes de N são misturadas e as preferências de assimilação pelas plantas parecem ser eliminadas pela interação entre as fontes no meio (Näsholm *et al.* 2009), pois além do N inorgânico, o N orgânico é também considerado por muitos autores uma fonte importante para comunidades de plantas em uma grande amplitude climática e edáfica (McKee 1962, Mori *et al.* 1977, Schobert & Komor 1987, Schmidt *et al.* 1998, Näsholm *et al.* 1998, Schmidt & Stewart 1999, Näsholm *et al.* 2000, Näsholm *et al.* 2001, Näsholm & Persson 2001, Näsholm *et al.* 2009).

Assim, considerando os estudos até hoje realizados nesse campo de investigação, afirma-se que de modo geral para a maioria das plantas, as taxas de assimilação de aa são provavelmente menores que aquelas para NH_4^+ , mas maiores que aquelas para NO_3^- (Näsholm *et al.* 2009). A absorção de aa, NH_4^+ e NO_3^- são mediadas por uma vasta gama de transportadores, podendo ser de alta ou baixa afinidade (Williams & Miller 2001, Miller & Cramer 2004), sendo esse campo de estudo ainda recente.

As taxas de difusão destas fontes no solo também influenciam a assimilação pelas plantas, e podem oscilar consideravelmente, com NO_3^- mostrando uma difusão de cerca de 10 a 100 vezes maior que o NH_4^+ , enquanto que para aa isso é muito mais variável e relativo à forma do composto, podendo ir de pequenos compostos sem carga como Gly até grandes cátions como L-Arg (Miller & Cramer 2004).

Quanto a absorção das formas inorgânicas pelas plantas, têm-se que a absorção do NO_3^- pelas raízes ocorre por simporte e de forma ativa, uma pequena parte desse íon permanece no citoplasma das células, constituindo uma possível reserva metabólica, enquanto que a maior parte ou é transportada para o vacúolo,

formando uma reserva de estoque, ou é exportada para outros locais na planta para ser assimilado (Bonato *et al.* 1998). Já a absorção de NH_4^+ pode ocorrer de duas formas: passiva por difusão, quando as concentrações externas são altas, e ativa através de transportadores, quando as concentrações externas são baixas (Willians & Miller 2001).

Para o NO_3^- , sabe-se que este não é reciclado via floema, assim, sua presença na seiva do xilema é indicativa de assimilação e transporte de NO_3^- do sistema radicular e caracteriza plantas que assimilam NO_3^- nas folhas (Stewart *et al.* 1992).

A redução do NO_3^- pode acontecer nas folhas ou nas raízes, o primeiro passo dessa assimilação é catalisado pela enzima nitrato redutase (NR) localizada no citoplasma das células, que tem o NADH e o NADPH como doadores específicos de elétrons e é composta por três regiões envolvidas na transferência de elétrons destes para o NO_3^- na sua redução a NO_2^- . Nas folhas, o NO_2^- entra no cloroplasto onde a enzima nitrito redutase catalisa sua redução à NH_4^+ . Os elétrons são transferidos por reações fotoquímicas possibilitadas pelo co-fator da NR, a ferredoxina. Nos tecidos não verdes como a raiz, o NO_2^- é reduzido nos plastídeos, neste caso a energia é gerada no citosol através do ciclo das pentoses e da glicólise, e nas mitocôndrias pelo ciclo do ácido tricarboxílico (Oaks & Hirel 1985).

Por ser a primeira e principal porta de entrada de N na planta, a NR é considerada uma enzima chave na regulação do metabolismo de N (Pursino *et al.* 1994). A regulação de sua atividade, por sua vez, tem dois pontos principais, sendo: a transcrição, que por levar algumas horas para acontecer e por ser responsável pelas mudanças diárias na sua atividade, tem a maior taxa durante as primeiras horas do dia; e a pós-tradução, que é um processo muito mais rápido (dura poucos minutos) e ocorre com a fosforilação e desfosforilação da enzima, sendo essa etapa importante para desativar a NR quando a planta passa da condição de luz para o escuro, evitando o acúmulo de NO_2^- na falta de ferredoxina reduzida (Sodek 2004).

O NO_3^- é o principal fator que influencia a síntese da NR na planta, podendo induzir sua síntese quando disponível no ambiente. Já a atividade da enzima é influenciada pela luz, podendo esta causar um efeito direto – ativando a enzima, ou indireto – fornecendo energia para a assimilação do NO_3^- através do processo da fotossíntese. Para isso, utiliza-se de molibdênio, outro co-fator da NR, que reduz sua atividade quando deficiente, ou quando a concentração de NH_4^+ e de aminoácidos (produtos da assimilação de N) é alta (Smirnoff *et al.* 1984).

Com relação ao NH_4^+ , devido à sua alta toxicidade, sua assimilação deve ser feita rapidamente pelas plantas de modo a evitarem seu acúmulo nos tecidos. A enzima responsável por esse processo é a glutamina sintetase (GS), que funciona mesmo em baixas concentrações de NH_4^+ , e catalisa a reação deste com

glutamato na formação do aminoácido glutamina. A eficiência da assimilação de NH_4^+ nas plantas é muito maior que sua taxa produção pela redução do NO_3^- e/ou pelo processo de fotorespiração, o que garante baixas concentrações de NH_4^+ nos tecidos vegetais.

Já a síntese do glutamato é mediada pelas enzimas amidatransferase de glutamina: 2-oxoglutarato (GOGAT) ou pela glutamato desidrogenase (GDH). O sistema GS-GOGAT é dominante para a síntese de glutamato em plantas superiores enquanto a GDH está provavelmente envolvida na sua oxidação (Oaks 1994). Nem toda glutamina formada via GS segue pela GOGAT, ela pode ser exportada como composto de transporte de N ou ser transformada no aminoácido asparagina e então transportada nesta forma. Assim o sistema GS-GOGAT tem duas finalidades: produção de aminoácidos para a síntese de proteínas no próprio tecido (suprindo a demanda local) e produção de glutamato e aspartato para a formação de amidas que são transportadas para outros tecidos que funcionam como dreno (Sodek 2004).

Na maioria dos ecossistemas terrestres, o suprimento de N é um fator essencial no controle da diversidade e dinâmica das populações vegetais e é fundamental nos processos ecológicos tais como produtividade, ciclagem de carbono (C) e de nutrientes no solo (Martinelli *et al.* 1999). Em termos globais, o conhecimento sobre as transformações e disponibilidade de N em solos florestais e de savanas é razoavelmente amplo (Xu *et al.* 2012), entretanto pouco é conhecido a respeito das comunidades vegetais e espécies tropicais e subtropicais, pois a maioria dos estudos ainda foca principalmente nos ambientes e espécies temperadas (Schmidt *et al.* 1998).

Estudos apontam que a presença de maior tecido lignificado por unidade de biomassa em plantas de hábito arbóreo, comparando com plantas herbáceas, significa uma maior razão CN nas primeiras, envolvendo maior reciclagem interna de N e um impacto no reuso desses nutrientes versus assimilação de N novo durante a retomada do processo de crescimento após a dormência em estações secas e/ou frias (Cernusak *et al.* 2008).

Sabe-se até o momento que organismos podem economizar no uso de N e C simplesmente alterando o códon utilizado no genoma bem como na síntese protéica, através da seleção dos aminoácidos usados na formação de proteínas (Raven *et al.* 2005). Dependendo da disponibilidade relativa dos diferentes elementos, a metabolômica pode mostrar variações genéticas ou adaptativas no uso destes elementos (Raven 2005). Entretanto, existem limites na avaliação de como estas economias por substituição podem ser empregadas pelas plantas de modo a manter a funcionalidade (Raven & Andrews 2010). Como exemplo desse tipo de economia, Raven (2005) coloca que compostos de defesa contendo N podem ser substituídos por compostos livres de N, porém não está claro se a funcionalidade do composto substituto é igual à do original. Genericamente parece não existir nenhum dado relativo a estes tipos de economia em plantas arbóreas

especificamente, necessitando futuras pesquisas (Raven & Andrews 2010).

Uso de N pelas plantas – estoque e remobilização

Atualmente predomina na literatura um consenso geral sobre o ponto de vista que considera o carbono (C) como sendo o elemento mais importante na fisiologia vegetal, e diante do grande questionamento sobre como as plantas arbóreas irão responder a aspectos das mudanças climáticas globais, como por exemplo, ao aumento dos níveis de CO₂ da atmosfera, mudanças na temperatura ou seca, as pesquisas tendem a voltar-se ao estudo do C, pressupondo que o crescimento e funcionamento das árvores são limitados essencialmente pela disponibilidade desse elemento (Millard & Grelet 2010).

Entretanto, revisões feitas por Körner (2003) e Millard *et al.* (2007) evidenciam que um grande número de cientistas questionam essa ideia. Eles apresentam diferentes evidências fósseis para argumentar que de fato, o crescimento das árvores é raramente, quando é, limitado por C. Em contraste, tem sido bastante reportado que o crescimento destas é limitado pela disponibilidade de outros nutrientes, particularmente N (Rennenberg *et al.* 2009) ou P, em áreas com alta deposição de N (Akelsson *et al.* 2008) ou em florestas maduras crescidas em áreas não perturbadas (Wardle *et al.* 2004).

Tem-se demonstrado que em altas concentrações de CO₂, a ciclagem interna de N é um importante mecanismo para a manutenção do crescimento das plantas (Körner 2003). O ciclo interno de N e C em uma planta ocorre com a remobilização sazonal de estoques armazenados via translocação para outros tecidos, para reprodução, crescimento e outros metabolismos (Millard & Grelet 2010).

Nesse contexto, a reciclagem ocorre quando N ou C é remobilizado de tecidos (usualmente durante a senescência foliar, antes da abscisão) para estocagem. Um recurso é considerado sequestrado quando é acumulado e imobilizado na biomassa da planta impossibilitando sua reutilização, um exemplo disso é o acúmulo de arginina em acículas de coníferas como resposta a deposição de N. Assim, é necessário haver uma remobilização e reuso subsequente do N a fim de se acessar o estoque. A remobilização pode ser um mecanismo de suprir a planta com N quando a assimilação deste pela raiz é limitada (Millard & Grelet 2010). Muitos trabalhos demonstram que a reciclagem de N dentro da planta pode ser realizada através do transporte de arginina na seiva do xilema (Millard *et al.* 2007, Schmidt 1998).

A habilidade de uma planta estocar N é independente da sua disponibilidade externa, que apenas influencia a quantidade de N estocado. Então, seu estoque e remobilização estão intimamente ligados aos eventos fenológicos nos ciclos de crescimento anual, com seu requerimento para crescimento, manutenção e

defesa, sendo coincidente com a remobilização do estoque ou assimilação direta pela raiz. O balanço entre esses dois processos determina tanto a taxa de perda como a eficiência no uso de N, e desse modo contribui para seu desempenho em ambientes pobres em N (Millard & Grelet 2010).

As profundas diferenças na fisiologia do uso de N e C pelas plantas nos levam a questionar se as mesmas estratégias de estoque e remobilização são aplicáveis para ambos. A maior parte do C assimilado por uma árvore é sequestrado, enquanto que a maioria do N assimilado é estocado, e assim, sua remobilização, bem como seu estoque, são importantes processos regulatórios do crescimento potencial de uma árvore (Millard & Grelet 2010).

O N é estocado pelas plantas arbóreas na forma de uma ampla variedade de proteínas de reserva, tais como proteínas do barque (Cooke & Weih 2005, Martins 2007). Em adição, uma gama de proteínas metabolicamente ativas, como a RuBisCo, podem servir como suprimento de reserva de N (Millard *et al.* 2007). Os locais de reserva de N nas árvores podem variar conforme o hábito fenológico da espécie e restringem-se a alguns órgãos específicos, árvores decíduas tendem a estocar N na madeira ou no barque de raízes e troncos (Martins 2007), enquanto que espécies perenifólias estocam N nas folhas mais novas (com algumas exceções). Em contraste ao que ocorre com os carboidratos não estruturais usados como reserva de C, o N nunca é estocado na planta toda e, durante períodos de remobilização, todo N estocado é utilizado (Millard & Grelet 2010).

A alocação de N para estoque é programada sazonalmente e, portanto está intimamente ligada a fenologia, ao contrário do que acontece com o C. E essa alocação de N é desencadeada por sinais ambientais específicos, notavelmente dias curtos e baixas temperaturas. Outra diferença entre a alocação de C e N é que a alocação de C é dirigida pelo dreno enquanto que a alocação de N é dirigida pela fonte. Além disso, a remobilização de N depende da quantidade de N estocado e não da demanda para novo crescimento ou da taxa de assimilação do nutriente, como acontece com o C (Millard & Grelet 2010).

A habilidade de estoque e remobilização de N é considerada processo chave para a eficiência do uso de N (EUN) por uma planta (Millard & Grelet 2010). Vitousek (1982) definiu EUN como sendo “a quantidade de matéria orgânica perdida ou permanentemente estocada numa planta por unidade de nutriente perdido ou permanentemente estocado na planta”, e é mensurada através da serapilheira produzida em uma comunidade. De acordo com essa definição, o índice parcial de EUN é inverso à concentração de N na serapilheira. Esses estudos se baseiam no pressuposto de que a ciclagem de N no ambiente reflete sua disponibilidade para assimilação pelas plantas e de que o N mineral é a principal fonte de N no solo para o crescimento destas (Millard & Grelet 2010).

A remobilização e retranslocação de nutrientes de folhas e tecidos senescentes para outros órgãos em crescimento ou de armazenamento são também importantes estratégias na redução da perda de nutrientes, elevando a eficiência no uso dos mesmos numa planta (Vitousek 1984). O conhecimento sobre a remobilização de N nas espécies nativas brasileiras ainda é muito incipiente, havendo pouca informação disponível (Aidar *et al.* 2003, Nardoto *et al.* 2006).

Está claro que o estoque de N e sua remobilização são de considerável importância ecológica e fisiológica para plantas (Millard & Grelet 2010), bem como o fato de a remobilização se tornar mais importante conforme a planta cresce (Miller & Miller 1987), porque a assimilação de N novo tende a diminuir com esse processo enquanto seu potencial de estocar N aumenta (Miller 1986). Uma vantagem em se conservar N dentro da planta em ambientes limitados por N é reduzir a competição com outros indivíduos pela aquisição de N externo e em última instância reduzir a disponibilidade de N para outras espécies (Millard & Grelet 2010). Em alguns sistemas pobres em N, uma considerável proporção da demanda por N pelas plantas pode ser suprida pela associação destas com ectomicorrizas que mobilizam o N da matéria orgânica (Read & Perez-Moreno 2003).

Uso de N nas comunidades vegetais – a sucessão florestal

Um aspecto difícil de distinguir quanto às mudanças temporais nas propriedades do solo, e que está relacionado à variação na disponibilidade de nutrientes para as plantas, são as mudanças sucessionais na composição de espécies de comunidades vegetais (Raven & Andrews 2010).

Em contraste às florestas temperadas, a sucessão em florestas tropicais ocorre de forma dinâmica e não linear (Bazzaz & Pickett 1980), não sendo previsível a ocorrência de um clímax (Bentley 1979). A influência do distúrbio na sucessão acontece pela mudança nos níveis de fontes de nutrientes disponíveis e de eficiência de recrutamento (Bazzaz & Pickett 1980), e é o distúrbio que possibilita o início da sucessão. Esse processo é determinante para a composição específica e estrutura fisionômica e fitossociológica das comunidades vegetais uma vez que essa heterogeneidade espacial interna de condições ambientais interfere no estabelecimento e desenvolvimento das plantas, criando na floresta um mosaico de diferentes estágios sucessionais, com composição, estrutura e micro climas específicos (Godoy 2007).

Devido a diferenças na composição de espécies, na diversidade florística, nos tipos de solo, e na natureza e extensão da perturbação, o processo de sucessão varia muito nas regiões tropicais, entretanto existem similaridades em tendências gerais, na morfologia e fisiologia das espécies, e nas mudanças dos

microambientes (Bazzaz & Pickett 1980).

Muitos estudos têm considerado o agrupamento das espécies florestais em guildas ou grupos funcionais como uma importante abordagem para melhor se compreender os padrões de comportamento existentes. Os grupos mais usuais são baseados em classificações das espécies de acordo com suas características relacionadas às estratégias de regeneração (germinação e estabelecimento), estratificação, dispersão, reprodução ou desenvolvimento (porte, longevidade, densidade da madeira) (Campos 2009).

Entre os grupos mais reconhecidos estão os que classificam as espécies segundo: estágios sucessionais (pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias e clímax), estrato dominante (sub-bosque, intermediário ou dossel), estratégia de dispersão que adotam (anemocóricas ou zoocóricas, anemófilas ou ornitófilas) e hábito fenológico (perenifólias, semi-decíduas e decíduas) (Whitmore 1989, Tabarelli *et al.* 1994, Gandolfi *et al.* 1995).

Relativamente poucos trabalhos abordam aspectos ecofisiológicos de sucessão tropical, e apesar de esforços em se caracterizar plantas nos estágios sucessionais terem sido feitos, a maioria das classificações é baseada em atributos limitados (Bazzaz & Pickett 1980), principalmente relacionados à germinação das sementes e uso da luz pelas espécies. Além disso, as divisões propostas até hoje são, no geral, baseadas no conhecimento empírico dos autores (Lima 2005). Apenas recentemente, alguns autores têm apontado para a ocorrência de um contínuo de estratégias ocorrendo entre as espécies (Gandolfi *et al.* 1995, Whitmore 1996, Gandolfi 2000), porém esse tema permanece cercado de grande debate e há uma carência de informações ecofisiológicas que permitam um consenso na classificação dessas dentro dos diferentes grupos ecológicos.

Por outro lado, alguns estudos têm relacionado as características de aquisição e uso de N em plantas com sua classe sucessional (Stewart *et al.* 1988, Freedman *et al.* 1991, Pate *et al.* 1993, Stewart *et al.* 1993, Aida *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012).

Tendo em foco a distribuição de onde ocorre a assimilação primária de N, considerando aqui as diferenças entre folhas e raízes, e entre espécies iniciais na sucessão (Pioneiras) e espécies mais avançadas na sucessão (Tardias), Raven & Smith (1976) sugeriram que as limitações dessa assimilação de N pelas plantas são resultado da regulação ácido-base que ocorre na restrição da assimilação de NH_4^+ , da associação simbiótica com organismos diazotróficos pelas raízes, e da possível ocorrência da assimilação de NO_3^- em ambos, raízes e folhas. Andrews (1986) resumiu o conhecimento na distribuição do NO_3^- assimilado como uma função da concentração externa de NO_3^- e da origem (temperada ou tropical) das plantas em questão. Para plantas perenes, incluindo limitada informação relativa a plantas arbóreas, Andrews (1986) concluiu que espécies de ambientes temperados assimilam a maioria do NO_3^- nas raízes quando a concentração externa é baixa, e nas

folhas quando esta concentração aumenta. Em contraste, espécies tropicais teriam a maior parte do NO_3^- sendo assimilado nas folhas, com indiferença às suas concentrações externas.

Desde o trabalho de Andrews (1986), um significativo corpo de dados sobre assimilação de NO_3^- por plantas arbóreas foi publicado (Stewart *et al.* 1988, 1989, 1992, Schmidt & Stewart 1998, Aida *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012), e apontaram que a assimilação de NO_3^- nas folhas é mais importante nos estágios iniciais da sucessão florestal que nos estágios avançados (Stewart *et al.* 1989, Aida *et al.* 2003) e que a fração de NO_3^- assimilada aumenta conforme aumenta a concentração externa deste no solo (Stewart *et al.* 1989). Além disso, Stewart *et al.* (1989) colocam que a predominância da assimilação de NO_3^- nas raízes está relacionada à capacidade de assimilação de N pela planta através de associações simbióticas, suprimindo NH_4^+ às raízes, ou à ambientes nos quais o NH_4^+ é a fonte mais significativa de N no solo.

A comparação entre espécies dentro de uma sucessão ecológica é baseada essencialmente na dicotomia: plantas adaptadas ao sol *versus* plantas adaptadas à sombra, através da qual é possível identificar um contínuo que é refletido em uma sequência de espécies sendo substituídas. Em florestas tropicais essa situação é mais complexa devido ao alto número de posições verticais possíveis de copas individuais e das várias oportunidades de regeneração. Assim, há um contínuo de adaptações à luz, mas a restrição na classificação destas plantas baseada apenas na dicotomia acima é simplista e passível de erros. A diferença entre espécies mais adaptadas à luz ou à sombra não é clara nessas plantas, que podem alterar suas preferências durante todo o seu desenvolvimento (Bazzaz & Pickett 1980).

Florestas experienciam no geral pouca variação de temperatura sazonal e usualmente recebem alta pluviosidade, entretanto, a temperatura diária varia consideravelmente e isso ocorre principalmente nos períodos secos. A topografia e o tipo de solo influenciam a diversidade de espécies, a dominância, as formas de crescimento e a dinâmica da floresta. A decomposição é rápida e a ciclagem de nutrientes pode ser aumentada pela ocorrência de micorrização. Os nutrientes são rapidamente assimilados pelas plantas quando a serapilheira aparece no solo e podem passar diretamente da matéria orgânica para as raízes das plantas através da associação destas com os fungos micorrizicos (Bazzaz & Pickett 1980).

3.2. Alteração do ciclo pelo homem

Para contextualizar a atual alteração do ciclo biogeoquímico do N pelo homem, um breve histórico sobre a evolução do entendimento do ciclo faz-se necessário, e para tanto, a revisão de Galoway *et al.* (2004) foi utilizada como base nesse aspecto, que por sua vez, utilizou-se do livro de Smill (2001) como referência

primária.

O elemento N foi formalmente nomeado na tabela periódica em 1790 por Jean Antoine Claude Chaptal (1756-1832). Na segunda metade do século 19, sabia-se que o N era um elemento comum nos tecidos de plantas e animais, indispensável ao crescimento das plantas e constantemente transformado entre compostos orgânicos e inorgânicos, bem como era um efetivo fertilizante. Até então não se conhecia a fonte de N na natureza, mas acreditava-se que a deposição atmosférica e os relâmpagos eram entradas importantes. Em 1838 foi demonstrado por Boussingault que plantas da família das leguminosas poderiam servir como fonte de Nr no solo e que elas de alguma forma poderiam também criar Nr diretamente, e em 1888, Herman Hellriegel (1831-1895) e Hermann Wilfarth (1853-1904) sugeriram que essa fixação do N₂ atmosférico era feita por meio da associação das leguminosas com microorganismos do solo, a qual era absolutamente essencial no processo. Nessa mesma época foram desvendados processos como a nitrificação e a denitrificação, de forma que ao final do século 19 os componentes essenciais ao ciclo de N estavam identificados (Galloway *et al.* 2004 *apud* Smill 2001).

A pressão de um crescimento da população humana no início do século 20 bem como a necessidade de se produzir NO₃⁻ para fabricação de munição para a guerra (Keeney & Hatfield 2001) conduziu ao desenvolvimento do processo Haber-Bosch em 1913 pelo alemão Fritz Haber, para produzir NH₃ a partir de N₂ e H₂, que veio contribuir ainda mais para o aumento do Nr com do advento dos fertilizantes químicos produzidos através desse processo e aplicados desde então de forma indiscriminada na produção de alimentos (Galloway *et al.* 2004).

Seguindo o contexto histórico, o século 21 iniciou-se apresentando uma taxa de produção de Nr cerca de 10 vezes maior que a do século anterior, e a magnitude das consequências dessa produção para o meio ambiente é de difícil previsão, uma vez que o N como um elemento que possui sete estados de oxidação – e por isso possibilita inúmeros mecanismos de conversão entre suas formas e uma variedade de processos de transporte e estocagem – possui sem dúvida o ciclo biogeoquímico mais complexo (Galloway *et al.* 2004).

Atualmente têm-se como consenso que o Nr entra no ambiente por diferentes vias – incluindo a fixação biológica de N, os relâmpagos e a deposição atmosférica seca e úmida – e que a produtividade de muitos ecossistemas é controlada pela disponibilidade desse elemento (Vitousek *et al.* 2002, Gruber & Galloway 2008). N é também fator limitante para o crescimento das plantas e produção de alimentos (Gruber & Galloway 2008). E apesar dessa limitação ser parte de um processo natural, isto não foi considerado pela crescente população humana que precisou aumentar a quantidade de Nr para produzir alimentos, resultando em significativa alteração do ciclo de N na atmosfera, na água, no solo e em escalas locais, regionais e globais

(Galloway *et al.* 2004). Tanto que a agricultura moderna é considerada hoje como sendo o maior agente causador de poluição, ao ponto que, numa escala planetária, as quantidades de Nr adicionado ao meio ambiente por ação humana é agora tão grande que perturbou significativamente o ciclo desse importante nutriente (Rockström *et al.* 2009).

As consequências negativas dessa adição de N são substanciais, indo de eutrofização de sistemas terrestres e aquáticos (Seitzinger 2008), poluição de ambientes costeiros e acidificação global à destruição da camada de ozônio (Gruber & Galloway 2008) e adição de um grande número de gases à atmosfera, de modo a destruir lentamente a resiliência de importantes subsistemas terrestres (Rockström *et al.* 2009).

Em curto prazo, plantas e micróbios assimilam e acumulam esse excesso de N como um nutriente, mas a longo prazo, a maior parte desse N é denitrificado e volta para a atmosfera e rios levando em certos casos a anoxia de solos e águas com diversas consequências à vida nesses ambientes (Seitzinger 2008).

Esse constante crescimento da produção de alimentos mundial que vem aumentando a quantidade de Nr global ocorre especialmente pelo cultivo em larga escala de plantas leguminosas – que fazem associação simbiótica com bactérias fixadoras de N – e de arroz – que cria um ambiente anaeróbio favorável a fixação de N por cianobactérias (Galloway *et al.* 2004). Particularmente o cultivo de leguminosas converte cerca de 120 toneladas de N_2 atmosférico em formas reativas de N, sendo este número maior que a soma dos efeitos combinados de todos os processos naturais de entrada de Nr nos sistemas do planeta (Rockström *et al.* 2009).

Além dessa importante via de entrada de Nr no sistema, destaca-se também o aumento na produção de energia global, que através da queima de combustíveis fósseis disponibiliza formas gasosas de Nr, principalmente óxido nítrico (NO), como um produto resultante da oxidação do N_2 atmosférico ou de N orgânico (primariamente carvão) (Galloway *et al.* 2002), que é um dos mais importantes gases estufa além do CO_2 e assim, age diretamente como uma forçante radiativa (Rockström *et al.* 2009).

Particularmente preocupante é o fato de que as transformações químicas do N ao longo da sua trajetória no ambiente geralmente levam a uma cascata de efeitos (Gruber & Galloway 2008), sendo este um aspecto importante que deixa o problema ainda mais difícil de ser resolvido (Galloway *et al.* 2003). Com o efeito cascata, um átomo de N pode, em sequência, aumentar o O_3 atmosférico (com impactos na saúde humana), aumentar a quantidade de material particulado na atmosfera, alterar a produtividade nas florestas, acidificar superfícies aquáticas (levando à perda da biodiversidade), aumentar a produtividade em ecossistemas costeiros, promover a eutrofização, e aumentar potencialmente a quantidade de gases estufa na atmosfera (via produção de N_2O) (Galloway *et al.* 2004). Assim, muito se tem ainda a entender sobre as implicações do acúmulo de N no meio ambiente, sobre como este interage com os demais ciclos biogeoquímicos, e sobre

como essas interações afetam o clima global (Gruber & Galloway 2008).

O ambiente do planeta tem sido relativamente estável no decorrer dos últimos 10.000 anos (Holoceno), porém tamanha estabilidade pode estar agora sob ameaça devido às ações humanas desde a Revolução Industrial que tem se tornado o principal vetor das mudanças climáticas no ambiente global, e o resultado disso pode ser irreversível e em alguns casos levar a mudanças abruptas que impedirá o desenvolvimento humano (Rockström *et al.* 2009).

Nesse contexto, Rockström *et al.* (2009), buscando o desafio de manter a estabilidade do clima do Holoceno, propuseram uma estrutura baseada em fronteiras planetárias, que define um espaço seguro para a humanidade em relação aos processos e subsistemas biofísicos do planeta. Eles identificaram no sistema terrestre, processos e limites associados, os quais se cruzados, podem gerar mudanças ambientais inaceitáveis. Nessa análise, os autores sugerem que três desses processos já ultrapassaram os limites aceitáveis: mudanças climáticas, taxa de perda da biodiversidade e interferência do homem no ciclo de N. No caso do ciclo de N, os autores colocam que isso está relacionado com a taxa de remoção de N_2 da atmosfera para conversão em Nr para uso humano, o processo de produção de fertilizantes químicos para a agricultura, concordando com o que já foi comentado anteriormente. Isso pode ameaçar os sistemas ecológicos estabelecidos ao final do período Quaternário que suportam a vida na Terra, e podem severamente desafiar a viabilidade das sociedades humanas contemporâneas.

As barreiras propostas por Rockström *et al.* (2009) representam uma nova perspectiva para definir condições biofísicas para o desenvolvimento humano. Existem muitas incertezas sobre como isso pode causar mudanças perigosas no ambiente ou levar a outros feedbacks que reduzirão dramaticamente a habilidade dos sistemas terrestres em retornar a níveis seguros (Rockström *et al.* 2009).

Outros estudos demonstram que o ciclo de N está intimamente acoplado a variações no clima global bem como ao ciclo do C (Gruber & Galloway 2008). O N depositado no solo se torna rapidamente disponível para as plantas, estimulando a produtividade e acentuando a assimilação de CO_2 da atmosfera (Gruber & Galloway 2008).

Solos são geralmente os primeiros receptores dessa enorme quantidade de N que o homem adiciona nos sistemas terrestres, e a quantidade de denitrificação no solo pode exceder substancialmente o que é removido pela rede aquática (Seitzinger 2008).

Entender os processos que controlam a razão CN dos organismos terrestres é de grande importância para se compreender o ciclo global de N (Gruber & Galloway 2008). Logo que alterações sistemáticas na razão CN dos organismos pode permitir a biosfera terrestre sofrer rápidas e grandes mudanças na produtividade sem a

necessidade de alterar as quantidades de N biologicamente disponível (Gruber & Galloway 2008).

A fixação biológica de N e a denitrificação são os processos naturais mais importantes que poderiam alterar a quantidade de N dos sistemas terrestres, e daí alterar também o ciclo global de C e o clima, sem mudar a razão CN dos organismos autótrofos (Gruber & Galloway 2008).

Em resumo tem-se que o ciclo global de N já foi alterado numa escala tão grande que os níveis de N_2O , por exemplo, atingem hoje valores nunca antes observados considerando os 650.000 anos anteriores (Gruber & Galloway 2008). Nesse contexto, não há dúvida de que o ciclo global de N estará sob fortes pressões nos próximos anos, principalmente de origem antropogênica e das mudanças no clima (Gruber & Galloway 2008).

3.3. Nitrogênio nos ecossistemas tropicais

Ciclagem de N nos ecossistemas tropicais

Nas florestas tropicais, uma grande quantidade de N circula anualmente (Martinelli *et al.* 1999), sendo que as taxas de mineralização, emissões de gases e as perdas por lixiviação são geralmente altas (Vitousek & Sanford 1986). A exceção para esta generalização são as florestas sobre solos arenosos e florestas montanhosas que são relativamente empobrecidas em N (Cuevas & Medina 1986). Quando o N se encontra em excesso seu ciclo tende a ser mais aberto (Martinelli *et al.* 1999) e a sua perda ocorre predominantemente através da emissão de gases, ao passo que as perdas de N de ecossistemas com baixo teor de N ocorrem predominantemente na forma de N orgânico dissolvido (Matson *et al.* 1999).

As savanas também são controladas pelas interações entre a disponibilidade de água e nutrientes, sendo especialmente importante a sazonalidade climática. Estas normalmente apresentam menor disponibilidade de N, sendo a nitrificação e a emissão de gases relativamente baixas (Nardoto & Bustamante 2003), caracterizando desse modo um sistema com ciclo de N mais conservativo quando comparado ao de floresta tropical (Davidson *et al.* 2000).

A fixação biológica de N (FBN) é considerada a principal entrada de N “novo” no Cerrado (Bustamante *et al.* 2006). Ometto *et al.* (2006) indicam que a FBN não aparenta ser uma estratégia amplamente utilizada em florestas tropicais, quando avaliada através da assinatura isotópica das espécies vegetais. Entretanto, Kreibich *et al.* (2006) indicam que a proporção de N fixado pode atingir até 66% do total do N presente em espécies da floresta de várzea na Amazônia. Em ambos os ecossistemas, a presença de espécies da família das leguminosas é notável, entretanto pouco é conhecido sobre seu potencial de fixação simbiótica, apesar de a capacidade de FBN nos trópicos ser considerável como colocado por alguns autores (Cleveland *et al.* 1999). E

foi encontrada atividade nodular na Floresta Ombrófila Densa da Mata Atlântica, com maior ocorrência de nódulos nas áreas de floresta de menor altitude (Manarin 2012).

Também a composição de espécies de uma comunidade exerce um papel fundamental sobre a ciclagem de N no solo através da facilitação da assimilação de N orgânico e inorgânico por micorrizas (Chapman *et al.* 2006). Ainda, em ambientes pobres em N, tal como savanas, as plantas exercem maior controle na ciclagem devido à dependência de micorrização quando comparados a ambientes onde há maior riqueza deste nutriente, p.e. florestas tropicais (Chapman *et al.* 2006). Aidar *et al.* (2004) indicam que a ocorrência de micorrização em raízes de espécies arbóreas na Mata Atlântica é inversamente proporcional à fertilidade do solo, corroborando a sugestão acima.

A presença da associação simbiótica favorece o estabelecimento, sobrevivência e crescimento da planta hospedeira e não-hospedeira devido ao incremento da absorção de água e nutrientes minerais, contribuindo também para a ciclagem mais eficiente e configurando um importante mecanismo de conservação de nutrientes. O conhecimento sobre a ocorrência de simbiose nas espécies desses ecossistemas ainda é muito incipiente, sendo restritos os estudos sobre a colonização em Mata Atlântica (Aidar *et al.* 2004) e Cerrado (Gross *et al.* 2004).

Tem-se que micorrizas arbusculares evoluíram para explorar um maior volume de solo por unidade de fonte de nutriente relativa às estruturas de exploração e absorção das plantas (raízes e anexos), melhorando substancialmente a assimilação de nutrientes, especialmente os de menor mobilidade no solo como o fósforo (Smith & Read 2008). Assim, micorrizas arbusculares exercem um importante papel nos ciclos biogeoquímicos, resultando na reciclagem de matéria orgânica e produzindo nutrientes para as plantas (Taylor *et al.* 2004).

O isótopo estável ^{15}N é raro na natureza, ocorrendo em abundância menor que 0,4% em relação ao ^{14}N . Utilizando-se da espectrometria de massas fica relativamente fácil detectar pequenas quedas em $^{15}\text{NO}_3^-$, e aumentos em $^{15}\text{N}_2$ e $^{15}\text{N}_2\text{O}$ resultantes de denitrificação (Seitzinger 2008). Decréscimos em NO_3^- marcados isotopicamente (não considerando o N_2 e N_2O) foram atribuídos a assimilação por plantas e micróbios, e permitiram com isso distinguir o que advinha da denitrificação do que tinha origem em reservas de N na biomassa e permitiu também calcular taxas de denitrificação e assimilação biótica (Seitzinger 2008).

O paradoxo do N nas florestas tropicais

Observações do ciclo do N em ecossistemas tropicais da última metade do século passado indicam que florestas tropicais intactas tendem a acumular e reciclar largas quantidades de N quando comparadas com florestas temperadas. Entretanto, esta aparente regulação do ciclo de N nos ecossistemas introduz um paradoxo quando se considera os aspectos de fisiologia e evolução de plantas individuais: a principal fonte da riqueza de N nas florestas tropicais – fixação simbiótica de N ou FBN – deveria, em teoria, ser fisiologicamente regulada quando o suprimento interno de N disponível é suficiente (Hedin *et al.* 2009).

A afirmação de que as florestas tropicais são ricas em N possui incertezas, primeiro porque a maioria dos estudos é indireta e existem poucos trabalhos que se utilizaram de informações empíricas de fato, segundo porque é teoricamente difícil de extrapolar a riqueza de N para um nível ecossistêmico baseando-se em mecanismos fisiológicos e ecológicos que operam em nível individual de organismos fixadores de N (Hedin *et al.* 2009). A explicação mais comum afirma que a FBN por plantas da família das leguminosas seria a responsável pela entrada da grande quantidade de N novo no sistema (Cleveland *et al.* 1999, Galloway *et al.* 2004, Vitousek & Howarth 1991), mas essa afirmação gera um paradoxo quando considera-se que a FBN é regulada pela concentração de N no ambiente, não ocorrendo ou diminuindo muito em ambientes ricos em N (Hartwig 1998, Pearson & Vitousek 2001) e portanto não pode ser entendida como um mecanismo que pode sustentar a riqueza de N encontrada nas florestas tropicais como sendo maior que outras fontes (Hedin *et al.* 2003).

Hedin *et al.* (2003) propôs que o acúmulo de N disponível em florestas tropicais úmidas representa um enorme paradoxo não resolvido no ciclo terrestre de N com implicações para o entendimento de como organismos funcionam nos ecossistemas e como a floresta funciona dentro do sistema terrestre global, e Hedin *et al.* (2009) propuseram como explicação para esta riqueza um modelo conceitual, chamado por eles de Nitrostat, onde consideram a interação de muitos fatores que determinam a entrada de N nas florestas tropicais, dentre estes estão a fixação biológica facultativa de N, a deposição atmosférica de N, a produção anual de serapilheira e a fixação de N na copa das florestas (sendo esta totalmente independente da disponibilidade de N no solo).

Porém, existem observações do fluxo de nutrientes em florestas tropicais que oferecem suporte para a ideia de que as perdas de NO_3^- dissolvido são altas na maioria das florestas tropicais (Biggs *et al.* 2004, Forti *et al.*, 2000, Lesak 1993, McDowell & Asbury 1994, Neill *et al.* 2001, Schrumpf *et al.* 2006, Wilcke *et al.* 2001, Williams *et al.* 1997), e a afirmação relativa a riqueza de N encontrada nas florestas tropicais pode ser muito relativa.

Florestas montanas

As florestas montanas estão entre as mais ameaçadas dentre as florestas tropicais (Hamilton *et al.* 1995, França & Stehmann 2004). A conservação destes ecossistemas é precária, principalmente devido às altas taxas de desmatamento causadas por exploração de madeira, agricultura e outras pressões antrópicas (Hamilton *et al.* 1995). A importância destas florestas é bem reconhecida pela comunidade científica e deve-se, entre outros fatores, a sua alta biodiversidade e endemismos, complexidade estrutural e riqueza (Summerbell 1991), bem como a importância destas na regulação da precipitação sazonal que promovem o controle de inundações e erosão nas estações chuvosas e estocagem de água nas estações secas (Still *et al.* 1999).

Entretanto, as espécies destas florestas são muito sensíveis a variações no ambiente, especialmente ao regime de temperatura devido à falta de habitats alternativos para as espécies (Colwell *et al.* 2008, Pounds *et al.* 1999). Como consequência das mudanças atuais no clima global, evidências de perda da biodiversidade nessas florestas já existem (Rull & Vegas-Vilarrubia 2006, Colwell 2008), assim como um potencial deslocamento de espécies de alta-altitude movendo-se para cima no gradiente altitudinal devido à concorrência com espécies de baixa altitude. Ainda, aumentos na frequência de fogo depois de prolongados períodos de seca em vegetação não adaptada ao fogo, como a de algumas florestas úmidas montanas do mundo, são esperados (Steffen *et al.* 2009). Além disso, dados sobre vertebrados endêmicos sugerem que as florestas montanas estão severamente ameaçadas pelas mudanças no clima global (Williams *et al.* 2003).

Portanto, as mudanças globais devem afetar a distribuição dessas florestas podendo levá-las à extinção (Still *et al.* 1999) pela impossibilidade de migrarem para maiores altitudes devido à relativamente baixa taxa de migração características de florestas montanas (Malcolm *et al.* 2006).

Apesar de a extinção nos topos de montanhas ser foco da atenção da maioria das discussões sobre deslocamento altitudinal de espécies, apenas vertebrados (Williams *et al.* 2003) e borboletas (Wilson *et al.* 2008) foram examinados em estudos efetivamente de campo. Investigações com plantas são mais restritas a abordagens baseadas em modelagem computacional e foram até o momento realizadas para florestas montanas da Costa Rica (Colwell *et al.* 2008), Andes (Bush *et al.* 2007), Monteverde, Colômbia, Borneo e África (Still *et al.* 1999), as quais predizem mudanças potenciais na distribuição de espécies como consequência das mudanças climáticas globais. E apesar de alguns poucos estudos se preocuparem em examinar os nutrientes dessas florestas (Grubb 1977, Tanner 1977, Tanner 1985), o impacto das mudanças no clima em relação aos nutrientes necessita maiores investigações (Still *et al.* 1999). Apenas alguns aspectos de biologia das espécies desse tipo de floresta foram investigados, como composição de espécies, crescimento e distribuição das comunidades (Grubb 1977), e florística e estrutura das mesmas (Laidlaw *et al.* 2000, França & Stehmann

2004).

Sabe até o momento sobre as florestas montanas, que elas apresentam geralmente baixas temperaturas (Vitousek & Sanford 1986), e que temperaturas reduzidas levam a reduzidas taxas de decomposição e liberação de nutrientes da serapilheira (Grubb *et al.* 1977, Tanner 1981). Com relação à concentração de nutrientes nas folhas, Vitousek & Sanford (1986) sugerem, em artigo de revisão, que as florestas tropicais montanas parecem ser pobres em N, que a ciclagem de N nas partes mais altas dessas florestas é menor que nas partes mais baixas, e que esse padrão afeta a fisiologia, a comunidade, a ecologia e a biologia da população das mesmas, através da mudança na eficiência da ciclagem dos nutrientes, produtividade e crescimento gerais. Eles indicaram que pesquisas para investigar essas interações são importantes e promissoras.

Notável esforço foi feito nos anos 70 para caracterizar relações planta-solo em florestas tropicais e estão sumarizados em diversas revisões como colocado por Hedin *et al.* (2009). O consenso emergente é de que as florestas com alta umidade do solo frequentemente mostram altos níveis de N, porém as florestas montanas são comparativamente mais pobres em N. A análise de Vitousek & Sanford (1986) sugere que apesar dos padrões na ciclagem de nutrientes diferirem nas florestas sob diferentes solos, a EUN pelas plantas, como evidenciado pela produção de serapilheira (massa seca) por unidade de N nos locais com menos N circulando no solo, parecem ser similares entre as florestas tropicais e temperadas decíduas, eles sugerem que as diferenças entre os locais são provavelmente relacionadas a diferenças na disponibilidade de N, porque a EUN decresce similarmente ao aumento na circulação de N através de ambos os tipos florestais (Vitousek 1982). No caso das florestas tropicais, alta EUN foi amplamente associada com florestas montanas que experimentam baixas taxas de circulação de N (Vitousek 1982).

Num contexto global, Craine *et al.* (2009) sugeriram que ecossistemas secos tem alta disponibilidade de N, e que plantas com alta concentração de N, em média, ocupam locais com alta disponibilidade de N. Uma deposição de N contínua e acumulada poderá mudar a dinâmica de N das florestas podendo levar a desvantagem competitiva de espécies adaptadas a baixas concentrações de N, por exemplo plantas arbóreas iniciais na sucessão florestal, adaptadas a germinação sob altas temperaturas do solo, podem prosperar em detrimento das plantas mais avançadas na sucessão que requerem temperaturas mais amenas (Colwell *et al.* 2008).

A modelagem de Hilbert *et al.* (2001) com plantas de florestas úmidas australianas, mostrou que esses ecossistemas são sensíveis a menor alteração do clima e grandes mudanças na sua distribuição são previstas com as mudanças climáticas globais, mas com diferentes consequências de acordo com o tipo de floresta. Os

autores firmam que florestas montanas que ocorrem em altas altitudes e baixas temperaturas, têm enorme sensibilidade a temperatura com relação aos demais tipos de floresta, e afirmam que não se tem ainda conhecimento suficientemente preciso sobre como o clima dos trópicos úmidos irá mudar de forma geral e menos certeza existe para mudanças na sazonalidade e os efeitos dessas nas florestas.

Florestas no Brasil e Austrália

Sabe-se que as florestas montanas do estado de São Paulo no Brasil, pertencentes à Floresta Ombrófila Densa Montana do Domínio Mata Atlântica (Joly et al. 1999) e do sudeste do estado de Queensland na Austrália, estão entre os ecossistemas mais ameaçados do mundo (Malcolm *et al.* 2006). Estas florestas evoluíram no continente Gondwana há cerca de 102 milhões de anos atrás e no caso das florestas Australianas, tem-se que sua significância biológica inclui 13 das 19 famílias de angiospermas primitivas ainda presentes nos dias de hoje (Vandernbeld 1988). Não existe informação na literatura sobre quantas famílias e/ou gêneros primitivos são ainda remanescentes nas florestas brasileiras, e os estudos são limitados a registros fósseis e dados palinológicos (Morph & Friis 2000, Gerriene *et al.* 2001), mas observações de campo e de estudos florísticos destacam alguns exemplos importantes como *Araucaria* e algumas pteridófitas arborescentes, membros da família Cyatheaceae.

Como comentado, as florestas montanas estão entre as vegetações florestais tropicais mais ameaçadas, e são reconhecidamente pouco estudadas, pois a maioria dos levantamentos florísticos e fitossociológicos foi realizada em fragmentos com altitude inferior a 1000 m (França & Stehmann 2004). No Estado de São Paulo, poucos trabalhos foram dedicados à esta formação vegetal, e recentemente foi publicado um conjunto de trabalhos realizados em uma área de Floresta Montana localizada na Serra de Paranapiacaba, Município de Cotia (Reserva Florestal do Morro Grande) (Metzger *et al.* 2006, Catharino *et al.* 2006, Alves & Metzger 2006), que indicam a predominância das famílias Myrtaceae, Lauraceae, Fabaceae, Rubiaceae, Melastomataceae e Euphorbiaceae. Tabarelli & Mantovani (1999) estudaram a sucessão após corte e queima da floresta no Núcleo Santa Virgínia, PESM, e indicam que as fases de sucessão subsequentes foram dominadas pelas famílias Myrtaceae, Lauraceae e Euphorbiaceae.

O Bioma Mata Atlântica possui grande parte dos seus maiores e mais preservados remanescentes no Estado de São Paulo nas proximidades dos centros urbanos (Leitão-Filho 1994). Um estudo da evolução da cobertura florestal do Estado demonstrou que entre os anos de 1962 e 1992 a vegetação natural sofreu um decréscimo de 57 % (Projeto Biota 2001). Dos 82 % de Domínio de Mata Atlântica no Estado, atualmente

restam apenas 7,8 % de remanescentes florestais (SOS Mata Atlântica 2001). A paisagem florestal altamente fragmentada é herança da evolução da ocupação do solo nas regiões tropicais, onde a expansão agrícola avançou nas áreas com características edáficas favoráveis à mecanização (Viana *et al.* 1992). As manchas disjuntas da floresta atual, existem particularmente em locais de topografia muito acidentada, que impede qualquer atividade agrícola (Leitão-Filho 1987).

A Mata Atlântica é uma formação heterogênea, composta por diferentes fisionomias florestais: Florestas Ombrófilas Densa e Mista (Floresta de Araucária), Florestas Sazonais Decidua e Semi-decidua, Mangues e Restingas (Joly *et al.* 1999). As Florestas Ombrófilas Densas representavam originalmente 15% da cobertura florestal no território nacional (GEO Brasil 2002) estendendo-se por quase toda a faixa litorânea brasileira. Atualmente, seus remanescentes restringem-se a 7,3% de sua área original (SOS Mata Atlântica 2000). Segundo Tabarelli & Mantovani (1999), essa tipologia florestal é predominante na região sudeste, e o conjunto de estudos florísticos e fitossociológicos efetuados na encosta do estado de São Paulo indicam elevada riqueza e diversidade de espécies arbóreo-arbustivas. Os efeitos combinados de ameaça das mudanças no clima global, a fragmentação e a contínua atividade humana local, além da alta biodiversidade e alto grau de endemismos, fez da floresta Atlântica um “hotspot” para a conservação da biodiversidade (Myers *et al.* 2000).

Oliveira Filho e Fontes (2000) sugerem que a evolução e especiação na Mata Atlântica sofreram grande influência das variáveis geo-climáticas, particularmente sazonalidade na precipitação e temperatura. Também a altitude (e as temperaturas associadas) teria influenciado a composição de espécies das diversas fisionomias florestais que compõem o Domínio Atlântico. Sendo esta diferenciação florística fortemente evidenciada entre as florestas do nordeste e sudeste do Brasil, que também apresentam diferenças no padrão de transição entre as florestas úmidas do litoral e florestas sazonais mais interiorizadas, associadas às diferentes temperaturas médias regionais.

A situação das florestas úmidas subtropicais australianas é muito similar à da floresta Atlântica brasileira no que diz respeito ao desmatamento ocorrido em razão da produção agrícola e outras pressões antrópicas (Steffen *et al.* 2009). Porém, a Austrália continua sendo líder dentre os países que contribuem para extinções em massa de espécies por ação antrópica (Mackey *et al.* 2008). Cerca de 80 mil km² de floresta estavam presentes na Austrália antes da invasão europeia (Webb & Tracey 1981), a área de cobertura florestal em 1981 era estimada em 02 milhões de hectares (Webb & Tracey 1981), 25% restavam em 1991 (Summerbell 1991) e a área atual encontra-se reduzida a 5% do original (Steffen *et al.* 2009).

O “World Heritage” listou a floresta úmida australiana do sudeste do estado de Queensland (norte de New South Wales – NSW) como patrimônio natural da humanidade por ser a mais extensa área de floresta

subtropical remanescente no planeta que contém excelentes exemplares representando grandes etapas da história evolutiva da terra e onde sobrevivem espécies ameaçadas de valor universal excepcional para a ciência e conservação ([HTTP://whc.unesco.org/](http://whc.unesco.org/)). Dentre as florestas Gondwânicas dessa região, o Parque Nacional de Lamington é um dos maiores fragmentos que restaram de floresta subtropical australiana (Bryden 1977) e o foco declarado do Parque passou de ser a utilização da floresta, para ser a conservação da mesma, após sua inclusão como patrimônio natural da humanidade (Laidlaw *et al.* 2000).

Nesse contexto, é importante salientar as previsões de Phoenix *et al.* (2006), que indicaram que devido ao uso de fertilizantes químicos pela agricultura moderna e à queima de combustíveis fósseis (Galloway *et al.* 1994, Matson *et al.* 1999), as taxas de deposição de N tem aumentado substancialmente através dos trópicos nas últimas décadas, e isto tem sido notável sobre grande parte da costa brasileira (Galloway *et al.* 2004), incluindo a Floresta Atlântica (Phoenix *et al.* 2006), que está entre os oito principais “hotspots” para a conservação da biodiversidade (Myers 2000) que Malcolm *et al.* (2006) julgaram ser especialmente vulneráveis devido a extinção de plantas já ter excedido o valor de 2000 espécies.

Até o final dos anos 90, cerca de 30% da área de floresta Atlântica registrou uma deposição de N maior que $10\text{kg N ha}^{-1}\text{.ano}^{-1}$, enquanto que a média global na taxa de deposição de N terrestre foi $3,5\text{kg ha}^{-1}\text{.ano}^{-1}$ (Phoenix *et al.* 2006). As previsões para a deposição de N na floresta Atlântica para o ano de 2050 excedem a média de $20\text{kg ha}^{-1}\text{.ano}^{-1}$, com o máximo de deposição para este “hotspot” podendo chegar a $60\text{kg ha}^{-1}\text{.ano}^{-1}$ (Phoenix *et al.* 2006). Uma análise sensível baseada em múltiplos fatores (incluindo diferentes previsões de modelos de vegetação e de mudanças no clima global) mostrou que a floresta Atlântica tende a apresentar uma perda de habitat relativamente grande com relação às mudanças no clima (Malcolm *et al.* 2006). Não sendo considerado como um “hotspot” global, não se tem previsão específica para as florestas do sudeste da Austrália (Phoenix *et al.* 2006).

Uso de N por plantas de florestas tropicais no Brasil e Austrália

Apesar da importância em melhor se compreender o funcionamento das florestas, características do metabolismo primário de N em plantas recebem menos atenção pelas pesquisas de um modo geral. Um importante estudo publicado nesse aspecto realizado numa floresta Atlântica do Brasil foi o de Aidar *et al.* (2003) mostrando que espécies arbóreas ao longo de um gradiente sucessional apresentam um contínuo de estratégias relacionadas ao uso de N. Os autores propuseram um modelo de uso de N (Figura 1) em uma floresta sob solo calcáreo do sudeste brasileiro, onde espécies pioneiras parecem usar principalmente NO_3^-

como fonte de N, e possuem altas concentrações de N nas folhas; espécies do estágio tardio da sucessão foram menos responsivas ao aumento da disponibilidade de N no solo e exibem uma reciclagem interna de N, com baixa concentração de N nas folhas; e as espécies secundárias iniciais na sucessão exibiram um comportamento menos uniforme, com um subgrupo mostrando estratégias mais similares às das espécies pioneiras (incluindo membros das famílias Fabaceae e Lauraceae) e outro subgrupo mostrando similaridade com as estratégias das espécies tardias (incluindo membros das famílias Myrtaeae, Melastomataceae, Proteaceae e Myrcinaceae).

Após esse estudo pioneiro, e tendo em vista a alta riqueza de formações vegetais que compõem o Domínio Mata Atlântica e a plasticidade geral das florestas úmidas em reter N (Vitousek *et al.* 1997), avaliações posteriores feitas sob a mesma abordagem, em outras regiões da floresta Atlântica a diferentes altitudes e solos, confirmaram a existência desse mesmo comportamento no uso de N pelas espécies dentro da sucessão florestal (Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012), dando uma abrangência regional ao modelo, inicialmente local, proposto por Aidar *et al.* (2003) e reforçando a relação entre as estratégias do uso de N e de regeneração utilizadas pelas espécies arbóreas das árvores da Mata Atlântica do estado de São Paulo.

Um estudo nesse mesmo aspecto realizado em duas florestas úmidas australianas, incluindo a floresta de Lamington, foi o de Stewart *et al.* (1988), que encontraram altos níveis de ANR (atividade da nitrato redutase) nas folhas de plantas pioneiras na sucessão, sendo estas consideradas como espécies predominantemente assimiladoras de NO_3^- (incluindo membros das famílias Euphorbiaceae e Solanaceae), enquanto que baixas atividades foram mensuradas em plantas do sub-bosque (incluindo membros das famílias Capparaceae e Monimiaceae), plantas emergentes e dominantes do dossel (incluindo membros das famílias Lamiaceae, Proteaceae e Moraceae). Os autores sugerem que algumas espécies características de vegetação tardia na sucessão florestal têm pouco potencial em usar NO_3^- como fonte de N, mesmo quando este é facilmente disponível.

Outro estudo, realizado em florestas tropicais australianas, uma monsonal decídua e uma sempre-verde, evidenciou a separação das espécies em classes quanto ao uso de N, sugerindo uma clara distinção de nichos com a existência de três classes de espécies: as que usam NO_3^- , com alta e outra com baixa capacidade, e as que não usam NO_3^- . Os autores sugeriram a existência de uma relação íntima entre a disponibilidade de N no solo, a porcentagem de N na seiva do xilema das plantas e a concentração de N nas folhas, e mostraram ocorrer maior concentração e disponibilidade de N nos solos da floresta monsonal decídua, sendo a maioria encontrada sob a forma de NO_3^- (Schmidt 1998, Schmidt *et al.* 1998).

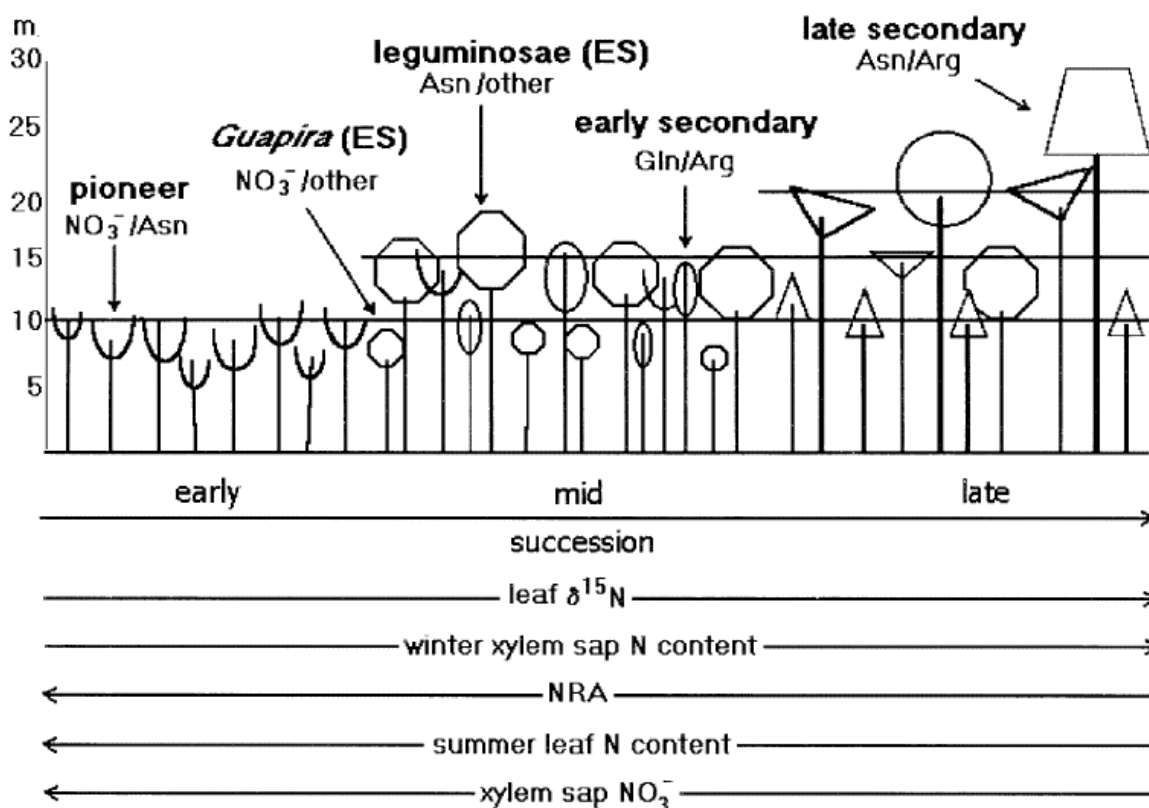


Figura 1. Diagrama conceitual do modelo de uso de nitrogênio (N) ao longo de uma sucessão florestal na Mata Atlântica, como proposto por Aïdar *et al.* (2003), indicando os principais compostos nitrogenados de baixo peso molecular transportados na seiva do xilema e as tendências dos parâmetros analisados ao longo do contínuo existente entre as diferentes estratégias de regeneração, onde: leaf $\delta^{15}\text{N}$ – assinatura isotópica foliar (‰); transporte na seiva do xilema (xylem sap): Arg – arginina, Asn – asparagina, Gln – glutamina, NO_3^- – nitrato; sucessão florestal: early – estágio inicial de sucessão (15 anos após abandono), mid – estágio médio de sucessão (25 anos), late – estágio avançado de sucessão (>36 anos) (Aïdar *et al.* 2001, 2003).

3.4. Nitrogênio nas savanas tropicais

Savanas tropicais no mundo

Basicamente, a composição e a estrutura de ecossistemas de savana estão intimamente relacionadas com a disponibilidade de água e nutrientes no solo, mas fatores como fogo, herbivoria e manejo das terras para agricultura são também importantes e agem modificando essa estrutura básica (Bernhard-Reversat & Poupon 1980, IGBP 1997, Eamus 1999, Schmidt & Stewart 2003, Adams *et al.* 2004, Bustamante *et al.* 2006).

