

INFLUÊNCIA DO CORTE RASO DE EUCALIPTO EM ESPÉCIES  
ARBÓREAS DE MATA ATLÂNTICA: FOTOACLIAMATAÇÃO E  
ALTERAÇÕES ISOTÓPICAS DE C E N NO SISTEMA SOLO-PLANTA

**MILENA CARVALHO TEIXEIRA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

MARÇO - 2017

INFLUÊNCIA DO CORTE RASO DE EUCALIPTO EM ESPÉCIES  
ARBÓREAS DE MATA ATLÂNTICA: FOTOACLIAMATAÇÃO E  
ALTERAÇÕES ISOTÓPICAS DE C E N NO SISTEMA SOLO-PLANTA

**MILENA CARVALHO TEIXEIRA**

“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais.”

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Angela Pierre Vitória

Campos dos Goytacazes - RJ  
Março - 2017

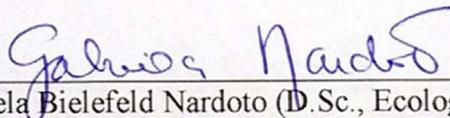
INFLUÊNCIA DO CORTE RASO DE EUCALIPTO EM ESPÉCIES  
ARBÓREAS DE MATA ATLÂNTICA: FOTOACLIAMATAÇÃO E  
ALTERAÇÕES ISOTÓPICAS DE C E N NO SISTEMA SOLO-PLANTA

**MILENA CARVALHO TEIXEIRA**

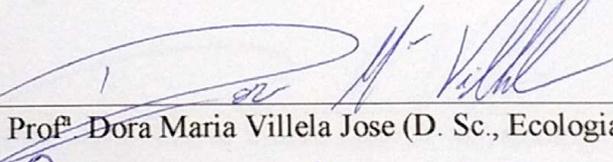
“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro”, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais.”

Aprovada em 29 de março de 2017.

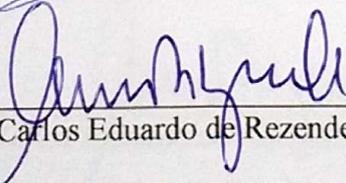
Comissão Examinadora:



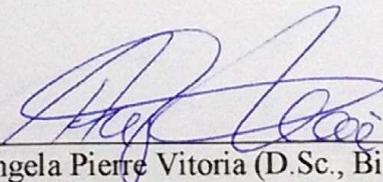
Prof<sup>ª</sup>. Gabriela Bielefeld Nardoto (D.Sc., Ecologia Aplicada) – UNB



Prof<sup>ª</sup>. Dora Maria Villela Jose (D. Sc., Ecologia) – UENF



Prof<sup>ª</sup>. Carlos Eduardo de Rezende (D.Sc., Ciências Biológicas) – UENF



Prof<sup>ª</sup>. Angela Pierre Vitoria (D.Sc., Biologia Vegetal) – UENF  
(Orientadora)

*"enquanto eu tiver perguntas e não houver respostas continuarei a escrever."  
Clarice Lispector*

## AGRADECIMENTOS

Minha eterna gratidão aos meus pais, irmãos e familiares pelo apoio, paciência e amor incondicional. Em especial ao Renato por não medir esforços em ajudar, pelo companheirismo, carinho, paciência, estímulo e, sobretudo, pelo amor sempre presente.

À Dr.<sup>a</sup> Angela Pierre Vitória, pela orientação e oportunidade de desenvolver este trabalho, que contribuíram significativamente para minha formação profissional.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao ICMBio pela concessão da licença de pesquisa.

À Administração da REBIO União pela infraestrutura.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, em especial aos professores formadores do Conselho Acadêmico (C.A.) Dr.<sup>o</sup> Carlos Eduardo de Rezende e prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Marcelo Trindade Nascimento, pelas críticas construtivas ao projeto de tese.

A colaboração da professora Gabriela Nardoto na sugestão de forma de coleta dos dados de isótopos e na paciente ajuda em ensinar e sanar algumas dúvidas.

A professora Maura da Cunha pela contribuição crítica na confecção das imagens de microscopia de varredura. E em especial, a doutoranda Fernanda Gomes Trindade pela dedicação, responsabilidade, paciência e amizade durante a obtenção das imagens de microscopia de transmissão.

Ao professor Tito Cesar Marques de Almeida pela contribuição estatística e a doutoranda Tatiane Oliveira Vieira pelas sugestões durante a submissão do artigo.

Aos técnicos do laboratório de Ciências Ambientais (LCA), Marcelo Almeida, Braúlio Cherene e ao aluno de pós doutorado Marcos Franco pelo auxílio nas análises laboratoriais. As técnicas do laboratório de Biociências e Biotecnologia (LBCT), Bia e Márcia Adriana pelo auxílio nos trabalhos laboratoriais. E a secretária de pós-graduação, Beth, sempre solícita a ajudar e sanar as dúvidas.

Aos motoristas e aos técnicos de campo Gerson Rocha da Purificação e Helmo Siqueira Carvalho, do LCA, pelo auxílio nos trabalhos de campo.

Aos amigos do laboratório, em especial a Tatiane Oliveira Vieira, Maria Angélica C. Gomes, Jorge Luís Santos, Andresa Lana Thomé Bizzo, Thaís dos Santos Alencar, pelo apoio nas atividades de campo e laboratório e, principalmente, pela amizade que permanece. E aos amigos de pós-graduação Inácio, Thalita, Clara, Aline.

<b>SUMÁRIO</b>	<b>Página</b>
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS .....	X
LISTA DE TABELAS .....	XII
LISTA DE FIGURAS .....	XIV
RESUMO .....	XVII
ABSTRACT .....	XIX
<hr/>	
Estrutura da Tese e Objetivos .....	1
Introdução Geral .....	2
1.1. Mata Atlântica, manejo florestal e fotoinibição .....	2
1.2. Solos de eucalipto e manejo florestal .....	5
1.3. Objetivo geral .....	6
1.4. Hipótese geral .....	6
1.4.1. Hipóteses específicas .....	6
2. Referências bibliográficas .....	7
3. Área de estudo .....	12
3.1. Localização e histórico da Reserva Biológica União .....	12
3.2. Características ambientais da Reserva Biológica União .....	13
3.3. Características dos plantios de <i>Corymbia citriodora</i> estudados na Reserva Biológica União .....	14
3.4. Características da área de mata secundária estudada na Reserva Biológica União .....	15
4. Referências bibliográficas .....	17
<hr/>	
<b>CAPÍTULO 1. Fotoaclimação de espécies arbóreas de Mata Atlântica após corte raso de eucaliptais na REBIO União .....</b>	<b>18</b>
Resumo .....	18
Abstract .....	19
1. Introdução .....	20
2. Hipótese .....	23
3. Material e Métodos .....	23
3.1. Área de estudo, espécies e período de amostragem .....	23
3.2. Caracterização ambiental .....	24

3.3. Medições ecofisiológicas .....	24
3.3.1. Emissão de Fluorescência da Clorofila <i>a</i> .....	24
3.3.2. Medidas de Trocas Gasosas e suas Correlações .....	25
3.4. Medidas de área foliar específica .....	25
3.5. Medições isotópicas .....	25
3.5.1. Determinação de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio foliar .....	25
3.6. Medições ultra-estruturais .....	26
4. Estatística .....	26
5. Resultados .....	27
5.1. A remoção de eucalipto alterou a razão isotópica de C e as trocas gasosas .....	27
5.2. Ausência de fotoinibição independente do manejo ou da sazonalidade .....	32
5.3. Alteração morfológicas e ultra-estruturais em função do manejo florestal .....	33
6. Discussão .....	35
6.1. Alterações temporais de isótopos de C e sazonais nas trocas gasosas em função do manejo florestal .....	35
6.2. Ausência de estresse fotoquímico em função da sazonalidade ou do manejo florestal: influência das alterações ultra-estruturais .....	37
6.3. Variações na morfologia e delta <sup>13</sup> C foram moduladas por variações ambientais .....	39
7. Conclusão .....	40
8. Referências bibliográficas .....	42
<hr/>	
<b>CAPÍTULO 2. Fotoinibição em espécies nativas da Mata Atlântica: respostas aclimatativas em curto prazo à irradiância direta .....</b>	<b>52</b>
Resumo .....	52
Abstract .....	53
1. Introdução .....	54
2. Material e Métodos .....	55
3. Resultados .....	56
3.1. Fluorescência da clorofila <i>a</i> e pigmentos fotossintéticos .....	56
4. Discussão .....	57

5. Conclusão .....	60
6. Agradecimento .....	60
7. Bibliografia .....	63
<hr/>	
<b>CAPÍTULO 3. Alterações isotópicas de carbono e nitrogênio em sistema solo-planta na floresta Atlântica .....</b>	<b>66</b>
Resumo .....	66
Abstract .....	67
1. Introdução .....	68
2. Objetivo .....	72
3. Hipótese .....	72
4. Material e Métodos .....	72
4.1. Área de Estudo .....	72
4.2. Espécies vegetais e número amostral .....	73
4.3. Coleta e preparo das amostras de folha para análises isotópicas ....	74
4.4. Coleta e preparo de amostra do solo para análises isotópicas .....	75
4.5. Determinação das frações granulométricas do solo .....	75
4.6. Coleta e triagem de serapilheira sobre o solo .....	76
4.7. Determinação de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio .....	77
5. Análise de dados .....	78
6. Resultados .....	78
7. Discussão .....	83
7.1. Alterações do $\delta^{13}\text{C}$ em todos os compartimentos do ecossistema em função do uso do solo e do manejo florestal .....	83
7.2. Diferenças na dinâmica do N no sistema solo-planta em função do manejo florestal .....	85
7.3. A alteração da vegetação pós manejo modificou as propriedades do solo e a concentração elementar e isotópica de C e N .....	88
8. Conclusão .....	90
9. Referências bibliográficas .....	91
<hr/>	
<b>Discussão Geral .....</b>	<b>103</b>
<b>Referências bibliográficas .....</b>	<b>107</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A	Assimilação fotossintética de CO <sub>2</sub> (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
C <sub>i</sub>	Concentração interna de CO <sub>2</sub> (μmol mol <sup>-1</sup> )
Clo	Clorofila
DMSO	Dimetilsulfóxido
$F_m/F_o$	Taxa de rendimento da fluorescência máxima pela mínima
FSII	Fotossistema II
$F_v/F_m$	Rendimento quântico máximo do fotossistema II
$g_s$	Condutância estomática (mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NPQ	Coefficiente de dissipação não-fotoquímico de Stern-Volmer
qP	Coefficiente de dissipação fotoquímico
REBIO	Reserva Biológica União
$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo do fotossistema II
Clo <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
Clo <i>b</i>	Clorofila <i>b</i>
Caro	Carotenoide
Clo totais	Clorofilas totais
Clo totais/caro	Clorofilas totais/carotenoides
EROS	Espécies reativas de oxigênio
ARE	Antes da remoção do eucalipto
DRE	Depois da remoção do eucalipto
δ <sup>13</sup> C	Razão isotópica = Delta <sup>13</sup> C
δ <sup>15</sup> N	Razão isotópica = Delta <sup>15</sup> N
C	Carbono
N	Nitrogênio
C:N	Relação carbono:nitrogênio
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
FSII	Fotossistema II
AFE	Área foliar específica
<sup>13</sup> C	isótopos estáveis de carbono-13
<sup>12</sup> C	isótopos estáveis de carbono-12
N <sub>2</sub>	Gás nitrogênio

NH <sup>4+</sup>	Amônio
NO <sup>3-</sup>	Nitrato
LCA	Laboratório de Ciências Ambientais
UENF	Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
LBCT	Laboratório de Biologia Celular e Tecidual
Am	Amido
CF	Composto fenólico
MET	Microscópio eletrônico de transmissão
DPV	Déficit de pressão de vapor
MOS	Matéria orgânica do solo
MO	Matéria orgânica
CAM	Crassulacean Acid Metabolism
C <sub>3</sub>	Síndrome fotossintética C <sub>3</sub>
C <sub>4</sub>	Síndrome fotossintética C <sub>4</sub>
NaOH	Hidróxido de sódio
TFSA	Terra fina seca ao ar
A <sub>w</sub>	Atividade da água
C <sub>a</sub>	Concentração externa de CO <sub>2</sub> na folha
S	Símbolo do elemento Enxofre
P	Símbolo do elemento Fósforo
Ca	Símbolo do elemento Cálcio
Fe	Símbolo do elemento Ferro
MOP	matéria orgânica particulado
MOM	matéria orgânica mineral
FBN	fixação biológica de nitrogênio

## LISTA DE TABELAS

Página

- Tabela 1.** Caracterização das condições das áreas de estudo (Mata; ARE – antes da remoção de eucalipto; DRE – depois da remoção de eucalipto) na REBIO União, em janeiro de 2013 e fevereiro de 2014. – não aplicável ..... 24
- Tabela 2.** Regressão linear entre a assimilação fotossintética de CO<sub>2</sub> (A) e condutância estomática (g<sub>s</sub>) nos períodos seco e chuvoso para *Byrsonima sericea*, *Xylopia sericea* e *Siparuna guianensis* na REBIO União nas áreas de mata; antes da remoção do dossel de eucalipto (ARE); depois da remoção do dossel de eucalipto (DRE). Período seco ARE (maio de 2013); DRE (julho de 2014), período chuvoso ARE (janeiro de 2013); DRE (fevereiro de 2014). – ..... 30
- Tabela 3.** Média ± desvio padrão para C (elementar e isotópico, δ<sup>13</sup>C), e razão C/N em folhas de *Byrsonima sericea*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia sericea* na REBIO União no período chuvoso. Letras maiúsculas comparam ambientes para a mesma espécie. ARE (antes da remoção do eucalipto) e DRE (depois da remoção de eucalipto) ..... 31
- Tabela 4.** Média ± desvio padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>, qP e NPQ) nas espécies *Siparuna guianensis*, *Xylopia sericea*, *Byrsonima sericea* na REBIO União, em três áreas (mata, antes e depois da remoção do plantio de eucalipto), durante os períodos (chuvoso e seco). Letras maiúsculas comparam entre áreas e letras minúsculas comparam entre períodos para cada espécie. Média ± erro padrão. n= 5-7. ARE (antes da remoção do eucalipto) e DRE (depois da remoção de eucalipto) ..... 32
- Tabela 1.** Caracterização das condições das áreas de estudo (mata secundária, área manejada há 12 meses (M12) e área manejada há 3 meses (M3)) na REBIO União, em dezembro de 2013. – não aplicável ..... 73
- Tabela 2.** Lista de espécies nativas da Mata Atlântica e suas respectivas famílias botânicas na área de mata secundária da REBIO União. N = 5-10 ..... 74
- Tabela 3.** Distribuição das frações granulométricas de acordo com Wentworth

(1922).....	76
<b>Tabela 4.</b> Materiais de referência para granulômetro SLAD 3103 .....	76
<b>Tabela 5.</b> Carbono elementar, Nitrogênio elementar e a razão C:N em três compartimentos (solo, frações da serapilheira e folhas) em solos da REBIO União (mata secundária, área manejada há 12 meses (M12) e área manejada há 3 meses (M3)). Letras maiúsculas comparam as áreas e letras minúsculas comparam os compartimentos. Média e erro padrão. n = 25 (solo e frações da serapilheira) e n = 5 – 10 (folhas). Ser. Serapilheira .....	81

## LISTA DE FIGURAS

Página

- Figura 1.** Localização da Reserva Biológica União no Estado do Rio de Janeiro .... 12
- Figura 2.** Disposição das áreas de estudo: mata, talhão 17 (M12) e talhão 39c (M3) de eucaliptos *Corymbia citriodora*, na Reserva Biológica, RJ..... 14
- Figura 3.** Aspecto da regeneração natural de espécies nativas de Mata Atlântica no talhão 17 (M12) (A) e do talhão 39c (M3) (B) de eucalipto *Corymbia citriodora*, na Reserva Biológica União, RJ..... 15
- Figura 1.** Média e erro padrão da relação entre  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) e  $A$  (assimilação fotossintética) ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (A, C e E), e entre  $\delta^{13}\text{C}$  e  $g_s$  (condutância estomática) ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (B,D e F) para *Byrsonima sericea* (A e B), *Siparuna guianensis* (C e D) e *Xylopia sericea* (E e F) em janeiro de 2013 (antes da remoção de eucalipto, quadrado fechado) e fevereiro de 2014 (um ano depois da remoção de eucalipto, círculo aberto), em amostras de herbário (círculo fechado) e na área de mata (triângulo fechado) na REBIO União.  $n = 5$  ..... 28
- Figura 2.** Regressão linear entre  $A$  ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e  $g_s$  ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) para *Byrsonima sericea* (A, D e G), *Siparuna guianensis* (B, E e H) e *Xylopia sericea* (C, F e I) durante o período seco (símbolo aberto) (maio de 2013, julho de 2014) e período chuvoso (símbolo fechado) (janeiro de 2013 e fevereiro de 2014) na REBIO União. A,B,C = mata; D,E,F = ARE (talhão 17 de eucalipto antes da sua remoção) e G,H,I = DRE (talhão 17 de eucalipto um ano após a sua remoção). Presença de linhas =  $P > 0.01$  ..... 29
- Figura 3.** Área foliar específica ( $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ) das espécies *Siparuna guianensis*, *Xylopia sericea*, *Byrsonima sericea* na REBIO União, em três áreas (mata, antes (ARE) e depois (DRE) da remoção do plantio de eucalipto). Letras maiúsculas comparam entre áreas para cada espécie. Média  $\pm$  erro padrão.  $n = 15$ ..... 33
- Figura 4.** Microscopia eletrônica de transmissão (MET) de células do parênquima paliçádico de *B. sericea* (A,B,C), *S. guianensis* (D,E,F) e *X. sericea* (G,H,I) coletadas em janeiro de 2013 (antes) e dezembro de 2014 (depois). Mata (A,D,G),

antes (B,E,H) e depois (C,F,I) da remoção do dossel de eucalipto na REBIO União – RJ. Am. grãos de amido; CF. compostos fenólicos; \* plastoglóbulos; seta branca. tilacóides; OI. gotas de óleo ..... 34

