

JANAINA GOMES DA SILVA

**Ecofisiologia do uso de nitrogênio em espécies
arbóreas da Floresta Ombrófila Densa,
Caraguatatuba, SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica
da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL
E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração
de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2012

JANAINA GOMES DA SILVA

**Ecofisiologia do uso de nitrogênio em espécies
arbóreas da Floresta Ombrófila Densa,
Caraguatatuba, SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica
da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL
E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração
de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. MARCOS PEREIRA MARINHO AIDAR

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Silva, Janaina Gomes da

S586e Ecofisiologia do uso de nitrogênio em espécies arbóreas da floresta ombrófila densa, Caraguatatuba, SP / Janaina Gomes da Silva -- São Paulo, 2012.
103p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2012
Bibliografia.

1. Sucessão ecológica. 2. Nitrato. 3. Aminoácidos. I. Título

CDU: 581.524.3

*Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena*

Fernando Pessoa

Agradecimentos

Aos meus pais, Toninha e Gomes, pelo apoio e incentivo em todos esses anos.

Ao Dr. Marcos Aidar por sempre acreditar em mim e por todo o conhecimento transmitido.

Ao Carlos Zacchi ou Carlão, gestor do Parque Estadual da Serra do Mar – núcleo Caraguatatuba, pelo apoio e esforço para que pudéssemos ter a melhor acomodação para a realização das atividades.

Ao aluno de mestrado Edson J. F. Stefani pela identificação das espécies da área e sempre pela boa companhia no campo.

Ao Renato Belinero, vulgo Pezão, pela coleta das espécies e pelo bom humor que sempre tornava o campo mais divertido.

Aos funcionários (Alvimar, Luciano, e “seu” Pedro) do PESM pelo auxílio nas coletas de campo.

Aos alunos Nídia, Ewerton, Ivan, Fernanda Cassemiro, Filipe, Marjorie, Raquel, Sabrina pelo auxílio nas coletas.

À Doutora Sara Adriàn pela ajuda na análise de frequência de micorriza.

À Fernanda Macedo que me ensinou muito durante a minha iniciação científica.

Aos funcionários do núcleo de Fisiologia e Bioquímica (Mary Monteiro, Maria Aparecida, Ana Alice e Pedro) pelo auxílio.

Aos amigos da faculdade Aline, Clarice, Daizo, Fernanda, Ivan “Oscar”, Patricia, Simone pela companhia e apoio

A todas as pessoas que passaram ou ainda estão no núcleo de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica, Anderson, Celso, Glauco, Rodrigo F., Fernanda Bambu, Aline Coelho, Ivan Japa, Giulliana, Kássia, Kelly, Maura, Manu, Rodrigo Cabral, Juliana Zerlin, João,

Ludmila, Vanessa Oliveira, Vanessa Fu, Flávio, Gisele, pela companhia no almoço e por tornarem o laboratório mais agradável.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida.

À Pós-Graduação do Instituto de Botânica pela oportunidade oferecida.

Sumário

Lista de figuras.....	VII
Lista de tabelas.....	IX
Tabela de abreviações.....	X
RESUMO.....	XI
ABSTRACT.....	XIII
1. Introdução	1
2. Objetivos.....	10
3. Material e métodos.....	11
3.1. Área de estudo	11
3.2. Alocação das parcelas, mapeamento e coleta dos indivíduos arbóreos	12
3.3. Seleção e categorização sucessiona1 ecológica das espécies	13
3.4. Condições climáticas: temperatura e precipitação	16
3.5. Atividade potencial máxima da enzima nitrato redutase <i>in vivo</i>	18
3.6. Conteúdo de nitrato foliar	19
3.7. Determinação da razão isotópica do N estável, da razão C/N e nitrogênio total foliar.....	20
3.8. Análise de fluído do xilema	20
3.9. Análise da disponibilidade de nitrogênio mineral <i>in situ</i>	21
3.10. Ocorrência de simbiose radicular	22
3.11. Forma de análise dos resultados.....	23
4. Resultados e discussão.....	24
4.1. Resultados gerais.....	24
4.2. Nitrogênio <i>in situ</i>	31

4.3. Caracterização de uso de nitrogênio com base nos grupos sucessionais	32
4.4. Caracterização de uso de nitrogênio nas espécies selecionadas	41
4.5. Colonização por micorriza arbuscular.....	69
4.6. Seleção de espécies para o monitoramento ecofisiológico no uso de nitrogênio.....	71
5. Considerações finais	74
6. Referências Bibliográficas	81

Lista de figuras

Figura 1. Isopletas de concentração máxima horária de NO _x para as emissões da Usina de Tratamento de Gás (UTGCA).....	9
Figura 2. A. Localização da área de estudo no Estado de São Paulo e município de Caraguatatuba; B. Imagem de satélite do município de Caraguatatuba C. Detalhe da área de estudo dentro do PESM – Caraguatatuba (estrela) e área da Usina de tratamento de gás (UTGCA - Campo mexilhão – Petrobras).....	12
Figura 3. Localização dos indivíduos arbóreos coletados (□) e pontos onde foram enterradas as resina e de coleta de solo para análise da presença de micorriza (▲) nas quatro parcelas de 50x50 m do PESM – Caraguatatuba.....	16
Figura 4.A. Dados de precipitação (mm) e temperatura média (°C) durante o período de 10 de janeiro a 09 de fevereiro de 2010, em destaque período de coleta de dados. B. Dados de precipitação (mm) e temperatura média (°C) durante o período de 21 de julho a 21 de agosto de 2010, em destaque período de coleta de dados.....	18
Figura 5. Nitrato e amônio <i>in situ</i> (ug N g ⁻¹ .d ⁻¹) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre o amônio e nitrato. Letras minúsculas indicam análises entre estações.....	32
Figura 6. Conteúdo de nitrato foliar (μmol.g PF ⁻¹) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.....	34
Figura 7. Atividade da enzima nitrato redutase foliar – ANR (ρkat.g PF ⁻¹) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.....	36

Figura 8. Conteúdo de nitrato na seiva do xilema ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.....	37
Figura 9. Nitrogênio foliar total (%) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.....	39
Figura 10. Razão C:N foliar por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.....	40
Figura 11. Abundância natural de ^{15}N (‰) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.....	41
Figura 12. Colonização de raízes por fungos micorrízicos arbusculares (%) nos pontos de coleta e a colonização média por pontos no verão e inverno.....	71
Figura 13. Esquema dos principais impactos do aumento da deposição de N em ecossistemas terrestres. Setas para cima indicam acréscimo; setas para baixo indicam decréscimo; Setas pretas entre as caixas indicam que o efeito de curto prazo; setas cinzas entre as caixas indicam efeito de longo prazo; efeitos positivos (+); efeitos negativos (-). Adaptado de Bobbink et al. 2010.....	78

Lista de tabelas

Tabela 1. Lista de espécies coletadas nas parcelas do Parque Estadual da Serra do Mar núcleo Caraguatatuba, SP. Índice de Valor de Importância (IVI), Número de indivíduos (N), altura média em metros (Hm) e perímetro na altura do peito médio em centímetros (PAPm).....15

Tabela 2. Média e desvio padrão da atividade da nitrato redutase (ANR), conteúdo de nitrato foliar ($\text{NO}_3^- \text{F}$), abundância natural de nitrogênio foliar ($\delta^{15}\text{N}$), nitrogênio total foliar (N_{tt}) e relação carbono: nitrogênio (C:N) das espécies arbóreas utilizadas no estudo por estação. Estratégia de regeneração (Rs): pioneira(P), secundária inicial (Si), secundária tardia (St) e não categorizadas (Nc). Abreviatura do nome da espécie (Abrev.).....25

Tabela 3. Média e desvio padrão do conteúdo de nitrato ($\text{NO}_3^- \text{S}$) e de aminoácidos totais (Aas S) na seiva do xilema das espécies arbóreas utilizadas no estudo por estação. E composição de aminoácidos presentes na seiva do xilema (Asn, Gln, Arg, Asp, Glu e outros) por espécies. Estratégia de regeneração (Rs): pioneira(P), secundária inicial (Si), secundária tardia (St) e não categorizadas (Nc). Abreviatura do nome da espécie (Abrev.).....28

Tabela 4. Classes de valores para os parâmetros analisados nas espécies arbóreas quanto ao uso de nitrato: ANR – atividade da enzima nitrato redutase foliar, $\text{NO}_3^- \text{Foliar}$ – conteúdo de nitrato na folha, $\text{NO}_3^- \text{Seiva}$ – conteúdo de nitrato na seiva do xilema, $\delta^{15}\text{N} \text{Foliar}$ – abundância natural do nitrogênio estável na folha (^{15}N), $\text{N}_{\text{tt}} \text{Foliar}$ – porcentagem de nitrogênio foliar total, C:N – razão do carbono: nitrogênio presente na folha.....42

Tabela de abreviações

$\delta^{15}\text{N}$ – abundância natural do isótopo de nitrogênio estável

ASN – asparagina

ARG – arginina

CIT - citrulina

C:N – carbono:nitrogênio

GLN – glutamina

GLU+CIT – glutamato e citrulina

GLU - glutamato

IVI – índice de valor de importância

N - nitrogênio

NO_x – óxidos de nitrogênio

Nr – nitrogênio reativo

NR – nitrato redutase

P – espécies pioneiras

Si – espécies secundárias iniciais

Si Leg – espécies leguminosas secundárias iniciais

St – espécies secundárias tardias

RESUMO

O domínio Mata Atlântica é formado por diversas fisionomias vegetais entre elas a Floresta Ombrófila Densa. Em uma mesma fisionomia vegetal é possível identificar áreas com diferentes grupos de espécies formando um mosaico de vegetação, que apresentam variações nos padrões de regeneração, estrutura e dispersão. Essas espécies podem ser agrupadas em grupos funcionais ou guildas de acordo com as estratégias de regeneração, sendo enquadradas em três grupos: espécies pioneiras, secundárias iniciais ou tardias. Essa classificação das espécies em tipos funcionais é essencial para a compreensão da sucessão ecológica e as características do metabolismo de nitrogênio (N) das arbóreas tropicais podem ser essa uma ferramenta adicional ao diagnóstico e à classificação em grupos ecológicos de sucessão. O presente trabalho tem como objetivo central caracterizar a ecofisiologia da utilização de nitrogênio das espécies arbóreas dominantes na Floresta Ombrófila Densa Submontana em Caraguatatuba e relacionar as estratégias de utilização de nitrogênio com as classes sucessionais das espécies arbóreas selecionadas para o estudo, obtendo assim bases para o estudo sobre potenciais alterações no uso de nitrogênio induzidas pela instalação da Usina de Tratamento de Gás (UTGCA – Monteiro Lobato) na região de estudo. Foram realizadas análises da atividade da nitrato redutase (NR), conteúdo de nitrogênio total e nitrato, relação C:N e $\delta^{15}\text{N}$ foliares, conteúdo de nitrato e aminoácidos na seiva do xilema nas espécies arbóreas selecionadas para o estudo. As coletas foram realizadas durante as estações seca e úmida (2011). Também foram avaliadas a disponibilidade de nitrato e amônio do solo e a colonização radicular por micorriza arbuscular. Foram selecionadas 36 espécies para o estudo, sendo pertencentes a 10 famílias. Essas espécies foram classificadas com bases na sua estratégia de regeneração, sendo classificadas duas espécies como pioneiras, 13 como secundárias iniciais, 14 como secundárias tardias e 7 não foram categorizadas. Os dados, no geral, mostraram que as espécies apresentam diferentes estratégias de uso de nitrogênio relacionadas com o grupo

ecológico e a família a que pertencem. As espécies pioneiras são caracterizadas pela maior assimilação de nitrato na folha, relacionada à elevada atividade da NR foliar, elevado nitrogênio total foliar, baixa relação C:N e conteúdo de nitrato e asparagina elevados na seiva, enquanto as espécies tardias apresentam um baixo conteúdo de atividade da NR foliar, um menor conteúdo de nitrogênio total, elevada relação C:N, menor conteúdo de nitrato no xilema e asparagina como principal composto na seiva do xilema, evidenciando uma forma de assimilação de nitrogênio distinta do grupo anterior. As secundárias iniciais não leguminosas apresentam baixa atividade da NR, reduzido conteúdo de nitrato no xilema e alta relação C:N, GLN é o principal aminoácido translocado no xilema e as secundárias iniciais leguminosas, um elevado conteúdo de nitrato no xilema e de nitrogênio foliar, uma reduzida razão C:N e ASN como principal forma de aminoácido transportado. Como esperado, espécies de uma mesma família botânica apresentaram características semelhantes no uso de nitrogênio. O conteúdo de nitrato foliar não se mostrou um bom indicador entre grupos, mas apresenta relação com o conteúdo de nitrogênio no solo e com a sazonalidade, assim como a atividade da enzima nitrato redutase. A taxa de colonização de micorriza arbuscular apresentou uma elevada variabilidade de resultados e os valores não apresentaram, no geral, diferenças entre as estações. Os dados corroboram o modelo de uso de nitrogênio para espécies arbóreas proposto por Aida *et. al.* (2003), e este talvez possa ser utilizado como uma ferramenta para a avaliação de potenciais impactos no uso de nitrogênio causados pela deposição atmosférica de N provocada pelas emissões da UTGCA – Petrobras.

Palavras-chave: nitrato redutase, sucessão ecológica, nitrato, aminoácidos

ABSTRACT

The Atlantic Forest area consists of several different vegetation types including the Rain Forest. In the same physiognomy is possible to identify areas with different groups of species forming a mosaic of vegetation that exhibit variations in patterns of regeneration, structure and dispersion. These species can be grouped into functional groups or guilds according to the strategies of regeneration: pioneers, early secondary and late secondary species. This classification into functional types is essential for understanding the ecological succession and the characteristics of the metabolism of nitrogen (N) of those tropical trees is an additional tool for the diagnosis and classification of ecological groups along forest succession. The present work aimed to characterize the ecophysiology of nitrogen utilization of the dominant tree species in Lower Montane Atlantic Rain Forest in Caraguatatuba and establish the relationship between the nitrogen uses strategies and successional classes among the selected tree species, obtaining in this way, bases for the study of potential changes in the use of nitrogen induced by the installation of the Gas Treatment Plant (UTGCA - Monteiro Lobato) in the study area. Analyses were performed in the tree species selected for the study using the activity of nitrate reductase (NR), leaf total nitrogen content, nitrate foliar, C: N ratio and $\delta^{15}\text{N}$, nitrate content and amino acids in the xylem sap. Samples were collected during the dry and wet seasons (2011). We also evaluated the soil availability of nitrate and ammonium and root colonization by arbuscular mycorrhizal. 36 species were selected for study, belonging to 10 families, and they classified into regeneration strategy: two pioneer species being classified as pioneers, 13 early secondary species, 14 late secondary and initially 7 species were not categorized. The data showed that species have different strategies for the use of nitrogen related according regeneration strategies and plant families. The pioneer species are characterized by higher nitrate assimilation, NR activity and total nitrogen content in the leaf, low C: N ratio and high nitrate and asparagine content in the

xylem sap, while the late species showed low content of NR activity of and total nitrogen content in the leaves, high C: N leaf ratio, lower content of nitrate in the xylem and asparagine as the main compound in the xylem sap, suggesting distinct patterns of nitrogen assimilation. The initial secondary species not legumes showed low NR activity, low nitrate content in the xylem sap and high C: N leaf ratio, GLN as the main compound in the xylem sap and the initial secondary species legumes, high nitrate content in the xylem sap and total nitrogen content in the leaves, low C: N leaf ratio and ASN as the main compound in the xylem sap. As expected, species belonging to the same plant families showed similar nitrogen use. The leaf nitrate content was not a good indicator of successional groups, but was well correlated with the soil nitrogen content and the leaf of leaf nitrate reductase. The colonization rate of arbuscular mycorrhizal showed high variability and the values did not, in general, showed differences between seasons. The data support the model of use of nitrogen for tree species proposed by Aida et al. (2003) and this can perhaps be used as a tool for assessing potential impacts on the use of nitrogen caused by atmospheric N deposition caused by emissions of UTGCA - Petrobras.

Keywords: nitrate reductase, ecological succession, nitrate, amino acids

1. Introdução

O nitrogênio (N) é um dos elementos mais abundantes nas plantas, somente presente em menor quantidade do que o carbono, oxigênio e hidrogênio (Taiz & Zeiger 2009). Esse nitrogênio é obtido através da simbiose com organismos fixadores de nitrogênio ou diretamente do solo, na forma de N inorgânico (amônio e nitrato) ou orgânico (aminoácidos) (Lea & Azevedo 2007), sendo que o N inorgânico é gerado principalmente através da mineralização da matéria orgânica por organismos decompositores (Barreto *et al.* 2006).

A assimilação desses compostos de N pode ser facilitada pela presença de micorrizas e a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) favorece o estabelecimento, sobrevivência e crescimento da planta hospedeira, contribuindo para uma ciclagem dos nutrientes minerais mais eficiente e uma maior estabilização do solo, sendo um importante mecanismo na conservação dos nutrientes no ecossistema (Aidar *et al.* 2004).

O nitrato (NO_3^-) é considerado a principal fonte de N mineral assimilado pelas plantas, com o NH_4^+ sendo predominante em algumas situações (Stewart *et al.* 1993). O nitrato pode ser acumulado em elevadas concentrações no vacúolo nas raízes ou folhas, para onde é transportado via o xilema e sua assimilação pode ser realizada tanto nas folhas quanto nas raízes (Bewley 1983). O primeiro passo no processo de assimilação é a reação catalisada pela enzima nitrato redutase (NR) que atua na redução do nitrato a nitrito e essa enzima tem um papel chave na regulação do ciclo de N na planta por ser a primeira e principal forma de entrada de nitrogênio (Stitt & Krapp 1999).

O nitrito obtido é reduzido em amônio através da reação catalisada pela enzima nitrito redutase (Stitt & Krapp 1999). O amônio obtido através da reação anterior, oriundo da fotorrespiração ou diretamente do solo, é convertido em aminoácidos em reações catalisadas pelas enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT), formando glutamina e

glutamato, respectivamente (Bremdeier & Mundstock 2000). A reação de formação do glutamato a partir do amônio também pode ser catalisada pela enzima glutamato desidrogenase (GDH) (Bremdeier & Mundstock 2000).

O glutamato e a glutamina podem ser utilizados diretamente pela célula ou podem ser incorporados em outros aminoácidos, em reações conhecidas por transaminação, formando aminoácidos com asparagina, aspartato, entre outros (Taiz & Zeiger 2009).

Quando a assimilação é realizada na raiz, o transporte via xilema é realizado na forma de aminoácidos, sendo segundo Schmidt & Stewart (1998), a composição de aminoácidos presentes na seiva um importante indicador da fonte de N utilizada e da dinâmica do metabolismo de N. A presença da simbiose planta e organismos fixadores também pode ser identificada através do perfil de compostos nitrogenados transportados na seiva do xilema. Dambrine *et al.* (1995) observou que o conteúdo de aminoácidos, nitrato e amônio na seiva são influenciados pela remobilização de compostos, balanço interno de N, assim como pelo fluxo de nutrientes do solo.

O ciclo de N é complexo tanto na ciclagem interna na planta como todo o ciclo de nitrogênio já que ele é regulado tanto por condições bióticas (plantas, microorganismos) quanto abióticas (temperatura e precipitação), sendo um elemento chave na regulação, produção e estrutura das populações vegetais (Näsholm *et al.* 1998). Comparado com as florestas temperadas, as florestas tropicais apresentam uma maior circulação de nitrogênio, com uma ciclagem mais aberta e enriquecida de $\delta^{15}\text{N}$ (Martinelli *et al.* 1999).

A principal forma de entrada de novo N é através da fixação biológica de nitrogênio, na qual o N atmosférico na forma de N_2 é fixado em amônio (NH_4^+) processo realizado por bactérias presentes nos solos ou em associações com plantas superiores (Knops *et al.* 2002). A FBN em florestas tropicais parece ser a principal forma de entrada de N no sistema, contribuindo com mais de 20% da FBN global (Creveland *et al.* 1999).

Outra forma de entrada de N num ecossistema é a partir da deposição de atmosférica de N, que é a transferência de nitrogênio reativo (Nr) de um sistema para outro. Nr é toda forma de N biologicamente ativa presente na atmosfera ou biosfera, incluindo formas reduzidas (NH_4^+ e NH_3), formas inorgânicas oxidadas (HNO_3 , N_2O , NO_x , NO_3^-) e compostos orgânicos (uréia, aminas, proteínas e ácidos nucleicos) (Galloway *et al.* 2004). O Nr pode ser gerado por um ecossistema natural ou por emissões de origem antropogênica. Quando de origem antropogênica, se a emissão é principalmente realizada na forma de NH_x , o resíduo tem origem de fontes agrícolas e se a principal forma é o NO_x , as emissões são originada principalmente pela queima de combustíveis fósseis.

Inicialmente um dos possíveis efeitos do aumento da deposição de N é o aumento do sequestro de C nos ecossistemas florestais (Högberg 2007). Entretanto em longo prazo a elevação na disponibilidade de nitrogênio gerada pelo aumento da deposição estimula a nitrificação do solo, resultando na acidificação e perda de cátions, o que pode alterar o balanço de nutrientes e mudar a relação de competição entre espécies, causando uma queda na diversidade de espécies e de produtividade (Fujimaki *et al.* 2009).

O que é conhecido sobre os efeitos da deposição vem de estudos oriundos de regiões temperadas e segundo Matson *et al.* (1999), a maior parte das florestas tropicais tem uma ciclagem de N diferente da florestas temperadas, com isso os resultados da deposição seriam diferentes entre os ecossistemas. Segundo Phoenix *et al.* (2006) os impactos dos mecanismos de deposição podem agir de modo diferente nos trópicos onde as plantas crescem frequentemente sem N limitado (diferente dos sistemas temperados), os solos já são altamente ácidos e podem ser mais propensos a perda de N por lixiviação ou por perdas gasosas já que apresentam uma ciclagem mais aberta.

Uma das consequências observadas devido o aumento da disponibilidade de N é a redução generalizada da diversidade biológica, pois as plantas adaptadas a uma baixa disponibilidade de N seriam levadas à exclusão competitiva, alterando o ciclo de N nos ecossistemas (Vitousek *et al.*, 1997). O trabalho de Aidar *et. al.* (2001) analisou a composição de espécies entre áreas com solos de Mata Atlântica naturalmente ricos e pobres e observou que em áreas ricas havia uma maior composição de leguminosas enquanto em locais com solos pobres a leguminosas ocorriam em pequena quantidade e outras espécies ocorriam em maior proporção, podendo indicar que as alterações geradas pela deposição gerariam também alteração da composição de espécies.

Na vegetação, inicialmente os efeitos da deposição de N são semelhantes ao da fertilização, mas em longo prazo pode ocorrer a redução do crescimento e até injúrias pela entrada do N pela folha, essa restrição no crescimento é ocasionada por distúrbios gerados no metabolismo de nitrogênio, interferência de radicais livres em mecanismos regulatórios e acidificação persistente nas células (Wellburn 1990).

Plantas que têm a assimilação sendo realizada preferencialmente na folha podem ter uma maior capacidade a resistir a injúrias. Essas espécies podem apresentar elevação da atividade da NR devido ao aumento do NO_x , indicando um papel chave da enzima para a metabolização do poluente que entra na folha através dos estômatos (Nasholm 1991 apud Pearson & Stewart 1993), sendo mais sensíveis à injúria, espécies com menor atividade da NR nas folhas (Wellburn 1990).

Para os próximos anos há previsões de aumento na deposição de nitrogênio e diversos ecossistemas podem ser afetados entre eles a Mata Atlântica, e as previsões são que a deposição tenha pelo menos dobrado em 2050 em relação aos dias atuais, ameaçando a diversidade florística desses ecossistemas (Phoenix *et al.*, 2006).

A Mata Atlântica é a terceira maior floresta em número de espécies endêmicas no mundo e devido ao seu alto grau de endemismo e à intensa redução de sua área, foi incluída entre os 34 hotspots para a conservação da biodiversidade (Myers *et al.*, 2000; Mittermeier *et al.*, 2004). Sua área abrangia 1.315.460 km² no território brasileiro, além de atingir áreas da Argentina e do Paraguai. No Brasil, seus limites originais contemplavam áreas em 17 estados, o que correspondia a aproximadamente 15% do território nacional. No estado de São Paulo, os remanescentes florestais são 14,98% da área original (Fundação SOS Mata Atlântica/ INPE, 2011).

Atualmente a Floresta Atlântica está extremamente fragmentada e reduzida a manchas disjuntas, concentradas nas regiões Sul e Sudeste, principalmente em locais de topografia acidentada, inadequados à atividade agrícola e em Unidades de Conservação (Cervi *et al.*, 2007). O domínio Mata Atlântica é formado por diversas fisionomias vegetais: Floresta Ombrófila Densa, Aberta e Mista (Floresta de Araucária), Florestas Sazonal Decidual e Semidecidual, Mangues, Restingas e Campos de Altitude (Joly *et al.*, 1999).

A Floresta Ombrófila Densa é caracterizada pelas elevadas temperaturas e taxas de precipitação (Velooso *et al.* 1991). É composta por quatro formações classificadas segundo as variações altimétricas: a Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixa (de 50 a 100 metros), Floresta Ombrófila Densa Submontana (de 100 a 500 m), Floresta Ombrófila Densa Montana (de 500 a 1200 m) e Floresta Ombrófila Densa Alto Montana (mais de 1200 m) (Souza 2008).

Numa mesma fisionomia vegetal é possível identificar diferentes áreas formando um mosaico, estes ambientes se diferenciam em relação à composição de espécies e, conseqüentemente, apresentam variações nos padrões de regeneração, estrutura e dispersão (Nunes *et al.*, 2003). Esse padrão tem relação com abertura de clareiras naturais, causada pela queda de uma ou mais árvores do dossel, é considerada um mecanismo de manutenção da

diversidade de espécies nas florestas tropicais e representam nichos distintos de colonização, permitindo a coexistência de espécies com diferentes histórias de vida (Tabarelli & Mantovani, 1999).

Whitmore (1990) reconheceu três fases na regeneração de uma floresta tropical: clareira, regeneração e madura. E as características ecofisiológicas das espécies são diferentes de acordo com essas distintas fases e podem ser agrupadas em grupos funcionais ou guildas de acordo com as estratégias de regeneração (Tabarelli *et al.*, 1999). Uma forma de classificar as espécies com base na estratégia de regeneração é separá-las em três grupos: espécies pioneiras (P), secundárias iniciais (Si) ou secundárias tardias (St) (Gandolfi 1991).