A variação na temperatura entre as estações do ano em ambientes de savana é dependente da altitude, latitude e distância do oceano. Em savanas ao norte da Austrália, por exemplo, que são próximas ao oceano

e aos trópicos (12–20°S), a temperatura é uniformemente alta o ano todo (20-30°C). Já em savanas marginais aos trópicos ou que ocorrem em altas altitudes, as temperaturas podem ser quase congelantes e a variação sazonal ser de 20°C ou mais. Mas de modo geral, estes ecossistemas estão confinados a áreas onde a temperatura anual média é maior que 20°C e a média do mês mais frio é maior que 13°C (Eamus 1999).

Quanto ao regime de chuvas, em geral nesses ambientes, a média anual é usualmente maior que 600mm e menor que 1700mm, e a duração da estação seca pode oscilar entre um e sete meses (Eamus 1999).

De modo geral, as savanas africanas e indianas são marcadamente compostas por plantas decíduas, as savanas da América do sul apresentam principalmente espécies de hábito sempre-verde (ou perenifólio), no Brasil parece haver um misto de plantas decíduas e sempre-verdes (Franco *et al.* 2005), já as savanas australianas não possuem uma dominância aparente por espécies de hábito específico (Eamus 1999). Entretanto, todas as savanas têm em comum uma forte influência da sazonalidade em suas espécies.

A coexistência de espécies arbóreas com comportamento fenológico contrastante nos ecossistemas de savana têm sido considerada como um indicador de diferenças na profundidade dos sistemas radiculares, de modo que se espera que plantas decíduas tenham raízes mais superficiais e pouco controle transpiratório (Franco *et al.* 2005). Plantas sempre-verdes com sistemas radiculares profundos devem ser capazes de manter altas taxas de transpiração e assimilação de CO₂ durante períodos secos (Goldstein *et al.* 1989). Por outro lado, supõe-se que plantas decíduas tenham uma estratégia menos conservativa no uso de água e nutrientes, o que condiz com a baixa longevidade foliar característica de espécies com esse hábito, enquanto que espécies sempre-verdes devem ter uma estratégia mais conservativa (Lloyd & Farquhar 1994).

Um estudo conduzido por Bernhard-Reversat & Poupon (1980) em uma savana africana dominada por *Acacia senegal* mostrou que a produção de N no solo durante a estação úmida ocorre principalmente sob a forma de NO₃⁻. Os autores indicam que o acúmulo de N no solo aumenta durante a vida das plantas, o que também já foi verificado por diversos outros estudos (Ludwig *et al.* 2004), e que o fluxo anual de N da vegetação para o solo é relativamente alto quando comparado a valores apresentados por alguns ecossistemas de floresta. Assim, a riqueza em espécies leguminosas, característica da maioria das savanas do mundo, pode contribuir para um ciclo bastante ativo de N, considerando o fato de que muitas dessas espécies são fixadoras de N. Os autores apontam também, que a chuva é o principal fator ambiental influenciando o ciclo do N nesses ecossistemas, pois limita o crescimento da vegetação (também a utilização e o retorno de N), controla a produção de N mineral no solo, e promove nitrificação ou perda de N do solo por lixiviação.

Porém a produção primária da vegetação pode ser limitada por N devido a restrições na fixação de N pelas plantas, que podem ser impostas pelas baixas concentrações de P e água no solo, bem como por perdas de N

sob a forma gasosa. Neste sentido, a produção primária nesses ecossistemas pode ser prevista através da quantificação do N mineralizado (IGBP 1997, Ludwig *et al.* 2004).

Variações na mineralização líquida de N no solo podem ser consequência da disponibilidade de NH_4^+ no solo, e o pico da atividade microbiana no solo de uma savana brasileira parece ocorrer no início das chuvas, com um período inicial de imobilização seguido de mineralização (Nardoto & Bustamante 2003).

As savanas emitem grandes quantidades de NO_x (óxidos de N), advindas principalmente do solo ou queima de biomassa, e o NO_x gerado é depositado de volta a savana na maioria das vezes, uma vez que o tempo de vida do NO_x e dos produtos de sua reação é longo (Holland *et al.* 1999). Dentre os NO_x , o NO se destaca por ser um gás quimicamente reativo que regula a produção de ozônio troposférico, e as savanas são a fonte biogênica mais importante desse gás (Matson *et al.* 1999).

Plantas de savanas que são queimadas anualmente têm maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ quando comparados com savanas queimadas com menor frequência, sugerindo que o $\delta^{15}\text{N}$ pode ser usado como um marcador para acesso do histórico de queimadas nesses ambientes (Schmidt & Stewart 2003).

Medina (1993) apresenta uma extensa revisão sobre nutrição mineral em plantas de savana com bastante informação a respeito da ciclagem de N nesses ecossistemas. Em adição, os trabalhos de Bustamante *et al.* (2006), Sarmiento *et al.* (2006), Colleta *et al.* (2009), Chen *et al.* (2010), Pivello *et al.* (2010) também abordam certos aspectos do N em ecossistemas de savana, e trazem em comum as informações de que o ciclo do N é fortemente influenciado pelo regime de fogo nestes ecossistemas, a deposição de N vem aumentando consideravelmente nessas áreas, e essas formações são fortemente limitadas por N.

Bustamante *et al.* (2006), em uma comparação entre savanas tropicais e temperadas, chamou atenção para o fato de que a maior região de savana abaixo do trópico do Equador está localizada no Brasil, e estende-se por cerca de 2 milhões de km^2 , sendo conhecida nacionalmente com o nome de Cerrado.

Savana brasileira – Cerrado no estado de São Paulo

O cerrado no estado de São Paulo apresenta-se atualmente na forma de fragmentos dispersos, especialmente na Depressão Periférica, Planalto Ocidental Paulista e Vale do Paraíba. A área total com esse tipo de vegetação no estado correspondia originalmente a cerca de 14 % do território (São Paulo 1997). Em 1962 essa vegetação cobria 33.929 km^2 (13,7% do estado) (Borgonovi & Chiarini 1965) e onze anos depois, Serra Filho *et al.* (1975) estimaram essa cobertura em apenas 10.388 km^2 (cerca de 4,2%). Em 1992, utilizando imagens de satélite, Kronka *et al.* (1998) estimaram uma área total remanescente de apenas 2.379 km^2 (cerca

de 0,96% do estado), ou seja, em 30 anos, o cerrado paulista foi reduzido a menos de 7% de sua área original, caracterizando a rápida destruição desse Bioma.

As comunidades de cerrado são extremamente complexas em termos estruturais (Oliveira-Filho *et al.* 1989) e ricas em espécies lenhosas endêmicas. Espécies perenifólias, brevedecíduas e decíduas ocorrem lado a lado (Franco 2002, Paula 2002). Essa diversidade funcional e estrutural da vegetação resulta em diferentes padrões de distribuição do sistema radicular e em diferentes estratégias de utilização espacial e temporal dos recursos hídricos, com efeitos marcantes da sazonalidade no balanço de C, N e no crescimento. Muitas espécies lenhosas do cerrado perdem suas folhas parcial ou totalmente durante a estação seca (Paula 2002), confirmando a relação entre seca e deciduidade. As reduções na área foliar disponível devido a fatores bióticos e abióticos reduzem a capacidade de assimilação de C em espécies com copas perenes durante a estação seca (Franco 1998).

Os solos sob cerrado são normalmente pobres, ácidos, bem drenados, profundos e com altos níveis de alumínio trocável. A relação entre a ocorrência de alta concentração deste elemento no solo e a ocorrência da vegetação característica de cerrado tem sido matéria de controvérsia por muitos anos, sendo que mais recentemente outros fatores ambientais tais como geomorfologia, drenagem do solo e regime hídrico vêm sendo estudados de modo a explicar o gradiente cerrado–floresta proposto inicialmente por Coutinho (1978) (Ruggiero *et al.* 2002). Entretanto, do ponto de vista da disponibilidade de N nos solos de cerrado, Nardoto & Bustamante (2003) indicam que apesar da sua pobreza, ocorre predominância do íon NH_4^+ sobre o íon NO_3^- como fonte disponível para as plantas. Além disso, Bustamante *et al.* (2006) indicam que a produtividade e a ciclagem de matéria orgânica no cerrado são controladas pela interação entre a disponibilidade de água e nutrientes e que esta estrutura básica é modelada pelo regime de fogo.

Hoffmann *et al.* (2005) sugerem que a disponibilidade de nutrientes desempenha papel importante na determinação da distribuição das savanas e florestas tropicais, e que os seus resultados indicam diferenças fundamentais nas características foliares e relações com nutrientes entre as espécies de savana e floresta. Estes autores ressaltam ainda que seja necessários estudos a fim de elucidar os requerimentos nutricionais das espécies e como estes influenciam na ciclagem de nutrientes nestes dois extensos Biomas tropicais.

Oliveira Filho e Fontes (2000) e Méio *et al.* (2003) indicam que há mais similaridade entre a flora da Mata Atlântica com a do cerrado, do que destas com a da Floresta Amazônica, sugerindo que os climas dos dois primeiros Biomas são mais similares por possuírem baixas temperaturas no inverno e estação seca mais pronunciada, sendo esta similaridade ainda mais pronunciada em relação à Floresta Ombrófila Montana devido seu clima mais ameno.

Apesar de não existir um consenso sobre a existência de sucessão entre as espécies de cerrado, ou savanas, alguns autores defendem a ocorrência de uma transição entre as fitofisionomias características desses ambientes. Durigan & Ratter (2006) afirmam a existência de uma sucessão entre as fitofisionomias com o decorrer do tempo, na ausência de perturbações maiores nesses ecossistemas, em especial dos eventos de queimadas. Os autores demonstram através de estudo com acompanhamento de fotos aéreas, que o cerrado típico pode evoluir para um cerradão, mais denso, com árvores maiores e com diferente composição de espécies, incluindo espécies típicas das florestas próximas. Isso ocorre possivelmente devido às mudanças provocadas no solo em decorrência da ausência dos distúrbios.

3.5. Área foliar específica e densidade da madeira

Plantas de espécies perenifólias mantêm a copa cheia de folhas durante o ano todo e na época seca reduzem no máximo 10% de sua folhagem, contrastando com plantas de espécies decíduas que derrubam todas as suas folhas por pelo menos um mês, podendo chegar a quatro meses. Já as espécies semi-decíduas são funcionalmente perenifólias, mas chegam a perder 50% de suas folhas na época seca. Assim, a coexistência de espécies com estratégias tão diferentes é devida principalmente à redução da competição pelos mesmos recursos, de modo que apresentam diferentes fenologias, arquitetura hidráulica, morfologia e tempo de vida foliar, taxas de assimilação, distribuindo diferentemente a demanda por recursos ao longo do ano (Eamus 1999).

A análise de custo-benefício assume que existe um alto custo para a planta manter sua estrutura (construção e manutenção de folhas) e que o benefício da maior manutenção com o tempo, é o ganho com a fixação de carbono (Eamus 1999). Assim, folhas de plantas decíduas normalmente senescem e sofrem abscisão quando a disponibilidade de água ou outro recurso ficam baixos a ponto de o custo de manutenção superar o benefício de mantê-las (Chabot & Hicks 1982, Sobrado 1991, Eamus & Prichard 1998, Eamus 1999, Prior *et al.* 2003).

Em plantas perenifólias, o aumento da longevidade foliar aumenta o custo de construção e manutenção destas durante o ano todo, e também aumenta a probabilidade de herbivoria, de modo que essas plantas normalmente desenvolvem estruturas e/ou compostos de defesa, geralmente contendo N (Williams *et al.* 1989), enquanto que folhas de menor longevidade diminuem o custo de construção, pois o tempo disponível para recompensar esse custo através da fixação de C é menor.

Um parâmetro muito utilizado como um bom descritor de processos ecossistêmicos ou em nível individual

é a área foliar específica (AFE) de uma planta, que se relaciona com a fotossíntese, fenologia e decomposição foliar (Reich *et al.* 1992, Wright *et al.* 2004), e também reflete o custo de construção de uma folha pela planta (Witkowski & Lamont 1991). Em ambientes pobres em recursos, as espécies tendem a apresentar folhas com menores AFE e maior longevidade (Westoby *et al.* 2002, Rosado & de Mattos, 2010), uma vez que a maior durabilidade da folha pode estar associada à maior quantidade de tecidos estruturais que possibilitam maior resistência a intempéries (Chabot & Hicks 1982, Reich *et al.* 1992). A maior durabilidade permite um menor custo de C investido em construção foliar, pois a fotossíntese pode ocorrer por um tempo maior na mesma folha (Chabot & Hicks 1982, Westoby *et al.* 2002).

Entretanto, diferenças em características foliares também podem acontecer em função de variações na disponibilidade de luz, por exemplo, levando à clara distinção entre folhas de espécies tolerantes a sombra e espécies de sombra (Williams *et al.* 1989, Niinemets 2001). Enquanto espécies de sombra tendem a apresentar maiores AFE para maximizar a interceptação de energia luminosa, espécies tolerantes à sombra possuem menores AFE com aumento na longevidade foliar (Reich *et al.* 2003, Poorter 2009).

Prior *et al.* (2003) em estudo com 21 espécies de savana na Austrália, encontraram maiores AFE e menores longevidade e espessura foliar em espécies decíduas, assim como maior conteúdo de N foliar e maior fotossíntese. Este padrão contrapõe-se ao que ocorre em espécies perenifólias, que apresentam menor AFE, maior longevidade foliar, e menores conteúdos de N foliar e fotossíntese. Esse comportamento para espécies perenifólias foi observado em uma gama de espécies arbóreas de diferentes ambientes (Chabot & Hicks 1982, Sobrado 1991, Prado & Moraes 1997, Eamus & Prichard 1998). A relação direta entre AFE, conteúdo de N foliar e fotossíntese e destes parâmetros inversamente com a longevidade foliar tem sido demonstradas em uma enorme amplitude de ambientes e espécies como indicados por Medina (1984), Field & Mooney (1986), Mulkey *et al.* (1995), Diemer (1998), Reich *et al.* (1998), Bolstad *et al.* (1999), Eamus *et al.* (1999), Niinemets (1999), Reich *et al.* (1999) e Wright *et al.* (2001).

Existe a proposta de um padrão global dessas relações, como elegantemente demonstrado por Wright *et al.* (2004) em seu artigo “The worldwide leaf economic spectrum”, que reúne dados sobre características foliares de mais de 2500 espécies em 175 locais no planeta. Os autores demonstram que a ligação entre alta fotossíntese e alta concentração de N é resultado de uma relação causal direta, e explicam que uma grande longevidade foliar requer robustez e baixa palatabilidade da folha, que estão diretamente associadas a uma baixa AFE. Ainda, alta fotossíntese tende a estar associada à baixa longevidade foliar, porque isto requer alto conteúdo de N e/ou alta AFE, os quais elevam a vulnerabilidade da folha à herbivoria, e que devido à alta fotossíntese, essas plantas têm maior crescimento e rapidamente sombreiam as folhas mais velhas levando-as

a senescência, uma vez que os recursos são mais valiosos quando transferidos para folhas novas e mais bem iluminadas.

Os valores de AFE nas folhas de uma planta normalmente decaem com o tempo conforme a folha amadurece (Field & Mooney 1983, Simioni *et al.* 2004) assim como a quantidade de N por massa foliar (Chapin & Kedrowski 1983, Millard & Nielsen 1989), provavelmente devido à incorporação de N estrutural, ou estocagem de N, e eventualmente como resultado da translocação deste elemento durante a senescência foliar (Crane & Banks 1992, Norby *et al.* 2000).

Além da AFE, a densidade da madeira (DM) é uma importante característica associada às propriedades de transporte de seiva e água no xilema, ao crescimento e à resistência da planta a danos físicos (Meinzer 2003). Altas DM aumentam a resistência ao fluxo de água, diminuindo a eficiência no transporte de água por área de xilema, promovendo valores mais negativos de potencial hídrico foliar (Meinzer 2003). Esta associação entre DM e o transporte de água tem reflexo também na área foliar já que, em alguns casos, há uma relação inversa entre área foliar e DM (Wright *et al.* 2007). Uma possível explicação para esta relação é que folhas menores possuem menor demanda por água o que se ajustaria às maiores restrições ao transporte de água oferecidas por madeiras mais densas (Chave *et al.* 2009).

Meinzer (2003) sugere que uma alta DM permite à planta uma alta resistência à cavitação (conseguida com menores diâmetros dos vasos), entretanto isso tem como consequência uma redução na condutividade hidráulica que reduz a eficiência de reposição de água nas folhas durante o dia. Seguindo o mesmo raciocínio, Ribeiro (2007) encontrou em estudo com plantas de cerrado, que as espécies com alto potencial hídrico apresentaram menores AFE, como consequência da menor densidade de madeira e maiores diâmetros dos vasos (Bhaskar & Ackerly 2006) possibilitando menor resistência hidráulica e maior propensão à cavitação.

Estudos realizados por Choat *et al.* (2005) com plantas de floresta tropical sazonal na Austrália, principalmente espécies do gênero *Eucalyptus*, demonstraram que as espécies decíduas possuem maior diâmetro nos vasos do xilema e menor DM. Esses resultados contrariam os dados obtidos em outras florestas secas (Brodribb *et al.* 2002), deixando claro que a relação entre a arquitetura hidráulica e a fenologia foliar ainda não está claramente compreendida.

4. OBJETIVOS E HIPÓTESES

A presente pesquisa teve como objetivos:

- a) Determinar as estratégias de uso de N utilizadas pelas espécies arbóreas vegetais que estruturam os ecossistemas em estudo, através da caracterização da aquisição, transporte, estocagem e remobilização do N;
- b) Comparar as características e estratégias de uso de N utilizadas pelas plantas, buscando similaridades e padrões entre os ecossistemas, testando a validade do modelo de uso de N proposto por Aida *et al.* (2003) para as espécies das florestas estudadas;
- c) Buscar modelos alternativos ou complementares no caso do teste de validação do modelo proposto não ser satisfatório para as áreas de estudo.

Formularam-se previamente as seguintes hipóteses:

- a) As florestas estudadas terão comportamento similar em relação ao uso e transporte de N pelas espécies em diferentes estágios sucessionais. Assim, espécies secundárias tardias na sucessão provavelmente serão menos afetadas pela disponibilidade de N no solo por terem uma ciclagem interna de N como estratégia mais importante. Espécies pioneiras terão preferência pelo uso do NO_3^- como fonte de N e haverá um contínuo de estratégias entre esses dois extremos da sucessão.
- b) No Cerrado deve existir algum padrão no uso de N pelas espécies, semelhante à floresta no que se refere à aquisição e reciclagem, considerando as semelhanças deste ecossistema com as florestas montanas como indicado por Oliveira-Filho (2000). Os grupos funcionais adotados serão provavelmente diferentes, pois não existe uma sucessão ecológica cronológica claramente definida para este ecossistema.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material Vegetal

5.1.1. Seleção e caracterização das espécies vegetais estudadas

A seleção das espécies de cada área estudada baseou-se em estudos prévios de fitossociologia, que definiram as espécies mais importantes na estruturação da vegetação de acordo com o Índice de Valor de Importância (IVI), que considera a frequência, a dominância e a densidade relativas das espécies na comunidade em questão. Foram selecionadas também espécies consideradas como de referência pelos seguintes aspectos: espécies já estudadas anteriormente com relação ao uso de N, espécies indicadoras de ambientes ou estratégia ecológica, tal como espécies pioneiras, e espécies adequadas para comparações entre as áreas de estudo ou destas com outras áreas.

A classificação das espécies da floresta Montana brasileira em grupos funcionais baseou-se na categorização sucessional feita por Gandolfi *et al.* (1995, 2000) e Lorenzi (1992, 1998) coincidindo com as delimitações altitudinais da Floresta Ombrófila Densa proposta no sistema de classificação da vegetação de Veloso *et al.* (1991). A classificação das espécies da floresta australiana teve como base a planilha de Kanowski *et al.* (2009). Todas essas classificações incluem as espécies em três grupos sucessionais principais, com os conceitos gerais descrito a seguir:

- espécies Pioneiras (Pi) ocorrem preferencialmente em clareiras e bordas de florestas, podendo aparecer também sob a copa de outras árvores, são pouco frequentes no sub-bosque. Caracterizam-se por possuírem em geral sementes com germinação dependente de altas temperaturas, são bem adaptadas ao sol pleno, têm crescimento rápido e ciclo de vida curto.
- espécies Secundárias Iniciais (Si) possuem um comportamento variável de dependência de luz, o que permite seu desenvolvimento nas bordas ou no interior de clareiras, nas bordas de floresta e no interior do sub-bosque, são praticamente ausentes em áreas intensamente sombreadas. Têm em geral alta longevidade, podendo aparecer no dossel de antigas clareiras.
- espécies Secundárias Tardias (St) são tolerantes à sombra, ocorrem em maior abundância e permanência no sub-bosque, incluindo locais intensamente sombreados. Contudo, essas espécies podem eventualmente sobreviver em clareiras recentes ou em preenchimento. Nesse grupo ocorrem dois comportamentos, o primeiro cuja espécie permanece toda vida no sub-bosque e, o segundo, em que pode crescer e se desenvolver no sub-bosque, posteriormente alcançando a condição emergente típica e

compondo o dossel da floresta. Têm ciclo de vida geralmente longo e suas sementes preferem temperaturas mais amenas para germinar.

Como não existe consenso sobre a existência de uma sucessão cronológica para o cerrado, a classificação das espécies desta área em grupos funcionais foi realizada considerando o hábito fenológico das mesmas, utilizando-se do trabalho de Lorenzi (1992, 1998), que conceitua esses grupos da seguinte forma:

- plantas decíduas (D) são aquelas que perdem completamente suas folhas em alguma fase do ciclo anual, não importando o período que permanecem desfolhadas. Isso ocorre geralmente na estação seca e é um comportamento característico de algumas espécies de ambientes sazonais.

- plantas semi-decíduas (S) são definidas como aquelas que perdem parcialmente suas folhas em algum período do ciclo anual, mas nunca ficam completamente desfolhadas.

- plantas perenifólias (P) são aquelas que permanecem sempre-verdes durante todo o ciclo anual, podendo perder folhas em algum momento do ciclo de vida, mas a reposição destas ocorre concomitantemente.

Após a escolha e a definição dos grupos funcionais com as espécies de cada área, foi elaborado um mapa de localização dos indivíduos a serem amostrados. A seleção dos locais de coleta em campo considerou a facilidade de acesso às sub-parcelas e a seleção dos indivíduos considerou a logística de coleta de seus galhos. De modo geral, as espécies foram idealmente representadas por três ou quatro indivíduos, embora em função da dificuldade de coleta de certas árvores com altura elevada ou mesmo da não existência de mais exemplares, algumas espécies foram representadas por um ou dois indivíduos.

5.1.2. Estratégia de coleta e desenho experimental

O estudo das preferências de uso de N em espécies arbóreas foi realizado através do desenvolvimento de algumas técnicas experimentais a fim de compor um cenário ecofisiológico diante das diferentes exigências e estratégias empregadas pelas espécies em função das fontes disponíveis de N no ecossistema em estudo. A abordagem foi realizada avaliando os seguintes parâmetros: capacidade de redução de NO_3^- nitrato através dos ensaios de atividade da enzima de nitrato redutase (ANR); determinação do conteúdo de NO_3^- nos tecidos foliares (NO_3^- folha); determinação do conteúdo de N e C totais (%N, %C, e razão CN) e composição isotópica ($\delta^{15}\text{N}$) foliares; concentração de compostos nitrogenados de baixo peso molecular na seiva do xilema (aminoácidos – aa, amidas e NO_3^-); disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo através do uso de resina de troca iônica; ocorrência de simbiose radicular (micorriza e nodulação) e identificação das espécies de micorrizas

através dos esporos de micorrizas encontrados no solo; cálculo da área foliar específica (AFE) e da densidade da madeira (DM).

Em todas as áreas de estudo, a coleta do material foi realizada em duas estações do ano (inverno e verão, por serem as estações mais marcantes quanto à variação das condições climáticas tropicais), sempre no período da manhã (entre 7h e 12h – quando a ANR é maior segundo Sodek (2004)), com uso de podão e escalador de árvores em alguns casos. Especificamente, as coletas foram realizadas nos seguintes períodos: Janeiro e Agosto de 2008 no PDG, Julho de 2008 e Janeiro de 2009 em SV, Janeiro e Julho de 2010 em LAM.

Cada galho coletado era desfolhado, suas folhas eram então reservadas em bolsa térmica para posterior análise de ANR, NO_3^- folha e AFE, dois pequenos pedaços do galho eram reservados para mensuração da DM, a extremidade inferior do galho desfolhado era lapidada manualmente com uso de canivete para melhor acoplar-se ao aparato de coleta da seiva e conectado a uma bomba de vácuo manual (Figura 2). As amostras de seiva eram mantidas resfriadas em campo e depois congeladas em freezer a -80°C até posterior análise.

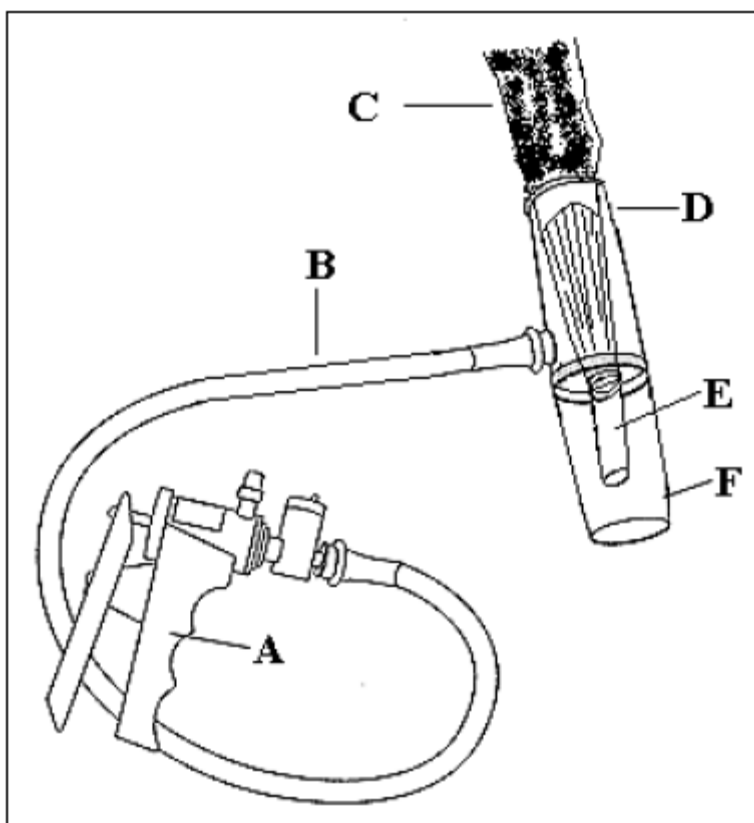


Figura 2. Aparato para extração de seiva. A – bomba de vácuo manual, B–tubo de silicone, C–ramo da planta, D – suporte com filme de parafina, E – reservatório de seiva e F-frasco com tampa de rosca (retirada de Pereira-Silva 2008).

5.1.3. Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia (SV)

A área de estudo de Floresta Ombrófila Densa Montana pertence ao domínio da Mata Atlântica, é parte do Núcleo Santa Virgínia (SV) do PESM, e situa-se nos municípios de São Luís do Paraitinga, Cunha e Ubatuba (Figura 3) entre as coordenadas (23°17' a 23°24' S – 45°03' a 45°11' W). Tem sua maior área (7.557 ha) localizada no município de São Luiz do Paraitinga (Padgurschi 2010).

Cerca de 5.000 ha do núcleo são recobertos pela Floresta Ombrófila Densa Montana (Veloso *et al.* 1991) em altitudes que vão de 850 a 1.100 m, e relevo com grandes declividades (24° a 37°). O clima é tropical temperado, sem estação seca (Setzer 1966), com uma precipitação média anual superior a 2.000 mm. Nos meses mais secos, junho a agosto, a precipitação média mensal é maior que 60 mm. A alta pluviosidade dessa região montanhosa é explicada pela proximidade com o litoral, que fornece toda umidade do oceano (Townsend *et al.* 2006, Raven *et al.* 2007), possibilitando com isso a manutenção de uma alta riqueza de espécies (Gentry 1988, Tonhasca Junior 2005).

O Parque Estadual da Serra do Mar (PESM) é a maior área de proteção integral de toda a Mata Atlântica (Instituto Florestal 2010). O Parque, criado em 1977, é administrado pelo Instituto Florestal de São Paulo (IF), incorporou no momento de sua criação uma série de Reservas Estaduais já existentes que abrangem cerca de 20 municípios do Litoral brasileiro e Vale do Paraíba, conta atualmente com mais de 315 mil ha, e abriga cabeceiras formadoras dos Rios Paraíba do Sul, Tiete e Ribeira de Iguape (Instituto Florestal 2010). Devido a sua extensão, o PESM é subdividido em 08 núcleos administrativos: Caraguatatuba, Cunha/Indaia, Curucutu, Pedro de Toledo, Picinguaba, Pilões, São Sebastião e Santa Virgínia, e por isso também cumpre um importante papel como corredor ecológico, conectando os mais significativos remanescentes de Mata Atlântica do país (Instituto Florestal 2010).

De acordo com uma divisão proposta por Veloso *et al.* (1991), a área do PESM, que é essencialmente composta de Floresta Ombrófila Densa, pode ser subdividida em diferentes fisionomias de acordo com a hierarquia topográfica, em função de variações entre faixas altimétricas e latitudinais:

1. Formação das Terras Baixas – 05 a 50 metros de altitude;
2. Formação Submontana – 50 a 500 metros;
3. Formação Montana – 500 a 1500 metros;
4. Formação Altomontana – acima de 1500 metros.

O processo de fragmentação da Mata Atlântica dessa região teve início em meados do século XIX com a intensa atividade do ciclo do café (Dean 2002), em seguida a economia passou a basear-se em pastagens para a pecuária leiteira concomitantemente com a industrialização das cidades localizadas as margens da Via Dutra

(Aguirre 2008). Por volta dos anos 50 o corte de árvores para produção de carvão destinado ao abastecimento das usinas paulistas de aço tornou-se importante atividade econômica em São Luiz do Paraitinga (Dean 2002). Nesse contexto, a região do Núcleo SV encontra-se em uma das regiões mais densamente povoadas e industrializadas do país, que é o eixo Rio de Janeiro - São Paulo (Aguirre 2008), o que explica as pressões antrópicas que levaram ao seu desmatamento, bem como justifica a necessidade de se proteger esse remanescente florestal.

O Projeto “Biota Gradiente”, já mencionado nas justificativas deste trabalho como sendo um dos Projetos em que se inseriu o presente estudo, realizou um levantamento fitossociológico em quatro hectares de floresta do Núcleo SV, que foi subdividido em subparcelas de 1ha, das quais escolheu-se duas para a realização das coletas. A caracterização detalhada das parcelas amostradas, incluindo topografia, coordenadas geográficas, estudo hídrico e de nutrientes do solo, bem como outros aspectos estudados estão reunidos no último relatório do Projeto (Joly 2011). A lista das 41 espécies selecionadas, escolhidas com base no levantamento de Pardguschi *et al.* (2011), está representada na Tabela 1.

O cálculo do balanço hídrico normal (Martins 2010) para o período de 1973 a 2008 com dados fornecidos por quatro estações meteorológicas do DAEE/SP (Departamento de Águas e Energia Elétrica) nos municípios de São Luís do Paraitinga e Ubatuba indica que mesmo nos meses mais secos a precipitação média não ficou abaixo dos 80 mm com a maior concentração das chuvas entre os meses de novembro e março (Figura 4).

De acordo com o trabalho de Freitas (2011), que avaliou dados climatológicos gerados por uma torre de fluxos instalada na área de estudo, a estação seca nos anos de 2008 e 2009 (anos de coleta dos dados do presente estudo), esteve entre os meses de junho a agosto, como já previsto em literatura, e não houve período superior a 11 dias consecutivos sem chuva. Os totais precipitados para 2008 e 2009 foram de 1990 e 2997 mm, respectivamente. O ano de 2009 foi o ano mais chuvoso, e concentrou o maior volume precipitado no segundo semestre. Houve marcante sazonalidade entre o período seco e chuvoso, assinalado pela massa de água presente na atmosfera em relação à massa de ar, e a temperatura média anual foi de 22°C, com mínima de 7,8°C em julho e máxima de 33,9°C em dezembro.

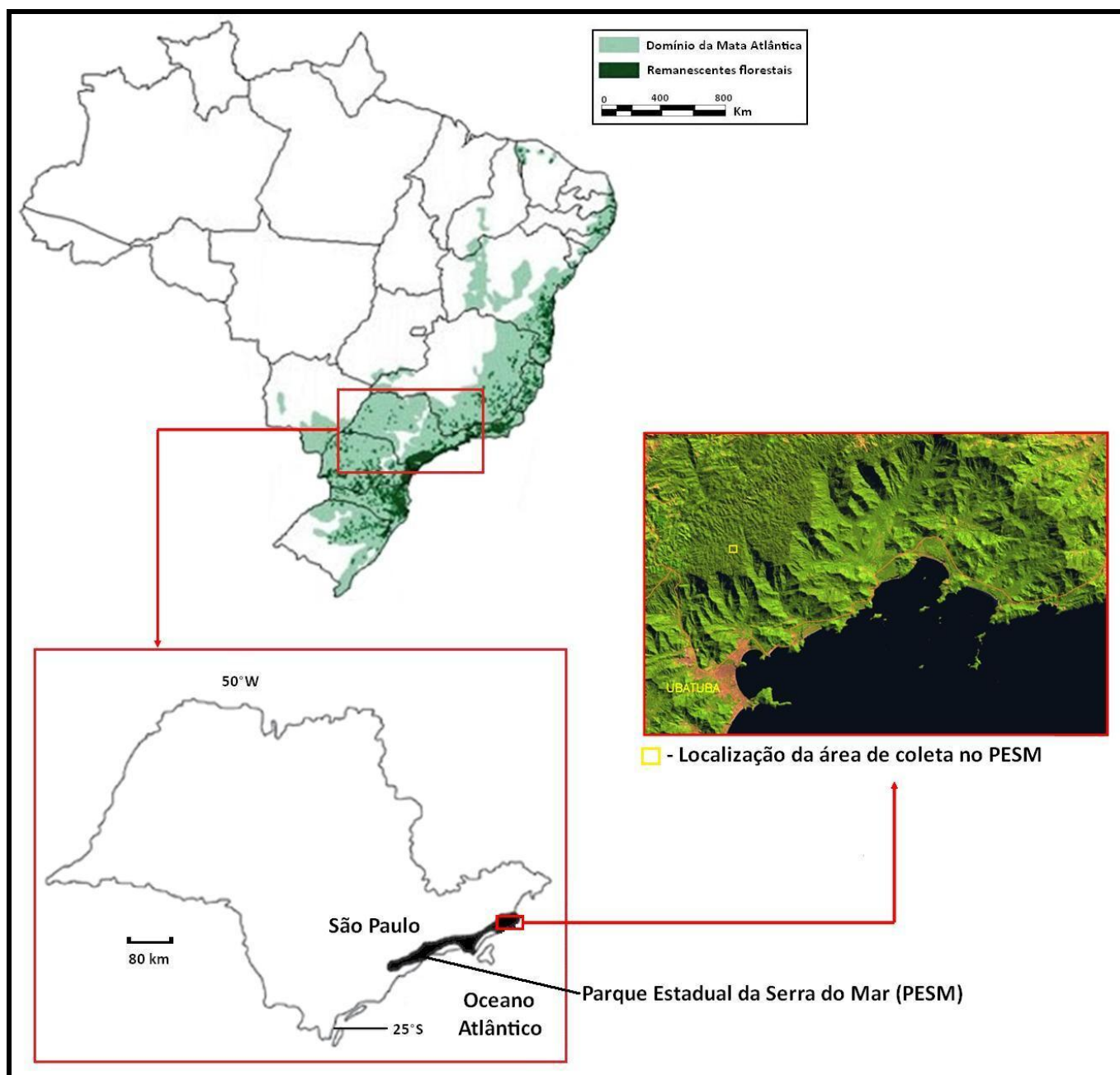


Figura 3. Contextualização geográfica e localização da área de estudo no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP.

Tabela 1. Lista das 41 espécies selecionadas em duas parcelas do Projeto Biota Gradiente Funcional, no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP. Siglas: cod – código da espécie, n – número de indivíduos, ER – estratégia de regeneração das espécies onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial e St = secundária tardia e IVI – Índice de Valor de Importância.

Família Espécie	cod	n	ER	IVI
Arecaceae <i>Euterpe edulis</i> Mart.	Eut	4	St	58,6
Myrtaceae <i>Calyptanthus lucida</i> Mart. ex DC.	Cal	3	St	9,8
Myrtaceae <i>Eugenia cuprea</i> (O. Berg) Niendenzii	Eug	3	St	9,3
Myrtaceae <i>Marlierea tomentosa</i> Cambess	Mart	2	St	7,2
Euphorbiaceae <i>Alchornea glandulosa</i> Poit. & Baill.	Alcg	6	Si	7,1
Monimiaceae <i>Mollinedia engleriana</i> (Spreng.) Perkins	Mole	4	St	7,0
Euphorbiaceae <i>Alchornea triplinervia</i> (Spreng.) Müll. Arg.	Alct	3	Si	5,5
Monimiaceae <i>Mollinedia schottiana</i> (Spreng.) Perkins	Mols	2	St	5,5
Meliaceae <i>Guarea macrophylla</i> Vahl.	Guar	2	Si	5,2
Myrtaceae <i>Marlierea silvatica</i> (Gardner) Kiaersk.	Mars	4	St	5,1
Bignoniaceae <i>Jacaranda montana</i> Morawetz	Jac	4	Si	5,0
Chrysobalanaceae <i>Couepia venosa</i> Prance	Cou	3	Si	4,9
Boraginaceae <i>Cordia sellowiana</i> Cham.	Cor	3	Si	4,5
Sapotaceae <i>Chrysophyllum viride</i> Mart. & Eichler ex Miq.	Chr	6	St	4,4
Leg - Faboideae <i>Inga lanceifolia</i> Benth.	Ingl	5	Si	4,2
Melastomataceae <i>Miconia cabussu</i> Hoehne	Mic	6	St	4,1
Meliaceae <i>Cabralea cangerana</i> (Vell) Mart.	Cab	5	St	4,1
Sapotaceae <i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk.	Pou	5	Si	4,1
Myrtaceae <i>Campomanesia guaviroba</i> (DC.) Kiaersk.	Cam	6	Si	4,0
Phyllanthaceae <i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão	Hie	7	Si	3,1
Rubiaceae <i>Bathysa australis</i> (A. St.-Hil.) Benth. & Hook. f.	Bat	5	Si	2,9
Araliaceae <i>Schefflera calva</i> (Cham.) Frodin & Fiaschi	Schc	1	Si	2,8
Chrysobalanaceae <i>Hirtella hebeclada</i> Moric. ex DC.	Hir	3	St	2,6
Nyctaginaceae <i>Guapira opposita</i> (Vell.) Reitz	Guap	6	Si	2,4
Winteraceae <i>Drimys brasiliensis</i> Miers	Dri	3	St	2,1
Leg - Faboideae <i>Inga sessilis</i> (Vell.) Mart.	Ings	5	Si	2,0
Primulaceae <i>Rapanea hermogenesii</i> Jung-Mend. & Bernacci	Rap	6	Si	1,8
Melastomataceae <i>Tibouchina pulchra</i> Cogn.	Tib	6	Si	1,7
Euphorbiaceae <i>Croton macrobothrys</i> Baill.	Cro	6	Si	1,6
Araliaceae <i>Schefflera angustissima</i> (Marchal) Frodin	Scha	2	Si	1,5
Lauraceae <i>Cryptocarya aschersoniana</i> Mez	Cryp	2	St	1,5
Urticaceae <i>Cecropia glaziovii</i> Snethl.	Cec	4	Pi	1,5
Elaeocarpaceae <i>Sloanea monosperma</i> Vell.	Slo	5	St	0,8
Leg - Faboideae <i>Senna macranthera</i> (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby	Senn	3	Si	0,7
Fabaceae <i>Dahlstedtia pinnata</i> (Benth.) Malme	Dah	6	St	0,7
Fabaceae <i>Pterocarpus rohrii</i> Vahl	Pte	2	St	0,5
Proteaceae <i>Roupala montana</i> var. <i>paraensis</i> (Huber) K.S. Edwards	Rou	5	St	0,4
Lauraceae <i>Ocotea catharinensis</i> Mez	Oco	2	St	0,4
Fabaceae <i>Tachigali friburgensis</i> (Harms) L.F. Gomes da Silva & H.C. Lima	Tac	2	St	0,3
Leg - Faboideae <i>Sclerolobium</i> sp.	Scle	2	St	0,3
Solanaceae <i>Solanum</i> sp. 1	Sol	2	Pi	0,3

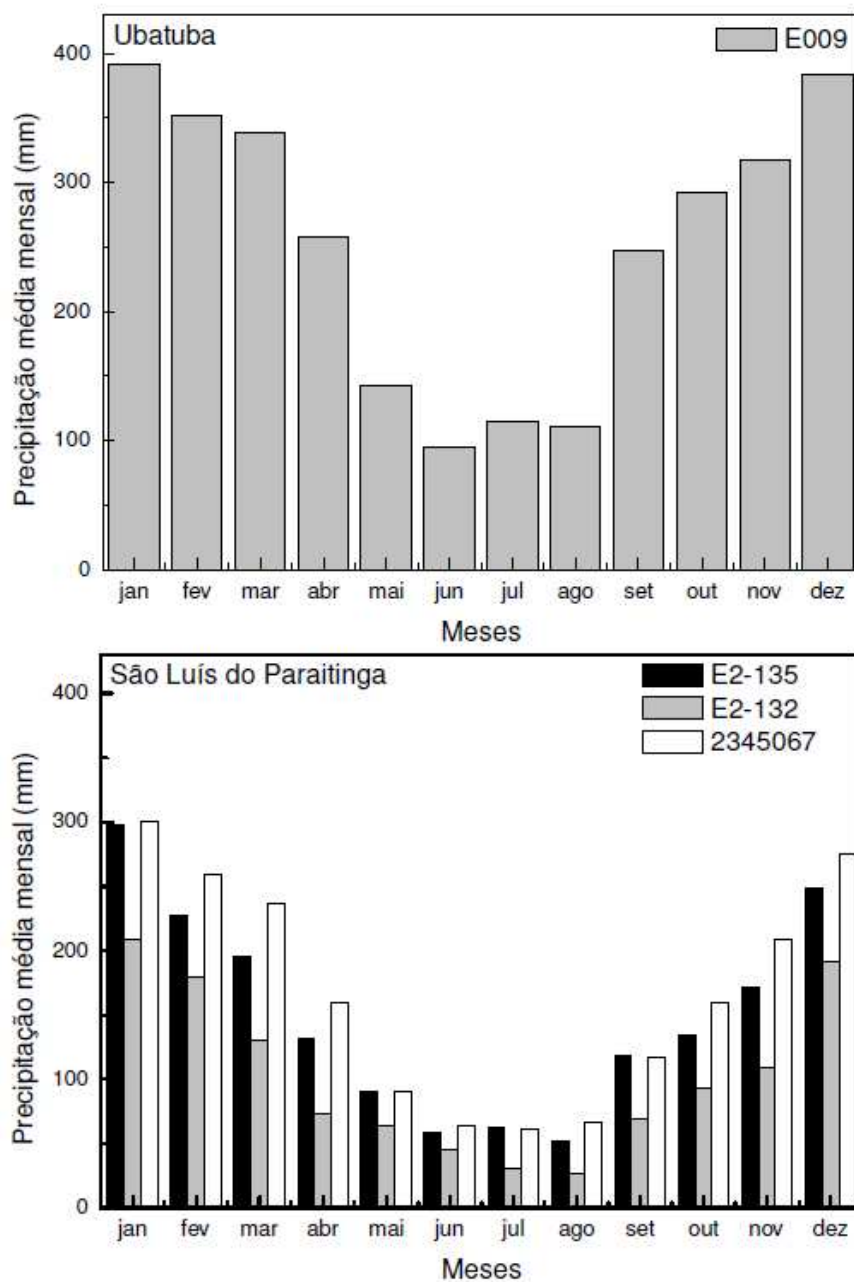


Figura 4. Precipitação média mensal para o período de 1973 a 2008 nos quatro diferentes postos de precipitação dos municípios de São Luís do Paraitinga e Ubatuba, SP (Martins 2010).

5.1.4. Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM)

A área de estudo de Floresta Subtropical Úmida Montana australiana localiza-se no Parque Nacional de Lamington, a sudeste do estado de Queensland (QLD) na Austrália, entre as coordenadas geográficas 28°13'S e 153°07'E, e altitude que vai de 300m a 1100m. A região é formada por rochas vulcânicas do Terciário, primariamente basálticas, ao norte do extinto vulcão Mt. Warning (Stevens 1977), e recebe uma pluviosidade média anual de 1660 mm (Clewett *et al.* 1994).

O Parque Nacional de Lamington juntamente com as reservas adjuntas, retêm um dos mais extensos remanescentes de floresta subtropical úmida do planeta (Laidlaw *et al.* 2000), e é o último representante de floresta subtropical úmida e de neblina da Austrália (Bryden 1977). O Parque foi um dos primeiros do país a ser criado para fins de conservação, devido fortemente aos esforços de Romeo Watkins Lahey, explorador de madeira naquela época nos arredores da região (Jarrot 1977). Desde então o motivo inicial de conservação da biodiversidade do Parque mudou diversas vezes até chegar ao ecoturismo, que é atualmente a principal atração do Parque (Laidlaw *et al.* 2000), chegando a liderar o ranking mundial dos destinos de ecoturismo por turistas, naturalistas e cientistas. O Parque Nacional de Lamington foi então incluído na lista dos Patrimônios Naturais da Humanidade por abrigar exemplares únicos de espécies chave na história evolutiva e pela alta biodiversidade, dentre outras características ((<http://whc.unesco.org/>).

O Projeto IBISCA-Queensland (Investigating the Biodiversity of Soil and Canopy Arthropods), programa internacional de pesquisa que visa de um modo geral estudar a distribuição temporal e espacial dos artrópodes de florestas no mundo e a interação destes com outros organismos, como as plantas, por exemplo, investigou a biodiversidade da vegetação da floresta subtropical úmida do Parque Nacional de Lamington ao longo do gradiente altitudinal, e para tanto, demarcou parcelas permanentes no ano de 1995, iniciando-se desde então um extenso esforço em pesquisas nessa área (IBISCA 2008, <http://www.ibisca.net/>). Um levantamento florístico das espécies arbóreas foi realizado, e o resultado disso, publicado por Laidlaw *et al.* (2000) foi utilizado como base para uma análise fitossociológica que determinou a importância das espécies na área (Tabela 2). As parcelas escolhidas para este trabalho foram: IQ – 900 – A, B, C, D, e IQ – 1100 – A (Figura 5).

Segundo Webb *et al.* (1984), a vegetação predominante na área é de “complex notophyll vine forest” (Floresta de Lianas Notófila Complexa) caracterizada pela presença de espécies como *Argyrodendron trifoliolatum*, *A. actinophyllum*, *Caldcluvia paniculosa* (McDonald & Whiteman 1979). Floristicamente, LAM está localizado numa região de transição entre clima sub-tropical úmido e clima temperado, que possibilita a ocorrência de espécies tropicais e temperadas nos diversos habitats dessa região (Graham *et al.* 1977).

McDonald & Thomas (1990) compilaram a flora de LAM em 1990, mas ainda hoje novas espécies vêm sendo descobertas (Laidlaw *et al.* 2000).

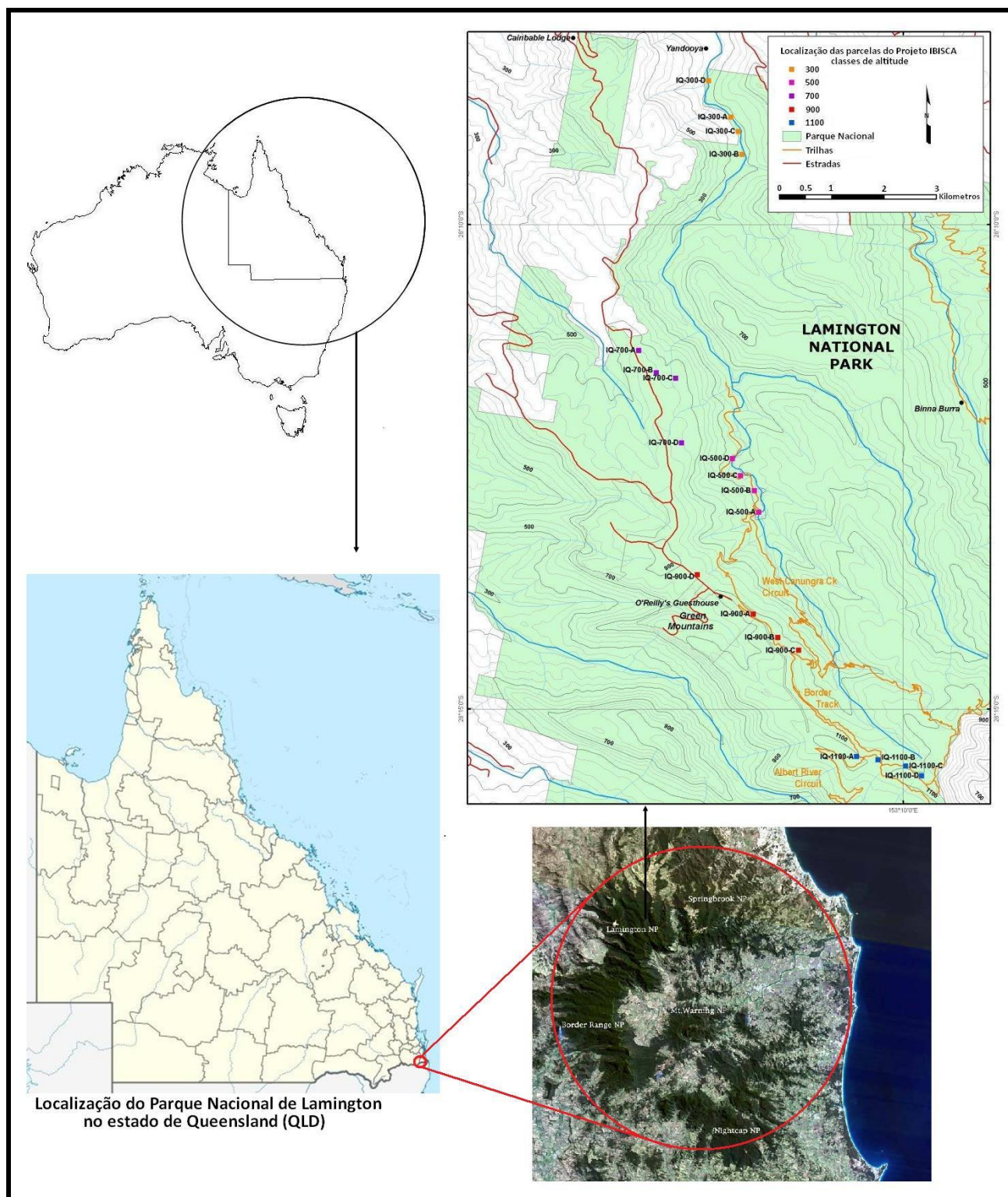


Figura 5. Contextualização geográfica e localização da área de estudo no Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, mapa de localização das parcelas selecionadas.

Tabela 2. Lista das 24 espécies selecionadas nas parcelas do Projeto IBISCA-Queensland, no Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália. Siglas: cod – código da espécie, n – número de indivíduos, ER – estratégia de regeneração das espécies onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial e St = secundária tardia e IVI – Índice de Valor de Importância. As espécies marcadas com o símbolo (*) encontravam-se fora das parcelas levantadas, portanto, não têm valor de IVI.

Família Espécie	cod	n	ER	IVI
Nothofagaceae <i>Nothofagus moorei</i> (F.Muell.) Krasser	Not	4	St	*
Leg - Mimosoideae <i>Acacia melanoxylon</i> R.Br.	Aca	4	Pi	*
Euphorbiaceae <i>Homalanthus populifolius</i> Graham	Hom	4	Pi	*
Araliaceae <i>Polyscias elegans</i> (C.Moore & F.Muell.) Harms	Pol	4	Pi	*
Solanaceae <i>Solanum aviculare</i> G. Forst.	Sol	4	Pi	*
Cannabaceae <i>Trema aspera</i> (Brongn.) Blume	Trem	4	Pi	*
Malvaceae <i>Argyrodendron actinophyllum</i> (C.Moore) Edlin	Arga	6	St	25,4
Myrtaceae <i>Syzygium crebrinerve</i> (C.T.White) L.A.S.Johnson	Syz	3	St	12,7
Rutaceae <i>Acradenia euodiiformis</i> (F.Muell.) T.G.Hartley	Acra	5	Si	12,0
Rubiaceae <i>Atractocarpus benthamianus</i> (F.Muell.) Puttock	Atra	4	Si	10,2
Meliaceae <i>Synoum glandulosum</i> (Sm.) A. Juss.	Syn	2	Si	9,4
Celastraceae <i>Elaeodendron australe</i> Vent.	Elae	6	Si	9,3
Malvaceae <i>Argyrodendron trifoliolatum</i> F.Muell.	Argt	3	St	9,2
Araucariaceae <i>Araucaria cunninghamii</i> Aiton ex D.Don	Ara	4	St	8,5
Cyatheaceae <i>Cyathea leichhardtiana</i> Copel.	Cya	4	Si	8,2
Monimiaceae <i>Wilkiea austroqueenslandica</i> Domin	Wil	6	St	6,0
Sapindaceae <i>Sarcopteryx stipitata</i> (F.Muell.) Radlk.	Sar	3	St	5,1
Sapindaceae <i>Elattostachys nervosa</i> (F.Muell.) Radlk.	Elat	4	St	3,7
Quintiniaceae <i>Quintinia verdonii</i> F.Muell.	Qui	4	Si	3,4
Euphorbiaceae <i>Baloghia inophylla</i> (G.Forst.) P.S.Green	Bal	5	St	2,4
Proteaceae <i>Orites excelsa</i> R.Br.	Ori	5	Si	2,3
Cunoniaceae <i>Caldcluvia paniculosa</i> (F.Muell.) Hoogland	Cal	4	St	2,2
Myrtaceae <i>Decaspermum humile</i> (Sweet ex G.Don) A.J.Scott	Dec	4	St	2,2
Lauraceae <i>Cryptocarya obovata</i> R.Br.	Cry	4	St	1,8

O cálculo do balanço hídrico normal para o período de 1975 a 2011 com dados das estações meteorológicas de Hinze Dam e Mt Tamborine Fern, próximas ao Parque Nacional de Lamington, indica que os meses mais secos são normalmente de junho a setembro, porém a precipitação média nunca chega a ser nula, e a maior concentração das chuvas ocorre entre os meses de novembro e março (Figura 6). As temperaturas médias variam entre 10°C e 25°C.

O Balanço hídrico para o Parque Nacional de Lamington no período estudado (Figura 7) referente ao ano de 2010 acompanha o padrão do Balanço hídrico normal, porém, com maiores temperaturas médias, e maiores valores de precipitação, que apresentou certa irregularidade quando comparada ao esperado pelo balanço hídrico normal da região, sendo consideravelmente alta nos meses de fev, out e dez.

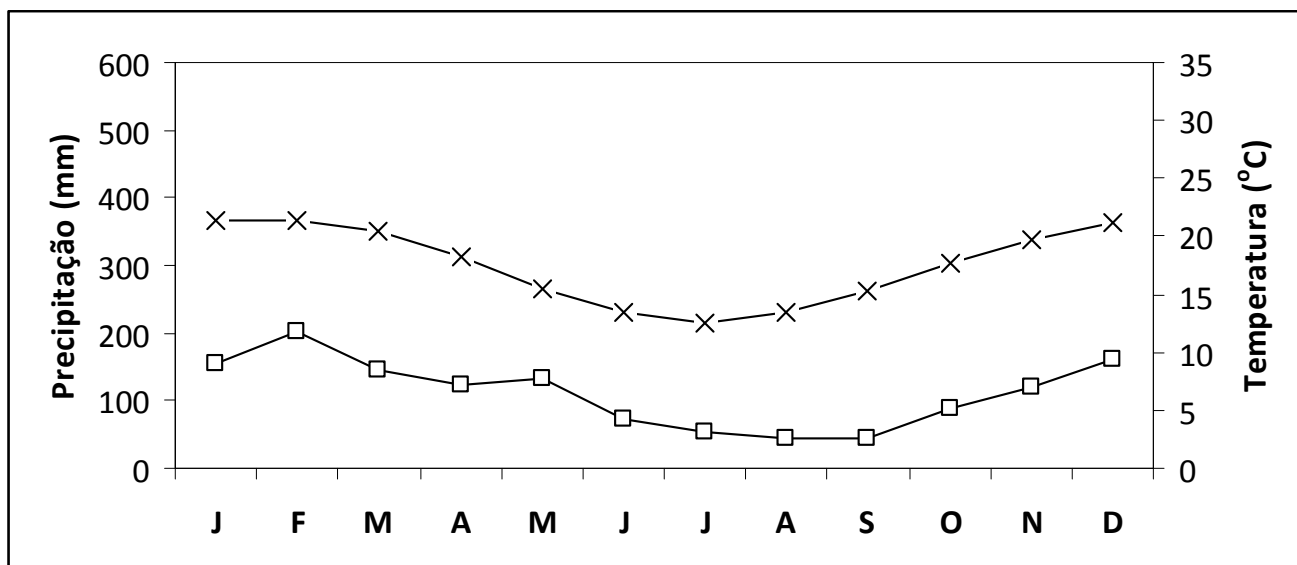


Figura 6. Balanço hídrico normal segundo Thornthwaite & Mather (1955) para o período de 1975 a 2011, calculado com uso de dados das estações meteorológicas Hinze Dam (40584 - 28.05°S 153.29°L, 111 m) e MT Tamborine Fern (040197 - 27.97 °S 153.20 °L, 515m). Onde: (—□—) precipitação e (—x—) temperatura atmosférica. Fonte: www.bom.gov.au/climate/data (Australian Government - Bureau of Meteorology).

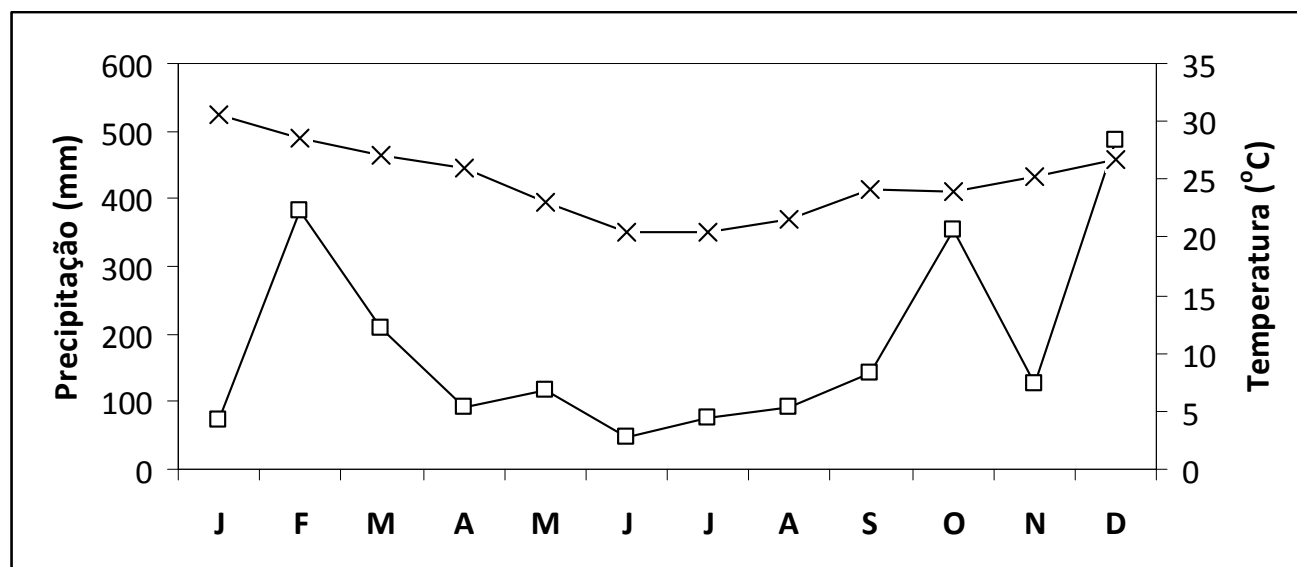


Figura 7. Balanço hídrico para o ano de 2010 no Parque Nacional de Lamington, QLD – Austrália, calculado com uso de dados das estações meteorológicas O'Reillys Alert (40931 - 28.23°S 153.14°L, 913 m) e Hinze Dam (40584 - 28.05°S 153.29°L, 111 m). Onde: (—□—) precipitação e (—x—) temperatura atmosférica. Fonte: www.bom.gov.au/climate/data (Australian Government - Bureau of Meteorology).