**Figura 1.** Fluorescência da clorofila *a* ( $F_v/F_m$ ,  $\Delta F/F_m'$ ,  $qP$  e NPQ) para as espécies *S. guianensis* ( $\triangle$ ); *X. sericea* ( $\circ$ ); *B. sericea* ( $\square$ ) ao longo de 120 dias de exposição direta à irradiância e durante as horas do dia (8h: A, D,G,J; 12h: B, E, H, K, e 16 h: C, F, I, L) e pigmentos fotossintéticos (clorofila b, carotenoides e clorofilas totais/carotenoides) ao longo de 120 dias as 12h (M, N, O). Letras maiúsculas foram estatisticamente significativas ao longo dos dias. \* indica que foi estatisticamente significativo para hora do dia ..... 61

**Figura 2.** Análise de componentes principais considerando os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* ( $F_v/F_m$ ,  $\Delta F_m/F_m'$ ,  $qP$ , NPQ) e pigmentos fotossintéticos (clorofila a, clorofila b e carotenoides) de *Siparuna guianensis* ( $\triangle$ ), *Xylopiya sericea* ( $\circ$ ) e *Byrsonima sericea* ( $\square$ ) antes da exposição direta à irradiância (0 dias) e após a exposição direta à irradiância (120 dias). Símbolos fechados (0 dias) e símbolos abertos (120 dias) ..... 62

**Figura 1.** Imagens das áreas na REBIO União. (A) mata secundária; (B) área manejada há 12 meses M12; (C) área manejada há 3 meses (M3) ..... 73

**Figura 2.** Imagem do quadrado 20 x 20 cm para serapilheira e solo ..... 75

**Figura 3.** Delta  $^{13}C$  e  $^{15}N$  em três compartimentos: folhas, frações de serapilheira sub-divididas em folhas; resto; “flores + frutos”; madeira, e solo de três áreas: mata secundária (preto), área manejada há 12 meses (M12) (cinza claro) e área manejada há 3 meses (M3) (cinza escuro) na REBIO União em dezembro de 2013. Ser = serapilheira. Letras maiúsculas entre áreas e letras minúsculas entre compartimentos..... 79

**Figura 4.** Regressão linear entre delta  $^{15}N$  com o delta  $^{13}C$  e a concentração de elementar (%) para os compartimentos (folha (circulo fechado), frações de serapilheira (quadrados em escala de cinza) e solo (triângulo fechado)) na área de

mata secundária (A, B); área manejada há 12 meses (M12) (C, D) e área manejada há 3 meses (M3) (E, F) na REBIO União em dezembro de 2013 ..... 80

**Figura 5.** Regressão linear entre o delta  $^{15}\text{N}$  do solo e a razão C:N do solo nas áreas de mata secundária (círculos em preto), área manejada a 12 meses (quadrado em branco) e área manejada a 3 meses (triângulo em cinza).  $n=25$ .  $P<0,01$ ..... 82

**Figura 6.** Média e erro padrão da porcentagem das frações areia (2 mm – 63  $\mu\text{m}$ ) (branco), silte (63  $\mu\text{m}$  – 4  $\mu\text{m}$ ) (cinza claro) e argila (< 4  $\mu\text{m}$ ) (preto) em três solos da REBIO União: mata secundária (A), área manejada há 12 meses (M12) (B) e área manejada há 3 meses (M3) (C). Letras maiúsculas entre áreas (mata, área manejada há 12 meses (M12) e área manejada há 3 meses (M3)) e letras minúsculas entre as frações.  $n = 25$  ..... 83

## RESUMO

A heterogeneidade ambiental e principalmente a variação da irradiância após o manejo florestal podem levar a diferenças entre as espécies na fotoaclimação fotossintética, morfogênese e crescimento. Alterações isotópicas no sistema solo-planta também são esperadas em ecossistemas submetidos a distúrbios naturais ou antrópicos. A Reserva Biológica União (REBIO União) é um dos poucos remanescentes de mata Atlântica de baixada do RJ e possuía cerca de 220 ha de plantios de eucalipto (*Corymbia citriodora*) de diferentes idades. Em 2008 foi aprovado o plano de manejo na REBIO União que consistiu no corte raso e anelamento dos plantios de eucalipto, visando restaurar a vegetação nativa neste bioma, um dos mais biodiversos do mundo. Assim, o objetivo geral desta tese foi avaliar o efeito do manejo florestal na razão isotópica do sistema solo-planta e na ecofisiologia de três espécies regenerantes do sub-bosque (*Byrsonima sericea*, *Siparuna guianenses* e *Xylopia sericea*). Como principais resultados podem ser elencados que alterações ultra-estruturais nos cloroplastos das três espécies contribuíram no processo de fotoaclimação dessas espécies pós manejo florestal. De modo geral, a remoção do dossel de eucalipto reduziu a assimilação fotossintética de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ), refletindo em maiores valores do  $\delta^{13}C$  nas folhas das três espécies regenerantes do sub-bosque. Fotoinibição foi observada nas três espécies regenerantes do sub-bosque quando da exposição a irradiância direta (cerca de 1.500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), entretanto as espécies foram capazes de se aclimatar fotoquimicamente em um curto espaço de tempo (3 meses), retornando aos valores fotossintéticos observados antes do manejo. Análises isotópicas no sistema solo-planta mostram que as amostras de solo apresentaram os maiores valores tanto para o  $\delta^{13}C$  quanto para  $\delta^{15}N$  nas três áreas, principalmente na área manejada a três meses (M3: -26,66 ‰ e 2,61 ‰, respectivamente) e na área de mata secundária (-28,97 ‰ e 5,99 ‰, respectivamente) em relação as amostras de folhas e da serapilheira. O aumento do  $\delta^{13}C$  na M3 foi devido à presença de gramíneas, espécies C4. A área de mata com maior quantidade de fração argila no solo teve maior valor do  $\delta^{15}N$ , pois a fração argila mantém mais estabilizada a matéria orgânica do solo rica em  $^{15}N$ . As concentrações de C e N elementar para folhas e fração folhas da serapilheira foram maiores na área de mata secundária (42,50 % e 2,10 % para folhas; e 46,94 % e 2,34 % para frações folha da serapilheira, respectivamente para C e N) e na área M3 (45,18 % e 1,98 % para folhas; e 51,40 % e 1,39 % para frações da folhas da serapilheira, respectivamente para C e N). A ferramenta isotópica mostrou ser um bom indicador da dinâmica dos elementos no sistema solo-planta e do processo de regeneração

do sub-bosque exposto à maior irradiância. O corte raso de eucalipto promoveu condições ambientais que beneficiaram o aparecimento de gramíneas invasoras e a fotoaclimatação de algumas espécies do sub-bosque. Assim, o monitoramento do desempenho das espécies nas áreas regenerantes é necessário no sentido de se avaliar a médio prazo os efeitos desta prática na manutenção da biodiversidade desta reserva.

Palavras-chave: isótopos; irradiância; manejo florestal; serapilheira; solo.

## ABSTRACT

The environmental heterogeneity and mainly the variation of the irradiance after the forest management can lead to differences among the species in photosynthetic photoacclimation, morphogenesis and growth. Isotopic changes in the soil-plant system are also expected in ecosystems undergoing natural or anthropogenic disturbances. The Union Biological Reserve (REBIO União) is one of the few remnants of Atlantic forest in the lowlands of the State of Rio de Janeiro and it had about 220 ha of eucalyptus plantations (*Corymbia citriodora*) of different ages. In 2008, a management plan was approved at REBIO União, which consisted of clear cutting and ringing of eucalyptus plantations, aiming to restore native vegetation in this biome, one of the most biodiverse in the world. Thus, the general objective of this thesis was to evaluate the effect of forest management on the isotopic ratio of the soil-plant system and the ecophysiology of three regenerating sub-forest species (*Byrsonima sericea*, *Siparuna guianenses* and *Xylopia sericea*). As main results can be listed that ultra-structural changes in the chloroplasts of the three species contributed in the process of photoacclimation of these species after forest management. In general, the removal of the eucalyptus canopy reduced the photosynthetic assimilation of CO<sub>2</sub> (A) and stomatal conductance (g<sub>s</sub>), reflecting higher values of δ<sup>13</sup>C in the leaves of the three regenerating sub-forest species. Photoinhibition was observed in the three regenerating species of the sub-forest when exposed to direct irradiance (about 1,500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), although the species were able to acclimatize photochemically in a short period of time (3 months), Returning to the photosynthetic values observed before the management. Isotopic analyzes in the soil-plant system showed that the soil samples presented the highest values for both δ<sup>13</sup>C and δ<sup>15</sup>N in the three areas, mainly in the area managed at three months (M3: -26.66 ‰ and 2.61 ‰, respectively) And in the secondary forest area (-28.97 ‰ and 5.99 ‰, respectively) in relation to leaf and litter samples. The increase of δ<sup>13</sup>C in M3 was due to the presence of grasses, C4 species. The area of forest with higher amount of clay fraction in the soil had higher value of δ<sup>15</sup>N, because the clay fraction maintains more stabilized organic matter of the rich soil in <sup>15</sup>N. The concentrations of elemental C and N for leaves and leaf litter fraction were higher in the secondary forest area (42.50% and 2.10% for leaves and 46.94% and 2.34% for leaf litter fractions, Respectively for C and N) and in the M3 area (45.18% and 1.98% for leaves, and 51.40% and 1.39% for leaf litter fractions, respectively for C and N). The isotopic tool proved to be a good indicator of the dynamics of the elements in the soil-plant system and the process of regeneration of the sub-forest exposed to the highest irradiance. The eucalyptus clearcut

promoted environmental conditions that benefited the appearance of invasive grasses and the photoacclimation of some species of the understory. Thus, the monitoring of species performance in regenerating areas is necessary in order to evaluate in the medium term the effects of this practice on maintaining the biodiversity of this reserve.

Keywords: isotopes; Irradiance; Forest management; Litter; ground.

## **Estrutura da Tese**

Esta tese está estruturada com uma breve introdução geral sobre o assunto, seguida por uma descrição das áreas de estudo (mata e os talhões de eucalipto na REBIO União).

Os resultados da tese são apresentados em três capítulos que foram divididos por abordarem assuntos distintos.

O capítulo 1 avalia o desempenho fotossintético, anatômico e isotópico das espécies *Byrsonima sericea*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia sericea*, durante o período seco e chuvoso, em três condições ambientais contrastantes (mata, antes e depois da remoção do plantio de eucalipto na REBIO União). O objetivo foi avaliar se as espécies apresentariam comprometimento fotossintético em relação ao período sazonal e após um ano de manejo florestal.

O capítulo 2 avalia a resposta fotoquímica de *B. sericea*, *X. sericea* e *S. guianensis* em curto prazo (3 meses) e a capacidade de recuperação das mesmas logo após remoção do plantio de eucalipto. Os objetivos foram: (1) verificar se as espécies apresentariam fotoinibição após remoção do plantio de eucalipto; (2) verificar se a recuperação tem um intervalo de tempo similar para as três espécies; e (3) avaliar se existe diferença no desempenho fotossintético destas espécies em relação aos horários do dia.

O capítulo 3 compara a razão isotópica de C e N em diferentes compartimentos (solo-folha-serapilheira) e a granulometria dos solos de três áreas (mata secundária e talhões de eucalipto após manejo) na REBIO União com o objetivo de avaliar se houve alteração isotópica de C e N no sistema solo – planta em função do manejo florestal.

Para finalização, uma discussão geral é apresentada, cuja finalidade é integrar os capítulos anteriores, considerando uma visão mais ampla e geral sobre o tema proposto na tese.

## 1.Introdução geral

### 1.1. Mata Atlântica, manejo florestal e fotoinibição

Um dos *hotspots* de biodiversidade do planeta, a Mata Atlântica é uma área prioritária para a conservação e apresenta inúmeras tipologias compostas por um conjunto diversificado e complexo de vegetações com grande quantidade de espécies endêmicas (Mori 1989; Veloso et al. 1991; Myers et al. 2000). Atualmente a cobertura de Mata Atlântica varia entre 11,4% a 16% da sua área original, incluindo remanescentes florestais relativamente pequenos (83,4% deles estão abaixo de 50 ha) (Ribeiro et al. 2009), sendo o total de áreas protegidas dentro do bioma Mata Atlântica de apenas 1,62% (Laurance 2009).

No Estado do Rio de Janeiro existem apenas duas Unidades de Conservação com proteção integral: a Reserva Biológica de Poço das Antas e a Reserva Biológica União (REBIO União) (MMA-ICMBio 2007). A REBIO União foi criada em 1998 como Unidade de Conservação, e além da predominância de espécies nativas da Mata Atlântica, destaca-se a presença dos eucaliptais na paisagem. A reserva possuía em seu território áreas de plantios de eucalipto (*Corymbia citriodora*) que correspondiam a cerca de 220 ha (MMA-ICMBio 2007). Atualmente na REBIO União vem sendo executado o plano de manejo com a retirada dos indivíduos de eucalipto por corte raso e reintroduzindo espécies da flora nativa a partir do reflorestamento (MMA-ICMBio 2007). Este manejo florestal promoveu mudanças na disponibilidade de irradiância associados à elevação da temperatura, do déficit de pressão de vapor (DPV) e à limitação hídrica, como já descrito em outros estudos relacionados às alterações ambientais as respostas aclimatativas de espécies vegetais (Kitao et al. 2000; Lemos Filho 2000; Flexas et al. 2006).

A irradiância é um dos fatores mais importantes para o estabelecimento e crescimento de plantas (Kitajima 1996), pois coordena processos de formação e desenvolvimento da comunidade vegetal, dentre eles a germinação (Vazquez-Yanes e Orozco-Segovia 1993; Smith 2000), crescimento (Almeida et al. 2005), desenvolvimento e estabelecimento vegetativo (Kitajima 1996; Markesteijn e Poorter 2009; Vieira et al. 2015). As florestas tropicais apresentam uma distribuição heterogênea do recurso luminoso, resultado do desenvolvimento e estratificação do sub-bosque (Montgomery 2004). Este é um recurso abiótico dinâmico que oscila em intensidade e qualidade em escalas temporais e espaciais (Kitajima 1996; Pearcy e Way 2012). A disponibilidade diferenciada da irradiância é um dos principais fatores responsáveis pela seleção e distribuição das espécies (Markesteijn e Poorter 2009).

O processo natural de sucessão que ocorre em florestas está baseado na ocorrência periódica de distúrbios naturais (quedas de galhos ou árvores, deslizamentos, entre outros) que levam à abertura do dossel e, por conseguinte, à formação de clareiras (Bazzaz 1984). Um dos mais importantes efeitos da abertura de clareiras é o aumento na duração e intensidade da irradiância no sub-bosque da floresta, que irá depender do tempo de ocorrência da abertura da clareira, do tamanho da clareira, bem como outros fatores dependentes da densidade da mesma (Martins et al. 2009). Na dinâmica florestal, a abertura e/ou o fechamento de clareiras tem sido considerada um dos fatores que contribui para a manutenção da diversidade da comunidade arbórea, pois propicia distintas condições ambientais que permitem a ocorrência de espécies de diferentes grupos ecológicos com respostas ecofisiológicas distintas (Hogan e Machado 2002).

Em clareiras, o aumento da irradiância, imediato ou progressivo, pode vir a configurar uma condição de estresse (fotoinibição) de magnitudes distintas, a depender da espécie (Bazzaz e Pickett 1980), afetando a eficiência fotoquímica e o ganho de carbono (C), e conseqüentemente, o sucesso no estabelecimento vegetal (Lage-pinto, 2012; Rabelo et al. 2013).