Essa classificação das espécies em estratégia de regeneração é uma ferramenta essencial para a compreensão da sucessão ecológica, mas a grande plasticidade apresentada pelas espécies dificulta a determinação dos critérios de classificação (Paula *et al.*, 2004). Aidar *et al.* (2003) propuseram um modelo de sucessão baseado no uso de nitrogênio e ao avaliar as características do metabolismo de nitrogênio (N) de espécies arbóreas tropicais observaram relação com a classificação das espécies em grupos ecológicos de sucessão (P, Si e St).

O primeiro grupo, de espécies arbóreas pioneiras são caracterizadas por serem intolerantes à sombra, sendo mais dependentes para a germinação e desenvolvimento da luz e ocorrendo preferencialmente em clareiras ou bordas de florestas (Gandolfi 2000). Além disso, apresentam maior taxa de colonização por micorriza arbuscular (Aidar *et al.* 2004), elevada atividade da enzima nitrato redutase foliar, elevado conteúdo de nitrogênio total foliar e apresentam como principais aminoácidos transportados na seiva do xilema nitrato e asparagina (Aidar *et al.* 2003).

As arbóreas secundárias iniciais têm comportamento intermediário de dependência de luz, podem ocorrer no sub-bosque, mas estão ausentes em áreas intensamente sombreadas

(Gandolfi 2000). Apresentam um transporte via xilema bem característico, sendo realizado majoritariamente pelos aminoácidos arginina e glutamina, apresentando uma atividade da enzima nitrato redutase e conteúdo de nitrogênio total foliar menores que o grupo das pioneiras (Aidar *et al.* 2003). As leguminosas pertencentes a esse grupo apresentam um transporte de aminoácidos diferenciado, sendo realizado principalmente pela asparagina (Aidar *et al.* 2003).

As arbóreas secundárias tardias são espécies menos dependentes da luz em processos como germinação e desenvolvimento, ocorrendo mesmo em áreas intensamente sombreadas (Gandolfi 2000). Já quanto ao uso de nitrogênio, apresentam uma menor atividade assimilatória nas folhas, caracterizada pela baixa atividade da nitrato redutase foliar, pequeno conteúdo de nitrato na seiva, um reduzido conteúdo de nitrogênio total foliar e o transporte via xilema sendo realizado principalmente pelos aminoácidos asparagina e arginina (Aidar *et al.* 2003).

Esse modelo foi inicialmente proposto para espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa Montana sob solos calcáreos (Aidar *et al.* 2003) e outros estudos em áreas de Mata Atlântica com solos ácidos e distróficos corroboraram esse modelo. Foram selecionadas diferentes fisionomias de Floresta Ombrófila Densa (Montana, Submontana e Terras Baixas), além da Floresta de Restinga e da Floresta Estacional Semidecidual (Pereira-Silva 2008, Campos 2009, Lantasio-Aidar in prep., Aidar *et al.* dados não publicados).

Lantasio-Aidar (in prep.) observou que o modelo de uso de N também é válido para uma floresta subtropical Australiana, sugerindo que este modelo possa ser aplicado em escala pantropical.

Segundo Xia & Wan (2008), a análise das variações presentes nos tipos funcionais ao aumento do N são críticos para entender as variações ocorridas na composição de espécies, diversidade, estrutura da comunidade e funcionamento dos ecossistemas. O modelo de uso de nitrogênio proposto por Aidar *et al.* (2003), uma vez validado para a área de estudo em questão,

poderá se tornar uma ferramenta para a avaliação dos potenciais efeitos causados pelo aumento da deposição de nitrogênio, já que as características e estratégias de uso do nitrogênio preconizadas pelo modelo são diretamente influenciados pela sua disponibilidade no ambiente e, portanto, passíveis de verificação de potenciais alterações decorrentes do aumento da deposição desse nutriente na área de estudo. Entretanto, apesar de uma vasta literatura sobre os impactos da deposição de nitrogênio nos ecossistemas terrestres, especialmente a Floresta Neotropical, foi muito pouco estudada nesse aspecto, e as principais questões permanecem em aberto (Bobbink et al. 2010).

A instalação da UTGCA-Petrobras (Unidade de Tratamento de Gás Monteiro Lobato) em Caraguatatuba pode fornecer as condições necessárias para observar se o modelo pode ajudar nesse tipo de avaliação, já que a sua instalação no início do ano de 2011 permite conhecer as características e padrões das espécies antes do início das emissões de poluentes e assim comparar futuramente os possíveis efeitos dessa emissão a curto e médio prazos.

A Usina foi construída para receber e tratar o gás natural retirado do Campo Mexilhão (Santos). O gás natural é um combustível fóssil e sua queima provocará a emissão de diversos poluentes: óxidos de nitrogênio, material particulado, monóxido de carbono, dióxido de carbono e hidrocarbonetos. Segundo o Estudo de Impacto Ambiental (2006) realizado na construção da Usina, a vegetação próxima à área da Usina será diretamente afetada por essa emissão de poluentes, entre eles o NO_x (Figura 1).

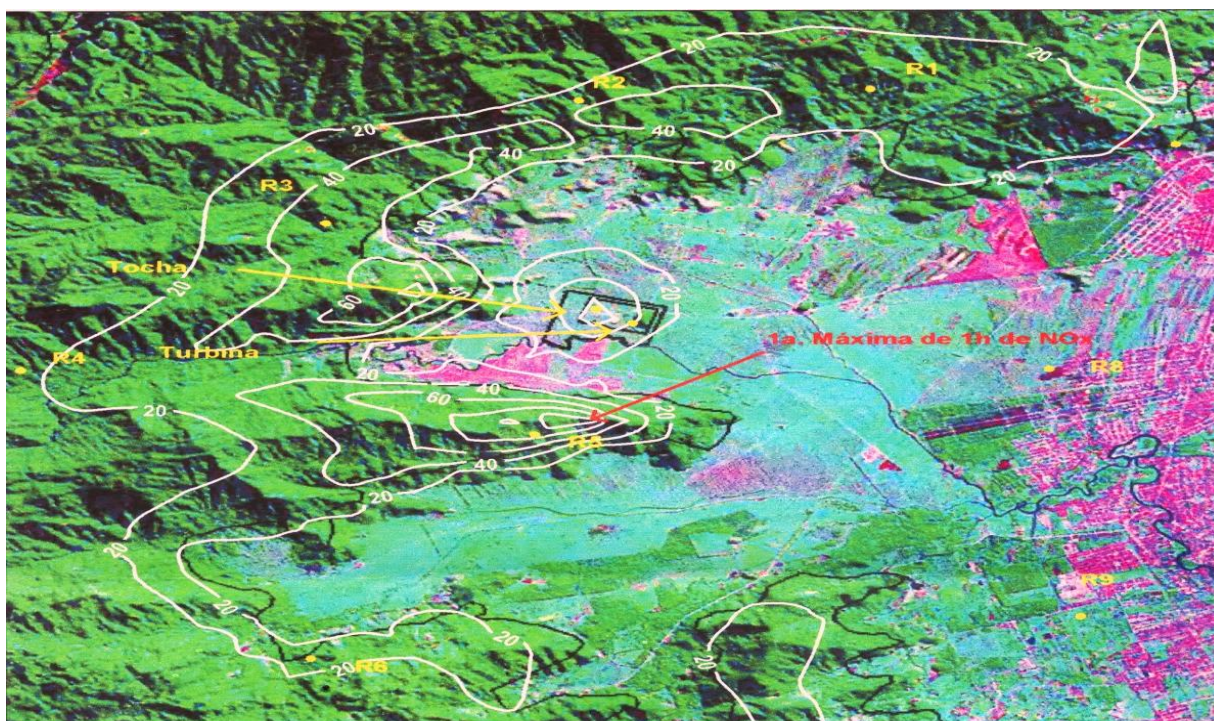


Figura 1. Isopletas de concentração máxima horária de NO_x em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para as emissões da Usina de Tratamento de Gás (UTGCA). Fonte: Estudo de Impacto Ambiental 2006.

Este trabalho está inserido no projeto temático Urban growth, vulnerability and adaptation: social and ecological dimensions of climate change on the coast of São Paulo (Processo 08/58159-7, coordenação Lúcia da Costa Ferreira Nepam/Unicamp), que visa estabelecer as bases para o estudo de longo prazo das consequências ambientais das alterações climáticas na costa.

2. Objetivos

O presente trabalho pretende caracterizar as estratégias de uso de nitrogênio de espécies arbóreas na Floresta Ombrófila Densa Submontana no município de Caraguatatuba, SP.

Os objetivos específicos são:

A - Determinar as principais estratégias de uso de nitrogênio através das características de assimilação, transporte e armazenamento durante as estações seca e chuvosa;

B - Relacionar as estratégias de utilização de nitrogênio com as classes sucessionais das espécies arbóreas selecionadas.

C – Relacionar as alterações no uso de nitrogênio das espécies arbóreas entre as duas estações com a disponibilidade de nitrogênio no solo.

Obtendo assim bases para o estudo sobre possíveis alterações no uso de nitrogênio geradas pela instalação da UTGCA na região.

3. Material e métodos

3.1. Área de estudo

O Núcleo Caraguatatuba do Parque Estadual da Serra do Mar tem 13.770 ha, e abrange os municípios de Caraguatatuba, São Sebastião, Paraibuna e Natividade da Serra.

O clima é caracterizado como tropical quente superúmido, com temperaturas médias anuais de 18 a 20° C e precipitação média anual apresenta variações em torno de 1200 a 2500 mm entre as estações seca e úmida. A radiação solar e a existência de superfícies líquidas consideráveis (Oceano Atlântico) geram ótimas condições de evaporação o que resulta na significativa precipitação registrada na área (Setzer, 1966; Nimer, 1979).

Na área de estudo ocorrem dois compartimentos geomorfológicos básicos: um formado por escarpas e rampas de aplainamento, com vários níveis altimétricos e um composto por morros e colinas de baixa amplitude situados no planalto, com amplitudes altitudinais de 50 a 1300m.

Em relação aos solos, na área estudada ocorrem, nas porções planas, a classe Podzólico Vermelho-Amarelo e Latossólico distrófico hidromórfico, com textura arenosa. Já as porções de relevo fortemente ondulado (como na serra) se constituem de Cambissolos álicos com horizonte A moderado e de textura argilosa. Ocorre também nestas porções Latossolo Vermelho e Amarelo álico, de textura argilosa com horizonte A moderado, apresentando fase pedregosa (Projeto RADAMBRASIL, 1983).

O trecho do Núcleo Caraguatatuba do Parque Estadual da Serra do Mar para a alocação de parcelas (23°35'03"S e 45°32'20"W) foi selecionado considerando-se a área de influência da Usina de tratamento de gás da Petrobras (UTGCA) e o estado de conservação em trecho de Floresta Ombrófila Densa Submontana (Figura 2).

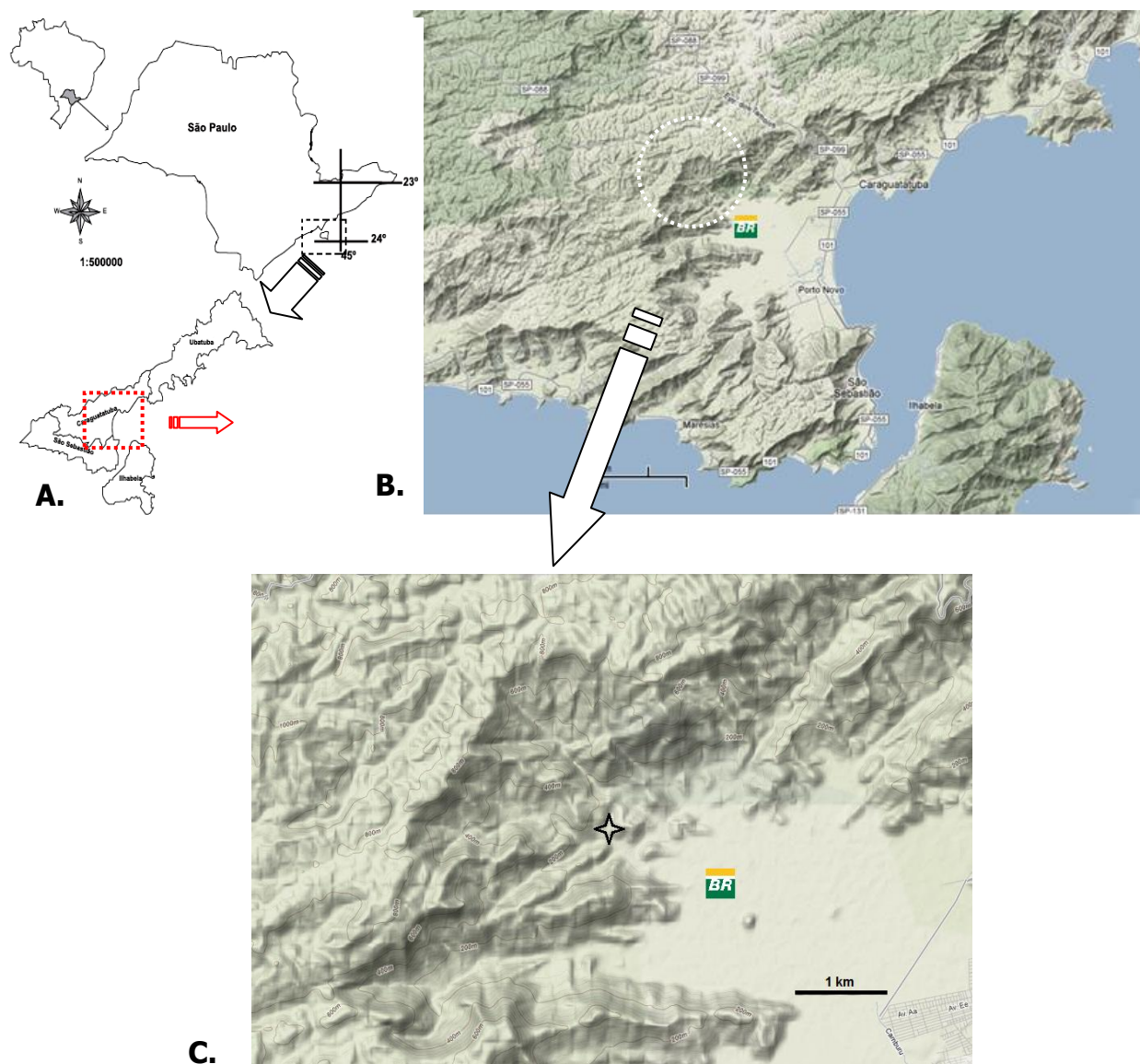


Figura 2. **A.** Localização da área de estudo no Estado de São Paulo e município de Caraguatatuba; **B.** Imagem de satélite do município de Caraguatatuba **C.** Detalhe da área de estudo dentro do PESM – Caraguatatuba (estrela) e área da Usina de tratamento de gás (UTGCA - Campo mexilhão – Petrobras).

3.2. Alocação das parcelas e coleta dos indivíduos arbóreos para identificação

No primeiro semestre de 2010, quatro parcelas de 50x50 metros (2500 m²) não contíguas foram instaladas com auxílio de uma equipe especializada em topografia usando um teodolito de

alta precisão, sendo divididas em sub-parcelas de 10x10 metros e delimitadas com estacas de PVC e barbantes. Houve uma grande variação altimétrica dentro das parcelas, sendo o ponto mais baixo situado a 107 m e o ponto mais elevado a 172 m de altura.

Dentro das parcelas os indivíduos arbóreos lenhosos, palmeiras e pteridófitas com mais de 15 centímetros de perímetro e 1,30 m de altura foram plaqueados e identificados. No segundo semestre de 2010, foram realizadas as coletas para a identificação dos indivíduos anteriormente plaqueados.

A alocação das parcelas e coleta dos indivíduos arbóreos foram feitas em conjunto com o aluno de mestrado Edson Junior Ferreira Stefani (Biologia Vegetal UNICAMP), que realizou o levantamento fitossociológico.

3.3. Seleção e categorização sucessional ecológica das espécies

A seleção de espécies para o estudo sobre o uso de nitrogênio foi realizada considerando-se as espécies com maior abundância na área, as formadoras do dossel, de famílias importantes, as espécies já conhecidas anteriormente por serem indicadoras de ambientes ou estratégias, além de espécies adequadas para comparações entre áreas de estudo. O último quesito é em relação às espécies que já estiveram presentes em estudos em outros trabalhos de uso de nitrogênio do grupo (Perreira-Silva 2008 e Campo 2009).

As espécies selecionadas foram classificadas em grupos sucessionais a partir de dados obtidos pela bibliografia consultada (Alves & Metzger 2006, Brandão *et al.* 2009, Campos 2009, Garcia 2007, Medeiros 2009, Oliveira 2002, Perreira-Silva 2008, Santos *et al.* 2006, Schorn & Galvão 2009, Silva *et al.* 2003), sendo considerada a categorização proposta por Gandolfi (1995), em que as espécies são divididas em três grupos sucessionais (pioneira, secundária inicial e secundária tardia) e um grupo sem caracterização (não categorizadas). No último grupo estão às

espécies em que não se obteve dados sobre a que grupos ecológicos pertencem a partir dos dados bibliográficos.

As espécies utilizadas neste trabalho e a sua classificação em grupos ecológicos de regeneração são apresentadas na Tabela 1.

Para cada espécie foram coletados três indivíduos, exceto para os que apresentavam número de indivíduos menor que três. O número de indivíduos coletados de cada espécie apresenta-se na Tabela 1.

A coleta de material vegetal para o estudo de uso de nitrogênio foi realizada durante o período da manhã (9:00 às 12:00 horas). Na coleta eram selecionados preferencialmente os galhos posicionados na face norte e mais acima do dossel, pegando folhas de sol e evitando as intensamente sombreadas. Os indivíduos que não puderam ser coletados com a tesoura de poda, devido à grande altura indivíduos, foram coletados por um escalador. Para as análises eram selecionadas as folhas maduras, inteiras e sem sinais de injúrias.

Foi realizado o mapeamento das espécies e com base nisso foi realizada a seleção das áreas de coleta, sendo selecionadas áreas com as espécies que apresentam o menor número de indivíduos e próxima a estas os indivíduos das outras espécies (Figura 3).

Tabela 1. Lista de espécies coletadas nas parcelas do Parque Estadual da Serra do Mar núcleo Caraguatatuba, SP. Índice de Valor de Importância (IVI), Número de indivíduos (N), altura média em metros (Hm) e perímetro na altura do peito médio em centímetros (PAPm).

Família	Espécie	Autor	IVI	N	Hm	PAPm
Arecaceae	<i>Euterpe edulis</i>	Martius	6,46	4	8,0	25,0
Euphorbiaceae	<i>Actinostemon verticillatus</i>	(Klotzsch) Baill.	10,05	3	7,6	33,5
Euphorbiaceae	<i>Alchornea glandulosa</i>	Poepp. & Endl.	2,38	3	11,3	41,6
Euphorbiaceae	<i>Alchornea triplinervia</i>	(Spreng.) Müll. Arg.	0,60	3	15,3	41,2
Euphorbiaceae	<i>Mabea piriri</i>	Aublet	24,49	3	20,6	87,8
Fabaceae	<i>Albizia pedicellaris</i>	(DC.) L.Rico	6,16	3	17,0	91,2
Fabaceae	<i>Copaifera langsdorffii</i>	Desf.	0,37	2	12,0	28,9
Fabaceae	<i>Copaifera trapezifolia</i>	Hayne	0,19	1	18,0	64,0
Fabaceae	<i>Hymenaea courbaril</i>	L.	0,22	1	17,0	74,2
Fabaceae	<i>Hymenolobium janeirense</i>	Kuhlmann	0,45	2	8,3	30,7
Fabaceae	<i>Inga capitata</i>	Desv.	0,37	3	8,3	26,4
Fabaceae	<i>Inga striata</i>	Benth	0,59	3	12,3	57,3
Fabaceae	<i>Pseudopiptadenia warmingii</i>	(Benth.) Lewis & Lima	0,98	1	18,0	67,0
Fabaceae	<i>Tachigali multijuga</i>	Benth.	0,74	2	8,2	22,0
Fabaceae	<i>Zygia latifolia</i> var. <i>Glabrata</i>	(Mart.) Barneby & Grimes	2,34	3	7,0	21,4
Lauraceae	<i>Cryptocarya mandioccana</i>	Meisn.	2,26	3	8,3	24,8
Lauraceae	<i>Licaria armeniaca</i>	(Nees) Kosterm	1,27	3	14,7	34,6
Lauraceae	<i>Ocotea dispersa</i>	(Nees) Mez	1,21	3	7,7	37,9
Lauraceae	<i>Ocotea elegans</i>	Mez	1,67	3	11,3	39,8
Lauraceae	<i>Ocotea aff. estrellensis</i>		3,58	1	31,0	170,0
Lecythidaceae	<i>Cariniana legalis</i>	(Mart.) Kuntze	0,81	2	31,0	340,0
Melastomataceae	<i>Miconia dodecandra</i>	(Desv.) Cogn.	1,60	3	7,6	34,7
Myrtaceae	<i>Campomanesia guaviroba</i>	(DC.) Kiaersk.	0,39	3	9,3	32,4
Myrtaceae	<i>Eugenia cuprea</i>	(O.Berg) Mattos	2,54	3	6,7	18,2
Myrtaceae	<i>Eugenia oblongata</i>	O.Berg	0,55	3	8,3	24,5
Myrtaceae	<i>Gomidesia spectabilis</i>	(DC.) O. Berg	4,38	3	10,0	31,2
Myrtaceae	<i>Myrceugenia myrcioides</i>	(Cambess.) O. Berg.	0,88	3	6,7	25,1
Myrtaceae	<i>Myrcia guianensis</i>	(Aubl.) DC	1,81	3	8,3	18,2
Proteaceae	<i>Roupala brasiliensis</i>	Klotzsch	0,45	3	9,8	44,5
Phyllanthaceae	<i>Hyeronima alchorneoides</i>	Fr. Allem.	2,19	3		
Sapindaceae	<i>Cupania vernalis</i>	Cambess.	1,32	3	18,3	71,9
Sapindaceae	<i>Matayba guianensis</i>	Aubl.	2,58	3	11,3	46,3
Sapotaceae	<i>Chrysophyllum viride</i>	Mart. & Eichler	4,42	4	12,0	17,5
Sapotaceae	<i>Ecclinusa ramiflora</i>	Mart.	2,03	3	8,7	23,6
Urticaceae	<i>Cecropia ulei</i>	Stn	-	3	-	-
Urticaceae	<i>Pourouma guianensis</i>	Aubl.	1,94	3	9,0	20,5

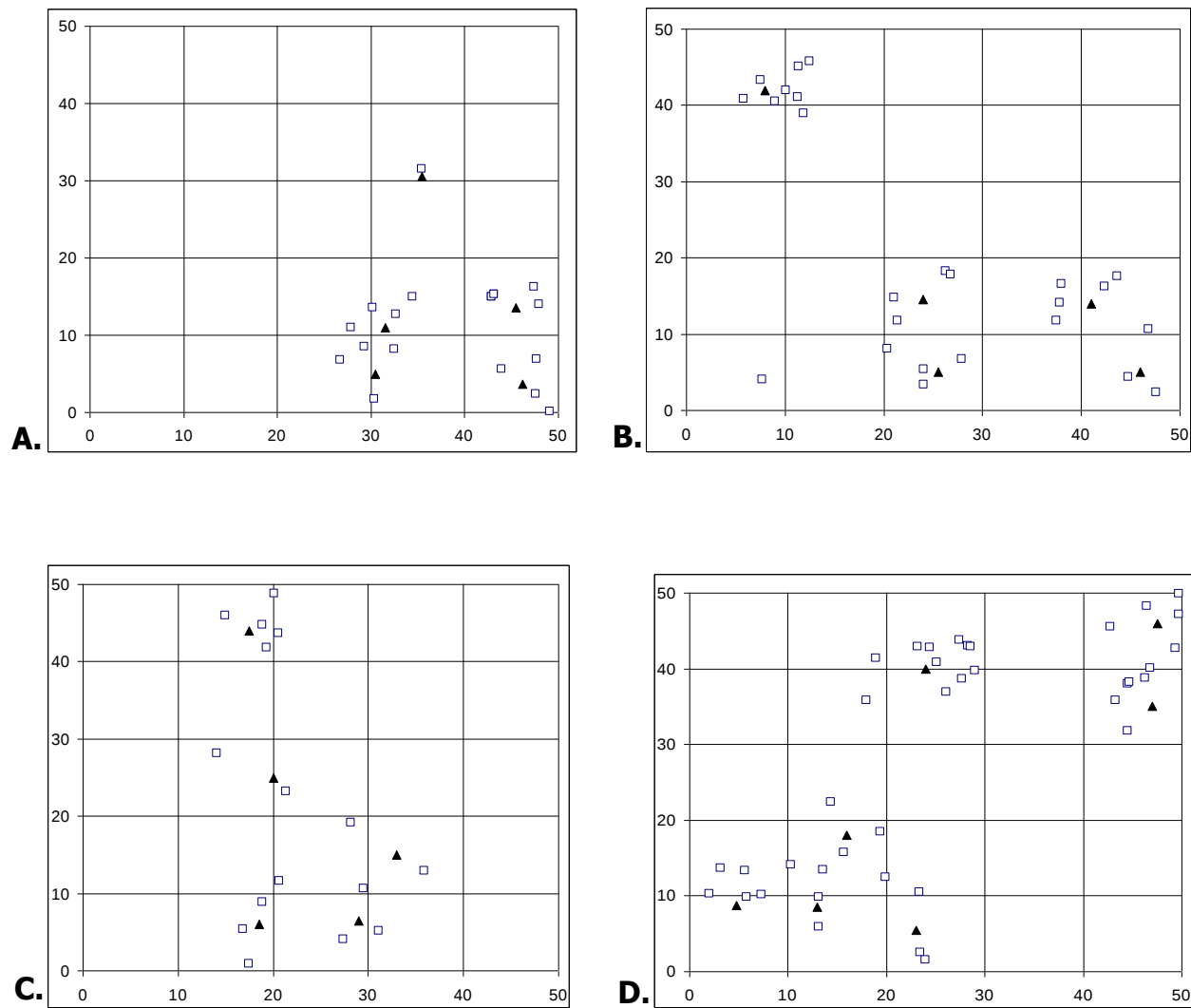


Figura 3. Localização dos indivíduos arbóreos coletados (□) e pontos onde foram enterradas as resina e de coleta de solo para análise da presença de micorriza (▲) nas quatro parcelas de 50x50 m do PESM – Caraguatatuba.