5.1.5. Cerrado *sensu stricto* do Parque Estadual de Vassununga, Gleba Pé-de-gigante (PDG)

A área de estudo de Cerrado está localizada na Gléba Pé-de-gigante, que é uma das seis Glébas disjuntas que constituem o Parque Estadual de Vassununga, criado em 26/10/1970 pelo Decreto Federal 52.546 e administrado pelo Instituto Florestal, Secretaria de Estado do Meio Ambiente (SMA), São Paulo. Um histórico bem detalhado da ocupação da área pode ser encontrado nos trabalhos de Shida (2000), Shida (2005) e Pires Neto *et al.* (2005).

O Cerrado PDG está localizado à margem da Rodovia Anhanguera (SP 330, entre os Km 255 – 258), no município de Santa Rita do Passa Quatro, São Paulo, entre as coordenadas 21° 36 – 38'S e 47° 36 – 39'W (Figura 8). O nome Pé-de-gigante se deve a um rebaixamento no interior da Unidade de Conservação com o aspecto de uma pegada gigante, causado provavelmente por erosão das cabeceiras do córrego Paulicéia (Bittencourt & Pivello 1998). A gléba possui 1225 ha. e suas cotas altimétricas variam entre 590 – 740 m em solos do tipo Latossolo Vermelho Escuro, Latossolo Vermelho Amarelo e Areias Quartzosas (Pivello *et al.* 1998, Fidelis & Godoy 2003). Predominam na região rochas sedimentares mesozóicas, com origem no Terciário, provenientes de depósitos aluvionares e constituídas principalmente por areias finas (arenitos fluviais) (Pivello *et al.* 1999), pertencentes às formações Botucatu e Pirambóia (Bertoni 1984). Na superfície, aparece a Formação Serra Geral, com origem no período Jura-Cretáceo, assentada também sobre a Formação Pirambóia, e formada por derrames basálticos e intrusivos básicos tabulares associados, representados por “sills” e diques de diabásio (Almeida *et al.* 1981, Massoli 1981).

A precipitação média anual normal é de 1478 mm e as temperaturas médias mensais variam entre 17,6 °C no mês mais frio (julho) e 23,5 °C no mês mais quente (fevereiro) (Pires Neto *et al.* 2005). O clima da região enquadra-se na categoria Cwa segundo a classificação de Köppen (1948), ou seja, temperado, macrotérmico, moderadamente chuvoso e com inverno seco não rigoroso. A estrutura, a composição e a diversidade de espécies que compõem o Cerrado *sensu lato* da área de estudo, bem como as relações entre solo-planta e o histórico do uso da terra já foram amplamente estudados por vários autores (Batalha 1997, Batalha & Mantovani 1999, 2000 e 2001, Shida 2000, Batalha *et al.* 2001, Weiser & Godoy 2001, Ruggiero *et al.* 2002, Fidelis & Godoy 2003, Colli *et al.* 2004, Bittencourt & Mendonça 2004) sendo definido que o Cerrado *sensu stricto* (cerca de 80 % da área, Figura 3) e latossolo vermelho-amarelo arenoso predominam na área.

O Cerrado PDG é o que possui maior área contínua entre os poucos remanescentes com mais que 1000 ha. desse Bioma no estado de São Paulo, além disso, conserva uma rica biota de mais de 500 espécies de plantas vasculares e uma fauna com muitos animais em extinção. Informações detalhadas sobre o meio físico, seres vivos e interferências do homem sobre esse Cerrado e sua região até o ano de 2004 estão reunidos na obra

organizada por Pivello & Varanda (2005), o livro “Cerrado Pé-de-gigante: Ecologia Conservação”, gerado pela reunião dos resultados de pesquisas de mais de 30 autores ao longo de oito anos de trabalho na área.

O levantamento fitossociológico realizado na área (Latansio-Aidar *et al.* 2011) foi utilizado como referência para a escolha das 27 espécies estudadas no presente estudo, que estão listadas na Tabela 3. A caracterização detalhada do local, incluindo topografia, coordenadas geográficas, estudo hídrico e de nutrientes do solo, bem como outros aspectos, estão reunidos no último relatório do Projeto Biota “Interação biosfera-atmosfera Fase 2: cerrados e mudanças no uso da terra” (Rocha 2009).

O cálculo do balanço hídrico normal (Thorntwaite & Mather 1955) para o período 1941 a 1970 com dados fornecidos pela estação meteorológica do DAEE/SP (Departamento de Águas e Energia Elétrica) em Santa Rita do Passa Quatro indica déficit hídrico no solo entre abril e setembro (Figura 9) com a maior concentração das chuvas entre os meses de novembro e fevereiro, assim como as maiores temperaturas. Os meses de menor temperatura são junho e julho (17°C).

O Balanço hídrico para a região de Santa Rita do Passa Quatro no período estudado (Figura 10) referente ao ano de 2008 acompanha o padrão do Balanço hídrico normal, porém, com amplitude de temperaturas médias levemente maiores, maiores valores de precipitação em alguns dos meses mais chuvosos (janeiro, março e outubro) e menor precipitação nos meses mais secos (Junho a agosto). O déficit hídrico foi muito baixo devido à baixa evapotranspiração.

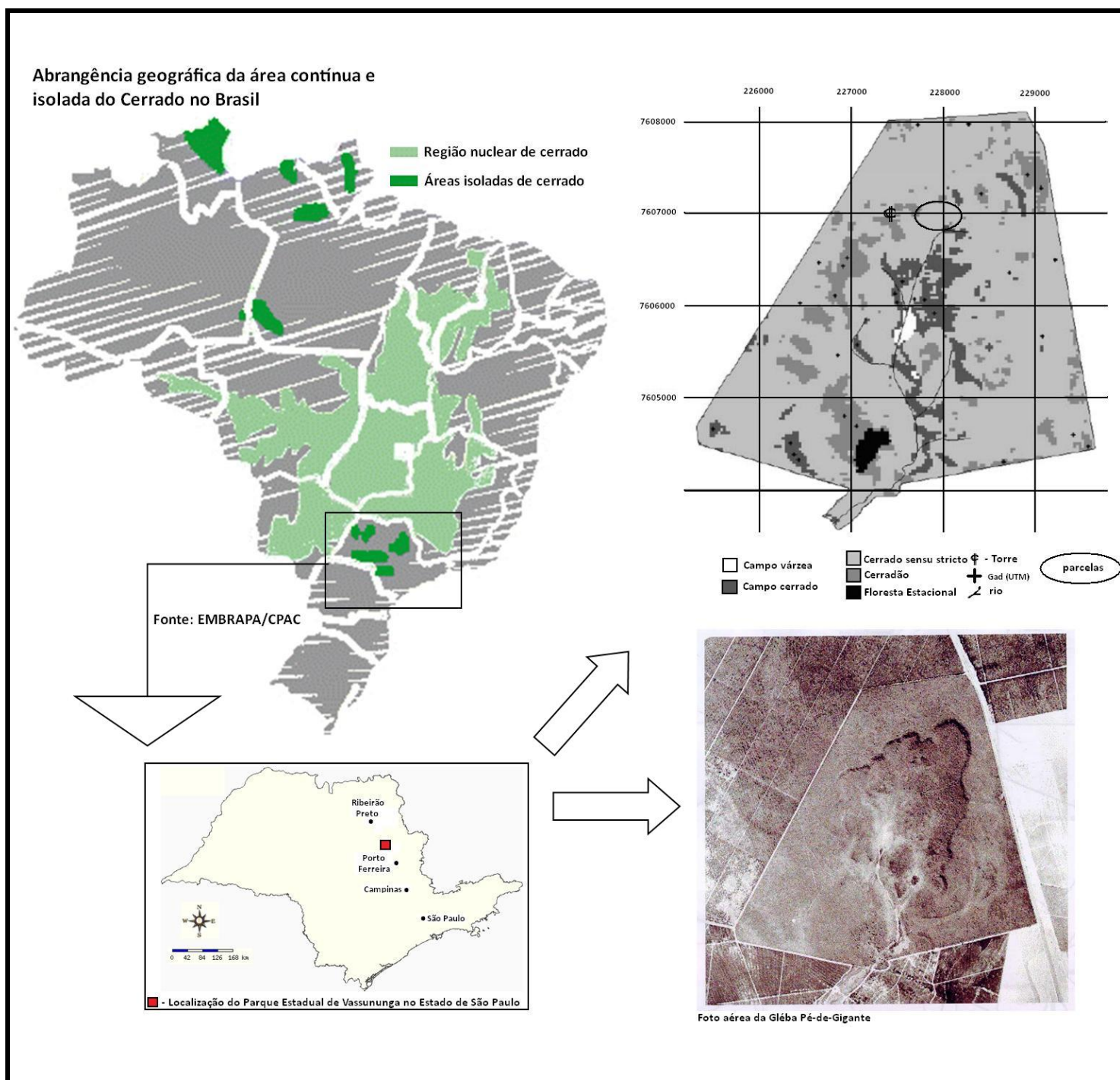


Figura 8. Contextualização geográfica do cerrado no Brasil, localização do Parque Estadual de Vassununga no estado de São Paulo e da Gleba Pé-de-gigante (PDG – foto aérea e distribuição das fitofisionomias de cerrado), em Santa Rita do Passa Quatro – SP, com a localização da parcela selecionada.

Tabela 3. Lista das 27 espécies selecionadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP. Siglas: cod – código da espécie, n – número de indivíduos, hábito – hábito fenológico da espécie, onde D = decídua, S = semi-decídua e P = perenifólia e IVI – Índice de Valor de Importância.

Família Espécie	cod	n	hábito	IVI
Myrtaceae <i>Myrcia lingua</i> (O.Berb) Mattos	Myrl	5	P	39,9
Annonaceae <i>Xylopia aromatica</i> (Lam.) Mart.	Xyl	6	S	24,1
Leg - Mimosoideae <i>Anadenanthera falcata</i> (Benth.) Speg.	Ana	2	D	22,2
Leg - Caesalpinoideae <i>Diptychandra aurantiaca</i> (Mart.) Tul.	Dip	4	D	20,5
Apocynaceae <i>Aspidosperma tomentosum</i> Mart.	Asp	5	S	15,6
Araliaceae <i>Schefflera vinosa</i> (Cham. & Schltdl.) Frodin	Sch	5	P	10,3
Leg - Faboideae <i>Platypodium elegans</i> Vogel	Plat	3	S	10,3
Annonaceae <i>Annona coriacea</i> Mart.	Ann	4	D	9,9
Leg - Caesalpinoideae <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Cop	6	D	9,6
Moraceae <i>Ficus guaratinica</i> Schodat	Fic	5	P	7,4
Vochysiaceae <i>Qualea parviflora</i> Mart.	Qua	5	D	6,6
Leg - Faboideae <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	Dal	5	P	5,0
Myrtaceae <i>Myrcia bella</i> Cambess.	Myrb	5	P	4,7
Leg - Faboideae <i>Andira laurifolia</i> Benth.	And	6	D	4,2
Myrtaceae <i>Eugenia hyemalis</i> Cambess.	Eug	6	D	3,9
Leg - Cercideae <i>Bauhinia rufa</i> (Bong.) Steud.	Bau	4	S	3,8
Malpighiaceae <i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth	Byr	5	D	3,6
Vochysiaceae <i>Plathymenia reticulata</i> Benth.	Plathy	5	D	3,5
Leg - Caesalpinoideae <i>Machaerium acutifolium</i> Vog.	Mac	4	S	3,4
Leg - Caesalpinoideae <i>Hymenaea martiana</i> Hayne	Hymm	6	D	2,4
Leg - Mimosoideae <i>Dimorphandra mollis</i> Benth.	Dim	6	D	2,4
Proteaceae <i>Roupala montana</i> Aubl.	Rou	2	D	2,2
Rubiaceae <i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schltdl) K.Schum	Toc	3	D	2,2
Myrtaceae <i>Campomanesia pubescens</i> (DC.) Berg.	Cam	1	D	1,7
Myristicaceae <i>Virola sebifera</i> Aubl.	Vir	6	S	1,4
Lauraceae <i>Ocotea corymbosa</i> (Meisn.) Mez	Oco	2	S	1,0
Leg - Caesalpinoideae <i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	Hyms	3	S	0,6

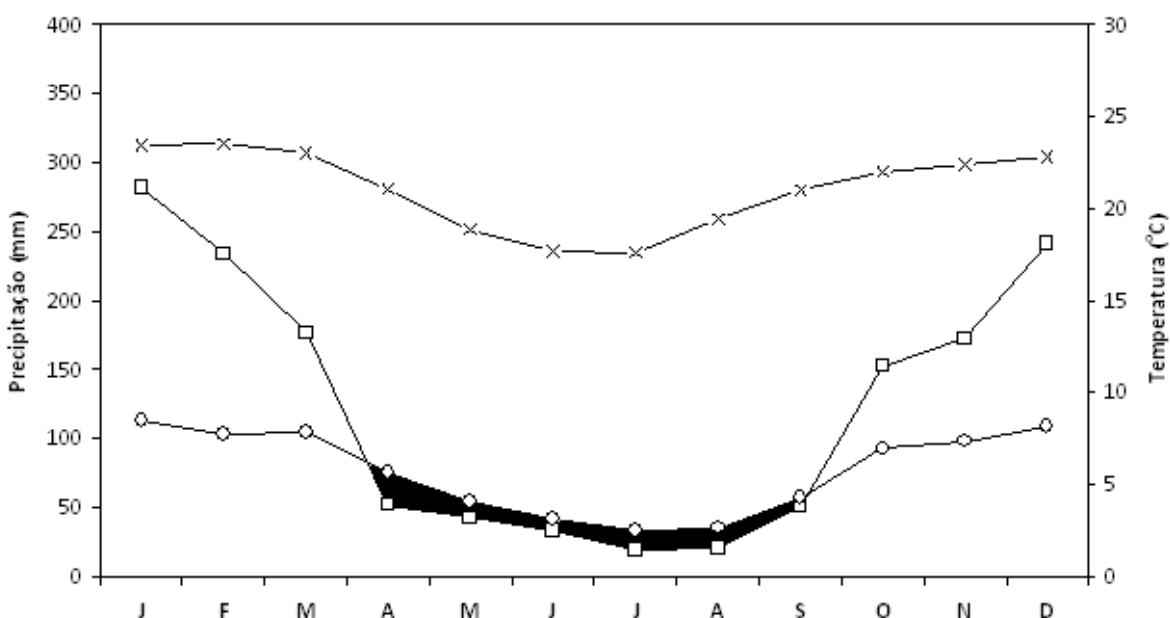


Figura 9 – Balanço hídrico normal segundo Thornthwaite & Mather (1955), calculado com uso de dados da estação meteorológica do DAEE/SP C4-107, para o período de 1941 a 1970 em Santa Rita do Passa Quatro/SP. Onde: (□) precipitação, (x) temperatura atmosférica, (o) evapotranspiração real e (■) déficit hídrico.

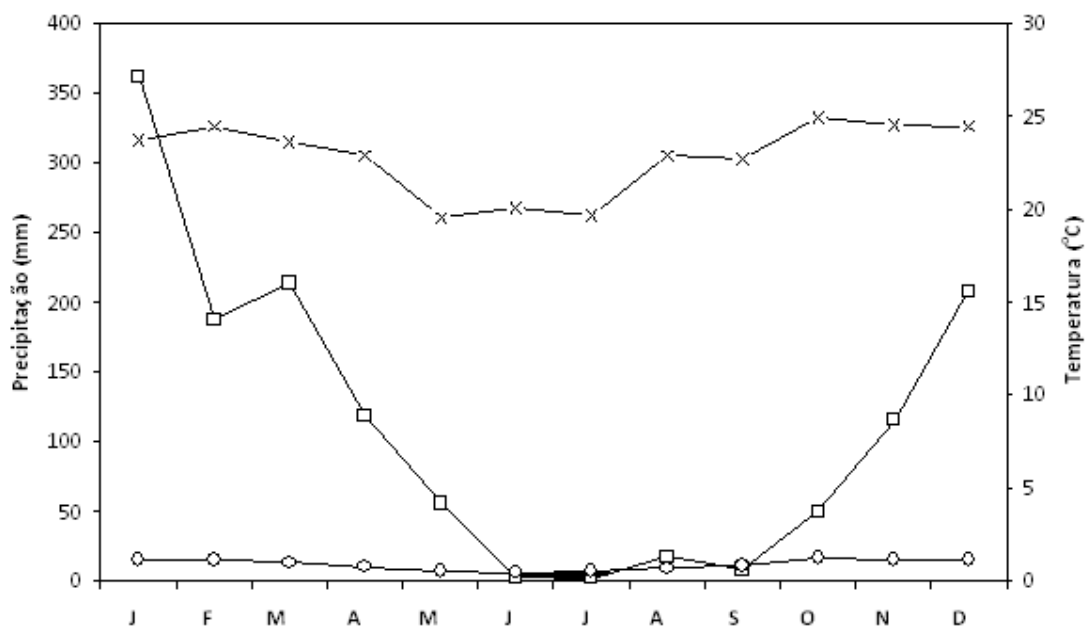


Figura 10 – Balanço hídrico para o ano de 2008 no município de Santa Rita do Passa Quatro, SP (Dados obtidos em CIIAGRO <http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>). Onde: (□) precipitação, (x) temperatura atmosférica, (o) evapotranspiração real e (■) déficit hídrico.

5.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)

Para mensuração da ANR potencial *in vivo*, foram amostradas folhas totalmente expandidas de dois a três ramos da copa expostos ao sol dos indivíduos selecionados (no período da manhã), resfriadas em campo para posterior análise no laboratório de campo (no período da tarde do mesmo dia). Os ensaios de ANR basearam-se no método descrito por Stewart *et al.* (1986), no qual porções medianas de folhas limpas e secas são picotadas com uso de tesoura comum, transferidas para tubos de ensaio com solução de incubação contendo tampão fosfato (K_2HPO_4 0,1 M), 100 mM KNO_3 e 1-propanol 1% (v/v), que fornece o substrato da enzima nitrato redutase (NR), o NO_3^- . Os tubos são mantidos em vácuo e escuro por uma hora, retira-se uma alíquota, e segue-se então a reação em novo tubo de ensaio nessa ordem: 1mL de solução de incubação (alíquota), 1mL de ácido sulfanílico 1% em HCl 1N, 1mL de NEDD 0,05% (N-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride). Nessa reação, a enzima NR, que é induzível pelo substrato, utiliza-se do NO_3^- disponível produzindo nitrito (NO_2^-), que reage com o ácido sulfanílico formando um composto que é corado de rosa quando se liga ao NEDD, e essa coloração é medida em espectrofotômetro, dando a atividade potencial da enzima, quando existente na folha, expressa em pkat por grama de massa fresca da folha (MF).

5.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)

Parte das folhas coletadas e utilizadas na mensuração da ANR foram picotadas (0,5 g) e imersas em metanol 100% (5 mL) para extração do NO_3^- . Foram mantidas em temperatura ambiente por 24 h, e então congeladas em freezer a $-80^\circ C$ para posterior detecção do NO_3^- de acordo com o método de Cataldo *et al.* (1975), que utiliza-se do princípio da nitração pelo ácido salicílico e dosagem por espectrofotometria.

Neste método, alíquotas de 0,2 mL do extrato são colocadas em tubo de ensaio, adiciona-se 0,8 mL de solução de ácido salicílico e ácido sulfúrico concentrado, após 20 minutos acrescenta-se 19,0 mL de hidróxido de sódio 2 N, aguarda-se o resfriamento da reação e o aparecimento de cor, e então faz-se a leitura em espectrofotômetro na absorvância de 410nm. Os valores obtidos dessa leitura são convertidos em concentração de NO_3^- por grama de massa fresca foliar (MF) utilizando curva de calibração preparada simultaneamente à análise.

5.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (NO_3^- seiva)

Para a coleta de seiva do xilema, realizada sempre pela manhã, fez-se uso de bomba de vácuo manual (esquematizada na Figura 4) seguindo método descrito por Pate *et al.* (1994), em ramos das plantas coletadas. O fluído recolhido em campo foi mantido imediatamente em bolsa térmica contendo gelo em gel, para então ser congelado em freezer a -80°C para posterior análise.

O conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema das amostras previamente congeladas foi analisado segundo método descrito por Miranda *et al.* (2001), onde tipicamente duplicatas de uma solução padrão contendo NO_3^- (100 μL , concentrações de 200 a 1.6 nM) foram dispostas em microplaca de poliestireno com 96 células (Corning® 96 Well White Flat Bottom Polystyrene Not Treated Microplate). A mesma água destilada utilizada na diluição foi usada como branco. Depois de preencher a placa com as amostras (100 μL em cada célula), adicionou-se Cloreto de Vanádio III (VCl_3 – 100 μL , 400mg em 50mL de HCl 1M) em cada célula da placa, seguido da adição dos reagentes Sulfanilamida (SULF – 50 μL 2% m/v, dissolvido em HCl 5%) e NEDD (50 μL 0,1% m/v, dissolvido em água), conhecidos como reagentes de Griess, que foram preparados imediatamente antes a aplicação dos mesmos na reação e filtrados para remoção de material particulado (filtro de seringa Nylon-66). Uma vez que a redução do NO_3^- a NO_2^- ocorre em meio ácido, a solução de detecção deve estar presente durante a redução ou o sinal poderá ser perdido devido à difusão de óxidos de N na solução. Os valores do branco foram obtidos substituindo-se o meio de diluição por reagentes de Griess na detecção de NO_3^- . O NO_2^- foi medido de forma semelhante exceto pelo fato de que as amostras e os padrões de NO_2^- só foram expostos a reagente de Griess. Em qualquer caso, a leitura foi feita em absorbância a 540 nm, usando um leitor de microplacas após incubação pelo tempo de 30–45min.

Para determinar a concentração de NO_2^- das amostras foram utilizadas curvas de regressão linear dos valores médios da absorbância a 540 nm para cada concentração da solução padrão subtraindo-se os valores do branco. Esses valores foram então subtraídos da absorbância medida dando a concentração de NO_3^- de cada amostra. Calculou-se então, a porcentagem de átomos de N sob a forma de NO_3^- das amostras de seiva em relação à concentração total de N (soma dos compostos encontrados), sendo então expressa em %N- NO_3^- .

5.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema

A composição e a concentração dos aa livres encontrados nos extratos de seiva do xilema previamente congelados foi analisada em Acquity UPLC (Cromatografia Líquida de Ultra Performance, Waters, USA) equipado com coluna BEH C_{18} 1.7 μm 2.1x 100 mm (nº 186002352) e um detector de tunelamento UV (TUV) a

254nm, e o kit de derivatização da AcqutagTM, seguindo o protocolo do fabricante. O transporte de N na forma de aa na seiva do xilema foi estimado através da concentração do aa, levando em conta seu conteúdo de átomos de N na composição da molécula e o total de N da amostra, os valores foram expressos em porcentagem.

5.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN)

Para determinação das porcentagens de N e C total nas folhas, bem como a razão CN e a abundância natural do isótopo estável ($\delta^{15}\text{N}$), as amostras foliares foram secas em estufa a 60° C até obterem valor de massa estável, trituradas em moinho de bola até formar um fino pó e então mensuradas por fluxo contínuo em Analisador elementar (Carlo Erba® EA 1110 CHNS, CE Instruments) ligado em rede com um espectrômetro de massas para razões isotópicas (Delta Plus®, ThermoQuest-Finnigan) como descrito por Stewart *et al.* (1995).

5.7. Área foliar específica (AFE)

Área foliar específica (AFE = AF / MS) é um parâmetro que expressa razão entre área foliar (AF) e massa seca foliar (MS) de uma planta, onde AF é mensurada na folha fresca e MS na folha seca (Witkowski & Lamont 1991). Assim, as folhas coletadas foram digitalizadas com uso de scanner, e com suas imagens calculou-se AF (cm²) com uso do programa Image J (software para processamento e análise de imagens, desenvolvido por Wayne Rasband no National Institute of Mental Health, <http://www.superdownloads.com.br/download/174/imagej/>). Estas mesmas folhas foram então secas em estufa a 60°C para obtenção da MS (em gramas), obtida com uso de balança analítica. Para essas medidas, utilizou-se um mínimo de quatro folhas para cada indivíduo amostrado.

5.8. Densidade da madeira (DM)

Para as medidas de DM, foram coletados 2 a 3 partes da madeira de diferentes ramos de cada indivíduo. Do ramo terminal desses galhos foram retiradas as cascas e com a parte restante (o xilema propriamente dito) calculou-se o volume da madeira segundo o princípio de Arquimedes, que afirma que “todo corpo submerso em um fluido experimenta um empuxo vertical e para cima igual ao peso de fluido deslocado”.

Assim, o pedaço da madeira cortado, após imersão em água por meia hora para completo preenchimento

dos espaços entre os vasos, foi espetado com agulha e submerso em recipiente contendo água sem que tocasse as laterais e o fundo do recipiente, o valor marcado na balança, referente à água deslocada, foi considerado igual ao volume do corpo submerso, no caso, a madeira. Considerando que a densidade da água é igual a 1000 kg/m^3 , os valores em gramas mensurados na balança foram convertidos para cm^3 . Em seguida, as amostras foram secas em estufa a 60°C por sete dias para a obtenção da massa seca. A partir destes dados, foi calculada a DM pela divisão da massa seca pelo volume (obtida em g.cm^{-3}) de acordo com método descrito em Hacke *et al.* (2001) e Ilic *et al.* (2000).

5.9. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)

A ocorrência de simbiose radicular foi avaliada em amostras de solo como descrito a seguir: nódulos radiculares foram contabilizados através de observação, e a ocorrência de micorriza arbuscular foi avaliada segundo metodologia descrita em Aidar *et al.* (2004) em raízes com diâmetro maior que 2 mm, onde as raízes são clarificadas em KOH 10% e HCl 1%, coloridas com 0.05% “trypan blue” e a frequência de colonização contabilizada pela contagem de interseções em lâmina com grade de 1cm. Foram coletadas 28 amostras em SV, 20 em LAM e 16 no PDG.

5.10. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo

Foram estimadas as disponibilidades de NO_3^- e NH_4^+ no solo durante os períodos de coleta através do uso de sacos de resina de troca iônica mista (Dowex MR-3, Sigma), que enterrados nos primeiros cinco centímetros abaixo da superfície do solo, foram mantidos por um período de no mínimo 5 dias para então serem retirados e mantidos em geladeira, de acordo com metodologia descrita por Stewart *et al.* (1993) e Aidar *et al.* (2003). Em laboratório, as resinas foram então diluídas em KCl 2M. O conteúdo de NO_3^- em solução foi determinado segundo método de Cataldo *et al.* (1975) e Miranda *et al.* (2001), e a determinação do conteúdo de NH_4^+ seguiu método colorimétrico como descrito por McCullough (1967).

5.11. Tratamento estatístico

O critério de escolha das análises estatísticas foi adotado de acordo com o trabalho de Paciencia (2001). O tratamento estatístico iniciou-se com uma primeira análise multivariada aplicada ao valor médio de cada uma das variáveis obtidas através de Análise das Coordenadas Principais (PCoA), utilizando-se do programa MVSP versão 3.11b (Kovach Computing Services 1999). Essa análise teve caráter exploratório e permitiu relacionar indiretamente dados ambientais e biológicos a fim de se definir grupos ecológicos semelhantes, que podem vir a explicar padrões de distribuição das espécies nas diferentes áreas, de modo a expressar a complexidade das relações existentes entre o conjunto de variáveis e reduzir a dimensionalidade dos dados, com combinações lineares das variáveis originais em um novo conjunto de menor número de variáveis. O índice utilizado foi o de similaridade de Bray-Curtis (Krebs 1999). Para essa análise, foram utilizadas as seguintes variáveis: ANR, razão CN, %N, $\delta^{15}\text{N}$, %N- NO_3^- , %N-Arg, %N-Asp, %N-Asn, %N-Gln, %N-Glu, NO_3^- folha.

Seguiu-se da análise de variância de dois fatores comparada de modo direto (Two-Way ANOVA, Sokal & Rohlf 1995), utilizada a fim de testar de maneira interativa a influência dos fatores “estação do ano” (inverno e verão) e “classe sucessional” das espécies (St, Si e Pi para as florestas, e D, S e P para o cerrado) sobre os seguintes parâmetros avaliados: ANR, razão CN, %N, $\delta^{15}\text{N}$, NO_3^- folha, AFE, DM, com uso do programa Statistica 6.0 (Statsoft Incorporation 2001). Para os testes *a posteriori* foi utilizado HSD de Tukey com 5% de significância e/ou o teste de Duncan.

Considerando que a análise de variância testa diferenças entre as médias, e caso positivo, infere-se que estes ambientes são distintos quanto à variável avaliada, têm-se como pressuposto a homocedasticidade (i.e. homogeneidade de variâncias) entre os dados, que significa que a variação ao acaso dentro de cada parâmetro deve ser a mesma. Assim, antes da aplicação do teste verificou-se se esse pressuposto não era ferido, e para tanto, utilizou-se do teste de homocedasticidade de Levene (Zar 1999).

Posteriormente, para localização específica das diferenças existentes, fez-se uso do programa MVSP versão 3.11b (Kovach Computing Services 1999) para testar comparações planejadas (técnica de contrastes múltiplos, Sokal & Rohlf 1995). No caso, testou-se a interação entre os fatores “estações do ano”, “classe sucessional” e o parâmetro ecofisiológico específico.

Foi realizado o teste *t* pareado (para amostras dependentes) com o objetivo de verificar as possíveis diferenças entre as estações do ano para cada área estudada individualmente, quanto aos valores médios de colonização radicular total (CRT) e de disponibilidade de NH_4^+ e NO_3^- *in situ* no solo, com uso de software WINSTAT (R. Fitch Software, Cambridge, MA, EUA).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia (SV)

6.1.1. Análise de ordenação – SV

Dentre as 14 variáveis avaliadas, descritas no item “4.1.2. Estratégia de coleta e desenho experimental” do Material e Métodos, 11 foram selecionadas de acordo com sua importância no metabolismo do uso de N, para ordenar as espécies dentro das suas diferentes estratégias de regeneração, através de uma análise de componentes principais (“Principal Component Analysis” – PCA), que teve sua matriz de correlação computada a partir dos valores transformados em $\log_{10}$, para cada estação do ano.

A análise dos resultados obtidos no verão em SV (Figura 11) teve 37,91% da variância explicada, e mostrou uma tendência à separação entre as classes de espécies definidas de acordo com a estratégia de regeneração, mais claramente entre as espécies Pi e St, com relação ao primeiro eixo da PCA. Enquanto que as espécies secundárias iniciais (Si) apresentaram um comportamento mais heterogêneo quanto ao uso de N, com espécies se aproximando das Pi (principalmente quanto a ANR e % NNO_3 em relação ao eixo 1 e ANR e NO_3 folha em relação ao eixo 2), e outras mais próximas das St (dado à variáveis %NArg em relação ao eixo 1 e %N e %NGln em relação ao eixo 2).

De modo geral, as variáveis que melhor descrevem as espécies Pi no verão são ANR, % NNO_3 e NO_3 folha. Por outro lado, para as espécies St, as variáveis razão CN, %NArg, %N e %NGln são as mais importantes. Para as espécies Si, muitos fatores se mostraram importantes ($\delta^{15}\text{N}$, % NNO_3 , ANR, NO_3 folha, %NGln, %N e %NArg), caracterizando a heterogeneidade já comentada anteriormente.

A análise de ordenação para o inverno (Figura 12), que tem 39,71% da variância explicada, confirma a mesma tendência verificada no verão, com separação mais definida entre as espécies Pi e St com relação ao primeiro eixo da PCA, e as espécies Si apresentando comportamento mais heterogêneo entre elas. As variáveis que melhor descrevem as Pi são ANR, % NNO_3 e $\delta^{15}\text{N}$ com relação ao eixo 1, e as que melhor descrevem as St são razão CN e %N com relação ao eixo 1, e %NASn, %NGlu, %NArg e %NASp com relação ao eixo 2.

Como variáveis mais importantes na determinação da posição das espécies Si na PCA, se destacam o $\delta^{15}\text{N}$ e % NNO_3 com relação ao eixo 1, %N, %NGlu e %NArg com relação ao eixo 2.

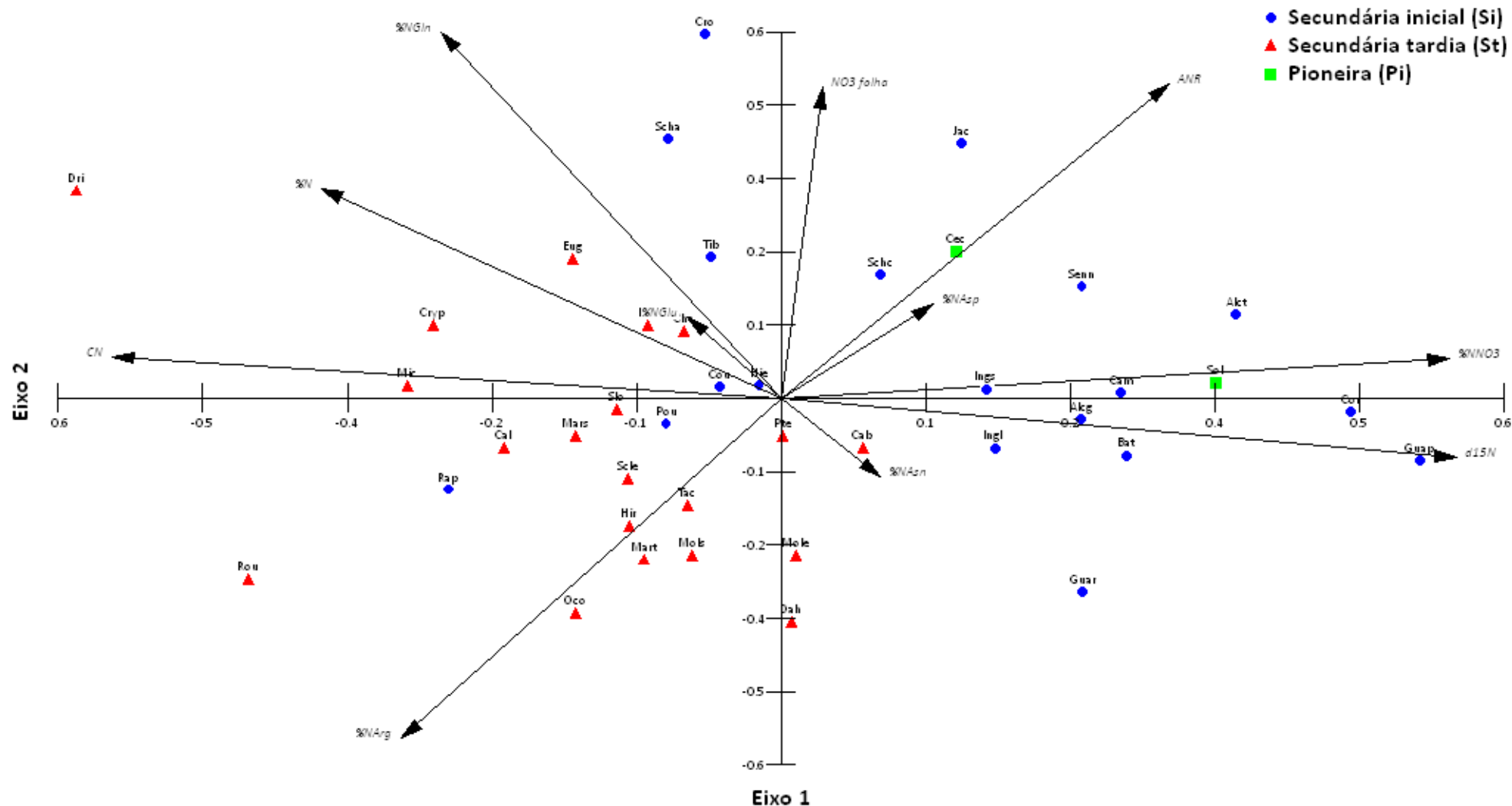


Figura 11. Ordenação (PCA) das 41 espécies estudadas em SV, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 1.

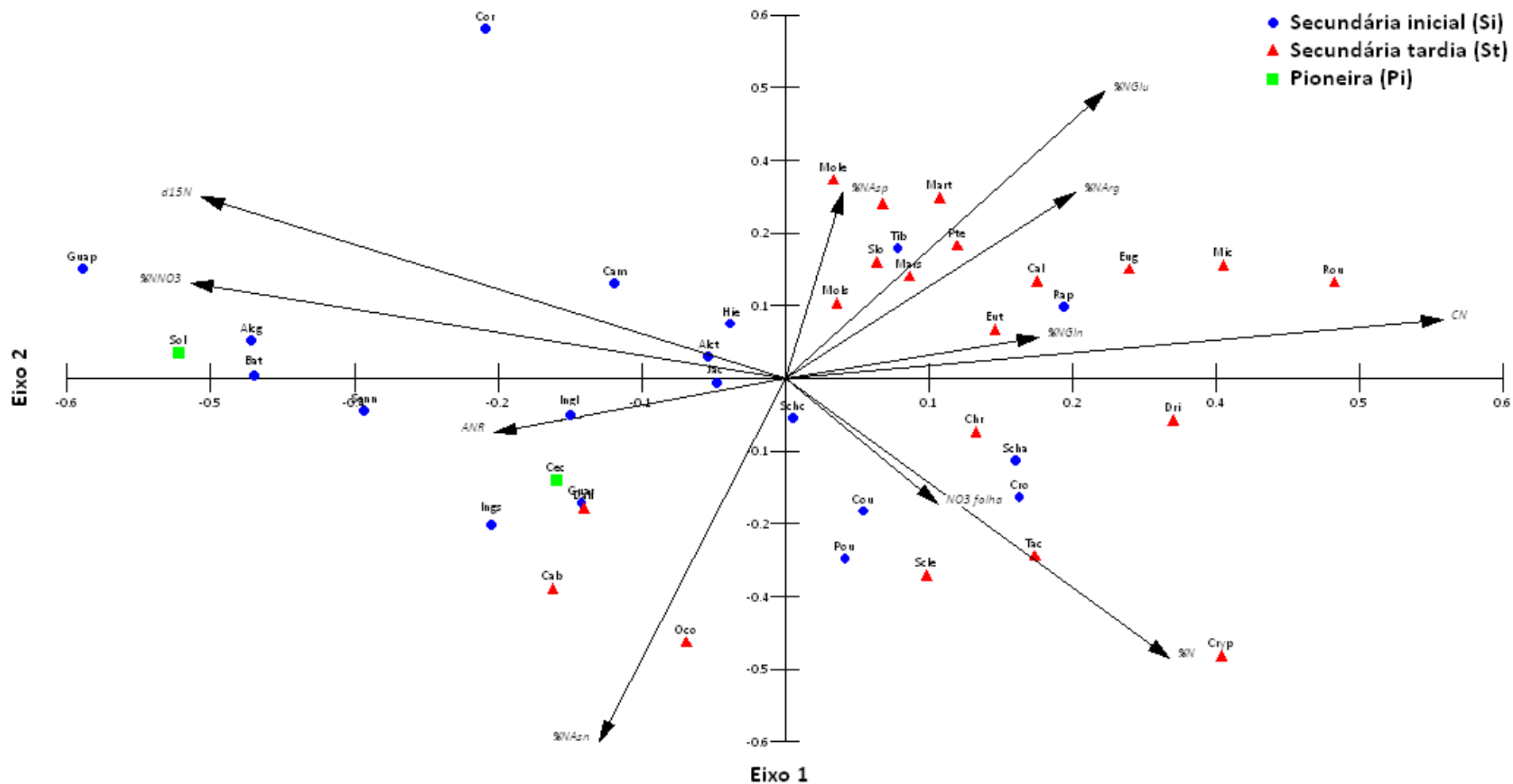


Figura 12. Ordenação (PCA) das 41 espécies estudadas em SV, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}N$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 1.

6.1.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)

A análise dos dados médios de ANR para SV (Figura 13), realizada através de ANOVA de dois fatores, apontou inicialmente diferenças significativas entre as classes sucessionais ($p = 0,024$), entre as estações do ano ($p = 0,019$) e também na interação entre ambos ($F_{2,157} = 6,879$; $p = 0,01$). Desse modo, as diferenças entre as classes sucessionais são dependentes das diferentes estações do ano, e, nesse caso, essas diferenças se pronunciam devido à maior ANR observada nas Pi durante o verão, como confirmado por teste de Tukey a *posteriori*.

Porém, apesar das demais classes não apresentarem diferenças significativas pelo teste de Tukey, os valores médios analisados para cada classe separadamente, nas duas estações do ano, sugerem uma tendência geral de maior atividade no inverno nas Si (verão = $92,35 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$; inverno = $95,48 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$) e St (verão = $58,81 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$; inverno = $110,46 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$). As espécies Pi, por sua vez, caracterizaram-se pelo comportamento oposto, com ANR quase cinco vezes maior no verão que no inverno (verão = $343,59 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$; inverno = $71,29 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$). Para mais detalhes, ver valores numéricos por espécie na Tabela A1 (ANEXO 1).

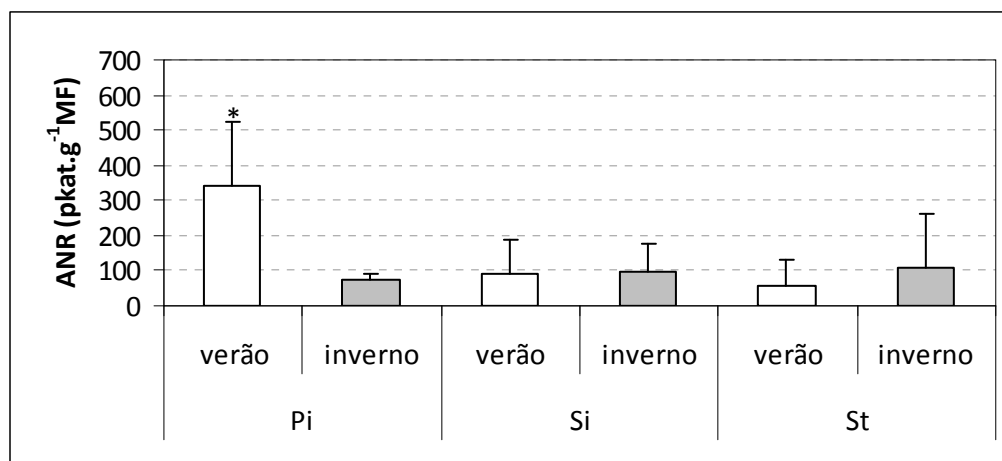


Figura 13. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – $\text{pkat.g}^{-1} \text{ MF}$) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)

A análise dos dados médios de concentração de NO_3^- na folha para SV (Figura 14), realizada através de ANOVA de dois fatores, não evidenciou diferenças significativas entre as classes sucessionais, estações do ano, ou na interação entre estes fatores. Para mais detalhes, ver valores numéricos por espécie na Tabela A1 (ANEXO 1).

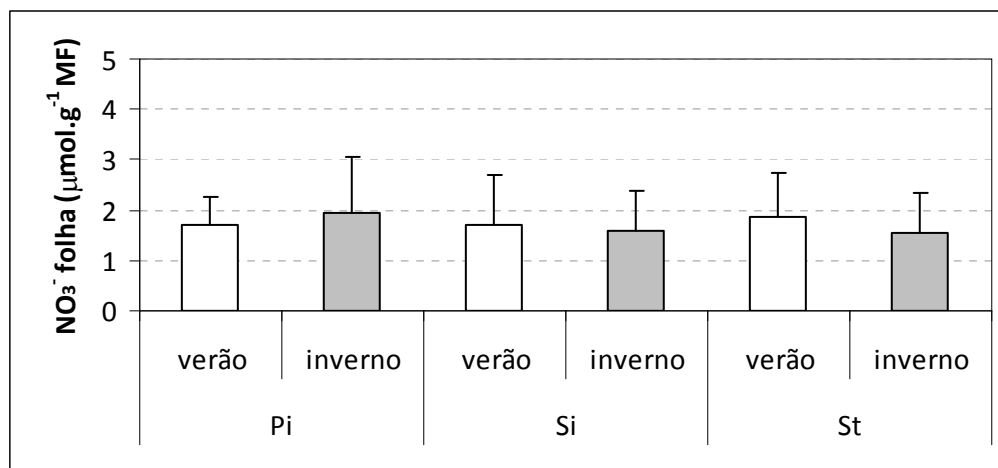


Figura 14. Concentração de NO_3^- foliar (NO_3^- folha – $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (%N- NO_3^-)

A análise de variância das porcentagens médias de conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (Figura 15) das plantas estudadas em SV mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,157} = 8,179$; $p < 0,001$). O teste de Tukey a *posteriori* identificou a separação entre as classes Pi e St, por possuírem os maiores e os menores conteúdos de N- NO_3^- na seiva do xilema, respectivamente. Nas espécies Si, esse conteúdo não foi significativamente diferente das demais classes. Também não foram encontradas diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores considerados com relação à %N- NO_3^- na seiva do xilema.

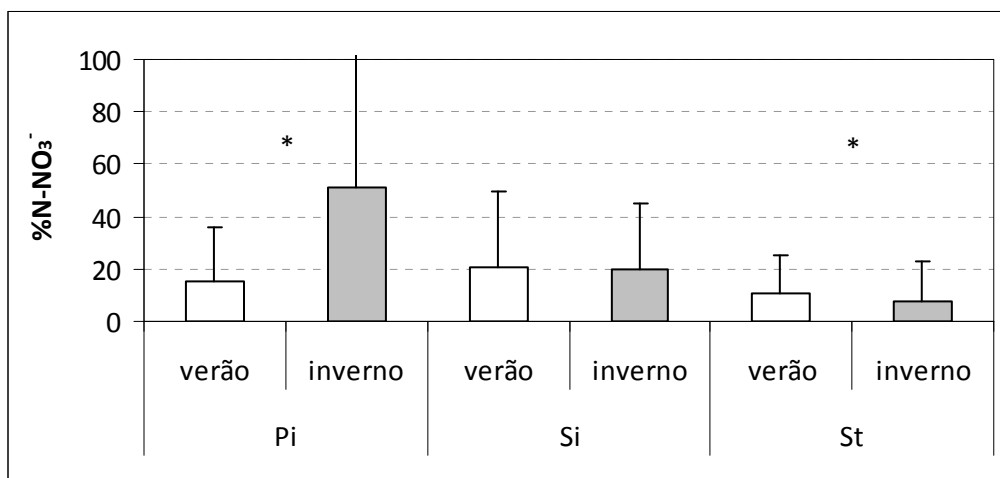


Figura 15. Conteúdo de N sob a forma de NO₃⁻ na seiva do xilema (N-NO₃⁻ – %) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema

As análises de variância das porcentagens médias da composição de aminoácidos na seiva do xilema (Figura 16) das plantas estudadas em SV mostraram que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais com relação à N-Arg ($p < 0,001$), N-Gln ($F_{2,157} = 4,258$; $p = 0,016$) e N-Glu ($F_{2,157} = 4,662$; $p = 0,011$). Porém, quando se procedeu com a análise de variância sobre Ranques, essa diferença existiu apenas com relação à N-Arg, evidenciando pelos maiores valores desse aminoácido nas espécies tardias na sucessão (St), valores médios nas espécies Si e menores nas Pi. A % de N sob a forma de NO₃⁻ foi representada novamente na Figura 16 a título de comparação com os demais compostos da seiva, estando este detalhado especificamente no item anterior.

Apesar do teste estatístico *a posteriori* recusar a diferenças inicialmente encontradas para N-Gln entre as classes sucessionais, as médias indicam uma tendência de ser maior nas Si (média 22,93%), que nas demais classes, St (12,09%) e Pi (6,54%). Bem como se observa uma tendência ao transporte de N-Asn pelas Pi.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores considerados com relação à composição de aminoácidos e NO₃⁻ na seiva do xilema.

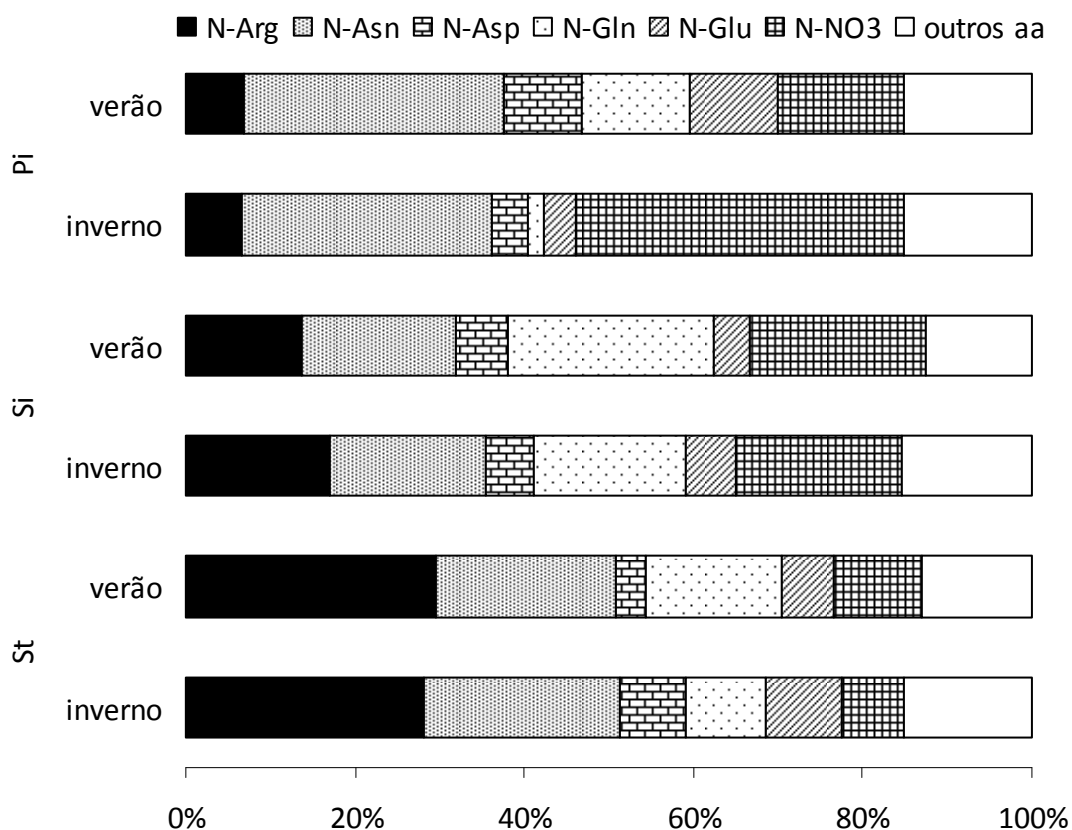


Figura 16. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO_3^- = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.

6.1.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN)

A análise de variância da razão CN (Figura 17) das plantas estudadas em SV mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,157} = 11,290$; $p < 0,001$). O teste de Tukey *a posteriori* identificou a separação entre as classes Pi e St, por possuírem os menores (média 14,44) e os maiores (média 22,18) valores de razão CN na folha, respectivamente. Nas espécies Si (média 17,21), esse conteúdo não foi significativamente diferente das demais classes, mas há uma significância marginal que diferencia Si de St segundo a análise de variância ($p = 0,05$). Não houve diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores.

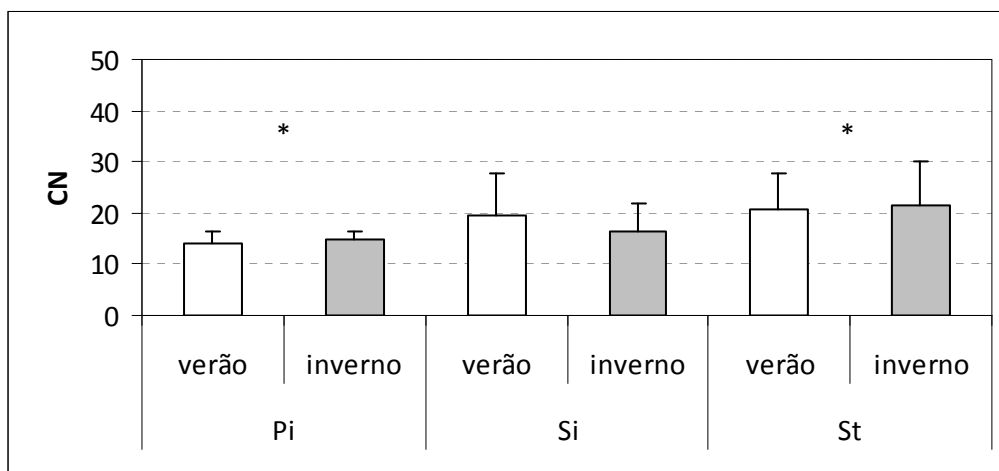


Figura 17. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.7. Isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N}$)

A análise de variância do isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$, Figura 18) nas plantas estudadas em SV mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,157} = 6,574$; $p = 0,002$). O teste de Tukey *a posteriori* identificou a diferença entre as classes Pi e Si, com valores médios de $1,88\text{‰}$ e $3,25\text{‰}$ respectivamente. Porém, considerando que havia apenas 2 espécies Pi na área SV e 48 espécies Si, essa diferença pode ter ocorrido devido a grande diferença no tamanho da amostra. Nas espécies St (média $1,75\text{‰}$), o valor obtido não foi significativamente diferente das demais classes. Não houve diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores.

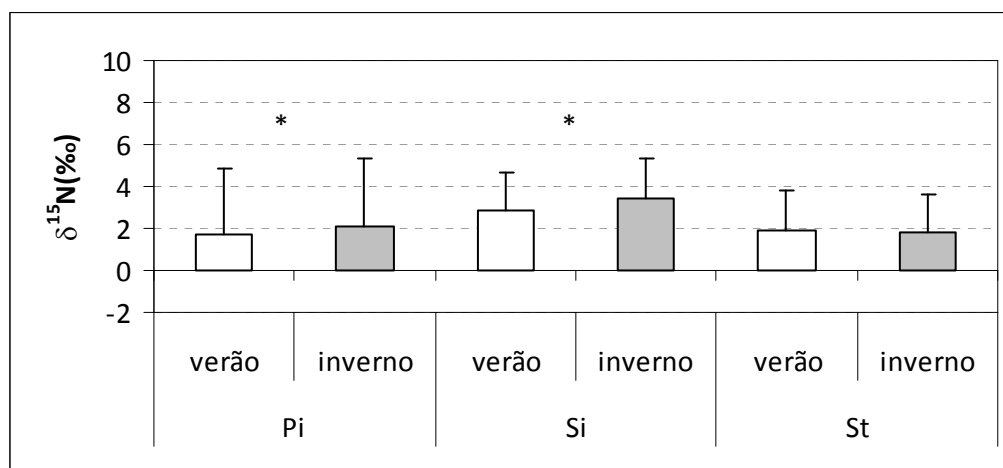


Figura 18. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N}$ – ‰) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.8. Área foliar específica (AFE)

A análise de variância da AFE (Figura 19) das plantas estudadas em SV não evidenciou diferenças significativas entre as classes sucessionais, estações do ano, ou na interação entre estes fatores.

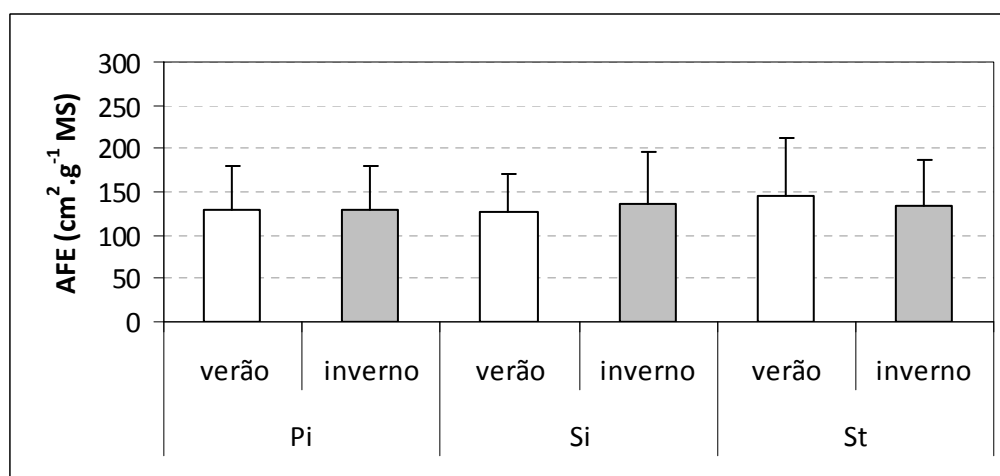


Figura 19. Área foliar específica (AFE – $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1} \text{MS}$) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.9. Densidade da madeira (DM)

A análise de variância da DM (Figura 20) nas classes sucessionais das plantas estudadas em SV mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,157} = 16,623$; $p < 0,001$). O teste de Tukey *a posteriori* identificou a separação de Pi e as demais classes, por possuir menores valores médios de DM ($0,23 \text{ g.cm}^{-3}$) em relação a Si ($0,50 \text{ g.cm}^{-3}$) e St ($0,55 \text{ g.cm}^{-3}$). Não houve diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores.

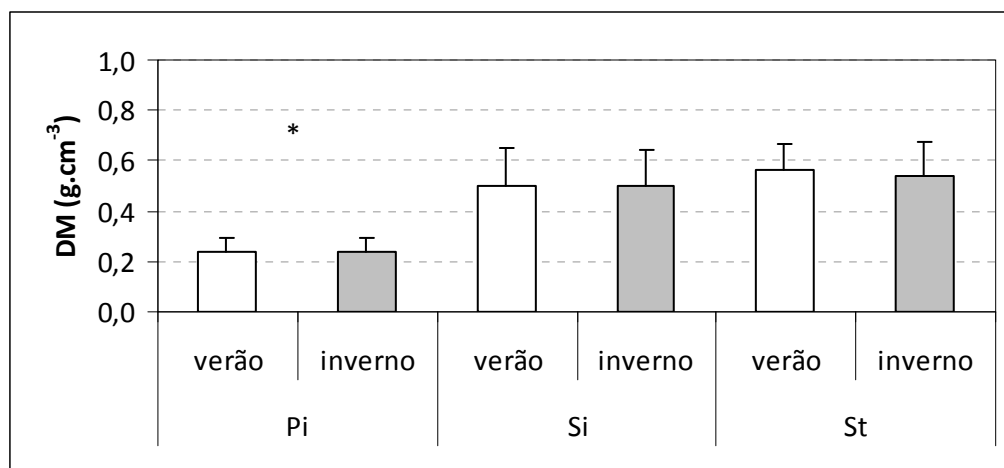


Figura 20. Densidade da madeira (DM – g.cm^{-3}) nas classes sucessionais das 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.1.10. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)

A avaliação das 28 amostras de raízes no solo das duas áreas de coleta em SV nas duas estações do ano (Tabela 4) mostrou que a porcentagem média de colonização radicular total (CRT) foi maior no inverno, bem como a colonização por micorriza arbuscular (CA). Foi observada a ocorrência de simbiose radicular em quatro subamostras de solo retiradas de SV no inverno. Estes nódulos não foram avaliados quanto à possível atividade, mas o corte permitiu observar que estavam vivos.