Organismos fotossintetizantes são susceptíveis ao processo de fotoinibição (Araújo e Deminicis, 2009), descrita como a inibição da fotossíntese pelo excesso de irradiância (Osmond 1994). A fotoinibição pode ser categorizada em dois tipos: dinâmica e crônica.

A fotoinibição dinâmica é caracterizada como um processo reversível e sem danos ao aparato fotossintético, pois a capacidade de assimilar gás carbônico (CO<sub>2</sub>) atmosférico pelas plantas não é alterada (Krause e Weis 1991; Osmond 1994; Ort 2001; Adir et al. 2003). Na fotoinibição dinâmica ocorre redução fotoquímica ao longo do curso diário em horários de maior irradiância, porém é verificada recuperação ao final do dia (Lage-Pinto 2012; Rabelo et al. 2013).

A fotoinibição crônica acontece quando a irradiância incidente excede a capacidade das espécies vegetais de tolerar este recurso abiótico (Denslow et al. 1990). Este processo compreende perda da eficiência na absorção da irradiância e da capacidade fotossintética de assimilação de C em função de danos reversíveis ou irreversíveis no aparato fotossintético, principalmente associados a proteína D1 (Aro et al. 1993).

Entretanto, as folhas têm a capacidade de se ajustarem quando submetidas às alterações ambientais, podendo apresentar modificações na organização estrutural e funcional, uma vez que algumas espécies têm a habilidade de desenvolver adaptações morfológicas, anatômicas, bioquímicas e ecofisiológicas em resposta a heterogeneidade

luminosa (Poorter 1999; Nery et al. 2007; Favaretto et al. 2011). Em geral, folhas desenvolvidas em ambiente com alta irradiância possuem menor área foliar específica (AFE) (Dalling et al. 1999; Valladares e Niinemets 2008), cloroplastos caracterizado por um elevado número de grana acumulado em apenas alguns tilacóides, menor largura das pilhas grana, pouco material lamelar na parte do estroma, baixo grau de empilhamento de tilacóides (Lichtenthaler et al. 1981) e presença de grãos de amido (Rabelo et al. 2013). Reduções na assimilação fotossintética de CO<sub>2</sub> e do rendimento quântico do fotossistema II (FSII) (Krause e Weis 1984; Demmig-Adams et al. 1996) são previsto quando as espécies estão expostas a alta irradiância, fazendo com que as mesmas alterem o direcionamento da energia fotoquímica por meio da dissipação não-fotoquímica (Demmig-Adams et al. 1996; Morais et al. 2007), a fim de evitar um estresse fotooxidativo (fotoinibição).

Variações nas trocas gasosas devido a maior irradiância e limitação hídrica podem comprometer a capacidade fotossintética das espécies vegetais (Lemos Filho 2000; Flexas et al. 2006). Diferenças na assimilação fotossintética variam de acordo as características fisiológicas intrínsecas de cada espécie vegetal, que dependem da condição ambiental a qual a espécie estará exposta durante seu desenvolvimento (Valladares et al. 2000).

Os estômatos controlam a entrada de CO<sub>2</sub> na câmara sub-estomática, o que tem efeitos diretos na razão isotópica de <sup>13</sup>C ( $\delta^{13}\text{C}$ ) dos tecidos vegetais. As plantas contêm menos <sup>13</sup>C do que o <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> atmosférico de que elas se utilizam para realizar a fotossíntese. Tal diferença é devida a processos enzimáticos e físicos que incorporam mais <sup>12</sup>C do que <sup>13</sup>C (discriminação do <sup>13</sup>C) (Farquhar et al. 1982). A princípio, qualquer fator que altere a razão isotópica do CO<sub>2</sub> atmosférico e/ou a relação  $c_i/c_a$  (que reflete o balanço entre condutância estomática e capacidade fotossintética) alterará a razão isotópica das plantas (Martinelli et al. 2009).

Alterações na irradiância provocarão modificações no  $\delta^{13}\text{C}$  das plantas (Martinelli et al. 2009; Vitoria et al. 2016). Em locais onde a irradiância é baixa e não há restrição de água, a planta permanece com seus estômatos abertos e a tendência é que a relação  $c_i/c_a$  (concentração interna de CO<sub>2</sub> / concentração externa de CO<sub>2</sub>) seja igual a 1, acarretando em maior discriminação ao <sup>13</sup>C e menos <sup>13</sup>C nestas amostras. Quando a irradiância é alta, a planta reduz a abertura estomática, diminuindo a concentração de  $c_i$ . Conseqüentemente, a relação  $c_i/c_a$  tende a zero e ocorre menor discriminação ao <sup>13</sup>C levando estas amostras a apresentarem-se mais <sup>13</sup>C (Farquhar et al. 1982; Martinelli et al. 2009; Vitoria et al. 2016).

Frente ao exposto, o corte raso de eucalipto na REBIO União pode promover uma redução drástica da capacidade fotossintética das espécies vegetais, contribuindo para a

ocorrência do processo de fotoinibição (Magalhães et al. 2009). Tais condições podem ainda promover alterações na formação/maturação de novas estruturas (Lusk et al. 2011; Ishida et al. 2006; Vitoria et al. 2016) e resultar na redução da aquisição de C por diminuir a condutância estomática (Law e Crafts-Brener 1999) e afetar a capacidade de estabelecimento, crescimento e até mesmo sobrevivência vegetal (Chazdon et al. 1984).

### *1.2. Solos de eucaliptais e manejo florestal*

Os distúrbios causados pelo manejo florestal podem ocasionar também mudanças na dinâmica dos solos. Em geral, os solos estocam mais C do que a atmosfera, logo, as mudanças nos estoques de C do solo desempenham um papel importante nas variações do ciclo global deste elemento (Trumbore e Camargo 2009). Ainda, o solo é considerado um estoque temporário de C (na forma de matéria orgânica), e por isso, ele pode contribuir mitigando as mudanças climáticas globais (Barros 2013).

A maioria dos solos tropicais (73%) são do tipo oxissolos (latossolos) e utissolos (podzólicos), tipicamente inférteis, pois, em geral, são solos muito intemperizados e com baixa fertilidade (Burnham 1989).

Diante desse contexto, a vegetação tem um importante papel, pois fornece compostos orgânicos através da ciclagem de nutrientes (Bayer e Mielniczuk 1999). Por exemplo, em um local de mata fechada, maior é a diversidade da comunidade vegetal, do que em área de eucalipto, e por isso é esperada maior variedade das frações de serapilheira na área de mata..

A MOS permite aferir sobre a origem do C do solo, a partir de dados da razão isotópica de C ( $\delta^{13}\text{C}$ ), pois a MOS carrega informações sobre o material vegetal (fonte C) (Balesdent et al. 2000). O valor do  $\delta^{13}\text{C}$  da MOS está relacionado com a composição química dos resíduos e podem ser alterados durante a decomposição do mesmo (Alves e Zotarelli 2005). Segundo Almeida (2012) as frações da MOS que permanecem no solo, aquelas que resistem à decomposição, acabam preservando os isótopos de C e N das comunidades vegetais atuais e passadas. As diferenças nos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  são pequenas entre o solo e a planta. Em geral, as plantas têm menores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  do que os solos (Högberg 1997; Robinson 2001).

Mudanças na vegetação florestal, devido a processos naturais (clareiras) ou antrópicos (desmatamento e/ou manejo florestal), podem causar variações no  $\delta^{13}\text{C}$  e no  $\delta^{15}\text{N}$  (Smith e Epstein 1971). Assim, medições isotópicas no solo e na folha podem relatar

como esses processos atuam na transformação de vegetação e na estrutura dos ecossistemas (Frank et al. 1995).

Mudanças na vegetação e na cobertura do solo da REBIO União, resultado da remoção do dossel de eucalipto, podem promover alterações em processos ecológicos, dentre eles, na dinâmica do solo, na diversidade e função da biota do solo podendo torná-lo mais suscetível à perda de nutrientes por erosão, lixiviação e volatilização (Vitousek e Matson 1984).

### **1.3. Objetivo geral**

Avaliar como o manejo do eucalipto altera as respostas ecofisiológicas, morfológicas e ultra-estruturais das três espécies mais abundantes do sub-bosque regenerante: *Byrsonima sericea*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia sericea* e verificar a influência pós manejo do eucalipto na concentração elementar e na razão isotópica de C e N nos solos superficiais, na serapilheira e em folhas de espécies nativas da Mata Atlântica da REBIO União.

### **1.4. Hipótese geral**

O corte raso do eucalipto alterará a ecofisiologia e a razão isotópica de C e N nas espécies regenerantes do sub-bosque e no sistema-solo.

#### **1.4.1. Hipóteses específicas**

Com o manejo florestal é esperado que:

- 1) As três espécies regenerantes do sub-bosque sofram fotoinibição após remoção da cobertura do dossel de eucalipto.
- 2) A assimilação de C, das três espécies regenerantes do sub-bosque, será menor na condição ambiental de maior irradiância e pouca disponibilidade hídrica (período seco).
- 3) As espécies regenerantes do sub-bosque terão valores maiores de  $\delta^{13}\text{C}$  após remoção do dossel de eucalipto.
- 4) O delta  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  nos solos serão influenciados pelo manejo florestal.
- 5) Solos da área de mata apresentarão maior quantidade de C e N comparado aos solos dos talhões de eucalipto manejados.

## 2. Referências bibliográficas

- Adir N, Zer H, Shochat S, Ohad I (2003) Photoinhibition - A historical perspective. *Photosynth Res* 76:343–370.
- Almeida D (2012) Ciclagem de carbono e nitrogênio no solo sob restinga do estado de São Paulo. Dissertação (Mestre em Ecologia Aplicada). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. 95p.
- Almeida SMZ, Soares AM, Castro EM De, et al (2005) Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. *Ciência Rural* 35:62–68.
- Alves B, Zotarelli L (2005) Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. In: *No Sistema Solo*. pp 343–368.
- Araújo SA, Deminicis BB (2009) Fotoinibição da Fotossíntese. *Rev Bras Biociências* 7:463–472.
- Aro EM, Virgin I, Andersson B (1993) Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *BBA - Bioenerg* 1143:113–134.
- Balesdent J, Chenu C, Balabane M (2000) Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil Tillage Res* 53:215–230.
- Barros DES (2013) Contribuições da matéria orgânica do solo para mitigar as emissões agrícolas de gases de efeito estufa. *Polemica* 341–351.
- Bayer, C., Mielniczuk J (1999) Dinâmica e função da matéria orgânica. In: *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. pp 9–26.
- Bazzaz FA (1984) Regeneration of tropical Forest: physiological responses of pioneer and secondary species. In: *Rain Forest Regeneration e Management*. pp 233–243.
- Bazzaz FA, Pickett STA (1980) Physiological ecology of tropical succession: a comparative review. *AnnRevEcolSyst* 11:287–310.
- Burnham CP (1989) Pedological process and nutrient supply from parent material in tropical soil. In: *Mineral nutrient in Tropical Forest and Savanna Ecosystems*. pp 15–26.
- Chazdon RL, Fetcher NED, Sa U (1984) Photosynthetic Light Environments in a Lowland Tropical Rain Forest in Costa Rica. *J Ecol* 72:553–564.
- Costa GF, Marengo RA (2007) Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amaz* 37:229–234.
- Dalling JW, Lovelock CE, Hubbell SP (1999) Growth responses of seedlings of two neotropical pioneer species to simulated forest gap environments. *J Trop Ecol*

- 15:827–839.
- Demmig-Adams B, Adams-III WW, Barker DH, et al (1996) Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol. Plant.* 98:253–264.
- Denslow JS, Schultz JC, Vitousek PA, Strain B (1990) Growth Responses of Tropical Shrubs to Treefall Gap Environments. *Ecology* 71:165–179.
- Farquhar G, O’Leary M, Berry J (1982) On the Relationship Between Carbon Isotope Discrimination and the Intercellular Carbon Dioxide Concentration in Leaves. *Aust J Plant Physiol* 9:121.
- Favaretto VF, Martinez CA, Soriani HH, Furriel RPM (2011) Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. *Environ Exp Bot* 70:20–28.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, et al (2006) Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO<sub>2</sub> concentration. *New Phytol* 172:73–82.
- Hogan KP, Machado JL (2002) La luz solar: consecuencias biológicas y medición. In: *Ecología y conservación de Bosques Neotropicales*. pp 119–143.
- Högberg P (1997) <sup>15</sup>N natural abundance in soil – plant systems. *New Phytol* 137:179–203.
- Ishida A, Diloksumpun S, Ladpala P, et al (2006) Contrasting seasonal leaf habits of canopy trees between tropical dry-deciduous and evergreen forests in Thailand. *Tree Physiol* 26:643–656.
- Kitajima K (1996) Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. pp 559–596.
- Kitao M, Lei TT, Koike T, et al (2000) Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. *Physiol Plant* 109:284–290.
- Krause GH, Weis E (1984) Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. *Photosynth Res* 5:139–157.
- Krause GH, Weis E (1991) Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bioi* 42:313–49.
- Lage-Pinto F (2012) *Ecofisiologia de duas espécies nativas da Mata Atlântica: Estudo fotossintético em áreas de plantio de eucalipto removido, abandonado e submetido à remoção da serapilheira em uma Reserva Biológica (REBIO União, RJ)*. Tese (Doutor em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy

- Ribeiro (UENF). 93p.
- Laurance WF (2009) Conserving the hottest of the hotspots. *Biol Conserv* 142:1137.
- Lemos Filho JP De (2000) Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. *Rev Bras Botânica* 23:45–50.
- Lichtenthaler HK, Buschmann C, Döll M, et al (1981) Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynth Res* 2:115–141.
- Lusk CH, Pérez-Millaqueo MM, Piper FI, Saldaña A (2011) Ontogeny, understorey light interception and simulated carbon gain of juvenile rainforest evergreens differing in shade tolerance. *Ann Bot* 108:419–428.
- Magalhães S, Antonio R, Rêgo K (2009) Aclimação de mudas de acariquara à alta irradiância. *Pesqui Agropecu Bras* 44:687–694.
- Markesteyn L, Poorter L (2009) Seedling root morphology and biomass allocation of 62 tropical tree species in relation to drought- and shade-tolerance. *J Ecol* 97:311–325.
- Martinelli LA, Ometto JPHB, Ferraz ES, et al (2009) Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. pp.144.
- Martins S V, Rodrigues RR, Gandolfi S, Calegari L (2009) Sucessão ecológica: Fundamentos e aplicações na restauração de ecossistemas florestais. In: *Ecologia de florestas tropicais no Brasil*. pp 19–51.
- MMA-ICMBio (2007) Plano de recuperação ambiental das áreas ocupadas por eucaliptais na Reserva Biológica União/Rj. pp. 142.
- Montgomery R a (2004) Effects of Understorey Foliage on Patterns of Light Attenuation near the Forest Floor. *Biotropica* 36:33–39.
- Morais RR de, Gonçalves JF de C, Júnior S, et al (2007) Chloroplastid pigment contents and chlorophyll a fluorescence in amazonian tropical three species. *Rev árvore* 31:959–966.
- Mori SA (1989) Eastern, extra-Amazonian Brazil. In: *In Floristic inventory of tropical countries: the status of plant systematics, collections, and vegetation, plus recommendations for the future* (D.G. Campbell & H.D. Hammond, eds.). pp. 427-454.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.
- Nery FC, Alvarenga AA De, Justo CF, et al (2007) Aspectos anatômicos de folhas de

- plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Rev Bras Biociências* 5:129–131.
- Neto MTC (2003) Efeito do Déficit Hídrico na Transpiração e Resistência Estomática da Mangueira. *Rev Bras Frutic* 25:93–95.
- Ort DR (2001) When there is too much light. *Plant Physiol* 125:29–32.
- Osmond CB (1994) What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: *Photoinhibition of photosynthesis, from molecular mechanisms to the field*. pp. 24
- Pearcy RW, Way DA (2012) Two decades of sunfleck research: Looking back to move forward. *Tree Physiol* 32:1059–1061.
- Poorter L (1999) Growth responses of 15 rain forest tree species to a light gradient; the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct Ecol* 13:396–410.
- Rabelo GR, Vitória ÂP, da Silva MVA, et al (2013) Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees - Struct Funct* 27:259–272.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, et al (2009) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol Conserv* 142:1141–1153.
- Robinson D (2001)  $\delta^{15}\text{N}$  as an integrator of the nitrogen. *Trends Ecol Evol* 16:153–162.
- Smith BN, Epstein S (1971) Two Categories of  $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$  Ratios for Higher Plants. *Plant Physiol* 47:380–384.
- Smith H (2000) Phytochromes and light signal perception by plants--an emerging synthesis. *Nature* 407:585–591.
- Trumbore S, Camargo PB (2009) Soil Carbon Dynamics. *Amaz Glob Chang* 451–462.
- Valladares F, Niinemets Ü (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:237–257.
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, et al (2000) Plastic Phenotypic Response To Light of 16 Congeneric Shrubs From a Panamanian Rainforest. *Ecology* 81:1925–1936.
- Vazquez-Yanes C, Orozco-Segovia A (1993) Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annu Rev Ecol Syst* 24:69–87.
- Veloso H, Filho AR, Lima JCAJ (1991) Classificação da Vegetação Brasileira Adaptada a um Sistema Universal. IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro. pp. 124.
- Vieira TO, Degli-Esposti MSO, Souza GM, et al (2015) Photoacclimation capacity in

- seedling and sapling of *Siparuna guianensis* (Siparunaceae): Response to irradiance gradient in tropical forest. *Photosynthetica* 53:11–22.
- Vitoria AP, Vieira TDO, Camargo PDB, Santiago LS (2016) Using leaf  $\delta^{13}\text{C}$  and photosynthetic parameters to understand acclimation to irradiance and leaf age effects during tropical forest regeneration. *For Ecol Manage* 379:50–60.
- Vitousek PM, Matson PA (1984) Mechanisms of nitrogen retention in forest ecosystems: a field experiment. *Science* (80- ) 225:51–52.