3.4. Condições climáticas: temperatura e precipitação

As coletas de material vegetal foram realizadas no verão (de 24 a 31 de janeiro) e no inverno (de 08 a 15 de agosto).

A temperatura foi em torno de 28 graus durante o período de coleta no verão (Figura 4.A.). A precipitação apresentou uma grande variação em janeiro, apresentando períodos com intensa precipitação, acima de 40 mm (sendo que as medidas são retiradas a cada três dias) nas semanas anteriores à coleta e durante a semana da coleta de precipitação foi praticamente nula (CIIAGRO online, 2011).

No inverno, a precipitação apresentou valores menores que no verão, com valores em torno de 20 mm, no período anterior à coleta e durante a semana de coleta a precipitação total foi em torno de 22 mm (CIIAGRO online, 2011). A temperatura ficou próxima de 20 graus (Figura 4.B.).

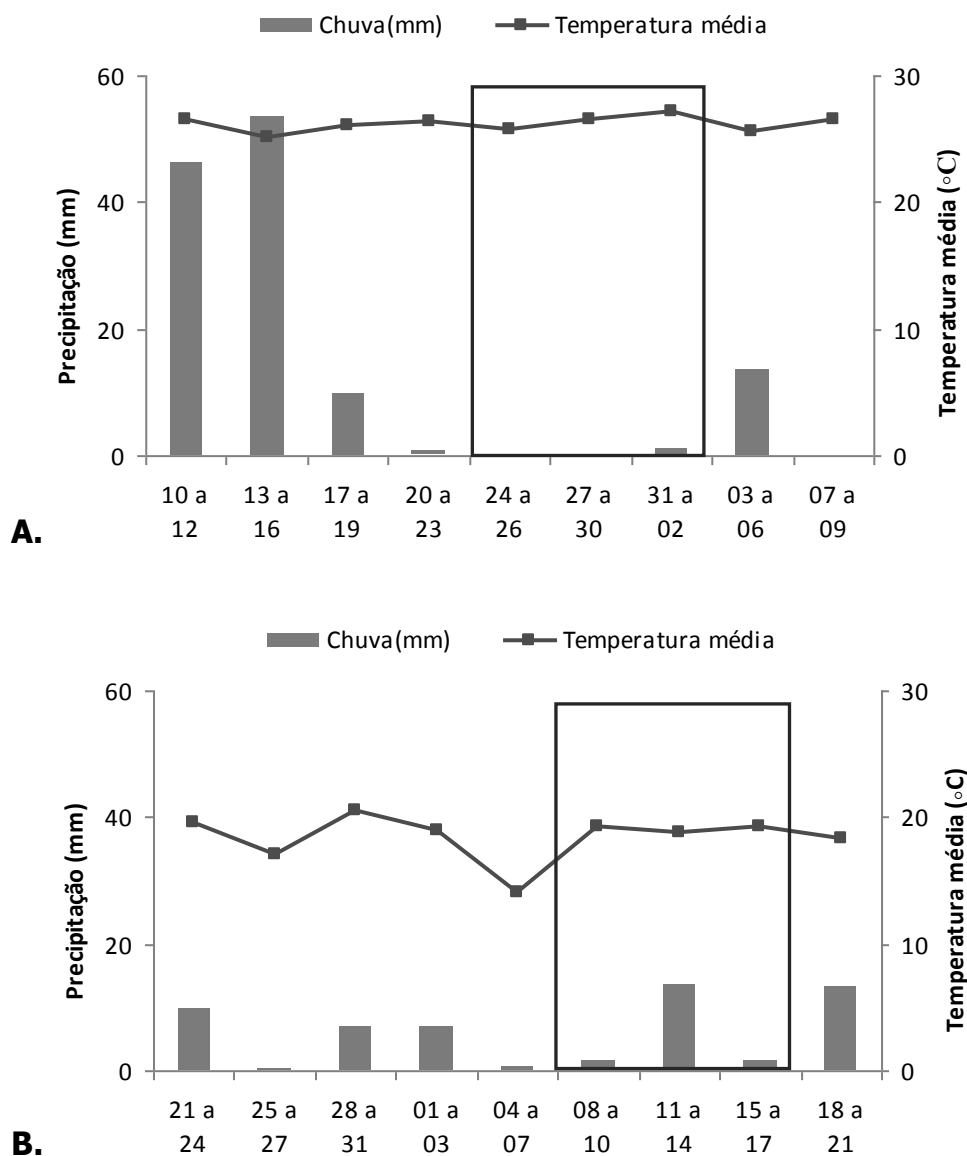


Figura 4 - Dados de precipitação (mm) e temperatura média (°C) durante o período de 10 de janeiro a 09 de fevereiro de 2010 (A) e o período de 21 de julho a 21 de agosto de 2010 (B), em destaque período de coleta de dados.

3.5. Atividade potencial máxima da enzima nitrato redutase *in vivo*

Ramos das espécies selecionadas foram coletados durante o período da manhã (das 8:00 às 12:00 horas) e mantidos resfriados até a análise. No período da tarde, o terço médio das folhas

maduras foram cortados (100 mg) e transferidos para tubos de ensaio com 2,5 mL de solução de incubação contendo tampão fosfato (K_2HPO_4 0,1 M, 100 mM KNO_3) e 1-propanol 1% (v/v). As amostras foram infiltradas a vácuo em um dessecador e posteriormente incubadas por uma hora a 30°C e no escuro.

Após esse período, a solução incubada foi transferida para outro tubo de ensaio contendo 1 mL ácido sulfanílico (1%) em ácido clorídrico 1N. Sendo acrescentado em seguida 1 mL solução com corante NED (α -naphthyl ethylenediamine dihydrochloric) 1%. Depois de 30 minutos as amostras foram lidas em espectrofotômetro (absorbância 540 nm), de acordo com Sterwart *et al.* (1986). As amostras eram analisadas em duplicata para cada indivíduo coletado.

A atividade foi estimada a partir da formação de nitrito através da seguinte fórmula:

$$\rho\text{Kat g}^{-1}\text{ PF} = \rho\text{Mol NO}_2 \text{ s}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PF} = (\text{OD}/15) \times (\text{V}/\text{PF}) \times (10^6/3600)$$

OD é a absorbância obtida, V é o volume da solução de incubação e PF o peso fresco da folha.

3.6. Conteúdo de nitrato foliar

Parte das folhas frescas presentes nos ramos coletados foram picadas e submetidas à extração por etanol (1:5 w/v), sendo mantidas em temperatura ambiente por 24 horas e depois desse período congeladas a -20°C. Essas amostras foram posteriormente analisadas quanto ao conteúdo de nitrato de acordo com Cataldo *et al.* (1975), uma alíquota do extrato (0,2 mL) reagiu com 0,8 mL de solução de ácido salicílico 5% em ácido sulfúrico. Depois de vinte minutos, foi adicionado 19 mL de hidróxido de sódio 2N. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (absorbância 410 nm). As amostras foram analisadas em duplicata para cada indivíduo coletado.

3.7. Determinação da razão isotópica do N estável, da razão C/N e nitrogênio total foliar

Outra parte dos ramos coletados foi separado para secagem em estufa a 50° C, depois de secas as amostras foram moídas e analisadas através de analisador elementar (Carlo Erba, EA 1110, CHNS, CE Instruments) e espectrometria de massas para razões isotópicas (Delta Plus, ThermoQuest-Finnigan) do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA/ESALQ/USP. O resultado de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) foi expresso em relação ao nitrogênio atmosférico.

3.8. Análise de fluído do xilema

Durante o período da manhã, a seiva do xilema era coletada de galhos previamente desfolhados, com auxílio de uma bomba de vácuo manual. O fluido coletado era mantido resfriado e foi posteriormente congelado. A determinação do conteúdo de nitrato foi realizada segundo Cataldo *et. al.* (1975).

O conteúdo de aminoácidos e amônio transportados na seiva do xilema foi analisado usando a Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência – UPLC (Waters Acquity UPLC® system - Waters, Milford, MA, USA - com detector de UV). As amostras de seiva foram descongeladas e centrifugada por 5 minutos a 13 rpm. A derivatização foi realizada seguindo o protocolo do kit AccQ-Tag de derivatização da Waters modificado. Em um vial foram adicionados 70 uL tampão borato, 40 uL de amostra e 20 uL de 6 aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC), agitados por 10 segundos em vortex e colocados em banho-maria a 55°C por 10 minutos.

A separação foi realizada com a coluna AccQ.Tag Ultra Column C18 (2,1X100 mm 1,7 um), a 60 °C com os seguintes eluentes: A- AccQ.Tag Ultra Eluent A (10% em água), B- AccQ.Tag Ultra Eluent B (100%), em fluxo de 0,7 mL/minuto. O gradiente entre os dois eluentes foi realizado por dez minutos da seguinte forma: t=0 minutos, 99,9% A e 0,1% B; t=0,54 minutos, 99,9% A e 0,1% B; t=5,74 minutos, 90,9% A e 9,1%B; t=7,74 minutos, 78,8% A e

21,2% B; t=8,05 minutos, 10% A e 90% B; t=8,64 minutos, 10% A e 90% B; t=8,73 minutos, 99,9% A e 0,1% B; t=9,50 minutos, 99,9% A e 0,1% B. E os aminoácidos foram detectados no UV em absorbância em comprimento de onda de excitação de 260 nm. Após cada injeção a coluna era lavada com 200 uL de acetonitrila 95% em água e posteriormente com 600 uL acetonitrila 5% em água.

Para a determinação da concentração de cada aminoácido, foram passados padrões com concentração de 10 a 150 pmol dos seguintes aminoácidos, além da amônia (NH₃): Ala- Alanina, Arg- Arginina, Asn- Asparagina, Asp- Aspartato, Cit- Citrulina, Cys- Cisteína, Gly- Glicina, Glu- Glutamato, Gln- Glutamina, H-Pro- Hidroxiprolina, His- Histidina, Ile- Ileucina, Leu- Leucina, Lys- Lisina, Met- Metionina, Orn- Ornitina, Phe- Fenilalanina, Pro- Prolina, Ser- Serina, Tyr- Tirosina, Thr- Treonina, Trp- Triptofano, Val- Valina. Sendo que os picos de CIT e GLU coincidiram durante as análises, o que não permite a devida identificação de que aminoácido seja entre esses dois, então esse pico será identificado como GLU+CIT. A técnica ainda será aprimorada para a separação desses picos.

3.9. Análise da disponibilidade de nitrogênio mineral *in situ*

Para a determinação da disponibilidade de nitrogênio *in situ*, 22 conjuntos de 3 sacos de nylon com 5 g de resina de troca catiônica mista (Dowex® MR-3, Sigma) foram enterrados a cinco centímetros abaixo da superfície do solo e mantidos nessas condições por cinco dias, de acordo com Aidar *et al.* (2003). Sendo que o local onde a resina era enterrada era escolhido com base na distribuição das espécies próximas e na topografia da área (Figura 3). Depois de cinco dias, os sacos eram desenterrados e o solo ao lado era coletado (volume 10 cm³ e 10 cm de profundidade) e embalado em sacos plásticos.

Depois de coletadas, as resinas foram congeladas até análise do conteúdo de nitrato e amônio do solo. Em laboratório, a resina de troca iônica foi eluída em 100 ml de KCL 2N por quatro horas sob agitação. O conteúdo de nitrato em solução foi determinado de acordo com Cataldo *et al.* (1975) e o conteúdo de amônio segundo o método colorimétrico descrito em McCullough (1967). Segundo a metodologia de McCullough (1967), uma alíquota da amostra reage com 5 mL do reagente 1 (fenol e nutroprussiato de sódio), e posteriormente são adicionados 5 mL do reagente 2 (hipoclorito de sódio 4%, hidróxido de sódio e fosfato de sódio monobásico), sendo incubado por 30 minutos a 37°C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (absorbância 625 nm). As amostras foram analisadas em duplicata para cada resina.

3.10. Ocorrência de simbiose radicular

Foram coletadas 22 amostras de solo, os pontos de coleta tentavam abranger as áreas de coletas dos indivíduos arbóreos (Figura 3). Do solo eram retiradas as raízes, sendo mantidas em frascos contendo álcool 70% até a análise da ocorrência de simbiose radicular.

As raízes foram lavadas e colocadas em solução de KOH 10% por 10 minutos à 100°C, para clarificar as raízes. Depois as raízes foram novamente aquecidas a 100° por 10 minutos em solução de peróxido de hidrogênio (10V) e hidróxido de amônio 20% na proporção 10:1. Depois as raízes foram acidificadas com ácido clorídrico 2% por 3 horas. As amostras foram então coloridas com azul de tripano 0,05% e conservadas em glicerol acidificado, segundo proposto por Phillips & Hayman (1970).

A porcentagem do comprimento de raiz colonizada por fungos micorrízicos arbusculares foi estimada pelo método da lâmina (Giovannetti & Mosse 1980). No qual 30 segmentos de 1 cm foram avaliados sob microscópio óptico (200-400x), sendo o resultado expresso em porcentagem

de raiz colonizada. Foram observadas estruturas simbióticas com hifas intra e extra radiculares, vesículas e arbúsculos. Esta parte do trabalho foi realizada no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UNICAMP, com colaboração da Dra. Sara Adrián López de Andrade.

3.11. Forma de análise dos resultados

Para a análise de resultados, as espécies foram agrupadas por estratégias de regeneração e foram feitas comparações entre grupos para uma mesma data de coleta e análises para um mesmo grupo em diferentes datas de coletas.

Inicialmente foram verificadas a homogeneidade de variância e a normalidade dos dados, realizando-se respectivamente o teste de Levene e o teste de Shapiro-Wilk. E com bases nesses resultados foram definidos os tipos de testes a serem realizados.

Nas comparações entre grupos para uma mesma data de coleta, observou-se ausência de homogeneidade de variâncias. Para essas análises foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis, o qual é uma alternativa a Anova um fator, e posterior teste de comparações múltiplas de Dunn ($\alpha=0,05$).

Para análises de um mesmo grupo entre estações foi realizado o teste t para amostras pareadas, quando os dados foram normais ou teste de Wilcoxon para amostras pareadas, para dados não paramétricos.

Para análises de micorriza e nitrogênio *in situ* foi realizado o teste t para amostras pareadas, quando os dados foram normais ou teste de Wilcoxon para amostras pareadas, para dados não paramétricos.

As análises foram realizadas com o software R (R Development Core Team 2011).

4. Resultados e discussão

4.1. Resultados gerais

Todos os resultados obtidos nas análises descritas na metodologia, exceto colonização por micorriza e nitrogênio *in situ*, estão representados na tabela 1 e 2. Os dados são apresentados por espécies indicando a estratégia de regeneração (pioneira, secundária inicial e secundária tardia) obtida pela bibliografia consultada anteriormente e quando não foi encontrada uma classificação as espécies foram indicadas como não categorizadas (Nc).

Nos tópico 4.3. os dados serão discutidos com bases nos grupos ecológicos e no tópico 4.4. a abordagem será realizada por espécies e por famílias quando esta apresentar mais de uma espécie. A colonização por micorriza arbuscular será discutida no item 4.5. e o nitrogênio *in situ* no item 4.2.

Tabela 2. Média e desvio padrão da atividade da nitrato redutase (ANR), conteúdo de nitrato foliar ($\text{NO}_3^- \text{F}$), abundância natural de nitrogênio foliar ($\delta^{15}\text{N}$), nitrogênio total foliar (Ntt) e relação carbono: nitrogênio (C:N) das espécies arbóreas utilizadas no estudo por estação. Estratégia de regeneração (Rs): pioneira(P), secundária inicial (Si), secundária tardia (St) e não categorizadas (Nc). Abreviatura do nome da espécie (Abrev.).

Rs	Família	Espécie	Estação	ANR $\mu\text{Kat.gPF}^{-1}$	$\text{NO}_3^- \text{F}$ $\mu\text{mol.g PF}^{-1}$	$\delta^{15}\text{N}$ %	Ntt %	C:N -
P	Urticaceae	<i>C. ulei</i>	verão	564,6±75,9	71,9±10,6	2,9±0,3	3,6±0,3	12,8±1,3
			inverno	368,5±213,8	65,7±2,1	3,2±0,6	3,2±0,4	14,4±1,7
P	Urticaceae	<i>P. guianensis</i>	verão	310,4±160,1	54,8±16,3	3,0±0,4	2,8±0,2	16,0±1,6
			inverno	239,5±77,6	52,2±6,2	2,8±0,4	2,5±0,1	17,6±1,0
Si	Euphorbiaceae	<i>A. verticillatus</i>	verão	42,1±12,6	52,8±5,3	2,5±1,2	2,2±0,0	18,5±1,3
			inverno	10,8±7,0	49,7±7,8	3,1±0,9	2,4±0,2	16,7±1,3
Si	Euphorbiaceae	<i>A. glandulosa</i>	verão	53,6±17,4	101,7±38,9	-0,4±1,4	2,8±0,0	16,6±0,4
			inverno	23,8±5,0	124,5±8,7	-0,9±1,1	2,2±0,0	20,4±0,9
Si	Euphorbiaceae	<i>A. triplinervia</i>	verão	133,5±113,6	95,9±46,5	1,0±2,3	3,0±0,0	15,8±2,1
			inverno	64,5±45,1	98,2±25,5	0,2±1,7	2,7±0,6	17,5±0,6
Si	Euphorbiaceae	<i>M. piriri</i>	verão	164,9±92,9	76,4±9,3	1,8±1,9	2,7±0,4	18,7±3,5
			inverno	17,0±16,2	46,2±6,5	1,7±2,4	2,7±0,0	17,5±1,4
Si	Fabaceae	<i>H. janeirensis</i>	verão	33,2±8,5	46,1±24,1	-0,2±0,2	3,6±0,2	13,7±1,0
			inverno	8,2±4,7	33,2±18,2	-0,7±0,3	4,0±0,9	12,3±3,2
Si	Fabaceae	<i>I. capitata</i>	verão	25,1±17,7	49,8±15,7	2,5±1,4	3,4±0,1	13,6±0,0
			inverno	8,7±0,6	50,2±9,1	2,1±0,7	3,3±0,2	14,0±0,9
Si	Fabaceae	<i>I. striata</i>	verão	101,0±36,6	58,7±8,3	4,7±0,5	4,2±0,1	12,0±0,7
			inverno	99,8±89,6	63,0±2,7	4,6±1,0	4,0±0,2	11,4±0,7
Si	Myrtaceae	<i>C. guaviroba</i>	verão	9,5±2,6	62,8±2,9	1,8±0,5	2,9±0,3	15,7±1,8
			inverno	13,9±4,5	53,3±15,5	2,8±0,5	2,6±0,1	17,4±0,7
Si	Myrtaceae	<i>E. oblongata</i>	verão	24,3±17,3	75,5±26,9	2,5±2,1	1,6±0,3	30,8±7,5
			inverno	25,5±27,5	45,1±15,6	2,9±1,9	1,5±0,2	30,2±5,3
Si	Myrtaceae	<i>M. guianensis</i>	verão	114,3±69,2	46,9±50,8	0,2±1,9	1,7±0,6	29,7±15,4
			inverno	141,6±119,6	22,2±12,4	1,2±1,4	1,9±0,6	26,4±13,3
Si	Phyllanthaceae	<i>H. alchorneoides</i>	verão	102,5±41,0	78,2±35,3	1,6±1,9	2,3±0,3	20,6±3,6
			inverno	19,0±8,3	63,8±32,1	1,4±2,4	2,4±0,6	20,6±6,6

Tabela 2. (Continuação)

Rs	Família	Espécie	Estação	ANR pKat.gPF-1	NO-3 F µmol.g PF-1	δ15N %	Ntt %	C:N -
Si	Sapindaceae	<i>C. vernalis</i>	verão	104,9±115,6	97,2±13,5	1,0±0,2	1,6±0,1	31,1±2,8
			inverno	13,3±0,2	42,7±4,9	0,6±0,4	1,5±0,0	33,0±1,7
Si	Sapindaceae	<i>M. guianensis</i>	verão	343,4±235,8	38,7±11,0	2,2±1,3	2,6±0,2	19,0±1,8
			inverno	64,0±13,8	32,6±5,3	2,0±1,6	2,9±0,4	16,1±1,8
St	Arecaceae	<i>E. edulis</i>	verão	43,7±8,7	93,2±12,9	0,0±1,3	2,1±0,2	22,2±3,0
			inverno	33,4±9,3	57,2±6,4	-0,7±0,6	2,6±0,3	17,5±1,9
St	Fabaceae	<i>C. langsdorffii</i>	verão	57,4±37,7	57,5±24,9	1,2±1,3	2,7±0,1	19,3±2,0
			inverno	10,0±4,0	63,9±3,8	1,8±0,8	2,1±0,1	23,8±1,6
St	Fabaceae	<i>C. trapesifolia</i>	verão	25,5	98,2	2,2	2,5	19,6
			inverno	12,4	12,4	1,8	3,0	16,5
St	Fabaceae	<i>H. courbaril</i>	verão	70,1	43,7	2,1	2,3	21,5
			inverno	52,4	52,4	1,8	2,1	23,6
St	Lauraceae	<i>C. mandioccana</i>	verão	23,4±13,8	44,2±5,6	1,6±0,6	2,4±0,0	18,5±0,6
			inverno	15,6±7,7	51,7±2,9	1,9±0,3	2,3±0,1	19,9±1,5
St	Lauraceae	<i>L. armeniaca</i>	verão	47,7±8,1	36,7±0,8	3,3±0,4	3,7±0,2	13,0±1,3
			inverno	12,8±10,2	38,9±4,7	3,2±0,4	4,3±0,1	11,1±0,3
St	Lauraceae	<i>O. dispersa</i>	verão	31,7±34,2	43,4±17,5	2,7±0,9	2,6±0,3	18,1±2,2
			inverno	11,4±2,7	22,4±3,4	2,3±1,7	2,6±0,6	18,9±3,9
St	Lauraceae	<i>O. elegans</i>	verão	8,0±10,1	57,4±11,9	0,8±0,4	2,4±0,6	21,5±7,8
			inverno	4,2±2,4	44,3±6,2	0,4±0,5	2,2±0,5	23,2±7,4
St	Lecythidaceae	<i>C. legalis</i>	verão	29,4	105,7	2,8	2,0	23,3
			inverno	8,8±8,5	42,3±6,3	2,0±1,3	2,3±0,3	20,9±3,6
St	Myrtaceae	<i>E. cuprea</i>	verão	49,2±21,2	50,3±12,8	0,6±0,8	2,0±0,1	24,0±1,6
			inverno	25,6±13,0	50,9±11,5	0,6±0,7	1,7±0,2	26,7±2,7
St	Myrtaceae	<i>G. spectabilis</i>	verão	64,0±16,0	38,0±7,7	1,5±0,0	2,0±0,2	23,2±2,9
			inverno	24,1±10,5	29,7±3,2	2,0±0,2	1,7±0,0	25,1±1,3
St	Myrtaceae	<i>M. mircioides</i>	Verão	59,6±80,1	65,5±56,3	0,8±1,2	1,7±0,1	28,8±2,2
			inverno	10,4±8,8	49,3±31,9	0,6±1,7	1,8±0,2	25,7±4,2
St	Proteaceae	<i>R. brasiliensis</i>	verão	42,9±34,4	54,4±2,7	3,8±0,9	1,3±0,1	38,0±3,4
			inverno	24,3±28,8	53,4±6,6	3,6±1,4	1,2±0,1	39,6±5,7
St	Sapotaceae	<i>C. viride</i>	verão	18,3±9,9	89,4±23,6	1,3±0,3	2,4±0,2	20,8±1,8
			inverno	11,5±6,8	50,6±18,0	1,3±0,4	2,4±0,2	20,3±3,1
St	Sapotaceae	<i>E. ramiflora</i>	verão	92,8±62,8	100,5±8,8	2,5±0,7	1,9±0,1	25,7±3,0
			inverno	57,1±25,2	45,5±8,0	2,2±0,5	1,7±0,2	28,3±5,0

Tabela 2. (Continuação)

Rs	Família	Espécie	Estação	ANR ρKat.gPF-1	NO-3 F μmol.g PF-1	δ15N %	Ntt %	C:N -
Nc	Fabaceae	<i>A. pedicellaris</i>	Verão	23,5±31,9	138,1±15,7	3,5±3,6	2,5±0,2	19,5±1,6
			inverno	10,9±4,9	104,8±16,5	2,9±2,9	2,7±0,3	18,0±3,0
Nc	Fabaceae	<i>P. warmingii</i>	Verão	295,5	69,2	4,5	3,4	13,7±4,5
			inverno	21,8	21,8	4,1	3,3	14,3±4,1
Nc	Fabaceae	<i>T. multijuga</i>	Verão	64,2±62,0	64,2±33,8	0,8±0,2	3,6±1,2	14,4±3,9
			inverno	24,7±34,9	67,5±38,7	1,4±1,3	2,8±0,5	17,0±2,9
Nc	Fabaceae	<i>Z. latifolia</i> var.	Verão	40,5±10,9	63,9±5,0	2,8±1,6	3,4±0,2	14,3±0,2
		<i>glabrata</i>	inverno	16,1±12,5	67,6±7,3	2,0±0,5	3,8±0,5	12,7±1,1
Nc	Lauraceae	<i>Ocotea sp.</i>	Verão	19,4	41,6	1,8	2,5	18,4
			inverno	7,7	7,7	2,6	3,4	13,5
Nc	Melastomataceae	<i>M. dodecandra</i>	Verão	2,2±0,6	16,9±2,5	1,6±0,1	2,2±0,1	20,4±1,3
			inverno	14,8±14,3	14,3±2,4	2,0±0,5	2,1±0,1	20,9±0,8

Tabela 3. Média e desvio padrão do conteúdo de nitrato ($\text{NO}_3^- \text{ S}$) na seiva do xilema das espécies arbóreas utilizadas no estudo por estação e composição de aminoácidos presentes na seiva do xilema (Asn, Gln, Arg, Asp, Glu e outros) por espécies. Estratégia de regeneração (Rs): pioneira(P), secundária inicial (Si), secundária tardia (St) e não categorizadas (Nc). Abreviatura do nome da espécie (Abrev.).