Tabela 4. Colonização radicular total (CRT – %) e colonização radicular por micorriza arbuscular (CA – %) médias, das amostras de raiz em solo retirado da Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.

	verão	inverno
CRT	29,97 (14,68)	60,76 (16,68)
CA	22,65 (12,16)	39,78 (17,09)

6.1.11. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo

As medidas de disponibilidade de NO_3^- e amônio NH_4^+ no solo de SV (Figura 21), estimadas através do uso de resinas de troca iônica, mostraram grande variabilidade entre os pontos de coleta para ambos os íons mensurados. A presença de NO_3^- foi verificada em todos os pontos de coleta, com um local apresentando até $30 \mu\text{g.g}^{-1}$ de NO_3^- na resina, e dois locais chegando a quase zero. A média geral de NO_3^- foi de $7,47 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o verão e $8,06 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o inverno, mostrando uma tendência a maior quantidade de NO_3^- no inverno.

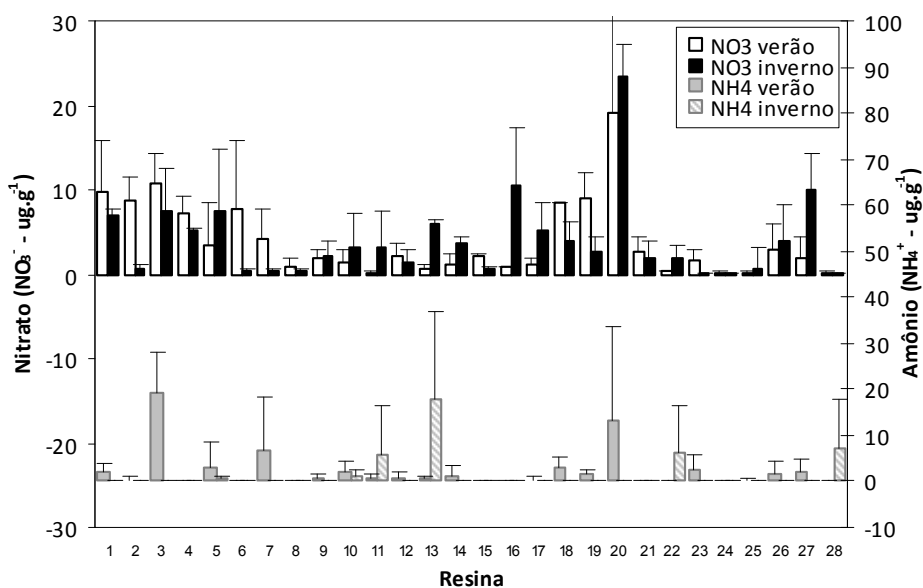


Figura 21. Disponibilidade de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no solo da Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). As barras representam o desvio padrão.

Quanto ao NH_4^+ , o valor zero caracterizou nove resinas no verão e 23 no inverno, mostrando uma tendência a maiores quantidades de NH_4^+ no solo no verão. A média geral de NH_4^+ foi de $4,17 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o verão e $2,63 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o inverno. Apenas 2 pontos de coleta alcançaram valores maiores que $30 \mu\text{g.g}^{-1}$.

6.1.12. Discussão SV – O Modelo do uso de N na Floresta Ombrófila Densa Montana

As análises de ordenação aplicadas às espécies arbóreas selecionadas para o estudo na área de Floresta Ombrófila Densa Montana SV, nas duas estações do ano (verão e inverno), apontaram a existência de diferentes estratégias utilizadas pelas plantas na aquisição, assimilação, transporte e armazenamento do N disponível no ambiente, sustentando assim a hipótese da estruturação dessas espécies com diferentes estratégias de utilização de N em três categorias de sucessão ecológica: Pi, Si e St.

Com base no grau de influência das variáveis sobre a componente, foi possível observar nas espécies Pi estudadas a importância da ANR potencial, bem como do conteúdo de NO_3^- sendo transportado na seiva do xilema. Essa alta atividade de nitrato redutase já foi observada em diversos estudos para espécies pioneiras e/ou colonizadoras de clareiras (Stewart *et al.* 1988, 1990, 1992, Aidar *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012). Por ser uma enzima induzível pelo substrato, a maior ANR encontrada nas espécies Pi pode sugerir maior disponibilidade desse íon no solo sob essas plantas (Stewart *et al.* 1988). Desse modo, os resultados aqui encontrados sugerem que nos estágios iniciais da sucessão florestal os íons NO_3^- são as formas de N disponível para as plantas, o que está de acordo com o encontrado para plantas de florestas Australianas, por Stewart *et al.* (1988, 1990), e por Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008) e Campos (2009) em florestas brasileiras.

No outro extremo, observou-se que as espécies tardias St, que representam o grupo oposto da sucessão ecológica, quanto à estratégia de uso de N investiram mais na aquisição e assimilação de outras formas de N que não NO_3^- , possivelmente NH_4^+ , e transportam preferencialmente arginina (Arg) na seiva do xilema, tanto no verão quanto no inverno. Do mesmo modo, esse resultado parece concordar com o encontrado para espécies de clímax ou tardias na sucessão florestal por Stewart *et al.* (1988, 1990) em plantas Australianas e com o encontrado em estudos com plantas de floresta no Brasil, por Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012), Marchiori (2012). O custo da assimilação do NH_4^+ é menor que a do NO_3^- em relação à água e energia gastas no processo (Raven 1985), sendo assim, o custo efetivo da assimilação do íon NO_3^- é maior em relação ao íon NH_4^+ , e pode sugerir que a planta utiliza-se de uma estratégia ecológica mais conservativa e econômica que a das plantas que usam o NO_3^- como principal fonte de N.

Quanto às espécies secundárias iniciais Si, estas se caracterizaram por possuir um comportamento heterogêneo, oscilando entre os dois extremos de estratégias ecológicas utilizados pelas demais espécies no uso de N. Essas diferentes estratégias no uso de N observadas nas espécies das diferentes classes sucessionais já eram previstas de ser encontradas nesse estudo, e confirmaram o modelo sugerido por Aïdar *et al.* (2003) que propôs a existência de um contínuo de estratégias de uso de N entre as plantas de uma Floresta Ombrófila Densa Submontana ao sul do estado de São Paulo. Esse modelo já havia sido confirmado por Pereira-Silva (2008) em duas outras florestas no interior do estado, uma Ombrófila Densa Submontana e a outra Estacional Semidecidual, e também por Campos (2009) e Silva (2012) em duas Florestas Ombrófilas Densas de Terras Baixas ao norte e ao centro do litoral do estado de São Paulo respectivamente. Desse modo, o presente estudo amplia a abrangência desse modelo de uso de N, incluindo as plantas dessa Floresta Ombrófila Densa Montana do norte do estado de São Paulo.

A existência de um contínuo entre plantas de floresta já havia sido demonstrada por Stewart *et al.* (1990) em relação à atividade da enzima nitrato redutase, em estudo com oito comunidades de floresta na Austrália, que relacionaram esse gradiente à AFE das plantas, de modo que essa variável aumentou paralelamente ao aumento da ANR nas folhas, bem como o conteúdo de água, a quantidade de N total e o conteúdo de clorofila. Os autores assumiram então que nestas plantas, o potencial fotossintético das folhas tem relação direta com a AFE, conteúdo de N total e ANR. E desse modo, concluíram que a nutrição e desempenho das plantas de estágios iniciais da sucessão florestal são marcadamente afetados pelo status de nutrientes do solo do ecossistema. Não houve no presente estudo relação direta entre ANR e AFE, pois esta última não se mostrou diferente estatisticamente entre as classes sucessionais.

De modo geral, a maioria das plantas apresentou valores de ANR de baixa a média, considerando o valor de 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ MF como sendo atividade média de assimilação de NO_3^- foliar, como proposto por Stewart *et al.* (1992). Esses valores são similares ao encontrado por Pereira-Silva (2008), para plantas de Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Ombrófila Densa Submontana no estado de São Paulo, que obteve resultados onde a maioria das espécies apresentou baixa ANR, sendo sugerido por este autor isso estar relacionado com as características oligotróficas do solo, como a escassez de NO_3^- , elevada acidez, pouca reatividade na matéria orgânica e baixas atividades orgânicas e biológicas, que indisponibilizam os nutrientes.

No caso específico do presente estudo, observou-se também uma baixa concentração desses íons no solo, como demonstrado pelos resultados de resina de troca iônica. Além disso, estudos realizados em gradiente altitudinal da floresta Atlântica, incluindo a área específica deste estudo, mostraram grande acúmulo de matéria orgânica na superfície do solo apesar da menor produção de serapilheira, quando comparada às

demais altitudes avaliadas, mostraram também maiores concentrações de Al, alta acidez e baixas temperaturas na superfície do solo, que contribuem para uma baixa atividade biológica agindo na decomposição do material acumulado (Martins 2010, Rosado 2011, Vieira *et al.* 2011).

As plantas Pi, que usam NO_3^- como principal fonte de N, podem ter diminuído essa assimilação no inverno devido à queda da temperatura, comportamento bastante suportado pela literatura em plantas tropicais. Por sua vez, o frio pode ter possibilitado uma mudança na competição pelo uso do recurso N destas com relação às plantas que não preferem essa fonte de N. Assim, plantas Si ou St, que no verão podem optar por usar NH_4^+ pois o NO_3^- é facilmente lixiviado do solo com o advento das chuvas e devido também ao maior custo na assimilação deste íon, no inverno, utilizam-se de outra fonte de N além do NH_4^+ , podendo ser NO_3^- , como demonstrado pela presença deste sendo transportado na seiva do xilema dessas plantas. Com isso, as plantas Pi, mais especializadas em usar NO_3^- , acabam obtendo desvantagem competitiva pelo uso de NO_3^- no inverno mas aumentam suas atividades de NR na estação mais úmida, juntamente com o potencial fotossintético (Stewart *et al.* 1990), possibilitado por dias maiores e maior intensidade luminosa característicos dessa estação.

Para sustentar essa hipótese, embasamo-nos no argumento colocado por Ashton *et al.* (2010) de que a plasticidade no uso de recursos existe como um mecanismo de complementariedade de nicho entre plantas coexistentes. Os autores colocam que competidores superiores exibem maior plasticidade no uso dos recursos de formas químicas de N que competidores inferiores, que não mudam o uso dos recursos. De acordo com esse argumento, as plantas St e Si seriam, no caso do presente estudo, melhores competidoras no que diz respeito ao uso de N, em relação às plantas Pi, que usam apenas ou predominantemente NO_3^- .

Apesar da falta de suporte estatístico para apontar as diferenças entre as estações do ano, houve uma tendência a maiores ANR no inverno em algumas espécies pertencentes a classes secundárias na sucessão ecológica, observando cada uma individualmente. Isso não era esperado, pois de acordo com a literatura essa atividade é geralmente maior na estação chuvosa, devido às maiores temperaturas e maior quantidade de água no solo, características dessa estação, que tornam o NO_3^- mais disponível para as plantas e com isso possibilita maiores ANR foliares, pois a redução de NO_3^- pode estar diretamente relacionada com sua concentração no solo (Pereira-Silva 2008).

Porém, considerando apenas o fato de a NR ser dependente da concentração do NO_3^- no solo, essa maior atividade no inverno é consistente com as maiores concentrações dos íons no solo encontradas também no inverno, o que poderia evidenciar o comportamento responsivo das espécies à disponibilidade sazonal desse elemento no solo. Entretanto, os dados de disponibilidade dos íons no solo, obtidos com o uso das resinas de

troca iônica, são dependentes da presença de água para a realização das trocas, e no caso específico das coletas realizadas na área de estudo SV houve uma interferência causada pela falta de chuvas no verão na época da coleta, evento mais conhecido como veranico, ou seja, um evento de seca excepcional no pico da estação chuvosa. Com isso, a caracterização do que usualmente acontece com os nutrientes no solo durante o verão ficou prejudicada. Em um estudo realizado na mesma área sem a ocorrência de veranico foram verificadas quantidades muito maiores desses íons no verão, com destaque para o NO_3^- (Marchiori 2012). Nesse contexto, a discussão dos resultados de solo foi separada da discussão de cada área específica.

Rosado *et al.* (2011), em estudo na área SV do presente trabalho, encontraram grandes quantidades de raízes finas nos primeiros 5cm de solo, maiores que nas demais altitudes da mesma floresta. Isso revelou um maior potencial para assimilação de água e nutrientes pelas plantas dessa área, que têm maximizada a assimilação apesar da menor taxa de decomposição no solo decorrente das baixas temperaturas características dessa floresta (Martins 2010).

Comparando os resultados de ANR das plantas de SV com os de outros estudos realizados em espécies de floresta encontrados na literatura, pode-se afirmar que os valores obtidos no presente estudo em termos gerais, independentemente da classe sucessional, foram muito próximos aos obtidos por Stewart *et al.* (1988, 1992, 1993) para vários tipos de formações vegetais da Austrália e do Brasil, por Schmidt *et al.* (1998) em cinco tipos de comunidades tropicais na Austrália, por Pereira-Silva (2008) para duas florestas brasileiras localizadas no estado de São Paulo (Estacional Semidecidual e Ombrófila Densa Submontana), por Campos (2009) e Silva (2012) para duas florestas brasileiras (Ombrófila Densa de Terras Baixas), também no estado de São Paulo, e foram inferiores aos valores encontrados por Aidar *et al.* (2003) para uma Floresta Ombrófila Densa Submontana sobre solo calcário eutrófico onde o modelo de uso de N foi estabelecido inicialmente.

As duas espécies Pi (*Cecropia glaziovii* e *Solanum sp.1*) e duas das espécies Si estudadas (*Shefflera angustissima* e *Jacaranda montana*) apresentaram as maiores médias de ANR foliar ($> 200 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$), porém estas não ultrapassaram o valor de $665 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$ como aconteceu nos estudos de Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008) e Campos (2009), que encontraram valores de ANR variando de 690 até $1250 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$ para a espécie *Cecropia glaziovii* especificamente. Altas ANR foram comumente encontradas em espécies Pi de outras florestas mundiais, na Nigéria (Stewart & Orebanjo 1983), Austrália (Stewart *et al.* 1988, 1990), México (Fredeen *et al.* 1991) e Brasil (Aidar *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012) por exemplo.

Em contraste, as espécies tardias na sucessão do presente estudo foram caracterizadas pelas menores ANR ($< 150 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$) em ambas as estações avaliadas, resultados também semelhantes aos encontrados

por Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012) e Marchiori (2012).

Os trabalhos citados nos dois parágrafos anteriores apresentaram evidências que corroboram o padrão encontrado para este estudo, onde espécies de sombra, generalistas ou tardias na sucessão florestal normalmente não reduzem NO_3^- na folha ou o fazem em pequenas quantidades, ao contrário de espécies mais especialistas, pioneiras na sucessão, colonizadoras de clareiras ou espécies de borda, que geralmente reduzem NO_3^- em suas folhas ou raízes. E esse comportamento especialista das espécies Pi, indica certa desvantagem competitiva pelo uso dos recursos com relação às espécies secundárias na sucessão florestal, como já sugerido anteriormente. De acordo, as primeiras possuem ciclo de vida mais curto em relação às segundas, que optam por reciclagem interna de N como uma alternativa à assimilação de N novo e com isso economizam em custos relativos à esta assimilação de fonte externa de N. Essa plasticidade no uso dos recursos encontrada nas espécies secundárias provém um importante mecanismo de partição desses recursos, particularmente naquelas que têm em geral sobreposição de padrões de uso do recurso (Ashton *et al.* 2010).

Seguindo esta linha de raciocínio, segundo Smirnoff *et al.* (1985) as plantas de comunidades naturais, a menos que estejam fortemente sombreadas, podem estar limitadas mais pela competição por nutrientes que por qualquer outro fator. Os autores afirmam que em situações onde o suprimento energético e de C não são limitantes, pequenas diferenças no custo energético entre a assimilação de NO_3^- pelas raízes ou folhas podem ter baixo valor seletivo. Portanto não é surpreendente que não exista uma correlação universal entre a concentração de NO_3^- no ambiente e a assimilação deste pelas raízes ou folhas, ou que nem todas as espécies assimilem este íon em suas folhas. Entretanto, o fato de a assimilação deste pelas folhas prevalecer sobre as raízes sugere que isto leva geralmente a um ganho ou vantagem pela planta que acopla a assimilação do NO_3^- diretamente à fotossíntese.

A redução do NO_3^- em folhas verdes é seguida da redução do nitrito e subsequente assimilação do amônio a glutamato, que são reações essencialmente fotossintéticas (Smirnoff & Stewart 1985). Todas as enzimas da via, com exceção da NR estão situadas nos cloroplastos (Abrol *et al.* 1983, Wallsgrove *et al.* 1983). A NR é citoplasmática, mas o NADH utilizado na redução do NO_3^- é derivado de compostos gerados no transporte de elétrons durante o processo fotossintético (Abrol *et al.* 1983). As demais enzimas localizadas nos cloroplastos (nitrito redutase, glutamina sintetase e glutamato sintase) utilizam ATP e redução por ferredoxina, que são também geradas pelo transporte de elétrons (Wallsgrove *et al.* 1983). Desse modo, o NO_3^- e o CO_2 competem por redutores e pelo ATP (Canvin and Atkins 1974) em condições onde a radiação incidente na folha não é excessiva.

Plantas que crescem em altitudes elevadas são mais susceptíveis a saturação pela luz devido a uma

combinação de alta intensidade luminosa e baixas temperaturas. Apenas quando a fotossíntese é saturada pela luz que a planta terá energia suficiente para reduzir NO_3^- nas folhas sem competir com o processo fotossintético por redutores e/ou ATP. Assim, plantas de sombra têm menor vantagem na assimilação do NO_3^- nas folhas devido à limitação da fotossíntese pela luz, e por isso, podem optar por assimilar esse íon nas raízes permitindo maior controle na assimilação de N e C sob o uso limitado da luz (Taiz & Zeiger 2002).

Existem diversos estudos demonstrando que a variação da assimilação do NO_3^- por plantas de sombra está diretamente relacionada à intensidade de radiação que recebem, de modo que essa assimilação aumenta nas plantas crescidas sem limitação de luz (Smirnoff & Stewart 1985), como acontece em plantas das classes iniciais da sucessão (Pi).

A reação de aumento da ANR diante de baixas temperaturas pode ser temporária de acordo com Vogel & Dawson (1991), que demonstraram que baixas temperaturas podem levar a um aumento da ANR inicialmente na folha seguido de redução desta atividade conforme a atividade da enzima nitrogenase aumenta em plantas de floresta alpina. Os autores sustentam que apesar de os níveis da ANR em tecidos foliares de plantas superiores serem normalmente associados ao suprimento de NO_3^- aos tecidos (Guerrero *et al.* 1981), existem autores que defendem a possibilidade de a NR constitutiva foliar estar mais relacionada primariamente ao metabolismo dos ureídeos do que ao metabolismo do NO_3^- *in vivo* (Li & Gresshoff 1990). Porém, este estudo utilizou plantas Leguminosae fixadoras de N, e não se pode inferir que isso esteja ocorrendo com as plantas avaliadas neste estudo.

Por outro lado, este aumento da ANR no inverno encontrado nas espécies secundárias na sucessão pode estar mais relacionado à aclimação ao frio que à competição por recursos, ou mesmo demanda nutricional. Cantrel *et al.* (2011), em estudo com mutantes de *Arabidopsis thaliana* para a enzima NR, demonstraram claramente a importância da NR na produção de NO como um composto chave na resposta da planta ao estresse causado por baixas e altas temperaturas, tanto na aclimação quanto na tolerância.

Existem diversas rotas de produção de NO, que são essencialmente nitrito-dependentes ou L-Arg-dependentes, e até o momento, a NR é enzima aparentemente produtora de NO mais estudada, e o NO vem sendo considerado nas últimas décadas como uma importante molécula sinalizadora em plantas, e está envolvido em múltiplos processos fisiológicos e de desenvolvimento (Zhao *et al.* 2009, Gupta *et al.* 2011).

Em relação ao NO produzido em condições de baixas temperaturas, sabe-se que a habilidade das plantas em lidar com o frio é dependente de respostas adaptativas apropriadas para prevenir os efeitos deletérios de congelamento das membranas e redução do metabolismo celular. Assim, a resposta ao frio envolve remodelamento desse metabolismo, incluindo acúmulo de compostos crioprotetores como prolina e açúcares

(Cook *et al.* 2004, Kaplan *et al.* 2004). Este remodelamento resulta, pelo menos parcialmente, da expressão e regulação de genes específicos (Cook *et al.* 2004).

O NO é uma molécula gasosa sinalizadora que conhecidamente participa do desenvolvimento da planta e das respostas a estresses bióticos (Besson-Bard *et al.* 2008, Neill *et al.* 2008), ele é rapidamente produzido pela planta através da indução pelo frio, e participa da regulação da síntese de prolina através da ação que exerce sobre genes da via de produção desse aminoácido. Além disso, a função do NO na regulação da formação de compostos derivados de lipídeos sinalizadores é possível (Cantrel *et al.* 2011).

As duas vias que se destacam na produção dessa molécula em plantas são: conversão de arginina em citrulina pela suposta enzima NO-sintase ou através da atividade da enzima nitrato redutase, que mostrou ser a fonte mais importante como demonstrado através do estudo com mutantes de *Arabidopsis* para o gene da NR (Zhao *et al.* 2009, Cantrel *et al.* 2011). Porém, o NO pode ter diversas origens, dependendo da espécie de planta e das condições de frio, como reportado por outros autores, por exemplo, Shimoda *et al.* (2005) e Corpas *et al.* (2008), em *Lotus japonicus* e *Pisum sativum* respectivamente.

Apesar das diferenças de ANR percebidas entre as classes sucessionais, não houve diferenças significativas entre as concentrações de NO_3^- nas folhas das espécies, e os valores médios encontrados neste estudo foram consideravelmente baixos quando comparados aos encontrados na literatura para outras plantas de floresta (Schmidt *et al.* 1998, Aidar *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012, Marchiori 2012). Além disso, não se encontrou relação entre ANR e a concentração de NO_3^- foliar, revelando uma não dependência da atividade da enzima NR e a concentração do substrato na folha. Assim, como já sugerido por Smirnoff & Stewart (1985), o acúmulo do NO_3^- foliar pode ter função de reserva de N na folha, estando mais relacionado a funções osmóticas intracelulares do que nutricionais, ou também contribuir para se evitar a fotoinibição.

Vogel & Dawson (1991) também não encontraram relação entre a ANR e a concentração de NO_3^- na folha em estudo realizado com plantas de floresta alpina. Aidar *et al.* (2003) no estudo de estabelecimento do modelo de uso de N que o presente trabalho corrobora, encontraram valores de conteúdo de NO_3^- foliares na sua maioria abaixo dos limites de detecção, e quando detectados foram maiores que aos encontrados neste estudo. Schmidt *et al.* (1998) também observaram baixíssimas concentrações de NO_3^- foliar em espécies australianas, que apareceram nas plantas apenas no verão. Marchiori (2012) encontrou valores muito maiores que os mostrados por este estudo, atingindo até $120\mu\text{mol.g}^{-1}$ e sendo especialmente maiores no verão em todas as classes sucessionais.

Segundo Smirnoff *et al.* (1984), a ANR está mais relacionada com a concentração de NO_3^- na seiva do xilema do que com a concentração deste na folha. E quanto ao conteúdo de NO_3^- sendo transportado na seiva

do xilema das plantas deste estudo, as espécies Pi foram as que transportaram as maiores quantidades desse composto, como já era esperado, indicando o uso preferencial dessa forma de N pelas plantas dessa classe sucessional. Porém, sua concentração na seiva foi maior no inverno que no verão, ao contrário do que ocorreu com a ANR na maioria dessas espécies Pi, o que pode sugerir menor transpiração foliar resultando em menor transporte e maior concentração de NO_3^- , ou apenas que durante a estação seca e fria estas plantas utilizam o NO_3^- como soluto osmótico e de reserva, de acordo com o proposto por Smirnoff & Stewart (1985).

No estudo de Aidar *et al.* (2003), as plantas Pi exibiram maior quantidades de NO_3^- sendo transportado na seiva do xilema no verão, porém, a quantidade de outros compostos sendo transportados tanto nas espécies Pi quanto nas espécies secundárias na sucessão foi maior no inverno, sendo sugerido pelos autores isso ser devido à menor taxa transpiracional das plantas característica da estação mais seca e consequente aumento da concentração dos compostos em uma seiva com menos água. Schmidt *et al.* (1998) em estudo com plantas australianas também encontrou maiores concentrações de NO_3^- na seiva do xilema em espécies pioneiras, que também exibiram maiores ANR em suas folhas, e não foram encontradas diferenças sazonais nesse transporte entre a maioria das espécies. Os autores encontraram relação direta entre a concentração desse íon sendo transportado na seiva do xilema e as concentrações do mesmo no solo, o que não aconteceu no presente estudo.

Além disso, a razão CN foi menor nas espécies Pi, indicando maiores quantidades de N que de C na estrutura das folhas de modo geral, quando comparadas às espécies St, que se caracterizaram pelas maiores razões CN, mostrando investimento maior em C do que em N, o que se explica a maior longevidade foliar nas plantas dessa classe sucessional. Esse resultado também concorda com o encontrado por Pereira-Silva (2008), que incluiu novas informações ao modelo proposto por Aidar (2003), ao afirmar que as espécies Pi além de ter relativamente altas ANR foliar e investirem no transporte de N através do NO_3^- e de Asn, também possuem uma baixa razão CN. Do mesmo modo, o trabalho de Silva (2012) mostrou menor razão CN entre as espécies Pi com relação às St. A autora afirma que o N é o elemento principal para a determinação da razão CN, e assim, menor razão CN indica alta concentração de N foliar.

O estudo de Aidar *et al.* (2003) já demonstrava uma maior concentração de N nas folhas das espécies pioneiras que diminuiu com o avançar da sucessão florestal, sendo assim essas concentrações foram menores nas folhas das espécies tardias. Os autores afirmaram que a elevada concentração de N nas folhas impõe maior requerimento de N e consequentemente, quando o N está disponível no ambiente, essas plantas tendem a maximizar sua assimilação aumentando com isso o conteúdo de N. A vantagem desse estilo de vida rico em N, encontrado principalmente em espécies leguminosas, pode ser vantajosa apenas em certos

habitats onde os solos são relativamente pobres em N, e fatores como água e luz não são limitantes.

Outro aspecto proposto pelo modelo de Aidar *et al.* (2003) considera que o $\delta^{15}\text{N}$ aumenta no contínuo de sucessão florestal, sendo menor nas espécies Pi e maior nas St. No presente estudo essa tendência foi verificada apenas em relação às duas primeiras classes sucessionais na área de floresta SV. Houve uma diferença significativa entre as espécies Pi e Si, com as segundas mostrando maiores valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ que as primeiras. Porém, as espécies tardias na sucessão não revelaram diferenças significativas em relação às demais. Ainda, considerando a grande diferença no número de indivíduos que compõe cada classe, essas diferenças encontradas entre Pi e Si podem ser devido à diferenças no tamanho das amostras. A vegetação em SV é de uma floresta bastante madura e a área de coleta não possui muitas clareiras, e assim, poucas espécies Pi foram encontradas, deixando a amostra de Pi muito menor que a de Si e St. De qualquer modo, pelo presente estudo, o $\delta^{15}\text{N}$ não mostrou ser um atributo de grande valia na determinação das estratégias de uso de N pelas espécies.

Segundo Pereira-Silva (2008), os compostos nitrogenados de baixo peso molecular encontrados na seiva do xilema desempenham funções de transporte, distribuição e armazenamento do N absorvido pela raiz. Dentre estes, Asn, Gln, Arg e também o NO_3^- se destacam pelo fato da soma dos átomos de C e N presentes na composição de suas moléculas revelarem investimento de razão CN considerada relativamente elevada para o transporte de N, ou seja, moléculas ricas em N como as amidas (Asn 21,2%N, Gln 19,2%N) são formas mais utilizadas para transporte de N (Kang & Titus 1980), e a Arg, que tem a menor razão CN (32,2%N), é a forma mais utilizada para estoque e reserva de N, mas também Asn e Gln podem ser usadas para este fim. Assim, entende-se como sendo eficiente o transporte de N feito através do uso desses compostos.

Especificamente os compostos Gln e Asn, unem os metabolismos de C e N, e juntamente com Glu e Asp, relacionam-se à síntese de compostos nitrogenados envolvidos no metabolismo do NH_4^+ . Além disso, são precursores das principais famílias de aminoácidos protéicos e de compostos nitrogenados como a clorofila, os ácidos nucléicos e as poliaminas, e por isso são fundamentais na exportação e distribuição de N pela planta (Taiz & Zeiger 2002) além de serem mais estáveis metabolicamente.

Além do uso da Arg como um composto de reserva de N, a presença desse aminoácido na seiva do xilema pode estar relacionada ao processo de remobilização de N na estação chuvosa (verão) e ao armazenamento de N na estação mais fria e seca (inverno), o que mostra uma estratégia de reciclagem interna de N. Fato evidente entre a classe de plantas St, que concentraram mais de 20% do N da composição da seiva sob a forma de arginina. Esse comportamento já era esperado e está de acordo com os resultados encontrados nos trabalhos de Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008) e Campos (2009) para plantas dessa classe sucessional.

Essa estratégia de armazenamento de N pelas plantas St, pode permitir a manutenção do crescimento no inverno apesar da menor disponibilidade de água e de N no solo, típicas desse período. Além disso, o fato desse aminoácido ser o principal constituinte da seiva do xilema pode indicar ocorrência de remobilização do N armazenado, o que ocorre pelo fato deste aminoácido ser bastante solúvel quando comparado a Asn e Gln, que são também muito utilizados no transporte a longa distância em plantas superiores (Schmidt & Stewart 1998).

As espécies St analisadas tiveram baixo conteúdo de NO_3^- na seiva e predomínio de Asp e Glu além da Arg, o que possivelmente está também relacionado com a reciclagem interna do N nessas plantas e com a assimilação de outra forma de N do solo, podendo ser N inorgânico sob a forma de NH_4^+ ou N orgânico (Stewart *et al.* 1988).

Uma outra variável que mostrou ser significativamente diferente entre as espécies Pi e as secundárias na sucessão florestal na área de estudo SV, foi a densidade da madeira (DM), sendo menor nas Pi e maior nas Si e St, que não mostraram diferenças significativas entre elas, não havendo também diferenças entre as estações do ano para todas as classes avaliadas. Isso está de acordo com o já documentado na literatura e ao esperado inicialmente.

Plantas intolerantes à sombra tendem a possuir crescimento rápido em áreas abertas ou clareiras ou sob condições favoráveis de luminosidade (Laurance *et al.* 2006, Poorter *et al.* 2008), elas entram em fase reprodutiva mais cedo, tendem a produzir mais sementes porém de pequeno porte e rápida dispersão (Melo *et al.* 2006), mostram maiores taxas de mortalidade (Oliveira *et al.* 2008) características de plantas com ciclo de vida curto, e possuem madeiras com baixa densidade. Ao contrário, as plantas tolerantes à sombra caracterizam-se por tendências opostas e as plantas de tolerância intermediária à sombra, tendem a apresentar características também intermediárias entre os dois extremos (Pütz *et al.* 2011).

Existe uma interrelação bem estabelecida entre condução de água, densidade da madeira e altura das plantas, mas a força e a direção dessas relações variam consideravelmente entre os estudos, principalmente devido às diferenças ambientais (Martínez-Cabrera *et al.* 2011). A eficiência na condução hidráulica influencia a transpiração e as taxas de fixação de C, e conseqüentemente o crescimento (Tyree 2003, Poorter *et al.* 2009). O aumento de vasos do xilema juntamente com a diminuição de seus calibres, permitem à planta um aumento na resistência à falhas hidráulicas como a cavitação por exemplo (Carlquist 1980, Ewers *et al.* 2007), e refletem o investimento da planta em suporte mecânico e carbono, bem como a eficiência na condução hidráulica, e está conseqüentemente relacionado à características da história de vida das plantas (Martínez-Cabrera *et al.* 2011).

Assim, maiores densidades da madeira estão associadas geralmente a menores taxas de crescimento, maior sobrevivência, ciclo de vida longo e estatus sucessional tardio (ter Steege & Hammond 2001, Muller-Landau 2004, Chave *et al.* 2009, Poorter *et al.* 2009), bem como à maior resistência a formação de embolias (Hacke *et al.* 2001).

Por outro lado, a altura da planta determina sua habilidade de competir por luz e se correlaciona com características de ganho de carbono, como AFE, % N foliar e área da copa (Falster & Westoby 2003) e pode ser positivamente relacionada com características da história da vida como longevidade e tempo de reprodução (Moles *et al.* 2004, Petit & Hampe 2006).

Alguns estudos porém, têm encontrado tanto relações positivas quanto negativas entre altura e densidade da madeira (Thomas 1996, ter Steege & Hammond 2001, Falster & Westoby 2005a, b, Preston *et al.* 2006, van Gelder *et al.* 2006, Aiba & Nakashizuka 2009), e esses padrões opostos tem sido explicados por diferenças nas estratégias ecológicas das plantas. Assim, espécies pioneiras que demandam maior luminosidade e tendem a crescer rápido aumentando temporariamente a competição por recursos, são caracterizadas por madeira menos densa que aquelas da mesma classe sucessional de ciclo de vida relativamente maior. Já entre as espécies mais tolerantes à sombra, as de menor porte tendem a ser mecanicamente mais fortes, permitindo maior resistência à possíveis danos causados pela queda das árvores maiores (Gartner 1989, Putz & Brokaw 1989), enquanto que nestas, uma menor densidade da madeira está associada a maiores taxas de crescimento (Falster & Westoby 2005a, van Gelder *et al.* 2006).

Segundo Martínez-Cabrera *et al.* (2011) devido à forma de crescimento e a altura necessária ao suporte mecânico das plantas de porte arbóreo, existe uma forte relação entre o ambiente e a DM, que sugere que a eficiência no crescimento em altura depende de uma coordenação entre a capacidade de condução e alocação para suporte mecânico. Além disso, os autores sustentam a hipótese de que plantas crescidas em ambientes mais frios, secos ou escuros possuem maiores DMs.

Pode-se afirmar que os resultados obtidos no presente estudo sustentam a hipótese de que plantas tolerantes à sombra e tardias na sucessão florestal possuem madeiras mais densas, estas também se caracterizam por possuírem ciclos de vida mais longo e maior altura em relação as plantas de espécies pioneiras ou colonizadoras de clareiras. Considerando este atributo (DM) e o uso de N especificamente, observou-se que as espécies secundárias na sucessão, além de maiores DMs apresentaram maior razão CN foliar e menores NRA e %N-NO₃⁻ sendo transportado na seiva do xilema, elementos que ajudam a compor a estratégia mais conservativa no uso do recurso N adotada por estas espécies, mostrando que estas plantas investem mais em estrutura (carbono na folha e maior DM), possibilitando maior longevidade, e economizam

na utilização de N através do uso de compostos mais eficientes no transporte de N, como arginina por exemplo, e assimilam formas mais baratas de N inorgânico que não o NO_3^- , que impõe maior custo energético na sua assimilação direta.

6.2. Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM)

6.2.1. Análise de ordenação – LAM

A análise de ordenação dos resultados obtidos no verão em LAM (Figura 22) teve 56,39% da variância explicada, e mostrou uma tendência à separação entre as classes sucessionais, mais especificamente, das espécies Pi e as demais classes (St e Si) com relação ao primeiro eixo da PCA. Nota-se uma separação mais clara das espécies Si com relação as Pi, e as espécies St mostram uma heterogeneidade no comportamento com relação ao uso de N, hora apresentando-se semelhante às Pi (principalmente quanto ao transporte de %NAsn), hora mais similar às espécies Si (dado às variáveis razão CN, % NNO_3 e %NArg). Porém, de modo geral, existe maior proximidade das espécies Si às espécies St.

Os parâmetros %NArg e % NNO_3 são os que melhor descrevem a ordenação das Si com relação ao eixo 2. Os parâmetros que melhor descrevem as espécies St são razão CN com relação ao eixo 1, %NGln e % NNO_3 com relação ao eixo 2. A ordenação das espécies Pi pode ser explicada pelos parâmetros ANR, %N e $\delta^{15}\text{N}$ em relação ao eixo 1 e %NAsn com relação ao eixo 2.

A análise de ordenação para o inverno (Figura 23), que tem 56,39% da variância explicada, confirma a mesma tendência verificada no verão, porém com separação mais definida entre as espécies Pi e Si com relação ao primeiro eixo da PCA, e as espécies St novamente, mostraram comportamento mais heterogêneo entre elas com relação às outras classes. As variáveis que melhor descrevem as espécies Pi foram ANR, %N, $\delta^{15}\text{N}$, NO_3 folha e %NGln com relação ao eixo 1. As variáveis que melhor descrevem as espécies Si foram % NNO_3 com relação ao eixo 2, razão CN, %NAsp e %NArg com relação ao eixo 1. E como variáveis mais importantes na determinação da posição das espécies St na PCA, se destacam a razão CN em relação ao eixo 1, % NNO_3 em relação ao eixo 2.

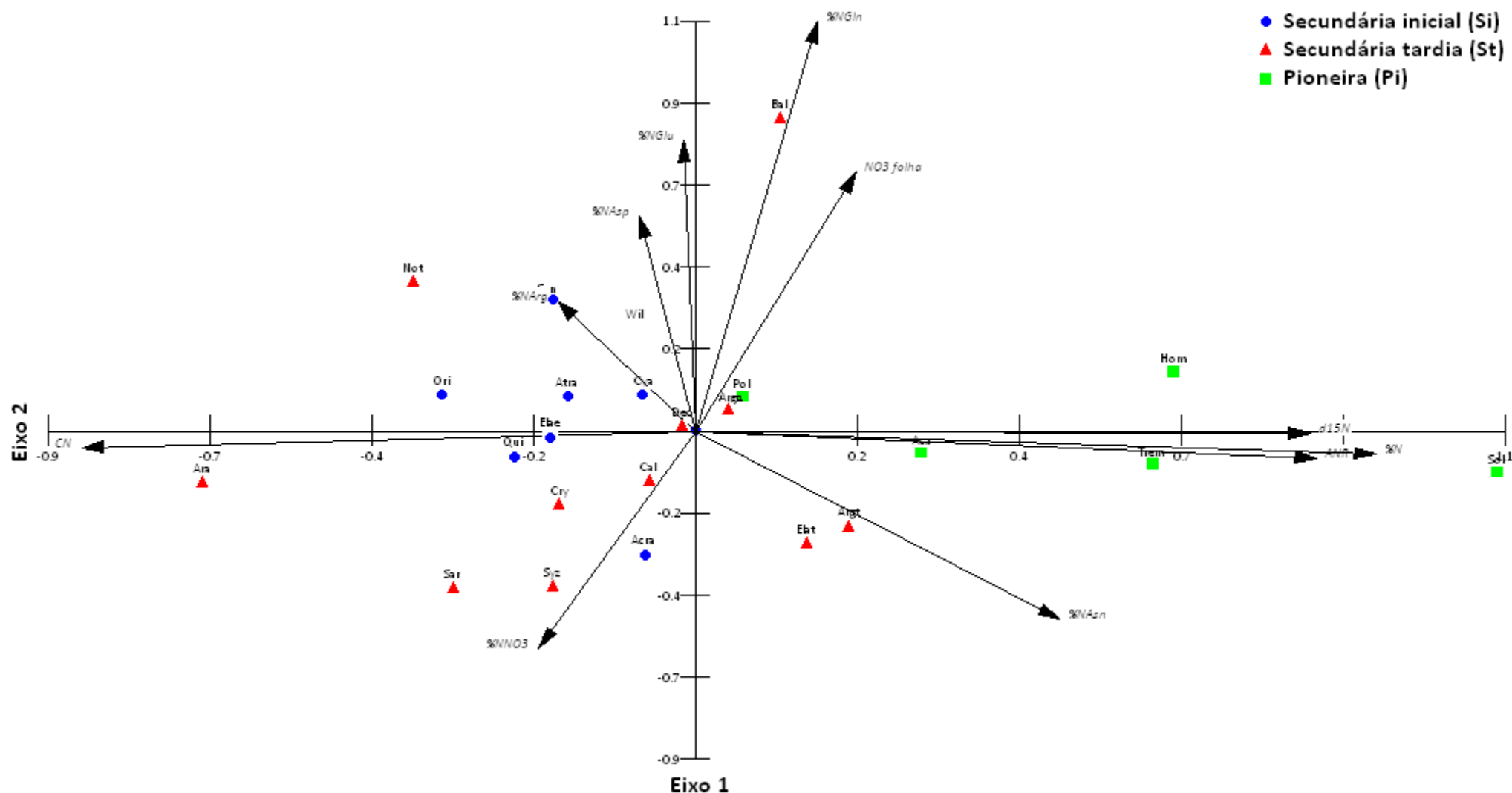


Figura 22. Ordenação (PCA) das 24 espécies estudadas em LAM, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 2.

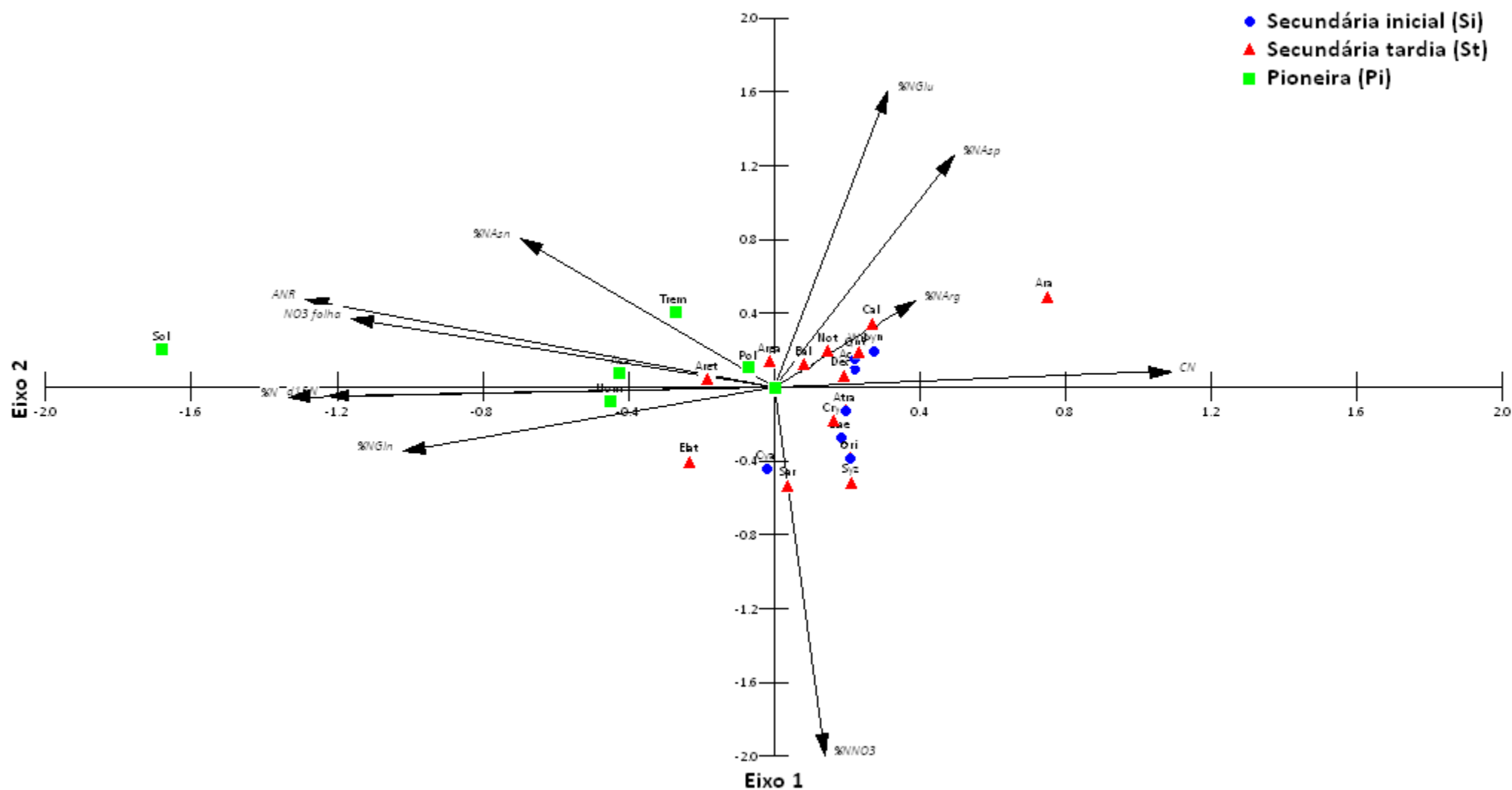


Figura 23. Ordenação (PCA) das 24 espécies estudadas em LAM, e suas diferentes estratégias de regeneração (Si, St e Pi), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 2.

6.2.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)

A análise dos dados médios de ANR para LAM (Figura 24), realizada através de ANOVA de dois fatores, apontou diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,88} = 6,879$; $p < 0,001$). Não houve diferenças entre as estações do ano e na interação entre os fatores. Essas diferenças são devido à maior ANR observada nas Pi que nas demais classes, como confirmado por teste de Tukey *a posteriori*.

Apesar de não haver estatisticamente diferenças significativas entre as estações do ano, existe uma tendência da ANR média ser maior no inverno que no verão para as espécies Si (inverno = 29,82 pkat.g^{-1} MF; verão = 16,30 pkat.g^{-1} MF) e St (inverno = 32,09 pkat.g^{-1} MF; verão = 6,63 pkat.g^{-1} MF), e o contrário ocorre nas espécies Pi (inverno = 338,07 pkat.g^{-1} MF; verão = 414,76 pkat.g^{-1} MF). Para mais detalhes, ver valores numéricos por espécie na Tabela A2 (ANEXO 2).

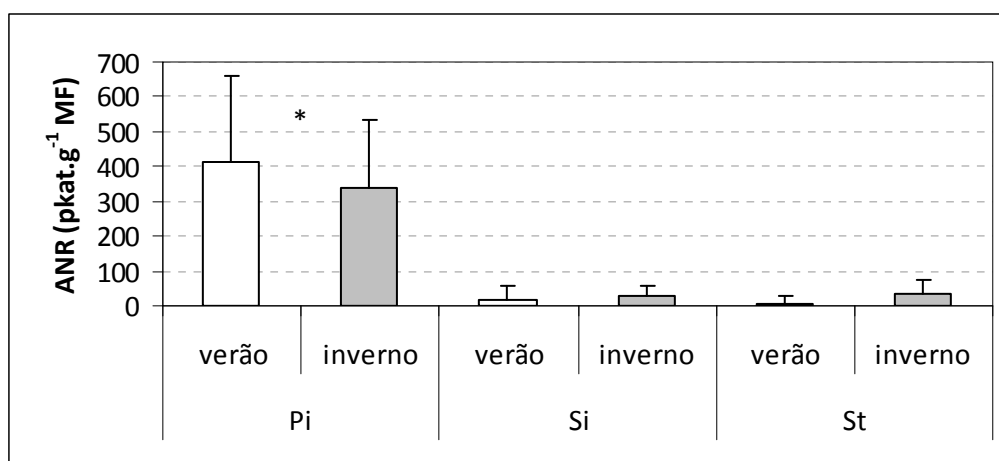


Figura 24. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – pkat.g^{-1} MF) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.2.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)

A análise dos dados médios de concentração de NO_3^- na folha para LAM (Figura 25), realizada através de ANOVA de dois fatores, não evidenciou diferenças significativas entre as classes sucessionais, estações do ano, ou na interação entre estes fatores. Para mais detalhes, ver valores numéricos por espécie na Tabela A2 (ANEXO 2).

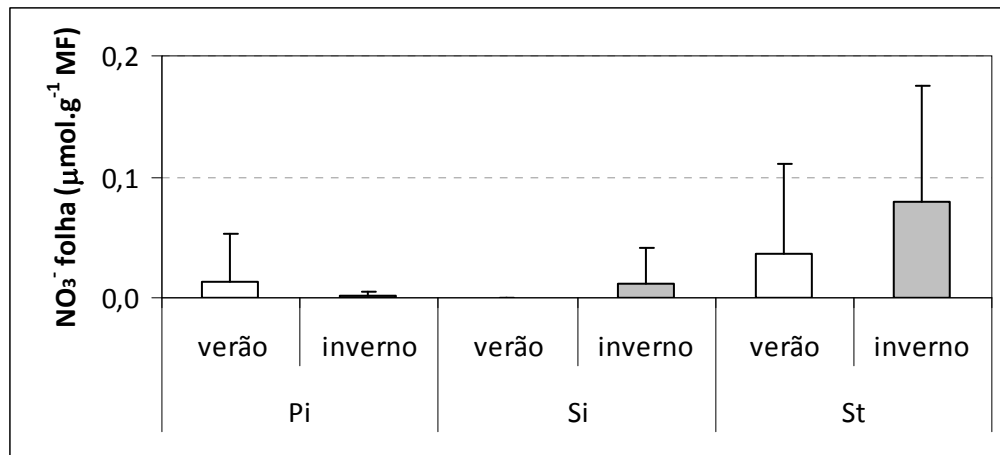


Figura 25. Concentração de NO_3^- foliar (NO_3^- folha – $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. As diferenças encontradas não foram significativas.

6.2.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (%N- NO_3^-)

A análise de variância das porcentagens médias de conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (Figura 26) das plantas estudadas em LAM mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,88}=30,047$; $p<<0,001$) e entre as estações do ano ($F_{1,88} = 16,002$; $p < 0,001$). O teste de Tukey a *posteriori* identificou a separação de Pi das demais classes, por possuir o maior valor de conteúdo de NO_3^- sendo transportado na seiva do xilema, sendo maior que o dobro encontrado nas espécies das outras classes sucessionais.

As diferenças entre as estações do ano evidenciaram que as espécies transportam mais NO_3^- durante o inverno que durante o verão, em todas as classes sucessionais estudadas.

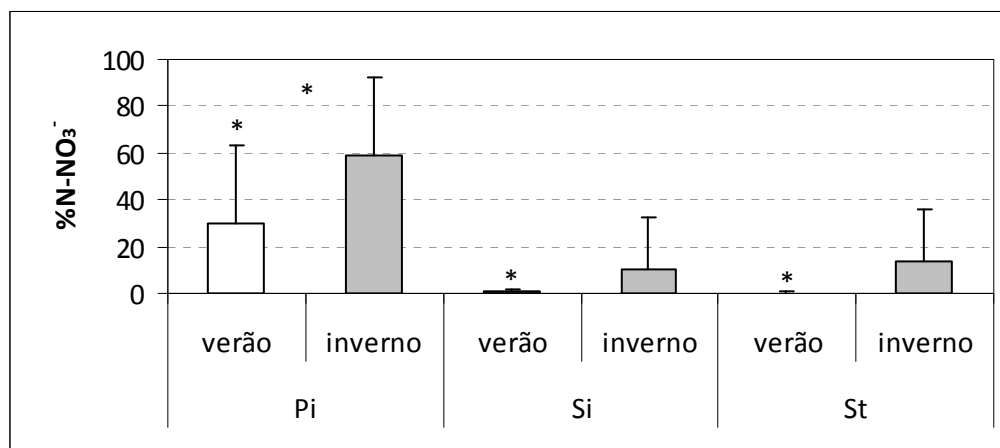


Figura 26. Conteúdo de N sob a forma de NO₃⁻ na seiva do xilema (N-NO₃⁻ – %) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.2.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema

As análises de variância das porcentagens médias da composição de aminoácidos na seiva do xilema (Figura 27) das plantas estudadas em LAM mostraram que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais com relação à N-Arg ($F_{2,88} = 9,879$; $p < 0,001$) e N-Glu ($F_{2,88} = 4,509$; $p = 0,014$), e entre as estações do ano com relação à N-Asp ($F_{1,88} = 4,778$; $p = 0,031$), N-Gln ($F_{2,88} = 4,778$; $p = 0,038$) e N-Glu ($F_{1,88} = 4,203$; $p = 0,043$). A % de N sob a forma de NO₃⁻ foi representada novamente na Figura 27 a título de comparação com os demais compostos da seiva, estando este detalhado especificamente no item anterior. Não foram encontradas diferenças significativas na interação entre os dois fatores considerados com relação à composição de aminoácidos e NO₃⁻ na seiva do xilema.

De modo geral, as espécies Pi foram caracterizadas pelo transporte de N na seiva do xilema através de NO₃⁻ e Asn, as espécies Si transportaram principalmente Asn, Arg e Gln, enquanto que as espécies St se destacaram no transporte de Arg e Asn, sendo também importantes o NO₃⁻ e Asp no inverno e Gln no verão.

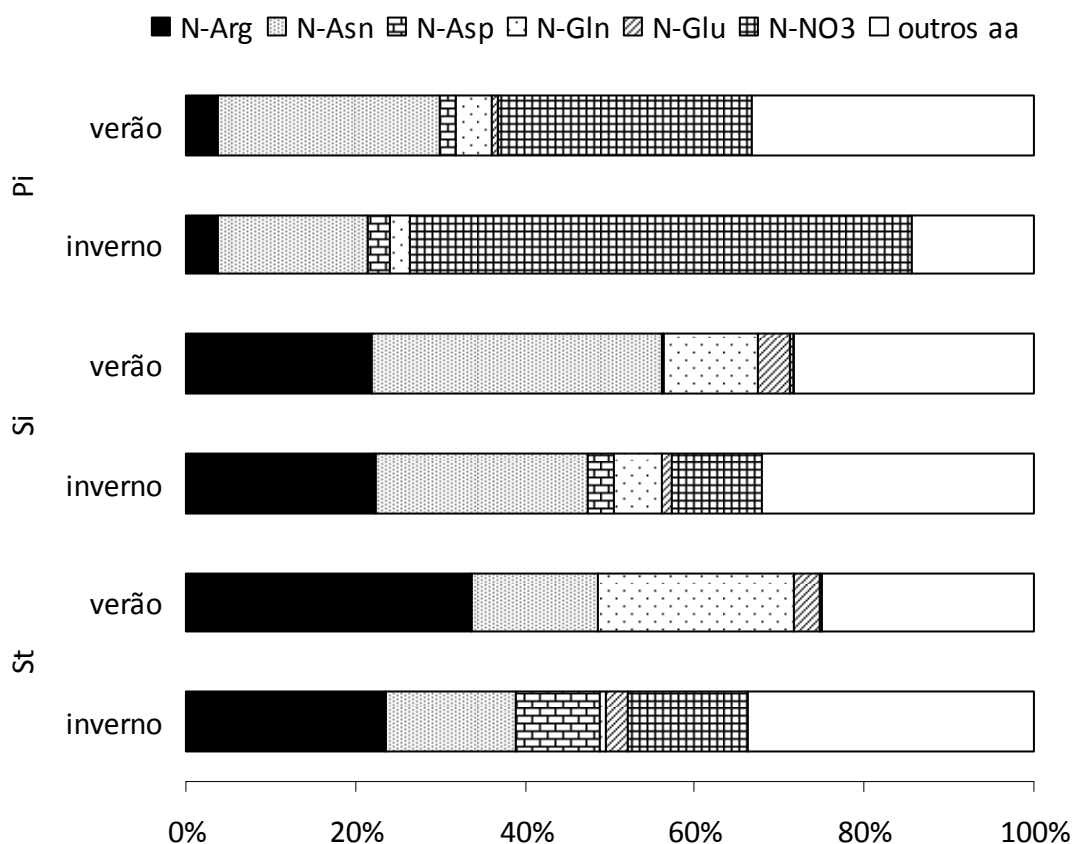


Figura 27. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO3 = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.

6.2.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN)

A análise de variância da razão CN (Figura 28) das plantas estudadas em LAM mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,88} = 13,582$; $p < 0,001$). O teste de Tukey *a posteriori* identificou a separação entre Pi e as demais classes Si e St. Assim, Pi caracterizaram-se pelos menores valores de razão CN na folha (média 18,29), Si e St evidenciaram os maiores valores (31,61 e 30,40 respectivamente). Não houve diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores.

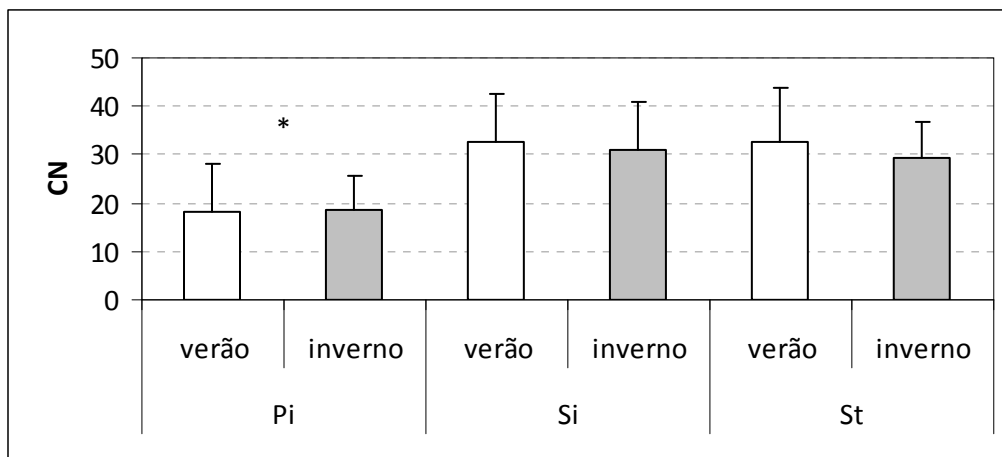


Figura 28. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.2.7. Isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N}$)

A análise de variância do isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$, Figura 29) nas plantas estudadas em LAM mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,88} = 57,728$; $p < 0,001$).

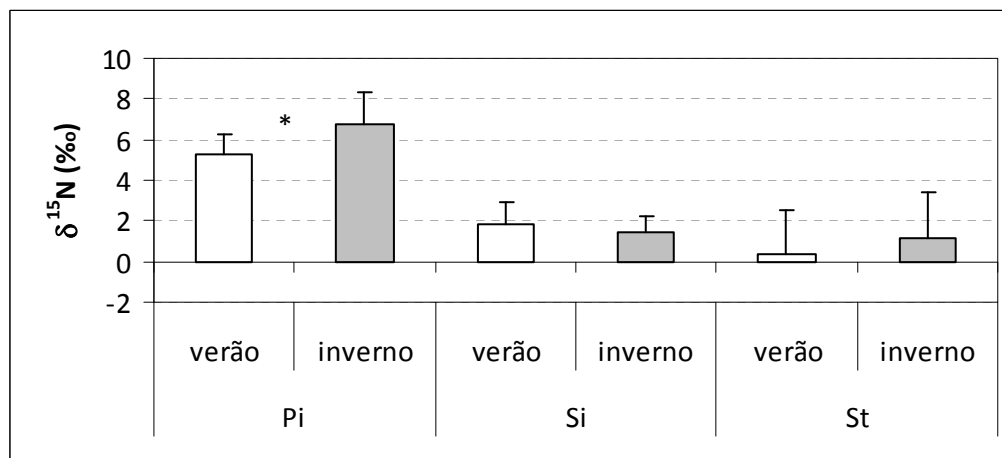


Figura 29. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

O teste de Tukey *a posteriori* identificou a diferença entre Pi (média de 5,99‰) e as demais classes Si e St, com valores médios de 1,59‰ e 1,10‰ respectivamente. Não houve diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores.

6.2.8. Área foliar específica (AFE)

A análise de variância da AFE (Figura 30) das plantas estudadas em LAM evidenciou diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,88} = 10,584$; $p < 0,001$). Não houve diferenças significativas entre as estações do ano, ou na interação entre os fatores avaliados.