### 3. Área de estudo

#### 3.1. Localização e histórico da Reserva Biológica União

A Reserva Biológica União (REBIO União) está localizada na região de baixadas litorâneas e pertence às bacias hidrográficas de Rio das Ostras, São João e Macaé. Esta reserva, cuja sede administrativa apresenta as coordenadas 22° 27' 30" S e 42° 02' 15" W, estende-se pelos municípios de Rio das Ostras, Casimiro de Abreu e Macaé, no Estado do Rio de Janeiro (MMA-ICMBio 2007) (Figura 1).

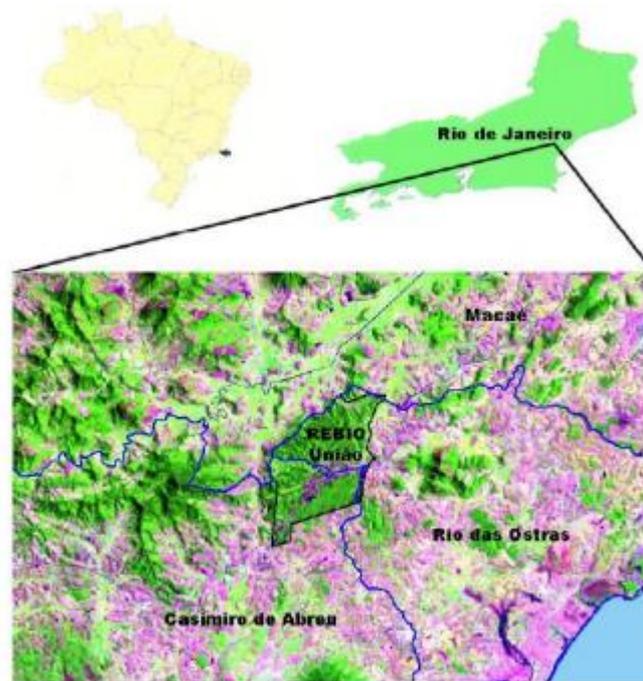


Figura 1. Localização da Reserva Biológica União no Estado do Rio de Janeiro. Fonte: Ibama (2007).

Na década de 1930, a área da REBIO União foi uma propriedade particular denominada Fazenda União e pertencia a Rede Ferroviária Federal – RFFSA. Na época, parte da vegetação nativa de Mata Atlântica (com área total de 3126 ha) foi desmatada para atender à demanda energética de locomotivas a vapor. Nesta época, para cumprir seus objetivos, a RFFSA realizou plantios de eucalipto na área da então Fazenda União, com aproximadamente 220 ha de plantios de eucaliptos foram plantados no local. Os primeiros plantios de eucaliptos foram utilizados as espécies *Eucalyptus saligna* e *E. alba*. Estes plantios tinham como objetivo fornecer lenha para as locomotivas que, na época, eram movidas a vapor. Na década de 80 estas espécies foram substituídas pela espécie *Corymbia citriodora*, cujas características eram mais apropriadas para a produção de sementes dormentes (MMA-ICMBio 2007).

Com o decreto de 22 de abril de 1998 foi criada a REBIO União, (MMA-ICMBio 2007), por forte pressão da sociedade civil e da comunidade científica que queria que a fazenda se constituísse numa unidade de conservação, porque a área foi, no passado, habitat natural do primata *Leontopithecus rosalia* L.(mico-leão-dourado), uma espécie ameaçada de extinção.

Desta maneira, a REBIO União até 2008 era constituída por um mosaico de diferentes usos do solo: vegetação nativa de Mata Atlântica (76,9 %); por campos e pastagens (9,6 %); por estradas, linhas de torres com energia elétrica de alta tensão, gasoduto e torre de comunicação da Embratel (51,0 %) (Ribeiro 2007), além de 47 plantios de eucalipto (6,9 %), , os quais apresentam área compreendida entre 0,21 e 16,36 ha e uma grande variedade de espaçamento entre indivíduos. Tais plantios possuem diferentes idades, pois foram implantados entre os anos de 1960 e 1993 (MMA-ICMBio 2007).

### **3.2. Características ambientais da Reserva Biológica União**

O clima predominante na região é o tropical úmido  $A_w$  (Alvares et al. 2013), com temperatura média anual de 24°C e pluviosidade anual média de 2.200 mm (dados da Reserva Biológica de Poço das Antas, localizada a 31 km da Reserva Biológica União). O período chuvoso concentra-se entre os meses de outubro e abril (Silva et al. 2010).

O relevo local é ondulado e faz parte da Unidade Geomorfológica Colinas e Maciços Costeiros, a qual apresenta perfil arredondado (tipo “meias laranjas”) e baixadas que sofrem encharcamento no período chuvoso (Ramdabrazil 1983). A mata nativa se desenvolve em Cambissolo Háplico Tb distrófico argissólico e em Gleissolo Háplico Tb distrófico argissólico, nas áreas de morrote (perfil arredondado do relevo) e nas baixadas alagáveis, respectivamente, enquanto que o solo dos plantios de eucalipto é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico latossólico (Miranda et al. 2007).

A vegetação na REBIO União cuja classificação é Floresta Ombrófila Densa é caracterizada pelas formações de terra baixa e submontana (Veloso et al. 1991). A vegetação local predominante é de Mata Atlântica *strictu sensu* de baixada, que se apresenta em bom estado de preservação (Carvalho et al. 2008). O estudo do referido autor demonstrou que a comunidade arbórea nativa da REBIO União possui elevada diversidade funcional e de espécies, além de grande biomassa.

### 3.3. Características dos plantios de *Corymbia citriodora* estudados na Reserva Biológica União

Para a realização do presente estudo foram selecionados dois plantios de *Corymbia citriodora*. No capítulo 1 a área utilizada no estudo foi o talhão 17 e no capítulo 3 a área estudada foi novamente o talhão 17 (denominado M12) e o talhão 39c (denominado M3). Na imagem de satélite abaixo, estes dois plantios estão assinalados como talhão 17 (figura 2) e talhão 39c (figura 2) a 1,5 km e 685 m de distância da área de mata, respectivamente.



Figura 2. Disposição das áreas de estudo: mata, talhão 17 (M12) e talhão 39c (M3) de eucaliptos *Corymbia citriodora*, na Reserva Biológica, RJ. Fonte: Google Maps.

A área de mata Atlântica secundária fica a cerca de 680 m do talhão 39c (M3) e 1,5 km do talhão 17 (M12) (figura 2) e é uma área de mata Atlântica bem preservada. O solo é do tipo Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico latossólico (Miranda et al. 2007) e apresenta textura argilo-arenosa (MMA-ICMBio 2007). Ambos os plantios de eucalipto foram implantados em Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico latossólico (Miranda et al. 2007) e apresentam textura argilo-arenosa (MMA-ICMBio 2007). Contudo, ambos os plantios estão abandonados, isto é, sem práticas silviculturais, desde 1996 (Villela et al. 2001; Evaristo et al. 2011). Desta maneira, se iniciou o processo de regeneração natural de espécies nativas de Mata Atlântica no sub-bosque dos plantios de eucalipto (Figura 2), sendo que no talhão 17 (M12) esta dinâmica está bem mais avançada do que no talhão 39c (M3) (Evaristo et al. 2011).

O talhão 17 ou área M12 (figura 3A), possui uma área total de 5,02 ha e teve os eucaliptos plantados em 1967. Apresenta atualmente o sub-bosque pouco desenvolvido (o número de espécies é baixo), estando presentes ervas, arbustos, arvoretas e raras gramíneas. O talhão 39c ou área M3 (figura 3B) possui uma área total de 9,59 m<sup>2</sup> e teve o plantio de eucalipto instalado em 1968. O sub-bosque é pouco desenvolvido, estando presentes principalmente arbustos e arvoretas, pois o número de espécies é muito baixo. As gramíneas são muito abundantes, sendo representada pelo capim Pernambuco (Ribeiro 2007).



Figura 3. Aspecto da regeneração natural de espécies nativas de Mata Atlântica no talhão 17 (M12) (A) e do talhão 39c (M3) (B) de eucalipto *Corymbia citriodora*, na Reserva Biológica União, RJ. Fonte: Ribeiro (2017).

### 3.4. Características da área de mata secundária estudada na Reserva Biológica União

A Mata Atlântica, que é a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, ocupava originalmente toda a costa do Brasil (Silva et al. 2005). Entretanto, atualmente restam apenas fragmentos florestais deste bioma (Myers et al. 2000), os quais, em sua grande maioria, são pequenos e encontram-se desconectados, perturbados e estão contidos em amplas matrizes fortemente antropizadas (Ribeiro et al. 2009). Dentre os fatores que contribuíram para esta realidade, destacam-se a superexploração dos recursos naturais (madeira, lenha, frutos, caça) e da terra (atividades agrícolas, pecuárias e silviculturais) pelo homem (Dean 1996). No caso do Estado do Rio de Janeiro, cujo território total está inserido no bioma Mata Atlântica, restam aproximadamente 18% de remanescentes florestais, sendo que grande parte destes remanescentes se localizam em áreas montanhosas da Serra do Mar (SOS Mata Atlântica 2015). Apesar disto, o bioma como um todo guarda uma das maiores biodiversidades do planeta, pois abriga mais de 8.000 espécies endêmicas composto pela flora e pela fauna (Myers et al. 2000).

#### 4. Referências bibliográficas

- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, et al (2013) Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Zeitschrift* 22:711–728.
- Carvalho AMX, Vale HMM, Ferreira EM, et al (2008) Atividade microbiana de solo e serapilheira em áreas povoadas com *Pinus elliottii* e *Terminalia ivorensis*. *Rev Bras Ciência do Solo* 32:2709–2716.
- Dean W (1996) A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira. *Rev do corpo discente do PPG-História da UFRGS* 3:264–168.
- Evaristo VT, Braga JMA, Nascimento MT (2011) Atlantic Forest regeneration in abandoned plantations of eucalypt (*Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill and L. A. S. Johnson) in Rio de Janeiro, Brazil. *Interciencia* 36:431–436.
- Miranda C do C, Canellas LP, Nascimento MT (2007) Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de mata atlântica e em plantios abandonados de eucalipto. *Rev Bras Cienc do Solo* 31:905–916.
- MMA-ICMBio (2007) Plano de recuperação ambiental das áreas ocupadas por eucaliptais na Reserva Biológica União/RJ. pp.142.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.
- Radambrasil (1983) Levantamento de recursos naturais. IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), Rio de Janeiro. pp. 768.
- Ribeiro ACC (2007) Efeito da Remoção da Serrapilheira no Estabelecimento de Plântulas de Espécies Nativas da Mata Atlântica em Plantios de Eucalipto. Dissertação (Mestre em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Rio de Janeiro. 76p.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, et al (2009) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol Conserv* 142:1141–1153.
- Silva AS, Oliveira JG, da Cunha M, Vitória AP (2010) Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic forest. *Brazilian J Plant Physiol* 22:245–254.
- Silva MC, Tabarelli M, Pinto LP, Jos E (2005) Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. *Conserv Biol* 19:695–700.
- SOS Mata Atlântica. (2015) Fundação divulga mapeamento inédito da Mata Atlântica do Rio. disponível em: [www.sosma.org.br/102355/levantamento-inedito-mata-atlantica-](http://www.sosma.org.br/102355/levantamento-inedito-mata-atlantica-)

- rio/, acesso em 30/05/2017.
- Veloso H, Filho AR, Lima JCAJ (1991) Classificação da Vegetação Brasileira Adaptada a um Sistema Universal. IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro. pp. 124.
- Villela DM, Nascimento MT, Mazurec AP, et al (2001) Soil chemical properties under *Eucalyptus citriodora* plantations of different ages after a 9-year period of abandonment in União Biological Reserve , Rio de Janeiro State , Brazil. In: International Conference on Land Degradation and Meeting of the IUSS Subcommission C - Soil and Water Conservation. 3-5p.

## CAPÍTULO 1: FOTOACLIAMATAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS DE MATA ATLÂNTICA APÓS CORTE RASO DE EUCALIPTAIS NA REBIO UNIÃO

### RESUMO

O estabelecimento e desenvolvimento de espécies vegetais em ambientes antropicamente alterados estão associados às suas respostas aclimatativas, sejam em termos morfológicos, fisiológicos ou ecológicos. Na reserva biológica União (REBIO União) vem sendo executado o plano de manejo com a retirada dos indivíduos de eucalipto por corte raso. O manejo alterou a irradiância, cuja mudança drástica pode ocasionar reduções da atividade fotossintética por fotoinibição e até a morte nas espécies do sub-bosque regenerante. No presente estudo foi avaliada a capacidade aclimatativa das três espécies mais abundantes do sub-bosque regenerante desta reserva: *Xylopia sericea*, *Siparuna guianensis* e *Byrsonima sericea* antes (ARE) e depois (DRE) da remoção de eucalipto, assim como na mata, no período seco e chuvoso de 2013 e 2014 e em amostras de herbário coletadas entre 9 e 16 anos atrás. Para isto, foram aferidas nas folhas as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, área foliar específica (AFE), razão isotópica de C ( $\delta^{13}\text{C}$ , ou delta  $^{13}\text{C}$ ), concentração de carbono (C) e nitrogênio (N) elementar, razão carbono/nitrogênio (C:N) e conduzidas análises de microscopia eletrônica de transmissão. Maiores valores de assimilação de carbono (*A*) foram observados no período chuvoso DRE para as três espécies. No período chuvoso seco houve redução na *A* e condutância estomática ( $g_s$ ) DRE. Maiores valores maiores do  $\delta^{13}\text{C}$  foram observados DRE (-31,2 ‰; -32,5 ‰; -31,4 ‰, para *B. sericea*; *S. guianensis* e *X. sericea*, respectivamente) em contraponto aos valores -33,4 ‰; -33,3 ‰; -33,2 ‰ ARE para *B. sericea*; *S. guianensis* e *X. sericea*, respectivamente). As concentrações de C e N elementar para folhas das três espécies foram maiores na mata em comparação com DRE e amostras de herbário. De modo geral, a razão C:N foi menor DRE comparado com as demais áreas. Para os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* não foram observados valores que indicassem a fotoinibição em nenhuma das três espécies. Para todas as espécies a AFE foi menor DRE e foi observada desorganização dos tilacóides DRE comparado a ARE e na área de mata. O manejo florestal promoveu ajustes ultra-estruturais, fisiológicos e isotópicos nas três espécies. As distintas assinaturas isotópicas de C das três espécies DRE podem ser utilizadas como marcadores temporais do manejo florestal e do processo de regeneração do sub-bosque exposto à maior irradiância.

Palavras-chaves: floresta atlântica; isótopos; manejo; trocas gasosas; ultraestrutura.