Rs	Família	Espécie	Estação	$\text{NO}_3^- \text{ S}$ $\mu\text{mol.mL}$	Aminoácidos presentes na seiva do xilema (% de N)					
					Asn	Gln	Arg	Asp	Glu	Outros
P	Urticaceae	<i>C. ulei</i>	verão	2,2±0,9	18,1	4,1	7,7	10,1	31,6	28,4
			inverno	4,2±3,1	39,7	6,1	14,8	11,6	15,8	12,0
P	Urticaceae	<i>P. guianensis</i>	verão	0,1±0,0	83,3	2,4	0	2,4	0,4	11,5
			inverno	1,1±1,0	83,7	1,9	4,5	1,4	4,6	3,9
Si	Euphorbiaceae	<i>A. verticillatus</i>	verão	0,5±0,0	48,9	10,5	0	3,2	24,2	13,2
			inverno	0,7±0,2	37,8	4,5	10,1	5,1	13,9	28,6
Si	Euphorbiaceae	<i>A. glandulosa</i>	verão	0,0±0	8,6	49,2	14,6	2,0	2,8	22,8
			inverno	0,5±0,4	40,8	26,1	0	6,7	4,4	22,0
Si	Euphorbiaceae	<i>A. triplinervia</i>	verão	0,0±0	11,0	50,5	13,5	1,7	1,1	22,2
			inverno	0,6±0,4	17,0	52,8	18,4	1,4	1,2	9,2
Si	Euphorbiaceae	<i>M. piriri</i>	verão	0,2±0,0	9,9	49,9	15,6	0,0	2,4	22,2
			inverno	0,1±0,0	11,7	37,0	13,0	3,4	6,8	28,1
Si	Fabaceae	<i>H. janeirense</i>	verão	1,1±0	51,1	10,5	0	7,2	11,7	19,5
			inverno	1,1±1,6	44,3	11,3	22,1	2,0	1,8	18,5
Si	Fabaceae	<i>I. capitata</i>	verão	2,1±1,4	36,1	7,4	15,5	24,1	10,3	6,6
			inverno	0,4±0,4	63,1	1,6	8,7	10,2	7,9	8,5
Si	Fabaceae	<i>I. striata</i>	verão	1,7±0,7	43,3	6,6	18,6	15,9	8,6	7,0
			inverno	0,2±0,1	35,7	5,6	7,8	11,2	5,3	34,4
Si	Myrtaceae	<i>C. guaviroba</i>	verão	1,4±0,3	0	20,8	0	7,4	27,2	44,6
			inverno	0,4±0,0	7,92	37,4	5,7	7,0	24,8	17,2
Si	Myrtaceae	<i>E. oblongata</i>	verão	1,4±0,2	11,8	25,7	28,7	3,6	26,9	3,3
			inverno	0,5±0,1	16,5	19,8	8,1	1,8	29,3	24,5
Si	Myrtaceae	<i>M. guianensis</i>	verão	4,0±2,8	7,8	51,8	9,8	0,2	24,4	6,0
			inverno	0,9±0,5	8,2	43,7	5,6	5,3	27,6	9,6
Si	Phyllanthaceae	<i>H. alchorneoides</i>	verão	0,0±0	5,7	30,6	34,2	1,9	11,4	16,2
			inverno	0,1±0	7,7	35,5	28,5	1,7	10,6	16,0

Tabela 3. (Continuação)

Rs	Família	Espécie	Estação	NO ₃ S μmol.mL	Aminoácidos presentes na seiva do xilema (% de N)					
					Asn	Gln	Arg	Asp	Glu	Outros
Si	Sapindaceae	<i>C. vernalis</i>	verão	1,7±0,2	0	27,0	33,3	2,9	10,4	26,4
			inverno	0,7±0,2	0	42,2	31,6	2,6	7,4	16,2
Si	Sapindaceae	<i>M. guianensis</i>	verão	1,1±0,2	46,4	32,9	0	1,9	5,5	13,3
			inverno	0,6±0,2	38,5	32,3	12,9	0,4	8,3	7,6
St	Arecaceae	<i>E. edulis</i>	verão	0,9±0,3	8,4	3,9	18,9	4,0	57,2	7,6
			inverno	1,4±0,6	12,3	5,3	9,9	1,3	62,5	8,7
St	Fabaceae	<i>C. langsdorffii</i>	verão	1,4±0,4	80,8	1,3	4,8	7,5	2,0	3,6
			inverno	0,9±0,0	52,4	4,4	7,6	23,9	0,5	11,2
St	Fabaceae	<i>C. trapesifolia</i>	verão	1,5	50,8	0	0	31,4	10,2	7,6
			inverno	1,1	48,9	4,1	0	32,7	9,2	5,1
St	Fabaceae	<i>H. courbaril</i>	verão	1,4	69,4	5,7	0	9,9	7,0	8,0
			inverno	0,2	55,8	8,7	18,9	6,4	5,4	4,8
St	Lauraceae	<i>C. mandioccana</i>	verão	1,9±0,1	20,4	6,6	9,9	9,7	10,2	43,2
			inverno	0,2±0,2	24,7	3,5	16,4	5,1	29,0	21,3
St	Lauraceae	<i>L. armeniaca</i>	verão	0,9±0,1	59,9	2,8	9,0	1,3	1,4	25,6
			inverno	0,1±0	59,6	3,6	10,7	1,9	1,9	22,3
St	Lauraceae	<i>O. dispersa</i>	verão	0,8±0,1	84,1	0	0	2,9	5,4	7,6
			inverno	1,0±0,8	68,2	0	0	11,9	12,0	7,9
St	Lauraceae	<i>O. elegans</i>	verão	0,2±0,1	77,3	0	0	1,6	2,2	18,9
			inverno	0,3±0,1	75,2	4,2	1,8	1,8	8,5	8,5
St	Lecythidaceae	<i>C. legalis</i>	verão	0,7	6,1	2,2	55,7	0,4	23,2	12,4
			inverno	0,2±0,2	9,2	50,7	8,6	0,7	21,3	9,5
St	Myrtaceae	<i>E. cuprea</i>	verão	3,9±0,9	0	18,3	45,8	6,3	20,9	8,7
			inverno	0,5±0,6	5,9	29,0	7,6	3,3	32,1	22,1
St	Myrtaceae	<i>G. spectabilis</i>	verão	4,7±4,0	6,3	2,9	49,9	2,2	31,5	7,2
			inverno	0,6±0,2	15,1	3,1	40,8	2,8	27,2	11,0
St	Myrtaceae	<i>M. mircioides</i>	Verão	5,4±3,0	7,5	52,8	4,4	7,1	19,8	8,4
			inverno	0,7±0,6	12,8	34,1	9,7	3,8	23,2	16,4
St	Proteaceae	<i>R. brasiliensis</i>	verão	0,5±0,2	2,4	3,3	62,2	6,9	4,9	20,3
			inverno	0,1±0,1	6,3	1,8	83,0	1,6	2,1	5,2
St	Sapotaceae	<i>C. viride</i>	verão	0,6±0,1	49,2	4,6	33,5	0,2	1,7	10,8
			inverno	0,1±0,1	59,3	13,1	6,4	2,1	8,5	10,6
St	Sapotaceae	<i>E. ramiflora</i>	verão	1,1±0,2	59,3	0	23,0	1,4	9,0	7,3
			inverno	0,1±0,1	60,5	7,7	7,6	0,7	12,3	11,2

Tabela 3. (Continuação)

Rs	Família	Espécie	Estação	NO ₃ ⁻ S µmol.mL	Aminoácidos presentes na seiva do xilema (% de N)					
					Asn	Gln	Arg	Asp	Glu	Outros
Nc	Fabaceae	<i>A. pedicellaris</i>	verão	1,37±0,1	37,5	5,2	13,9	30,7	7,0	5,7
			inverno	1,81±1,0	25,6	15,6	8,6	9,8	10,6	29,8
Nc	Fabaceae	<i>P. warmingii</i>	verão	1,2	30,5	12,3	20,5	5,6	4,2	26,9
			inverno	0,8	22,8	7,7	12,5	11,4	20,9	24,7
Nc	Fabaceae	<i>T. multijuga</i>	verão	3,6±2,3	51,2	39,0	0	1,9	0	7,9
			inverno	1,0±1,2	60,9	12,2	0	2,6	3,0	21,3
Nc	Fabaceae	<i>Z. latifolia</i> <i>glabrata</i>	verão	1,9±0,6	49,8	3,1	6,7	4,8	14,5	21,1
			inverno	0,4±0,2	52,9	5,4	0	10,9	16,2	14,6
Nc	Lauraceae	<i>Ocotea</i> sp.	verão	0,8						
			inverno	0,0	33,6	0	26,2	18,0	4,5	17,7
Nc	Melastomataceae	<i>M. dodecandra</i>	verão	0,2±0,1	7,0	20,7	61,5	1,0	6,6	3,2
			inverno	0,5±0,1	8,1	14,3	57,2	7,0	9,4	4,0

4.2. Nitrogênio *in situ*

Na avaliação de nitrogênio *in situ* observou-se um maior conteúdo de amônio em relação ao nitrato nas duas estações (Figura 5). Para uma mesma forma de nitrogênio inorgânica de N, o inverno demonstrou uma maior concentração no solo para amônio e uma tendência a uma maior quantidade de nitrato ($p < 0,05$).

Esses dados são diferentes do que seria esperado pelos resultados obtidos pela atividade da NR e conteúdo de nitrato foliar e na seiva, como será discutido no próximo tópico. A metodologia escolhida apresentou problemas experimentais relacionada com a ausência de chuvas durante o período de coleta no verão (Figura 4.A.). Pois para que ocorra a adsorção dos íons presentes no solo pela resina é necessária a presença de uma fase móvel. Como o solo estava seco, não houve fase móvel e a quantificação do nitrogênio *in situ* foi prejudicada, já que mesmo que os íons estivessem presentes no solo, a resina não os adsorveu ou adsorveu muito pouco.

No inverno, como houve precipitação os dados foram maiores que os obtidos no verão porque a resina conseguiu adsorver o nitrogênio do solo e os dados possivelmente foram mais próximos do real.

O maior conteúdo de amônio em relação a nitrato em solos de Mata Atlântica também foi observado por Campos (2009) e Perreira-Silva (2009). Este último relacionou o maior teor de amônio em relação ao nitrato devido a uma assimilação mais rápida de nitrato do solo pelas plantas, além das perdas por lixiviação.

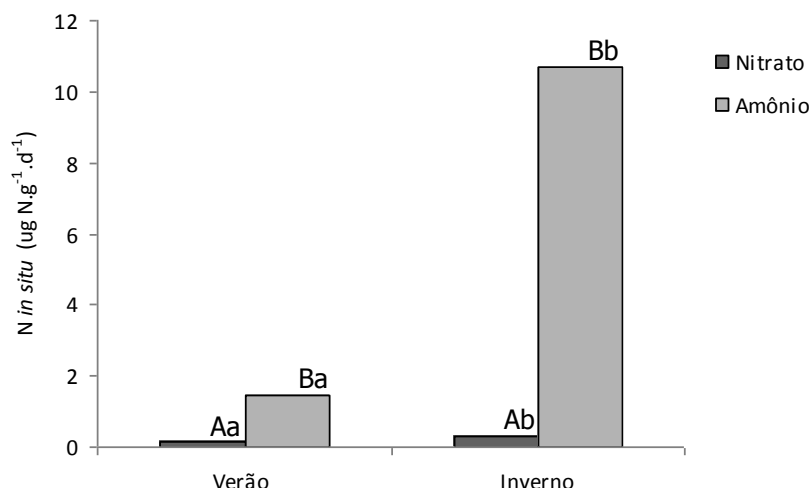


Figura 5. Nitrato e amônio *in situ* (ug N g⁻¹.d⁻¹) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre o amônio e nitrato. Letras minúsculas indicam análises entre estações.

4.3. Caracterização de uso de nitrogênio com base nos grupos sucessionais

A caracterização das estratégias de uso de nitrogênio foi realizada inicialmente somente com as espécies que já tinham uma classificação com base na bibliografia consultada. Os resultados das espécies Não Categorizadas (Tabela 1) será apresentado separadamente no próximo tópico.

O grupo de secundárias iniciais será separado entre secundárias iniciais não leguminosas (Si) e secundárias iniciais leguminosas (Si Leg) para a apresentação dos resultados, além dos grupos de pioneira (P) e secundárias tardias (St). Foi escolhida essa forma de representação porque as leguminosas secundárias iniciais apresentam comportamento característico e diferente das outras secundárias iniciais em relação ao uso de nitrogênio.

O conteúdo de nitrato foliar não apresentou diferenças significativas entre pioneiras, secundárias iniciais e secundárias tardias, sendo uma variável pouco informativa para a avaliação das estratégias de uso de nitrogênio entre os diferentes grupos, já que todos apresentam valores semelhantes.

Entre as estações, os dados apresentaram uma tendência à queda no conteúdo de nitrato foliar durante o inverno para todos os grupos, sendo que para as secundárias iniciais e secundárias tardias a diferença foi significativa (Figura 6). Essa diminuição nas tardias foi influenciada principalmente, pelas espécies *C. viride* (Sapotaceae), *E. ramiflora* (Sapotaceae), *C. legalis* (Lecythidaceae) e *C. trapesifolia* (Fabaceae), os quais tiveram uma queda para menos da metade do conteúdo presente no verão.

A diminuição de nitrato foliar entre as estações pode ter relação com a presença desse íon no solo. Reed & Hageman (1980) observaram uma relação entre aumento da disponibilidade de nitrato no solo e acúmulo de nitrato na folha de espécies de milho em experimentos em casa de vegetação. Assim, o menor conteúdo de nitrato nas folhas durante o inverno, pode ser um indicativo de que este íon esteve presente em menor quantidade no solo no período anterior a coleta, fazendo com que ele fosse acumulado nas folhas em menor quantidade.

Esses dados mostram que no geral, as espécies são responsivas a presença de nitrogênio no solo e que a disponibilidade difere entre as estações. Apesar das dificuldades com a avaliação do nitrogênio *in situ*, esses dados e comparações com informações sobre disponibilidade desse íon de outros trabalhos realizados pelo grupo em Floresta Ombrófila Densa (Aidar *et al.* 2003, Perreira-Silva 2008, Campos 2009) permitem inferir que no verão (período úmido) havia uma maior quantidade de nitrato no solo.

Perreira-Silva (2008) ainda observou que o conteúdo de nitrato e amônio no solo são regulados pelos eventos de precipitação. Com isso, a alta precipitação observada no período logo anterior à coleta de verão (Figura 4.A.) pode ter relação com a maior quantidade de nitrato foliar observada nesse período. No inverno, a precipitação ocorreu com menor intensidade, o que pode ter disponibilizado uma menor quantidade de nitrogênio inorgânico no solo. Além disso, a temperatura também é um dos fatores determinantes do nitrogênio no

solo (Attiwill & Adams 1993) e a sua queda no inverno (Figura 6) pode ser um dos fatores que influenciariam essa disponibilidade.

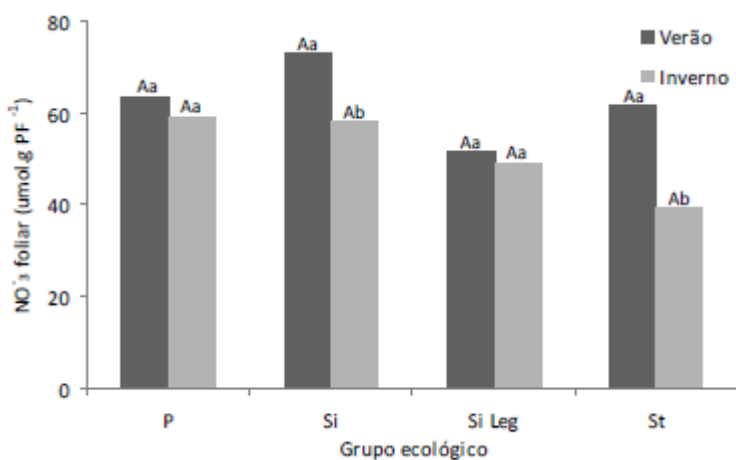


Figura 6. Conteúdo de nitrato foliar ($\mu\text{mol.g PF}^{-1}$) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.

Esses dados também são um indicativo de que todas as espécies respondam ao aumento de nitrato no solo devido a seu maior conteúdo foliar, apesar de não apresentarem uma maior assimilação do elemento sendo realizada na folha. Para essas espécies, o acúmulo desse elemento na folha poderia mais uma função osmótica do que como fonte nutricional (Smirnoff & Stewart, 1984).

Neste trabalho, não somente as espécies pioneiras se mostraram responsivas em relação ao aumento da atividade da NR ao nitrato, com também as espécies secundárias iniciais e secundárias tardias apresentaram diferenças entre as estações, sendo que as pioneiras apresentaram somente uma tendência ao aumento durante o verão (Figura 7). Esse aumento da atividade da enzima nitrato redutase relacionada ao aumento de nitrato no solo mostra relação especialmente com as resposta dadas pelas espécies pioneiras (Aidar *et al.* 2003).

Segundo Bewley (1981), atividade da enzima nitrato redutase depende do fluxo de nitrato gerado via seiva do xilema o que dependeria do nitrato disponível no solo.

Entre os grupos ecológicos, as espécies pioneiras apresentaram atividade da enzima nitrato redutase significativamente maior que os outros grupos, nas duas estações, sendo que os outros grupos não apresentaram diferenças entre eles, apenas uma tendência a uma menor atividade do grupo de secundárias tardias em relação às secundárias iniciais durante o verão (Figura 7).

Os dados apresentados corroboram a afirmação de Aida *et al.* (2003) de que as espécies pertencentes aos diferentes grupos ecológicos têm estratégias distintas de uso de nitrogênio, especialmente no uso de nitrato foliar. As espécies pioneiras apresentam alta capacidade de assimilação de nitrogênio, enquanto as espécies tardias apresentam uma menor habilidade em assimilar nitrato na folha.

A baixa capacidade de assimilação de nitrato na folha nas espécies tardias pode ter relação com o uso de amônio como fonte primária de nitrogênio e com a assimilação desse íon ou de nitrato pelas raízes (Smith & Rice 1983).

As espécies pioneiras geralmente exibem uma maior capacidade assimilatória de nitrato (Stewart *et al.* 1993). Segundo Campos (2009), isso teria relação com a distribuição dos indivíduos em áreas mais abertas e de maior luminosidade, onde a assimilação de nitrato na folha se torna vantajosa. Isso porque a maior assimilação fotossintética compensaria o custo da assimilação de nitrato, pois a ferredoxina gerada na etapa luminosa da fotossíntese e excedente seria utilizada na redução de nitrito para amônio. Kaiser & Brendle-Behnisch (1991) indicam também que a capacidade fotossintética regula a redução do nitrato através da modulação da atividade da nitrato redutase, já que a presença de carboidratos está relacionada com a ativação da enzima.

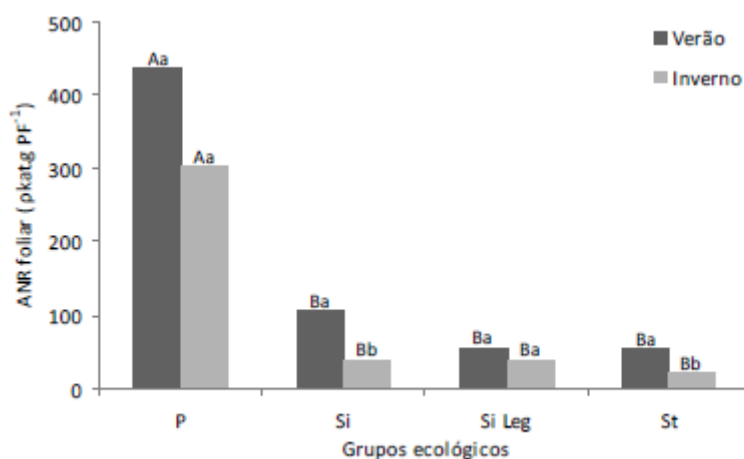


Figura 7. Atividade da enzima nitrato redutase foliar – ANR ($\mu\text{kat.g PF}^{-1}$) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.

Em relação ao conteúdo de nitrato na seiva, os grupos não apresentaram diferenças na coleta realizada no verão (Figura 8). No inverno, devido ao aumento no conteúdo de nitrato no xilema das pioneiras e à diminuição nos outros dois grupos, as espécies pioneiras foram significativamente diferentes das secundárias iniciais, leguminosas secundárias iniciais e secundárias tardias foram significativamente diferentes.

Entre as estações, as pioneiras não demonstraram diferenças significativas, somente uma tendência a uma presença de maior conteúdo no inverno do que no verão. Secundárias iniciais e secundárias tardias apresentaram diminuição do conteúdo de nitrato na seiva do xilema no inverno em relação ao verão.

Nas secundárias iniciais, a diferença entre estações foi influenciada por todas as espécies com exceção das espécies da família Euphorbiaceae (*A. verticillatus*, *A. glandulosa*, *A. triplinervia* e *M. piriri*), que já apresentaram um conteúdo de nitrato na seiva maior no inverno. Entre as secundárias tardias, a queda foi influenciada principalmente pelos indivíduos da família Myrtaceae (*E. cuprea*, *G. spectabilis* e *M. myrcioides*).

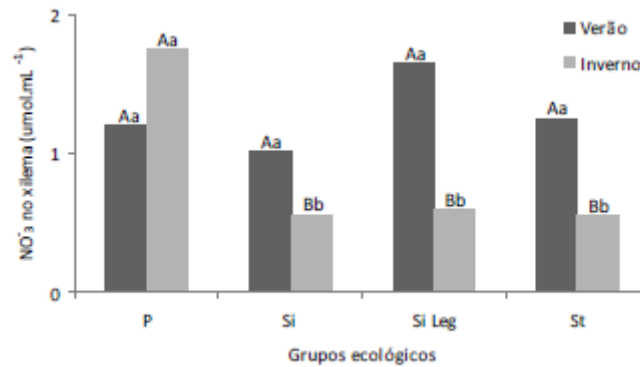


Figura 8. Conteúdo de nitrato na seiva do xilema ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.

Aidar *et al.* (2003) propôs para o modelo de uso de nitrogênio que há um gradiente de em relação ao conteúdo de nitrato transportado no xilema, sendo que as espécies pioneiras apresentavam uma maior concentração desse íon que então, diminuía até as espécies tardias, que apresentavam os menores conteúdos.

A concentração de nutrientes na seiva do xilema pode ser influenciada por diversos fatores, segundo Dambrine *et al.* (1995), a disponibilidade de nutrientes, assim como o estado fenológico e o tipo de órgão coletado influenciam essa alteração. A queda no conteúdo de nitrato observada na seiva das espécies secundárias iniciais e tardias durante o inverno é mais um indicativo da uma menor disponibilidade de nitrogênio inorgânico no solo.

Ainda mais porque no inverno seria esperada uma tendência de aumento na concentração de nutrientes no xilema, já que com a queda nas temperaturas médias, a taxa de transpiração seria menor e assim os nutrientes ficariam mais concentrados. Ao se ter um aumento na temperatura, a transpiração também aumentaria, causando a diluição da seiva, e assim, a concentração das moléculas transportadas cairia (Ferguson *et al.* 1982). Mas pelos

dados observados, a redução na concentração de nitrato na seiva teria relação com a diminuição na disponibilidade da molécula no solo.

Segundo Lawlor (2002) a eficiência de absorver nitrato nas raízes é afetada pela demanda metabólica e condições ambientais como temperatura. Por isso, o menor conteúdo de nitrato na seiva poderia ter relação também com a redução na temperatura média entre estações e com as alterações metabólicas na assimilação de carbono e nitrogênio geradas pelas mudanças na temperatura ambiente.

Na análise de nitrogênio total foliar, as secundárias tardias apresentaram diferenças significativas entre os grupos de pioneiras, leguminosas secundárias iniciais e secundárias tardias (Figura 9), sendo que nenhum grupo mostrou diferença entre as estações.

Como observado por Aidar *et al.* (2003), as espécies tardias apresentaram um menor conteúdo de nitrogênio foliar em relação aos outros dois grupos. Sendo que as leguminosas secundárias iniciais foram as espécies que apresentaram os maiores valores de nitrogênio foliar total. Tanto nas secundárias iniciais como nas secundárias tardias, as espécies com maior acúmulo de nitrogênio foliar total foram espécies de leguminosas, sendo que as leguminosas secundárias iniciais apresentaram valores médios maiores que as espécies tardias de leguminosas. Nas leguminosas secundárias tardias, os valores foram 2,49% no verão e 2,33% no inverno, semelhantes às outras espécies tardias.

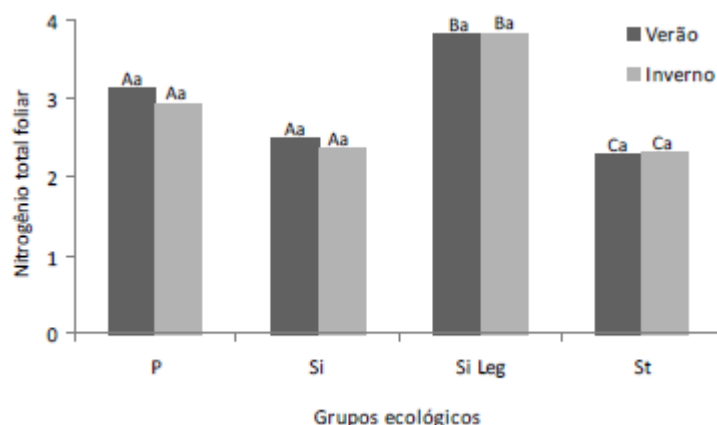


Figura 9. Nitrogênio foliar total (%) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.

O alto conteúdo total de nitrogênio foliar nas espécies pioneiras gera, conseqüentemente, a pequena razão C:N, já que o acúmulo desse elemento é maior em proporção ao total de carbono presente na folha. As leguminosas secundárias iniciais foram o grupo a apresentar os menores valores de C:N, relacionada ao elevado conteúdo de nitrogênio foliar total.

O nitrogênio parece ser o principal elemento para a determinação da razão C:N. As secundárias tardias, que apresentaram o menor conteúdo de nitrogênio foliar total, também mostraram a maior razão C:N, com diferenças significativas com os grupos de pioneira e secundárias iniciais (Figura 10).