O teste de Tukey *a posteriori* mostrou que as espécies Pi, que obtiveram média de $126,61 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no verão e $118,74 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no inverno, não são diferentes estatisticamente das demais classes. Já as espécies Si (médias de $101,47 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no verão e $105,46 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no inverno) foram diferentes das espécies St (médias de $64,53 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no verão e $87,68 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no inverno), sendo as primeiras maiores que as segundas.

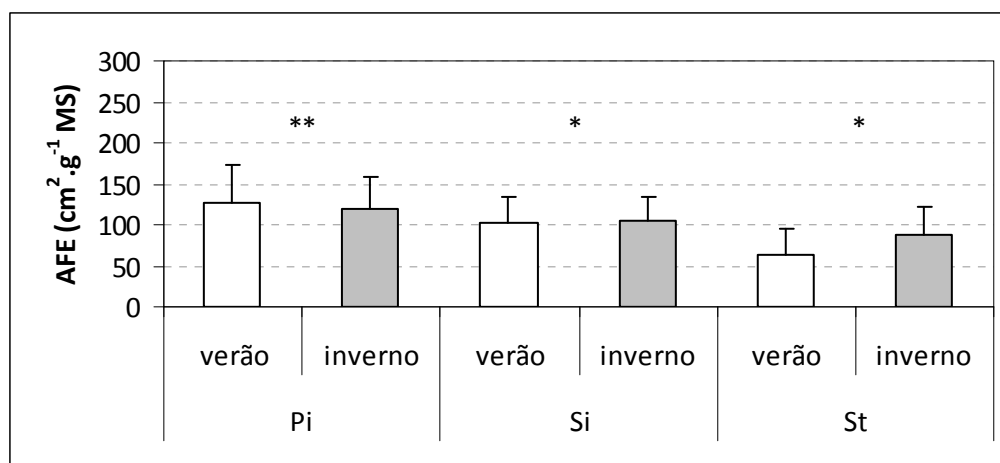


Figura 30. Área foliar específica (AFE – $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.2.9. Densidade da madeira (DM)

A análise de variância da DM (Figura 31) nas classes sucessionais das plantas estudadas em LAM mostrou que existem diferenças significativas entre as classes sucessionais ($F_{2,88} = 4,125$; $p = 0,019$). O teste de Tukey *a posteriori* identificou a separação entre as espécies dos dois extremos da sucessão, Pi e St, com médias de

0,172 g.cm⁻³ e 0,287 g.cm⁻³ respectivamente. As espécies Si não são significativamente diferentes das demais classes (média de 0,216 g.cm⁻³). Não houve diferenças significativas entre as estações do ano ou na interação entre os dois fatores considerados.

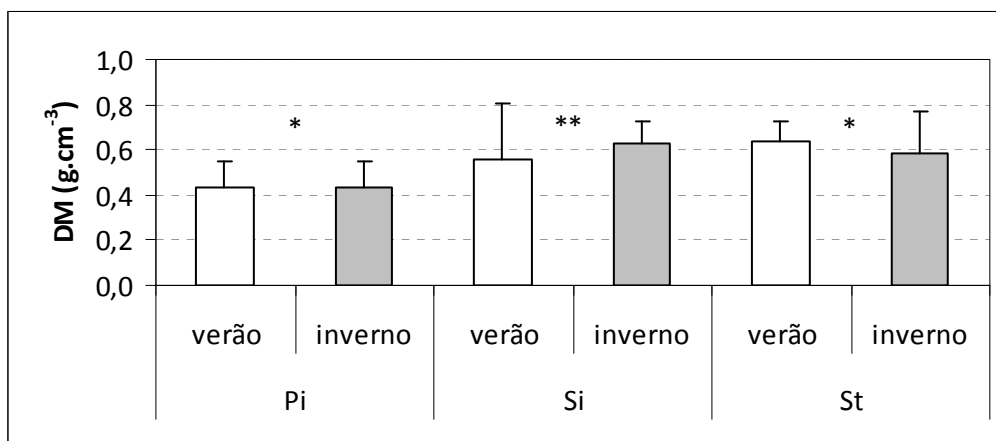


Figura 31. Densidade da madeira (DM – g.cm⁻³) nas classes sucessionais das 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.2.10. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)

A avaliação das 20 amostras de raízes no solo da área de coleta em LAM nas duas estações do ano (Tabela 5) mostrou que a porcentagem média de colonização radicular total (CRT) bem como a colonização por micorriza arbuscular (CA) não se alteraram com as estações do ano. Não foi observada a ocorrência de simbiose radicular nas raízes encontradas.

Tabela 5. Colonização radicular total (CRT – %) e colonização radicular por micorriza arbuscular (CA – %) médias, das amostras de raiz em solo retirado da Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.

	verão	inverno
CRT	61,69 (22,53)	60,12 (20,38)
CA	22,28 (12,37)	24,21 (13,66)

6.2.11. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo

As medidas de disponibilidade de NO_3^- no solo de LAM (Figura 32), estimadas através do uso de resinas de troca iônica, mostraram grande variabilidade entre os pontos de coleta. O íon amônio (NH_4^+) não foi detectado em ambas as estações do ano, por isso não está representado na Figura.

Quanto à presença de NO_3^- nas resinas de troca iônica, esta não foi verificada em todos os pontos de coleta, e mostrou-se maior que $10 \mu\text{g.g}^{-1}$ em apenas um deles, evidenciando baixas concentrações de NO_3^- , de modo geral, no solo de LAM.

A média geral de NO_3^- foi de $0,19 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o verão e $1,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o inverno, mostrando uma tendência a maior quantidade de NO_3^- no inverno.

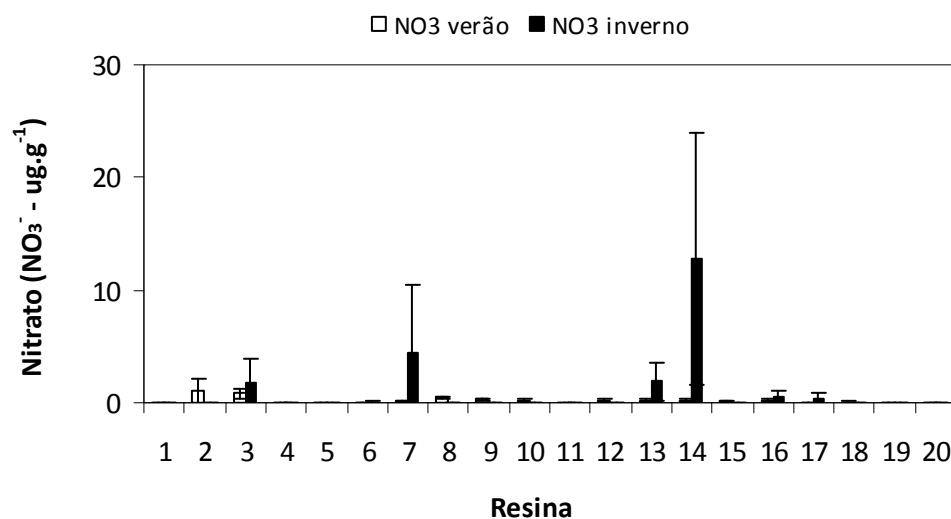


Figura 32. Disponibilidade de nitrato (NO_3^- - $\mu\text{g.g}^{-1}$) no solo da Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). As barras representam o desvio padrão.

6.2.12. Discussão LAM – O Modelo de uso de N em uma Floresta Subtropical Australiana

As análises de ordenação aplicadas às espécies arbóreas selecionadas para o estudo na área de Floresta Subtropical Montana LAM, nas duas estações do ano (verão e inverno), apontaram uma separação entre as classes sucessionais, mostrando haver maiores diferenças entre as estratégias utilizadas pelas plantas das espécies da classe Pi e as demais classes (Si e St), que entre estas últimas no que se refere a aquisição, assimilação, transporte e armazenamento do N disponível no ambiente.

De acordo com o grau de influência das variáveis sobre a componente, foi possível observar que nas espécies Pi estudadas em LAM a importância da ANR potencial também é evidente, bem como da %N foliar,

$\delta^{15}\text{N}$ e o conteúdo de NO_3^- sendo transportado na seiva do xilema. A alta atividade de nitrato redutase para espécies pioneiras já foi observada em diversos estudos já citados anteriormente (Stewart *et al.* 1988, 1990, 1992, Aidar *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012) bem como nas plantas da área de floresta SV deste estudo, sugerindo maior disponibilidade desse íon no solo sob as plantas dessa classe sucessional (Stewart *et al.* 1988), e confirmando que nos estágios iniciais da sucessão florestal os íons NO_3^- são as formas de N disponível para as plantas, também de acordo com o encontrado para outras florestas Australianas, por Stewart *et al.* (1988, 1990), e por Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012) e Marchiori (2012) em florestas brasileiras pertencentes ao domínio Atlântico.

No outro extremo, observou-se que as espécies tardias St de LAM, que representam o grupo oposto da sucessão ecológica, quanto à estratégia de uso de N investiram mais na aquisição e assimilação de outras formas de N que não NO_3^- , possivelmente NH_4^+ , e transportam preferencialmente arginina (Arg) na seiva do xilema, tanto no verão quanto no inverno. Do mesmo modo, esse resultado concorda com o encontrado para as plantas St da floresta SV no presente estudo, e para espécies tardias na sucessão florestal por Stewart *et al.* (1988, 1990) em plantas de duas florestas Australianas, incluindo a área de estudo LAM, e com o encontrado nos estudos com plantas de florestas no Brasil, por Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012) e Marchiori (2012), sugerindo o uso de uma estratégia ecológica mais conservativa em relação às espécies Pi.

Quanto às espécies secundárias iniciais Si de LAM, estas se mostraram similares no comportamento às espécies St, e se caracterizaram principalmente pelo transporte de Arg e Asp na seiva do xilema.

De modo geral, as tendências mostradas pelas espécies de LAM referentes às estratégias no uso de N observadas nas diferentes classes sucessionais acompanham as já observadas em SV, e assim, confirmam o modelo sugerido por Aidar *et al.* (2003) que propõe a existência de um contínuo de estratégias de uso de N entre as plantas de uma Floresta Ombrófila Densa Submontana ao sul do estado de São Paulo. E desse modo, o presente estudo em área de floresta na Austrália, amplia ainda mais a abrangência desse modelo de uso de N, incluindo as plantas dessa Floresta Subtropical Montana e adicionando ao modelo uma abrangência Intercontinental.

No estudo de Stewart *et al.* (1990), realizado em oito comunidades de floresta na Austrália, algumas delas próximas a área do presente estudo, foi observado o mesmo contínuo de estratégias em relação à atividade da enzima nitrato redutase, que foram pelos autores relacionadas diretamente à AFE, conteúdo de água, quantidade de N foliar total e conteúdo de clorofila. Similarmente a esses resultados, as variações na AFE das espécies de LAM, também revelaram diferenças significativas entre as classes sucessionais Si e St, de modo

que essa variável mostrou-se diminuir conforme a sucessão avança. Os autores assumem que conforme o potencial fotossintético aumenta (como sugerido pelo aumento no conteúdo de clorofila observado), há paralelamente um aumento tanto na AFE quanto na %N foliar, e com estes também aumenta a ANR. Isso já havia sido demonstrado em diversas outras comunidades de plantas tanto de clima tropical quanto mediterrâneo (Field *et al.* 1983, Medina 1986, Mooney *et al.* 1978, Field & Mooney 1986). Em recente estudo com mutantes de *Arabidopsis*, foi demonstrado que a distribuição do NO_3^- nas folhas influencia da expansão destas, e que essa distribuição é regulada por um gene localizado no pecíolo foliar (Wang *et al.* 2012).

Nas espécies Pi de LAM, apesar de se observar uma tendência geral a maiores médias de AFE, estas não se mostraram significativamente diferente das demais classes, porém sua média geral, no verão e no inverno respectivamente, ($126,61 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$, $118,74 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$) está mais próxima à das espécies Si ($101,47 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$, $105,46 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$) que das St ($64,53 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$, $87,68 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$).

Da mesma forma que aconteceu com as plantas em SV, a maioria das plantas de LAM apresentou valores de ANR de baixa a média, considerando o valor de $200 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$ como sendo atividade média de assimilação de NO_3^- foliar, como proposto por Stewart *et al.* (1992). O que também é similar ao encontrado por Pereira-Silva (2008), que relaciona essa baixa atividade com as características oligotróficas do solo, como a escassez de NO_3^- e de NH_4^+ , elevada acidez, pouca reatividade na matéria orgânica e baixas atividades orgânicas e biológicas, que indisponibilizam os nutrientes. E no caso dos solos de LAM, também se encontrou baixa concentração desses íons, menores ainda que as encontradas em SV.

Stewart *et al.* (1998) em estudo em outra região da floresta de LAM a 300m de altitude, encontrou atividades de NR ainda menores que as mostradas por este estudo, segundo os autores, 90% das espécies tiveram ANR menor que $100 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$ e em 55% delas isso foi menor que $25 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$. As únicas espécies que ultrapassaram esses valores foram as pioneiras, que tiveram 80% delas ultrapassando os $250 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$ e algumas, como *Solanum spp.* e *Trema aspera*, alcançando os $2000 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$.

Já as espécies tardias na sucessão do presente estudo foram caracterizadas pelas menores ANR ($< 100 \text{ pkat.g}^{-1} \text{ MF}$) em ambas as estações avaliadas, resultados também semelhantes aos encontrados em SV, e no geral menores que o encontrado em outros estudos: Stewart *et al.* (1988, 1990, 1992, 1993), Schmidt *et al.* (1998), Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012) e Marchiori (2012).

Acompanhando o comportamento das espécies estudadas em SV, as plantas em LAM também evidenciaram maiores ANR na classe das pioneiras, porém no geral essa atividade foi maior que as das plantas de SV. A maior atividade no verão nas plantas Pi foi mantida, porém em menor escala de diferença. Assim, sugere-se que para esta classe sucessional, a ANR diminuiu no inverno devido à queda da temperatura e

diminuição das chuvas, e se manteve alta no verão juntamente com o aumento do comprimento do dia e maior intensidade luminosa (Stewart *et al.* 1990).

Em particular a espécie *Pi Polyscias elegans* obteve ANR ainda maior que a apresentada pela mesma espécie no estudo de Stewart *et al.* (1988), enquanto que *Trema aspera* e *Solanum aviculare* mostraram menores atividades no presente estudo. A primeira espécie citada aqui, porém, quando observada individualmente teve maior ANR no inverno que no verão (ver ANEXO 2), comportamento este similar ao encontrado para espécies secundárias de SV.

Em LAM, as plantas parecem ser menos afetadas pela sazonalidade no que se refere ao uso de N, pois a única variável que apresentou diferenças significativas entre as estações do ano para todas as classes sucessionais estudadas foi a $\%NO_3^-$ na seiva do xilema, que foi menor no verão, revelando que as plantas de LAM transportam mais NO_3^- na estação mais seca, o inverno, em adição ao que ocorre com ANR que se mostrou maior na estação seca na maioria das espécies, apesar desse resultado não ser significativamente diferente quando considerado em termos médios entre os grupos sucessionais.

De acordo com a discussão feita anteriormente diante desse resultado entre as espécies da área de estudo SV, sugere-se que este aumento da ANR no inverno está mais relacionado à aclimação ao frio que à competição por recursos, ou mesmo demanda nutricional, e no caso das espécies de LAM, isso foi acompanhado de um aumento no transporte de NO_3^- na seiva. Assim, a ANR nessa época do ano estaria mais comprometida com a produção de NO em resposta da planta ao estresse causado por baixas temperaturas, como sugerido por Cantrel *et al.* (2011), que no caso de LAM parece ter sido acompanhada da retranslocação do NO_3^- como molécula sinalizadora.

O íon NO_3^- é conhecido por funcionar como molécula sinalizadora que regula a expressão gênica, arquitetura das raízes, expansão foliar, dormência das sementes e floração (Krouk *et al.* 2010). Uma vez dentro da planta, o NO_3^- pode ser estocado nos vacúolos ou assimilado em amônio para síntese de aminoácidos, e a translocação deste das raízes para os galhos tem como primeiro passo a entrada nos vasos do xilema, e estudos demonstram que este influxo é maior quanto mais ácido é o pH da solução externa e que existe uma interdependência desse movimento com as concentrações de P (Wang *et al.* 2012).

A aparentemente menor influência da sazonalidade quanto ao uso de N pelas plantas dessa floresta em LAM pode ser devido a sua localização em menor latitude que a floresta SV, de modo que apesar de possuírem uma mesma altitude, o fato de LAM estar mais abaixo dos trópicos que SV, sugere maior aclimação ao ambiente pelas espécies dessa floresta australiana, que estão aparentemente mais adaptadas à sazonalidade existente. Marcadamente também se pode observar nos dados de clima das duas florestas,

apresentados no item Material e Métodos, que existe menor variação tanto no regime de chuvas quanto nas temperaturas da floresta australiana no ano avaliado, ao contrário do que ocorreu em SV, que revelou um inverno muito mais frio que o de LAM no ano de coleta.

Nesse sentido, o uso de N pelas plantas da floresta de LAM confirma as evidências já encontradas nas plantas de SV, com espécies tardias reciclando mais o N interno (como sugerido pelo transporte de Arg, de acordo com Schmidt & Stewart 1998, Pereira-Silva 2008), mostrando-se mais plásticas em relação ao uso desse recurso (Ashton *et al.* 2010) e transportando N de forma mais eficiente, e com espécies pioneiras reduzindo e transportando NO_3^- , estando de acordo com os resultados encontrados em SV e com os estudos de Stewart *et al.* (1988, 1990, 1992, 1993), Schmidt *et al.* (1998), Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012) e Marchiori (2012).

De fato, similar ao que foi encontrado nas plantas de SV, em LAM, não houve diferenças significativas entre as concentrações de NO_3^- nas folhas das espécies, e os valores médios encontrados neste estudo foram baixos quando comparados aos encontrados na literatura (Schmidt *et al.* 1998, Aidar *et al.* 2003, Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Silva 2012, Marchiori 2012). Além disso, não houve relação positiva entre ANR e NO_3^- foliar, mostrando não haver dependência da ANR com a concentração do substrato na folha (Vogel & Dawson 1991) e sugerindo que o acúmulo do NO_3^- foliar tem função de reserva, estando mais relacionado a funções osmóticas intracelulares do que nutricionais (Smirnoff & Stewart 1985). Em adição, a razão CN também foi menor nas espécies Pi, mostrando maior investimento destas em N que em C, ao contrário do que fazem as espécies secundárias, que investem mais em estrutura para manter a maior longevidade (Pereira-Silva 2008, Silva 2012).

Em relação ao $\delta^{15}\text{N}$, as espécies de LAM mostraram uma queda na assinatura isotópica nas classes secundárias da sucessão, ao contrário do proposto pelo modelo de Aidar *et al.* (2003), que considera que o $\delta^{15}\text{N}$ aumenta no contínuo de sucessão florestal. Quando se comparou esse resultado com o encontrado nas plantas de SV, que mostraram menores valores nas espécies da classe Pi, não foi possível relacionar esses dados com os demais e sugeriu-se novamente que essa variável não é muito importante na determinação de padrões relacionados as estratégias de uso de N pelas espécies.

Ainda similarmente ao encontrado para as plantas em SV, em LAM a densidade da madeira (DM) aumentou com o avanço da sucessão florestal, com as espécies Pi mostrando os menores valores e as St os maiores, enquanto que as espécies Si obtiveram valores intermediários. Assim, esses resultados confirmaram o já observado por outros estudos na literatura, de que plantas iniciais na sucessão e com ciclo de vida curto possuem madeiras de baixa densidade, ao contrário das plantas tolerantes à sombra ou de estágio sucessional

tardio e ciclo de vida longo, que se caracterizam por tendências opostas, e plantas de tolerância intermediária à sombra, tendem a apresentar características também intermediárias entre os dois extremos (ter Steege & Hammond 2001, Muller-Landau 2004, Chave *et al.* 2009, Poorter *et al.* 2009, Pütz *et al.* 2011).

Consequentemente, a maior DM das espécies tardias na sucessão possibilita maiores alturas em suas plantas, maior vantagem competitiva por luz, mais ganho de C, maiores longevidade e tempo de reprodução (Falster & Westoby 2003, Moles *et al.* 2004, Petit & Hampe 2006), e concordam com os resultados encontrados em SV, sugerindo que as plantas destas espécies, juntamente com maior razão CN foliar e menores NRA e $\%N-NO_3^-$ sendo transportado na seiva do xilema, sustentam uma estratégia mais conservativa no uso do recurso N em relação às espécies iniciais na sucessão, possibilitando às primeiras maior longevidade, e economia na utilização de N em relação às segundas, que têm maior custo energético no uso de N com sua estratégia menos conservativa, compensada geralmente por maiores taxas fotossintéticas e menor tempo de reprodução.

6.3. Cerrado sensu stricto do Parque Estadual de Vassununga, Gleba Pé-de-gigante (PDG)

6.3.1. Análise de ordenação – PDG

A análise de ordenação dos resultados obtidos no verão no PDG (Figura 33) teve 48,33% da variância explicada, e não mostrou uma clara distinção entre as classes fenológicas das espécies.

Porém, a PCA evidencia a separação das espécies pertencentes à família Leguminosae (Dim, Mac, Bau, Plat, And, Ana, Cop, Plathy, Dip, Dal, Hymm, HymS) que juntamente a outras cinco espécies (Fic, Oco, Toc, Xyl e Byr) restringem-se ao lado direito do eixo 1. A localização dessas espécies na PCA pode ser mais bem explicada pelas seguintes variáveis: %NAsn e %N em relação ao eixo 1, e %NAsp e NO_3 folha com relação ao eixo 2. Esse grupo de espécies foi didaticamente denominado de “TrASN” ou “*spp transportadoras de asparagina*”. A análise feita *a posteriori* pôde constatar que este grupo possui em comum uma preferência pelo transporte de Asn e Glu na seiva do xilema, além de Arg, com esta sendo menos importante que as primeiras.

Por outro lado, puderam-se verificar outras duas tendências de separação distintas: a das espécies definidas pelo uso de Arg (“TrARG” ou “*spp transportadoras de arginina*”), que inclui todas as espécies pertencentes à família Myrtaceae – Myrb, Myrl, Eug, Cam – além de Qua – Vochysiaceae – e Rou – Proteaceae, que estão no quadrante de valores negativos para os eixos 1 e 2, e que contam com razão CN, %NGln e %NNO₃ como variáveis importantes na sua definição; e o “TrGLN” ou das “*spp transportadoras de*

glutamina”, que incluem Ann, Sch, Asp e Vir, e são melhor explicadas por ANR, %NGlu, $\delta^{15}\text{N}$ com relação ao eixo 2, e razão CN, %NGln e %NNO₃ com relação ao eixo 1. Nota-se que estas últimas, como verificado em análise *a posteriori*, têm em comum alta ANR, maiores AFE (média de 18,32 cm².g⁻¹) quando comparadas às médias dos demais grupos (9,43 para o TrASN e 9,22 para o TrARG), menores DM e a concentração de NO₃⁻ sendo transportado na seiva do xilema bem maior que nos outros dois grupos observados.

Esses padrões observados para a PCA no verão são também válidos para a ordenação feita com os dados do inverno (Figura 34), que teve 42,89% da variância explicada. A diferença do verão para o inverno está na importância das variáveis na definição da localização das espécies na ordenação. Assim, no inverno, o grupo TrASN é definido por %NAsn e %NAsp com relação ao eixo 1, e razão CN em relação ao eixo 2; o grupo TrARG é definido não apenas pela %NArg, mas também pela %N e %NGln com relação ao eixo 1 e %N e %NGln com relação ao eixo 2; e o grupo TrGLN é definido por %NGln, %NArg e %N com relação ao eixo 1, e razão CN, %NGln, %NNO₃ e ANR com relação ao eixo 2.

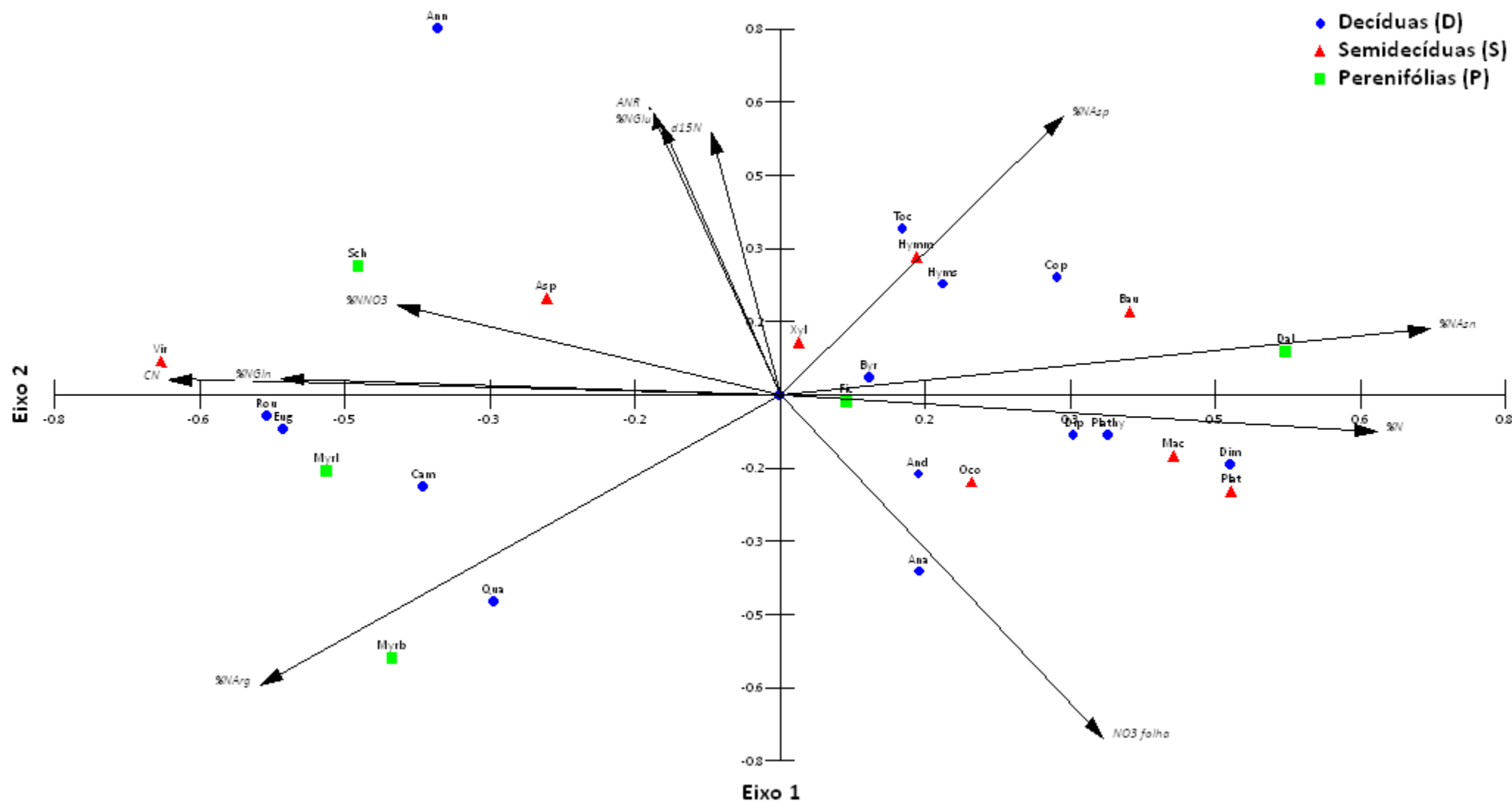


Figura 33. Ordenação (PCA) das 27 espécies estudadas no PDG, e suas classes fenológicas (D, S e P), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 3.

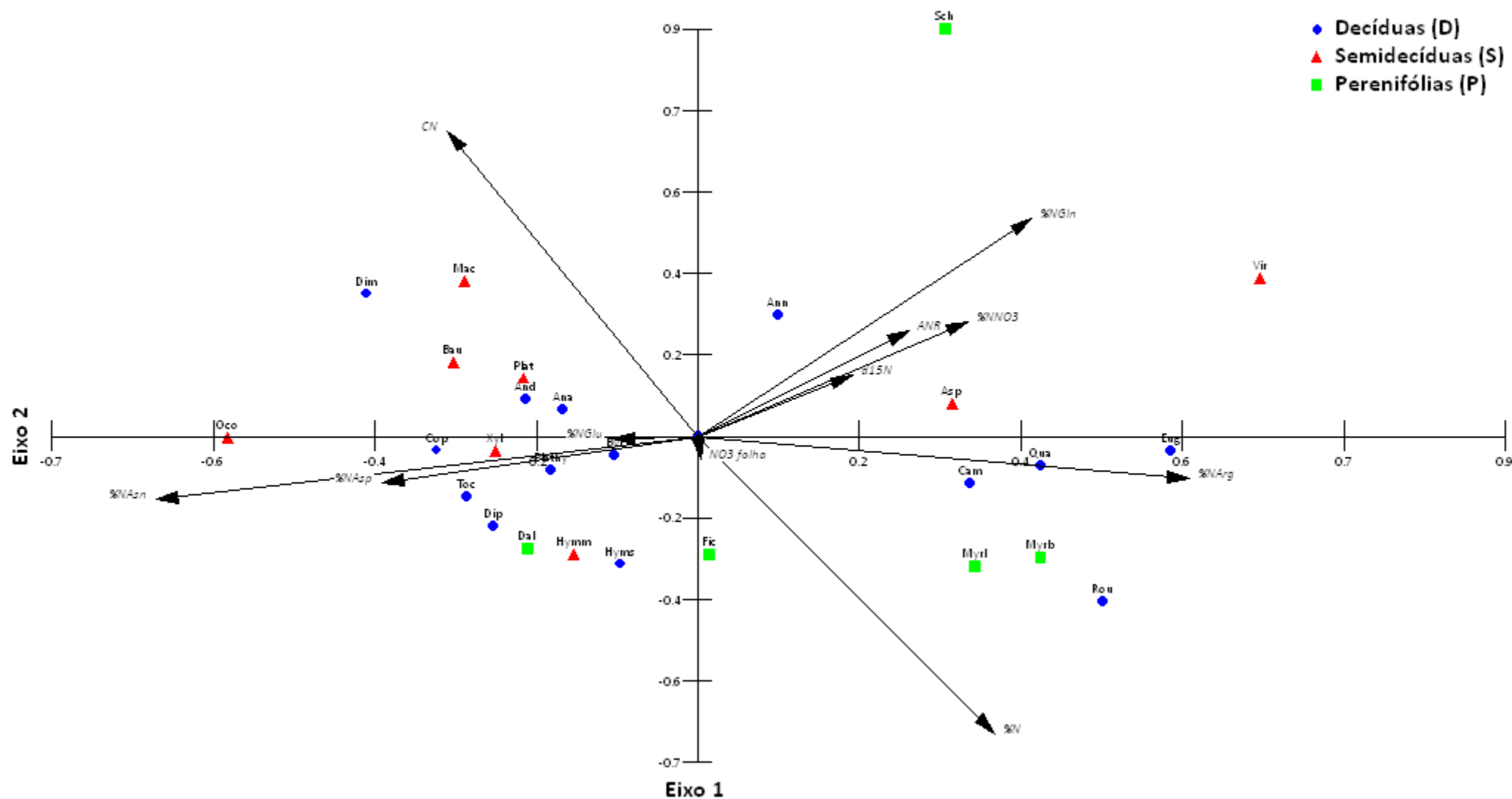


Figura 34. Ordenação (PCA) das 27 espécies estudadas em PDG, e suas classes fenológicas (D, S e P), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %Nxxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados na Tabela 3.

6.3.2. Atividade da enzima nitrato redutase (ANR)

A análise dos dados médios de ANR para o PDG (Figura 35), realizada através de ANOVA de dois fatores considerando como base as classes fenológicas, apontou diferenças significativas entre as estações do ano ($F_{1,116} = 4,791$; $p = 0,031$). Não houve diferenças entre as classes fenológicas e na interação entre os fatores. As diferenças apontadas são devido à maior ANR observada no inverno para todas as fenologias avaliadas, como confirmado por teste de Tukey *a posteriori*. Detalhes por espécie na Tabela A3 (ANEXO 3).

A análise dos dados médios de ANR para o PDG considerando as classes encontradas *a posteriori* (Figura 36), realizada através de ANOVA de dois fatores, apontou diferenças significativas entre as estações do ano ($F_{1,116} = 6,407$; $p = 0,012$), entre as classes ($F_{1,116} = 8,734$; $p < 0,001$) e na interação entre os fatores ($F_{1,116} = 3,686$; $p = 0,028$). As diferenças apontadas são devido à maior ANR observada no inverno para as classes TrASN e TrARG, e no verão para a classe TrGLN, e devido à maior ANR observada na classe TrGLN.

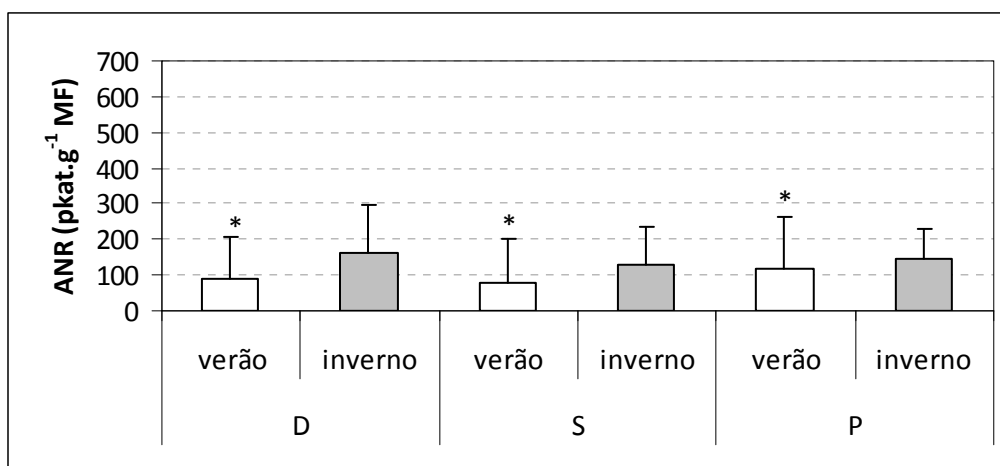


Figura 35. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – pkat.g^{-1} MF) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

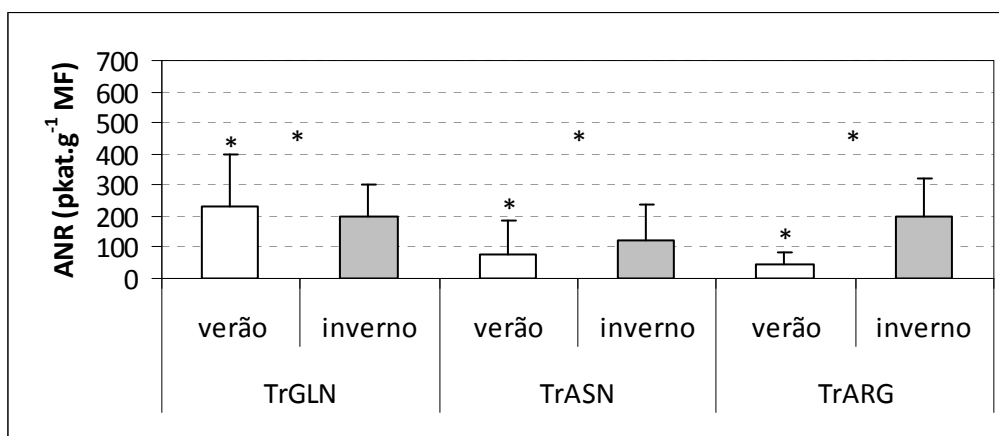


Figura 36. Atividade da enzima nitrato redutase foliar (ANR – pkat.g⁻¹ MF) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.3.3. Concentração de NO_3^- na folha (NO_3^- folha)

A análise dos dados médios de concentração de NO_3^- na folha para o PDG baseada nas classes fenológicas (Figura 37), evidenciou diferenças significativas entre as estas ($F_{2,116} = 3,907$; $p = 0,023$), mostrando que as espécies P são diferentes das espécies pertencentes às demais fenologias possuindo menores concentrações de NO_3^- foliar com relação às estas, e entre as estações do ano ($F_{1,116} = 14,291$; $p < 0,001$), apontando que no inverno a concentração de NO_3^- é maior que no verão. Para mais detalhes, ver valores numéricos por espécie na Tabela A3 (ANEXO 3).

Já a análise dos dados médios de concentração de NO_3^- na folha com base nas classes encontradas *a posteriori* (Figura 38), evidenciou diferenças significativas entre as estações do ano ($F_{1,116} = 13,17$; $p < 0,01$), mostrando que a concentração de NO_3^- na folha foi maior no inverno para todas as classes.

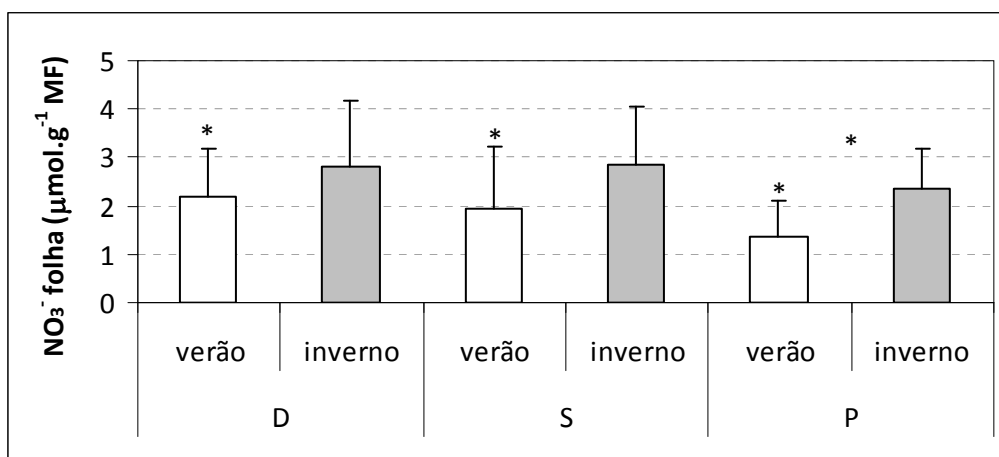


Figura 37. Concentração de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻ folha – μmol.g⁻¹ MF) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*).

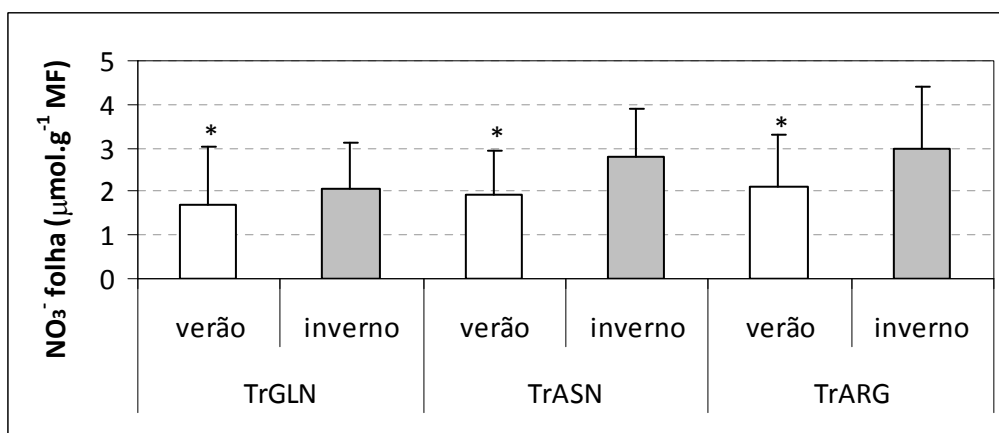


Figura 38. Concentração de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻ folha – μmol.g⁻¹ MF) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para p<0,05 (*).

6.3.4. Conteúdo de NO_3^- na seiva do xilema (%N- NO_3^-)

A análise de variância das porcentagens médias de conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema baseada nas classes fenológicas das plantas estudadas no PDG (Figura 39) mostrou que existem diferenças significativas apenas entre as mesmas ($F_{2,116} = 3,339$; $p = 0,039$).

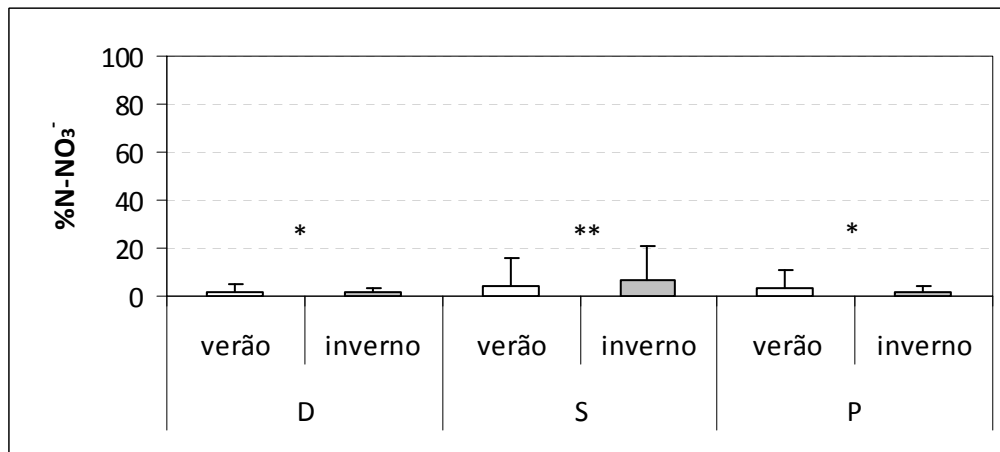


Figura 39. Conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (N- NO_3^- – %) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

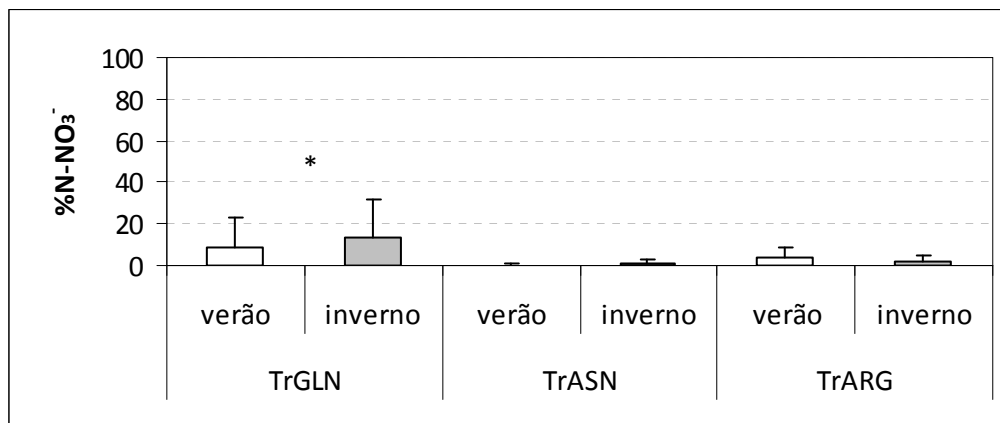


Figura 40. Conteúdo de N sob a forma de NO_3^- na seiva do xilema (N- NO_3^- – %) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

O teste de Duncan realizado *a posteriori* identificou a separação entre D e S, sendo P igual às duas outras classes estatisticamente. As espécies S transportam mais NO_3^- que as D, as espécies P, por sua vez, transportam o NO_3^- em quantidades similares a ambas as primeiras, em ambas as estações do ano.

A análise dos dados médios de %N- NO_3^- na seiva do xilema para as classes encontradas *a posteriori* (Figura 40) evidenciou diferenças significativas entre as classes ($F_{1,116} = 17,21$; $p < 0,01$), mostrando que a %N- NO_3^- foi maior na classe C.

6.3.5. Composição de aminoácidos na seiva do xilema

As análises de variância das porcentagens médias dos compostos presentes na seiva, na comparação entre as classes fenológicas (Figura 41), mostraram que existem diferenças significativas entre estas com relação à N-Gln ($F_{2,116} = 10,012$; $p = 0,001$), com as espécies P se diferenciando das demais por transportar mais Gln, como confirmado pelo teste de Tukey *a posteriori*, e com relação à N-Glu ($F_{2,116} = 4,001$; $p = 0,021$), com as espécies S transportando mais Glu, D transportando menos e P sendo não diferente estatisticamente das demais classes fenológicas. Diferenças significativas entre as estações do ano ocorreram apenas com relação à N-Asp ($F_{1,116} = 10,012$; $p = 0,002$), mostrando maior transporte desse aminoácido no verão que no inverno em todas as classes fenológicas.

A % de N sob a forma de NO_3^- foi representada novamente na Figura 40 a título de comparação com os demais compostos da seiva, estando este detalhado especificamente no item anterior.

De modo geral, independente da classe fenológica, todas as espécies transportaram Arg e Asn em maiores quantidades, enquanto que os demais compostos apareceram em menores quantidades, mas se mostraram também presentes na seiva de todas elas.

Considerando a análise da composição da seiva do xilema com base na comparação entre as classes observadas *a posteriori* (Figura 42), foram encontradas diferenças significativas em relação à N-Arg ($F_{1,116} = 122,1$; $p < 0,01$), N-Asn ($F_{1,116} = 79,81$; $p < 0,01$), N-Asp ($F_{1,116} = 5,292$; $p = 0,006$), N-Gln ($F_{1,116} = 29,76$; $p < 0,01$) e N- NO_3^- ($F_{1,116} = 17,21$; $p < 0,01$). Apenas N-Asp mostrou diferenças entre as estações do ano ($F_{1,116} = 13,17$; $p < 0,01$).

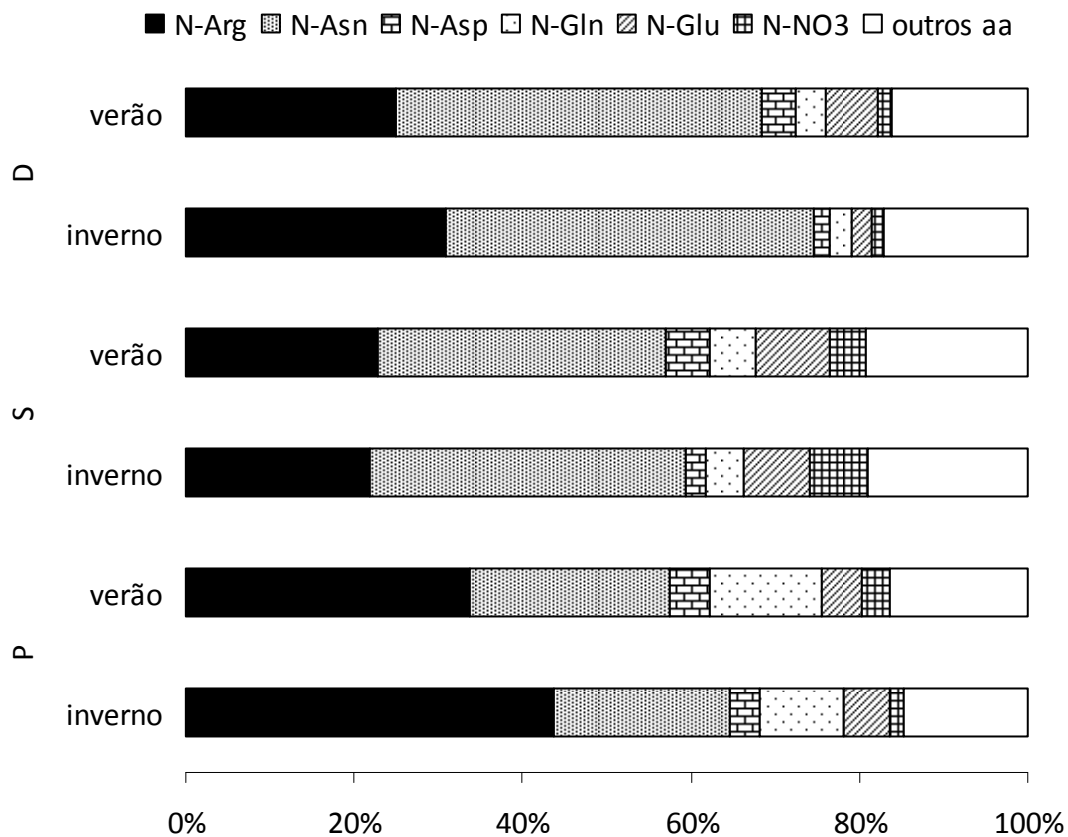


Figura 41. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO_3 = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.

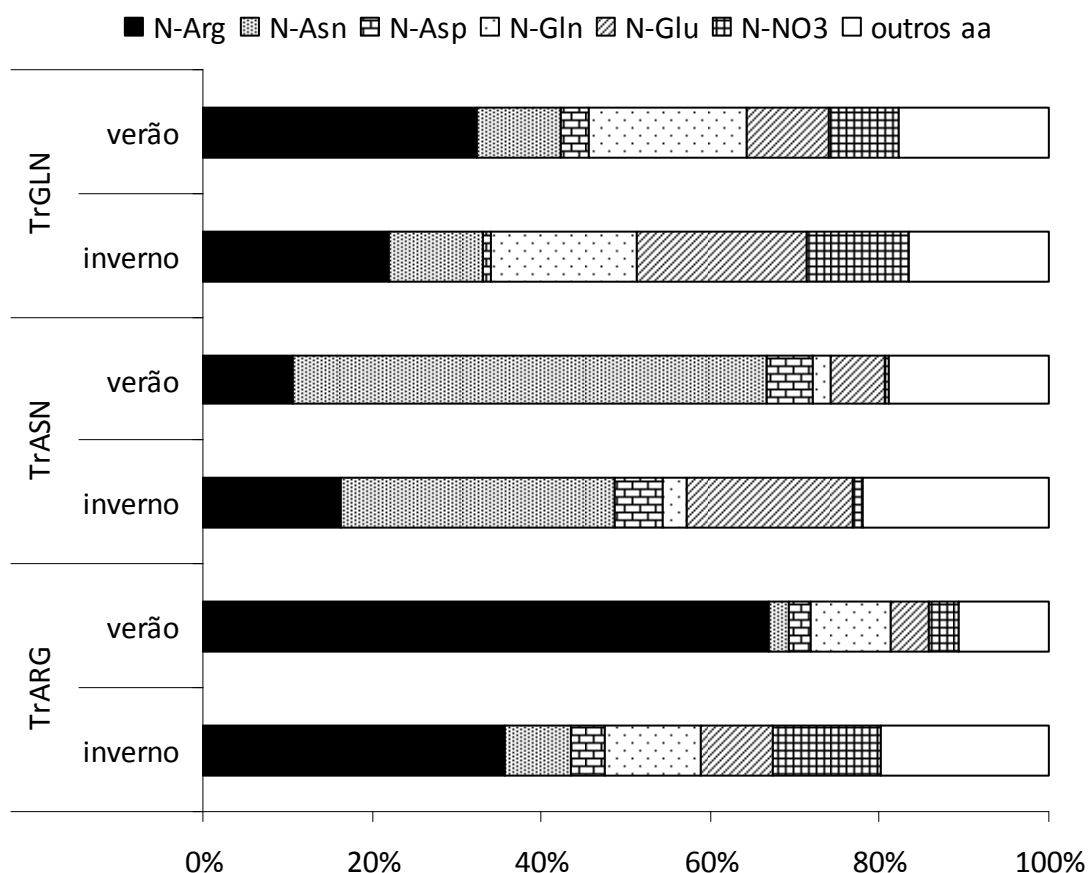


Figura 42. Teor de N na forma de aminoácidos e NO_3^- na seiva do xilema (%) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln, N-nome do composto = % do composto relativo à % total de N na seiva, Arg = arginina, Asn = asparagina, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Glu = glutamato, NO_3^- = nitrato, outros aa = soma dos outros 20 aminoácidos.

6.3.6. Razão Carbono/Nitrogênio na folha (CN)

A análise de variância da razão CN das plantas estudadas no PDG, na comparação entre as classes fenológicas (Figura 43) mostrou diferenças significativas apenas entre as estações do ano ($F_{1,116} = 6,545$; $p = 0,012$). O teste de Tukey *a posteriori* identificou que os valores de razão CN para o inverno foram maiores que os encontrados no verão para todas as classes fenológicas estudadas.

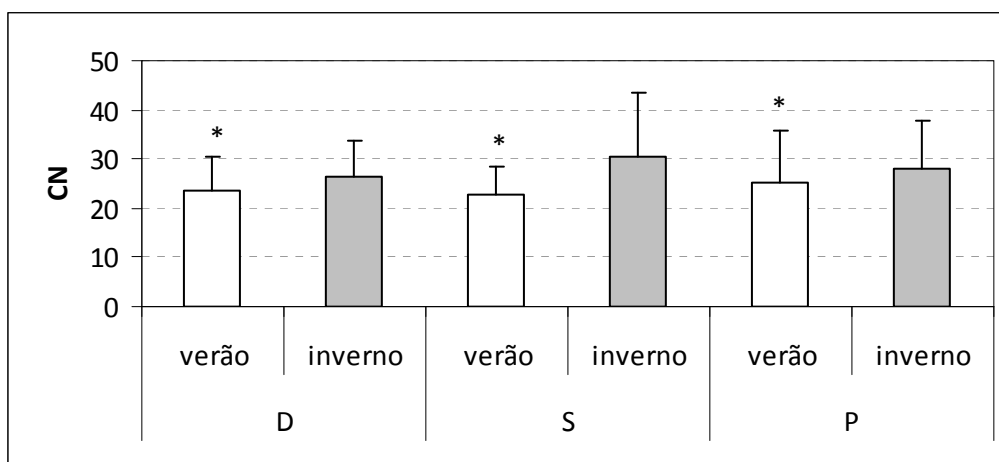


Figura 43. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

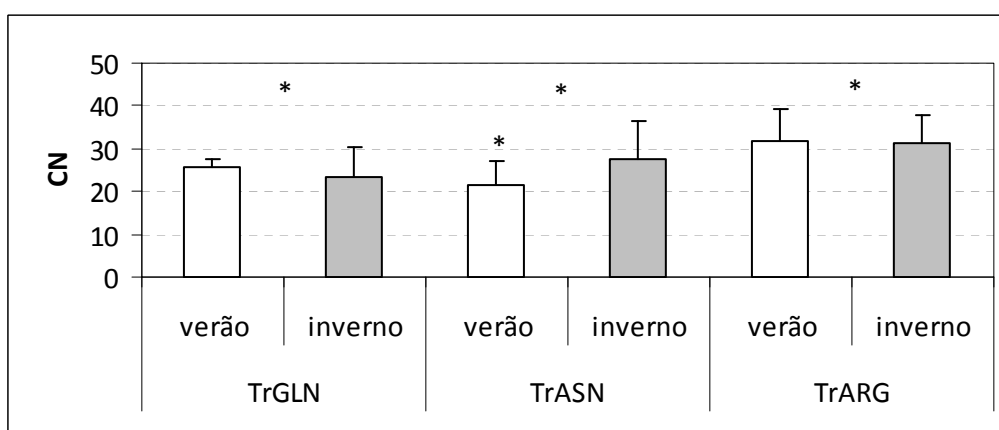


Figura 44. Razão carbono/nitrogênio foliar (CN) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

As análises estatísticas baseadas na separação entre as classes encontradas *a posteriori* (Figura 44), mostraram diferenças entre as estações do ano ($F_{1,116} = 5,893$; $p = 0,016$), entre as classes ($F_{1,116} = 10,5$; $p < 0,01$) e na interação entre estes fatores ($F_{1,116} = 3,998$; $p = 0,021$). O teste de Tukey realizado *a posteriori* revelou que estas diferenças foram devidas principalmente ao maior razão CN na classe TrARG, e no inverno para as plantas da classe TrASN.

6.3.7. Isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N}$)

A análise de variância do isótopo estável ^{15}N na folha ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) nas plantas estudadas no PDG segundo a comparação entre as classes fenológicas (Figura 45) não mostrou diferenças significativas entre estas, entre as estações do ano, ou na interação entre os fatores avaliados.

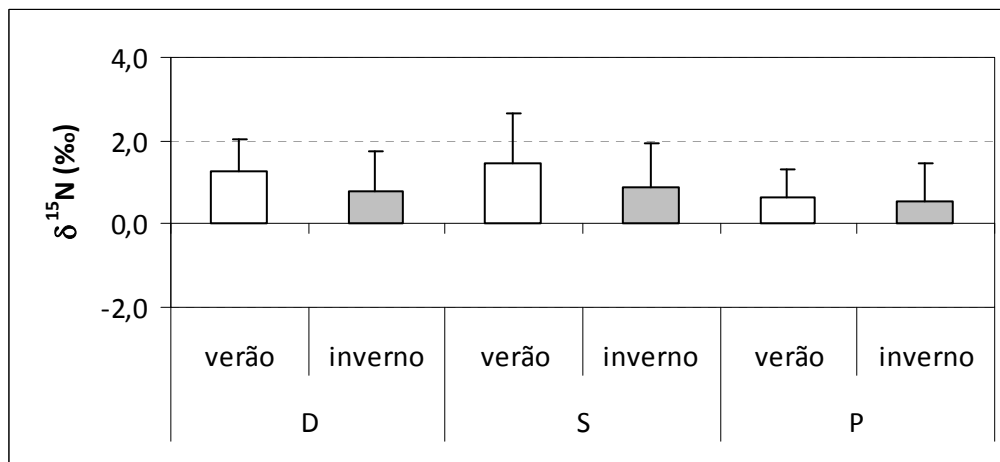


Figura 45. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. As diferenças encontradas não foram significativas.

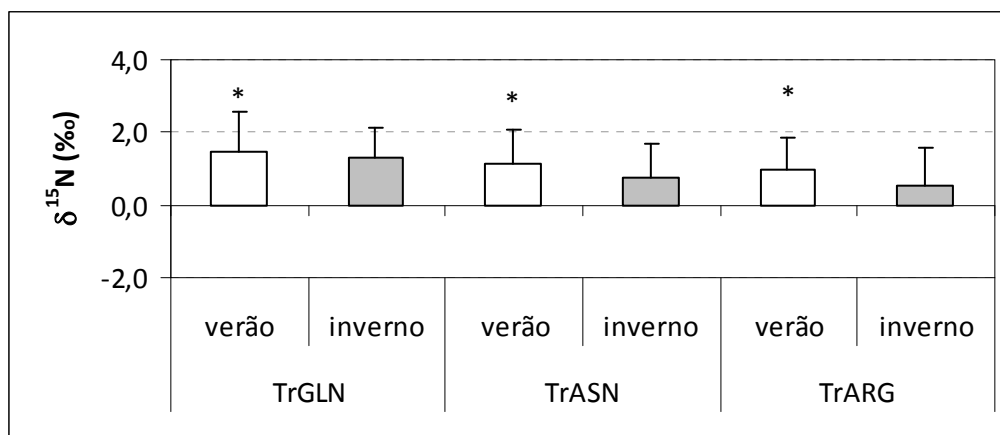


Figura 46. Abundância natural do isótopo estável ^{15}N foliar ($\delta^{15}\text{N} - \text{‰}$) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

Na análise que considera as classes encontradas *a posteriori* (Figura 46) revelou diferenças significativas entre as estações do ano ($F_{1,116} = 4,054$; $p = 0,046$), mostrando que os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ foram maiores no verão para todas as classes avaliadas.

6.3.8. Área foliar específica (AFE)

A análise de variância da AFE (Figura 47) das plantas estudadas no PDG, na comparação entre as classes fenológicas, não evidenciou diferenças significativas entre estas, entre as estações do ano, ou na interação entre os fatores avaliados. Porém a análise baseada nas classes encontradas *a posteriori* (Figura 48) mostrou diferenças significativas entre as classes ($F_{1,116} = 9,372$; $p < 0,01$), sendo os valores médios de AFE nas plantas da classe C maiores que os da classe A, por sua vez maiores que os encontrados na classe B.