## ABSTRACT

The establishment and development of plant species in altered antropic environments is associated with their acclimative responses, whether in morphological, physiological or ecological terms. In the Biological Reserve União (REBIO União) the management plan has been implemented with the removal of eucalyptus individuals by shallow cutting. The management altered the irradiance, whose drastic change may cause reductions of photosynthetic activity by photoinhibition and even death in the regenerating sub-forest species. In the present study, the acclimative capacity of the three most abundant species of the regenerating sub-forest of this reserve were evaluated: *Xylopia sericea*, *Siparuna guianensis* and *Byrsonima sericea* before (ARE) and after (DRE) of eucalyptus removal, as well as in the forest, in the period Dry and rainy seasons of 2013 and 2014 and in herbarium samples collected between 9 and 16 years ago. For this, gaseous changes, chlorophyll a fluorescence, specific leaf area (AFE), isotopic ratio of C ( $\delta^{13}\text{C}$ , or delta  $^{13}\text{C}$ ), carbon concentration (C) and elemental nitrogen (N), carbon ratio/nitrogen (C:N) and conducted transmission electron microscopy analyzes. Higher values of carbon assimilation (A) were observed in the rainy season DRE for the three species. In the dry rainy season there was reduction in A and stomatal conductance ( $g_s$ ) DRE. Higher values of  $\delta^{13}\text{C}$  were observed for DRE (-31.2 ‰, -32.5 ‰, -31.4 ‰ for *B. sericea*, *S. guianensis* and *X. sericea*, respectively) in contrast to the values -33.4 ‰; -33.3 ‰; -33.2 ‰ ARE for *B. sericea*; *S. guianensis* and *X. sericea*, respectively). The concentrations of elemental C and N for leaves of the three species were higher in the forest compared to DRE and herbarium samples. In general, the C:N ratio was lower DRE compared to the other areas. For the fluorescence parameters of chlorophyll a no values indicating the photoinhibition were observed in any of the three species. For all species the AFE was lower DRE and DOR thylakoid disorganization was observed compared to ARE and forest area. Forest management promoted ultra-structural, physiological and isotopic adjustments in the three species. The different isotopic signatures of C of the three DRE species can be used as temporal markers of forest management and the regeneration process of the sub-forest exposed to the highest irradiance.

Keywords: Atlantic Forest; Isotopes; management; gas exchange; Ultrastructure.

## 1. Introdução

A Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro inclui grande variedade de habitats inseridos em uma série de tipologias, que compõe um mosaico vegetacional bastante complexo (Veloso et al. 1991). Esta grande variedade de habitats proporciona a elevada biodiversidade no bioma. A Mata Atlântica possui grande número de espécies endêmicas, sendo considerada internacionalmente como área prioritária para a conservação (Mori 1989), e também classificada como um dos *hotspots* de biodiversidade do planeta (Myers et al. 2000).

A degradação e a fragmentação da Mata Atlântica foram e continuam sendo fruto da expansão de fronteiras agropecuárias, de áreas urbanas e do crescimento industrial (Cabral e Fiszon 2004), além de outros agravantes. Diante desta realidade, hoje este bioma está restrito a menos de 15% de sua área original, incluindo remanescentes florestais relativamente pequenos (83,4% deles são menores que 50 ha) (Ribeiro et al. 2009). No estado do Rio de Janeiro, a maioria dos remanescentes está localizada na região serrana (da Reserva Biológica do Tinguá ao Parque Estadual do Desengano) e na região sul do estado, principalmente nos municípios de Paraty, Angra dos Reis e Mangaratiba (Moraes et al. 2006).

Apesar de ser um bioma ameaçado, existem apenas duas Unidades de Conservação de proteção integral protegendo essas matas de baixada do estado do Rio de Janeiro: a Reserva Biológica de Poço das Antas e a Reserva Biológica União (REBIO União) (Evaristo 2008). A REBIO União foi criada através do Decreto de 22 de abril de 1998 com uma área total de 3126 hectares, dos quais, aproximadamente 220 ha estão cobertos por plantios de eucaliptos feitos anteriormente à criação da Unidade de Conservação, época na qual a propriedade, pertencia a Rede Ferroviária Federal - RFFSA, sendo denominada de Fazenda União (MMA-ICMBio 2007). Em 2008 foi aprovado e em 2013 foi posto em prática o plano de manejo dos eucaliptais na REBIO União, pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e Ministério do Meio Ambiente (MMA), que consiste na retirada das árvores de eucalipto sendo realizada através de anelamento, corte seletivo e corte raso, de acordo com a idade de cada plantio e estado de regeneração natural dos sub-bosques (MMA-ICMBio 2007).

Na REBIO União, área de estudo, o manejo dos eucaliptais alterou principalmente a disponibilidade de irradiância que chega as espécies regenerantes do sub-bosque (Silva et al. 2010; Lage-Pinto et al. 2015; Teixeira et al. 2015; Vitoria et al. 2016) e isso tem influência nas respostas aclimatativas à irradiância dessas espécies vegetais, podendo

comprometer ou não seu crescimento e estabelecimento no local. É sabido que espécies do estrato inicial de sucessão apresentam alta plasticidade, uma vez que estão expostas a maior variabilidade de recursos (Bazzaz e Pickett 1980). Entretanto, podem existir variações nos padrões de respostas entre e dentre as espécies de um mesmo grupo ecológico, uma vez que as respostas aclimatativas à irradiância devem variar ao longo do desenvolvimento vegetal (Sultan 2000) e, ainda, ao fator genético e local de origem da planta (Miner et al. 2005).

A aclimação de determinada espécie vegetal ao ambiente com variações na irradiância está relacionada à distribuição eficiente de C para todas as partes da planta (Valladares e Guzmán 2006), o que implicará em diversas adaptações anatômicas, morfológicas e ecofisiológicas (Poorter 1999; Nery et al. 2007; Favaretto et al. 2011).

A irradiância é fonte de energia para o crescimento e desenvolvimento vegetal e/ou pode ser um fator estressante (Wright e Schaick, 1994). O que para algumas espécies pode ser considerado “alta” irradiância”, para outras pode estar dentro de uma faixa tolerável de variação (Denslow et al., 1990).

Quando a espécie vegetal é exposta a “alta” irradiância (como exemplo à incidência direta do sol por algumas horas), a fotossíntese pode ser inibida e este processo é denominado de fotoinibição. Na fotoinibição ocorre redução da assimilação de CO<sub>2</sub> e do rendimento quântico do fotossistema II (FSII), podendo ocorrer também danos a proteína D1 (Demmig-Adams et al. 1996; Araújo e Deminiciis 2009). A fotoinibição pode ser reversível ou irreversível e depende do tempo em que a irradiância excede a capacidade de absorção de fótons pelo FSII (Osmond, 1994; Adir et al., 2003; Ort, 2001). Fatores combinados à excessiva irradiância, como aumento da temperatura, diminuição da umidade e do déficit hídrico podem promover uma drástica redução da capacidade fotossintética, contribuindo para a ocorrência do processo de fotoinibição (Kitao et al. 2000; Lemos Filho et al. 2004).

Muitas espécies vegetais apresentam plasticidade para tolerarem irradiância em excesso. A plasticidade das folhas varia com a intensidade de irradiância e com o estágio de desenvolvimento foliar (Lee et al. 2000; Richardson 2001; Justo et al., 2005; Nery et al., 2007). Folhas expostas a maior irradiância apresentam em geral menor área foliar específica (AFE), maior empilhamento de tilacóides e presença de plastoglóbulos quando comparado a folhas expostas a menor irradiância (Lichtenthaler et al. 1981; Lavinsky 2009). Essas alterações plásticas têm como principal função a manutenção das condições fotossintéticas. Entretanto, variações na assimilação de C são consequências destes ajustes

(Valladares et al. 2000; Neto 2003; Clark 2004). Variações nas trocas gasosas frente às condições ambientais aos quais os indivíduos estão expostos podem significar distintas respostas a diversos fatores, tais como o estado de hidratação, que influencia o processo de transpiração de maneira diretamente proporcional; adaptações foliares, nas quais folhas de sol e de sombra diferem quanto às taxas de fotossíntese; transpiração e condutância estomática, entre outros (Dias e Marengo, 2007; Sarijeva et al., 2007; Flexas et al., 2006). Diferenças nestas respostas podem ser atribuídas às alterações anatômicas e fisiológicas nas espécies vegetais.

Estudos com isótopos estáveis de C são considerados complementares às medições de trocas gasosas por integrarem a atividade fotossintética durante o período em que a planta foi formada com os recursos disponíveis durante sua formação (água, irradiância, temperatura, nutrientes e outros) (Michener e Lajtha 2007). A razão isotópica de  $^{13}\text{C}$  tem sido usada para o melhor entendimento de como as espécies ajustam seu metabolismo para tolerar condições ambientais adversas e a eficiência do uso da água (Dawson et al. 2002). Em geral, plantas sob excesso de irradiância e limitação hídrica, reduzem a condutância estomática ( $g_s$ ) discriminando menos contra o  $^{13}\text{C}$  e resultando em estruturas com valores maiores do  $^{13}\text{C}$  (Farquhar et al. 1989). O que beneficia plantas do sub-dossel, quando sob alta irradiância ou durante sua exposição aos ‘sunflecks’, é o fato delas discriminarem menos  $^{13}\text{C}$ , aumentando a concentração de carbono no espaço intercelular da folha, permitindo-lhe uma baixa, porém frequente, taxa fotossintética, mesmo sob uma condição de irradiância limitante (Franeey et al. 1985; Ehleringer e Cooper 1988).

Na REBIO União já foi verificado que as alterações microclimáticas causadas pela retirada do eucalipto (*Corymbia citriodora*) modificaram a assinatura isotópica de  $^{13}\text{C}$  nas principais espécies regenerantes do sub-bosque que se desenvolveram no início da estação chuvosa (Vitoria et al. 2016). Entretanto, não se sabe se alterações ultra-estruturais da lâmina foliar contribuirão para a manutenção das espécies nativas do sub-bosque após manejo florestal. Este trabalho avaliou o efeito temporal (utilizando-se de material de herbário e atual) e sazonal (avaliações no período seco e chuvoso) na capacidade fotoaclimatativa das espécies *Xylopia sericea*, *Siparuna guianensis* e *Byrsonima sericea* (que estão entre as mais abundantes) em área de mata e nos sub-bosques regenerantes em um plantio abandonado de eucalipto antes e depois (ARE e DRE, respectivamente) da remoção desta espécie exótica visando responder as seguintes questões:

(1) Houve influência temporal (avaliada a partir de material atual e de herbário coletado entre 9 a 16 anos atrás) e do manejo no  $\delta^{13}\text{C}$  das espécies regenerantes do sub-bosque?

(2) Estas espécies sofreram alterações morfológicas, ultra-estruturais e fotoinibição DRE?

(3) Houve alteração entre assimilação fotossintética e condutância estomática em relação ao manejo florestal e a sazonalidade?

## 2. Hipóteses

1) Amostras de herbário terão valores maiores do  $\delta^{13}\text{C}$  assim como as amostras (atuais) de folhas das espécies regenerantes do sub-bosque depois da remoção do eucalipto.

2) As três espécies regenerantes do sub-bosque apresentarão menor AFE depois da remoção do eucalipto.

3) As três espécies regenerantes do sub-bosque alterarão a ultra-estrutura dos seus cloroplastos depois da remoção do eucalipto.

4) Fotoinibição será observada para as três espécies regenerantes do sub-bosque DRE.

5) Reduções na assimilação fotossintética e condutância estomática acontecerão depois da remoção do eucalipto e no período seco.

## 3. Material e Métodos

### 3.1. Área de estudo, espécies e período de amostragem

A Reserva Biológica União, criada em 1998, classificada como Floresta Ombrófila Densa, abrange três municípios: Rio das Ostras, Casimiro de Abreu e Macaé e constitui um dos remanescentes de Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro. A Reserva ocupa uma área de cerca de 3.126 hectares, com 2.906 ha de Mata Atlântica e havia 220 ha de eucalipto (MMA-ICMBio 2007). O clima predominante na região é o tropical úmido Aw (Alvares et al. 2013), com temperatura média anual de 24°C e pluviosidade anual média de 2.200 mm (dados da Reserva Biológica de Poço das Antas, localizada a 31 km da Reserva Biológica União). O período chuvoso concentra-se entre os meses de outubro e abril (Silva et al. 2010).

O estudo foi realizado em uma área de mata secundária de floresta Atlântica e em uma área de antigo plantio de eucalipto (*Corymbia citriodora*, talhão 17, estabelecido em 1967) antes e depois da remoção do dossel desta espécie exótica (ARE e DRE, respectivamente). A coleta de dados e de material vegetal foi realizada no período

chuvoso (ARE: fevereiro/2013 e DRE: janeiro/2014) e seco (ARE: maio/2013 e DRE: junho/2014).

As espécies estudadas foram *Siparuna guianensis* Aubl. (secundária inicial), Siparunaceae, *Xylopia sericea* A. St.-Hill (pioneira), Annonaceae, e *Byrsonima sericea* D.C. (pioneira), Malpighiaceae (Carvalho et al. 2006), escolhidas devido a grande abundância destas na área dos plantios de eucalipto da REBIO União (Evaristo, 2008; Evaristo et al., 2011). As medidas foram realizadas em espécies com 1,5 a 2 m de altura e DAP  $\geq$  30 cm.

Estas espécies também foram avaliadas a partir de material de herbário coletado em plantios de eucalipto da REBIO União no ano 2000 (*Siparuna guianensis*), 2001 (*Xylopia sericea*) e 2007 (*Byrsonima sericea*), cujos vouchers no HUENF são: 6307; 1641 e 3850, respectivamente. Cinco a 7 indivíduos por espécie foram amostrados.

### 3.2. Caracterização ambiental

A radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foi medida à altura das folhas coletadas em vinte pontos com o auxílio de fluorímetro modulado portátil (FMS2, Hansatech, UK) na área de mata e do antigo plantio de eucalipto (ARE e DRE) ao meio-dia em um dia de céu aberto e sem nuvens (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização das condições das áreas de estudo (Mata; ARE – antes da remoção de eucalipto; DRE – depois da remoção de eucalipto) na REBIO União, em janeiro de 2013 e fevereiro de 2014. – não aplicável. \*(MMA-ICMBio 2007)

	MATA	ARE	DRE
Média de irradiância ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	9	506	1.480
Presença de eucalipto	Não	Sim	Não
Espaçamento entre eucalipto (m)	-	1,5 x 3*	-
Condição de desenvolvimento do sub-bosque	Vegetação densa	Vegetação bem desenvolvida*	Vegetação esparsa*
Distância para a floresta secundária (km)	-	1,5	1,5
Tempo (meses) entre a remoção de eucalipto e as medições	-	-	12
Manejo de remoção do eucalipto	Não	Não	Sim

### 3.3. Medições ecofisiológicas

#### 3.3.1. Emissão de Fluorescência da Clorofila *a*

Partes das folhas foram mantidas no escuro com auxílio de cliques foliares por 30 minutos e após este período expostas à luz de medição (aproximadamente  $6 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  a 660 nm), seguida por um pulso de luz actínica de alta intensidade ( $10.000 \mu\text{mol. m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), aplicada por 0,8 segundos, adaptado de Genty et al. (1989) e Kooten e Snel (1990).

Também foram registradas e submetidas à análise as seguintes variáveis da cinética de fluorescência da clorofila *a*: eficiência quântica máxima ( $F_V/F_m$ ); extinção da fluorescência: fotoquímico (qP) e não-fotoquímico (NPQ). Para essa metodologia foi utilizado o fluorímetro modulado portátil (FMS2 da Hansatech, UK).

### 3.3.2. Medidas de Trocas Gasosas e suas Correlações

Foram realizadas medidas de trocas gasosas utilizando um analisador de gás carbônico no infravermelho (IRGA) portátil, modelo Ciras-2 (PP Systems, UK). A concentração de  $CO_2$  utilizada foi de  $375 \mu mol\ mol^{-1}$ . As medições de assimilação fotossintética de  $CO_2$  (*A*) foram conduzidas entre 7:30 e 10:30 h que é o intervalo correspondente à máxima condutância estomática ( $g_s$ ). Estes horários foram baseados nas curvas de luz de cada espécie (*B. sericea* (7:30-9:30 h), *X. sericea* e *S. guianensis* (9:30-10:30 h) feita em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa (Silva et al. 2010; Lage-Pinto 2012) nas mesmas espécies do presente estudo.

### 3.4. Medidas de área foliar específica

Cinco folhas maduras, completamente expandidas, por indivíduo ( $n = 7 - 15$ ) de cada espécie foram retiradas em cada área de estudo (mata, ARE e DRE). Primeiramente, as folhas de cada espécie foram fotografadas com câmara digital (Canon DSC-W630) e, em seguida, secas em estufa a  $50\ ^\circ C$  por 48 horas para medidas de massa seca (MS). As imagens digitalizadas foram processadas pelo programa IMAGE J software 1.38 para obtenção da área foliar (AF). Para *Xylopia sericea*, que apresenta folhas compostas, o folíolo foi considerado. A área foliar específica (AFE) foi calculada pela fórmula:  $AFE = AF/MS$ .

### 3.5. Medições isotópicas

#### 3.5.1. Determinação de isótopos estáveis de carbono foliar

Cinco folhas de cada indivíduo ( $n = 7 - 15$ ) foram coletadas em janeiro de 2013 (ARE) e fevereiro de 2014 (DRE) e secas em estufa a  $50\ ^\circ C$  por 48 horas e, em seguida foram maceradas conjuntamente em N líquido. O material homogeneizado resultante foi pesado (0,5 mg) e inserido em cápsulas de estanho para determinação isotópica e elementar de C.