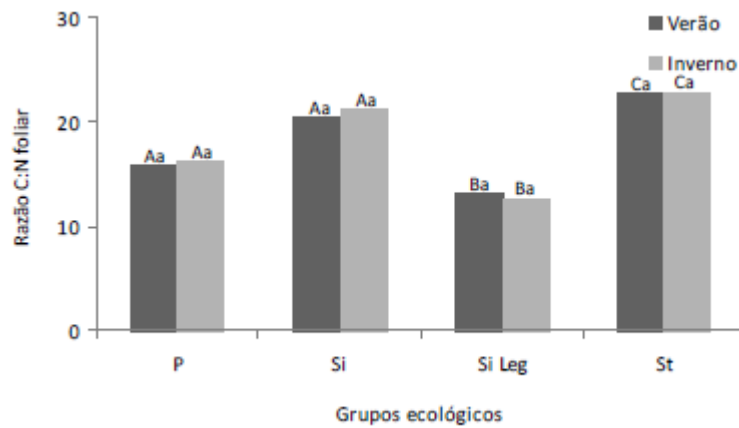


Figura 10. Razão C:N foliar por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo

Os grupos sucessionais não apresentaram diferenças significativas entre as médias para a análise de $\delta^{15}\text{N}$ (Figura 11), apesar da grande diferença entre as médias de pioneiras, secundárias iniciais e secundárias tardias, principalmente porque todos os grupos apresentaram uma alta variabilidade entre espécies (Tabela 2).

Esses valores são diferentes dos observados por Aidar *et al.* (2003), o qual encontrou valores maiores para o $\delta^{15}\text{N}$ nas espécies secundárias tardias. Apesar de a variação total descrita por ele ser semelhante a que foi observada (-0,65 até 4,30 no trabalho de Aidar *et al.* (2003) e de -0,92 a 4,70 para este trabalho), somente com uma amplitude maior.

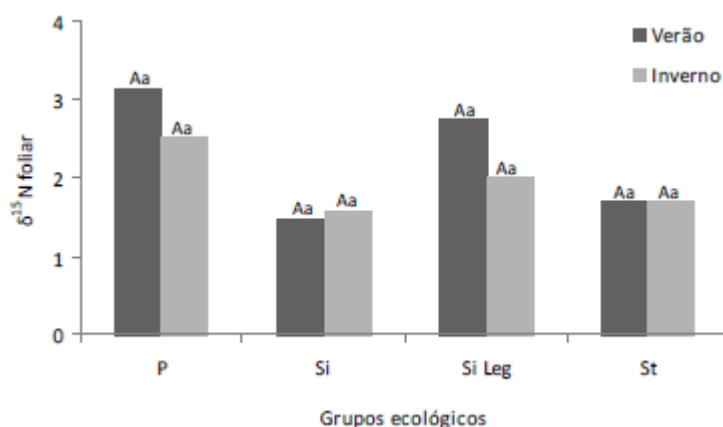


Figura 11. Abundância natural de ^{15}N (‰) por grupos ecológicos (Pioneira (P), Secundária inicial (Si), Leguminosas Secundárias Iniciais (Si Leg) e Secundária tardia (St)) no verão e inverno. Letras maiúsculas indicam análises entre grupos ecológicos. Letras minúsculas indicam análises entre estações para um mesmo grupo.

4.4. Caracterização de uso de nitrogênio nas espécies selecionadas

Os dados sobre estratégias de uso do nitrogênio serão apresentados para cada espécie, agrupadas por família e pretendem caracterizar o uso desse elemento quanto à presença e uso de nitrato na folha, forma de transporte de aminoácidos e nitrato realizada na seiva do xilema, abundância natural de $\delta^{15}\text{N}$ foliar, razão C:N foliar e N foliar total.

Para facilitar a comparação entre as diferentes espécies, as variáveis estudadas em relação ao uso de nitrogênio foram divididas em classes e definidas com bases na distribuição dos dados obtidos, as classes são apresentadas na tabela abaixo (Tabela 4). O conteúdo de aminoácidos da seiva será exposto em porcentagem em relação ao somatório de todos os aminoácidos obtidos.

Tabela 4. Classes de valores para os parâmetros analisados nas espécies arbóreas quanto ao uso de nitrato: ANR – atividade da enzima nitrato redutase foliar, NO_3^- Foliar – conteúdo de nitrato na folha, NO_3^- Seiva – conteúdo de nitrato na seiva do xilema, $\delta^{15}\text{N}$ Foliar – abundância natural do nitrogênio estável na folha (^{15}N), N_{tt} Foliar – porcentagem de nitrogênio foliar total, C:N – razão do carbono: nitrogênio presente na folha.

Variável	Unidade	Baixa	Moderada	Alta
ANR	pKat.g PF^{-1}	≤ 50	$50 < x \leq 150$	> 150
NO_3^- Foliar	$\mu\text{mol.g PF}^{-1}$	≤ 40	$40 < x \leq 80$	> 80
NO_3^- Seiva	$\mu\text{mol.mL}^{-1}$	$\leq 1,0$	$1,0 < x \leq 2,0$	$> 2,0$
$\delta^{15}\text{N}$ Foliar	‰	$\leq 1,0$	$1,0 < x \leq 3,0$	$> 3,0$
N_{tt} Foliar	%	$\leq 2,0$	$2,0 < x \leq 3,0$	$> 3,0$
C:N	-	≤ 20	$20 < x \leq 30$	> 30

Areaceae

Euterpe edulis apresentou baixa atividade da enzima nitrato redutase (NR), com pequena variação de atividade entre o inverno e verão ($43,77 \pm 8,77 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $33,46 \pm 9,32 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno). Seu conteúdo de nitrato presente na folha foi alto no verão ($98,27 \pm 12,95 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$) e moderado no inverno ($57,29 \pm 6,46 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$).

A relação C:N na folha foi moderada no verão ($22,29 \pm 3,00$) e baixa no inverno ($17,57 \pm 2,00$), com pequena variação entre os valores apesar de se apresentarem em categorias diferentes. A porcentagem de nitrogênio foliar total e apresentou valores moderados nos dois períodos ($2,17 \pm 0,29 \%$ – verão e $2,63 \pm 0,34 \%$ – inverno para %N). E o $\delta^{15}\text{N}$ mostrou valores baixos e com alto desvio ($0,05 \pm 1,3 \%$ – verão e $-0,74 \pm 0,64 \%$ – inverno).

O transporte de nitrato na seiva do xilema em comparação com as outras espécies foi considerado baixo no verão ($0,92 \pm 0,36 \mu\text{mol.mL}^{-1}$) e apresentou um aumento na coleta de inverno ($1,43 \pm 0,66 \mu\text{mol.mL}^{-1}$). O principal aminoácido transportado no xilema foi o glutamato (GLU+CIT) nos dois períodos do ano, sendo responsável por mais de 50 % do transporte (57,2% - verão e 62,5% - inverno).

Os dados de atividade da enzima nitrato redutase e conteúdo da seiva no xilema indicam que a espécie corresponde à classificação indicada pela bibliografia consultada (Schorn & Galvão 2009), isto é secundária tardia.

Segundo Perreira-Silva (2008), *E. edulis* apresenta como principais aminoácidos transportados no xilema arginina e citrulina, sugerindo que o aminoácido presente no pico GLU+CIT seja majoritariamente a citrulina.

A citrulina é considerada a forma predominante de transporte de compostos nitrogenados no xilema em muitas espécies de plantas, além de ser o precursor da ARG (Malaguti *et al.* 2001), que é considerado um importante aminoácido na remobilização de nitrogênio (Schmidt & Stewart 1998). Isso pode indicar que haja um acúmulo de arginina nos tecidos, já que a ARG é uma das principais formas usadas para armazenamento e remobilização de nitrogênio devido a sua alta relação N:C (Forde & Lea 2007, Aidar *et al.* 2003).

Para o $\delta^{15}\text{N}$, os valores apresentados foram baixos e isso pode ter relação com a forma de nitrogênio preferencialmente assimilado pela planta. Segundo Dawson (2002) o amônio é uma molécula que só não é discriminada quando limitante e os dados podem indicar que essa seja a forma preferencialmente utilizada para obtenção de nitrogênio inorgânico por essa espécie. Além disso, a depleção do $\delta^{15}\text{N}$ pode ser um indicativo da presença de associações do tipo micorriza nas raízes de *E. edulis*, já que o fungo discrimina entre os isótopos de nitrogênio, causando redução do $\delta^{15}\text{N}$ (Craine *et al.* 2009) e a espécie forma essa tipo de associações (Moreira *et al.* 2011).

Euphorbiaceae

Actinostemon verticillatus mostrou a atividade da NR baixa nos dois períodos de coleta, mas no inverno ($10,86 \pm 7,00$ pKat.g PF⁻¹ – inverno) foi menor comparada ao verão ($42,10 \pm 12,62$ pKat.g PF⁻¹ – verão). O conteúdo de nitrato foliar foi moderado e semelhante nos dois períodos do ano ($52,85 \pm 5,37$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $49,74 \pm 7,80$ µmol.g PF⁻¹ – inverno). A espécie apresentou um conteúdo baixo de nitrato na seiva ($0,50 \pm 0,01$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,73 \pm 0,23$ µmol.mL⁻¹ – inverno). Entre os aminoácidos transportados o principal foi a ASN (48,9% - verão e 37,8% - inverno), seguido do GLU (24,2% - verão e 13,9% - inverno).

O $\delta^{15}\text{N}$ foliar foi moderado no verão e alto no inverno ($2,51 \pm 1,25$ ‰ – verão $3,18 \pm 0,90$ ‰ – inverno). Já a porcentagem de nitrogênio foliar foi moderada nos dois períodos ($2,26 \pm 0,03$ ‰ – verão e $2,43 \pm 0,21$ ‰ – inverno) e a relação C:N foi considerada baixa ($18,57 \pm 1,38$ – verão e $16,71 \pm 1,33$ – inverno).

Alchornea glandulosa teve moderada atividade da NR e também apresentou uma tendência à redução da sua atividade na coleta de inverno ($53,64 \pm 17,49$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $23,83 \pm 5,09$ pKat.g PF⁻¹ – inverno). O conteúdo de nitrato na folha foi alto nos dois períodos ($101,72 \pm 38,95$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $124,58 \pm 25,50$ µmol.g PF⁻¹ – inverno) e na seiva o seu conteúdo foi pequeno ($0,24 \pm 0,05$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,53 \pm 0,44$ µmol.mL⁻¹ – inverno), com alta variabilidade entre indivíduos no inverno. ASN e GLN foram os principais aminoácidos transportados na seiva do xilema. A GLN (8,6% - verão e 40,8% inverno) esteve presente em metade dos aminoácidos no verão e a ASN se torna mais representativo no inverno (9 ‰ - verão e 35 ‰ inverno).

O $\delta^{15}\text{N}$ foliar para *A. glandulosa* foi baixo nas duas coletas ($-0,49 \pm 0,42$ ‰ – verão e $-0,92 \pm 1,11$ ‰ – inverno). A relação C:N apresentou-se baixa no verão e moderado no

inverno ($18,57 \pm 0,92$ – verão e $16,71 \pm 0,42$ – inverno) e a porcentagem de nitrogênio foliar manteve-se moderada ($2,84 \pm 0,06$ % – verão e $2,25 \pm 0,09$ % – inverno).

Alchornea triplinervia apresenta moderada atividade da enzima NR durante os dois períodos e semelhante às outras espécies sua atividade cai no inverno ($133,52 \pm 113,60$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $64,51 \pm 45,14$ pKat.g PF⁻¹ - inverno), tem alta variabilidade entre indivíduos. Já o conteúdo de nitrato foliar não apresenta diferenças entre as duas coletas ($95,96 \pm 46,58$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $98,28 \pm 25,06$ μmol.g PF⁻¹ - inverno), mas o conteúdo na seiva aumenta durante o inverno e passa a apresentar uma grande variação entre as espécies analisadas o que pode ser observado pelo desvio ($0,07 \pm 0,02$ μmol.mL⁻¹ – verão e $0,68 \pm 0,47$ μmol.mL⁻¹ - inverno). A GLN ($50,8\%$ - verão e $52,8\%$ - inverno) apresenta-se como o principal aminoácido transportador.

A relação C:N mostrou-se baixa ($15,84 \pm 2,11$ – verão e $17,54 \pm 4,31$ – inverno), enquanto a porcentagem de nitrogênio foliar apresentou-se elevada no verão e moderada no inverno ($3,01 \pm 0,38$ % – verão e $2,77 \pm 0,61$ % – inverno) e o $\delta^{15}\text{N}$ foliar foi baixo e com alta variação entre indivíduos ($1,63 \pm 2,32$ ‰ – verão e $1,45 \pm 1,74$ ‰ – inverno).

Mabea piriri é a última espécie analisada dessa família e apresentou atividade da NR moderada durante o verão e baixa atividade durante o inverno ($164,94 \pm 92,95$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $17,04 \pm 16,26$ pKat.g PF⁻¹ - inverno), sendo que apresentou uma grande variabilidade entre indivíduos nas duas coletas. A espécie apresentou um moderado conteúdo de nitrato foliar ($76,47 \pm 9,38$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $46,29 \pm 6,52$ μmol.g PF⁻¹ - inverno) e baixo na seiva ($0,24 \pm 0,06$ μmol.mL⁻¹ – verão e $0,68 \pm 0,06$ μmol.mL⁻¹ - inverno), sendo menor o conteúdo no verão. Assim como em *A. triplinervia*, GLN ($49,9\%$ - verão e $37,0\%$ - inverno) foi o principal aminoácido transportado na seiva nos dois períodos.

A relação C:N foi baixa nas duas coletas ($18,76 \pm 3,56$ – verão e $17,54 \pm 1,49$ – inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar e a porcentagem de nitrogênio total foliar foram moderados ($1,84 \pm$

3,13 ‰ – verão e $1,72 \pm 2,69$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $2,70 \pm 0,40$ ‰ – verão e $2,79 \pm 0,09$ ‰ – inverno para ‰N), com alta variabilidade entre indivíduos para o primeiro.

Entre essas espécies uma característica presente em todas foi o pequeno conteúdo de nitrato na seiva do xilema no verão, com pequeno aumento no inverno. Campos (2009) trabalhou com *A. triplinervia* e também observou o pequeno conteúdo de nitrato na seiva e Perreira-Silva (2008), ao estudar o uso de nitrogênio em outras espécies da família Euphorbiaceae, além de *A. glandulosa*, também apresentou valores reduzidos no conteúdo de nitrato na seiva.

A alta atividade da NR e o baixo conteúdo de nitrato na seiva pode ser um indicativo que as espécies tenham esse comportamento apresentem um maior fluxo transpiratório o que traria uma maior quantidade de nitrato total. Sendo o fluxo de nitrato no xilema parece determinar a atividade da enzima (Bewley 1981), as espécies com maior fluxo mostrariam uma maior atividade.

O alto fluxo poderia ter relação com a maior atividade transpiratória nas plantas, as espécies que apresentaram a maior atividade nesta família têm uma característica em comum, pertencem ao dossel devido o seu alto porte e por receberem uma maior intensidade de radiação solar, as chances de perda de água por transpiração são maiores e por isso teriam um fluxo maior. Além disso, Rosado (2011) cita que indivíduos maiores apresentam um maior volume de água transportado na seiva do xilema.

Outra característica comum às espécies de Euphorbiaceae estudadas, com exceção de *A. verticillatus*, é a presença de GLN e ASN como os principais aminoácidos responsáveis pelo transporte na seiva do xilema.

A GLN esta relacionada com o transporte de longa distância é a principal forma de transporte realizada por espécies secundárias tardias. A sua presença pode indicar que parte do nitrogênio é assimilado pelas raízes e por ser o primeiro aminoácido formado nesse processo o seu transporte mais fácil e rápido.

A ASN é uma das principais formas de armazenamento e transporte de nitrogênio, por ter uma alta relação N:C (2:4), levando o nitrogênio assimilado nas raízes para ser utilizado nas folhas (Lea *et al.* 2006). Além disso, é um composto suficientemente estável para ser armazenado por muito tempo (Taiz & Zeiger 2009).

Os dados obtidos corroboram o modelo de uso de nitrogênio proposto para espécies secundárias iniciais por Aidar *et al.* (2003), grupo no qual todas as espécies foram inicialmente classificadas (Schorn & Galvão 2009 e Santos *et al.* 2006). Características como GLN sendo um dos principais transportadores de nitrogênio na seiva e atividade de NR em níveis moderados são os principais esses indicativos, sendo que essas espécies seriam o grupo de secundárias iniciais mais parecidos com as secundárias tardias (Aidar *et al.* 2003).

Somente *A. verticillatus* apresentou algumas diferenças no transporte na seiva, também se encaixando na previsão de que grupo de secundárias iniciais é menos homogêneo e configuram um continuum de características que interligam os dois extremos. A presença de grande quantidade de ASN transportada pode ter relação com a ocorrência da espécie no sub-bosque da floresta onde ela receberia uma menor intensidade luminosa e com isso, teria uma menor produção de carbono o que influenciaria a formação de compostos ricos em nitrogênio, já que segundo Taiz & Zeiger (2009) a enzima asparagina sintetase seria estimulada em condições limitadas de energia.

Fabaceae

Das dez espécies estudadas na família, três apresentavam somente um indivíduo nas parcelas demarcadas (*Copaifera trapezifolia*, *Hymenaea courbaril* e *Pseudopiptadenia warmingii*) e três apresentavam dois indivíduos (*Albizia pedicellaris*, *Copaifera langsdorffii* e *Tachigali multijuga*).

Entre as dez espécies 3 foram classificadas como secundárias iniciais (*Hymenolobium janeirense*, *Inga capitata* e *Inga striata*), três como secundárias tardias (*Copaifera*

langsdorffii, *Copaifera trapezifolia* e *Hymenaea courbaril*) e quatro como não caracterizadas (*Albizia pedicellaris*, *Pseudopiptadenia warmingii*, *Tachigali multijuga* e *Zygia latifolia* var. *glabrata*).

Hymenolobium janeirense teve uma baixa atividade da NR nas duas estações ($33,21 \pm 8,50$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $8,21 \pm 4,78$ pKat.g PF⁻¹ - inverno), com um baixo conteúdo de nitrato foliar ($46,15 \pm 24,13$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $33,27 \pm 18,28$ µmol.g PF⁻¹ - inverno). No verão, os indivíduos apresentaram uma grande variabilidade no conteúdo de nitrato e nas duas estações apresentaram um conteúdo moderado ($1,11 \pm 0$ µmol.mL⁻¹ – verão e $1,10 \pm 1,69$ µmol.mL⁻¹ - inverno). Como nas outras espécies, a ASN foi o principal aminoácido (51,1% - verão e 44,3% - inverno) e no inverno a arginina (ARG) se mostrou um dos principais aminoácidos transportados (22,1%).

O δ¹⁵N apresentou um dos valores mais baixos entre as espécies analisadas, sendo o menor entre as leguminosas ($-0,21 \pm 0,28$ ‰ – verão e $-0,76 \pm 0,30$ ‰ – inverno). A razão C:N também foi baixa ($13,79 \pm 1,08$ – verão e $12,34 \pm 3,27$ – inverno) . A porcentagem de nitrogênio total foliar foi alta nas duas estações ($3,69 \pm 0,28$ % – verão e $4,08 \pm 0,96$ % – inverno).

Inga capitata apresentou reduzido valor da atividade da nitrato redutase ($25,19 \pm 17,77$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $8,70 \pm 0,66$ pKat.g PF⁻¹ - inverno) e não teve variações entre o conteúdo de nitrato foliar nas duas estações ($49,88$ a $15,71 \pm 15,71$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $50,28 \pm 9,17$ µmol.g PF⁻¹ - inverno). Nas duas coletas, o conteúdo de nitrato na seiva apresentou uma grande variabilidade entre os indivíduos coletados ($2,15 \pm 1,49$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,43 \pm 0,44$ µmol.mL⁻¹ - inverno), mas mesmo assim é possível ver que o conteúdo diminuiu entre as estações. ASN e ASP foram os principais aminoácidos transportados (36,1% - verão e 63,2% - inverno de ASN e 24,1% - verão e 10,2% - inverno ASP)

A porcentagem de nitrogênio total foliar foi alta nas duas estações ($3,45 \pm 0,12$ % – verão e $3,34 \pm 0,26$ % – inverno) e essa taxa parece ter relação com a baixa relação C:N

($13,69 \pm 0,09$ – verão e $14,06 \pm 0,97$ – inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foi moderado nos dois períodos ($2,50 \pm 1,49$ ‰ – verão e $2,15 \pm 0,77$ ‰ – inverno).

Inga striata diferentemente de *I. capitata* apresentou atividade da enzima NR moderada e durante o inverno demonstrou uma maior variabilidade entre os indivíduos ($101,05 \pm 36,64$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $99,88 \pm 89,62$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). O conteúdo de nitrato na folha foi moderado e sem diferenças entre as estações ($58,76 \pm 8,36$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $63,05 \pm 2,71$ μmol.g PF⁻¹ - inverno) e o conteúdo na seiva caiu no inverno comparado com a quantidade presente no verão ($1,71 \pm 0,77$ μmol.mL⁻¹ – verão e $0,24 \pm 0,15$ μmol.mL⁻¹ - inverno). Na seiva, o conteúdo de aminoácidos foi composto majoritariamente por ASN e ASP (43,3% - verão e 35,7% inverno para ASN e 15,9% - verão e 11,2% inverno para ASP).

O $\delta^{15}\text{N}$ e a porcentagem de nitrogênio total foliar foram elevados e com pequenas variações entre estações ($4,70 \pm 0,57$ ‰ – verão e $4,60 \pm 1,09$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $4,21 \pm 0,19$ ‰ – verão e $4,06 \pm 0,29$ ‰ – inverno para ‰N). E o C:N mostrou uma baixa relação ($12,06 \pm 0,77$ – verão e $11,41 \pm 0,79$ – inverno).

Copaifera langsdorffii apresentou moderada atividade da NR no verão e no inverno ela foi reduzida ($57,53 \pm 37,71$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $10,09 \pm 4,05$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). Também mostrou uma elevada variabilidade entre os dois indivíduos estudados. É semelhante o conteúdo de nitrato na folha nos dois períodos coletados ($57,52 \pm 15,78$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $63,97 \pm 16,57$ μmol.g PF⁻¹ - inverno), e o conteúdo na seiva apresenta-se moderado ($1,44 \pm 0,44$ μmol.mL⁻¹ – verão e $1,01 \pm 0,02$ μmol.mL⁻¹ - inverno). No verão, ASN foi responsável por 80,8% do transporte na forma de aminoácidos na seiva do xilema. No inverno, ele reduziu a sua participação para 52,4% e ASP aumentou a sua participação no transporte da seiva (7,5% - verão e 23,9% - inverno).

O $\delta^{15}\text{N}$ e o conteúdo de nitrogênio total foliar mostrou-se baixo nos dois períodos, com alta variabilidade entre indivíduos para o primeiro ($1,85 \pm 1,34$ ‰ – verão e $1,23 \pm 0,87$

‰ – inverno para o $\delta^{15}\text{N}$ e $2,70 \pm 0,18$ ‰ – verão e $2,10 \pm 0,13$ ‰ – inverno para %N) e a relação C:N foi baixa ($19,39 \pm 2,01$ – verão e $23,81 \pm 1,67$ – inverno).

Copaifera trapezifolia é representada somente um indivíduo, que apresentou baixa atividade da NR nas duas estações ($25,56 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $12,41 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno). A espécie apresentou grande variabilidade entre as coletas em relação ao conteúdo de nitrato na folha ($98,21 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $12,41 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – inverno) e o seu conteúdo na seiva foi moderado nos dois períodos ($1,50 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $1,10 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – inverno). O conteúdo de aminoácidos foi semelhante entre as estações, sendo ASN (50,8% - verão e 48,9% - inverno) e ASP (31,4% - verão e 32,7% - inverno) os aminoácidos majoritários no transporte desse indivíduo.

A relação C:N foi baixa ($19,61$ – verão e $16,52$ – inverno). E a porcentagem de nitrogênio total foliar e o $\delta^{15}\text{N}$ apresentaram-se moderadas ($2,58$ ‰ – verão e $3,01$ ‰ – inverno para %N e $2,22$ ‰ – verão e $1,88$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$).

Hymenaea courbaril apresenta somente um indivíduo analisado, ele mostra moderada atividade da enzima nitrato redutase nos dois períodos ($70,19 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $52,41 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno), moderado conteúdo de nitrato na folha ($43,78 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $52,41 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – inverno). A única alteração entre as estações é a quantidade de nitrato da seiva, que diminuiu no inverno ($1,49 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $0,22 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – inverno). ASN também é o principal aminoácido presente na seiva do xilema (69,4% - verão e 57,8% - inverno).

Para $\delta^{15}\text{N}$, porcentagem de nitrogênio foliar e relação C:N todos os valores obtidos no indivíduos foram moderados, com pequena variação entre as estações ($2,12 \pm 1,34$ ‰ – verão e $1,82$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$, $2,34$ ‰ – verão e $2,12$ ‰ – inverno para % N e $21,56$ ‰ – verão e $23,69$ ‰ – inverno para C:N).

Albizia pedicellaris mostra baixa atividade da enzima NR ($23,52 \pm 31,95 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $10,93 \pm 4,97 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno), no verão apresentou uma grande variabilidade

de respostas. Alto conteúdo de nitrato na folha ($138,18 \pm 15,78 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $104,83 \pm 16,57 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ - inverno) e transporte moderado na seiva ($1,37 \pm 0,05 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $1,81 \pm 1,47 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ - inverno), sendo que o conteúdo de nitrato no xilema durante o inverno teve uma elevada variabilidade. ASN e ASP foram os principais aminoácidos transportados, sendo que no verão ASP foi o presente em maior quantidade em relação aos outros (30,7% - verão e 9,8% - inverno para ASP e 37,5% - verão e 25,6% - inverno para ASN).

A relação C:N apresentou-se baixa ($19,55 \pm 1,65$ – verão e $18,01 \pm 3,05$ – inverno), enquanto a porcentagem de nitrogênio total foliar foi moderada ($2,57 \pm 0,21 \%$ – verão e $2,79 \pm 0,37 \%$ – inverno) e o $\delta^{15}\text{N}$ mostrou-se alto no verão ($3,55 \pm 3,64 \text{‰}$ – verão e $2,99 \pm 2,91 \text{‰}$ – inverno).

Pseudopiptadenia warmingii teve somente uma espécie analisada e apresentou uma alta atividade da NR durante o verão, com uma grande diferença de atividade as estações ($295,56 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $21,85 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ - inverno). O conteúdo de nitrato na folha e na seiva também diminuiu na estação seca ($69,29 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $21,85 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – inverno para nitrato foliar e $1,27 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $0,81 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ - inverno para nitrato no xilema). O principal aminoácido transportado foi ASN (30,4% - verão e 22,8% inverno) e metionina (MET) também se mostrou um aminoácido importante no transporte de nitrogênio na seiva por essa espécie (13% verão e 21% - inverno).