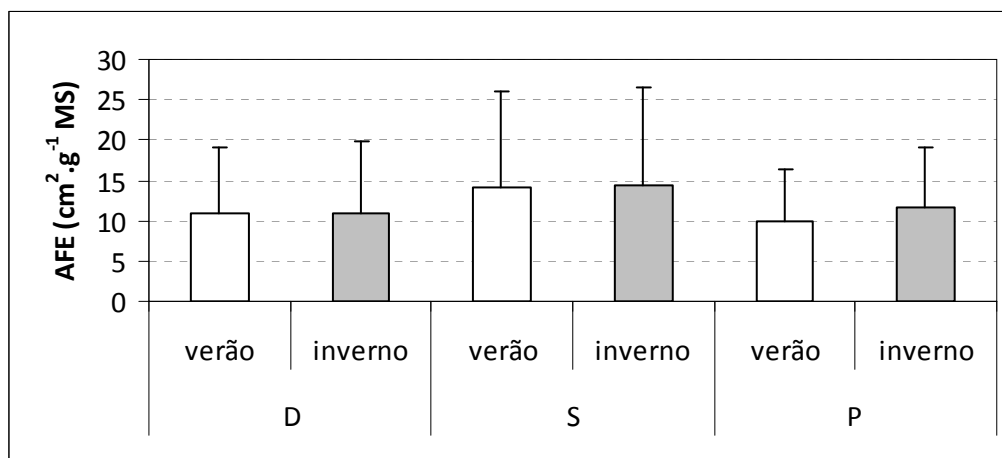


Figura 47. Área foliar específica (AFE – cm².g⁻¹ MS) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. As diferenças encontradas não foram significativas.

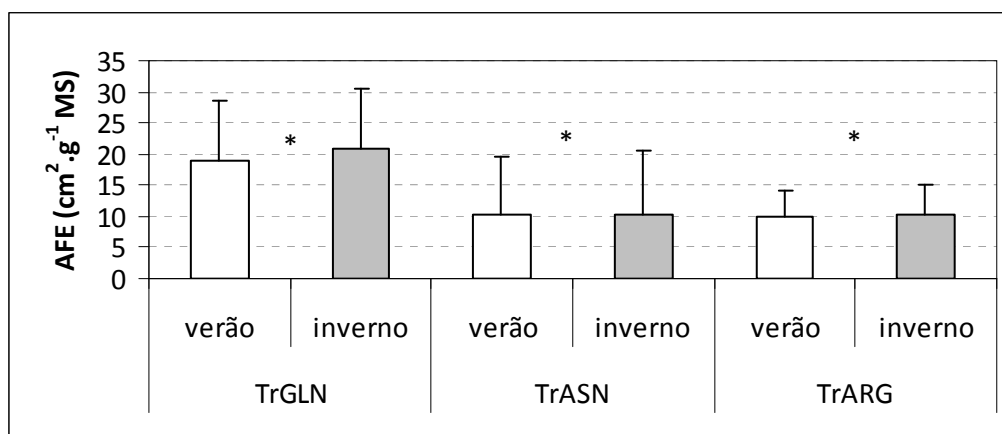


Figura 48. Área foliar específica (AFE – cm².g⁻¹ MS) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.3.9. Densidade da madeira (DM)

A análise de variância da DM (Figura 49) das plantas estudadas no PDG, na comparação entre as classes fenológicas, evidenciou que não existem diferenças significativas entre estas, entre as estações do ano, ou na interação entre os fatores avaliados. Porém nas análises baseadas na comparação entre as classes encontradas *a posteriori* (Figura 50), houve diferenças significativas entre estas ($F_{1,116} = 18,5$; $p < 0,01$), devido aos menores valores encontrados para as plantas pertencentes à classe C.

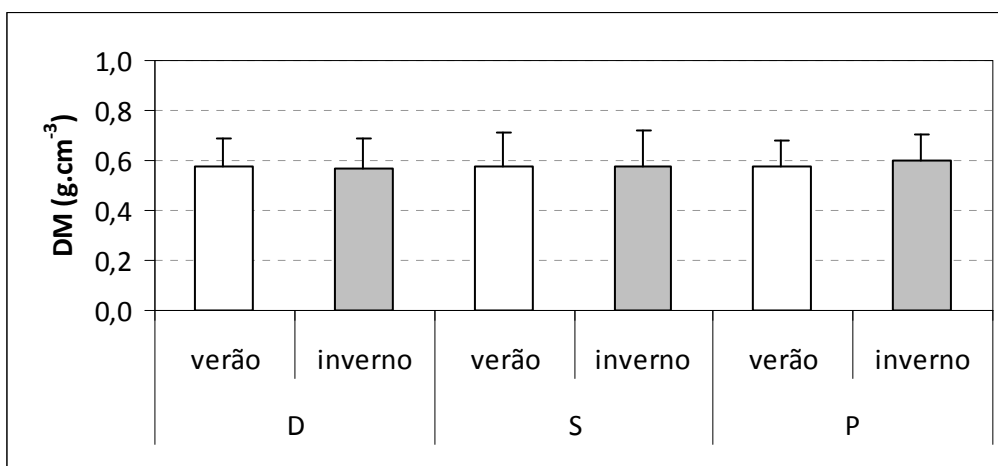


Figura 49. Densidade da madeira (DM – g.cm⁻³) nas classes fenológicas das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. As barras representam o desvio padrão. As diferenças encontradas não foram significativas.

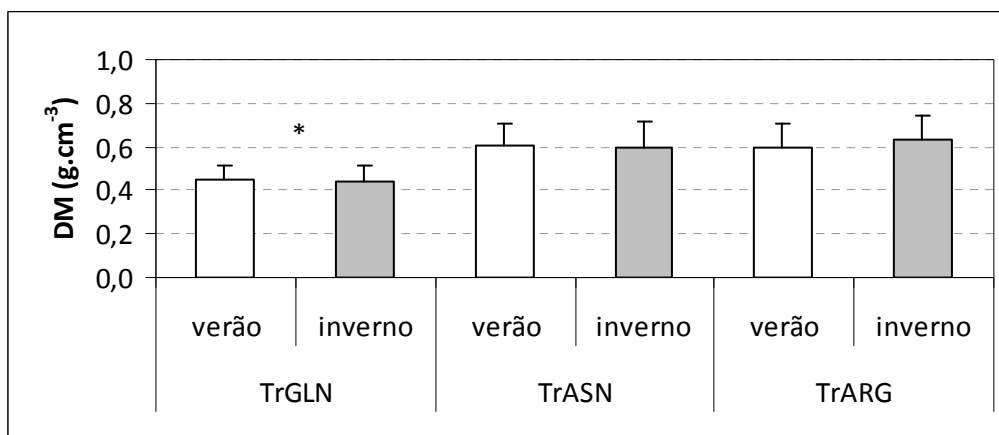


Figura 50. Densidade da madeira (DM – g.cm⁻³) em três classes das 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, TrASN = espécies transportadoras de Asn, TrARG = espécies transportadoras de Arg e TrGLN = espécies transportadoras de Gln. As barras representam o desvio padrão. Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$ (*).

6.3.10. Ocorrência de simbiose radicular e colonização por micorrizas (MIC)

A avaliação das 18 amostras de raízes no solo do cerrado PDG nas duas estações do ano (Tabela 6) mostrou que a porcentagem média de colonização radicular total (CRT) bem como a colonização por micorriza arbuscular (CA) foram maiores no verão do que o inverno. Foi observada a ocorrência de simbiose radicular nas raízes encontradas em cinco amostras de solo coletado no inverno. Esses nódulos apresentavam coloração alaranjada e o corte permitiu observar umidade interna, o que sugere possível atividade fixadora nos mesmos.

Tabela 6. Colonização radicular total (CRT – %) e colonização radicular por micorriza arbuscular (CA – %) médias, das amostras de raiz em solo retirado do cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.

	verão	inverno
CRT	74,91 (9,16)	37,30 (14,86)
AC	62,67 (9,12)	27,28 (11,26)

6.3.11. Disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo

As medidas de disponibilidade de NO_3^- e NH_4^+ no solo do PDG (Figura 51), estimadas através do uso de resinas de troca iônica, mostraram grande variabilidade entre os pontos de coleta, para ambos os íons avaliados.

O íon amônio (NH_4^+) foi detectado em apenas três pontos de coleta no verão, e em um deles apresentou concentração alta no valor de $28,13 \mu\text{g.g}^{-1}$. A média dos três pontos foi de $2,02 \mu\text{g.g}^{-1}$.

Quanto à presença do íon NO_3^- nas resinas de troca iônica, esta foi verificada em todos os pontos de coleta no verão, porém apareceu em apenas três pontos no inverno, em baixíssima concentração quando comparado ao verão. No verão, dois pontos de coleta mostraram concentração média desse íon maior que $10 \mu\text{g.g}^{-1}$, evidenciando que o NO_3^- está presente no solo do cerrado PDG, e em maiores concentrações que nas florestas estudadas. A média geral de NO_3^- foi de $6,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o verão e $0,002 \mu\text{g.g}^{-1}$ para o inverno, mostrando uma tendência a maior quantidade de NO_3^- no verão.

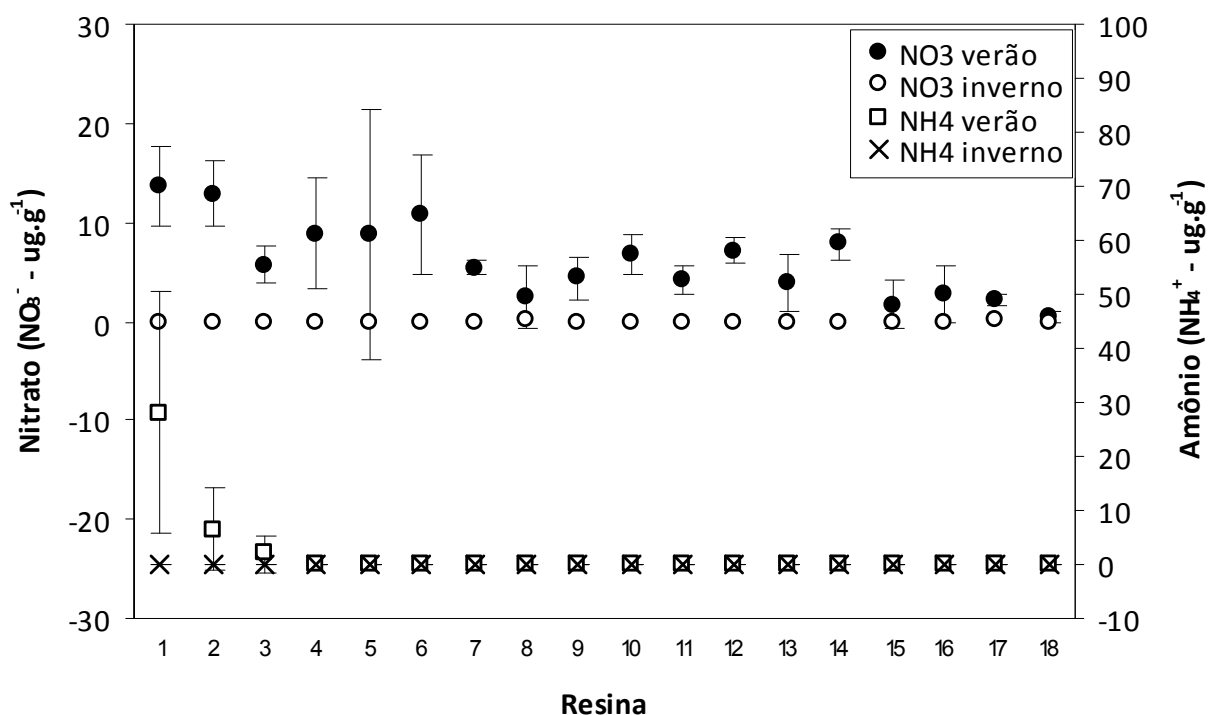


Figura 51. Disponibilidade de nitrato (NO_3^- e NH_4^+ - $\mu\text{g.g}^{-1}$) no solo do cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). As barras representam o desvio padrão.

6.3.12. Discussão PDG – O uso de N por plantas de Cerrado

As análises de ordenação aplicadas às espécies arbóreas selecionadas para o estudo na área de Cerrado *sensu stricto* do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), nas duas estações do ano (verão e inverno), não apontaram uma separação clara entre as classes fenológicas em relação às variáveis alusivas ao uso de N, e juntamente com as demais análises realizadas com estes dados, mostraram haver maiores diferenças entre as estações do ano que entre as estratégias fenológicas das espécies. Assim, no que se refere à aquisição, assimilação, transporte e armazenamento do N disponível no ambiente, não existe dependência direta do uso de N com a fenologia das espécies deste cerrado.

Porém, a PCA evidencia uma separação clara das espécies pertencentes à família Leguminosae e outras cinco espécies (Fic, Oco, Toc, Xyl e Byr) em relação às espécies pertencentes à família Myrtaceae, que juntamente com outras duas espécies (Qua e Rou) se agruparam por comportamento similar em relação às variáveis analisadas, e que por sua vez se mostraram diferentes de um terceiro grupo que mostrou funções

similares entre suas espécies (Sch, Vir, Ann e Asp).

Assim, de acordo com o grau de influência das variáveis sobre a componente, foi possível observar a separação de três grupos distintos, criados *a posteriori*: o grupo de espécies transportadoras de Asn, Arg e Glu que foi nomeado didaticamente como “TrASN” ou “*spp transportadoras de asparagina*” que contém todas as espécies da família Leguminosae além de Fic, Oco, Toc, Xyl e Byr; o grupo de espécies que transportam preferencialmente arginina que foi nomeado como “TrARG” ou “*spp transportadoras de arginina*”, que contém todas as espécies amostradas da família Myrtaceae além de Qua e Rou; e o grupo de espécies que transportam glutamina, “TrGLN” ou “*spp transportadoras de glutamina*”, que contém as demais espécies que se assemelham também devido à ANR e AFE (Sch, Vir, Ann e Asp).

De modo geral, considerando as únicas variáveis que mostraram diferenças significativas entre as classes fenológicas, tem-se que a concentração de NO_3^- foliar foi menor nas plantas de hábito P, e foi maior no inverno que no verão em todas as classes. Também a $\% \text{N-NO}_3^-$ transportado na seiva do xilema se mostrou diferente entre as classes, com as plantas S transportando mais que as D e P. Porém, essa porcentagem foi muito baixa em relação aos demais compostos em todas as plantas, que tiveram marcadamente maiores quantidades de Arg e Asn sendo transportados na seiva do xilema, e isso foi maior no inverno que no verão para as classes P e D. As demais diferenças significativas que apareceram na análise baseada nas classes fenológicas das espécies foram entre as estações do ano. Assim, as variáveis ANR, razão CN e NO_3^- na folha, mostraram-se maiores no inverno que no verão, e os demais parâmetros avaliados ($\delta^{15}\text{N}$, AFE e DM) não mostraram diferenças significativas entre as classes fenológicas.

Nardoto *et al.* (2006) também não encontraram grandes variações nas concentrações de N foliar entre classes fenológicas de espécies de cerrado do Brasil central, mostrando que estas diferenças estão mais relacionadas a outras características particulares, como por exemplo a família a que as espécies pertencem que ao hábito das mesmas.

Assim como as savanas Africanas e Indianas, o cerrado brasileiro possui predominantemente espécies decíduas, com marcante presença da família Leguminosae, coexistindo com espécies perenifólias, semi-decíduas e brevi-decíduas. A coexistência de plantas de hábito decíduo e perenifólio, entre outros, não está claramente compreendida, mas numa análise de custo-benefício entre esses dois extremos, tem-se que espécies perenifólias possuem relativamente menores conteúdos de N em suas folhas para se aumentar a impalatabilidade a possíveis predadores, já que possuem folhas de maior longevidade e os custos para a construção destas é alto (Eamus 1999). Porém, os resultados do presente estudo não evidenciaram grandes diferenças entre as classes fenológicas nas quantidades de N foliar, como evidenciado pela razão CN.

Por outro lado, as espécies decíduas geralmente investem menos em estrutura foliar, pois perdem suas folhas na estação seca, e com isso sustentam menor longevidade foliar e maiores concentrações de N, que permitem por sua vez, a manutenção de maiores taxas fotossintéticas (Reich *et al.* 1992). Similarmente, a AFE de espécies perenifólias é geralmente menor que de espécies decíduas (Eamus & Prichard 1998), refletindo maior esclerofilia e custo de construção das primeiras (Eamus 1999).

Nas plantas estudadas no PDG, houve uma tendência a menores AFE nas espécies P, porém não significativa em relação às demais pela análise de variância, sugerindo que este atributo foliar não é uma variável diagnóstica muito clara na busca de diferenciação entre as estratégias de uso de N pelas espécies destes grupos funcionais.

Entretanto, foram encontradas no presente estudo maiores concentrações de NO_3^- nas folhas das espécies D e S, sugerindo maior investimento em reserva de N pelas plantas destas classes fenológicas, que podem estar acumulando esse íon com uma função osmótica para contribuir no ajuste osmótico durante períodos de seca (Smirnoff & Stewart 1985). A alocação do N para reserva é programada sazonalmente e está dessa forma intimamente ligada à fenologia (Millard & Grelet 2010), além de ser disparada por certas mudanças ambientais, principalmente dias curtos (Coleman *et al.* 1991) e baixas temperaturas (van Cleve & Apel 1993). No caso do presente estudo, isso explicaria também as maiores ANR e NO_3^- foliares no inverno que no verão, sugerindo que os dias curtos e as baixas temperaturas da estação seca adicionam um estresse a mais para estas plantas além da falta de água, que disparam um mecanismo de alocação de N para reserva nas folhas, aumentando também a ANR nessa estação, que parece ser a enzima chave na resposta das plantas ao frio (Cantrel *et al.* 2011).

Já a maior razão CN encontrada para todas as classes fenológicas no inverno, pode ser explicada como sendo uma estratégia de economizar nos custos da manutenção do crescimento durante a escassez de água. Em plantas terrestres, o custo pelo uso da água para o crescimento é uma função dos suprimentos de N e C (Raven *et al.* 2004), e os mecanismos de economia no uso de N e de água são interdependentes (Patterson *et al.* 1997).

Considerando as classes de plantas encontradas *a posteriori* no PDG, pôde-se observar que apenas as variáveis NO_3^- folha e $\delta^{15}\text{N}$ não mostraram diferenças significativas entre os grupos TrASN, TrARG e TrGLN. O NO_3^- foliar foi maior no inverno para todos os grupos, como já havia sido na análise baseada nas classes fenológicas, e o $\delta^{15}\text{N}$ foi maior no verão para todos os grupos. Todas as demais variáveis avaliadas (ANR, razão CN, AFE, DM, NO_3^- foliar e aa) mostraram diferenças significativas entre os grupos.

Analisando separadamente o grupo TrGLN, das "*spp transportadoras de glutamina*", observou-se que

estas espécies exibem um comportamento bastante similar ao das plantas pioneiras na sucessão das florestas, pois possuem as maiores ANR foliares; maior quantidade de N sob a forma de NO_3^- sendo transportado na seiva do xilema, apesar deste ser menos importante que a arginina (Arg), glutamina (Gln) e o glutamato (Glu); maior conteúdo de N foliar, evidenciado pela menor razão CN; e menores DMs.

Segundo o modelo proposto por Aidar *et al.* (2003), as espécies pioneiras, além dessas características, possuem menores $\delta^{15}\text{N}$ em relação às demais classes, transportam Asn além de NO_3^- na seiva do xilema, bem como mostram maiores conteúdos de NO_3^- foliar. Verificou-se que as plantas do grupo TrGLN no cerrado estudado apresentaram algumas diferenças de estratégia em comparação às plantas pioneiras relativas a estes parâmetros. Assim, estas plantas exibem o transporte de Asn na seiva como as pioneiras da floresta, mas com menor importância que Gln e Arg, sugerindo maior eficiência no transporte de N, pois a Arg contém quatro átomos de N, em contraste à Asn e Gln que contém dois em sua composição, e com isso se assemelhando neste aspecto às plantas secundárias iniciais pelo modelo proposto por Aidar *et al.* (2003). Porém, em relação ao $\delta^{15}\text{N}$, as espécies deste grupo não se mostraram diferentes dos demais como no modelo proposto para as plantas de floresta.

Considerando o NO_3^- foliar, as plantas do grupo TrGLN não exibiram diferenças significativas aos demais grupos e não houve relação positiva entre este e a ANR, o que é similar ao encontrado nos resultados dos estudos nas áreas de floresta do presente trabalho, mostrando novamente não haver dependência da ANR com a concentração do substrato na folha (Vogel & Dawson 1991) e sugerindo que o acúmulo do NO_3^- foliar nestas plantas tem função de reserva, estando mais relacionado a funções osmóticas intracelulares do que nutricionais (Smirnoff & Stewart 1985).

No outro extremo, observou-se que as espécies do grupo TrARG, ou “*spp transportadoras de arginina*”, marcadamente pertencentes à família Myrtaceae, exibem comportamento similar ao das espécies tardias na sucessão florestal, se caracterizando por transportar principalmente Arg na seiva do xilema (composto bastante eficiente no transporte de N); têm menor quantidade de N foliar e consequente maior razão CN; menor ANR foliar; e maior DM. Desse modo, sugerem uso de uma estratégia ecológica mais conservativa em relação aos demais grupos. Estas espécies possuem também menor AFE, mostrando maior investimento em C que em N, devendo ter provavelmente maior longevidade foliar (Stewart *et al.* 1990).

Quanto às espécies do grupo TrASN, ou “*spp transportadoras de Asn*”, marcadamente pertencentes à família Leguminosae, o comportamento é variável em relação aos dois extremos (grupos TrARG e TrGLN). Assemelham-se mais ao grupo TrARG por transportar muito pouco NO_3^- na seiva do xilema, e pela maior DM, mas possuem valores de N foliar e de razão CN similares ao grupo TrGLN. A ANR e a AFE mostraram valores

médios intermediários entre os encontrados para estes dois grupos.

As espécies da família Leguminosae, segundo o modelo proposto por Aida *et al.* (2003), se encaixam na classe das espécies secundárias iniciais da sucessão florestal, mas com algumas peculiaridades. Dentre estas, os autores apontam o transporte de Asn como principal composto na seiva do xilema destas plantas e valores intermediários de ANR e N foliar com relação às outras classes sucessionais, o que é semelhante ao encontrado nas espécies do TrASN no PDG. Muitas destas espécies são caracterizadas por estilo de vida rico em N, que as impõe certa vantagem competitiva e alguns custos a mais, que são compensados em ambientes de alta luminosidade e temperatura, solos relativamente ricos em nutrientes e com alta disponibilidade de água (McKey 1994).

Segundo Lea *et al.* (2007), a Asn é o principal composto utilizado para o transporte de N em plantas, principalmente em espécies pertencentes à família das Leguminosae, e sua formação e mobilização podem ser induzidas em situações de estresse, quando age na manutenção da pressão osmótica, sendo então considerada uma eficiente molécula para reserva e transporte de N em organismos vivos. Além disso, Asn tem se mostrado importante no metabolismo da senescência foliar, e isso combina com o hábito decíduo da maioria das plantas Leguminosas desse estudo pertencentes todas ao grupo TrASN.

Arg e Glu podem agir da mesma forma que Asn como eficientes compostos para reserva e transporte de N (Lea *et al.* 2007), e assim, essas “*spp transportadoras de asparagina*” ou TrASN, se mostram bastante eficientes no uso de N, tanto em relação aos compostos utilizados no transporte, como na combinação de alta DM que permite maior eficiência no transporte e uso da água, com o alto conteúdo de N foliar, que possibilitam altas taxas fotossintéticas e com isso maior ganho de carbono (Smirnoff & Stewart 1985).

Ao comparar os resultados encontrados no PDG com outros trabalhos da literatura, observou-se que a AFE das plantas do PDG foram no geral menores que as encontradas por Hoffman *et al.* (2005) e Hoffmann & Franco (2003) em espécies do cerrado da região central do Brasil, que mostraram menores AFE em plantas do cerrado brasileiro quando comparadas a outras savanas do mundo e também encontraram menores conteúdos de N nessas folhas (média de 1,48%) quando se compara ao presente estudo (média de 2%). O estudo de Schmidt *et al.* (1998) em savana Australiana, também encontrou menor porcentagem de N foliar em suas plantas (média de 1,3%). Estes últimos autores mostraram também uma baixa concentração de NO_3^- foliar nas plantas das comunidades de savana, como no presente estudo.

Altos valores de N foliar em espécies Leguminosas foram também encontrados por Nardoto *et al.* (2006), que em estudo no cerrado na região central do Brasil observaram os menores valores de N na espécie *Roupala montana*, que neste estudo foi incluída no grupo TrARG, das espécies que mostraram os menores

conteúdos de N foliar similarmente.

Em relação à ANR, os valores encontrados nas plantas do PDG foram similares aos encontrados nas outras áreas de estudo, com a maioria das espécies mostrando valores de médio a baixo considerando o valor de 200 $\mu\text{kat.g}^{-1}$ MF como sendo atividade média de assimilação de NO_3^- foliar, como proposto por Stewart *et al.* (1992). Podendo isso estar também relacionado a características oligotróficas do solo, como a escassez de NO_3^- e de NH_4^+ , elevada acidez (Pereira-Silva 2008), sendo esta última uma característica bastante conhecida dos solos de cerrado (Nardoto *et al.* 2006). As maiores ANR caracterizaram as espécies do grupo TrGLN, que similarmente a espécies pioneiras de florestas ultrapassam o valor de 200 $\mu\text{kat.g}^{-1}$ MF, como nos estudos de Stewart *et al.* (1988, 1990, 1992, 1993), Schmidt *et al.* (1998), Aidar *et al.* (2003), Pereira-Silva (2008), Campos (2009), Silva (2012) e Marchiori (2012).

De modo geral, as tendências mostradas pelas espécies do PDG referentes às estratégias no uso de N observadas nos diferentes grupos encontrados *a posteriori* (TrASN, TrARG e TrGLN) acompanham as já observadas em SV, LAM e no modelo proposto por Aidar *et al.* (2003) para plantas de floresta e assim, confirmam que esse modelo também funciona para plantas de cerrado, com algumas peculiaridades e em grupos funcionais diferentes. Existe um contínuo de estratégias de uso de N entre as plantas, mas estas coexistem e não se sucedem cronologicamente como acontece nas florestas. E desse modo, o presente estudo em área de cerrado, amplia ainda mais a abrangência desse modelo de uso de N e adicionando uma nova perspectiva em relação ao cerrado, evidenciando as similaridades desse ambiente com as florestas.

6.4. Análise geral comparando as áreas estudadas

A análise de ordenação dos resultados obtidos no verão para todas as áreas estudadas (Figura 52) teve 36,65% da variância explicada, e caracterizou um gradiente de respostas entre elas quanto ao uso de N, com uma aproximação maior entre as espécies de LAM e PDG do que destas com SV. Observa-se que as espécies Pi de LAM são as que mais se aproximam das espécies SV, enquanto que as espécies Si e St de LAM estão mais próximas às do PDG.

As variáveis que melhor explicam essa proximidade entre LAM e PDG foram %NAsn em relação ao eixo 2, razão CN e %NArg em relação ao eixo 1. As demais variáveis mostraram-se importantes na definição das espécies de SV, com destaque para %N, $\delta^{15}\text{N}$, %NAsp, ANR, %NNO₃ e NO₃ folha em relação ao eixo 1 e %NAsn e %NGln em relação ao eixo 2.

Na análise de ordenação feita com os dados do inverno (Figura 53), que teve 38,71% da variância explicada, verificou-se uma distinção muito mais clara quanto à distribuição espacial das espécies das diferentes áreas estudadas em relação aos parâmetros avaliados. Existe uma separação entre as áreas, caracterizada por um gradiente entre elas em relação ao eixo 1, onde as espécies de SV localizam-se espacialmente entre LAM e PDG, que estão em lados opostos desse gradiente. Nessa PCA, PDG e SV possuem maior proximidade entre suas espécies e LAM aparece mais isolado.

As variáveis que melhor descrevem as espécies de LAM são principalmente razão CN e %NNO₃ em relação ao eixo 1, e %NAsp em relação ao eixo 2. As espécies do PDG, por outro lado, são mais bem descritas por NO₃ folha, %N, %NAsn e ANR em relação ao eixo 1, e %NAsn e %N em relação ao eixo 2. A dimensão dos atributos que melhor definem as espécies de SV são relativas ao eixo 2, e dentre eles se destacam %NGlu, %NAsp, %NGln e %N.

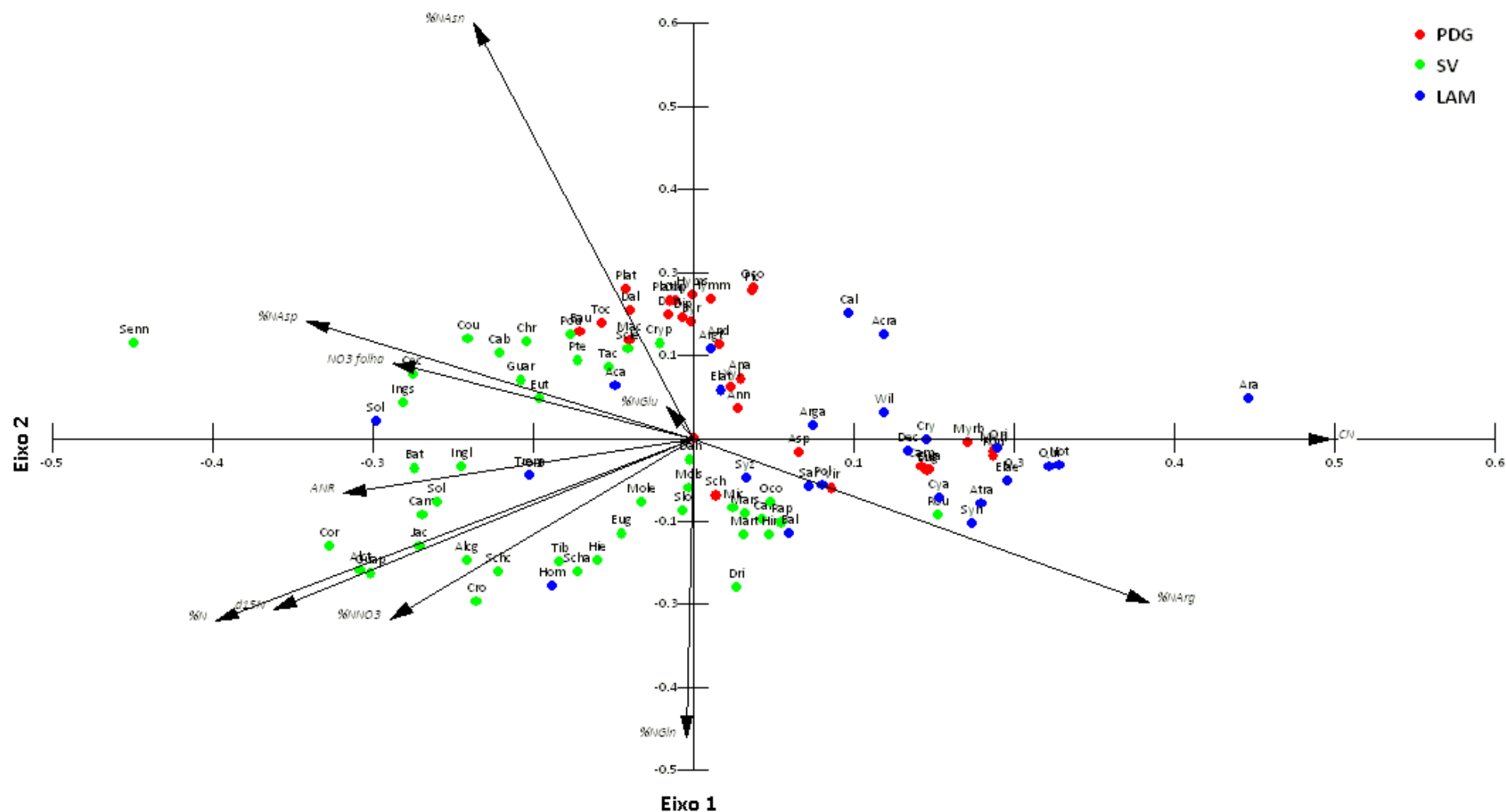


Figura 52. Ordenação (PCA) das espécies das três áreas estudadas (SV, LAM e PDG), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no verão, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO₃ folha – concentração de nitrato foliar, δ¹⁵N – abundância natural do isótopo ¹⁵N foliar e %Nxxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO₃ – nitrato. Os códigos das espécies estão representados nas Tabelas 1, 2 e 3.

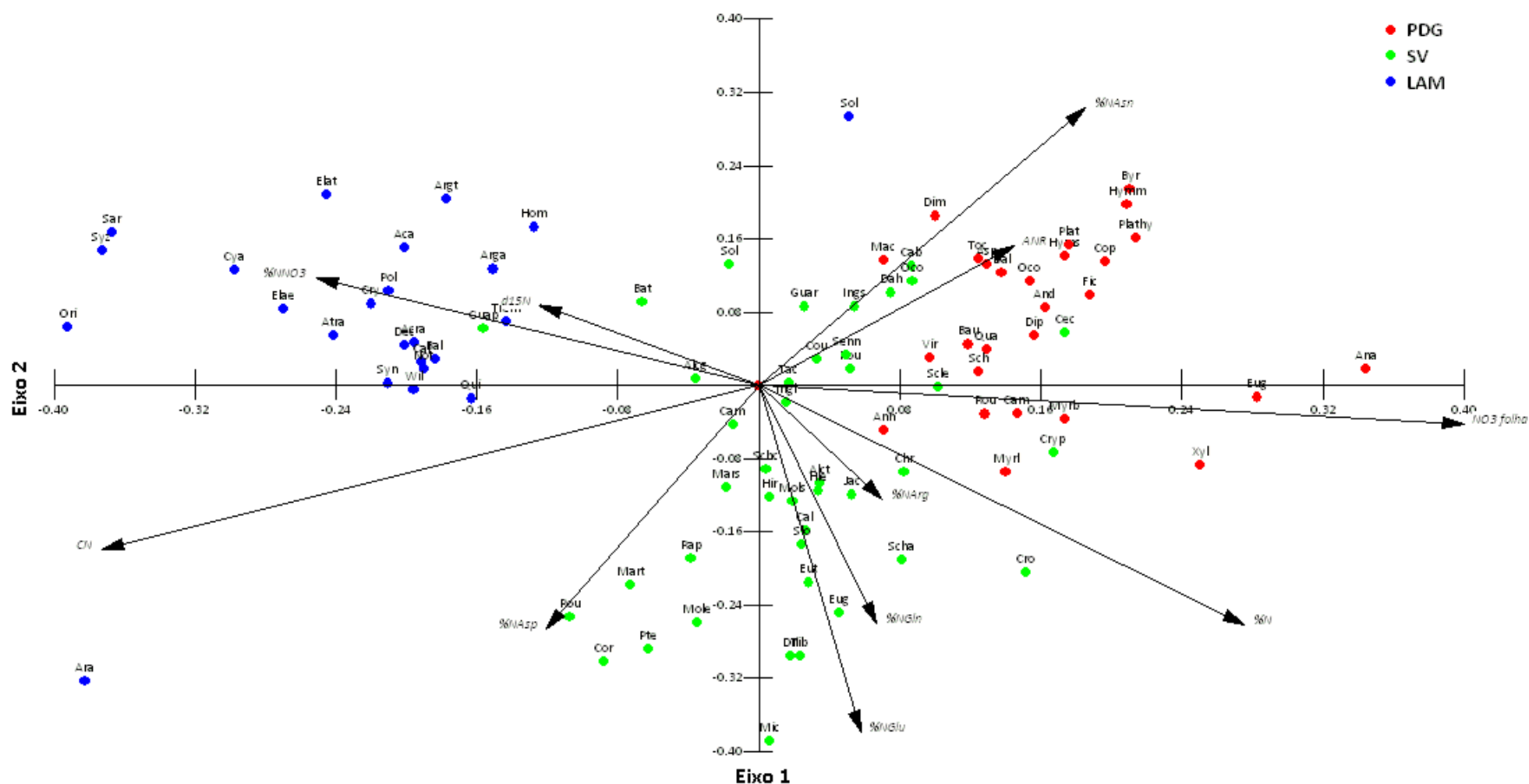


Figura 53. Ordenação (PCA) das espécies das três áreas estudadas (SV, LAM e PDG), baseada nos valores de 11 variáveis avaliadas no inverno, sendo: %N – % de N foliar total, CN – razão carbono/nitrogênio foliar, ANR – atividade da enzima nitrato redutase, NO_3 folha – concentração de nitrato foliar, $\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo ^{15}N foliar e %NXxx – % do composto relativamente à % total de N na seiva, onde Xxx = Arg – arginina, Asn – asparagina, Asp – ácido aspártico, Gln – glutamina, Glu – glutamato, NO_3 – nitrato. Os códigos das espécies estão representados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 7. Valores médios de ANR (pkat.g^{-1} MF), NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF), razão CN e $\delta^{15}\text{N}$ (‰), das espécies nas áreas estudadas (SV, LAM e PDG), em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.

		SV	LAM	PDG
ANR	verão	85,21 (97,08)	96,44 (191,85)	94,94 (124,09)
	Inverno	102,17 (125,64)	89,09 (149,32)	146,48 (118,36)
NO_3^- folha	verão	1,77 (0,92)	0,02 (0,07)	2,08 (1,45)
	inverno	1,75 (0,85)	0,12 (0,52)	2,72 (1,50)
CN	verão	20,00 (7,29)	28,77 (11,72)	24,55 (8,22)
	inverno	20,09 (7,70)	27,75 (9,35)	28,31 (7,45)
(^{15}N	verão	2,40 (2,01)	2,19 (2,31)	0,93 (1,19)
	inverno	2,28 (1,92)	2,33 (2,76)	0,39 (1,18)

Em termos gerais, quando se compara os valores médios encontrados para as diferentes áreas estudadas, pouca diferença entre elas existe quanto à ANR (Tabela 7), devido principalmente ao alto desvio padrão. Porém, observações dos valores obtidos para as espécies ou mesmo famílias individualmente, mostram uma tendência geral de maior atividade no inverno para as áreas de floresta. Isso foi bastante variável no cerrado (ver Anexos).

Ainda na Tabela 7 notam-se maiores valores médios de NO_3^- folha no cerrado, seguido de SV e LAM respectivamente, em ordem decrescente. Quanto à razão CN, parece não haver notáveis diferenças entre as áreas no verão, porém no inverno, o valor médio no PDG é muito menor que nas demais áreas estudadas, mostrando que nesta área, as espécies alteram consideravelmente o investimento em N de acordo com a estação do ano, de modo que no inverno a quantidade de N nas folhas é muito maior que no verão, alterando assim a razão CN.

Outra variável que mostrou diferença quando avaliada de um modo geral na comparação entre as áreas foi o $\delta^{15}\text{N}$, que se apresentou mais próximo de zero no cerrado que nas florestas, sugerindo possível fixação de N pelas raízes das plantas em associação simbiótica com bactérias fixadoras de N (Hoffmann *et al.* 2005, Schimann *et al.* 2007).

Tabela 8. Valores médios de AFE ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$ MS) e DM ($\text{g}.\text{cm}^{-3}$) das espécies nas áreas estudadas (SV, LAM e PDG), em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.

	SV	LAM	PDG
AFE	138,68 (49,32)	93,63 (39,90)	14,28 (8,68)
DM	0,52 (0,14)	0,61 (0,10)	0,59 (0,13)

Com relação aos parâmetros AFE e DM, na comparação das médias gerais entre as áreas (Tabela 8), verificou-se que a AFE é maior em SV, seguida de LAM e PDG respectivamente, em ordem decrescente, sugerindo o investimento de mais massa por área de folha nas plantas do cerrado que nas de floresta, e entre estas, maior em LAM que em SV. Já DM parece não se diferenciar entre as áreas de modo geral.

Tabela 9. Valores médios de CRT (%) e CA (%) das amostras de raiz em solo retirado das áreas estudadas (SV, LAM e PDG), em duas estações do ano (verão e inverno). Desvio padrão entre parêntesis.

	CRT		CA	
	verão	inverno	verão	inverno
SV	29,97 (14,68)	60,76 (16,68)	22,65 (12,16)	39,78 (17,09)
LAM	61,69 (22,53)	60,12 (20,38)	22,28 (12,37)	24,21 (13,66)
PDG	74,91 (9,16)	37,30 (14,86)	62,67 (9,12)	27,28 (11,26)

Considerando a porcentagem de colonização das raízes por micorrizas (Tabela 9), tanto total (CRT) como arbuscular (CA), observou-se que estas foram maiores no inverno para SV, no verão para PDG e não mudaram entre as estações avaliadas para LAM.

6.5. Discussão geral – análises de solo

Ao contrário do encontrado pelo estudo de Pereira-Silva (2008), a concentração dos íons NO_3^- e NH_4^+ no solo de SV foi levemente maior no inverno que no verão, sugerindo um provável efeito das baixas temperaturas características dessa estação, que reduzem a decomposição do material orgânico e podem ter contribuído para mudanças na competição pelo recurso N entre as plantas das diferentes classes sucessionais.

Essa competição pode ter contribuído para a maior ocorrência de micorriza arbuscular no inverno, que em solos mais secos tende a ter papel mais significativo na aquisição de N que em solos úmidos (Raven & Andrews 2010). Além disso, segundo Raven (2003), a nitrificação pode ocorrer nos episódios de seca quando os solos são bem aerados, tornando o NO_3^- disponível para as plantas, enquanto que nos episódios de umidade parece haver uma queda na nitrificação e então apenas formas reduzidas de N combinado ficam disponíveis (Raven & Andrews 2010).

Porém, ao refletir sobre o possível efeito da sazonalidade nessa região de floresta, que é marcada por baixas temperaturas no inverno, supôs-se inicialmente que essa queda na temperatura tornaria o N indisponível para as plantas nesse período por reduzir a decomposição da serapilheira e devido à menor quantidade de água no solo necessária na mineralização e mobilidade dos nutrientes para as raízes. Porém, foram encontrados valores de disponibilidade de NH_4^+ e NO_3^- no solo muito semelhantes entre as estações do ano avaliadas, com tendência a serem levemente maiores no inverno, e comparando esses resultados com os encontrados por Marchiori (2012) na mesma área de estudo, confirmamos a influência da sazonalidade como promotora da variabilidade na disponibilidade de N no solo já sugerida por Fayers & Trewin (2004) e Channing & Edwards (2009), pois as mudanças no regime de chuvas e temperatura mesmo dentro da mesma estação do ano leva claramente à variações na disponibilidade dos nutrientes no solo.

Pereira-Silva (2008), em estudo em duas florestas Atlânticas no estado de São Paulo, também observou uma baixa concentração de N nos solos na forma inorgânica, e o predomínio do íon NH_4^+ sobre o NO_3^- , principalmente no período seco. O autor atribuiu este predomínio de NH_4^+ ao fato do NO_3^- ser facilmente assimilado pelas plantas e de sua alta concentração no solo ser dificilmente mantida, não só pelas substanciais perdas por lixiviação, como também pela competição entre os organismos e por denitrificação. Segundo o autor, os eventos de precipitação local, principalmente no período úmido, proporcionam a formação de lençóis freáticos suspensos, infiltração e condução de água, que podem causar rápida saturação do solo e consequente lixiviação do NO_3^- . Essa baixa concentração também pode ser atribuída à constante disponibilidade de água no solo da região quando a mobilidade do NO_3^- e sua absorção pelas plantas são facilitadas, pois apesar do NO_3^- ser a fonte de suprimento de N mais comum aos organismos, a carga líquida negativa de superfície dos colóides do solo faz com que parte do NO_3^- não se ligue a esta matriz e acabe sendo lixiviada rapidamente pela percolação da água (Pires O'Brien & O'Brien 1995).

Sabe-se que a concentração do NO_3^- nos diferentes ambientes pode apresentar amplas variações espaciais e sazonais e ser afetada por fatores bióticos e abióticos que muitas vezes resultam na rápida diminuição de seu conteúdo no solo (Crawford & Glass 1998). Uma acidez elevada também pode diminuir a mineralização

por dificultar a atividade microbiana no solo (Malavolta & Kliemann 1985), e alterar a competição pelo N entre plantas e microorganismos (Hodge *et al.* 2000, Ivans *et al.* 2003). Em ecossistemas onde o N é disponibilizado em pulsos concomitantes aos eventos de precipitação, a resposta da comunidade microbiana do solo à entrada de água no sistema é imediata (Austin *et al.* 2004), e promove alterações na composição e na biomassa desses microorganismos (Saetre & Stark 2004), bem como em suas atividades.

O trabalho de Martins (2010), em estudo avaliando gradiente altitudinal incluindo SV, caracterizou o solo da área como sendo bastante intemperizado, com pré dominância de óxidos, alto teor de P em relação às outras altitudes avaliadas, consequência direta do maior acúmulo de material orgânico na superfície, apesar de a literatura colocar que os solos de florestas tropicais são geralmente deficientes em P. O pH menor que 4 revelou ser este um solo bastante acidificado. Porém, ainda é um solo mais rico que o encontrado em altitudes mais baixas nesse mesmo estudo, apesar da baixa fertilidade e elevados níveis de Al, pois os níveis de N e C se mostraram muito maiores, bem como a soma de bases.

O trabalho de Marrs *et al.* (1988, *apud* Vitousek 1988) já reportava uma queda na mineralização e nitrificação em locais mais altos de um gradiente altitudinal de florestas na Costa Rica, e do mesmo modo, há uma diminuição da ciclagem de N orgânico, acúmulo de matéria orgânica e queda na sua qualidade e decomposição nessas áreas.

A capacidade de subsistir em solos ácidos com alta diluição de nutrientes e alta saturação por Al é fator determinante na Mata Atlântica, e caracteriza muitos solos da região. Nesses ambientes atuam mecanismos diferenciados de economia de nutrientes entre as espécies, um considerável efeito da constante decomposição e deposição de detritos orgânicos sobre o solo, da respiração de raízes e dos microorganismos do solo, além da capacidade de realizar associações simbióticas, principalmente micorrizas (Martins 2010).

A baixa disponibilidade de formas de N inorgânico influencia na diversidade de comunidades vegetais (Dias *et al.* 2006) e na Floresta Ombrófila Densa, a alta diversidade de espécies arbóreas (Joly *et al.* 1991) poder ser, em parte, atribuída à limitação do N para as plantas, sobretudo a forma iônica do NO_3^- no solo.

Uma parcela significativa das exigências de N da planta é fornecida pela mineralização da matéria orgânica do solo durante a estação de crescimento (Follet 2001), e o fato de na área de estudo SV existir um acúmulo de material orgânico pouco mineralizado no solo, reforçado pelas baixas temperaturas no inverno e elevada acidez, que diminuem ainda mais a atividade microbiana que torna os íons disponíveis para as plantas, fica compreensível o porquê das baixas concentrações dos íons encontradas para estes solos, bem como o aumento substancial da ocorrência de micorrizas arbusculares e da colonização radicular total nas raízes das plantas de SV do verão para o inverno. As micorrizas nessa área ampliam a possibilidade de aquisição de

nutrientes na estação menos favorável, e assim, ajudam na manutenção do crescimento diante da escassez daqueles no ambiente (Aidar *et al.* 2003).

No caso específico do presente estudo em LAM, observou-se também uma baixa concentração desses íons no solo, como demonstrado pelos resultados de resina de troca iônica, que evidenciaram concentrações de NH_4^+ quase nulas e de NO_3^- em geral menores que $30 \mu\text{g.g}^{-1}$. Além disso, análises realizadas no solo da área de estudo mostraram uma elevada acidez (dados não mostrados), que contribui para uma baixa atividade biológica agindo na decomposição do material acumulado como também acontece na área SV e em outras florestas montanas (Martins 2010, Rosado 2011, Vieira *et al.* 2011). Porém a quantidade de micorriza encontrada no verão foi similar a do inverno, diferente do que aconteceu em SV.

Apesar de a redução de NO_3^- pelas plantas poder estar diretamente relacionada com sua concentração no solo (Pereira-Silva 2008), não se verificou maior concentração desse íon no solo no verão, quando era esperado acontecer devido à maior quantidade de chuvas. Entretanto, da mesma forma como aconteceu na área SV, em LAM houve falta de chuvas no verão na semana da coleta e atrapalhou a caracterização da disponibilidade de N no solo. Sugere-se que pode estar ocorrendo pulsos de disponibilidade desses íons no solo concomitantes com os eventos de chuva como demonstrado por Pereira-Silva (2008) em duas florestas brasileiras, e assim, a coleta realizada sob falta de chuva não detectou o possível pulso iônico acontecendo no solo. Além disso, sabe-se que as concentrações do NO_3^- no solo podem flutuar em mais de quatro ordens de magnitude (Wang *et al.* 2012).

Outros estudos já haviam demonstrado que os fluxos de nutrientes em florestas tropicais ocorrem geralmente em pulsos, e que estes pulsos modificam o destino dos nutrientes no ecossistema. Além disso, a sincronia da mineralização e da assimilação pelas plantas pode diminuir a competição entre micróbios e plantas por limitar os nutrientes do solo ao manter uma ciclagem mais fechada, considerando que essa assincronia pode acarretar perdas dos nutrientes pelo sistema. Assim, pulsos de nutrientes podem ter um papel importante na manutenção da produtividade nas florestas tropicais (Lodge *et al.* 1994).

Já na área de cerrado (PDG), não houve verão atípico e as chuvas aconteceram durante a semana de coleta das resinas de troca iônica nessa estação, assim, os resultados demonstraram que as trocas acontecem mais no verão que no inverno, que quase não apresentou concentrações de íons nas resinas analisadas, bem como não recebeu chuvas durante a semana de coleta como é típico dessa estação do ano.

Entretanto, os dados mostraram maiores concentrações de NO_3^- que de NH_4^+ no solo, o que contraria o encontrado tradicionalmente na literatura em solos de cerrado (Nardoto & Bustamante 2003, Bustamante *et al.* 2006), e apesar de os valores de disponibilidade de NO_3^- serem baixos quando comparados aos solos de

floresta, estes foram maiores que os encontrados nas outras áreas do presente estudo (SV e LAM).

A análise feita por Bustamante *et al.* (2006) sobre a ciclagem de N para savanas tropicais e temperadas, mostra que apesar da natureza transiente do NO_3^- nesses solos, o baixo conteúdo desse íon nos solos de cerrado pode estar relacionado a baixas taxas de nitrificação, mesmo quando significativas quantidades de NH_4^+ é produzido. Os autores afirmam ainda que ocorre competição entre plantas e microorganismos por NH_4^+ e que a população de bactérias nitrificadoras nestes solos deve ser baixa.

De qualquer forma, mesmo essa disponibilidade de NO_3^- sendo baixa, isso foi maior no verão, parecendo estar associado à maior quantidade de chuva, típica desta estação, que combinada com maiores temperaturas possibilita aumento na atividade biológica do solo, maior mineralização e nitrificação, que por sua vez aumentam a disponibilidade desse íon no solo (Nardoto & Bustamante 2003, Pereira-Silva 2008). E esse resultado evidencia um possível pulso desse nutriente no solo do PDG concomitante à disponibilidade de água, antes da assimilação pelas plantas ocorrer.

Apesar de a vegetação ser fortemente associada às propriedades do solo, não está claro se é o solo que determina a distribuição da vegetação ou vice-versa, e assim, a distribuição da vegetação pode não estar sempre em equilíbrio com as propriedades do solo (Hoffmann *et al.* 2005) e pode ser mais limitada pelo estoque de nutrientes total do que por sua disponibilidade no solo (Haridasan 1992). Nos trópicos, onde uma grande fração do estoque de nutrientes reside na vegetação, a concentração dos nutrientes no solo pode não refletir o que acontece na vegetação (Hoffmann *et al.* 2005), como aconteceu neste estudo.

Outro resultado diferente do encontrado nas áreas de floresta é o da ocorrência de micorriza nos solos do PDG, que ao contrário do esperado foi maior no verão que no inverno, sugerindo uma possível influência da estrutura física do solo desse cerrado, que por ser mais arenoso e possuir menos argila que os solos de floresta e com isso promoverem maiores perdas de nutrientes por lixiviação, estaria exigindo das plantas o desenvolvimento dessas associações na época chuvosa visando aumentar a capacidade destas em assimilar os recursos disponíveis na estação mais favorável, o que faz sentido também diante do fato de que as micorrizas, como associações de raízes com fungos, não se desenvolvem sem a presença de água. Ruggiero *et al.* (2002) encontrou uma mudança na estrutura da vegetação do PDG associada à quantidade de argila no solo, assim, a quantidade de argila diminui no contínuo de floresta semi-decídua para campo cerrado.

A argila, como um composto coloidal do solo, está relacionada com a absorção de bases, que depende do pH do mesmo (Ellis & Mellor 1995). Assim, um aumento na porcentagem de argila no solo adiciona a este maior capacidade de retenção de água (Ellis & Mellor 1995) que tem sido sugerida como um fator muito importante na determinação de ocorrência de um tipo de vegetação florestal ou de savana (Ruggiero *et al.*

2002), com menos argila predominando nesta segunda.

Plantas com associações micorrízicas possuem vantagem competitiva em relação às plantas que não fazem essas associações, principalmente em ecossistemas com limitação de N onde a maioria do N ciclado no solo ocorre devido à mistura do material orgânico na superfície do solo com os microorganismos e animais mortos. Nestes casos, devido à ampla capacidade enzimática dos fungos micorrízicos comparado à das raízes das plantas, e por causa do seu tamanho, as hifas desses fungos têm maior capacidade de penetrar os locais com matéria orgânica em decomposição e competir diretamente com outros microorganismos pelos produtos desse material decomposto (Jones *et al.* 2005).

Ruggiero *et al.* (2002) em estudo comparando a estrutura da vegetação com o solo do PDG, encontrou altas concentrações de Al trocável na superfície do solo e elevada acidez, que contribui para uma baixa atividade biológica no solo e baixa decomposição da matéria orgânica, similarmente ao que acontece com os solos das florestas deste estudo. Os autores mostraram uma clara correlação negativa entre a quantidade de Al e o pH do solo, onde a solubilidade do Al e a concentração de sua forma trocável são controlados por este.

Nesse contexto, e diante dificuldade encontrada para associar os dados do solo do presente estudo com os resultados da vegetação, concluiu-se que o método que se utiliza de resina de troca iônica para determinação da disponibilidade de N no solo é mais bem aplicado quando o desenho experimental considera um tempo maior de permanência das resinas no solo. Comparando esses resultados com os de alguns outros estudos que se utilizaram do mesmo método (Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Marchiori 2012, Silva 2012), observou-se que a abordagem que se utiliza de maiores quantidades de coleta e por maior tempo de permanência da resina no solo, possibilita melhor caracterização do perfil das formas inorgânicas de N disponível além de observar os pulsos dos nutrientes acontecendo, como no trabalho de Pereira-Silva (2008), e desse modo, mostrou ser mais diagnóstico e ter maior grau de confiança quando aplicado dessa forma.

6.6. Discussão geral – Economia do uso de N em árvores tropicais

Comparando todas as espécies das áreas estudadas, foi verificado um gradiente de respostas entre elas quanto ao uso de N, com uma aproximação maior no verão entre as espécies de LAM e PDG do que destas com SV, porém as espécies Pi de LAM foram as que mais se aproximam das espécies de SV, enquanto que as espécies Si e St de LAM estão mais próximas às do PDG. No inverno, as espécies de SV localizaram-se especialmente entre as espécies de LAM e PDG, que ficaram em lados opostos desse gradiente. Assim, nessa estação PDG e SV possuíram maior proximidade entre suas espécies e LAM apareceu mais isolado.

Esse panorama sugere um possível efeito da sazonalidade, que explicaria a maior proximidade entre as áreas PDG e SV no inverno, e um possível efeito da idade das plantas ou maturidade da vegetação, que explicaria a maior similaridade entre PDG e LAM no verão. As pequenas diferenças encontradas entre as plantas das classes Si e St em LAM, sugerem que estas plantas estão mais próximas das características de plantas tardias na sucessão florestal, e com isso, essa floresta parece ser mais madura que a floresta estudada em SV. E o fato de nessa análise as plantas pioneiras de LAM serem mais similares às espécies de todas as classes de SV sugere consistência nessa hipótese.

Porém, como não se estudou nenhum parâmetro que possa nos indicar com certeza a idade das plantas avaliadas nesses ambientes, e o que se tem são apenas dados históricos de exploração ou não das áreas, estas considerações podem ser tidas apenas como hipóteses interessantes a serem testadas em futuras pesquisas.

De qualquer forma, esses resultados confirmam a existência do contínuo proposto por Oliveira-Filho (2000), que afirma que a abordagem mais correta para florestas ombrófilas do sudeste brasileiro em termos florísticos é de um contínuo de distribuição de espécies, esse contínuo também é válido para estratégias de uso de N mesmo em plantas de ambientes diferentes. E incluindo a floresta Australiana, demonstram uma proximidade entre essas áreas que pode ser melhor avaliada sob uma ótica histórica e evolutiva, já que os continentes aos quais estas plantas hoje pertencem foram um dia unidos no grande continente conhecido como Gondwana.

Os campos de estudo da Ecologia e da Economia dividem mais que apenas sua terminologia, modelos econômicos tem aplicabilidade na descrição do comportamento animal e de processos ecológicos de diversas formas e tem influenciado políticas de utilização de recursos há algum tempo. No caso da economia em plantas, ecólogos utilizam-se dos conceitos econômicos principalmente na avaliação das relações de custo-benefício e utilização de recursos para o crescimento (Bloom *et al.* 1985).

Nesse sentido, a economia das plantas se baseia na aquisição de recursos do ambiente (água, carbono e nutrientes) que serão destinados ao estoque ou mobilização para a construção de produtos (folhas, galhos, raízes, etc), que contribuem na aquisição de recursos adicionais para a manutenção do crescimento, e desse modo, precisam operar de acordo com as mudanças impostas pelo ambiente em que estão, e assim, o sucesso de uma estratégia em certas condições pode ser um desastre em outras e ótimas soluções são normalmente efêmeras, de modo que as plantas precisam se engajar em um planejamento de curto e longo prazo (Bloom *et al.* 1985).

Nesse contexto, a moeda de troca no universo das plantas são os recursos do ambiente, essencialmente água, carbono e nutrientes, e apesar de muitos autores considerarem o carbono como o recurso determinante

no sucesso do estabelecimento de uma planta, o nitrogênio têm se mostrado ser mais importante nesse desempenho (Körner 2003, Millard *et al.* 2007, Rennenberg *et al.* 2009).

A aquisição dos recursos por uma planta compreende sua absorção, translocação e assimilação em formas que serão estocadas ou imediatamente utilizadas, e uma vez dentro da planta esta passa a ser uma fonte interna que será utilizada também na aquisição do recurso da fonte externa. Essa regra valendo para todas as plantas facilita a avaliação dos parâmetros econômicos nestes seres vivos, principalmente porque a demanda pelos recursos em certa planta é relativamente uniforme, a resposta de uma planta a um recurso pode ser monitorada em condições reais, a competição entre as plantas pelo recurso segue um comportamento pouco sociológico e a evolução dos processos ocorre de forma lenta (Bloom *et al.* 1985).

Sendo assim, a teoria econômica supõe que qualquer negócio visa maximizar os lucros e que apenas empresas que mantêm os lucros sobrevivem, do mesmo modo, a ecologia assume que a seleção natural tende a maximizar o desempenho de uma planta, e este é função de sua produtividade primária, que permite o crescimento, reprodução e sobrevivência (Bloom *et al.* 1985).

Nas áreas estudadas neste trabalho, foram selecionadas apenas espécies de alto valor de importância, segundo a dominância e frequência relativas de cada espécie em seu respectivo ecossistema. Assim, assumiu-se que estas espécies apresentam sucesso nas suas estratégias de utilização de recurso, especificamente o N neste caso, e por isso elas coexistem no mesmo ambiente.