O  $\delta^{13}C$  e a concentração de C foram determinados em espectrômetro de massa ThermoFinnigan Delta V Advantage acoplado a analisador elementar Flash 2000 (Thermo

Fisher Scientific em Bremen, Alemanha) no Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) – UENF. Os resultados foram obtidos inicialmente relativos a padrões de trabalho para depois serem expressos em relação ao carbonato da formação Pee Dee (Belemnite). A precisão analítica foi de  $\pm 0,1$ .

### 3.6. Medições ultra-estuturais foliares

Fragmentos do terço mediano de folhas das três espécies coletadas em cada área (mata, ARE e DRE) foram pré-fixadas ainda no campo em solução contendo glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4,0 % e tampão cacodilato de sódio 0.05 M em pH 7,2, lavados três vezes no mesmo tampão e pós-fixado por 1h em uma solução de tetróxido de ósmio 1 % com tampão cacodilato de sódio 0,05 M em pH 7,2, à temperatura ambiente. Subsequentemente, as amostras foram desidratadas em série crescente de acetona (50 %, 70 %, 90 %, 100 %) e duas vezes em acetona super seca 100 %, por 1 h cada etapa (Klein et al. 2004). Após a desidratação, as amostras foram infiltradas e embebidas em resina epóxi (Polybed) e polimerizadas em estufa a 60 °C por 48 horas (Bozzola e Russel 1992). Em seguida, secções ultrafinos (70 – 90 nm) das amostras foliares foram retiradas em ultramicrótomo (Reichert Ultracuts Leica Instruments®), com auxílio de faca de diamante (Diatome®). As secções foram coletadas em grades de cobre (300 *mesh*), contrastadas com citrato de chumbo 5,0% e acetato de uranila 1,0 %, e posteriormente, observadas no microscópio eletrônico de transmissão (JEM 1400 Plus, Camera gatam, Japão) a uma aceleração de voltagem de 80 KV. As análises anatômicas foram realizadas no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) – UENF.

## 4. Estatística

Após verificada a normalidade e homogeneidade dos dados, estes foram submetidos às análises paramétricas para comparação dos tratamentos. Para comparar os períodos do ano (seco e chuvoso) e a influência das áreas sobre o desempenho fotossintético, a fluorescência da clorofila *a* nas três espécies foram feitas análises de variância (ANOVA *two-way*) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P = 5 \%$ ). A comparação da  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  entre as áreas foi feita utilizando-se ANOVA *one-way* e a comparação das médias feita pelo teste de Tukey ( $P = 5 \%$ ). A regressão linear ( $P > 0,01$ ) entre dados de isótopos de carbono foliar e trocas gasosas ( $A$  e  $g_s$ ) foi feita utilizando-se o programa Sigma Plot. Os testes ANOVA foram feitos no programa Statistica 7.0. E os gráficos foram feitos no programa Sigma Plot.

## 5. Resultados

### 5.1. A remoção de eucalipto alterou a razão isotópica de C e as trocas gasosas

As três espécies mostraram variações nos valores de  $A$ ,  $g_s$  e  $\delta^{13}C$  em função da área ou condições de manejo (mata, ARE e DRE) (Figura 1). De modo geral, ARE foram observados maiores valores de  $A$  e  $g_s$  e valores menores do  $\delta^{13}C$  foliar em comparação com os valores de DRE (Figura 1). Os valores do  $\delta^{13}C$  na mata para *B. sericea*; *S. guianensis* e *X. sericea* foram de: -34,0 ‰; -33,9 ‰; -33,6 ‰, respectivamente, e estiveram mais próximos dos valores obtidos ARE (-33,4 ‰; -33,4 ‰; -33,2 ‰, respectivamente), sendo estes menores em relação aos valores obtidos DRE (-31,2 ‰; -32,5 ‰; -31,4 ‰, respectivamente). As espécies *B. sericea*, *S. guianensis* e *X. sericea* apresentaram entre 50 - 70 % menos  $A$  na mata quando em comparação com a área de eucalipto ARE (mata: 4,5  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 5,0  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 3,3  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e ARE: 11,8  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 9,4  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 10,2  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente). Por outro lado, a retirada do dossel de eucalipto reduziu a  $A$  (DRE: 6,8  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 8,6  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e 7,0  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente) (Figura 1A). Não foi observado padrão para a variável  $g_s$  em função da remoção do eucalipto. Os valores de  $g_s$  variaram de 105 a 318  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de acordo com a espécie e a área de estudo (Figura 1B). De modo geral, foram encontrados maiores valores de  $g_s$  ARE para *B. sericea* (318,4  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e *S. guianensis* (163,2  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) em relação a área de mata (173,5  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e 105,3  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e DRE (65,5  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e 153,8  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente) (Figura 1B). Exceção para *X. sericea* em que o valor  $g_s$  foi maior DRE (184,6  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) comparado com o valor a área de mata (105,6  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e ARE (166,6  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (Figura 1B).

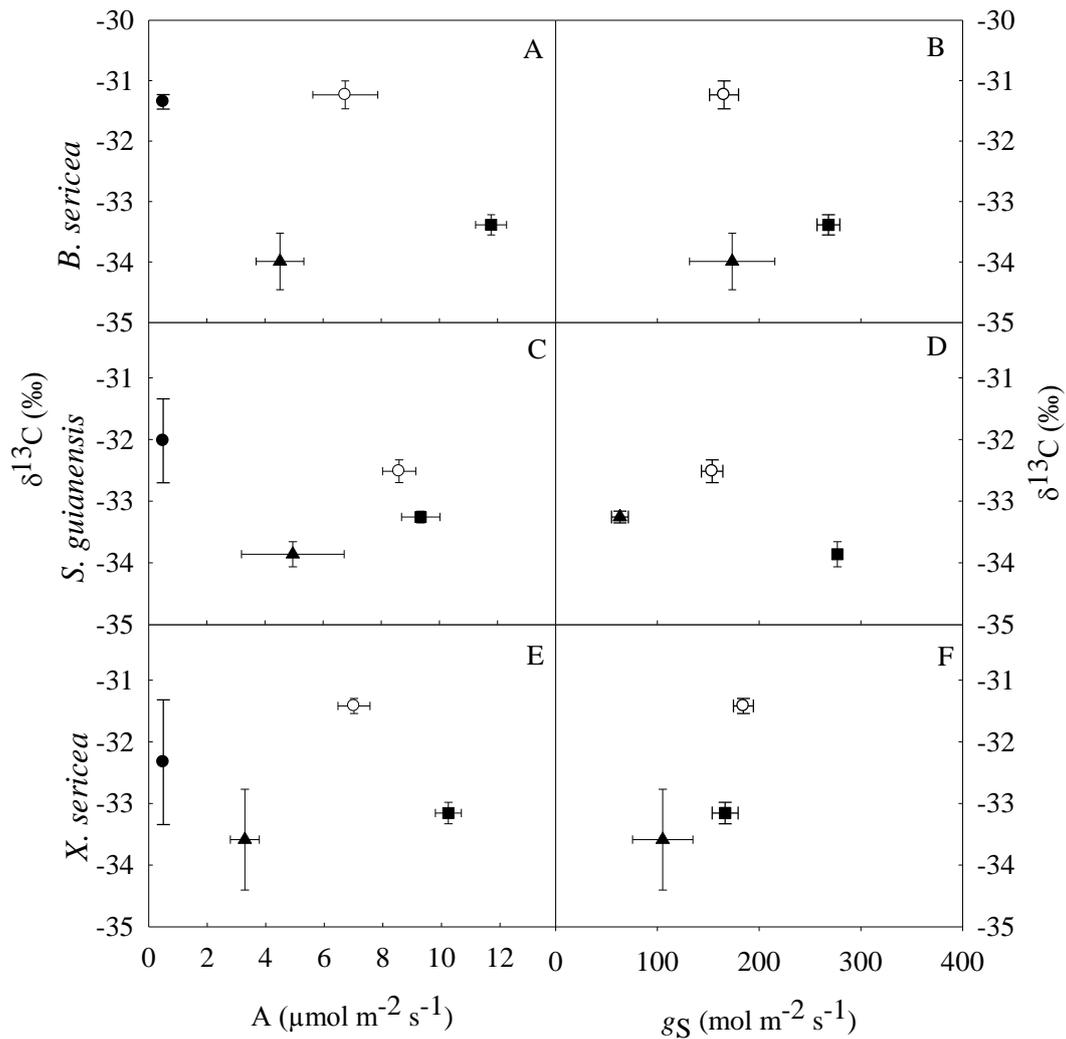


Figura 1. Média e erro padrão da relação entre  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) e assimilação fotossintética ( $A$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) (A, C e E), e entre  $\delta^{13}\text{C}$  e condutância estomática ( $g_s$ ) ( $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) (B, D e F) para *Byrsonima sericea* (A e B), *Siparuna guianensis* (C e D) e *Xylopia sericea* (E e F) em janeiro de 2013 (antes da remoção de eucalipto, quadrado fechado) e fevereiro de 2014 (um ano depois da remoção de eucalipto, círculo aberto), em amostras de herbário (círculo fechado) e na área de mata (triângulo fechado) na REBIO União.  $n = 5$ .

Quanto à variação sazonal da fotossíntese, para *B. sericea* foi verificado que somente DRE conforme aumentava a  $g_s$ , aumentava a  $A$  (Figura 2G; Tabela 2,  $r = 0,44$  e  $r = 0,35$ , chuvoso e seco, respectivamente). A mesma tendência foi observada para as espécies *S. guianensis* e *X. sericea* tanto ARE quanto DRE em ambos os períodos (seco e chuvoso), enquanto na área de mata, o aumento concomitante destas variáveis foi observado apenas no período chuvoso (Figura 2; Tabela 2).

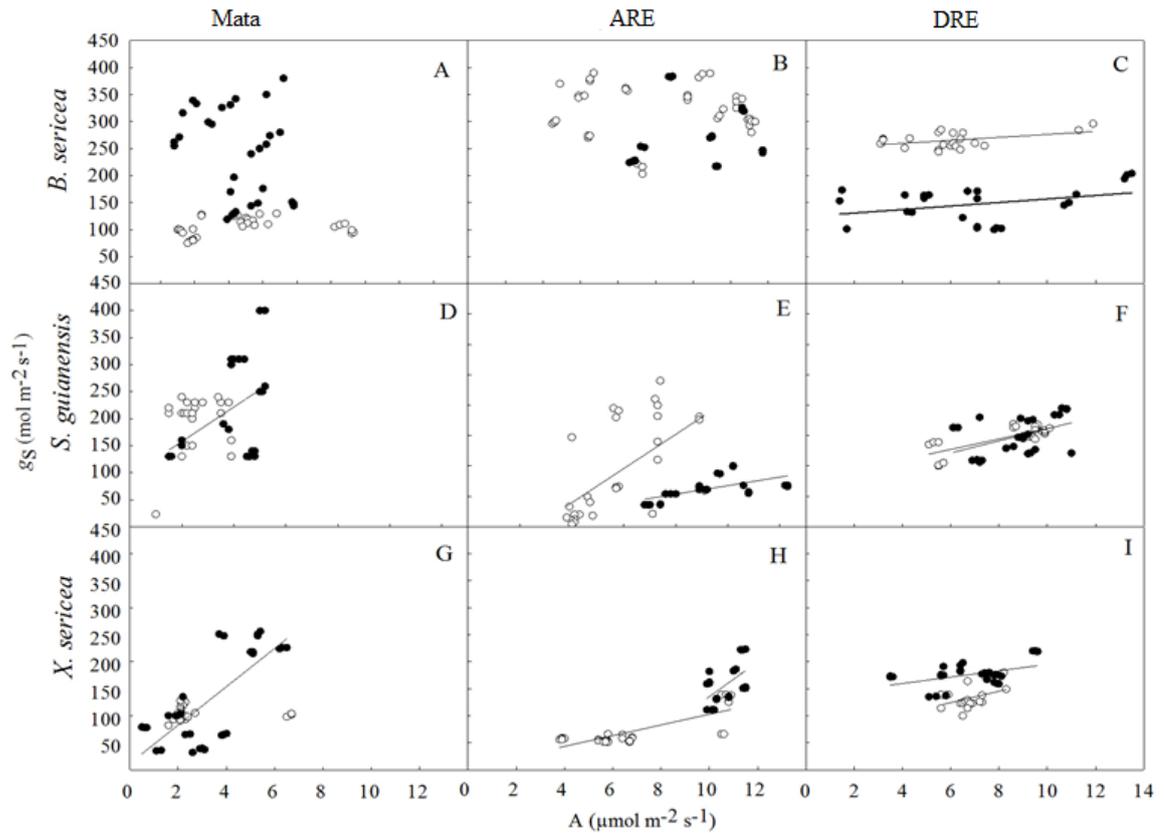


Figura 2. Regressão linear entre  $A$  ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e  $g_s$  ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) para *Byrsonima sericea* (A, B e C), *Siparuna guianensis* (D, E e F) e *Xylopia sericea* (G, H e I) durante o período seco (símbolo aberto) (maio de 2013, julho de 2014) e período chuvoso (símbolo fechado) (janeiro de 2013 e fevereiro de 2014) na REBIO União. A,D,G = mata; B,E,H = ARE (talhão 17 de eucalipto antes da sua remoção) e C,F,I = DRE (talhão 17 de eucalipto um ano após a sua remoção). Presença de linhas =  $P < 0,01$ .

Tabela 2. Regressão linear entre a assimilação fotossintética de CO<sub>2</sub> (A) e condutância estomática (g<sub>s</sub>) nos períodos seco e chuvoso para *Byrsonima sericea*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia sericea* na REBIO União nas áreas de mata; antes da remoção do eucalipto (ARE) e depois da remoção do dossel de eucalipto (DRE). Período seco ARE (maio de 2013); DRE (julho de 2014), período chuvoso ARE (janeiro de 2013); DRE (fevereiro de 2014). – ausência de relação entre as variáveis.

Espécies		MATA		ARE		DRE	
		chuvoso	seco	chuvoso	seco	chuvoso	seco
<i>Byrsonima sericea</i>	R					0,44	0,35
	P	-	-	-	-	0,03	0,08
<i>Siparuna guianensis</i>	R	0,44		0,59	0,60	0,46	0,77
	P	0,02	-	0,006	0,004	0,01	0,0001
<i>Xylopia sericea</i>	R	0,75		0,54	0,80	0,45	0,43
	P	0,0001	-	0,008	0,0001	0,01	0,07

Com relação às variações elementares e isotópicas de C e N nas áreas avaliadas foi observado que para todas as espécies os valores da  $\delta^{13}\text{C}$  foram maiores (amostras mais enriquecidas em  $^{13}\text{C}$ ) nas amostras de herbário e DRE em comparação com as amostras de mata e ARE, enquanto a concentração de elementar de C mostrou padrão inverso, exceção para *B. sericea* ARE (Tabela 3). A concentração de N elementar seguiu o mesmo padrão do C, com maiores concentrações na mata (2,5 % e 4,9 % para *B. sericea* e *S. guianensis*, respectivamente), como concentrações similares de N elementar para *X. sericea* em todas as amostras. A razão C:N sempre foi menor DRE quando comparado com todas as outras amostras, com exceção para *X. sericea* cuja relação C:N foi menor tanto DRE quanto nas amostras de herbário (Tabela 3).

Tabela 3. Média  $\pm$  desvio padrão para C (elementar e razão isotópica,  $\delta^{13}\text{C}$ ), N (elementar) e razão C:N em folhas de *Byrsonima sericea*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia sericea* na REBIO União no período chuvoso. Letras maiúsculas comparam ambientes para a mesma espécie. ARE (antes da remoção do eucalipto) e DRE (depois da remoção de eucalipto). n= 7-15.