Como em *I. striata*, a relação C:N foi baixa (13,75 – verão e 14,34 – inverno) e o $\delta^{15}\text{N}$ e a porcentagem de nitrogênio total foliar foram elevadas (4,56 ‰ – verão e 4,12 ‰ – inverno para e 3,41 ‰ – verão e 3,36 ‰ – inverno para % N).

Tachigali multijuga apresentou moderada atividade da NR no verão , a qual foi reduzida no inverno ($64,26 \pm 62,06 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $24,72 \pm 34,96 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno) tendo uma elevada variabilidade entre os dois indivíduos coletados. Na folha, o conteúdo de nitrato foi moderado nas duas coletas ($64,23 \pm 33,80 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e

67,58 ± 38,74 µmol.g PF⁻¹- inverno). O conteúdo de nitrato na seiva mostrou uma elevada variabilidade (3,60 ± 2,38 µmol.mL⁻¹ - verão e 1,07 ± 1,22 µmol.mL⁻¹- inverno). ASN foi o principal aminoácido transportado no xilema (51,1% - verão e 60,9% inverno), seguido de GLN (39,0% - verão e 12,2% - inverno).

A relação C:N apresentou-se baixa nas duas estações (14,41 ± 3,94 – verão e 17,09 ± 2,92 – inverno). No verão, a porcentagem de nitrogênio total foliar foi elevada e o δ¹⁵N foi baixo (3,67 ± 1,24 ‰ e 0,81 ± 0,24 ‰). E no inverno, a taxa de nitrogênio total foliar e o δ¹⁵N foram moderados (2,82 ± 0,59 ‰ e 1,40 ± 1,33 ‰).

Zygia latifolia var. *glabrata* teve baixa atividade da NR nas duas estações (40,56 ± 10,91 pKat.g PF⁻¹ – verão e 16,11 ± 12,56 pKat.g PF⁻¹- inverno) e conteúdo de nitrato na folha foi moderado (63,99 ± 5,05 µmol.g PF⁻¹ – verão e 67,61 ± 7,30 µmol.g PF⁻¹- inverno). Na seiva, o conteúdo de nitrato foi moderado no verão e baixo no inverno (1,91 ± 0,61 µmol.mL⁻¹ - verão e 0,48 ± 0,20 µmol.mL⁻¹- inverno). Como nas outras espécies de leguminosas, o principal aminoácido foi a ASN (49,8% - verão e 52,9% - inverno), ASP e GLU apresentaram também em grande quantidade (14,5% - verão e 18% - inverno para ASP e 16,2% - verão e 14,5% - inverno para GLU).

O δ¹⁵N foliar foi moderado nas duas coletas, com grande variabilidade entre indivíduos (2,84 ± 1,60 ‰ – verão e 2,08 ± 0,55 ‰ – inverno). A porcentagem de nitrogênio foliar total foi alta (3,46 ± 0,21 ‰ – verão e 3,84 ± 0,44 ‰ – inverno), enquanto a relação C:N apresentou-se baixa (14,31 ± 0,20 – verão e 12,79 ± 1,17 – inverno).

Na família, as espécies apresentaram uma elevada amplitude de resultados para atividade da enzima nitrato redutase, o que indica que essas espécies têm diferentes estratégias para a obtenção de nitrogênio. Espécies como *I. striata*, com alta atividade da enzima, indicam a assimilação sendo realizada principalmente na folha, enquanto espécies com valores reduzidos da enzima indicam outro tipo de obtenção de nitrogênio, seja pelo uso do amônio ou por associação com bactérias que realizam a fixação biológica de nitrogênio.

Em relação ao conteúdo de nitrato, a variabilidade entre espécies também foi grande, tendo *A. pedicellaris* os maiores valores entre as leguminosas, com uma tendência a redução na concentração do verão para o inverno.

As leguminosas apresentaram uma elevada amplitude de resultados obtidos para o $\delta^{15}\text{N}$ (-0,76 até 4,70). *H. courbaril* e *C. langsdorfii* são espécies que não tem fixação biológica de nitrogênio e apresentam valores entre 1,23 e 2,12. Segundo Peterson & Fry (1987), as plantas que apresentam uma elevada utilização de nitrogênio atmosférico, obtido através da fixação biológica apresentam valores para o delta de 0 a 2‰. Esses dados podem ser um indicativo de que a única espécie que realiza a fixação biológica de nitrogênio na área é a *H. janeirensis*, já que foi a única a apresentar valores mais próximos à zero. A pequena presença de nódulos para as espécies na área seria esperada, já que segundo Magalhães *et al.* (1982) em condições naturais nem sempre se encontram nodulação em espécies que apresentam nódulos em outras condições.

As espécies no geral apresentaram valores elevados no conteúdo de nitrogênio total, com a consequente redução na relação C:N. As secundárias iniciais mostraram uma tendência a maiores conteúdos de nitrogênio total foliar do que as secundárias tardias, apesar de não haver uma separação clara entre as duas.

Todas as espécies apresentaram o ASN entre os principais aminoácidos transportados no xilema e a ASP como o segundo aminoácido transportado, exceto para *P. warmingii* em que o segundo foi a metionina, *T. multijuga* que apresentou um alto conteúdo de GLN e *Z. latifolia* var. *glabrata* que apresenta um conteúdo maior de GLU no verão.

Em leguminosas, a principal forma encontrada de aminoácidos transportada no xilema foi a ASN e ASP como o segundo aminoácido mais transportado. Segundo Aidar *et al.* (2003), as leguminosas secundárias iniciais apresentam como um dos principais aminoácidos transportados a ASN, semelhante ao padrão observado nas secundárias tardias.

No geral, as leguminosas apresentaram um conteúdo de moderado a elevado de nitrato na seiva no inverno. Segundo Aidar *et al.* (2003), as secundárias tardias têm um padrão semelhante de uso de nitrogênio das leguminosas secundárias iniciais, diferindo especialmente quanto ao conteúdo de nitrato que é menor nas tardias e de arginina que é menor nas leguminosas secundárias iniciais. Seria interessante realizar a dosagem de aminoácidos total a fim de poder observar a relação nitrato e aminoácido total, o que poderia ser uma análise interessante para diferenciação entre secundárias iniciais e tardias.

Para as espécies que não tinham sido inicialmente categorizadas devido a falta de dados bibliográficos, a adequação em um grupo quanto ao padrão de uso de nitrogênio é difícil, porque as secundárias iniciais e tardias tem um padrão de uso bem semelhante em leguminosas, ainda mais para as espécies que apresentaram somente um indivíduos na área, não tendo uma característica clara que possa ser usada para a separação das espécies entre os dois grupos. Sugerimos com base nos dados da atividade da NR que *P. warmingii* seja secundária inicial e *A. pedicellaris*, *T. multijuga* e *Zygia latifolia* var. *glabrata* sejam secundárias tardias, mas são necessários mais dados para confirmar a indicação.

Lauraceae

Cryptocarya mandioccana apresentou baixa atividade da NR e não demonstrou variação entre as estações ($23,46 \pm 13,82$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $15,62 \pm 4,70$ pKat.g PF⁻¹- inverno). Na folha, o conteúdo de nitrato foi moderado ($44,26 \pm 5,69$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $51,70 \pm 2,90$ μmol.g PF⁻¹- inverno) e o conteúdo na seiva foi menor no inverno do que no verão ($1,92 \pm 0,02$ μmol.mL⁻¹ – verão e $0,24 \pm 0,20$ μmol.mL⁻¹- inverno). Os principais aminoácidos transportados pelo xilema foram ASN e GLU. Sendo ASN, o mais representativos no verão (20,4% - verão e 24,7% inverno para ASN) e GLU no inverno (10,2% - verão e 29,0% - inverno).

O $\delta^{15}\text{N}$ foliar e a porcentagem de nitrogênio foliar apresentaram o conteúdo moderado nas duas estações ($1,65 \pm 0,64 \text{ ‰}$ – verão e $1,93 \pm 0,33 \text{ ‰}$ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $2,46 \pm 0,02 \text{ ‰}$ – verão e $2,35 \pm 0,16 \text{ ‰}$ – inverno para %N). A relação C:N foi baixa, praticamente sem diferenças entre as estações ($18,59 \pm 0,65$ – verão e $19,97 \pm 1,55$ – inverno).

Licaria armeniaca também demonstrou baixa atividade da enzima NR, mas com redução de atividade no inverno ($47,72 \pm 8,11 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $12,84 \pm 10,29 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno). O conteúdo de nitrato na folha e na seiva foram baixos, sendo que na folha não houve alteração entre as estações ($36,77 \pm 0,84 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $38,98 \pm 4,75 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – inverno) e na seiva o conteúdo diminuiu ($0,92 \pm 0,06 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $0,17 \pm 0 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – inverno). Diferente de *C. mandioccana* que tem três aminoácidos que fazem a maior parte do transporte pelo xilema em proporções semelhantes, *L. armeniaca* apresenta somente um aminoácidos em grande quantidade na seiva, a ASN ($59,9\%$ - verão e $59,6\%$ - inverno).

O $\delta^{15}\text{N}$ foliar e a porcentagem de nitrogênio foliar mostraram-se alta ($3,33 \pm 0,40 \text{ ‰}$ – verão e $3,21 \pm 0,48 \text{ ‰}$ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $3,79 \pm 0,29 \text{ ‰}$ – verão e $4,31 \pm 0,16 \text{ ‰}$ – inverno para %N), enquanto a relação C:N permaneceu baixa nas duas coletas ($13,06 \pm 1,35$ – verão e $11,10 \pm 0,39$ – inverno).

Ocotea dispersa mostra baixa atividade da NR e no verão os indivíduos apresentaram grande variabilidade ($31,79 \pm 34,21 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $11,48 \pm 2,79 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – inverno). Nas duas coletas, o conteúdo de nitrato na folha foi reduzido ($43,49 \pm 17,59 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $22,41 \pm 3,47 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – inverno). Na seiva, o conteúdo de nitrato foi baixo no verão e teve uma grande variabilidade entre indivíduos no inverno ($0,83 \pm 0,04 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $1,08 \pm 0,88 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – inverno). Como em *L. armeniaca*, a ASN foi o principal aminoácido transportado ($84,2\%$ - verão e $68,2\%$ - inverno).

A relação C:N foi baixa ($18,11 \pm 2,52$ – verão e $18,90 \pm 3,99$ – inverno), já o $\delta^{15}\text{N}$ foliar e a porcentagem de nitrogênio foliar apresentaram o conteúdo moderado nas duas

estações ($2,70 \pm 0,96$ ‰ – verão e $2,32 \pm 1,76$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $2,69 \pm 0,35$ ‰ – verão e $2,61 \pm 0,60$ ‰ – inverno para %N).

Ocotea elegans apresentou uma atividade baixa da enzima NR nas duas coletas ($8,02 \pm 10,11$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $4,26 \pm 2,49$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). Apesar do conteúdo de nitrato na folha se mostrar com concentrações moderadas ($57,46 \pm 11,92$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $44,34 \pm 6,23$ μmol.g PF⁻¹ - inverno). A quantidade de nitrato na seiva foi baixa nos dois períodos ($0,22 \pm 0,01$ μmol.mL⁻¹ – verão e $0,31 \pm 0,12$ μmol.mL⁻¹ - inverno). ASN foi responsável por maior parte do transporte feito por aminoácidos no xilema (77,3% - verão e 75,2% - inverno).

O $\delta^{15}\text{N}$ foliar foi baixo nas duas estações ($0,89 \pm 0,46$ ‰ – verão e $0,44 \pm 0,56$ ‰ – inverno). Já a porcentagem de nitrogênio foliar e relação C:N apresentaram-se com valores moderados ($2,44 \pm 0,69$ ‰ – verão e $2,24 \pm 0,59$ ‰ – inverno para %N e $21,58 \pm 7,89$ – verão e $23,20 \pm 7,48$ – inverno para C:N), com alta variabilidade entre indivíduos do último.

Ocotea sp. teve somente uma única espécie na área e foi selecionada por ser um dos indivíduos com maior porte nas parcelas. O indivíduo teve baixa atividade de NR ($19,44$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $7,78$ pKat.g PF⁻¹ - inverno) e de nitrato na seiva do xilema ($0,88$ μmol.mL⁻¹ – verão e $0,02$ μmol.mL⁻¹ - inverno). Na folha, o conteúdo no inverno diminuiu em relação ao verão ($41,62$ μmol.g PF⁻¹ – verão e $7,77$ μmol.g PF⁻¹ - inverno). ASN e ASP foram os principais aminoácidos envolvidos no transporte de nitrogênio no xilema (33,6% ASN e 18,0% ASP - inverno).

Apresentou também um moderado $\delta^{15}\text{N}$ foliar ($1,89$ ‰ – verão e $2,66$ ‰ – inverno) e uma baixa relação C:N ($18,40$ – verão e $13,51$ – inverno). A porcentagem de nitrogênio foliar foi moderada no verão e aumentou no inverno ($2,55$ ‰ – verão e $3,41$ ‰ – inverno).

As Lauraceae mostraram um comportamento semelhante entre todas as espécies, apresentaram baixa atividade da nitrato redutase nas duas estações, baixo conteúdo de nitrato na seiva do xilema (com exceção de *C. mandioccana* no verão e *O. dispersa* no inverno, que

apresentaram uma grande variabilidade entre indivíduos). No verão, apresentaram os valores mais baixos de conteúdo de nitrato na folha em relação as outras espécies de outras famílias e a ASN foi o principal aminoácido transportado na seiva do xilema.

Perreira-Silva (2008) também observou um padrão de uso de nitrato em relação a baixa atividade da NR para essa, sugerindo que esse padrão tivesse relação entre ciclagem interna e assimilação de outra forma de nitrogênio inorgânico como o amônio. Já que segundo Smith & Rice (1983) e Aidar *et al.* (2003), as espécies tardias não assimilariam nitrato como a principal fonte de nitrogênio inorgânico.

Os valores de nitrogênio total abrangeram valores entre as categorias de alto a moderado, enquanto C:N apresentou valores reduzidos, sendo um padrão diferente do observado para espécies tardias que no geral apresentam um baixo conteúdo de nitrogênio foliar. O $\delta^{15}\text{N}$ foliar apresentou uma elevada variabilidade de respostas entre espécies, não demonstrando ser um bom indicativo de uso de nitrogênio para a família.

No geral, os dados obtidos corroboram o modelo de uso de nitrogênio proposto por Aidar *et al.* (2003) para espécies tardias, no qual espécies apresentam baixa atividade da NR, baixo conteúdo de nitrato na folha e seiva do xilema, a única exceção é com relação ao conteúdo de arginina, o qual foi baixo ou nulo em algumas espécies.

Lecythidaceae

Cariniana legalis foi a única espécie da família Lecythidaceae presente na área, com dois indivíduos e eles estão entre os maior altura das parcelas. No verão, somente um indivíduo teve material vegetal coletado devido à dificuldade de coleta e no inverno os dois foram coletados.

A espécie apresentou baixa atividade da enzima nitrato redutase nos dois períodos ($29,44 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ – verão e $8,80 \pm 8,51 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ - inverno). O conteúdo foi alto no verão e caiu no inverno ($105,70 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $42,30 \pm 6,39 \text{ } \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ - inverno). Na seiva,

o conteúdo de nitrato foi baixo, tendo no inverno uma grande variabilidade entre os dois indivíduos ($0,75 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $0,27 \pm 0,25 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ - inverno). Na seiva, apresentou o transporte feito preferencialmente por ARG (55,7% - verão e 8,6% - inverno) e GLU + CIT (23,2% - verão e 21,3% - inverno).

Para *C. legalis* todos os valores obtidos para o $\delta^{15}\text{N}$ foliar, relação C:N e a porcentagem de nitrogênio foliar foram moderados (2,81 ‰ – verão e $2,02 \pm 1,33$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ foliar, 23,33 – verão e $23,54 \pm 3,64$ – inverno para C:N e 2,04 ‰ – verão e $2,05 \pm 0,36$ ‰ – inverno para %N).

O elevado conteúdo de nitrato na folha com a reduzida quantidade de nitrato na seiva e baixa atividade da NR foi uma característica também observada por Perreira-Silva (2008) em *C. legalis*.

A presença de pouco nitrato na seiva e baixa atividade da NR nas folhas indicam que a assimilação do nitrogênio é realizada preferencialmente pelas raízes. Segundo Smith & Rice (1983), as espécies secundárias provavelmente assimilam preferencialmente o amônio como fonte primária de nitrogênio. A assimilação é realizada nas raízes, não podendo ser transportado ou estocado porque é tóxico. Assim a molécula é assimilada rapidamente na forma de aminoácidos para evitar danos na célula (Sawazaki *et al.* 1987).

Perreira-Silva (2009) também estudou essa espécie e observou que ela apresenta como o principal aminoácido responsável pelo transporte de nitrogênio no xilema a citrulina, esse pode ser um indicativo de que a citrulina seja o aminoácido presente em maior quantidade no pico de GLU+CIT. Segundo Malaguti *et al.* (2001), a citrulina é o principal aminoácido transportado na seiva de diversas espécies. E para *Betula pendula* ele foi observado como o principal aminoácido translocado para a remobilização de N (Millard *et al.* 1998). Podendo indicar que a espécie no estudo apresenta uma grande reciclagem interna de N, assim como *Betula pendula*.

Melastomataceae

Miconia dodecandra é a espécie selecionada da família Melastomataceae. Essa espécie apresentou baixa atividade da NR nos dois períodos ($2,22 \pm 0,66$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $14,88 \pm 14,38$ pKat.g PF⁻¹- inverno). Assim como pequeno conteúdo de nitrato foliar ($16,95 \pm 2,53$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $14,37 \pm 2,40$ µmol.g PF⁻¹- inverno) e na seiva ($0,24 \pm 0,09$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,55 \pm 0,11$ µmol.mL⁻¹- inverno). ARG e GLN foram os principais aminoácidos transportados nas duas estações (61,5% - verão e 57,2% - inverno para ARG e 20,7% - verão e 14,3% - inverno para GLN).

Na folha, o $\delta^{15}\text{N}$ foliar, relação C:N e a porcentagem de nitrogênio foliar foram moderados ($1,66 \pm 0,11$ ‰ – verão e $2,02 \pm 0,59$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$, $20,42 \pm 1,39$ % – verão e $20,92 \pm 0,88$ % – inverno para C:N e $2,27 \pm 0,13$ – verão e $2,11 \pm 0,11$ – inverno para %N).

As características de atividade da NR, nitrato foliar e nitrato na seiva permitem a sua classificação como uma espécie secundária tardia, e os dados de transporte de aminoácidos na seiva, alto transporte de GLN e ARG demonstram características de espécies secundárias iniciais.

A partir desses dados, a espécie foi classificada como secundária inicial, que é um grupo com características intermediárias em relação às espécies pioneiras e tardias, podendo apresentar uma ou outra característica semelhantes a esses grupo, mas para as secundárias iniciais não leguminosas o transporte é caracteristicamente realizado pela GLN.

Essa espécie teria um padrão de uso mais próximo das tardias devido às suas características de uso de nitrato. Mas segundo Tabarelli & Mantovani (1999), o gênero *Miconia* se distribui principalmente nas florestas abertas nos topos de morros, orlas de rios e restingas, sendo as espécies do gênero características de formações pioneiras. E sua distribuição nas parcelas montadas indica a sua presença em áreas de vegetação mais aberta e nas áreas mais altas das parcelas.

Myrtaceae

Campomanesia guaviroba apresentou pequena atividade da enzima NR ($9,51 \pm 2,67$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $13,95 \pm 4,5$ pKat.g PF⁻¹- inverno). E demonstrou um moderado conteúdo de nitrato na folha ($62,84 \pm 2,91$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $53,38 \pm 15,56$ µmol.g PF⁻¹- inverno). Além de um $\delta^{15}\text{N}$ foliar e porcentagem de nitrogênio foliar moderados ($1,86 \pm 0,54$ ‰ – verão e $2,86 \pm 0,51$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $2,94 \pm 0,13$ % – verão e $2,64 \pm 0,11$ % – inverno para %N). A relação C:N na folha foi baixa ($15,75 \pm 1,39$ – verão e $17,47 \pm 0,88$ – inverno).

Na seiva, teve um conteúdo moderado no verão e baixo no inverno ($1,49 \pm 0,31$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,40 \pm 0,06$ µmol.mL⁻¹- inverno) e apresentou pequena variabilidade entre indivíduos. Os aminoácidos transportados majoritariamente na seiva foram a GLN e GLU+CIT (20,8% - verão e 37,4% - inverno para GLN e 27,2% - verão e 24,8% - inverno para GLU+CIT).

Eugenia cuprea também apresentou baixa atividade da enzima nitrato redutase ($49,20 \pm 21,24$ pKat.g PF⁻¹ – verão e $25,62 \pm 13,03$ pKat.g PF⁻¹- inverno), um conteúdo moderado de nitrato foliar e sem variação entre as duas coletas ($50,36 \pm 12,89$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $50,97 \pm 11,50$ µmol.g PF⁻¹- inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar foi baixo nas duas estações ($0,62 \pm 0,83$ ‰ – verão e $0,60 \pm 0,74$ ‰ – inverno), enquanto a relação C:N apresentou-se moderada ($24,04 \pm 7,57$ – verão e $26,76 \pm 5,32$ – inverno), com alta variabilidade entre indivíduos para as duas variáveis. A porcentagem de nitrogênio total foliar foi moderada no verão e diminuiu no inverno ($2,00 \pm 0,36$ % – verão e $1,74 \pm 0,24$ % – inverno).

O conteúdo de nitrato na seiva foi alto no verão, diminuiu no inverno e com alta variabilidade entre indivíduos ($3,95 \pm 0,95$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,58 \pm 0,66$ µmol.mL⁻¹- inverno). ARG, GLN e GLU+CIT foram os principais aminoácidos transportados na seiva, sendo que a ARG teve somente importância no verão com 45,8%, enquanto no inverno só participou de 7,0% da composição do xilema.

Eugenia oblongata mostrou baixa atividade da enzima NR ($24,35 \pm 17,33$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $25,56 \pm 27,59$ pKat.g PF⁻¹ - inverno) e elevada variabilidade entre indivíduos nos dois períodos. O conteúdo de nitrato foliar apresentou-se moderado ($75,50 \pm 26,92$ µmol.g PF⁻¹ - verão e $45,14 \pm 15,66$ µmol.g PF⁻¹ - inverno) e na seiva foi moderado no verão e baixo no inverno ($1,45 \pm 0,24$ µmol.mL⁻¹ - verão e $0,57 \pm 0,10$ µmol.mL⁻¹ - inverno). GLN e GLU+CIT foram os principais aminoácidos transportados na seiva do xilema (25,7% - verão e 19,8% - inverno para GLN e 26,9% - verão e 29,3% inverno para GLU+CIT), ARG apresentou 25,7% dos aminoácidos presentes na seiva do xilema no verão e ASN também se apresentou em uma proporção alta (11,8% - verão e 26,5% - inverno).

A porcentagem de nitrogênio foliar total foi baixa ($1,62 \pm 0,36$ % - verão e $1,57 \pm 0,24$ % - inverno), enquanto o $\delta^{15}\text{N}$ foliar foi moderado ($2,58 \pm 1,97$ ‰ - verão e $2,91 \pm 2,10$ ‰ - inverno) e a relação C:N foi alta ($30,89 \pm 7,57$ - verão e $30,22 \pm 5,32$ - inverno), sem diferenças entre as estações.

Gomidesia spectabilis teve moderada atividade da NR no verão, apresentando uma redução no inverno ($64,07 \pm 16,07$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $24,14 \pm 10,53$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). O conteúdo foliar se apresentou baixo ($38,07 \pm 7,76$ µmol.g PF⁻¹ - verão e $29,79 \pm 3,22$ µmol.g PF⁻¹ - inverno). A seiva mostrou alto conteúdo durante o verão, com alta variabilidade entre indivíduos e no inverno teve seu conteúdo reduzido ($4,79 \pm 4,07$ µmol.mL⁻¹ - verão e $0,65 \pm 0,20$ µmol.mL⁻¹ - inverno). Somente a seiva de um indivíduo foi analisada em relação ao conteúdo de aminoácidos para *G. spectabilis* devido o pequeno volume obtido dos indivíduos. Nesse indivíduo, GLU+CIT e ARG foram os principais aminoácidos transportados no xilema nos dois períodos (31,5% - verão e 37,2% - inverno para GLU+CIT e 49,9% - verão e 40,8% - inverno para ARG).

O $\delta^{15}\text{N}$ foliar apresentou-se com valores moderados nas duas estações ($1,58 \pm 0,08$ ‰ - verão e $2,06 \pm 0,29$ ‰ - inverno), assim como a relação C:N ($23,24 \pm 2,91$ - verão e $25,14$

$\pm 1,30$ – inverno). A porcentagem de nitrogênio total foliar apresentou valores baixos no inverno e moderados no verão ($2,01 \pm 0,21$ % – verão e $1,77 \pm 0,08$ % – inverno).

Myrceugenia myrcioides apresentou moderada atividade de enzima NR durante o verão e baixa atividade no inverno ($59,63 \pm 80,10$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $10,43 \pm 8,86$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). Na folha, o conteúdo de nitrato foi moderado ($65,52 \pm 56,33$ $\mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $49,34 \pm 31,95$ $\mu\text{mol.g PF}^{-1}$ - inverno) e a relação C:N também ($28,88 \pm 2,29$ % – verão e $25,77 \pm 4,27$ % – inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar e a porcentagem de nitrogênio foliar apresentaram valores baixos ($0,80 \pm 1,22$ ‰ – verão e $0,60 \pm 1,77$ ‰ – inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $1,72 \pm 0,15$ % – verão e $1,82 \pm 0,26$ % – inverno para %N).

Na seiva, o conteúdo foi elevado no verão como nas espécies anteriores e caindo para concentrações reduzidas no inverno ($5,46 \pm 3,09$ $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $0,75 \pm 0,64$ $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ - inverno). Tendo apresentado uma grande variabilidade entre indivíduos em todas as variáveis estudadas. Ainda na seiva, GLN e GLU foram os principais aminoácidos transportados no xilema (52,8% - verão e 34,1% - inverno para GLN e 19,9% - verão e 23,2% - inverno para GLU).

Myrcia guianensis apresentou moderada atividade da enzima NR ($114,38 \pm 69,22$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $141,60 \pm 119,60$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). O conteúdo de nitrato foi moderado no verão e caiu no inverno ($46,95 \pm 50,88$ $\mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $22,25 \pm 12,41$ $\mu\text{mol.g PF}^{-1}$ - inverno) na folha. Na seiva, o conteúdo de nitrato foi elevado no verão e como nas outras espécies diminuíram o seu conteúdo no inverno ($4,06 \pm 2,88$ $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $0,96 \pm 0,59$ $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ - inverno). Nos três casos, os indivíduos apresentaram grande variabilidade. O principal aminoácido transportado foi a GLN (51,6% - verão e 45,7% - inverno), seguido do GLU (24,4% - verão e 27,6% - inverno).