Nesse contexto, comparando as médias gerais das espécies estudadas em todas as áreas (Tabela 7), tem-se que ANR apresentou valores muito semelhantes entre elas, com aumento no inverno para as áreas brasileiras, sugerindo menor efeito da sazonalidade em LAM, que pode ser explicado por sua posição geográfica que define aquela floresta como subtropical, e com isso suas plantas parecem ser mais adaptadas ao frio e com isso sofrem menor variação na ANR com o advento das baixas temperaturas como parece acontecer nas outras áreas segundo o argumento de Cantrel *et al.* (2011).

O NO_3^- foliar é maior no cerrado seguido da floresta SV, e as plantas de LAM possuem as menores concentrações, sugerindo que na área de cerrado em resposta aos maiores períodos de seca as plantas acumulam NO_3^- durante os períodos de abundância externa e o consomem quando as fontes externas são escassas (Bloom *et al.* 1985), e onde a sazonalidade foi menos marcante como em LAM, as plantas não acumularam tanto desse íon.

A razão CN também se mostrou semelhante entre as áreas com marcada redução no inverno para o cerrado PDG, sugerindo que as plantas desta área, ao sofrer estresse hídrico na estação menos favorável inibem o ganho de C em maior escala que a aquisição de N devido à queda na transpiração e na atividade

fotossintética, e tem um consequente aumento da razão CN pelo aumento da demanda por N para suprir a falta de C (Hanson & Hitz 1983). Ainda nessa discussão, o custo de N na aquisição de C é maior que o custo de C na aquisição de N, pois a taxa de manutenção da respiração é muito maior para as raízes que para as folhas e porque a energia requerida para assimilação é pelo menos duas vezes maior por unidade de NO_3^- que por unidade de CO_2 (Johnson 1983). Além disso, a aquisição de C é diretamente proporcional aos níveis de N foliares (Field 1983), e por isso as plantas acabam acumulando mais N, pois o período anual menos favorável, sendo pela seca ou pelas baixas temperaturas, é um evento no qual a maioria das plantas perenes remobiliza o estoque de nutrientes para reserva visando utilizar no crescimento subsequente (Bloom *et al.* 1985).

O $\delta^{15}\text{N}$ foi menor no cerrado, em acordo com outros resultados encontrados em comparação de savanas com florestas mundiais (Schmidt & Stewart 2003, Högberg & Alexander 1995). Porém os valores individuais foram bastante variáveis como aconteceu na comparação feita por Hoffmann *et al.* (2005) entre plantas de cerrado e floresta no Brasil, e isso sugere que essas diferenças são mais provavelmente devido a processos do ecossistema que a diferenças no nível de espécie. Assim, como os últimos autores afirmaram, no presente estudo também não houve clara distinção nesse parâmetro que possa indicar diferenças no uso de N entre estes grupos de plantas.

Por outro lado, considerando o argumento de que associações com bactérias fixadoras de N por plantas acarretam menores assinaturas isotópicas de ^{15}N (Hedin *et al.* 2009), isso pode ser explicado pela alta densidade de espécies da família Leguminosae na área de cerrado, que possuem plantas potencialmente fixadoras de N.

Quanto a AFE (Tabela 8), as florestas mostraram maiores médias que o cerrado, fato também observado por Hoffmann *et al.* (2005), que associaram baixas AFE a ambientes pobres em nutrientes. Menor AFE em plantas do cerrado pode permitir aumento da longevidade foliar e da eficiência no uso de nutrientes (Reich *et al.* 1992), significando que a duração do retorno de um investimento em tecido foliar tende a ser menor nesses ambientes (Wright *et al.* 2004), bem como estar associada com alta irradiância e secas sazonais, típicas de savanas (Hoffmann *et al.* 2005).

Hoffmann *et al.* (2005), estudando plantas de floresta e de cerrado crescendo em área típica de cerrado, mostrou que a AFE foi mais fortemente determinada pelo hábitat da espécie que pela sua afinidade taxonômica, e esteve relacionada diretamente à quantidade de N foliar. Paralelamente, encontrou-se maior porcentagem de N nas folhas de SV que de LAM, e essas porcentagens foram menores ainda no PDG, concordando com o encontrado pelos autores acima.

Em relação a DM, não houve diferenças entre as áreas quando consideradas as médias gerais, porém,

considerando as diferenças individuais, as plantas de LAM e PDG mostraram maiores DM que em SV, sugerindo que nos primeiros as plantas em geral possuem menores taxas de crescimento, maior sobrevivência, ciclo de vida longo, maior resistência a formação de embolias e estatus sucessional tardio (ter Steege & Hammond 2001, Hacke *et al.* 2001, Muller-Landau 2004, Chave *et al.* 2009, Poorter *et al.* 2009). E isso pode estar associado mais uma vez com a idade de cada uma dessas formações e/ou frequência de distúrbios, pois o histórico das duas áreas mais antigas (LAM e PDG), diferente do que houve em SV (Dean 2002), não registra exploração de carvão, que de fato, eliminou grande parte das árvores mais antigas de grande porte nesta última.

Quanto à comparação dos resultados gerais de micorriza para as áreas estudadas, observaram-se diferenças entre as florestas e o cerrado principalmente em respeito às estações do ano. Nas florestas ocorre um aumento dessa ocorrência no inverno, seja na colonização total (como em SV) ou na colonização por micorriza arbuscular (como em LAM e também em SV). Já no cerrado há uma queda na colonização na estação mais seca, podendo isso estar relacionado com as características do solo, como proposto anteriormente, ou isso pode estar associado com as quantidades de Al desses solos, como sugerido por Hoffmann *et al.* (2005). Mas como não se tem dados de Al do solo das áreas de estudo nas épocas das coletas não se conseguiu fazer essa associação com clareza.

Considerando as particularidades de cada área e partindo para um contexto econômico seguindo a analogia feita por Bloom *et al.* (1985), essa discussão faz mais sentido quando se considera os grupos funcionais encontrados nas diferentes áreas de estudo que na comparação entre elas usando os resultados médios gerais de todas as plantas avaliadas, que dão uma visão geral do ecossistema sem aprofundar nas comunidades em si.

Nessa perspectiva, uma análise comparativa das comunidades volta-se para os grupos funcionais encontrados nas áreas estudadas, que evidenciaram estratégias econômicas semelhantes em termos de uso de N, adicionalmente os atributos AFE e DM ajudaram a compor o universo dessas formas de economia.

De um lado tem-se as espécies Pi nas florestas e as espécies do grupo TrGLN no cerrado, que maximizam seu desempenho utilizando uma estratégia econômica no uso do recurso N que se caracteriza por maiores custos compensados por altos ganhos na produtividade, que sustentam um crescimento rápido, com isso as madeiras são de baixa densidade e as folhas possuem maiores AFE. Essas espécies investem na redução do NO_3^- foliar, e o fazem de acordo com a disponibilidade do recurso no ambiente, assim exibem alta ANR no verão, e este custo é compensado por maior assimilação de carbono. Como o CO_2 não é limitante, e a assimilação deste tem menor custo com água disponível no ambiente, o NO_3^- do solo que também está mais

disponível na época chuvosa é rapidamente assimilado e destinado ao crescimento. Essas espécies transportam NO_3^- e Asn na seiva do xilema nas plantas das florestas e Gln e Asn nas do cerrado, sugerindo a dependência da entrada de novo N e grande eficiência na sua utilização. Além disso, suas folhas exibem maiores quantidade de N foliar, portanto menor razão CN, mostrando o menor investimento em construção da folha e confirmando a estratégia de alto custo no uso do N compensada pelos lucros em crescimento rápido.

Esta estratégia econômica pode ser entendida em paralelo ao Teorema 2, como sugerido por Bloom *et al.* (1985), onde uma empresa busca maximizar seus lucros de modo que o nível de saída dos custos marginais se iguale ao custo da receita marginal, ou seja, o custo marginal e a receita marginal são a mudança no custo ou receita, respectivamente, resultantes de uma mudança na produção. Assim, para empresas e plantas, o custo marginal normalmente diminui, alcança um mínimo e, em seguida, aumenta com o aumento do nível de produção. Nesse sentido, como a relação entre o custo marginal e a receita mudam com o nível da produção, uma empresa deve aumentar a produção conforme o aumento no custo por unidade de produto é menor que o aumento na receita. Por analogia, a fotossíntese líquida (lucro de carbono) se iguala à diferença entre fotossíntese bruta (receita) e a respiração (custo). E então para maximizar o lucro de carbono (fotossíntese líquida), a planta continua a produzir folhas novas até que o aumento na receita (fotossíntese bruta) se iguale ao aumento no custo (respiração).

No contexto do uso de N por estas plantas, sugere-se que na tentativa de maximizar o lucro de N, as plantas continuam a reduzir NO_3^- foliar e mantém o aumento dessa assimilação de N externo (ANR), paralelamente a maior fotossíntese, até que o aumento na receita (fotossíntese bruta, N total) se iguale ao aumento no custo (respiração de raízes e folhas). Essas espécies mostram maior flutuação com o ambiente e aceleram seu ciclo de vida e reprodução para aperfeiçoar a sobrevivência, por isso diminuem a ANR na estação seca, quando a menor disponibilidade de água e a escassês dos nutrientes no solo aumenta os custos desses processos.

Por outro lado, no outro extremo, as plantas da classe St nas florestas e do grupo TrARG no cerrado, que se caracterizam pelo transporte de arginina, um marcador de reciclagem interna de N, maximizam seu desempenho utilizando uma estratégia econômica no uso do recurso N que se caracteriza por um desacoplamento do lucro (p.ex. crescimento) com a disponibilidade desse recurso no solo (parte da receita).

Em paralelo ao Teorema econômico 1, proposto por Bloom *et al.* (1985), uma empresa pode buscar maximizar seus lucros comprando recursos a menor preço e utilizando estes quando são mais valiosos. O custo de um recurso pode ser fixo ou variável, dependendo da amplitude de variação nos custos durante um

tempo relativamente curto ou longo, de acordo com o nível de produção. Nesse raciocínio, quando os custos são variáveis, refletem o suprimento e a demanda pela empresa ou planta, onde então um recurso escasso que é imediatamente necessário terá um alto custo.

No universo das plantas em seu ambiente natural, os recursos são geralmente bastante variáveis, e assim têm custos variáveis devido à sua flutuação através das estações do ano e até mesmo durante o dia. As plantas podem maximizar seus lucros, ou sua produtividade primária, através da compra a menor custo e fazendo investimento oportuno, isto é, adquirindo um recurso quando este é abundante, reservando ou estocando o mesmo, e o utilizando quando este prover um máximo de produtividade (Bloom *et al.* 1985).

Assim, este grupo de plantas investe na estratégia de reciclar e/ou reutilizar os recursos estocados quando adquirir recurso novo do ambiente fica mais caro, elas optam por sustentar um crescimento mais lento e um ciclo de vida mais longo, com isso as madeiras exibem maior densidade e as folhas possuem menor AFE. Essas espécies reduzem o custo no uso do recurso N investindo mais no estoque e reciclagem do N interno que na aquisição de N externo, e quando o fazem, optam pela fonte inorgânica NH_4^+ que exige menor custo em relação à assimilação do NO_3^- , com isso exibem baixas ANR foliar em relação ao grupo das plantas Pi e TrASN, e transportam preferencialmente arginina na seiva do xilema, que evidencia a reciclagem interna e alta eficiência no transporte de N. Além disso, estas espécies apresentam menor concentração de N foliar, portanto maior razão CN, mostrando maior investimento em carbono, que permitem folhas mais longevas. Essas plantas podem usar compostos de reserva para diferentes funções, o que tende a reduzir os custos diretos da reserva em si (Bloom *et al.* 1985).

Como intermediárias nesse contínuo de estratégias no uso de N, tem-se as espécies de plantas da classe Si das florestas e TrASN do cerrado, que se caracterizam pela utilização de uma outra estratégia de economia, que se encaixam nos Teoremas 3 e 4 sugeridos por Bloom *et al.* (1985). O Teorema 4 diz que a empresa busca maximizar seus lucros ao otimizar a alocação entre os processos que competem entre si quando cada recurso limita todos os processos no mesmo grau. Ou seja, a empresa ou planta decide quanto de cada recurso utilizar em cada processo, considerando que os recursos, ou reservas, podem substituir um ao outro em certo grau, assim, por exemplo, essas plantas podem modificar o composto de transporte de N na seiva do xilema e manter diversas estratégias diferentes na aquisição de N externo.

De acordo com o Teorema 3, a maximização dos lucros tende a equalizar a taxa de produto marginal sobre os custos de todos os recursos, e então, a empresa continua comprando/investindo em um certo recurso até o correspondente aumento na produção seja maior do que poderia ser pelo mesmo gasto de qualquer outro recurso. Em termos biológicos, o produto marginal de um recurso é a resposta da produtividade primária a

uma mudança na disponibilidade de carbono, nutrientes ou água, e por este teorema, uma planta deve ajustar alocação de modo que por um dado gasto na aquisição de cada recurso, é alcançada a mesma taxa de crescimento, e este é limitado igualmente por todos os recursos (Bloom *et al.* 1985).

No paralelo desses Teoremas com o comportamento das espécies Si e as TrASN, observa-se que estas não investem muito em ANR, sendo o NO_3^- um recurso de alto custo, elas possuem a capacidade de utilizá-lo mas o fazem em pequeno grau. Considerando que a assimilação do NO_3^- requer altas taxas fotossintéticas, sugere-se que como no Teorema 4, essas plantas buscam equalizar o produto (crescimento) com o custo dos recursos necessários para a produção (água, CO_2 e NO_3^- por exemplo), e ao mesmo tempo otimiza a alocação dos recursos internos entre os processos, como no Teorema 3. Também exibem menor N foliar e maior razão CN, mostrando investimento em estrutura foliar que permite maior longevidade foliar, com AFE intermediária, ou seja, investe em área e estrutura de forma mais homogênea. A maior DM, similar à das plantas St e TrARG, sustenta maior longevidade da planta em geral e maior eficiência no transporte de água. E o transporte de N sob diversas formas, principalmente Asn, confirma a estratégia mais generalista dessas espécies, podendo ser eficiente com menor gasto e maior plasticidade no uso do recurso. Por isso se mantém intermediárias nesse contínuo de estratégias dentro da floresta e também no cerrado.

Sendo assim, a fim de alcançar tanto uma taxa de custo-benefício similar para cada recurso (Teorema 3) quanto uma ótima alocação de recursos entre os processos (Teorema 4), as plantas das espécies Si e TrASN parecem se ajustar fisiologicamente em ambos curto-prazo (aclimatando-se) e longo-prazo (adaptando-se geneticamente) para minimizar as diferenças nas “taxas de câmbio” através dos diversos habitats, o que seria o Teorema 5 proposto por Bloom *et al.* (1985). Onde “taxa de câmbio” nessa teoria econômica significa a quantidade relativa de dois recursos que podem ser adquiridos por um dado gasto de reserva, e este é um parâmetro chave na predição de respostas de plantas a mudanças no balanço entre recursos internos e externos.

Uma última consideração importante sobre a “taxa de câmbio” é que os custos de água e nutrientes na aquisição do carbono são maiores que na aquisição de nutrientes, entretanto, o custo do carbono na aquisição do carbono é menor que na aquisição de nutrientes, então a “taxa de câmbio” entre carbono e nutrientes (razão CN) será maior em termos de água e nutrientes que em termos de carbono. Assim, a variação na demanda e no suprimento relativo e o diferencial nos custos da aquisição de recursos indicam que a “taxa de câmbio” entre carbono e nutrientes é altamente variável, tanto sazonalmente quanto entre os diferentes ambientes (Bloom *et al.* 1985).

Nesse contexto, as plantas reduzem a disparidade no suprimento de C e N aumentando sua capacidade de

assimilar os recursos mais limitantes, e os processos que determinam essa capacidade geralmente competem entre si por reservas internas. As plantas podem então moderar a relativa demanda por C e N através do uso prudente das reservas estocadas e flexibilizar os requerimentos para o crescimento, criando mudanças compensatórias na aquisição e demanda relativas da produção, reduzindo a “taxa de câmbio” entre C e N.

Em resumo, observou-se que mesmo em diferentes ambientes, o crescimento vegetativo das plantas segue alguns padrões de economia no uso do recurso N, que concorda com os teoremas econômicos que preveem como o lucro deve ser maximizado e os recursos otimamente alocados, propostos por Bloom *et al.* (1985) e se encaixam no modelo proposto por Aida *et al.* (2003) que preveem a existência de um contínuo de estratégias entre plantas de diferentes grupos funcionais.

Desse modo, na economia do nitrogênio, as árvores: ajustam sua história de vida para adquirir formas mais baratas de N (NH_4^+), estocar estes recursos internamente de forma eficiente (Arg) e utilizar os mesmos (reciclagem interna) quando as condições são favoráveis para o crescimento (Plantas das classes St e TrARG), sustentando ciclo de vida longo, alta densidade da madeira, menor AFE e maior razão CN; continuam a aumentar o investimento no crescimento rápido assimilando N externo apenas até que a receita marginal desse aumento na produção se iguale aos custos, flutuando mais com as mudanças no ambiente e mantendo um alto custo no uso do N (Plantas das classes Pi e TrGLN), sustentando assim um ciclo de vida mais curto com menor DM, maior AFE e menor razão CN, e transportando Gln ou Asn principalmente; e ajustam a alocação dos recursos até igualar o efeito de todos os recursos na limitação ao crescimento ou se ajustam fisiologicamente à mudanças na disponibilidade dos recursos para reduzir a “taxa de câmbio” fazendo um balanço entre as reservas internas e externas numa proporção ótima para o crescimento (Plantas das classes Si e TrASN), sustentando assim estratégias mais variáveis entre os dois extremos anteriores, com ANR e AFE médios, alta DM como as primeiras, baixa razão CN como as segundas e transportando Asn principalmente. Ainda, pôde-se concluir que os melhores indicadores dessa economia do N nas árvores são os compostos transportados na seiva do xilema, mas também o conteúdo de N, a ANR, bem como a razão CN também são importantes na definição dessas estratégias.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. O presente estudo confirmou a validade do modelo de uso de N proposto por Aidar *et al.* (2003) ao incluir as plantas da Floresta Ombrófila Densa Montana do norte do estado de São Paulo, promove ao mesmo uma amplitude Intercontinental ao inserir as plantas de uma Floresta Subtropical Montana Australiana e adicionou uma nova perspectiva em relação ao cerrado ao se aplicar às plantas de um cerrado ao norte do estado de São Paulo, que se utilizam das mesmas estratégias de uso de N propostas pelo modelo, porém em grupos funcionais diferentes que não demonstram sucessão cronológica clara como os das plantas nas florestas;
2. O aumento da ANR no inverno encontrado nas espécies secundárias na sucessão florestal e nos grupos correspondentes a estas no cerrado (TrARG e TrASN), pareceu relacionar-se mais à aclimação ao frio que à competição por recursos, ou mesmo demanda nutricional, demonstrando a importância da NR na resposta da planta ao estresse causado por baixas temperaturas que envolve remodelamento desse metabolismo;
3. Não se encontrou relação entre ANR e a concentração de NO_3^- foliar, revelando uma não dependência da atividade da enzima NR e a concentração do substrato na folha. Assim, como já sugerido por Smirnoff & Stewart (1985), o acúmulo do NO_3^- foliar nessas plantas mostrou estar mais relacionado a funções osmóticas intracelulares do que nutricionais;
4. O $\delta^{15}\text{N}$ não mostrou ser um atributo de grande valia na determinação das estratégias de uso de N pelas espécies dentro dos grupos funcionais avaliados;
5. Em LAM as espécies estão mais adaptadas à sazonalidade no que se refere ao uso de N pelas plantas, o que se sugeriu ser devido à combinação da sua localização em menor latitude que as demais áreas estudadas com a alta altitude, e/ou à maturidade da vegetação;
6. No que se refere à aquisição, assimilação, transporte e armazenamento do N disponível no ambiente, não existe dependência direta do uso de N com a fenologia das espécies do cerrado PDG, porém a AFE de espécies perenifólias é geralmente menor que de espécies decíduas, refletindo maior esclerofilia e

custo de construção das primeiras, existem maiores concentrações de NO_3^- nas folhas das espécies decíduas e semi-decíduas, sugerindo maior investimento em reserva de N pelas plantas destas classes fenológicas, que podem estar acumulando esse íon com uma função osmótica para contribuir no ajuste osmótico durante períodos de seca (Smirnoff & Stewart 1985);

7. As plantas do cerrado possuem uma estratégia de economia nos custos da manutenção do crescimento durante a estação menos favorável, marcada pela maior razão CN no inverno em todas as análises realizadas, e isso confirmou os argumentos de que em plantas terrestres, o custo pelo uso da água para o crescimento é uma função dos suprimentos de N e C (Raven *et al.* 2004), e os mecanismos de economia no uso de N e de água são interdependentes (Patterson *et al.* 1997);
8. Confirmou-se a influência da sazonalidade como promotora da variabilidade na disponibilidade de N no solo já sugerida por Fayers & Trewin (2004) e Channing & Edwards (2009), pois as mudanças no regime de chuvas e temperatura mesmo dentro da mesma estação do ano levam claramente a variações na disponibilidade dos nutrientes no solo. E, além disso, confirmou-se que nos trópicos, onde uma grande fração do estoque de nutrientes reside na vegetação, a concentração dos nutrientes no solo pode não refletir o que acontece na vegetação (Hoffmann *et al.* 2005);
9. Concluiu-se que o método que se utiliza de resina de troca iônica para determinação da disponibilidade de N no solo é mais bem aplicado quando o desenho experimental considera um tempo maior de permanência das resinas no solo, podendo ser mais diagnóstico e aumentar o grau de confiança quando empregado dessa forma;
10. Demonstrou-se que mesmo em diferentes ecossistemas, o desempenho das plantas segue alguns padrões de economia no uso do recurso N, que concorda com os teoremas econômicos que preveem como o lucro deve ser maximizado e os recursos otimamente alocados, propostos por Bloom *et al.* (1985) e se encaixam no modelo proposto por Aida *et al.* (2003) que preveem a existência de um contínuo de estratégias entre plantas de diferentes grupos funcionais, e desse modo, em análise da economia do nitrogênio em árvores tropicais, mostrou-se que coexistem árvores com estratégias diferentes mas igualmente econômicas, com destaque para três grupos funcionais a seguir:

11. Plantas das classes St e TrARG – ajustam sua história de vida para adquirir formas inorgânicas de N de menor custo energético (como o NH_4^+), têm menor vantagem na assimilação do NO_3^- nas folhas por causa da limitação da fotossíntese pela luz, e por isso, podem optar por assimilar esse íon nas raízes permitindo maior controle na assimilação de N e C sob o uso limitado da luz, estocando estes recursos internamente de forma eficiente (Arg) e utilizando-os (reciclagem interna) quando as condições são favoráveis para o crescimento, sustentando ciclo de vida longo, alta densidade da madeira (que reflete o investimento da planta em suporte mecânico e carbono, bem como a eficiência na condução hidráulica), menor AFE, maior razão CN foliar e menores NRA e %N- NO_3^- sendo transportado na seiva do xilema, elementos que ajudam a compor a estratégia mais conservativa no uso do recurso adotada por estas espécies, mostrando que estas plantas investem mais em estrutura (maior razão CN e DM), possibilitando maior longevidade, e economizam na utilização de N através do uso de compostos mais eficientes no armazenamento e no transporte, como arginina;
12. Plantas das classes Pi e TrGLN – continuam a aumentar o investimento na captação de recursos assimilando N externo (NO_3^-), mas apenas até que a receita marginal desse aumento na produção se iguale aos custos, flutuando mais com as mudanças no ambiente e mantendo um alto custo no uso do N, que é compensado pelo acoplamento da assimilação do NO_3^- diretamente à fotossíntese, sustentando assim uma estratégia mais especialista, associada a um ciclo de vida mais curto e um crescimento rápido que demanda alta luminosidade, e que gera madeiras de baixa densidade. Possuem maior AFE indicativa de menor longevidade foliar, menor investimento em estrutura e menor eficiência no uso de nutrientes com aumento do tempo de retorno do investimento em tecido foliar, e menor razão CN foliar, mostrando menor capacidade de assimilar os recursos mais limitantes e confirmando sua maior especialidade. E transportam N através do uso de compostos menos eficientes que Arg, porém também efetivos nessa função como Gln, NO_3^- e Asn principalmente;
13. Plantas das classes Si e TrASN – ajustam a alocação dos recursos até igualar o efeito de todos os recursos na limitação ao crescimento ou se ajustam fisiologicamente às mudanças na disponibilidade dos recursos para reduzir a “taxa de câmbio” fazendo um balanço entre as reservas internas e externas numa proporção ótima para o crescimento, sustentando assim estratégias mais variáveis entre os dois extremos anteriores, com ANR e AFE médios, alta DM como nas primeiras, baixa razão CN como nas segundas e transportando Asn além de diversos outros compostos também eficientes nessa função

como Arg. Essa plasticidade no uso dos recursos encontrada nas espécies secundárias provém um importante mecanismo de partição desses recursos, particularmente naquelas que têm em geral sobreposição de padrões de uso do recurso (Ashton *et al.* 2010);

14. Ainda, conclui-se que os melhores indicadores dessa economia do N nas árvores tropicais são os compostos transportados na seiva do xilema, mas também o conteúdo de N, a ANR, razão CN, bem como a AFE e DM são importantes na definição dessas estratégias;
15. Assim, os objetivos: a) Determinar as estratégias de uso de N utilizadas pelas espécies arbóreas vegetais que estruturam os ecossistemas em estudo, através da caracterização da aquisição, transporte, estocagem e remobilização do N; b) Comparar as características e estratégias de uso de N utilizadas pelas plantas, buscando similaridades e padrões entre os ecossistemas, testando a validade do modelo de uso de N proposto por Aida *et al.* (2003) para as espécies das florestas estudadas; e c) Buscar modelos alternativos ou complementares no caso do teste de validação do modelo proposto não ser satisfatório para as áreas de estudo, foram alcançados;
16. Foi confirmada a hipótese (a), de que “As florestas estudadas teriam comportamento similar em relação ao uso e transporte de N pelas espécies em diferentes estágios sucessionais. Assim, espécies secundárias tardias na sucessão provavelmente seriam menos afetadas pela disponibilidade de N no solo por terem uma ciclagem interna de N como estratégia mais importante. Espécies pioneiras teriam preferência pelo uso do NO_3^- como fonte de N e haveria um contínuo de estratégias entre esses dois extremos da sucessão”;
17. E encontrou-se um padrão no uso de N pelas espécies do cerrado, semelhante ao da floresta no que se refere à aquisição e reciclagem, com grupos funcionais diferentes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrol, Y.P., Sawhney, S.K. & Naik, M.S. 1983. Light and dark assimilation of nitrate in plants. *Plant Cell and Environment* 6:595-599.
- Adams, M., Ineson, P., Binkley, D., Cadisch, G., Tokuchi, N., Scholes, M. & Hicks, K. 2004. Soil Functional Responses to Excess Nitrogen Inputs at Global Scale. *Ambio* 33(8):530-536.
- Aguirre, G.H. 2008. Caracterização da vegetação arbustivo-arbórea de fragmentos de floresta ombrófila densa montana. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas – Campinas/SP, 115p.
- Aiba, M. & Nakashizuka, T. 2009. Architectural differences associated with adult stature and wood density in 30 temperate tree species. *Functional Ecology* 23:265-273 .
- Aidar, M.P.M., Schmidt, S., Moss, G., Stewart, G.R. & Joly, C.A. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant Cell and Environment* 26:389-399
- Aidar, M.P.M., Carrenho, R. & Joly, C.A. 2004. Mycorrhizal colonization in an Atlantic forest chronosequence – Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), SP. *Biota Neotropica* 4(2) www.biotaneotropica.org.br/v4N2/pt/abstract?article+BN02504022004
- Akselsson, C., Westling, O., Alvetag, M., Thelin, G., Fransson, A.-M. & Hellsten, S. 2008. The influence of N load and harvest intensity on the risk of P limitation in Swedish forest soils. *Science of the Total Environment* 404:284-289.
- Almeida, F.F.M., Hasui, Y., Ponçano, W.L., Dantas, A.S.L., Carneiro, C.D.R., Melo, M.S. & Bistrichi, C.A. 1981. Mapa Geológico do Estado de São Paulo. I.P.T.- Divisão de Minas e Geologia Aplicada, São Paulo. Série Monografias 6:1.
- Alves, L.F. & Metzger, J.P. A regeneração florestal em áreas de floresta secundária na Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, SP. 2006. *Biota Neotropica* 6(2) <http://www.biotaneotropica.org.br/v6N2/pt/abstract?article+bn00606022006>
- Amundson, R., Austin, A.T., Schuur, E.A.G., Yoo, K., Matzek, V., Kendall, C., Uebersax, A., Brenner, D. & Baisden, W.T. 2003. Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen. *Global Biogeochemical Cycles* 17: 1029.
- Andrews, M., Lea, P.J., Raven, J.A. & Lindsey, K. 2004. Can genetic manipulation of plant nitrogen assimilation enzymes result in increased crop yield and greater N-use efficiency? An assessment. *Annals of Applied Biology* 145:25-40.
- Andrews, M., Lea, P.J., Raven, J.A. & Azevedo, R.A. 2009. Nitrogen use efficiency. 3. Nitrogen fixation: genes

- and costs. *Annals of Applied Biology* 155:1-13.
- Ashton, I.W., Miller, A.E., Bowman, W.D. & Suding, K.N. 2010. Niche complementarity due to plasticity in resource use: plant partitioning of chemical N forms. *Ecology* 91(11):3252-3260.
- Austin, A.T. & Vitousek, P.M. 1998. Nutrient dynamics on a precipitation gradient in Hawaii. *Oecologia* 113:519-529.
- Austin, A.T., Yahdjian, L., Stark, J.M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D. & Schaeffer, S.M. 2004. Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141:231-235.
- Batalha, M.A. 1997. Análise da vegetação da ARIE – Cerrado Pé-de-gigante (Santa Rita do Passa Quatro, SP). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo – São Paulo/SP, 179p.
- Batalha, M.A. & Mantovani, W. 1999. Chaves de identificação das espécies vegetais vasculares baseada em caracteres vegetativos para a Arie Cerrado Pé-de-gigante (Santa Rita do Passa-Quatro, SP). *Revista do Instituto Florestal* 11:137-158.
- Batalha, M.A. & Mantovani, W. 2000. Reproductive phenological patterns of Cerrado plant species at the Pé-de-gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brasil): a comparison between the herbaceous and woody flora. *Revista Brasileira de Biologia* 60(1):129-145.
- Batalha, M.A. & Mantovani, W. 2001. Florist composition of the Cerrado in the Pé-de-gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, southeastern Brasil). *Acta Botânica Brasílica* 15(3):289-304.
- Batalha, M.A., Mantovani, W. & Mesquita Júnior, H.N. 2001. Vegetation structure in cerrado physiognomies in southeastern Brasil. *Brazilian Journal of Biology* 61(3):475-483.
- Bazzaz, F.A. & Pickett, S.T.A. 1980. Physiological ecology of tropical succession: a comparative review. *Annual Review of Ecological Systems* 11:287-310.
- Bentley, B.L. 1979. Longevity of individual leaves in a tropical rain forest under-story. *Annals of Botany* 43:119-21.
- Bertoni, J.E.A. 1984. A composição florística e estrutura fitossociológica de uma floresta do interior do Estado de São Paulo: Reserva Estadual de Porto Ferreira. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas – Campinas/SP, 200p.
- Besson-Bard, A., Pugin, A. & Wendehenne, D. 2008. New insights into nitric oxide signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* 59:21-39.
- Bhraskar, R. & Ackerly, D.D. 2006. Ecological relevance of minimum seasonal water potentials. *Physiologia Plantarum* 127:353-359.
- Biggs, T.W., Dunne, T. & Martinelli, L.A. 2004. Natural controls and human impacts on stream nutrient

- concentrations in a deforested region of the Brazilian Amazon basin. *Biogeochemistry* 68:227-57.
- Bitencourt, M.D. & Pivello, V.R. 1998. SIG e Sensoriamento Remoto orbital auxiliando o zoneamento ecológico. *Investigaciones Geograficas Boletín* 36:35-43.
- Bitencourt, M.D. & Mendonça, R.R. 2004. Introdução. *In*: M.D. Bitencourt & R.R. Medonça, (eds.). Viabilidade de Conservação dos remanescentes de Cerrado no Estado de São Paulo. 1ª Ed, Editora Annablume/Fapesp, 169p.
- Bloom, A.J., Chapin, F.S. & Mooney, H.A. 1985. Limitation in Plants – An Economic Analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:363-392.
- Bolstad, P.V., Mitchell, K. & Vose, J.M. 1999. Foliar temperature-respiration response functions for broad-leaved tree species in the southern Appalachians. *Tree Physiology* 19:871-878.
- Bonato, C.M., Rubin Filho, C.J., Melges, E. & Santos, V. 1998. Nutrição mineral de plantas. Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Borgonovi, M. & Chiarini, J.V. 1965. Cobertura vegetal do Estado de São Paulo. I. Levantamento por fotointerpretação das áreas cobertas com cerrado, cerradão e campo em 1962. *Bragantia* 24:159-172.
- Brodribb, T.J., Holbrook, N.M. & Gutierrez, M.V. 2002. Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant Cell and Environment* 25:1435-1444.
- Bryden, M.M. 1977. Introduction *in* Monroe R & Stevens N.C. (eds.). *The Border Ranges: a Land Use Conflict in Regional Perspective*. Royal Society of Queensland: Brisbane.
- Buchmann, M. 2002. Plant ecophysiology and forest response to global change. *Tree Physiology* 22:1177–1184.
- Bush, M.B & Flenley, J.R. 2007. *Tropical Rainforests Responses to Climate Change*. Springer Berlin Heidelberg New York. Praxis Publishing Ltd, Chichester UK.
- Bustamante, M.M.C., Martinelli, L.A., Silva, D.A., Camargo, P.B., Klink, C.A., Domingues, T.F. & Santos, R.V. 2004. N15 natural abundance in woody plants and soils of Central Brazilian savannas (cerrado). *Ecological Applications* 14:200-213.
- Bustamante, M.M.C., Medina, E., Asner, G.P., Nardoto, G.B. & Garcia-Montiel, D.C. 2006. Nitrogen cycling in tropical and temperate savannas. *Biogeochemistry* 79:209-237.
- Camargo, O.A., Moniz, A.C., Jorge, J.A. & Valadares, J.M.A.S. 1986. Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas. *Technical Bulletin of Campinas Agronomic Institute* 106. 94p.
- Camargos, L.S. 2002. Análise das alterações no metabolismo de nitrogênio em *Canavalia ensiformes* (L.) em

- resposta a variações na concentração de nitrato fornecida. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Piracicaba/SP, 113p.
- Campos, M.M.S. 2009. Ecofisiologia de uso do N em espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas, Ubatuba, SP. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica/SMA – São Paulo/SP, 102p.
- Cantrel, C., Vazquez, T., Puyaubert, J., Reze, N., Lesch, M., Kaiser, W.M., Dutilleul, C., Guillas, I., Zachowski, A. & Baudouin, E. 2011. Nitric oxide participates in cold-responsive phosphosphingolipid formation and gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* 189:415-427.
- Canvin, D.T. & Atkins, C.A. 1974. Nitrate, nitrite and ammonia assimilation by leaves: effect of light, carbon dioxide and oxygen. *Planta* 116:207-224.
- Carlquist, S. 1980. Further concepts in ecological wood anatomy, with comments on recent work in wood anatomy and evolution. *Aliso* 9:499-553.
- Cataldo, D.A., Haroon, M., Schrader, L.E. & Youngs, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 6:71-80.
- Catharino, E.L.M., Bernacci, L.C., Franco, G.A.D.C., Durigan, G. & Metzger, J.P. 2006. Aspectos da composição e diversidade do componente arbóreo das florestas da Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, SP. *Biota Neotropica* 6(2) <http://www.biotaneotropica.org.br/v6N2/pt/abstract?article+bn00306022006>
- Cernusak, L.A., Winter, K., Aranda, J. & Turner, B.L. 2008. Conifers, angiosperm trees, and lianas: growth, whole-plant water and nitrogen use efficiency, and stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) of seedlings grown in a tropical environment. *Plant Physiology* 148:642-659.
- Chabot, B.F. & Hicks, D.J. 1982. The ecology of leaf life spans. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13:229-259.
- Channing, A. & Edwards, D. 2009. Yellowstone hot spring environments and the palaeo-ecophysiology of Rhynie Chert plants: towards a synthesis. *Plant Ecology and Diversity* 2:111-143.
- Chapin, F.S. & Kedrowski, R.A. 1983. Seasonal changes in nitrogen and phosphorus fractions and autumn retranslocation in evergreen and deciduous taiga trees. *Ecology* 64:376-391.
- Chapman, S.K., Langley, J.A., Hart, S.C. & Koch, G.W. 2006. Plants actively control nitrogen cycling: uncorking the microbial bottleneck. *New Phytologist* 169:27-34.
- Chave, J., Coomes, D., Jansen, S., Lewis, S.L., Swenson, N.G. & Zanne, A.E. 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* 12:351-366.
- Chen, Y., Randerson, J.T., Vanderwerf, G.R., Morton, D.C., Mu, M. & Kasibhatla, P.S. 2010. Nitrogen deposition in tropical forests from savanna and deforestation fires. *Global Change Biology* 16:2024-2038.

- Choat, B., Ball, M.C., Luly, J.G. & Holtum, J.A.M. 2005. Hydraulic architecture of deciduous and evergreen dry rainforest tree species from north-eastern Australia. *Trees* 19:305-311.
- van Cleve, B. & Apel, K. 1993. Induction by nitrogen and low temperature of storage-protein synthesis in poplar trees exposed to long days. *Planta* 189:157-160.
- Cleveland, C.C., Townsend, A.R., Schimel, D.S., Fisher, H., Howarth, R.W., Edin, L.O., Perakis, S.S., Latty, E.F., Von Fischer, J.C., Elseroad, A. & Wasson, M.F. 1999. Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N-2) fixation in natural ecosystems. *Global Biogeochemical Cycles* 13:623-645.
- Clewett, J.F., Clarkson, N.M., Owens, D.T. & Abrecht, D.G. 1994. Australian Rainman Version 2.2: Rainfall Information for Better Management. Department of Primary Industries: Brisbane.
- Coleman, G.D., Chen, T.H.H., Ernst, S.G. & Fuchigami, L. 1991. Photoperiod control of poplar bark storage protein accumulation. *Plant Physiology* 96:686-692.
- Coletta, L.D., Nardoto, G.B., Latansio-Aidar, S.R., Rocha, H.R., Aidar, M.P.M. & Ometto, J.P.H.B. 2009. Isotopic view of vegetation and carbon and nitrogen cycles in a cerrado ecosystem, southeastern Brasil. *Scientia Agricola* 66(4):467-475.
- Colli, A.M.T., Salino, A., Souza, S.A., Lucca, A.L.T. & Silva, R.T. 2004. Pteridófitas do Parque Estadual da Vassununga, Santa Rita do Passa Quatro (SP), Brasil. Glebas Capetinga Lesta e Capetinga Oeste. *Revista do Instituto Florestal* 16(1):25-30.
- Colwell, R.K., Brehm, G., Cardelis, C.L., Gilman, A.C. & Longino, J.T.. 2008. Global warming, elevational range shifts, and lowland biotic attrition in the wet tropics. *Science* 322:258-260.
- Corpas, F.J., Palma, J.M., Sandalio, L.M., Valderrama, R., Barroso, J.B. & Del Rio, L.A. 2008. Metabolism of reactive nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions. *Plant and Cell Physiology* 49:1711-1722.
- Coutinho L.M. 1978. O conceito de cerrado. *Revista brasileira de Botânica* 1:17-23.
- Craine, J.M., Elmore, A.J., Aidar, M.P.M., Bustamante, M., Dawson, T.E., Hobbie, E.A., Kahmen, A., Mack, M.C., McLauchlan, K.K., Michelsen, A., Nardoto, G.B., Pardo, L.H., Peñuelas, J., Reich, P.B., Schuur, E.A.G., Stock, W.D., Templer, P.H., Virginia, P.A., Welker, J.M. & Wright, I.J. 2009. Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, and nitrogen availability. *New Phytologist* 1-9.
- Crane, W.S. B. & Banks, J.C.G. 1992. Accumulation and retranslocation of foliar nitrogen in fertilised and irrigated *Pinus radiata*. *Forest Ecology Management* 52:201-223.
- Crawford, N.M. & Glass, A.D.M. 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends*

in Plant Science 3(10):389-395.

- Cuevas, E. & Medina, E. 1986. Nutrient dynamics within Amazonian forest ecosystems 1: Nutrient flux in fine litter fall and efficiency of nutrient utilization. *Oecologia* 68(3):466-472.
- Curtis, P.S., Hanson, P.J., Bolstad, P., Barford, C., Randolph, J.C., Schmid, H.P. & Wilson, K.B. 2002. Biometric and eddy-covariance based estimates of ecosystem carbon storage in five eastern North American deciduous forests. *Agricultural Forestry Meteorology* 113:3-19.
- Davidson, E.A., Keller, M., Erickson, H.E., Verchot, L.V. & Veldkamp, E. 2000. Testing a conceptual model of soil emissions of nitrous and nitric oxides. *Bioscience* 50:667-680.
- Dean, W. 2002. *A ferro e fogo: A história e a devastação da Mata Atlântica brasileira*. Sao Paulo: Companhia das Letras. 484 p.
- Dias, T., Carolino, M., Cruz, C. & Martins-Loução, M.A. 2006. Ammonium in the soil: contribution to biodiversity and function in Mediterranean-type ecosystems? *In*: 17th Reduced nitrogen in ecology and the environment, Austria. http://www.nineesf.org/sites/nine_esf.org/files/obergurgl/presentations/Dias.pdf
- Diemer, M. 1998. Life span and dynamics of leaves of herbaceous perennials in high-elevation environments – news from the elephant’s leg. *Functional Ecology* 12:413-425.
- Durigan, G. & Ratter, J.A. 2006. Sucessional changes in cerrado and cerrado/forest ecotonal vegetation in western São Paulo state, Brasil, 1962-2000. *Edinburgh Journal of Botany* 63(1):119-130.
- Eamus, D. & Prichard, H. 1998. A cost–benefit analysis of leaves of four Australian savanna species. *Tree Physiology* 18:537-535.
- Eamus, D. 1999. Ecophysiological traits of deciduous and evergreen woody species in the seasonally dry tropics. *Tree* 14(1): 11-16.
- Eamus, D., Myers, B., Duff, G. & Williams, D. 1999. Seasonal changes in photosynthesis of eight savanna tree species. *Tree Physiology* 19:665-671.
- Ellis, S. & Mellor, A. 1995. *Soils and Environment*. Routledge, New York. 364p.
- Esser, G., Kattge, J. & Sakalli, A. 2011. Feedback of carbon and nitrogen cycles enhances carbon sequestration in the terrestrial biosphere. *Global Change Biology* 17:819-842.
- Ewers, F.W., Ewers, J.M., Jacobsen, A.L. & López-Portillo, J. 2007. Vessel redundancy: Modeling safety in numbers. *International Association of Wood Anatomists Journal* 28:373-388.
- Falkengren-Grerup, U., Månsson, K.F. & Olsson, M.O. 2000. Uptake capacity of amino acids by then grasses and forbs in relation to soil acidity and nitrogen availability. *Environmental and Experimental Botany* 44:207-219.

- Falster, D.S. & Westoby, M. 2003 . Plant height and evolutionary games. *Trends in Ecology & Evolution* 18:337-343 .
- Falster, D.S. & Westoby, M. 2005a. Alternative height strategies among 45 dicot rain forest species from tropical Queensland . *Australian Journal of Ecology* 93:521-535.
- Falster, D.S. & Westoby, M. 2005b. Tradeoffs between height growth rate, stem persistence and maximum height among plant species in a post-fire succession. *Oikos* 111:57-66.
- Fayers, S.R. & Trewin, N.H. 2004. A review of the palaeoenvironments and biota of the Windyfield chert. *Transactions of Royal Society of Edinburgh: Earth Sciences* 94:325-339.
- Fidelis, A.T. & Godoy, S.A.P. 2003. Estrutura de um cerrado *Strito sensu* na gleba cerrado Pé-de-gigante, Santa Rita do Passa Quatro, SP. *Acta Botanica Brasílica* 17(4):531-539.
- Field, C. 1983. Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* 56:341-47.
- Field, C.B., Merino, J. & Mooney, H.A. 1983. Compromises between water-use efficiency and nitrogen-use efficiency in five species of California evergreens. *Oecologia* 60:384-389.
- Field, C.B. & Mooney, H.A. 1986. The photosynthesis–nitrogen relationship in wild plants. *In: On the Economy of Plant Form and Function*. T.J. Givnish (ed.). Cambridge University Press, Cambridge, 25-55pp.
- Forti, C.M., Melfi, A.J., Astolfo, R. & Fostier, A-H. 2000. Rainfall chemistry composition in two ecosystems in the northeastern Brazilian Amazon (Amapá State). *Journal of Geophysical Research* 105(D23):28895-905.
- França, G.S. & Stehmann, J.R. 2004. Composição florística e estrutura do componente arbóreo de uma floresta altimontana no município de Camanducaia, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 27:19-30.
- Franco, A.C. 1998. Seasonal patterns of gas exchange, water relations and growth of *Roupala montana*, an evergreen savana species. *Plant Ecology* 136:69-76.
- Franco, A.C. 2002. Ecophysiology of woody plants. In P.S. Oliveira & R.J. Marquis (Eds.). *The cerrados of Brasil: Ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, Irvington, USA, 178-197.
- Franco, A.C., Bustamante, M., Caldas, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Kozovits, A.R., Rundel, P. & Coradin, V.T.R.. 2005 . Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees* 19:326-335.
- Freedden, A.L., Griffin, K. & Field, C.B. 1991. Effects of light quantity and quality and soil nitrogen status on nitrate reductase activity in rainforest species of the genus *Piper*. *Oecologia* 86:441-446.
- Freitas, H.C. 2011. A influência dos transportes advectivos na estimativa do fluxo líquido do ecossistema: um estudo de caso para a mata atlântica com uso de técnicas micrometeorológicas. Tese de Doutorado.

Universidade de São Paulo – Piracicaba/SP, 96p.

- Galloway, J.N. 2000. Nitrogen mobilization in Asia. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 57: 1-12.
- Galloway, J.N., Dentener, F.J., Capone, D.G., Boyer, E.W., Howarth, R.W., Seitzinger, S.P., Asner, G.P., Cleveland, C.C., Green, P.A., Holland, E.A., Karl, D.M., Michaels, A.F., Porter, J.H., Townsend, A.R. & Vörösmarty, C.J. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70:153-226.
- Gandolfi, S., Leitão Filho, H.F. & Bezerra, C.L.F. 1995. Levantamento florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo-arbóreas de uma floresta mesófila semidecídua no município de Guarulhos, SP. *Revista Brasileira de Biologia* 55(4):753-767.
- Gandolfi, S. 2000. História natural de uma floresta estacional semidecidual no Município de Campinas (São Paulo, Brasil). Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – Campinas/SP, 520p.
- Gartner, B.L. 1989. Breakage and regrowth of *Piper* species in rain forest understorey. *Biotropica* 21:303-307.
- GEO Brasil. Thereza Cristina Carvalho Santos & João Batista Drummond Câmara (Org.). 2002. Perspectivas do meio ambiente no Brasil, Brasília, Edições IBAMA, 440p.
- Gentry, A.H. 1988. Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. *Annals of Missouri Botanical Garden* 75:1-34.
- Godoy, J.R.L. 2007. Ecofisiologia do estabelecimento de leguminosas arbóreas da Mata Atlântica, pertencentes a diferentes grupos funcionais, sob atmosfera enriquecida com CO₂: uma abordagem sucessional. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica/SMA – São Paulo/SP, 113p.
- Goldstein, G., Rada, F., Rundell, P., Azocar, A. & Orozco, A. 1989. Gas exchange and water relations of evergreen and deciduous tropical savanna trees. *Annual Science Forestry* 46:448-453.
- Guerrero, M.G., Vega, J.M. & Losada, M. 1981. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. *Annual Review in Plant Physiology* 32:169-204.
- Guerrienne, P., Bergamaschi, S., Pereira, E., Rodrigues, M.A.C. & Steemans, P. 2001. An Early Devonian Flora, including *Cooksonia*, from the Parana Basin (Brasil). *Review of Paleobotany and Palynology* 116:19-38.
- Gross, E., Cordeiro, L. & Caetano, F.H. 2004. Nodulação e Micorrização em *Anadenanthera peregrina* var. falcata em Solo de Cerrado Autoclavado e não Autoclavado. *Revista Brasileira de Ciências do Solo* 28:95-101.
- Grubb, P.J. 1977. Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains, with special reference to mineral nutrition. *Annual Review of Ecological Systems* 8:83-107.
- Gruber, N. & Galloway, J.N. 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature* 451:293-296.

- Gupta, K.J., Hinch, D.K. & Mur, L.A.J. 2011. NO way to treat a cold. *Commentary of New Phytologist* 189:360-363.
- Haag, P.H. 1985. *Ciclagem de nutrientes em Florestas Tropicais*. Campinas, Fundação Cargill.
- Hacke, U.G., Sperry, J.S., Pockman, W.T., Davis, S.D. & McCulloh, K.A. 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126:457-461.
- Hamilton, L.S., Juvik, J.O. & Scatena, F.N. 1995. *Tropical Montane Cloud Forests* (eds Hamilton L.S., Juvik J.O. and Scatena F.N.) 1-23 (Springer, New York, 1995).
- Hanson, A.D. & Hitz, W.D. 1983. Water deficits and the nitrogen economy. *In: Limitations to Efficient Water Use in Crop Production*, H.M. Taylor, W.R. Jordan & T.R. Sinclair (eds.). Madison, 331-343pp.
- Harper, J.E. 1994. Nitrogen metabolism. *In: K.J. Boote (ed.), Physiology and determination of crop yield*. American Society of Agronomy, Madison, 285-302pp.
- Hartwig, U.A. 1998. The regulation of symbiotic N₂ fixation: a conceptual model of N feedback from the ecosystem to the gene expression level. *Perspectives on Plant Ecology, Evolution and Systematics* 1:92-120.
- Hedin, L.O., Vitousek, P.M. & Matson, P.A. 2003. Nutrient losses over four million years of tropical forest development. *Ecology* 84:2231-55.
- Hedin, L.O., Brookshire, E.N.J., Menge, D.N.L. & Barron, A.R. 2009. The nitrogen paradox in tropical Forest ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40:613-635.
- Hilbert, B.W., Ostendorf, B. & Hopkins, M.S. 2001. Sensitivity of tropical forests to climate change in the humid tropics of north Queensland. *Austral Ecology* 26:590-603.
- Hodge, A., Robison, D. & Fitter, A. 2000. Are microorganism more effective than plants competing for nitrogen? *Trends in Plant Science* 5:304-308.
- Höeberg, P. & Alexander, I.J. 1985. Roles of root symbioses in African woodland and forest: evidence from ¹⁵N abundance and foliar analysis. *Journal of Ecology* 83:217-224.
- Hoffmann, W.A. & Franco, A.C. 2003. Comparative growth analysis of tropical forest and savanna woody plants using phylogenetically-independent contrasts. *Journal of Ecology* 91:475-484.
- Hoffmann, W.A., Franco, A.C., Moreira, M.Z. & Haridasan, M. 2005. Specific leaf area explains differences in leaf traits between congeneric savanna and forest trees. *Functional Ecology* 19:932-940.
- Högberg, P. 1997. N¹⁵ natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist* 137:179-203.
- Holland, E., Dentener, F.J., Braswell, B.H. & Sulzman, J.M. 1999. Contemporary and pre-industrial global reactive nitrogen budgets. *Biogeochemistry* 46:7-43.

- Houlton, B.Z., Wang, Y-P., Vitousek, P.M. & Field, C.B. 2008. A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere. *Nature* 454(7202):327-330.
- IBISCA. 2008. The IBISCA/Queensland Project – Predicting and assessing the impacts of climate change on biodiversity. Progress Report, Abril 2008. Centre for Innovative Conservation Strategies, The Griffith School of Environment, Griffith University, Nathan QLD, Australia.
- Ilic, J., Boland, D., McDonald, M., Downes, G. & Blakeore, P. 2000. Woody Density Phase 1 - State of Knowledge, Australian Greenhouse Office, 228p.
- IGBP 1997. The International Geosphere-Biosphere Programme Report 42: A Study of Global Change (IGBP) of the International Council of Scientific Unions (ICSU). The Kalahari Transect: Research on Global Change and Sustainable Development in Southern Africa. R.J. Scholes & D.A.B. Parsons (Eds.). Stockholm - Sweden. 61p.
- Instituto Florestal. 2010. Unidades de Conservação do Estado de São Paulo. Disponível em: http://www.iflorestal.sp.gov.br/unidades_conservacao/index.asp. Acesso em 10 de junho de 2012.
- Ivans, C.Y., Leffler, A.J., Spaulding, U., Stark, J.M., Ryel, R.J. & Cadwell, M.M. 2003. Root response and nitrogen acquisition by *Artemisia tridentate* and *Agropyron desertorum* following small summer rainfall events. *Oecologia* 134:317-324.
- James, J.J. & Richards, J.H. 2006. Plant nitrogen capture in pulse-driven systems: interactions between root responses and soil process. *Journal of Ecology* 94:765-777.
- Jarrot, J.K. 1977. The history. In Monroe, R. & Stevens, N.C. (eds). *The Border Ranges: A Land Use Conflict in Regional Perspective*. Royal Society of Queensland: Brisbane 21-24p.
- Joly C.A., Aida M.P.M., Klink C.A., Mcgrath, D.G., Moreira, A. G., Moutinho, P., Nepstad, D.C., Oliveira, A.A., Pott, A., Rodal, M.J.N. & Sampaio, E.V.S.B. 1999. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. *Ciência e Cultura* 51:331-348.
- Joly, C.A. 2011. Relatório do Projeto Biota: Composição florística e estrutura da floresta ombrólia densa atlântica dos Núcleos Picinguaba e Santa Virgínia do Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, Brasil. Processo Fapesp 03/12595-7. Vigência 01 de outubro de 2010 - 31 de março de 2013. <http://www.bv.fapesp.br/pt/projetos-regulares/28942/composicao-floristica-estrutura-floresta-ombrolia/>
- Johnson, I.R. 1983. Nitrate uptake and respiration in roots and shoots: a model. *Physiologia Plantarum* 58:145-147.
- Jones, D.L., Healey, J.R., Willett, V.B., Farrar, J.F. & Hodge, A. 2005. Dissolved organic nitrogen uptake by plants – an important N uptake pathway? *Soil Biology & Biogeochemistry* 37:413-423.