Espécies	Ambientes	C(%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	N(%)	C:N
<i>Byrsonima sericea</i>	Herbário	30,7 $\pm$ 4,3 B	-31,4 $\pm$ 0,1 A	1,2 $\pm$ 0,1 B	30,8 $\pm$ 2,9 A
	Mata	41,9 $\pm$ 0,6 A	-34,0 $\pm$ 0,5 B	2,5 $\pm$ 0,4 A	21,7 $\pm$ 2,8 B
	ARE	26,0 $\pm$ 0,1 C	-33,4 $\pm$ 0,2 B	1,4 $\pm$ 0,1 B	21,8 $\pm$ 0,4 B
	DRE	25,9 $\pm$ 0,2 C	-31,2 $\pm$ 0,2 A	2,3 $\pm$ 0,1 A	13,3 $\pm$ 0,1 C
<i>Siparuna guianensis</i>	Herbário	28,8 $\pm$ 4,6 B	-32,0 $\pm$ 0,7 A	3,2 $\pm$ 0,1 B	10,6 $\pm$ 1,8 B
	Mata	40,7 $\pm$ 0,9 A	-33,9 $\pm$ 0,2 B	4,2 $\pm$ 0,6 A	13,2 $\pm$ 3,3 B
	ARE	38,2 $\pm$ 1,4 A	-33,3 $\pm$ 0,1 B	2,8 $\pm$ 0,2 C	17,1 $\pm$ 1,60 A
	DRE	25,4 $\pm$ 0,2 B	-32,5 $\pm$ 0,2 A	3,0 $\pm$ 0,1 B	9,9 $\pm$ 0,6 C
<i>Xylopia sericea</i>	Herbário	29,4 $\pm$ 4,5 B	-32,3 $\pm$ 1,0 A	2,5 $\pm$ 0,3 A	14,0 $\pm$ 0,2 B
	Mata	41,4 $\pm$ 0,8 A	-33,6 $\pm$ 0,8 B	2,78 $\pm$ 0,28 A	18,5 $\pm$ 2,6 A
	ARE	42,9 $\pm$ 0,7 A	-33,2 $\pm$ 0,2 B	2,5 $\pm$ 0,3 A	22,5 $\pm$ 1,8 A
	DRE	25,5 $\pm$ 0,1 B	-31,4 $\pm$ 0,1 A	2,3 $\pm$ 0,1 A	13,0 $\pm$ 0,4 B

### 5.2. Ausência de fotoinibição independente do manejo ou sazonalidade

Os valores do rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ) variaram entre 0,8 e 0,9, enquanto que o coeficiente de dissipação fotoquímico (qP) esteve sempre acima de 0,9 e o coeficiente de dissipação não-fotoquímico (NPQ) não foi superior a 0,2 para todas as espécies e ambientes (Tabela 4). No período seco houve redução dos valores de  $F_v/F_m$  e qP para *B. sericea* e *S. guianensis* em relação ao período chuvoso, independente da área. *Xylopia sericea* não mostrou variação espacial ou temporal para nenhum dos parâmetros fotoquímicos analisados, o mesmo acontecendo para NPQ nas três espécies (Tabela 4).

Tabela 4. Média  $\pm$  desvio padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* ( $F_v/F_m$ , qP e NPQ) nas espécies *Siparuna guianensis*, *Xylopia sericea*, *Byrsonima sericea* na REBIO União, em três áreas (mata, antes e depois da remoção do plantio de eucalipto), durante os períodos (chuvoso e seco). Letras maiúsculas comparam entre áreas e letras minúsculas comparam entre períodos para cada espécie. Média  $\pm$  erro padrão. n= 5-7. ARE (antes da remoção do eucalipto) e DRE (depois da remoção de eucalipto).

Espécies	Áreas	Períodos	$F_v/F_m$	qP	NPQ
<i>Byrsonima sericea</i>	Mata	chuvoso	0,90 $\pm$ 0,01 Ca	0,99 $\pm$ 0,01 Aa	0,06 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,80 $\pm$ 0,01 Cb	0,93 $\pm$ 0,01 Ab	0,12 $\pm$ 0,02 Aa
	ARE	chuvoso	0,89 $\pm$ 0,01 Aa	0,94 $\pm$ 0,01 Ba	0,14 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,88 $\pm$ 0,02 Ab	0,88 $\pm$ 0,02 Bb	0,09 $\pm$ 0,02 Aa
	DRE	chuvoso	0,87 $\pm$ 0,01 Ba	0,96 $\pm$ 0,07 Aa	0,06 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,86 $\pm$ 0,01 Bb	0,92 $\pm$ 0,01 Ab	0,10 $\pm$ 0,01 Aa
<i>Siparuna guianensis</i>	Mata	chuvoso	0,88 $\pm$ 0,01 Aa	0,96 $\pm$ 0,01 Aa	0,06 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,80 $\pm$ 0,01 Ab	0,93 $\pm$ 0,01 Ab	0,11 $\pm$ 0,01 Aa
	ARE	chuvoso	0,89 $\pm$ 0,01 Aa	0,97 $\pm$ 0,01 Aa	0,08 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,83 $\pm$ 0,02 Ab	0,92 $\pm$ 0,01 Ab	0,09 $\pm$ 0,02 Aa
	DRE	chuvoso	0,89 $\pm$ 0,01 Aa	0,95 $\pm$ 0,01 Aa	0,10 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,85 $\pm$ 0,01 Ab	0,90 $\pm$ 0,01 Ab	0,15 $\pm$ 0,02 Aa
<i>Xylopia sericea</i>	Mata	chuvoso	0,88 $\pm$ 0,01 Aa	0,96 $\pm$ 0,01 Aa	0,08 $\pm$ 0,02 Aa
		seco	0,83 $\pm$ 0,01 Aa	0,93 $\pm$ 0,01 Aa	0,09 $\pm$ 0,01 Aa
	ARE	chuvoso	0,87 $\pm$ 0,01 Aa	0,94 $\pm$ 0,01 Aa	0,12 $\pm$ 0,02 Aa
		seco	0,84 $\pm$ 0,02 Aa	0,94 $\pm$ 0,02 Aa	0,09 $\pm$ 0,01 Aa
	DRE	chuvoso	0,80 $\pm$ 0,02 Aa	0,95 $\pm$ 0,01 Aa	0,10 $\pm$ 0,01 Aa
		seco	0,86 $\pm$ 0,01 Aa	0,93 $\pm$ 0,01 Aa	0,10 $\pm$ 0,01 Aa

### 5.3. Alterações morfológicas e ultra-estruturais em função do manejo florestal

A área foliar específica (AFE) foi menor DRE (140,1  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 150,1  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 175,6  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ) quando em comparação com ARE (484,8  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 375,2  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 367,0  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e mata (499,5  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 515,1  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 476,0  $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ) para *B. sericea*, *S. guianensis* e *X. sericea*, respectivamente (Figura 3).

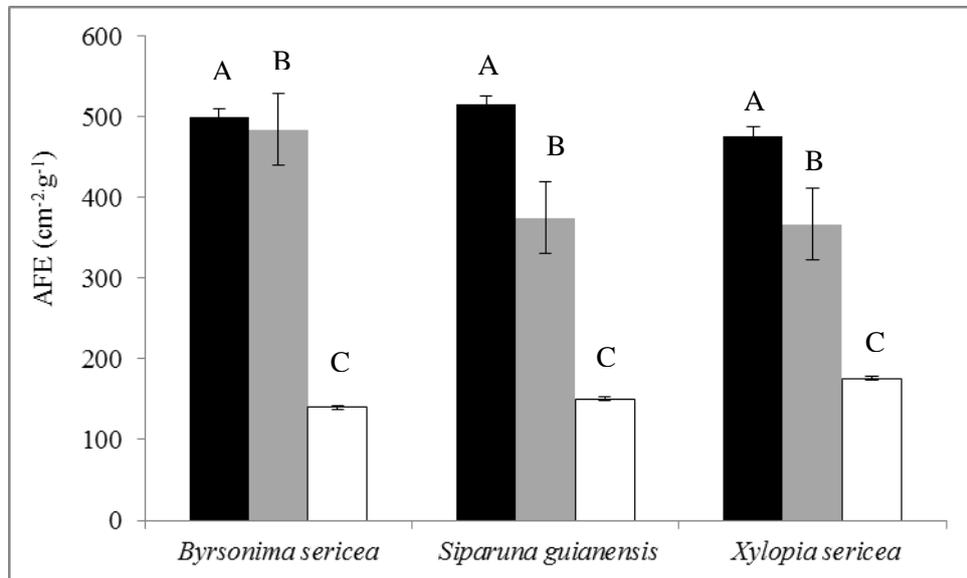


Figura 3. Média e erro padrão da área foliar específica ( $\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ ) das espécies *Byrsonima sericea*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia sericea* na REBIO União, em três áreas (mata, antes (ARE) e depois (DRE) da remoção do plantio de eucalipto). Letras maiúsculas comparam entre áreas para cada espécie. n = 15

As imagens ultra-estruturais da folha mostraram um afrouxamento dos tilacóides DRE para todas as espécies (Figura 4). Em todas as espécies, na área de mata (Figura 4A, 4D, 4G) foi observado que as membranas internas dos cloroplastos estavam organizadas em grandes pilhas bem estruturadas. Nas três espécies DRE (Figura 4C, 4F, 4I) foram observados lamelas com integridade prejudicada, com desorganização e diminuição do empilhamento dos tilacóides comparada à área de mata (Figura 4A, 4D e 4G) e ARE (Figura 4B, 4E e 4H). Nas três espécies, tanto ARE como DRE, houve mudança na organização das granas dos tilacóides (Figura 4B, 4C, 4E, 4F, 4H, 4I).

Plastoglôbulos foram observados em *S. guianensis* e *X. sericea* DRE (Figura 4F e 4I, respectivamente). *Byrsonima sericea* apresentou grãos de amido ARE e DRE (Figura 4B e 4C) e em *X. sericea* foi observado na área de mata e ARE (Figura 4G e 4H). Compostos fenólicos foram observados na região limítrofe subjacente ao tonoplasto das células paliçádicas de *B. sericea* DRE (Figura 4C) e gotas de óleos foram observadas nas espécies para as três áreas de estudo (Figura 4A, 4B e 4C).

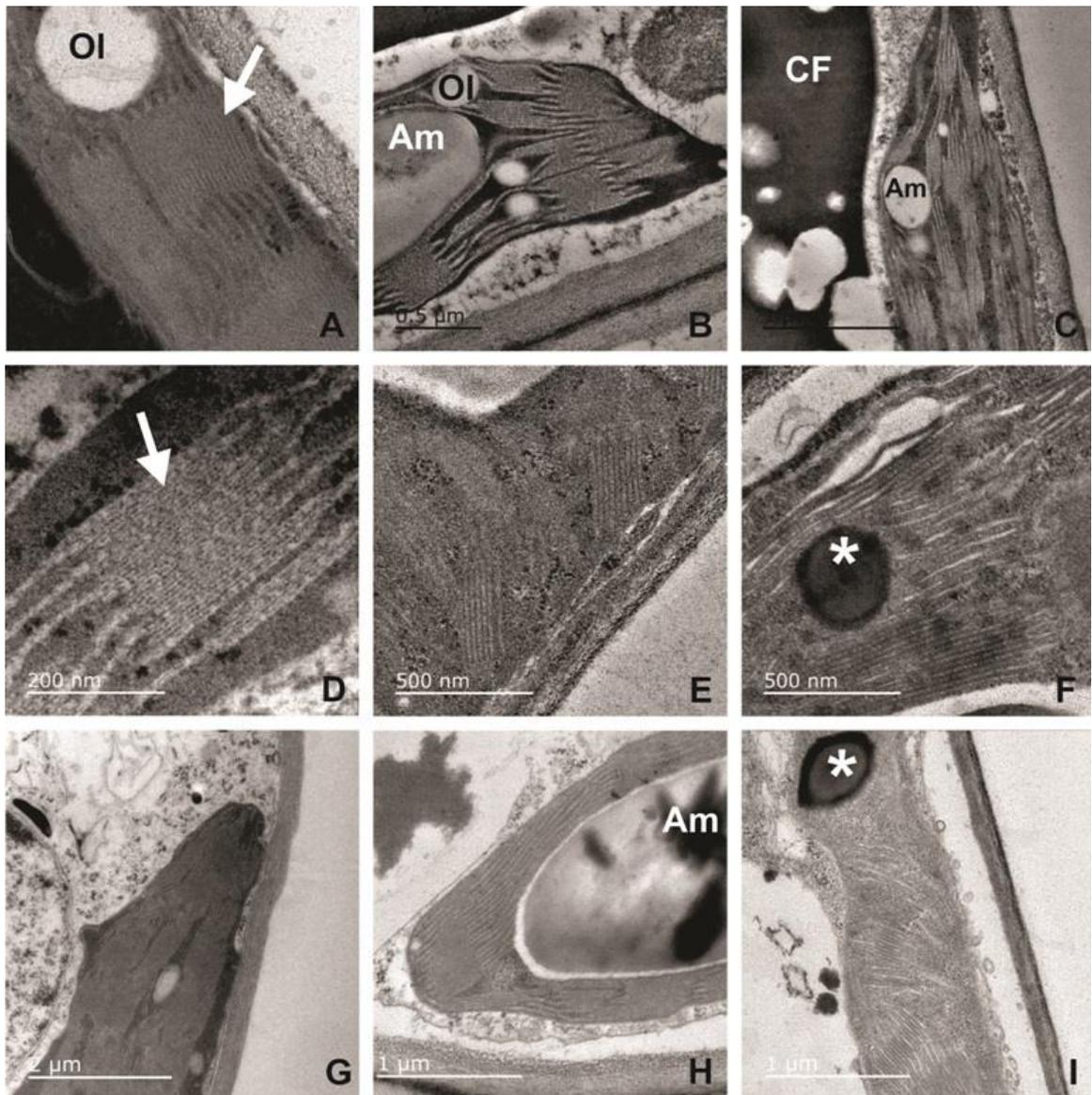


Figura 4. Microscopia eletrônica de transmissão (MET) de células do parênquima paliçádico de *Byrsonima sericea* (A, B, C), *Siparuna guianensis* (D, E, F) e *Xylopia sericea* (G,H,I) coletadas em janeiro de 2013 (antes) e dezembro de 2014 (depois). Mata (A, D, G), antes (B, E, H) e depois (C, F, I) da remoção do dossel de eucalipto na REBIO União – RJ. Am. grãos de amido; CF. compostos fenólicos; \* plastoglóbulos; seta branca. tilacóides; Ol. gotas de óleo.

## 6. Discussão

### 6.1. Alterações temporais de isótopos de C e sazonais nas trocas gasosas em função do manejo florestal

Variações temporais no  $\delta^{13}\text{C}$  foram observadas no presente estudo. A análise de material de herbário permite inferir que o manejo florestal provocou alterações nas condições microclimáticas da área tornando-a similar as condições que existiam entre 9 e 16 anos atrás, quando o dossel de eucalipto era mais aberto, além de corroborar o que havia sido previamente descrito para outras áreas da mesma reserva biológica sobre a alteração do  $\delta^{13}\text{C}$  em função do manejo (Figura 1) (Vitoria et al. 2016).

Reduções nos valores de  $A$  e  $g_s$  e maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  DRE do que ARE e na área de mata sugerem que as folhas das espécies DRE estão permanecendo mais tempo com os estômatos fechados, conseqüentemente levando a menor discriminação isotópica (Farquhar et al. 1989). O fechamento estomático ocorre, principalmente, em função de variações na irradiância e na temperatura da folha (Grime and Jeffrey 1965). Em ambientes ensolarados, a temperatura foliar aumenta causando restrição estomática à transpiração e alterações nas trocas gasosas, o que pode provocar queda na assimilação de carbono (Clark 2004), conforme visto no presente estudo.

Entretanto, em estudo desenvolvido em gradiente de luz também na REBIO União e com as mesmas espécies, Vitoria et al. (2016) observaram o contrário: aumento da  $A$  nas áreas de maior irradiância, embora o  $\delta^{13}\text{C}$  também tenha sido mais enriquecida nestas áreas, assim como no presente estudo.

Possivelmente, a diferença nos valores de  $A$  entre os dois estudos se deva ao fato do presente estudo ter conduzido as análises DRE em áreas mais impactadas pelo manejo, com maior irradiância ( $1.480 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e em plantas que ainda estava sofrendo fotoinibição devido ao menor tempo de fotoaclimação a irradiância direta (1 ano) do que os indivíduos do estudo de Vitória e colaboradores (2016), avaliados um ano e meio após o manejo (menos impactante) e expostas a menor irradiância ( $550 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Entretanto, como será discutido a frente, os valores da razão  $F_v/F_m$  sugerem que a fotoinibição se restrinja a  $A$ , e não a fase fotoquímica da fotossíntese. Ambos os estudos (Vitoria et al., 2016 e o presente) foram conduzidos no período chuvoso, o que exclui a diferença sazonal como um fator modulador da  $A$  e reforça que a maior irradiância possa ser o fator central a reduzir a  $A$  e a  $g_s$  do presente estudo.

Variações sazonais da abertura estomática em florestas tropicais têm sido descritas (Nogueira et al. 2004; Costa e Marengo 2007; Palhares et al. 2010; Silva et al. 2010; Lage-

Pinto et al. 2015), com reduções no valor de  $A$  no período seco. No período seco ocorre a redução da abertura estomática, que controla o potencial hídrico foliar (Buckley et al. 1999; Brodribb e Holbrook 2003; Prado et al. 2004). Como no período chuvoso não há necessidade de controle estomático tão efetivo, as espécies podem permanecer mais tempo com seus estômatos abertos para maior captação de  $\text{CO}_2$ , favorecendo a  $A$  (Prado et al. 2004).