A relação C:N apresentou-se moderada na folha no dois períodos ($29,79 \pm 15,43$ – verão e $26,48 \pm 13,33$ – inverno). Já a porcentagem de nitrogênio total foliar foi baixa ($1,73 \pm 0,60$ % – verão e $1,90 \pm 0,65$ % – inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar foi baixo no verão e moderado no

inverno ($0,27 \pm 1,96 \text{ ‰}$ – verão e $1,29 \pm 1,43 \text{ ‰}$ – inverno), apresentando alta variabilidade entre indivíduos.

A família Myrtaceae apresentou as espécies que transportavam o maior conteúdo de nitrato na seiva e parece ser uma característica semelhante a todas as espécies da família. Outra característica semelhante entre as espécies é a forma de transporte de aminoácidos na seiva, todas apresentaram GLN e GLU+CIT como os principais aminoácidos responsáveis pelo transporte de nitrogênio.

Na família, foram selecionadas três espécies secundárias iniciais (*Campomanesia guaviroba*, *Eugenia oblongata* e *Myrcia guianensis*) e três secundárias tardias (*Eugenia oblongata*, *Gomidesia spectabilis* e *Myrceugenia myrcioides*) para o estudo. Sendo que as espécies tardias tinham a ARG com um dos principais aminoácidos transportados, com exceção de *M. myrcioides*. Para essas espécies, não é possível inferir qual seria o aminoácido presente em maior quantidade no pico GLU+CIT, pra isso só um maior aprimoramento da técnica indicar realmente qual o aminoácido transportado. Segundo Campos (2009), GLU foi um dos principais aminoácidos transportados em *E. oblongata* e *E. cuprea*. Já Perreira-Silva (2008) encontrou citrulina entre os principais para outras espécies da família. Então para as outras espécies é difícil inferir qual seria realmente o aminoácido presente em maior quantidade.

O $\delta^{15}\text{N}$ teve uma elevada amplitude entre espécies, no geral os valores foram reduzidos o que pode indicar um alto grau de fracionamento.

Perreira-Silva (2008) também observou um reduzido conteúdo de nitrogênio total foliar para as espécies de Myrtaceae estudadas. No geral, foram as espécies com os menores valores entre todas as estudadas, com exceção de *C. guaviroba*, isso se reflete na elevada relação C:N que essas espécies apresentaram.

Essas características indicam uma estratégia de uso de nitrogênio característica da família, o que pode ter influenciado a distribuição e importância nas florestas. Myrtaceae é

uma das famílias mais importantes da floresta ombrófila (Souza & Lorenzi 2005), nas parcelas é a família com maior número de espécies (34).

Phyllanthaceae

Hyeronima alchorneoides teve moderada atividade da nitrato redutase no verão. No inverno, a atividade reduziu-se em torno de cinco vezes ($102,59 \pm 41,08$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $19,07 \pm 8,38$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). Na folha, o conteúdo de nitrato foi moderado nas duas estações ($78,29 \pm 35,31$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $63,85 \pm 32,17$ µmol.g PF⁻¹ - inverno). Assim como para o $\delta^{15}\text{N}$ foliar ($1,63 \pm 1,92$ ‰ – verão e $1,45 \pm 2,40$ ‰ – inverno), relação C:N ($20,69 \pm 3,62$ – verão e $20,61 \pm 6,60$ – inverno) e a porcentagem de nitrogênio foliar ($2,38 \pm 0,63$ % – verão e $2,43 \pm 0,31$ % – inverno), sendo que os dois primeiros apresentaram elevada variabilidade entre indivíduos.

O conteúdo de nitrato na seiva foi baixo nos dois períodos ($0,02 \pm 0$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,17 \pm 0,12$ µmol.mL⁻¹ - inverno). Em relação ao aminoácido presente em maior quantidade na seiva, o principal foi o GLN (30,6% - verão e 35,5% - inverno), além da ARG (34,2% - verão e 28,5% - inverno) e GLU+CIT (11,4% - verão e 10,6% - inverno) serem importantes.

Essa espécie foi classificada com secundária inicial (Aidar *et al.* 2004, Silva *et al.* 2003), os dados mostram que ela tem um padrão de uso de nitrogênio semelhante às espécies da família Euphorbiaceae. Com pequeno conteúdo de nitrato de seiva e transporte preferencialmente realizado pelo aminoácido GLN, pode ter relação com a proximidade entre as famílias, pois elas pertencem à mesma ordem (Malpighiales). Sendo Phyllanthaceae reconhecida tradicionalmente entre as Euphorbiaceae e sua classificação foi alterada para uma família isolada pelas informações recentes dadas através das análises filogenéticas (Sousa e Lorenzi 2005).

A diferença entre as duas famílias em relação ao uso de nitrogênio foi a presença de ARG como um dos principais aminoácidos transportados na seiva do xilema. Essa presença de ARG elevada também observada por Perreira-Silva (2008), e segundo ele isso aconteceria além da presença de GLN na seiva porque a espécie possui como alternativa a aquisição e assimilação de amônio além do nitrato.

Proteaceae

Roupala brasiliensis apresentou baixa atividade da enzima NR ($42,96 \pm 34,41$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $24,38 \pm 8,38$ pKat.g PF⁻¹ - inverno) e grande variabilidade entre indivíduos no verão. Demonstrou um moderado conteúdo de nitrato foliar sem variações durante as estações ($54,44 \pm 2,74$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $53,45 \pm 6,62$ µmol.g PF⁻¹ - inverno) e reduzido transporte de nitrato na seiva ($0,51 \pm 0,25$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,11 \pm 0,04$ µmol.mL⁻¹ - inverno). O aminoácido responsável por mais de 50% do transporte realizado na seiva do xilema foi a ARG (52,3% - verão e 87,0% - inverno).

A espécie apresentou os menores valores de nitrogênio foliar total (1,3% - verão e 1,25 – inverno) dentre todas as espécies e uma alta relação C:N, tendo o maior valor para essa variável entre todas as espécies estudadas ($38,07 \pm 3,42$ – verão e $39,66 \pm 5,73$ – inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar também foi alto ($3,81 \pm 0,93$ ‰ – verão e $3,62 \pm 1,44$ ‰ – inverno), enquanto a taxa de nitrogênio total foliar foi baixa ($1,30 \pm 0,93$ % – verão e $1,25 \pm 0,19$ %– inverno).

Os dados de uso de nitrogênio permitem inferir que a espécie selecionada é uma espécie secundária tardia, classificação igual às informações obtidas através da bibliografia consultada (Aidar *et al.* 2003, Alves & Metzger 2006).

A baixa atividade da enzima nitrato redutase foliar e reduzido transporte de nitrato no xilema indicam que a espécie assimila nitrato preferencialmente na raiz ou utiliza amônio como principal fonte de N.

Sapindaceae

Cupania vernalis apresentou redução na atividade da enzima NR no inverno comparado ao verão, o qual demonstrou atividade moderada ($104,91 \pm 115,62$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $13,33 \pm 0,26$ pKat.g PF⁻¹ - inverno), tendo um alto desvio na estação chuvosa. No verão, o conteúdo de nitrato foliar foi alto, e teve uma queda durante o inverno ($97,28 \pm 13,54$ µmol.g PF⁻¹ - verão e $42,73 \pm 4,90$ µmol.g PF⁻¹ - inverno), assim como na seiva ($1,79 \pm 0,25$ µmol.mL⁻¹ - verão e $0,71 \pm 0,24$ µmol.mL⁻¹ - inverno). Em relação aos aminoácidos da seiva, GLN e ARG foram os principais (27,0% - verão e 42,2% - inverno para GLN e 33,3% - verão e 31,6% - inverno para ARG). A relação C:N foi elevada nas duas estações ($31,15 \pm 2,86$ - verão e $33,06 \pm 1,76$ - inverno), enquanto a porcentagem de nitrogênio total foliar apresentou-se baixa ($1,68 \pm 0,14$ % - verão e $1,56 \pm 0,04$ % - inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar apresentou uma tendência a queda do verão para o inverno ($1,05 \pm 0,29$ ‰ - verão e $0,62 \pm 0,46$ ‰ - inverno), apresentando alta variabilidade entre indivíduos.

Matayba guianensis teve alta atividade da enzima NR e uma grande variabilidade entre espécies ($343,40 \pm 235,85$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $64,01 \pm 13,48$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). Já o conteúdo de nitrato foliar não apresentou diferenças entre as estações ($38,79 \pm 11,09$ µmol.g PF⁻¹ - verão e $32,62 \pm 5,33$ µmol.g PF⁻¹ - inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar e a porcentagem de nitrogênio foliar foram moderados ($2,27 \pm 1,35$ ‰ - verão e $2,06 \pm 1,61$ ‰ - inverno para $\delta^{15}\text{N}$ e $2,63 \pm 0,21$ ‰ - verão e $2,93 \pm 0,41$ ‰ - inverno para %N), com alta variabilidade entre indivíduos para o primeiro. Já a relação C:N apresentou-se baixa ($19,02 \pm 1,84$ - verão e $16,11 \pm 1,86$ - inverno).

A seiva teve quantidade moderada a baixa em relação ao conteúdo de nitrato ($1,12 \pm 0,27$ µmol.mL⁻¹ - verão e $0,66 \pm 0,20$ µmol.mL⁻¹ - inverno) e como principais aminoácidos transportados a ASN e GLN (46,4% - verão e 38,5% - inverno para ASN e 32,9% - verão e 32,3% - inverno para GLN).

C. vernalis apresenta características típicas de secundárias iniciais, grupo ao qual tinha sido previamente classificada com base na bibliografia (Silva *et al.* 2003, Prado Junior *et al.* 2010). Segundo Alves & Metzger (2006) secundárias iniciais são espécies de intolerância intermediária a sombra, sendo algumas espécies presentes em sub-bosque não densamente sombreados. O que combina com o descrito por Bolger *et al.* (2006) para *C. vernalis*, segundo ele a espécie ocorre em diferentes estratos na floresta, sendo que muitas vezes pode viver adaptada a sombra, quando ocupa o sub-bosque. Essas características associadas ao uso do nitrogênio, especialmente a presença de GLN na seiva do xilema, permitem conformar a classificação da espécie como secundária inicial.

Matayba guianensis foi previamente classificada como secundária inicial (Silva *et al.* 2003, Prado Junior *et al.* 2010). A alta atividade da enzima NR e ASN sendo o principal aminoácido presente na seiva, junto com a GLN, parecem indicar que a espécie apresenta características intermediárias entre espécies pioneiras e secundárias iniciais, compondo assim um continuum ecofisiológico entre as espécies dos dois grupos. Isso parece ainda mais apropriado ao se associar as suas características de tolerância a sombra, sendo considerada uma espécie heliófila de fases iniciais de sucessão (Giotto *et al.* 2008).

As espécies apresentaram comportamentos opostos em relação ao conteúdo de nitrogênio total foliar e relação C:N evidenciando as diferenças entre elas, o que pode ter relação com as características de tolerância a sombra de cada uma, descrita acima.

Sapotaceae

Chrysophyllum viride apresentou baixa atividade da NR, sem diferenças entre as duas estações ($18,33 \pm 9,75$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $11,53 \pm 6,87$ pKat.g PF⁻¹ - inverno). A seiva também teve um reduzido conteúdo de nitrato ($0,60 \pm 0,20$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,09 \pm 0,09$ µmol.mL⁻¹ - inverno) e na folha o seu conteúdo foi elevado no verão sendo reduzido para moderado no inverno ($89,47 \pm 23,68$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $50,66 \pm 18,09$ µmol.g PF⁻¹ -

inverno). ASN foi o aminoácido majoritário (49,2% - verão e 59,3% - inverno). Foram moderados os valores obtidos para $\delta^{15}\text{N}$ foliar ($1,37 \pm 0,36$ ‰ – verão e $1,33 \pm 0,48$ ‰ – inverno), relação C:N ($20,83 \pm 1,82$ – verão e $20,31 \pm 3,14$ – inverno) e a porcentagem de nitrogênio foliar ($2,40 \pm 0,21$ % – verão e $2,40 \pm 0,28$ % – inverno) nas duas estações.

Ecclinusa ramiflora apresentou atividade moderada nas duas estações ($92,84 \pm 62,89$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $57,10 \pm 25,24$ pKat.g PF⁻¹- inverno), com alta variabilidade entre indivíduos. Como *C. viride* o conteúdo de nitrato foliar no verão foi elevado e reduzido no inverno ($100,52 \pm 8,82$ µmol.g PF⁻¹ – verão e $45,50 \pm 8,09$ µmol.g PF⁻¹- inverno). Assim como em relação ao conteúdo de nitrato na seiva ($1,10 \pm 0,20$ µmol.mL⁻¹ – verão e $0,13 \pm 0,08$ µmol.mL⁻¹- inverno). ASN também foi o principal aminoácido transportado (59,3% - verão e 60,5% - inverno).

A porcentagem de nitrogênio total foliar foi baixa nas duas estações ($1,92 \pm 0,19$ % – verão e $1,75 \pm 0,24$ % – inverno). A relação C:N apresentou-se moderada ($25,70 \pm 1,37$ – verão e $28,35 \pm 1,77$ – inverno), assim como o $\delta^{15}\text{N}$ foliar ($2,51 \pm 0,73$ ‰ – verão e $2,24 \pm 0,54$ ‰ – inverno).

As duas espécies foram classificadas inicialmente como secundárias tardias e os dados obtidos corroboram essa informação. Isso devido ao alto conteúdo de ASN, associado com o baixo conteúdo de nitrato na seiva e de atividade da NR o que segundo Aida *et al.* (2003) são características de espécies tardias.

Urticaceae

Cecropia ulei foi a espécie que apresentou a mais alta atividade da enzima nitrato redutase ($564,63 \pm 75,97$ pKat.g PF⁻¹ - verão e $368,52 \pm 213,84$ pKat.g PF⁻¹- inverno), apresentando grande variação entre indivíduos. Também apresentou alto conteúdo de nitrato na seiva do xilema nas duas estações do ano ($2,24 \pm 0,92$ µmol.mL⁻¹ – verão e $4,28 \pm 3,15$ µmol.mL⁻¹- inverno), apresentando um elevado desvio na estação seca. ASN, ASP e GLU

foram os principais aminoácidos transportados na seiva, sendo a ASN o majoritário no inverno (18,1% - verão e 39,7% - inverno) e GLU no verão (31,6% - verão e 15,8% - inverno) e o ASP, o segundo mais presente nas duas estações (10,1% verão e 11,6% no inverno).

Na folha, o conteúdo de nitrato foi moderado ($71,96 \pm 10,67 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $65,72 \pm 2,13 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ - inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar também apresentou valores moderados ($2,91 \pm 0,36 \text{‰}$ – verão e $2,13 \pm 0,64 \text{‰}$ – inverno), um elevado conteúdo de nitrogênio foliar total ($3,63 \pm 0,36 \text{‰}$ – verão e $3,26 \pm 0,41 \text{‰}$ – inverno) e a relação C:N foi baixa ($12,83 \pm 1,69$ – verão e $14,42 \pm 1,03$ – inverno).

Pouroma guianensis apresentou alta atividade da enzima nitrato redutase, com ampla variação entre indivíduos ($310,43 \pm 160,17 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ - verão e $239,57 \pm 77,68 \text{ pKat.g PF}^{-1}$ - inverno). Conteúdo de nitrato foliar moderado ($54,82 \pm 16,37 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ – verão e $52,28 \pm 6,22 \mu\text{mol.g PF}^{-1}$ - inverno), baixo conteúdo de nitrato na seiva no verão e aumento da concentração de nitrato no inverno, diferente do observado para a maioria das espécies caracterizadas anteriormente ($0,15 \pm 0,09 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ – verão e $1,17 \pm 1,08 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ - inverno), apresentando elevado desvio no inverno.

Assim como *C. ulei*, a espécie apresentou baixa relação C:N ($16,03 \pm 1,69$ – verão e $17,64 \pm 1,03$ – inverno), mas o seu conteúdo de nitrogênio total na folha foi moderado ($2,87 \pm 0,26 \text{‰}$ – verão e $2,59 \pm 0,11 \text{‰}$ – inverno). O $\delta^{15}\text{N}$ foliar apresentou-se de alto a moderado entre as estações ($3,03 \pm 0,44 \text{‰}$ – verão e $2,85 \pm 0,40 \text{‰}$ – inverno).

Os dados corroboram o observado para espécies pioneiras por Aidar *et. al.* (2003) devido às características de alta atividade da NR, o maior conteúdo de nitrogênio foliar e maior presença de ASN na seiva do xilema.

4.5. Colonização por micorriza arbuscular

As raízes apresentaram uma elevada variabilidade na porcentagem de colonização por micorrizas entre pontos. A porcentagem variou de 3,67% até 54,67% no verão e de 9,00% até

61,00% durante o inverno (Figura 12). Por isso, a análise estatística não verificou diferenças entre verão e inverno, quando considerados todos os pontos juntos para a análise. Mas quando analisados separadamente, as diferenças entre estações para cada ponto, os pontos 2, 12, 15 e 22 apresentaram diferenças entre estações ($p < 0,05$). Outros pontos mesmo tendo uma elevada diferença entre médias, não apresentaram diferenças devido a alta variabilidade dentro de um mesmo lugar.

A alta amplitude do grau de colonização permite dizer que há uma elevada variabilidade no grau de colonização por micorriza nas espécies presentes na parcela. Num mesmo ponto coletado a variação entre estações foi grande e observou-se tanto aumento quanto diminuição na colonização do verão para o inverno.

Isso pode ocorrer porque ainda que a coleta seja realizada num mesmo ponto entre estações, a distribuição das raízes das plantas ao redor dessa área é heterogênea e ao se pegar mais as raízes de uma ou outra espécie ocorra a alteração nessa proporção, não tanto em resposta às variações climáticas, mas pelo tipo de raízes coletadas.

Segundo Treseder & Allen (2000), 80% das espécies apresentam raízes colonizadas por micorrizas, apesar disso vemos que a colonização máxima é em torno de 60% e tem lugares quase sem colonização. Isso parece indicar que a colonização não é obrigatória e sim facultativa, dependeria das condições ambientais propícias para associações.

Pelas espécies utilizadas nesse estudo presentes na área de estudo observa-se que há uma predominância de espécies mais tardias da sucessão e a presença de valores reduzidos de colonização pode ter relação com isso. Aidar *et al.* (2004) ao comparar a colonização por micorriza de áreas com maior abundância de espécies arbóreas das fases mais iniciais de sucessão com áreas com predomínio de secundárias tardias, observou que o grau de colonização diminui quanto maior a presença de espécies tardias.

Segundo Zangaro *et al.* (2002), o comportamento distinto quanto a colonização e resposta à incubação entre espécies desses grupos seria de ordem evolucionária e a reduzida

colonização em espécies tardias estaria relacionada a uma menor taxa de crescimento e menor demanda por minerais.

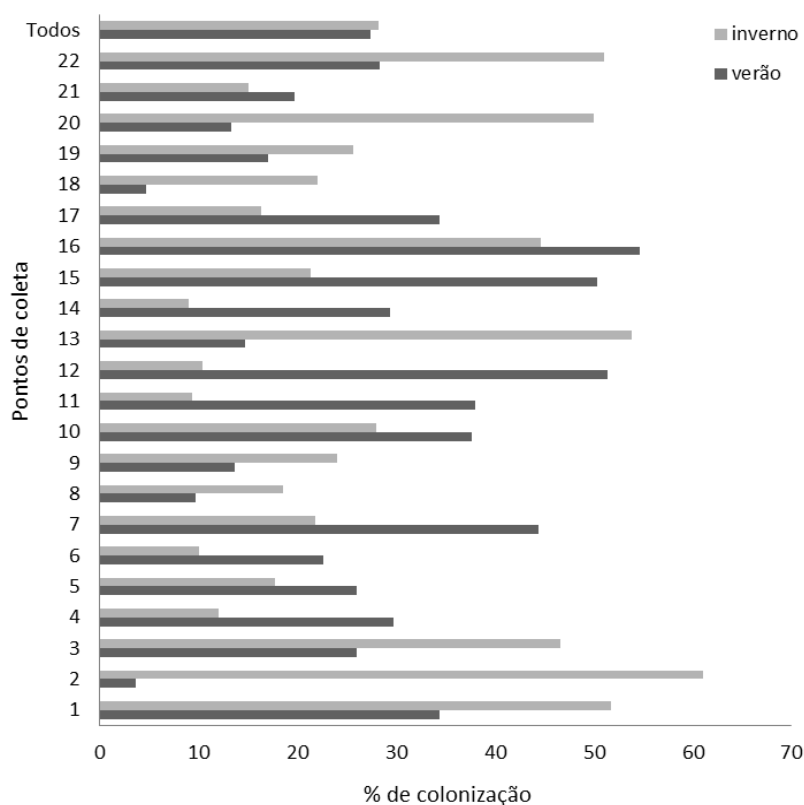


Figura 12. Colonização de raízes por fungos micorrízicos arbusculares (%) nos pontos de coleta e a colonização média por pontos no verão e inverno.

4.6. Seleção de espécies para o monitoramento ecofisiológico no uso de nitrogênio

A seleção de espécies foi realizada com base nos seguintes parâmetros: importância das espécies na área; abrangência dos diferentes grupos ecológicos; espécies com pequena variabilidade nos parâmetros analisados (Tabela 3).

As duas espécies de Urticaceae foram selecionadas para o estudo por pertencerem a um grupo ecológico distinto dos demais (pioneiras), possibilitando a análise das diferenças entre as diferentes estratégias de regeneração.

Dentre as secundárias iniciais, duas espécies da família Euphorbiaceae foram selecionadas: *M. piriri* e *A. verticillatus*. A primeira, apesar da grande variabilidade na

atividade da NR, apresentou reduzido desvio nos outros parâmetros avaliados e por ser a espécie de maior IVI (24,49). Além dela, *A. verticillatus* foi selecionada por ser outra espécie com pequena variabilidade e um elevado IVI (10,05). As outras espécies foram *H. alchorneoides*, que apresentou pouca variabilidade nos dados obtidos, com exceção do conteúdo de nitrato foliar no verão, além de possuir 16 indivíduos na área e ser uma secundária inicial típica e *M. dodecandra*, que apresentou pequena variabilidade entre indivíduos e seu grande número de indivíduos na parcela (15) entre as Melastomataceae, a espécie foi selecionada para o estudo sobre impactos causados no uso de N pela emissão de poluentes da UTGCA. *C. vernalis* e *M. guianensis*, da família Sapotaceae, foram selecionadas, pois apresentaram comportamentos distintos de uso de nitrogênio apesar de pertencerem ao mesmo grupo ecológico e tentou-se abranger as diferentes famílias.

Entre as Myrtaceae, foram selecionada duas espécies de cada estratégia ecológica: *E. oblongata* e *M. guianensis* de secundárias iniciais e *E. cuprea* e *G. spectabilis* entre as secundárias tardias. Todas as espécies do grupo apresentaram uma elevada variabilidade entre indivíduos nos dados analisados, mas por ser uma das famílias mais importantes na floresta ombrófila (Souza & Lorenzi 2005) e com o maior número de espécies na área (34) sua presença em novos trabalhos seria de extrema importância. Entre as Myrtaceae analisadas essas foram as espécies presentes em maior quantidade na área. Além de apresentarem um uso de nitrogênio característica da família

Além das duas espécies da família Myrtaceae foram selecionadas secundárias tardias de outras famílias: *E. edulis* que apresentou pequena variabilidade nos parâmetros avaliados entre indivíduos, além do alto IVI (6,46); *O. dispersa* e *O. elegans* por serem as espécies com os maiores números de indivíduos na área, além de pertencerem a uma família importante na grupo de secundárias tardias (Lauraceae); *C. legalis*, que apesar de ter um pequeno número de indivíduos na área é uma espécie bem conhecida e estudadas no grupo das tardias e *C. viride*,

que apresentou uma menor variabilidade entre indivíduos em comparação com a outra espécie da família, além de ser uma das espécies com maior IVI entre as estudadas.

A família Fabaceae também apresentou duas espécies selecionadas, *A. pedicellaris* e *Z. latifolia* var. *glabrata*, que foram escolhidas por serem as espécies com maior número na parcela entre as espécies da família. Além disso, *Z. latifolia* var. *glabrata*, foi uma espécie com pequena variabilidade entre indivíduos, o que pode melhorar a observação de possíveis mudanças. Ela também é uma espécie de sub-bosque e é interessante ter espécie dos diferentes estratos, para observar como cada um é afetado, enquanto *A. pedicellaris* apresenta indivíduos de grande porte e de dossel e por ser uma família com uso de nitrogênio bem característico, era importante para avaliações futuras.

5. Considerações finais

No geral, as características de uso de nitrogênio corroboram o modelo proposto por Aida *et. al.* (2001), no qual espécies pertencentes a diferentes grupos sucessionais (pioneira, secundárias iniciais e secundárias tardias) teriam características diferentes quanto a assimilação, transporte e armazenamento de nitrogênio. Foram observados os seguintes resultados quanto aos diferentes grupos:

- As espécies pioneiras apresentaram uma maior atividade da enzima nitrato redutase na folha, um elevado conteúdo de nitrogênio foliar e alta concentração de nitrato e ASN na seiva do xilema.
- As secundárias iniciais não leguminosas apresentam baixa atividade da nitrato redutase foliar, reduzido conteúdo de nitrato no xilema e alta relação C:N semelhante as espécies tardias, com uma concentração elevada de nitrogênio foliar total e o GLN é o principal aminoácido translocado no xilema e característico do grupo.
- As secundárias iniciais leguminosas demonstram uma baixa atividade da nitrato redutase, um elevado conteúdo de nitrato no xilema e de nitrogênio foliar, uma reduzida razão C:N e ASN como principal forma de aminoácido transportado.
- As espécies tardias demonstraram uma baixa atividade da enzima na folha, um reduzido transporte de nitrogênio na seiva no inverno em comparação com o grupo de pioneiras, um menor conteúdo de nitrogênio foliar, ASN como principal forma de aminoácido translocado no xilema, sendo ARG e CIT importantes em algumas espécies, evidenciando que os grupos apresentam estratégias distintas de assimilação desse elemento.