- Kahmen, A., Wanek, W. & Buchmann, N. 2008. Foliar $\delta^{15}\text{N}$ values characterize soil N cycling and reflect nitrate or ammonium preference of plants along a temperate grassland gradient. *Oecologia* 156:861–870.
- Kang, S.M. & Titus, J.S. 1980. Activity profiles of enzymes involved in glutamine and glutamate metabolism in the Apple during autumnal senescence. *Physiologia Plantarum* 50:291-297.
- Kanowski, J., Catterall, C.P., Freebody, K. & Harrison, D.A. 2008. Monitoring Revegetation Projects for Biodiversity in Rainforest Landscapes. Toolkit Version 2. Report to the Marine and Tropical Sciences Research Facility. Reef and Rainforest Research Centre Limited, Cairns.
- Keeney, D.R. & Hatfield, J.L. 2001. The Nitrogen Cycle, Historical Perspective, and Current and Potential Future Concerns. *In: Nitrogen in the Environment: Sources, Problems, and Management*. R.F. Follett & J.L. Hatfield (Eds.). Elsevier Science B.V. Cap. 1: 3-16.
- Khan, S.A., Mulvaney, R.L. & Mulvaney, C.S. 1997. Accelerated diffusion methods for inorganic-nitrogen analysis of soil extracts and water. *Soil Science Society of America Journal* 61:936-942.
- Kielland, K., McFarland, J. & Olson, K. 2006. Amino acid uptake in deciduous and coniferous taiga ecosystems. *Plant and Soil* 288:297-307.
- Knops, J.M.H., Bradley, K.L. & Wedin, D.A. 2002. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling. *Ecology Letters* 5:454-466.
- Köppen, W. 1948. *Climatologia*. 1ª Ed, Editora Fondo de Cultura Económica, México, 479p.
- Körner, C. 2003. Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology* 91:4-17.
- Kovach Computing Services. 1999. Multi Variate Statistical Package. Version 3.11b. <http://www.kovcomp.com>
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological Methodology*. 2ª Ed., Harper Collins Publishers, New York/NY. 654p.
- Kreibich, H., Kern, J., Camargo, P.B., Moreira, M.Z. & Victória, R.L. 2006. Estimation of symbiotic N_2 fixation in an Amazon floodplain forest. *Oecologia* 147:359-368.
- Kronka, F.J.N., Nalon, M.A., Matsukuma, C.K., Pavão, M., Guillaumon, J.R., Cavalli, A.C., Giannotti, E., Iwane, M.S.S., Lima, L.M.P.R., Montes, J., Del Cali, I.H. & Haack, P.G. 1998. Áreas de domínio do cerrado no Estado de São Paulo. São Paulo: Instituto Florestal/SMA.
- Krouk, G., Crawford, N.M, Coruzzi, G.M. & Tsay, Y.S. 2010. Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Current Opinion in Plant Biology* 13:266-273.
- Laidlaw, M., Olsen, M., Kitching, R.L. & Greenway, M. 2000. Tree floristic and structural characteristics of one hectare of subtropical rainforest in Lamington National Park, Queensland. *Proceedings of the Royal Society of Queensland* 109:91-105.
- Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G. & Smith, S.E. 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil

- age. Trends in Ecological Evolution 23:95-103.
- Latansio-Aidar, S.R., Oliveira, A.C.P., Rocha, H.R. & Aidar, M.P.M. 2010. Fitossociologia de um cerrado denso em área de influência de torre de fluxo de carbono, Pé-de-gigante, Parque Estadual de Vassununga, SP. Biota Neotropica 10(1):195-207.
- Laurance, W.F., Nascimento, H.E.M., Laurance, S.G., Andrade, A., Ribeiro, J.E.L.S., Giraldo, J.P., Lovejoy, T.E., Condit, R., Chave, J., Harms, K.E. & D'Angelo, S. 2006. Rapid decay of tree-community composition in Amazonian forest fragments. Proceedings of National Academy of Science 103:19010-19014.
- Lea, P.J., Sodek, L., Parry, M.A.J., Shewry, P.R. & Halford, N.G. 2007. Asparagine in plants. Annals of Applied Biology 150:1-26.
- Leitão-Filho, H.F. 1987. Considerações sobre a florística de florestas tropicais e sub-tropicais do Brasil. IPEF 35:41-46.
- Leitão-Filho, H.F. 1994. Diversity of arboreal species in atlantic rain forest. Anais Academia Brasileira de Ciências 66:91-96.
- Lesack, L.F.W. 1993. Export of nutrients and major ionic solutes from a forest catchment in the central Amazon Basin. Water Resources Research 29:743-75.
- Li, Z.Z. & Gresshoff, P.M. 1990. Developmental and biochemical regulation of constitutive nitrate reductase activity in leaves of soybean. Journal of Experimental Botany 41:1231-1238.
- Lima, R.A.F. 2005. Estrutura e regeneração de clareiras em Florestas Pluviais Tropicais. Revista Brasileira de Botânica 28(4):651-670.
- Lloyd, J. & Farquhar, G.D. 1994. ¹³C discrimination during CO₂ assimilation by the terrestrial biosphere. Oecologia 99:201-215.
- Lodge, D.J., McDowell, W.H. & McSwiney, C.P. 1994. The importance of nutrient pulses in tropical forests. Tree 9(10):384-387.
- Lorenzi, H. 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum. Volume 1. 382 p.
- Lorenzi, H. 1998. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2ª Ed, Editora Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Volume 2, 352p.
- Ludwig, F., Kroon, R., Berendse, F. & Prins, H.H.T. 2004. The influence of savanna trees on nutrient, water and light availability and the understorey vegetation. Plant Ecology 170:93-105.
- Macedo, F.L., Martins, M.C.M., Latansio, S.C.R. & Aidar, M.P.M. 2006. Crescimento inicial e preferência no uso de fontes de nitrogênio em plântulas de *Anadenanthera falcata* (Benth.) Altschul (Leguminosae –

- Mimosoideae). Resumo, Anais XVI Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Piracicaba, SP.
- Mackey, B.G., Watson, J.E.M, Hope, G. & Gilmore, S. 2008. Climate change, biodiversity conservation, and the role of protected areas: An Australian perspective. *Tropical Conservancy* 9: 11-18.
- Malavolta, E. & Kliemann, H.J. 1985. Desordens nutricionais no cerrado. Piracicaba: ed. Potafos.
- Malcolm, J.R., Liu, C., Neilson, R.P., Hansen, L. & Hannah, L. 2006. Global Warming and Extinctions of Endemic Species from Biodiversity Hotspots. *Conservation Biology* 20(2):538-548.
- Manarin, E.C. 2012. Potencial de fixação de nitrogênio por leguminosas e cianobactérias na Floresta Ombrófila Densa Atlântica no Litoral norte de São Paulo, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Campinas – Campinas/SP, 76p.
- Marchiori, N.M. 2012. Aspectos funcionais da Floresta Ombrófila Densa Montana, PESM: estrutura, biomassa aérea, uso de nitrogênio e fotossíntese. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica de São Paulo – São Paulo/SP, 108p.
- Martinelli, L.A., Piccolo, M.C., Townsend, A.R., Vitousek, P.M., Cuevas, E., McDowell, W., Robertson, G.P., Santos, O.C. & Treseder, K. 1999. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. *Biogeochemistry* 46:45-65.
- Martínez-Cabrera, H.I., Schenk, J., Cevallos-Ferriz, S.R.S. & Jones, C.S. 2011. Integration of vessel traits, wood density, and height in angiosperm shrubs and trees. *American Journal of Botany* 98(5):915-922.
- Martins, M.C.M. 2007. Ecofisiologia do uso de reservas de carbono e nitrogênio ao longo do ciclo de vida de *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Lee & Lang.). Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica/SMA – São Paulo/SP, 90p.
- Martins, S.C. 2010. Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo – Piracicaba/SP, 155p.
- Massoli, M. 1981. Geologia do município de Santa Rita do Passa Quatro, S.P. *Revista do Instituto Geológico* 2(2):35-45.
- Matson, P.A., McDowell, W.H., Townsend, A.R. & Vitousek, P.M. 1999. The globalization of N deposition: ecosystem consequences in tropical environments. *Biogeochemistry* 46:67-83.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 17:297-304.
- McDonald, W.J.F. & Whiteman, W.G. 1979. Moreton Region Vegetation Map Series: Explanatory Booklet for Murwillumbah Sheet, Botany Branch, Department of Primary Industries: Brisbane.
- McDowell, W.H. & Asbury, C.E. 1994. Export of carbon, nitrogen and major ions from three tropical montane

- watersheds. *Limnology and Oceanography* 39:111-25.
- McKee, H.S. 1962. *Nitrogen Metabolism in Plants*. Clarendon Press, Oxford. 728p.
- McKey, D. 1994. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. *In*: *Advances in Legume Systematics 5: The Nitrogen Factor* (J.I. Sprent. & D. McKey eds.), Royal Botanic Gardens, Kew/UK, 221-228p.
- Medina, E. 1984. Nutrient balance and physiological processes at the leaf level. *In*: *Physiological Ecology of the Wet Tropics*. E. Medina, H.A. Mooney & C. Vásquez-Yánes (eds.). Dr W. Junk Publishers, The Hague, 139-154pp.
- Medina, E. 1986. Forests, savannas and montane tropical environments. *In*: N.R. Baker & S.P. Long (eds.). *Photosynthesis in Contrasting Environments*. Elsevier, Amsterdam, 139-171pp.
- Medina, E. 1993. Mineral nutrition: tropical savannas. *Prog. Bot.* 54:237-253.
- Meinzer, F.C. 2003. Functional convergence in plant responses to the environment. *Oecologia* 134:1-11.
- Meio, B.B., Freitas, C.V., Jatobá, L., Silva, M.E.F., Ribeiro, J.F. & Henriques, R.P.B. 2003. The influence of Amazonian and Atlantic flora in the vegetation of cerrado sensu stricto. *Revista Brasileira de Botânica* 26:437-444.
- Melo, F.P.L., Dirzo, R. & Tabarelli, M. 2006. Biased seed rain in forest edges: evidence from the Brazilian Atlantic forest. *Biological Conservation* 132:50-60.
- Metzger, J.P., Alves, L.F., Pardini, R., Dixo, M., Nogueira, A.A, Negrão, M.F.F., Martensen, A.C. & Catharino, E.L.M. 2006. Características ecológicas e implicações para a conservação da Reserva Florestal do Morro Grande. *Biota Neotropica* 6(2) <http://www.biotaneotropica.org.br/v6N2/pt/abstract?article+bn01006022006>
- Millard, P. & Nielsen, G.H. 1989. The influence of nitrogen supply on the uptake and remobilization of stored N for the seasonal growth of apple trees. *Annals of Botany* 63:301-309.
- Millard, P., Sommerkorn, M. & Grelet, G.-A. 2007. Environmental change and carbon limitation in trees: a biochemical, ecophysiological and ecosystem appraisal. *New Phytologist* 175:11-28.
- Millard, P. & Grelet, G.A. 2010. Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world. *Tree Physiology* 30(9):1083-1095.
- Miller, H.G. 1986. Carbon × nitrogen interactions—the limitations to productivity. *Tree Physiology* 2:373- 385.
- Miller, H.G & Miller, J.D. 1987. Nutritional requirements of Sitka spruce. *Proceedings of Royal Society of Edinburgh* 85B:83-96.
- Miller, A.J. & Cramer, M.D. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 274:1-36.

- Miranda, K.M., Espey, M.G. & Wink, D.A. 2001. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Biology and Chemistry* 5(1):62-71.
- Mohr, B.A.R. & Friis, E.M. 2000. Early Angiosperms from the Lower Cretaceous Crato Formation (Brasil), a Preliminary Report. *International Journal of Plant Sciences* 161(6):155-167.
- Moles, A., Falster, D.S., Leishman, M. & Westoby, M. 2004. Small-seeded plants produce more seeds per square metre of canopy per year, but not per individual per lifetime. *Journal of Ecology* 92:384-396.
- Mooney, H.A., Ferrar, P.J. & Slatyer, R.O. 1978. Photosynthetic capacity and carbon allocation patterns in diverse growth forms of Eucalyptus. *Oecologia* 36:103-111.
- Moreira, F.M.S. & Siqueira, J.O. 2006. *Microbiologia e bioquímica do solo*. 2ª Ed. Lavras: UFLA, 729p.
- Mori, S., Nishizawa, N., Uchino, H. & Nishimura, Y. 1977. Utilization of organic nitrogen as the sole source of nitrogen for barley. *Journal of the Science of Soil and Manure* 48:332-337.
- Muller-Landau, H.C. 2004. Interspecific and intersite variation in wood specific gravity of tropical trees. *Biotropica* 36:20-32.
- Mulkey, S.S., Kitajima, K. & Wright, S.J. 1995. Photosynthetic capacity and leaf longevity in the canopy of a dry tropical forest. *Selbyana* 16:169-173.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858.
- Nardoto, G.B. & Bustamante, M.M.C. 2003. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38:955-962.
- Nardoto, G.B., Bustamante, M.M.C., Pinto, A.S. & Klink, C.A. 2006. Nutrient use efficiency at ecosystem and species level in savanna areas of Central Brasil and impacts of fire. *Journal of Tropical Ecology* 22:1-11.
- Näsholm, T., Ekblad, A., Nordin, A., Giesler, R., Högberg, M. & Högberg, P. 1998. Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature* 392:914-916.
- Näsholm, T., Huss-Danell, K. & Högberg, P. 2000. Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species. *Ecology* 81:1155-1161.
- Näsholm, T. & Persson, J. 2001. Plant acquisition of organic nitrogen in boreal forests. *Physiologia Plantarum* 111:419-426.
- Näsholm, T., Huss-Danell, K. & Högberg, P. 2001. Uptake of glycine by field grown wheat. *New Phytologist* 150:59-63.
- Näsholm, T., Kielland K. & Ganeteg, U. 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* 182(1):38-48.

- Neff, J.C., Townsend, A.R., Gleixner, G., Lehman, S.J., Turnbull, J. & Bowman, W.D. 2002. Variable effects of nitrogen additions on the stability and turnover of soil carbon. *Nature* 419:915-917.
- Neill, C., Deegan, L.A., Thomas, S.M. & Cerri, C.C. 2001. Deforestation for pasture alters nitrogen and phosphorus in soil solution and streamwater of small Amazonian watersheds. *Ecological Application* 11:1817-1828.
- Neill, S., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J. & Wilson, I. 2008. Nitric oxide evolution and perception. *Journal of Experimental Botany* 59:25-35.
- Niinemets, Ü. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82:453-469.
- Norby, R.J., Long, T.M., Hartz-Rubin, J.S. & O'Neill, G. 2000. Nitrogen reabsorption in senescing tree leaves in a warmer, CO₂-enriched atmosphere. *Plant Soil* 224:15-29.
- Nordin A. 1998. Physiological Ecology of nitrogen utilisation by forest plants. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Silvestria* 76:1-46.
- Oaks, A. & Hirel, B. 1985. Nitrogen metabolism in roots. *Annual Review of Plant Physiology* 36:345-365.
- Oaks, A. 1994. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. *Canadian Journal of Botany* 72:739-746.
- Oliveira, M.A., Santos, A.M.M. & Tabarelli, M. 2008. Profound impoverishment of the large-tree stand in a hyper-fragmented landscape of the Atlantic forest. *Forest Ecology and Management* 256:1910-1917.
- Oliveira-Filho, A.T., Shepherd, G.J., Martins, F.R. & Stubbenby, W.H. 1989. Environmental factors affecting physiognomic and floristic variation in an area of cerrado in Central Brasil. *Journal of Tropical Ecology* 5:413-431.
- Oliveira-Filho, A.T. & Fontes, M.L.P. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brasil and the influence of climate. *Biotropica* 32:793-810.
- Ometto, J.P.H.B., Ehleringer, J.R., Domingues, T.F., Berry, J.A., Ishida, F.O.Y., Mazzi, E., Higuchi, N., Flanagan, L.B., Nardoto, G.B. & Martinelli, L.A. 2006. The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brasil. *Biogeochemistry* 79:251-274.
- Paciencia, M.B. 2001. Efeitos da Fragmentação florestal sobre a comunidade de pteridófitas da Mata Atlântica sul baiana. Universidade de São Paulo – São Paulo/SP, 176p.
- Padgurschi, M.C.G. 2010. Composição e estrutura arbórea de um trecho de Floresta Ombrófila Densa Montana com taquaras na Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado. Universidade de Campinas – Campinas/SP, 101p.

- Padgurschi, M.C.G., Pereira, L.S., Tamashiro, J.Y. & Joly, C.A. 2011. Composição e similaridade florística entre duas áreas de Floresta Atlântica Montana, São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica* 11(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n2/en/abstract?article+bn02811022011>
- Pate, J.S., Stewart, G.R. & Unkovich, M. 1993. ¹⁵N natural abundance of plant and soil components of a *Banksia* woodland ecosystem in relation to nitrate utilization, life form, mycorrhizal status and Ns-fixing abilities of component species. *Plant, Cell and Environment* 16:365-373.
- Pate, J.S., Woodall, G., Jeschke, W.D. & Stewart, G.R. 1994. Root xylem transport of amino acids in the roots of hemiparasitic shrub *Oxalys phyllanthi* (Labill) R.Br. (Oxalaceae) and its multiple hosts. *Plant, Cell and Environment* 17:1263-1273.
- Patterson, T.B., Guy, R.D. & Dang, Q.L. 1997. Whole-plant nitrogen and water-relations traits, and their associated trade-offs, in adjacent muskeg and upland boreal spruce species. *Oecologia* 110:160-168.
- Paula, N.F. de. 2002. Capacidade fotossintética, deciduidade e teor de nitrogênio e fósforo em espécies lenhosas do cerrado. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos – São Carlos/SP.
- Paungfoo-Lonhienne, C., Lonhienne, T.G.A., Rentsch, D., Robinson, N., Christie, M., Webb, R.I., Gamage, H.K., Carroll, B.J., Schenk, P.M. & Schmidt, S. 2008. Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:4524-4529.
- Pearson, H.L. & Vitousek, P.M. 2001. Stand dynamics, nitrogen accumulations, and symbiotic nitrogen fixation in regenerating stands of *Acacia koa*. *Ecological Application* 11:1381-94.
- Pereira-Silva, E.F.L., Hardt, E. & Aida, M.P.M. 2006. Atividade de nitrato redutase e conteúdo de nitrogênio em folhas de espécies arbóreas de cerrado da Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio, SP. *In*: J.E. dos Santos, J.S.R. Pires & L.E. Moschini. (Org.). Estudos integrados em ecossistemas - Estação Ecológica de Jataí. 1ª Ed, Editora EdUFSCAR, São Carlos (3):65-79.
- Pereira-Silva, E.F.L. 2008. Estratégias ecofisiológicas no uso de nitrogênio em espécies arbóreas de Floresta Ombrófila Densa Submontana e Estacional Semidecidual, SP. Tese de Doutorado, Universidade de Campinas – Campinas/SP, 217p.
- Persson, J., Gardeström, P. & Näsholm, T. 2006. Uptake, metabolism and distribution of organic and inorganic nitrogen sources by *Pinus sylvestris*. *Journal of Experimental Botany* 57:2651-2659.
- Petit, R.J. & Hampe, A. 2006. Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 37:187-214.
- Phoenix, G.K., Hicks, W., Cinderby, S., Kuylensstierna, J.C., Stock, W.D., Dentener, F.J., Giller, K.E., Austin, A.T., Lefroy, R.D., Gimeno, B.S., Ashmore, M.R. & Ineson, P. 2006. Atmospheric nitrogen deposition in world

- biodiversity hotspots: the need for a greater global perspective in assessing N deposition impacts. *Global Change Biology* 12:34-70.
- Pires Neto, A.G., Rocha, H.R., Cooper, M. & Shida, C.N. 2005. Caracterização física do Cerrado Pé-de-gigante e uso das terras na região: 1. Fisiografia da região. *In*: V.R. Pivello & E.M. Varanda (eds.). O cerrado do Pé-de-gigante: Ecologia e Conservação – Parque Estadual de Vassununga. 1ª Ed, Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente (SMA), São Paulo, 15-28pp.
- Pires O'Brien, M.J. & O'Brien, C.M. 1995. Ecologia e modelamento de florestas tropicais. Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará ed., Serviço de informação e documentação.
- Pivello, V.R., Bitencourt, M.D., Mantovani, W., Mesquita Jr., H.N., Batalha, M.A. & Shida, C. 1998. Proposta de zoneamento ecológico para a reserva de cerrado Pé-de-gigante (Santa Rita do Passa Quatro, SP). *Revista Brasileira de Ecologia* 2:108-118.
- Pivello, V.R., Bitencourt, M.D., Mesquita Jr., H.N. & Batalha, M.A. 1999. Banco de dados em SIG para Ecologia aplicada: Exemplo do Cerrado Pé-de-gigante, S.P. Caderno de Informações Georreferenciadas (CIG), <http://www.cpa.unicamp.br/revista/cigv1n3a4.html>. 1(3):1-15.
- Pivello, V.R. & Varanda, E.M. 2005. O Cerrado Pé-de-gigante: ecologia e conservação – Parque Estadual de Vassununga. 1ª Ed, Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente (SMA), São Paulo, ISBN 85-86624-43-8, 312p.
- Pivello, V.R., Oliveras, I., Miranda, H.S., Haridasan, M., Sato, M.N. & Meirelles, S.T. 2010. Effect of fires on soil nutrient availability in an open savanna in Central Brasil. *Plant Soil* 337:111-123.
- Poorter, L., Silman, M.R., Vriesendorp, C., Webb, C.O., Westoby, M. & Wright, S.J. 2007. Relationships among ecologically important dimensions of plant trait variation in seven neotropical forests. *Annals of Botany* 99:1003-1015.
- Poorter, L., Wright, S.J., Paz, H., Ackerly, D.D., Condit, R., Ibarra-Manríques, G., Harms, K.E., Licona, J.C., Martínez-Ramos, M., Mazer, S.J., Muller-Landau, H.C., Peña-Claros, M., Webb, C.O. & Wright, I.J. 2008. Are functional traits good predictors of demographic rates? Evidence from five neotropical forests. *Ecology* 89:1908-1920.
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J.C., Peña-Claros, M., Sterck, F., Villegas, Z. & Sass-Klaassen, U. 2009. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* 185:481-492.
- Poorter, L. 2009. Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New Phytologist* 181:890-900.

- Pounds, J.A., Fogden, M.P.L. & Campbell, J.H. 1999. Biological response to climate change on a tropical mountain. *Nature* 398:611-615.
- Prado, C.H.G.A. & Moraes, J.A.P.V. 1997. Photosynthetic capacity and specific leaf mass in twenty woody species of Cerrado vegetation under field conditions. *Photosynthetica* 33(1):103-112.
- Preston, K.A., Cornwell, W.K. & DeNoyer, J.L. 2006. Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytologist* 170:807-818.
- Prior, L.D., Eamus, D. & Bowman, D.M.J.S. 2003. Leaf attributes in the seasonally dry tropics: a comparison of four habits in northern Australia. *Functional Ecology* 17:504-515.
- Projeto Biota. 2001. Inventário Florestal do estado de São Paulo. Retirado de <http://www.biota.org.br/info/saopaulo/index.html>
- Purcino, A.A.C., Magnavaca, R., Machado, A.T. & Marriel, I.E. 1994. Atividade da redutase do nitrato em genótipos antigos e modernos de milho, cultivados sob dois níveis de nitrogênio. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 6:(1)41-46.
- Pütz, S., Groeneveld, J., Alves, L.F., Metzger, J.P. & Huth, A. 2011. Fragmentation drives tropical forest fragments to early successional states: A modelling study for Brazilian Atlantic forests. *Ecological Modelling* 222:1986-1997.
- Putz, F.E. & Brokaw, V.L. 1989. Sprouting of broken trees on Barro Colorado Island, Panama. *Ecology* 70:508-512.
- Raven, J.A. & Smith, F.A. 1976. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytologist* 76:415-431.
- Raven, J.A. 1985. Regulation of pH and osmolarity generation in vascular land plants: costs and benefits in relation to efficiency of use of water, energy and nitrogen. *New Phytologist* 101:25-77.
- Raven, J.A. 2003. Long-distance transport in non-vascular plants. *Plant Cell and Environment* 26:73-85.
- Raven, J.A., Andrews, M. & Quigg, A.M. 2005. The evolution of oligotrophy: implications for breeding of crop plants for low input agricultural systems. *Annals of Applied Biology* 146:261-280.
- Raven, P.H., Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. 2007. *Biologia Vegetal*. 7ª Ed, Editora Guanabara Koogan, 830p.
- Raven, J.A. & Andrews, M. 2010. Evolution of tree nutrition. *Tree Physiology* 30(9):1050-1071.
- Read, D.J. & Perez-Moreno, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance? *New Phytologist* 157:475-492.
- Reich, P.B., Walters, M.B. & Ellsworth, D.S. 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs* 62(3):365-392.

- Reich, P.B., Walters, M.B., Ellsworth, D.S., Vose, J.M., Volin, J.C., Gresham, C. & Bowman, W.D. 1998. Relationships of leaf dark respiration to leaf nitrogen, specific leaf area and leaf life-span – a test across biomes and functional groups. *Oecologia* 114:471-482.
- Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Walters, M.B., Vose, J.M., Gresham, C., Volin, J.C. & Bowman, W.D. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology* 80:1955-1969.
- Reich, P.B., Wright, I.J., Cavender-Bares, J., Craine, J.M., Oleksyn, J., Westoby, M. & Walters, M.B. 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra and strategies. *International Journal of Plant Science* 164:143-164.
- Rennenberg, H., Dannenmann, M., Gessler, A., Kreuzwieser, J., Simon, J. & Papen, H. 2009. Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. *Plant Biologist* 11:4-23.
- Reversat, F. & Poupon, H. 1980. Nitrogen cycling in a soil-tree system in a Sahelian savanna – example of *Acacia senegal*. In: Nitrogen Cycling in West African Ecosystems, T. Rosswall (Ed). Proceedings of a workshop arranged by the SCOPE/UNEP International Nitrogen Unit in collaboration with MAB (Unesco) and IITA at the International Institute for Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria, 11 - 15 December, 1978. Ed. Scope, Dakar - Senegal. 363-369p.
- Ribeiro, S.L.C. 2007. Dinâmica sazonal das trocas gasosas e do potencial hídrico em espécies arbóreas de um Cerrado *sensu stricto* na Gleba Pé-de-Gigante, P.E. Vassununga, SP. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica/SMA – São Paulo/SP, 122p.
- Rocha, H.R., Rosolem, R., Juarez, R.N., Tannus, M.V., Ligo, O.M.R.C. & Dias, M.A.F.S. 2002. Measurements of CO₂ exchange over a woodland savanna (Cerrado *sensu stricto*) in southeast Brasil. *Biota Neotropica* 2(1).
- Rocha, H.R. 2009. Relatório do Projeto Biota: Interação biosfera-atmosfera fase 2: cerrados e mudanças do uso da terra. Processo Fapesp 02/09289-9. Vigência 01 de setembro de 2004 - 30 de setembro de 2009. <http://www.bv.fapesp.br/pt/projetos-tematicos/1012/interacao-biosfera-atmosfera-fase-2/>
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Person, A., Chapin, F.S., Lambin, E.F., Lenton, T.M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H.J., Nykvist, B., Wit, C.A., Hughes, T., Leeuw, S. van der, Rodhe, H., Sorlin, S., Snyder, P.K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R.W., Fabry, V.J., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P. & Foley, J.A. 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* 461:472-475.
- Rosado, B.H.P., Oliveira, R.S. & Aida, M.P.M. 2010. Is leaf water repellency related to vapor pressure and crown exposure in tropical forests? *Acta Oecologica* 36:645-649.
- Rosado, B.P., Martins, A.C., Colomeu, T.C., Oliveira, R. S., Joly, C.A. & Aida, M.P.M. 2011. Fine root biomass

- and root length density in a lowland and a montane tropical rain forest, SP, Brasil. *Biota Neotropica* 11(3): <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n3/en/abstract?article+bn03411032011>.
- Rull, V. & Vegas-Vilarrubia, T. 2006. Unexpected biodiversity loss under global warming in the neotropical Guayana highlands: a preliminary appraisal. *Global Change Biology* 12:1-9.
- Ruggiero, P.G.C., Batalha, M.A., Pivello, V.R. & Meirelles, S.T. 2002. Soil-vegetation relationships in cerrado (Brazilian savanna) and semideciduous forest, Southeastern Brasil. *Plant Ecology* 160:1-16.
- Saetre, P. & Stark, J.M. 2004. Microbial dynamics and carbon and nitrogen cycling following rewetting of soils beneath two semi-arid plants species. *Oecologia* 142:247-260.
- São Paulo, Secretaria de Estado do Meio Ambiente. 1997. Bases para a conservação e uso sustentável das áreas de cerrado do Estado de São Paulo. São Paulo. (Série PROBIO/SP).
- Sarmiento, G., Silva, M.P., Naranjo, M.E. & Pinillos, M. 2006. Nitrogen and phosphorus as limiting factors for growth and primary production in a flooded savanna in the Venezuelan Llanos. *Journal of Tropical Ecology* 22:203-212.
- Schimann, H., Ponton, S., Hattenschwiler, S., Ferry, B., Lensi, R., Domenach, A.M. & Roggy, J.C. 2007. Differing nitrogen use strategies of two tropical rainforest late successional tree species in French Guiana: evidence from ^{15}N natural abundance and microbial activities. *Soil Biology and Biochemistry* 40:487-494.
- Schmidt, S. 1998. Transport, storage and mobilization of nitrogen by trees and shrubs in the wet/dry tropics of northern Australia. *Tree Physiology* 18:403-410.
- Schmidt, S., Stewart, G.R., Turnbull, M.H., Erskine, P.D. & Ashwath. 1998. Nitrogen relations of natural and disturbed communities in tropical Australia. *Oecologia* 117:95-104.
- Schmidt, S. & Stewart, G.R. 1999. Glycine metabolism by plant roots and its occurrence in Australian plant communities. *Australian Journal of Plant Physiology* 26:253-264.
- Schmidt, S. & Stewart, G.R. 2003. $\delta^{15}\text{N}$ Values of Tropical Savanna and Monsoon Forest Species Reflect Root Specialisations and Soil Nitrogen Status. *Oecologia* 134(4):569-577.
- Schmidt, S., Lamble, R.E., Fensham, R.J. & Siddique, I. 2010. Effect of woody vegetation clearing on nutrient and carbon relations of semi-arid dystrophic savanna. *Plant Soil* 331:79-90.
- Schobert, C. & Komor, E. 1987. Amino-acid-uptake by *Ricinus-communis* roots-characterization and physiological significance. *Plant, Cell and Environment* 10:493-500.
- Schrumpf, M., Zech, W., Axmacher, J.C. & Lyaruu, H.V.M. 2006. Biogeochemistry of an afrotropical montane rain forest on Mt. Kilimanjaro, Tanzania. *Journal of Tropical Ecology* 22:77-89.
- Seitzinger, S. 2008. Nitrogen Cycle - Out of Reach. *Nature* 452:162-163.

- Serra Filho, R., Cavalli, A.C., Guillaumon, J.R., Chiarini, J.V., Nogueira, F.P., Ivancko, C.M.A.M., Barbieri, J.L., Donizeli, P.L., Coelho, A.G.S. & Bittencourt, I. 1975. Levantamento da cobertura natural e do reflorestamento no Estado de São Paulo. São Paulo. Boletim Técnico do Instituto Florestal 11:1-56.
- Setzer, J. 1966. Atlas climatológico do estado de São Paulo. Comissão interestadual da Bacia do Paraná-Paraguai, CESP, São Paulo – SP.
- Shida, C.N. 2000. Levantamento da distribuição espacial e temporal dos elementos da paisagem e de seus determinantes, na região dos municípios de Luiz Antônio e Santa Rita do Passa Quatro (SP), como subsídio ao planejamento ambiental. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo – São Paulo/SP, 114p.
- Shida, C.N. 2005. Caracterização física do Cerrado Pé-de-gigante e uso das terras na região: 2. Evolução do uso das terras na região. *In*: V.R. Pivello & E.M. Varanda (eds.). O Cerrado Pé-de-gigante: Ecologia & Conservação – Parque Estadual de Vassununga. 1ª Ed, Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente (SMA), São Paulo, 29-42pp.
- Shimoda, Y., Nagata, M., Suzuki, A., Abe, M., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Higashi, S. & Uchiumi, T. 2005. Symbiotic Rhizobium and nitric oxide induce gene expression of non-symbiotic hemoglobin in *Lotus japonicus*. *Plant and Cell Physiology* 46:99-107.
- Silva, J.G. 2012. Ecofisiologia do uso de nitrogênio em espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa, Caraguatatuba, SP. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica/SMA – São Paulo/SP, 90p.
- Simioni, G., Gignoux, J., Le Roux, X., Appe, R. & Benest, D. 2004. Spatial and temporal variations in leaf area index, specific leaf area and leaf nitrogen of two co-occurring savanna tree species. *Tree Physiology* 24:205-216.
- Smil, V. 2001. *Enriching the Earth*. MIT Press, Cambridge, MA.
- Smirnoff, N., Tood, P. & Stewart, G.R. 1984. The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annals of Botany* 54:363-374.
- Smirnoff, N. & Stewart, G.R. 1985. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: Comparative physiology and ecological consequences. *Plant Physiology* 64:133-140.
- Smith, S.E. & Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3ª Ed, Editora Academic, Amsterdam, 787p.
- Sobrado, M.A. 1986. Aspects of tissue water relations and seasonal changes of leaf water potential components of evergreen and deciduous species coexisting in tropical dry forests. *Oecologia* 68:413-416.
- Sodek, L. 2004. Metabolismo do nitrogênio. *In*: Fisiologia vegetal, G.B. Kerbauy (org.). 1ª Ed, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 94-113pp.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. *Biometry*. 3ª Ed., Editora W.H. Freeman and Company, New York/NY, 887p.

- SOS Mata Atlântica. 2000. Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no Domínio da Mata Atlântica no período 1995-2000. Retirado de <http://www.sosmatatlantica.gov.br>
- SOS Mata Atlântica. 2001. A importância da aprovação do projeto de Lei 285/1999. Retirado de <http://www.sosmatatlantica.gov.br>
- Sprent, J.I. 2007. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation. *New Phytologist* 174:11-25.
- StatSoft cIncorporation. 1997. Statistica for Windows, release 6.0 (Computer program manual). <http://www.statsoft.com>
- Steffen, W., Burbidge, A.A., Lesley, H., Kitching, R., Lindenmayer, D., Musgrave, W., Smith, M.S. & Werner, P.A. 2009. Australia's biodiversity and climate change: Technical synthesis of a report to the Natural Resource Management Ministerial Council. Prepared by the Australian Government by the Biodiversity and Climate Change Expert Advisory Group. Published by the Department of Climate Change, 66p.
- Stevens, N.C. 1977. Geology and landforms. *In*: Monroe R & Stevens N.C. (eds.). *The Border Ranges: A Land Use Conflict in Regional Perspective*. Royal Society of Queensland: Brisbane, 1-6pp.
- Stewart, G.R. & Orebanjo, T.O. 1983. Studies of nitrate utilization by the dominant species of regrowth vegetation of tropical West Africa: A Nigerian example. *In*: J.A. Lee, S. McNeill & I.H. Rorison (eds.), *Nitrogen as an ecological factor*, Blackwell, 167-188p.
- Stewart, G.R., Popp, M., Holzapfel, I., Stewart, J.I. & Dickie-Eskew, A. 1986. Localization of nitrate reduction in ferns and its relationship to environment and physiological characteristics. *New Phytologist* 104:373-384.
- Stewart, G.R., Hegarty, E.E. & Specht, R.L. 1988. Inorganic nitrogen assimilation in plants of Australian rainforest communities. *Physiology Plant* 74:26-33.
- Stewart, G.R., Pate J.S. & Unkovich M. 1993. Characteristics of inorganic nitrogen assimilation of plants in fire-prone Mediterranean type vegetation. *Plant, Cell and Environment* 16:351-363.
- Still, C.J., Foster, P.N. & Schneider, S.H. 1999. Simulating the effects of climate change on tropical montane cloud forests. *Nature* 398:608-610.
- Summerbell, G. 1991. Regeneration of complex notophyll vine forest (humid subtropical rainforest) in eastern Australia – a review. *Cunninghamia* 2(3):391-409.
- Tabarelli, M. & Mantovani, W. 1999. A riqueza das espécies arbóreas na floresta atlântica de encosta no estado de São Paulo (Brasil). *Revista Brasileira de Botânica* 22(2):217-223.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2002. *Plant physiology*. Califórnia: Sinauer associates. 722p.
- Takashima, T., Hikosaka, K. & Hirose, T. 2004. Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of

- evergreen and deciduous *Quercus* species. *Plant, Cell & Environment* 27(8):1047-1054.
- Tanner, E.V.J. 1977. Four montane rainforests of Jamaica: A quantitative characterization of the floristics, the soils and the foliar mineral levels, and a discussion of the interrelations. *Journal of Ecology* 65:883-918.
- Tanner, E.V.J. 1981. The decomposition of leaf litter in Jamaican montane rain forests. *Journal of Ecology* 69:263-73.
- Tanner, E.V.J. 1985. Jamaican montane forests: Nutrient capital and cost of growth. *Journal of Ecology* 73:553-68.
- Taylor, T.N., Klavins, S.D. Krings, M., Taylor, E.L., Kerp, H. & Hass, H. 2004. Fungi from the Rhynie chert: a view from the dark side. *Transactions of Royal Society of Edinburgh: Earth Sciences* 94:457-473.
- ter Steege, H. & Hammond, D.S. 2001. Character convergence, diversity, and disturbance in tropical rain forest in Guyana. *Ecology* 82:3197-3212.
- Thomas, S.C. 1996 . Asymptotic height as a predictor of growth and allometric characteristics in Malaysian rain forest trees. *American Journal of Botany* 83:556-566.
- Thorntwaite, C.W. & Mather, J.R. 1955. The balance water. 1ª ed. Laboratory of climatology, publications in climatology, Cerrerton, New Jersey, 104 p.
- Thornton B. 2001. Uptake of glycine by non-mycorrhizal *Lolium perenne*. *Journal of Experimental Botany* 52: 1315-1322.
- Thornton, B. & Robinson, D. 2005. Uptake and assimilation of nitrogen from solutions containing multiple N sources. *Plant, Cell & Environment* 28:813-821.
- Tonhasca Junior, A. 2005 – Ecologia e história natural da Mata Atlântica. 1ª Ed, Editora Interciência, 198p.
- Townsend, C.R., Begon, M. & Harper, J.L. 2006. Fundamentos em Ecologia. 2ª Ed, Editora Artmed, Porto Alegre 592p.
- Tyree, M.T. 2003. Hydraulic limits on tree performance: Transpiration, carbon gain and growth of trees. *Trees* 17:95-100.
- van Gelder, H.A., Poorter, L. & Sterck, F.J. 2006. Wood mechanics, allometry, and life-history variation in a tropical rain forest tree community. *New Phytologist* 171:367-378.
- Veloso, H.P., Rangel Filho, A.L.R. & Lima, J.C.A. 1991. Classificação da Vegetação Brasileira, Adaptada a um Sistema Universal. IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais.
- Viana, V.M., Tabanez, A.J. & Martinez, J.L.A. 1992. Restauração e manejo de fragmentos de florestas naturais. *Revista do Instituto Florestal* 4:400-406.
- Vieira, S.A., Alves, L.F., Duarte-Neto, P.J., Martins, S.C., Veiga, L.G., Scaranello, M.A., Picollo, M.C., Camargo,

- P.B., Carmo, J.B., Sousa Neto, E., Santos, F.A.M., Joly, C.A. & Martinelli, L.A. 2011. Stocks of carbon and nitrogen and partitioning between above- and belowground pools in the Brazilian coastal Atlantic Forest elevation range. *Ecology and Evolution*. 1:421-434.
- Vitousek, P.M. 1984. Litterfall, nutrient cycling, and nutrient limitation in tropical forests. *Ecology* 65:285-298.
- Vitousek, P.M. & Sanford, R.L. 1986. Nutrient Cycling in Moist Tropical Forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:137-167.
- Vitousek, P.M. 1988. Nitrogen transformations in a range of tropical forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 20(3):361-367.
- Vitousek, P.M. & Howarth, R.W. 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry* 13(2):87-115.
- Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H. & Tilman, D.G. 1997a. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7:737-750.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J. & Melillo, J.N. 1997b. Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science* 277(5325):494-499.
- Vitousek, P.M., Hattenschwiler, S., Olander, L. & Allison, S. 2002. Nitrogen and nature. *Ambio* 31:97-101.
- Vogel, C.S. & Dawson, J.O. 1991. Nitrate reductase activity, nitrogenase activity and photosynthesis of black alder exposed to chilling temperatures. *Physiologia Plantarum* 82:551-558.
- Xu, G., Fan, X. & Miller, A.J. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 63:253-182.
- Wang, Y.Y., Hsu, P.K. & Tsay, H.F. 2012. Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science* 17(8):458-467.
- Wardle, D.A., Walker, L.R. & Bardgett, R.D. 2004. Ecosystem properties and forest decline in contrasting long-term chronosequences. *Science* 305:509-513.
- Wallsgrave, R.M., Keys, A.J., Lea, P.J. & Mifflin, B.J. 1983. Photosynthesis, photorespiration and nitrogen metabolism. *Plant Cell and Environment* 6:301-309.
- Webb L.J. & Tracey J.G. 1981. Australian rainforest: patterns and change. *In*: Keast A. (ed.) *Ecological Biogeography of Australia*. Dr W. Junk Publishers, The Hague, 605-694pp.
- Webb, L.J., Tracey, J.G. & Williams, W.T. 1984. A floristic framework of Australian rainforests, *Australian Journal of Ecology* 9:169-198.
- Weiser, V.L. & Godoy, S.A.P. 2001. Florística em um hectare de cerrado *stricto sensu* na ARIE – Cerrado Pé-de-

- gigante, Santa Rita do Passa Quatro, SP. *Acta Botânica Brasílica* 15(2):201-212.
- Werner, D., Ingendahl, D., Haseborg, E.T., Kreibich, H. & Vinuesa, P. 2001. The nitrogen cycle. Ontario, Canada. Wallingford: CABI Publishing, 553p.
- Westoby, M., Falser, D.S., Moles, A.T., Wesk, P.A. & Wright, I.J. 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review on Ecological Systematic* 33:125-159.
- Whitmore, T.C. 1989. Canopy gaps and the two major groups of the forests trees. *Ecology* 70(3):536-538.
- Whitmore T.C. 1996. A review of some aspects of tropical rain forest seedling ecology with suggestions for further enquiry. *In: Ecology of Tropical Forest Tree Seedlings*, M.D. Swaine (Ed.). Man and Biosphere series vol.17. UNESCO/ Parthenon, Paris. 3-39pp.
- Wilcke, W., Yasini, S., Valarez, C. & Sech, W. 2001. Change in water quality during the passage through a tropical montane rain forest in Ecuador. *Biogeochemistry* 55:45-72.
- Williams, K., Field, C.B. & Mooney, H.A. 1989. Relationships among leaf construction cost, leaf longevity and light environment in rainforest plants of the genus *Piper*. *American Naturalist* 133:198-211.
- Williams, M.R., Fisher, T.R. & Melack, J.M. 1997. Solute dynamics in soil water and groundwater in a central Amazon catchment undergoing deforestation. *Biogeochemistry* 38:303-35.
- Williams, L.E. & Miller, A.J. 2001. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52:659-688.
- Williams, S.E., Bolitho, E.E & Fox, S. 2003. Climate change in Australian tropical rainforests: an impending environmental catastrophe. *Proceedings: Biological Sciences* 270 (1527):1887-1892.
- Witkowski, E.T.F. & Lamont, B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88:486-493.
- Wright, I.L., Reich, P.B. & Westoby, M. 2001. Strategy shifts in leaf physiology, structure and nutrient content between species of high- and low-rainfall and high- and low-nutrient habitats. *Functional Ecology* 15:423-434.
- Wright, I.J., Reich, P., Westoby, M., Ackerly, D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.H., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B., Lee, T., Lusk, C., Midgley, J.J., Laure-Navas, M., Niinemets, Ü., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J. & Villar, R. 2004. The world wide leaf economics spectrum. *Nature* 428:821-827.
- Wright, I.J., Ackerly, D.D., Bongers, F., Harms, K.E., Ibarra-Manriquez, G., Martinez-Ramos, M., Mazer, S.J., Muller-Landau, H.C., Paz, H., Pitman, N.C.A., Poorter, L., Silman, M.R., Vriesendorp, C., Webb, C.O.,

- Westoby, M., & Wright, S.J. 2007. Relationships among ecologically important dimensions of plant trait variation in seven neotropical forests. *Annals of Botany* 99:1003-1015.
- Zhao, M.G., Chen, L., Zhang, L.L. & Zhang, W.H. 2009. Nitric reductase dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 151:755-767.

ANEXO 1 – SV

Tabela A1. Valores médios foliares da ANR (pkat.g⁻¹ MF), conteúdo de N (%), $\delta^{15}\text{N}$ (‰) e NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) 41 espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana do Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (SV), São Luís do Paraitinga – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. Desvio padrão entre parêntesis.

Hábito	spp.	ANR (pkat.g ⁻¹)		Conteúdo de N (%)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	
		verão	inverno	verão	inverno	verão	inverno	verão	inverno
Pioneira	Sol	218,75 (0,00)	291,20 (0,00)	2,94 (0,00)	3,92 (0,00)	5,51 (0,00)	5,27 (0,00)	0,65 (0,00)	1,13 (0,00)
	Cec	664,93 (36,09)	320,49 (161,66)	3,10 (0,40)	2,83 (0,54)	0,37 (1,45)	0,45 (1,73)	2,74 (0,47)	2,02 (0,29)
Secundária inicial	Tib	15,74 (0,00)	8,97 (1,84)	2,92 (0,05)	2,86 (0,05)	3,18 (0,44)	3,66 (0,72)	2,06 (0,61)	2,74 (0,96)
	Senn	201,16 (0,00)	148,96 (24,39)	2,47 (0,00)	3,48 (0,15)	5,77 (0,00)	4,60 (1,36)	1,82 (1,75)	2,01 (1,68)
	Schc	155,56 (0,00)	149,77 (0,00)	1,58 (0,00)	1,81 (0,00)	3,28 (0,00)	3,15 (0,00)	2,33 (0,00)	1,70 (0,00)
	Scha	228,13 (0,00)	310,88 (352,57)	2,45 (0,32)	2,67 (0,18)	1,60 (1,41)	1,08 (0,97)	2,25 (0,08)	2,05 (0,07)
	Rap	8,41 (155,44)	3,59 (3,16)	3,27 (0,10)	3,18 (0,09)	1,29 (0,20)	1,57 (0,50)	0,69 (0,16)	0,90 (0,14)
	Pou	86,03 (115,85)	33,62 (42,39)	2,27 (0,28)	2,21 (0,23)	1,94 (0,23)	2,08 (0,25)	1,24 (0,20)	1,82 (0,28)
	Jac	440,35 (23,80)	336,23 (330,60)	3,14 (0,07)	3,22 (0,24)	1,82 (1,98)	2,27 (1,22)	2,29 (0,30)	2,35 (0,51)
	Hie	127,20 (11,07)	71,01 (33,21)	1,92 (0,26)	1,98 (0,22)	4,16 (2,40)	3,37 (2,33)	1,57 (0,49)	1,80 (0,21)
	Guar	98,73 (32,99)	43,15 (26,79)	3,50 (0,84)	2,85 (1,43)	4,02 (1,19)	4,37 (0,72)	0,61 (0,16)	1,06 (0,35)
	Guap	53,78 (38,68)	94,52 (2,32)	1,87 (0,46)	1,94 (0,99)	3,30 (0,35)	3,67 (0,37)	0,93 (0,16)	1,04 (0,07)
	Cro	153,24 (0,00)	205,65 (129,33)	4,42 (0,99)	3,98 (1,09)	0,89 (1,08)	2,01 (0,86)	3,69 (1,24)	3,72 (1,65)
	Cou	93,98 (117,36)	91,44 (4,14)	2,91 (0,17)	2,04 (0,12)	0,26 (1,26)	1,01 (0,87)	1,32(0,55)	1,25 (0,59)
	Cor	131,94 (87,90)	72,80 (50,16)	1,97 (0,22)	2,00 (0,24)	4,50 (0,49)	4,72 (1,34)	1,18 (0,31)	1,54 (0,23)
	Cam	96,68 (41,66)	128,43 (123,33)	2,39 (0,38)	2,46 (0,22)	4,37 (0,80)	4,74 (0,98)	1,33 (0,81)	1,73 (0,98)
Secundária tardia	Bat	133,02 (53,66)	75,98(73,45)	2,39 (0,13)	4,12 (0,04)	5,20 (0,91)	5,04 (0,45)	1,52 (0,38)	1,40 (0,12)
	Alct	65,74 (26,35)	174,07 (133,44)	4,21 (0,00)	2,84 (0,23)	3,01 (0,00)	5,52 (2,32)	2,63 (0,27)	2,66 (0,48)
	Alcg	170,68 (57,60)	82,02 (73,96)	1,15 (0,54)	2,80 (0,38)	5,89 (3,09)	4,91 (1,99)	2,21 (0,29)	1,79 (0,42)
	Tac	29,40 (0,00)	18,98 (0,00)	2,73 (0,00)	1,61 (0,00)	0,24 (0,00)	0,65 (0,00)	1,43 (0,00)	1,23 (0,00)
	Slo	20,76 (75,46)	10,76 (5,29)	3,20 (0,09)	3,57 (0,26)	3,41 (1,34)	2,55 (1,23)	2,27 (0,79)	3,27 (0,80)
	Scle	12,27 (0,00)	34,72 (0,00)	3,56 (0,00)	4,05 (0,00)	-0,13 (0,00)	-0,28 (0,00)	1,78 (0,00)	1,35 (0,00)
	Rou	27,78 (13,47)	26,56 (6,25)	2,47 (0,18)	2,56 (0,09)	2,18 (0,43)	2,13 (0,81)	1,07 (0,16)	0,97 (0,02)
	Pte	25,93 (0,00)	102,31 (0,00)	1,62 (0,00)	1,81 (0,00)	0,50 (0,00)	0,67 (0,00)	1,03 (0,00)	1,11 (0,00)
	Oco	8,33 (0,00)	12,04 (7,53)	2,69 (0,00)	1,57 (0,50)	0,26 (0,00)	0,58 (1,65)	0,71 (0,15)	0,69 (0,00)
	Mols	34,72 (41,58)	16,15 (0,49)	1,94 (0,95)	2,06 (0,00)	1,80 (1,55)	1,76 (0,00)	1,13 (0,46)	0,97 (0,42)
	Mole	46,18 (411,82)	46,53 (4,91)	3,11 (0,28)	2,98 (0,02)	1,76 (0,26)	2,92 (0,32)	0,42 (0,00)	0,86 (0,16)
	Mic	27,55 (57,16)	28,53 (28,51)	2,59 (0,42)	3,06 (0,29)	0,17 (0,63)	-0,34 (1,19)	0,70 (0,06)	0,69 (0,13)
	Mart	14,81 (27,99)	10,73 (1,96)	3,43 (0,00)	4,11 (0,20)	4,10 (0,00)	4,16 (1,93)	1,06 (0,39)	1,44 (0,45)
	Mars	60,26 (0,00)	138,10 (158,80)	2,19 (0,47)	2,25 (0,24)	1,67 (0,81)	1,60 (2,66)	1,41 (0,35)	2,02 (0,49)
	Ings	144,37 (62,81)	88,02 (71,44)	2,81 (1,21)	2,61 (0,33)	3,04 (1,48)	2,87 (0,77)	1,63 (0,15)	1,81 (0,43)
	Ingl	24,85 (73,29)	31,89 (13,83)	1,81 (0,57)	1,78 (0,44)	2,72 (0,41)	3,42 (0,83)	1,23 (0,20)	1,29 (0,32)
	Hir	33,56 (78,01)	41,90 (51,52)	1,15 (0,30)	1,18 (0,13)	2,58 (0,69)	3,32 (1,55)	2,19 (0,36)	2,14 (0,20)
	Eut	32,25 (12,23)	28,15 (9,06)	2,26 (0,19)	2,16 (0,35)	0,09 (0,29)	0,51 (0,32)	1,69 (0,18)	2,76 (0,07)
	Eug	78,47 (279,41)	95,25 (22,42)	1,81 (0,00)	1,94 (0,15)	0,67(0,00)	1,02 (0,43)	1,94 (0,00)	1,87 (0,20)
	Dri	2,55 (52,38)	3,32 (6,06)	3,54 (0,09)	3,49 (0,44)	0,32 (0,31)	-0,21 (0,25)	1,24 (0,19)	0,71 (0,00)
	Dah	65,86 (338,09)	46,24 (40,84)	3,62 (0,47)	4,52 (0,57)	0,97 (2,29)	0,09 (2,63)	0,92 (0,13)	0,83 (0,02)
	Cryp	34,49 (0,00)	19,21 (0,00)	1,82 (0,00)	1,98 (0,00)	-2,50 (0,00)	-3,18 (0,00)	3,82 (0,00)	2,43 (0,00)
	Chr	74,72 (343,70)	75,17 (77,37)	2,99 (0,46)	2,89 (0,41)	1,56 (1,18)	1,51 (1,24)	2,37 (0,13)	2,32 (1,21)
	Cal	74,07 (105,07)	44,75 (18,56)	3,75 (0,37)	2,40 (0,41)	2,00 (0,39)	1,75 (0,31)	2,02 (0,12)	2,59 (0,67)
	Cab	34,65 (15,91)	20,78 (6,14)	1,86 (1,05)	1,76 (1,26)	3,05 (1,18)	3,82 (1,79)	1,74 (0,46)	1,92 (0,73)

ANEXO 2 – LAM

Tabela A2. Valores médios foliares da ANR (pkat.g^{-1} MF), conteúdo de N (%), $\delta^{15}\text{N}$ (‰) e NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) 24 espécies estudadas na Floresta Subtropical Úmida do Parque Nacional de Lamington (LAM), Queensland (QLD) – Austrália, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, Pi = pioneira, Si = secundária inicial, St = secundária tardia. Desvio padrão entre parêntesis.

Hábito	spp.	ANR (pkat.g^{-1})		Conteúdo de N (%)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	
		verão	inverno	verão	inverno	verão	inverno	verão	inverno
Pioneira	Aca	195,60 (197,40)	84,72 (68,42)	2,50 (0,39)	2,52 (0,17)	4,27 (0,42)	7,72 (0,75)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Hom	454,05(61,70)	359,02 (96,24)	4,07 (0,25)	2,74 (0,03)	6,24 (0,11)	5,66 (0,24)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Pol	1,46 (34,37)	252,31 (21,93)	1,61 (0,47)	1,62 (0,29)	4,48 (1,37)	5,70 (0,86)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Sol	603,24 (199,03)	636,11 (0,98)	5,76 (1,62)	4,32 (1,80)	6,19 (0,08)	8,43 (1,75)	0,06 (0,09)	1,83 (2,57)
	Trem	674,18 (1,80)	358,21 (68,91)	3,18 (0,67)	2,45 (0,00)	5,01 (0,62)	6,18 (2,27)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
Secundária inicial	Acra	0,00 (0,00)	9,03 (4,29)	1,44 (0,00)	1,57 (0,08)	1,61 (0,45)	1,35 (0,42)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Atra	0,00 (0,00)	27,43 (0,49)	1,59 (0,19)	1,81 (0,16)	1,89 (0,48)	1,18 (1,15)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Cya	0,00 (0,00)	1,27 (1,47)	2,01 (0,04)	2,04 (0,01)	2,40 (0,20)	1,87 (0,07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Elae	69,98 (62,64)	51,85 (43,38)	1,45 (0,11)	1,56 (0,08)	1,43 (0,52)	1,16 (0,50)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Ori	4,17 (5,89)	11,11 (5,84)	0,93 (0,01)	1,05 (0,14)	3,55 (1,96)	2,52 (0,86)	0,01 (0,00)	0,05 (0,07)
	Qui	4,98 (7,04)	36,69 (31,92)	1,71 (0,12)	1,86 (0,10)	0,32 (0,35)	1,24 (0,79)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Syn	0,00 (0,00)	24,54 (0,00)	1,44 (0,00)	1,43 (0,00)	1,79 (0,00)	0,99 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
Secundária tardia	Ara	3,36 (0,49)	6,71 (2,62)	0,83 (0,08)	1,02 (0,02)	-3,46 (1,36)	-3,74 (0,52)	0,00 (0,00)	0,16 (0,02)
	Arga	27,62 (21,04)	59,03 (27,09)	1,97 (0,07)	1,75 (0,18)	2,87 (1,38)	1,81 (1,79)	0,00 (0,00)	0,18 (0,03)
	Argt	59,03 (0,00)	85,07 (14,57)	1,91 (0,00)	1,93 (0,07)	4,89 (0,00)	4,25 (0,44)	0,00 (0,00)	0,17 (0,04)
	Bal	0,69 (0,65)	48,84 (23,50)	2,12 (0,14)	1,94 (0,23)	2,20 (0,63)	2,23 (0,34)	0,10 (0,10)	0,00 (0,00)
	Cal	0,00 (0,00)	2,66 (3,44)	1,42 (0,06)	1,30 (0,16)	1,11 (0,74)	-0,18 (0,14)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Cry	3,47 (3,60)	29,75 (13,26)	1,83 (0,02)	1,84 (0,08)	0,44 (0,54)	-0,33 (0,28)	0,00 (0,00)	0,14 (0,19)
	Dec	45,95 (17,19)	29,51 (29,30)	1,66 (0,13)	1,49 (0,26)	3,05 (1,05)	3,19 (1,43)	0,04 (0,04)	0,00 (0,00)
	Elat	1,39 (1,96)	64,81 (27,50)	3,07 (0,18)	3,34 (0,42)	1,80 (0,49)	1,79 (0,16)	0,00 (0,00)	0,03 (0,05)
	Not	0,00 (0,00)	4,75 (2,46)	1,28 (0,28)	1,35 (0,00)	-1,04 (0,24)	0,29 (2,79)	0,00 (0,00)	0,16 (0,13)
	Sar	1,62 (0,00)	89,12 (111,63)	1,53 (0,00)	1,57 (0,03)	0,16 (0,00)	2,81 (0,50)	0,00 (0,00)	0,09 (0,13)
	Syz	0,00 (0,00)	2,08 (0,00)	1,53 (0,22)	1,58 (0,00)	2,42 (0,03)	1,10 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
	Wil	0,00 (0,00)	3,71 (2,06)	1,68 (0,09)	1,92 (0,09)	0,16 (1,15)	-0,38 (0,25)	0,12 (0,18)	0,00 (0,00)

ANEXO 3 – PDG

Tabela A3. Valores médios foliares da ANR (pkat.g⁻¹ MF), conteúdo de N (%), $\delta^{15}\text{N}$ (‰) e NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF) 27 espécies estudadas na área de cerrado do Parque Estadual de Vassununga, Gléba Pé-de-gigante (PDG), Santa Rita do Passa Quatro – SP, em duas estações do ano (verão e inverno). Onde, D = decídua, S = semi-decídua, P = perenifólia. Desvio padrão entre parêntesis.

Hábito	spp.	ANR (pkat.g ⁻¹)		Conteúdo de N (%)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		NO_3^- folha ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	
		verão	inverno	verão	inverno	verão	inverno	verão	inverno
Perenifólio	Dal	32,10 (32,80)	64,58 (47,96)	3,71 (0,40)	2,24 (0,90)	0,29 (0,40)	1,20 (1,33)	1,81 (1,05)	1,81 (0,33)
	Sch	324,69 (200,30)	281,71 (10,97)	2,10 (0,02)	2,24 (1,51)	1,12 (0,48)	0,97 (1,61)	1,51 (1,26)	2,45 (1,11)
	Myrl	31,56 (15,62)	163,27 (27,17)	1,37 (0,21)	2,06 (0,10)	0,01 (0,60)	-0,14 (0,64)	1,26 (0,38)	1,93 (0,06)
	Myrb	26,62 (11,34)	51,00 (12,11)	1,29 (0,17)	1,90 (0,34)	-0,06 (0,10)	-0,36 (0,99)	3,51 (0,60)	3,04 (0,95)
Semi-decídua	Fic	204,40 (104,12)	190,66 (59,74)	1,78 (0,11)	2,47 (0,12)	-0,51 (0,63)	-0,37 (0,33)	1,59 (0,51)	2,36 (0,95)
	Asp	289,66 (212,79)	420,37 (238,48)	2,13 (0,14)	1,72 (0,04)	2,37 (0,64)	1,19 (1,00)	0,83 (0,12)	1,06 (0,36)
	Bau	130,71 (13,42)	129,63 (8,35)	2,83 (0,20)	2,00 (0,50)	2,43 (0,94)	0,53 (0,81)	2,89 (0,11)	2,26 (0,09)
	Hymm	52,31 (14,46)	88,43 (72,76)	1,66 (0,16)	2,11 (0,33)	1,51 (0,56)	0,87 (0,31)	1,71 (0,27)	2,99 (0,14)
	Mac	51,00 (19,79)	104,55 (0,00)	3,53 (0,37)	1,77 (0,00)	1,20 (0,66)	0,30 (0,00)	3,06 (0,21)	1,16 (0,00)
	Oco	38,54 (0,00)	102,20 (0,00)	1,92 (0,00)	3,01 (0,00)	-0,88 (0,00)	-1,33 (0,00)	2,74 (0,00)	2,35 (0,00)
	Plat	52,08 (0,00)	224,69 (209,02)	3,15 (0,00)	1,74 (1,32)	0,46 (0,00)	0,03 (0,36)	3,16 (0,00)	2,63 (0,07)
	Vir	91,44 (27,92)	137,19 (27,92)	1,88 (0,06)	1,62 (0,35)	0,36 (0,44)	0,86 (0,64)	1,28 (0,69)	3,15 (0,15)
	Xyl	2,39 (1,54)	33,02 (35,37)	2,34 (0,09)	1,55 (0,82)	1,13 (0,92)	0,44 (1,85)	2,53 (1,11)	4,52 (0,39)
	Ana	13,43 (0,00)	14,35 (0,00)	2,51 (0,00)	1,57 (0,00)	1,43 (0,00)	0,59 (0,00)	3,87 (0,00)	7,62 (0,00)
Decídua	And	60,42 (56,27)	183,33 (126,92)	2,18 (0,47)	1,48 (0,66)	1,48 (0,79)	0,97 (0,46)	3,14 (0,50)	2,66 (0,47)
	Ann	202,55 (133,24)	320,06 (41,90)	1,69 (0,18)	2,98 (0,16)	2,26 (0,92)	1,65 (0,33)	0,62 (0,15)	1,21 (0,30)
	Byr	182,10 (93,41)	355,67 (252,23)	1,96 (0,24)	1,39 (0,51)	1,26 (0,43)	0,64 (1,09)	2,13 (0,77)	2,68 (0,11)
	Cam	34,49 (0,00)	105,79 (0,00)	1,75 (0,00)	1,34 (0,00)	0,85 (0,00)	-0,07 (0,00)	1,90 (0,00)	2,49 (0,00)
	Cop	62,04 (53,97)	67,21 (42,34)	2,31 (0,10)	2,26 (0,65)	1,08 (0,56)	0,25 (1,22)	1,45 (0,14)	3,56 (0,83)
	Dim	4,78 (8,29)	26,70 (15,05)	3,96 (0,50)	1,97 (0,46)	1,18 (0,62)	0,71 (1,16)	1,89 (1,31)	1,77 (0,32)
	Dip	75,93 (27,99)	48,84 (43,38)	2,99 (0,40)	2,41 (0,16)	0,66 (0,42)	0,58 (0,73)	1,97 (1,32)	2,89 (0,36)
	Eug	67,59 (33,27)	306,64 (44,64)	1,46 (0,11)	1,67 (0,54)	1,64 (0,29)	0,37 (1,15)	1,75 (1,45)	4,74 (0,94)
	Hyms	44,21 (27,17)	111,96 (0,00)	1,69 (0,15)	1,45 (0,00)	1,67 (0,18)	0,95 (0,00)	1,98 (0,30)	2,79 (0,00)
	Plathy	32,64 (7,84)	133,10 (145,68)	2,68 (0,52)	3,24 (0,57)	-0,17 (0,69)	-0,76 (1,67)	2,62 (0,46)	3,26 (1,09)
	Qua	77,31 (55,32)	219,91 (133,07)	1,99 (0,32)	1,72 (0,34)	0,47 (0,46)	-0,16 (2,02)	2,09 (0,66)	2,00 (0,70)
	Rou	2,01 (0,00)	55,15 (0,00)	1,20 (0,00)	1,80 (0,00)	2,06 (0,00)	2,03 (0,00)	1,66 (0,00)	2,12 (0,00)
	Toc	378,32 (91,17)	211,96 (0,00)	2,07 (0,34)	2,08 (0,00)	1,24 (0,50)	-0,33 (0,00)	1,70 (0,27)	1,17 (0,00)