Wellburn (1990) cita que podem ocorrer alterações na condutância estomática, que refletem na queda na transpiração. Possivelmente essa alteração influenciaria o conteúdo de nitrato na seiva, devido ao efeito de diluição ao se ter um maior fluxo de água no xilema (Ferguson *et. al.* 1982). Por isso, as espécies pioneiras poderiam ser as mais afetadas positivamente em relação ao transporte de nitrato na seiva com o aumento da deposição de

nitrogênio, já que apresentam uma maior taxa de perda de água em relação as tardias (Nogueira *et al.* 2004)

A presença de uma maior quantidade da enzima nitrato redutase em espécies pioneiras pode conferir a elas uma maior capacidade de evitar os efeitos danosos da emissão de NO_x gerada da queima de combustíveis fósseis. Nasholm (1991) apud Pearson & Stewart (1993) observou um aumento da atividade da nitrato redutase ao fumigar baixas concentrações de NO_x , isso pode indicar um papel chave da enzima para metabolização do poluente que entra na folha através dos estômatos. A avaliação dessa característica pode ser um indicativo das possíveis alterações no uso de nitrogênio das espécies arbóreas presentes na área de estudo devido a emissão de poluentes gerada pela queima de combustíveis fósseis na UTGCA.

As estratégias de uso de nitrogênio da Floresta Ombrófila Densa se mostram aplicáveis para a classificação das espécies em grupos ecológicos, mas os dados mostram que é necessário, além dessas informações, conhecer as características de cada família, pois ela irá influenciar a classificação de cada espécie. Já que muitas famílias, além das leguminosas, apresentaram particularidades em relação ao transporte de nitrogênio:

- A família Euphorbiaceae possui espécies que apresentam uma reduzida concentração de nitrato na seiva e GLN e ASN como principais formas de aminoácidos translocados no xilema.
- A família Lauraceae tem espécies com uma reduzida atividade da nitrato redutase, baixo conteúdo na seiva do xilema e ASN como a principal forma de N translocado.
- A família Myrtaceae apresentou espécies com uma elevada concentração de nitrato na seiva e GLN como principal forma de aminoácidos transportados na seiva do xilema.

O $\delta^{15}\text{N}$ apesar de não ter sido uma variável informativa quanto à diferenciação entre grupos ecológicos ou famílias poderá ser importante na avaliação dos efeitos da deposição para as espécies, já que provavelmente a fonte poluidora apresentará sinal característico como

já observado anteriormente em ecossistema semelhante por Stewart *et al.* (2002) e desse modo poderá ser utilizado como marcador da entrada de nitrogênio antropogênico no ecossistema.

Os dados de presença de nitrogênio *in situ* mostram que é necessária a substituição da técnica e as diferenças observadas entre estações teria relação com problemas na captação de íons pela resina do que com a menor disponibilidade dos íons no verão. Já os dados de atividade da nitrato redutase, conteúdo de nitrato foliar e na seiva do xilema apresentaram relação com o conteúdo do solo e demonstraram que no verão havia maior disponibilidade de nitrato disponível no solo do que no inverno.

A taxa de colonização de micorriza arbuscular apresentou uma elevada variabilidade de resultados e os valores não apresentaram diferenças entre as estações. Mesmo as micorrizas arbusculares sendo sensíveis ao enriquecimento de N (Egerton-Warburton *et al.* 2000), a elevada variabilidade observada entre pontos e estações neste trabalho pode impedir que se saiba se as variações são casuais ou geradas pela deposição, por isso essa análise não parece ser interessante para ser utilizada para os próximos estudos.

Os dados fornecem base para o acompanhamento a curto prazo dos possíveis efeitos gerados pelo aumento da emissão de poluentes pela UTGCA e foram pré-selecionadas 19 espécies entre as 36 utilizadas no estudo para esse acompanhamento. A seleção foi baseada nos dados fitossociológicos, de uso de nitrogênio, além de selecionar espécies pertencentes aos diferentes grupos ecológicos.

A disponibilidade de nutrientes é um dos mais importantes fatores abióticos que determinam a composição de espécies de plantas nos ecossistemas. N é o principal nutriente limitante para o crescimento de plantas em muitos ecossistemas naturais e semi-naturais, especialmente em habitats oligotróficos e mesotróficos. A maioria das espécies vegetais em tais ecossistemas esta adaptadas às condições de baixa disponibilidade de nutrientes (Tamm 1991, Aerts & Chapin 2000) e a série de eventos que ocorre quando há entrada de N é

altamente complexa. Muitos processos ecológicos interagem e operam em diferentes escalas temporais e espaciais. Como consequência, grande variabilidade na sensibilidade de espécies à deposição atmosférica N têm sido observadas em ambientes naturais e semi-naturais. Apesar da sequência diversificada de eventos, os principais efeitos da deposição de N são mudanças significativas no ciclo desse elemento, na composição específica da vegetação e na biodiversidade (Bobbink *et al.* 1998, 2010).

A severidade dos impactos da deposição atmosférica N depende de um número de fatores, dos quais os mais importantes são: (1) duração e o montante total de entradas; (2) forma química e física da entrada atmosférica de N; (3) sensibilidade intrínseca das espécies vegetais e animais presentes na área; (4) condições abióticas, incluindo clima; e (5) o histórico do uso e manejo do solo (Bobbink & Hettelingh 2011). Apesar desta complexidade, é possível generalizar alguns tipos de impactos e uma visão geral de sequência potencial de eventos é apresentada na figura 13.

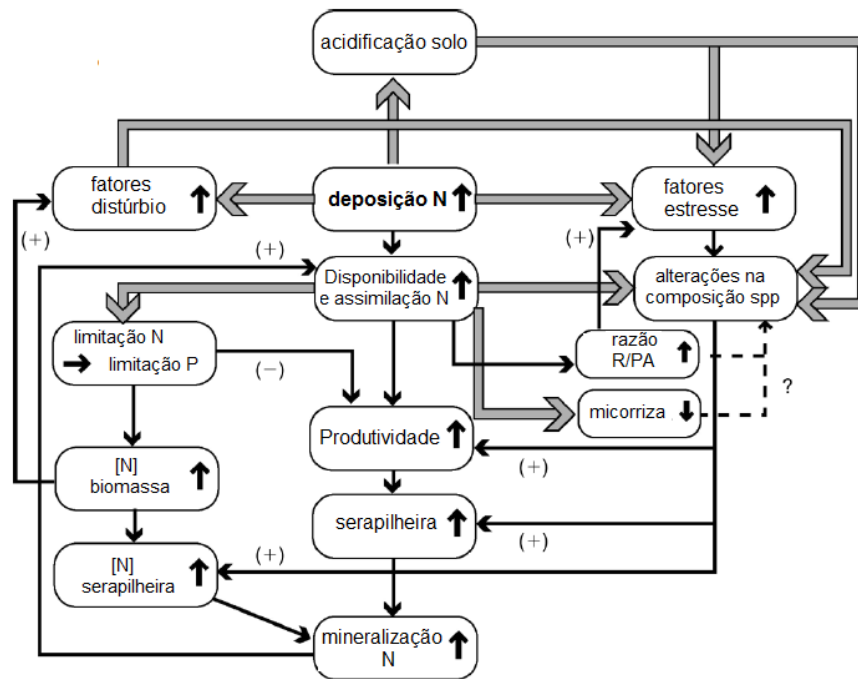


Figura 13. Esquema dos principais impactos do aumento da deposição de N em ecossistemas terrestres. Setas para cima indicam acréscimo; setas para baixo indicam decréscimo; Setas pretas entre as caixas indicam que o efeito de curto prazo; setas cinzas entre as caixas indicam efeito de longo prazo; efeitos positivos (+); efeitos negativos (-). Adaptado de Bobbink *et al.* 2010.

O conceito de “dose crítica empírica de nitrogênio” (empirical critical N load) para ecossistemas naturais e semi-naturais foi primeiramente apresentado em 1992 (Bobbink *et al.* 1992) e definido como: uma estimativa quantitativa de exposição a um ou mais poluentes acima do qual pode ocorrer efeitos adversos significativos em um elemento sensível do ambiente (incluindo elementos de recursos, estruturais ou função do ecossistema). Em relação a florestas, principalmente temperadas, Lokke *et al.* (2000) sugerem que os indicadores de alteração podem ser definidos segundo seu efeito ao longo da escala temporal:

- a) Curto prazo – química foliar (concentração de N, balanço de nutrientes, aminoácidos, vulnerabilidade à infecção por patógenos);

- b) Médio prazo – alterações na vegetação, incluindo espécies sensíveis; infestação por patógenos; infestação por micorriza e ocorrência de raízes finas; vitalidade de árvores;
- c) Longo prazo – biomassa aérea (madeira); saturação de bases (pH); infestação por parasitas e ou patógenos; lixiviação de nitrato; razão C/N.

As doses críticas empíricas de nitrogênio em quase todos os casos estudados são baseadas em observações de alterações na estrutura (abundância, composição e diversidade de espécies) e funcionamento (lixiviação de N, taxa de decomposição e ou mineralização) dos ecossistemas. Recentemente Bobbink *et al.* (2010) apresentam uma síntese do conhecimento adquirido até o momento e indicam que acúmulo de N é o principal fator de alteração na composição de espécies em um grande número de ecossistemas, pois modificam interações competitivas que levam à mudança de composição e/ou a condições desfavoráveis para algumas espécies. Os autores ressaltam que ecossistemas não limitados por N podem ser mais vulneráveis na fase de regeneração em situações onde a heterogeneidade na disponibilidade de nitrogênio é reduzida pela deposição atmosférica: especialmente em sistemas tropicais e subtropicais, solos arenosos e ecossistemas montanos.

Considerando estes aspectos abordados acima e os resultados obtidos nesse estudo, espera-se futuramente definir um protocolo empírico de avaliação do impacto potencial da deposição atmosférica de nitrogênio na área de estudo.

O primeiro aspecto é adaptar a metodologia para a caracterização da potencial deposição atmosférica de N como proposto por Allen *et al.* (2011) utilizando-se amostradores passivos (NO_2 , HNO_3 , NH_4) e ativos (aerossóis NO_3^- e NH_4^+), para se analisar as alterações de composição desses elementos no ar geradas pelas emissões da UTGCA-Petrobras. O segundo aspecto é avaliar as características do solo e suas potenciais alterações através de metodologia proposta por Vieira *et al.* (2011), já que a deposição afetaria a disponibilidade dos nutrientes nitrogenados no solo.

Esses dois aspectos teriam como objetivo dar uma maior base para a avaliação dos resultados obtidos no próximo aspecto estudado. O terceiro aspecto, diretamente relacionado a este trabalho é a seleção de espécies arbóreas mais adequadas para o monitoramento de curto prazo das potenciais alterações nas suas características ecofisiológicas no uso de nitrogênio. Desse modo, temos como objetivo, utilizar o modelo proposto por Aidar *et al.* (2003) e validado para a área de estudo, como uma ferramenta de monitoramento das potenciais alterações no funcionamento do ecossistema devido a deposição atmosférica de N originado da UTGCA-Petrobras em Caraguatatuba, SP.

6. Referências Bibliográficas

- Aerts, R. & Chapin, F.S.** 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research* 30: 1-67.
- Aidar, M.P.M., Godoy, J.R.L., Bergmann, J. & Joly, C.A.** 2001. Atlantic Forest succession over calcareous soil, Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR, SP. *Revista Brasileira de Botânica* 24(4): 455-469.
- 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.
- Allen, A.G., Machado, C.M.D., & Cardoso, A.A.** 2011. Measurements and modeling of reactive nitrogen deposition in southeast Brazil. *Environmental Pollution*, 159, 1190-1197.
- Alves, L.F. & Metzger, J.P.** 2006. A regeneração florestal em áreas de floresta secundária na Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, SP. *Biota Neotropica* 6(2): – <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n2/pt/abstract?article+bn00406022006>.
- Attiwill, P. & Adams, M.A.** 1993. Nutrient cycling in forests. *New Phytologist* 124:561-582.
- Barreto, A.C., Lima, F.H.S., Freire, M.B.G.S., Araújo, Q.R. & Freire, F.J.** 2006. Características químicas e físicas de um solo sob floresta, sistema agroflorestal e pastagem no sul da Bahia. *Revista Caatinga* 19(4): 415-425.
- Bewley, J.T.** 1981. *Nitrogen and Carbon Metabolism*. Springer, Holanda.
- Boeger, M.R.T., Kaehler, M., Melo Junior, J.C.F., Gomes, M.Z., Oliveira, L.S., Chaves, C.R.M. & Schottz, E.S.** 2006. Estrutura foliar de seis espécies do sobosque de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista. *Hoehnea* 33(4): 521-531.
- Bobbink, R., Boxman, D., Fremstad, E., Heil, G., Houdijk, A. & Roelofs, J.** 1992. Critical loads for nitrogen eutrophication of terrestrial and wetland ecosystems based upon changes in vegetation and fauna. In: Grennfelt, P. & Thörnelöf, E. (eds.), *Critical loads for nitrogen*. Nord (Miljörapport) 1992:41, 111-159. Nordic Council of Ministers, Copenhagen.
- Bobbink, R., Hornung, M. & Roelofs, J.G.M.** 1998. The effects of air-borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural European vegetation. *Journal of Ecology* 86, 717-738.

- Bobbink, R., Hicks, K., Galloway, J., Spranger, T., Alkemade, R., Ashmore, M., Bustamante, M., Cinderby, S., Davidson, E., Dentener, F., Emmett, B., Erisman, J-W., Fenn, M., Gilliam, F., Nordin, A., Pardo, L., & De Vries, W.** 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on plant terrestrial biodiversity: a synthesis. *Ecological Applications*: 20, 30-59.
- Bobbink, R. & Hettelingh, J.P.** 2011. Review and revision of empirical critical loads and dose-response relationships. Proceedings of an expert workshop. Noordwijkerhout, The Netherlands, 23-25 June 2010. Ed. UNECE Coordination Centre for Effects, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM).
- Brandão, C.F.L.S., Marangon, L.C., Ferreira, R.L.C. & Lins e Silva, A.C.B.** 2009. Estrutura fitossociológica e classificação sucessional do componente arbóreo em um fragmento de floresta atlântica em Igarassu – Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 4(1): 55- 61.
- Bredemeier, C. & Mundstock, C.M.** 2000. Regulação da absorção e assimilação de nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural* 30(2): 365-372.
- Campos, M.M.S.** 2009. Ecofisiologia do uso de nitrogênio em espécies arbóreas da floresta ombrófila densa das terras baixas, Ubatuba, SP. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- 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. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 6:71-80.
- Cervi, C.A., Hatschbach, G.G. & Von Linsinger, L.** 2007. Composição florística de um trecho de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (Floresta Atlântica) na reserva ecológica Sapitanduva (Merretes, Paraná, Brasil). *Fontqueria* 55(52) 423: 438.
- CIIAGRO online.** 2011. Centro integrado de informações agrometeorológicas. In: <http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>.
- Craine, J.M., Elmore, A.J., Aida, 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, R.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* 183: 980-992.
- Creveland, C.C., Townsend, A.R., Schimel, D.S., Fisher, H., Howarth, R.W., Hedin, L.O., Perakis, S.S., Latty, E.F., Von Fisher, J.C., Elseroad, A., & Wasson, M.F.** 1999. Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N-2) fixation in natural

- ecosystems. *Global Biogeochemistry* 13(3): 141-166.
- Dambrine, E., Martin, F., Carisey, N., Granier, A., Hällgren, J. & Bishop, K.** 1995. Xylem sap composition: a tool for investigating mineral uptake and cycling in adult spruce. *Plant and Soil* 168-169: 233-241.
- Dawson, T.E., Mambelli, S., Plamboeck, A.H., Templer, P.H. & Tu, K.P.** 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematic* 33: 507-559.
- Egerton-Warburton, L.M. & Allen, B.** 2000. Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecological application* 10: 484-496.
- Estudo de impacto ambiental.** 2006. Estudo de dispersão das emissões atmosféricas da UTGCA.
- Ferguson, A.R., Eiseman, J.A. & Leonard, J.A.** 1982. Xylem sap from *Actinidia chinensis*: seasonal changes in composition. *Annals of Botany* 51:823-833.
- Forde, B.G. & Lea, P.J.** 2007. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling. *Journal of Experimental Botany* 58(9): 2339-2358.
- Fujimaki, R., Sakai, A. & Kaneko, N.** 2009. Ecological risks in anthropogenic disturbance of nitrogen cycles in natural terrestrial ecosystems. *Ecological Research* 24(5): 955-964.
- 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. & Vorosmarty, C.J.** 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70: 153–226.
- Gandolfi, S.** 1991. Estudos florísticos e fitossociológicos de uma floresta residual na área do Aeroporto Internacional de São Paulo, município de Guarulhos. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- 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, São Paulo.
- Garcia, P.O.** 2007. Estrutura e composição de estrato arbóreo em diferentes trechos da Reserva Biológica Municipal Santa Cândida, Juiz de Fora - MG. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais.
- Giotto, A.C, Miranda, F.S. & Munhoz, C.B.R.** 2008. Avaliação da germinação e crescimento inicial de *Matayba guianensis* Aubl. Sob diferentes níveis de

- sombreamento. IX Simpósio Nacional sobre Cerrado, Brasília.
- Giovannetti M. & Mosse B.** 1980. Evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Högberg, P.** 2007. Nitrogen impacts on forest carbon. *Nature* 447: 781-782.
- Joly, C.A., Aidar, M.P. M., Klink, C.A., Mcgraph, D.G., Moreira, A.G., Moutinho, P., Nepstad, D.C., Oliveira, A.A., Pott, A. & Sampaio, E.V.S.B.** 1999. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. *Ciência e Cultura* 51(5/6): 331-348.
- Kaiser, W.M. & Brendle-Behnisch, E.** 1991. Rapid modulation of spinach leaf nitrate reductase activity by photosynthesis I. Modulation in vivo by CO₂ availability. *Plant Physiology* 96: 363–367.
- Lawlor, D.W.** 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* 53(370): 773–787.
- Lea P.J. & Azevedo R.A.** 2007. Nitrogen use efficiency. 2. Amino acid metabolism. *Annals of Applied Biology* 151: 269-275.
- Lea, P.J., Sodek, L., Parry, M.A.J. Shewry, P.R. & Halford, W.G.** 2007. Asparagine in plants. *Annual Applied Botany* 150: 1-26.
- Lokke, H., Bak, J., Bobbink, R., Bull, K., Curtis, C., F.-, Grerup, U., Forsius, M., Gundersen, P., Hornung, M., & Skjelkvåle, B.L., Starr, M. & Tybirk, K.** 2000. Critical Loads. Conference Report Prepared by Members of the Conference's Secretariat, the Scientific Committee and Chairmen and Rapporteurs of its Workshops in Consultation with the UN/ECE Secretariat. Critical Loads. National Environmental Research Institute, Denmark. (p. 48p).
- Magalhães, F.M.M., Magalhães, L.M.S., Oliveira, L.A. & Dobereiner, J.** 1982. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus – AM. *Acta Amazonica* 12(3): 509-514.
- Malaguti, D., Millard, P., Wendler, R., Hepburn, A. & Tagliavini, M.** 2001. Translocation of amino acids in xylem of apple (*Malus domestica* Bhrkh.) trees in spring as a consequence of both N remobilization and root uptake. *Journal of Experimental Botany* 52(361): 1665-1671.
- 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.

- Matson, P., 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.
- Medeiros, M.C.M.P.** 2009. Caracterização fitofisionômica e estrutural de áreas de Floresta Ombrófila Densa Montana no Parque Estadual da Serra do Mar, SP, Brasil. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Millard, P., Wendler, R., Hepburn, A. & Smith, A.** 1998. Variations in the amino acid composition of xylem sap of *Betula pendula* Roth. trees due to remobilization of stored N in the spring. *Plant, Cell and Environment* 21: 715-722.
- Mittermeier, R.A., Gil, P.R., Hoffman, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., Lamourex, J. & Fonseca, G.A.B.** 2004. Hotspots revisited. Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. Cemex, Mexico, pp. 392.
- Moreira, S.L.S., Pontvianne, A.A, Campos, A.N.R. & Martins, M.L.** 2011. Micorrizas arbusculares em *Euterpe edulis* Martius (Palmeira Juçara). Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia 6 (2), Fortaleza.
- Myers, N., Mittermeier, R.A, Mittermeier, C.G., Fonseca, G. A. B. & Kent, J.** 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 852-858.
- 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. apud Pearson, J. & Stewart, G.R.** 1993. The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants. *New Phytologist* 125: 283-305.
- Nimer, E.** 1979. Climatologia da região sudeste. In: _____. Climatologia do Brasil. IBGE, Rio de Janeiro, pp. 211-305.
- Nunes, Y.R.F., Mendonça, A.V.R., Botezelli, L., Machado, E.L.M. & Oliveira-Filho, A.T.** 2003. Variações da fisionomia, diversidade e composição de guildas da comunidade arbórea em um fragmento de floresta semidecidual em lavras, MG. *Acta Botanica Brasilica* 17 (2): 213-229.
- Oliveira, R.R.** 2002. Ação antrópica e resultados sobre a estrutura e composição da Mata Atlântica na Ilha Grande, RJ. *Rodriguésia* 53(82): 33- 58.
- Paula, A., Silva, A.F., De Marco Júnior, P., Santos, F.A.M. & Souza, A.L.** 2004. Sucessão ecológica da vegetação arbórea em uma Floresta Estacional Semidecidual, Viçosa, MG, Brasil. *Acta Botânica Brasilica* 18(3): 407-423.

- 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 Estadual de Campinas, Campinas.
- Peterson, B.J. & Fry, B.** 1987. Stapes isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematic* 18: 293-320.
- Phillips J. & Hayman D.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.
- Phoenix, G.K., Hicks, W., Cinderby, S., Kuylenstierna, 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.
- Prado Junior, J.A., Vale, V.S., Oliveira, A.P., Gusson, A.E., Dias Neto, O.C., Lopes, S.F. & Schiavini.** 2010. Estrutura da comunidade arbórea em um fragmento de floresta estacional semidecidual localizada na reserva legal da fazenda Irara, Uberlândia. *Bioscience Journal* 26(4) 638-647.
- Projeto RADAMBRASIL.** 1983. Folhas SC-32 Rio de Janeiro/Vitória: geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, uso potencial do solo, levantamento de recursos naturais. Ministério das Minas e Energia, Rio de Janeiro, pp. 775.
- R Development Core Team.** 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Reed, A.J. & Hageman, R.H.** 1980. Relationship between nitrate uptake, flux, and reduction and the accumulation of reduced nitrogen in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* 66: 1179-1183.
- Rosado, B.H.P.** 2011. Ecologia funcional de árvores de Mata Atlântica: o papel de atributos morfológicos, grau de exposição da copa e altitude sobre o uso da água das espécies. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Santos, F.V., Solórzano, A., Guedes-Bruni, R.R & Oliveira, R.R.** 2006. Composição do estrato arbóreo de um paleoterritório de carvoeiros no maciço da Pedra Branca, RJ. *Pesquisas, Botânica* 57: 181- 192.
- Sawazaki, H.E., Sodek, L. & Teixeira, J.P.F.** 1987. Transporte de compostos nitrogenados em soja cultivada com diferentes fontes de nitrogênio. *Bragantia* 46(2): 291-302.

- Schmidt, S. & Stewart, G.R.** 1998. Transport, storage and mobilization of nitrogen by trees and shrubs in the wet/dry tropics of northern Australia. *Tree Physiology* 18: 403-41.
- Schorn, L.A. & Galvão, F.** 2009. Dinâmica do estrato arbóreo em três estádios sucessionais de uma floresta ombrófila densa em Blumenau, SC. *CERNE* 15(2): 221-235.
- Setzer, J.** 1996. Atlas climático ecológico do Estado de São Paulo. Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguai, São Paulo.
- Silva, A.F., Oliveira, R.V., Santos, N.R.L. & Paula, A.** 2003. Composição florística e grupos ecológicos das espécies de um trecho de floresta semidecídua submontana da fazenda São Geraldo, Viçosa-MG. *Revista Árvore* 27(3): 311-319.
- Smirnoff, N., Todd, P. & Stewart, G.R.** 1984. The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annals of Botany* 54: 363–374.
- Smith, J.L. & Rice, E.L.** 1983. Differences in nitrate reductase activity between species of difference stages in old field succession. *Oecologia* 57: 43-48.
- Souza, E.R.** 2008. Perdas de nitrogênio pela emissão de óxido nitroso (N₂O) e sua relação com a decomposição da serapilheira e biomassa de raízes na floresta de Mata Atlântica. Dissertação de mestrado, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H.** 2005. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias em Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Instituto Plantarum, São Paulo.
- SOS Mata Atlântica/INPE.** 2011. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica, período 2008-2010.
- 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., 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.
- Stewart, G.R., Aida, M.P.M., Joly, C.A. & Schmidt, S.** 2002. Impacts of point source pollution on nitrogen isotope signatures (¹⁵N) of vegetation in SE Brasil. *Oecologia* 131: 468-472.
- Stitt, M. & Krapp, A.** 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant, Cell and Environment* 22: 583–621.
- Tabarelli, M. & Mantovani, W.** 1999. Clareiras naturais e a riqueza de espécies pioneiras

- em uma Floresta Atlântica Montana. *Revista Brasileira de Biologia* 59(2): 251-261.
- Tabarelli, M., Mantovani, W. & Peres, C.A.** 1999. Effects of habitat fragmentation on plant guild structure in the Montane Atlantic forest of southeastern Brazil. *Biological Conservation* 91: 119-127.
- Taiz, L. & Zeiger, E.** 2009. *Fisiologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre.
- Tamm, C.O.** 1991. Nitrogen in terrestrial ecosystems, Question of productivity, vegetational changes, and ecosystem stability. Springer Verlag, Berlin.
- Treseder, K.K. & Allen, M.K.** 2000. Mycorrhizal fungi have a potential role in soil carbon storage under elevated CO₂ and N deposition. *New Phytologist* 147: 189-200.
- 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.
- 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(3): 421-34.
- Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H. & Tilman, D.G.** 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7: 737- 750.
- Wellburn, A.R.** 1990. Why are atmospheric oxides of nitrogen usually phytotoxic and not alternative fertilizers? *New Phytologist* 115: 395-420.
- Whitmore, T.C.** 1990. *An introduction to the tropical rain forests*. Clarendon Press, Oxford.
- Xia, J., & Wan, S.** 2008. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. *New Phytologist* 179: 428–439.
- Zangaro, W., Nisizaki, S.M.A., Domingos, J.C.B. & Nakano, E.M.** 2002. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi, Paraná. *CERNE* 82: 77-87.