As três espécies em estudo foram mais fotossinteticamente ativas no período chuvoso e os dados de  $g_s$  mostraram que a entrada de  $C$  via estômatos foi o fator limitante do processo fotossintético para a maioria das espécies (Figura 2; Tabela 2). Entretanto, *B. sericea* mostrou ter menor controle estomático que as demais espécies, como pode ser observado pelos maiores valores de  $g_s$  DRE no período seco, no qual o DPV é maior, em contraponto aos menores valores de  $g_s$  no período chuvoso (Figura 2G). As outras espécies apresentaram maior controle estomático no período seco, principalmente DRE. *Byrsonima sericea* também foi a única espécie a não mostrar limitação fotossintética pela  $g_s$  na área de mata e ARE, sugerindo que apenas quando as condições ambientais foram restritivas (como DRE) esta via de controle se tornou efetiva. Possivelmente, haja maior exigência desta espécie por luz quando em comparação com as outras duas, e este pode ser o fator limitante para sua assimilação de carbono.

Assim como ocorreu para o aumento da irradiância, sob condições de estresse hídrico também há fechamento estomático e redução da fotossíntese. Os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  em folhas podem inferir sobre eficiência do uso da água (EUA), definida como a razão líquida da fotossíntese ( $A$ ) pela transpiração ( $E$ ) ( $A/E$ ) (Dawson et al., 2002). Como a condutância estomática é proporcional à perda de água (dado condições ambientais semelhantes), a discriminação de  $^{13}\text{C}$  está positivamente correlacionada com perda de água por unidade de carbono assimilada e, portanto, é uma ferramenta útil para comparar o uso da água por co-ocorrência espécies (Farquhar and Richards 1984; Ehleringer 1991; Pate 2001). Sugere-se que as espécies do presente estudo obtiveram maior EUA DRE comparado a ARE, devido ao maior valor de  $^{13}\text{C}$  em folhas das espécies DRE (Tabela 2). A resposta da EUA à irradiância foi semelhante à relatada em outros trabalhos (Le Roux et al. 2001; Aranda et al. 2007). Entretanto, Sobrado (2008) em estudo na floresta amazônica com seis espécies arbóreas nativas observou que o  $\delta^{13}\text{C}$  foliar não forneceu qualquer indicação de EUA a longo prazo comparado com outros tipos de espécies florestais na área. Assim, enquanto os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foliar obtidos sugerem o controle estomático foi eficaz na maximização do ganho de carbono foliar por unidade de perda de água durante a

transpiração (ou seja, baixa relação  $c_i/c_a$ ) para as espécies *S. guianensis* e *X. sericea*, a espécie *B. sericea* não mostrou um controle estomático efetivo para compensar a excessiva perda de água esperada em condições de alta irradiância e temperatura. As diferenças interespecíficas na EUA entre as espécies pode ser explicado pela variação genética que ocorre quando o mesmo interage com o ambiente.

A relação direta entre aumento de  $A$  e da  $g_s$  (Figura 2; Tabela 2) mostrou que o manejo do eucalipto interferiu nas trocas gasosas. No período seco é comum aumento do DPV em função do aumento da temperatura e redução da umidade relativa, fatores estes também associados à maior irradiância e que, possivelmente, promoveram a limitação estomática DRE. Isso reduz a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $c_i$ ) e leva a menor discriminação do  $^{13}\text{C}$ , corroborada pelos maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foliar destas espécies DRE e no material de herbário (Figura 1, Tabela 3).

Variações na concentração de  $\text{CO}_2$  (em escala sazonal e interanual) e na irradiância têm sido descritos como responsáveis pelos distintos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foliar em florestas (Ometto et al. 2006). No entanto, alguns estudos têm sugerido que outros fatores seriam responsáveis por variações  $\delta^{13}\text{C}$  foliar, como o potencial hídrico da folha e/ou déficit de pressão de vapor (DPV), conteúdo de N (Duursma and Marshall 2006) ou vários fatores associados (Kranabetter et al. 2010). As variações no  $\delta^{13}\text{C}$  foliar observadas no presente estudo foram similares aos valores reportados em outros trabalhos para florestas tropicais no Brasil:  $-32,1\text{‰}$  (Martinelli et al. 1998), entre  $-31,7\text{‰}$  a  $-27,5\text{‰}$  (Duarte et al. 2005),  $-32,3\text{‰}$  (Ometto et al. 2006b), e entre  $-38,5\text{‰}$  a  $-24,6\text{‰}$  (Martinelli et al. 2007), na Guiana Francesa com valores entre  $-34,4\text{‰}$  a  $-26,6\text{‰}$  (Buchmann et al. 1997), entre  $-34,8\text{‰}$  a  $-27,5\text{‰}$  (Bonal et al. 2000), e na Venezuela com valor médio de  $-30,3\text{‰}$  (Sobrado 2008).

## 6.2. Ausência de estresse fotoquímico em função da sazonalidade ou do manejo florestal: influência das alterações ultra-estruturais

Os valores de  $F_v/F_m$  (Tabela 4) sugerem que as três espécies não estiveram submetidas a condição de estresse fotoquímico, seja sazonal ou espacialmente, pois os valores se mantiveram dentro da faixa considerada ótima para plantas saudáveis, entre 0,75 e 0,85 Butler e Kitajima (1975) *apud* Bolh ar-Nordenkampf et al. (1989). Os valores médios de qP (Tabela 4) mostram que as espécies apresentaram a mesma capacidade em converter energia luminosa em química tanto ARE quanto DRE. A variável qP reflete a propor o de centros de rea o do fotossistema II (FSII) abertos, e os elevados valores

observados podem resultar tanto de elevadas taxas de transferência de elétrons em torno FSII quanto da ocorrência de uma redução na dissipação não-fotoquímica (Chaloub et al. 2010).

A não verificação de estresse fotoquímico e danos ao aparato fotossintético nas espécies expostas a alta irradiância poderia estar relacionada a utilização da via de preservação do aparato fotossintético, a via de dissipação não-fotoquímica, conferida pelo coeficiente de dissipação (NPQ) (Demmig-Adams et al. 1996; Maxwell e Johnson 2000). Entretanto, os baixos valores de NPQ (em torno de 0,10 para mata, ARE e DRE) sugerem que esta via não foi ativada. É possível que as alterações ultra-estruturais das pilhas tilacoidais (Figura 4C, 4F, 4I), assim como produção de compostos fenólicos e plastoglóbulos DRE (Figura 4C, 4F, 4I) possam ter auxiliado na manutenção do fluxo de elétrons do FSII, consistindo em um ajuste estrutural para manutenção do processo fotossintético em condições de alta irradiância. Alterações na organização da grana dos tilacóides estão relacionadas ao estresse oxidativo sob o aparato fotossintético devido a condições ambientais adversas (Molas 2002; Munné-Bosch and Alegre 2004; II Austin et al. 2006; Lage-Pinto et al. 2008; Rabelo et al. 2013).

A presença de amido, observada em *B. sericea* DRE e *X. sericea* ARE (Figura 4C e 4H), é citada em outros trabalhos com espécies arbóreas tropicais quando expostas à alta irradiância (Martins et al., 2010; Souza et al., 2011; Rabelo et al., 2013) e sugerem o bom funcionamento fotossintético (Robakowski et al., 2004). Os plastoglóbulos encontrados em *S. guianensis* e *X. sericea* DRE (Figura 4F e 4I) também foram reportados para outros trabalhos com espécies em florestas tropicais (Rabelo et al., 2013; Fernandes et al., 2014).

Plastoglóbulos são partículas de lipoproteína dentro dos cloroplastos (II Austin et al. 2006) que tendem a aumentar durante o período de regulação do metabolismo lipídico dos plastídios em resposta ao estresse oxidativo e durante a senescência, podendo estar relacionados a um mecanismo de defesa e/ou estresse oxidativo no aparato fotossintético em decorrência de fatores ambientais (II Austin et al. 2006), como o aumento da irradiância (Rabelo et al., 2013; Fernandes et al., 2014) e baixa disponibilidade hídrica (Munné-Bosch e Alegre 2004). Sob condições de estresse, há uma substituição dos plastoglóbulos por outras moléculas lipídicas como plastoquinona, carotenóides,  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), que permanecem funcionalmente acoplados a membrana do tilacóide. Isto permite que as moléculas sirvam como portadores de elétrons e protejam o aparato fotossintético de danos de radicais livres (II Austin et al. 2006).

A presença de compostos fenólicos no vacúolo observadas em *B. sericea* DRE (Figura 4C) e de óleo na mata e ARE (Figura 4A e 4B) é reportado na literatura e afirma que espécie possui produção de óleos, lipídios e ácidos graxos (Higuchi 2007; Marinho 2008; Alexandrino et al. 2012; Lima et al. 2015). Compostos fenólicos e compostos lipídicos atuam na proteção do metabolismo vegetal contra estresse luminoso funcionando como quelante, sendo considerados detoxificadores (Lavid et al. 2001; Mantuano et al. 2006) e podem estar relacionados com a defesa química na proteção ao dessecamento ou contra ataque de herbívoros e patógenos (Fahn 1979; Esau 1985), embora haja dúvidas quanto às suas funções.

Pelo que foi observado, a fase fotoquímica da fotossíntese destas espécies não estaria sendo prejudicada pelo aumento da irradiância DRE. Recente trabalho desenvolvido na REBIO União com respostas fotoaclimatativas de curto-prazo destas mesmas espécies sugerem que elas são capazes de se aclimatarem fotoquimicamente após 3 meses da alteração micro-climática (corte raso de eucalipto com aumento da irradiância de 500 para cerca de  $1.500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), voltando a apresentar valores de  $F_v/F_m$  muito próximos aos encontrados antes do manejo (Teixeira et al., 2015; Capítulo 2 desta tese). Entretanto, no estudo citado, não foi avaliada a  $A$ , que de acordo com o presente estudo ainda apresenta redução mesmo após um ano da remoção dos eucaliptos, nem o envolvimento das alterações ultra-estruturais nesta aclimação.

### 6.3. Variações na morfologia e no $\delta^{13}\text{C}$ foram moduladas por variações ambientais

Nas áreas mais sombreadas (mata e ARE) foram observadas maiores AFE para as três espécies quando em comparação com a área mais ensolarada (DRE) (Figura 3). Tal padrão de resposta é amplamente relatado na literatura (Vitória et al., 2016; Rossatto et al., 2013; Evans e Poorter, 2001; Meziane and Shipley, 1999; Poorter, 1999). Indivíduos expostos a baixa irradiância possuem maior AFE, entre-nós mais alongados e maior conteúdo de água quando comparados aos que vivem sob alta irradiância (Meziane e Shipley 1999), nos quais as características opostas são citadas como mecanismos para evitar o excesso de irradiância e reduzir a transpiração (Dalling et al. 1999; Valladares e Niinemets 2008). Indivíduos que habitam áreas mais sombreadas necessitam de maior superfície foliar para interceptar a pouca quantidade de irradiância, ou seja, são capazes de interceptar de forma eficiente o pouco de irradiância que chega no sub-dossel.

Geralmente plantas expostas à alta irradiância possuem folhas grossas/espessas (Evans e Poorter 2001), devido, em parte, às camadas de células alongadas do tecido

paliádico (Hanson 1917). Isso aumenta a quantidade de cloroplastos e a capacidade fotossintética por unidade de área foliar (Evans 2001).

A restrição de água e a concentração de N na planta e no solo têm relação direta com a morfologia da folha em espécies arbóreas (Reich et al. 1998). A baixa disponibilidade hídrica DRE pode afetar a turgescência das células e, conseqüentemente, o crescimento e o desenvolvimento do vegetal. Entretanto, mesmo com menor AFE observado DRE, as três espécies mantiveram a capacidade fotossintética da folha (Figura 1) não sendo observado comprometimento fotoquímico das mesmas DRE.

A relação C:N nas folhas foi menor DRE, o que significa maior concentração de N nas folhas (Tabela 3) associado a maior A (Figura 1) porque em ambientes com alta irradiância, as folhas investem em maior concentração de nutrientes, especialmente N, para construção da RUBISCO, importante enzima do processo fotossintético, do que folhas expostas a ambientes com baixa irradiância (Field e Mooney 1983).

Em espécies arbóreas no sub-bosque de florestas tropicais, onde a irradiância é limitante, observa-se baixa A e maior quantidade de C, assim como a manutenção das folhas por mais tempo na planta (Bentley 1979). Folhas longevas investem mais em lignina, composto que confere rigidez na folha, a fim de evitar herbivoria (Kikuzawa 1991). O autor Coley (1988), em estudo na Floresta Tropical de Terra Baixa, no Panamá encontrou relação direta entre o tempo de vida útil foliar das espécies arbóreas e investimento em compostos de defesa, como lignina e fibras, ou seja, quanto mais tempo a folha ficava na planta maior era a quantidade de lignina e fibras encontrada nestas folhas. O prolongamento da longevidade foliar em ambientes pobres em recursos (baixa irradiância na área de mata) é considerado uma resposta eficiente das espécies a escassez de recursos (Moore 1980).

Portanto, as folhas da área de mata têm um custo maior, mesmo com menor A, investindo em C estrutural para manter as folhas rígidas, com maior tempo de vida útil do que o menor custo que tem as folhas de áreas onde a irradiância é maior (Kikuzawa 1991).

## 7. Conclusão

Variações no  $\delta^{13}\text{C}$  foliar das espécies foram causadas pelo manejo florestal. Sugere-se que as medidas isotópicas possam servir como marcadores temporais do manejo florestal e do processo de regeneração do sub-bosque exposto à maior irradiância.

Embora as três espécies sejam do extrato inicial de sucessão ecológica elas apresentaram redução da assimilação fotossintética na estação seca e na área foliar

específica DRE; entretanto sem sofrer fotoinibição. Possivelmente, as alterações ultra-estruturais dos cloroplastos preveniram danos ao aparato fotossintético, não tendo sido ativada a via de dissipação não-fotoquímica para a manutenção da atividade fotoquímica destas espécies. Isto evidencia a capacidade destas espécies de se aclimatar as novas condições ambientais após um ano de remoção dos eucaliptos.

## 8. Referências bibliográficas

- Adir N, Zer H, Shochat S, Ohad I (2003) Photoinhibition - A historical perspective. *Photosynth Res* 76:343–370. doi: 10.1023/A:1024969518145
- Alexandrino D, Morais SM, Martins CG, et al (2012) Avaliação da capacidade antioxidante, anti-acetilcolinesterásica e fenóis totais de extratos etanólicos de *Byrsonima sericea*. In: 52o Congresso Brasileiro de Química. pp 1–2
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, et al (2013) Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Zeitschrift* 22:711–728. doi: 10.1127/0941-2948/2013/0507
- Aranda I, Pardos M, Puértolas J, et al (2007) Water-use efficiency in cork oak (*Quercus suber*) is modified by the interaction of water and light availabilities. *Tree Physiol* 27:671–677. doi: 10.1093/treephys/27.5.671
- Araújo SA, Deminicis BB (2009) Fotoinibição da Fotossíntese. *Rev Bras Biociências* 7:463–472.
- Bazzaz FA, Pickett STA (1980) Physiological ecology of tropical succession: a comparative review. *AnnRevEcolSyst* 11:287–310. doi: 10.1146/annurev.es.11.110180.001443
- Bentley BL (1979) Longevity of individual leaves in a tropical rain forest understorey. *Ann Bot* 43:119–121. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085605
- Bolhàr-Nordenkamp HR, Long SP, Baker NR, et al (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation. *Funct Ecol* 3:497–514. doi: 10.2307/2389624
- Bonal D, Barigah TS, Granier A, Guehl JM (2000) Late-stage canopy tree species with extremely low  $\delta^{13}\text{C}$  and high stomatal sensitivity to seasonal soil drought in the tropical rainforest of French Guiana. *Plant, Cell Environ* 23:445–459. doi: 10.1046/j.1365-3040.2000.00556.x
- Bozzola JJ, Russel LD (1992) Electron microscopy: principles and techniques for biologists. pp. 542
- Brodribb TJ, Holbrook NM (2003) Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiol* 132:2166–2173. doi: DOI 10.1104/pp.103.023879
- Buchmann N, Guehl JM, Barigah TS, Ehleringer JR (1997) Interseasonal comparison of CO<sub>2</sub> concentrations, isotopic composition, and carbon dynamics in an Amazonian rainforest (French Guiana). *Oecologia* 110:120–131. doi: 10.1007/s004420050140
- Buckley TN, Farquhar GD, Mott KA (1999) Carbon-water balance and patchy stomatal

- conductance. *Oecologia* 118:132–143. doi: 10.1007/s004420050711
- Cabral DC, Fizon JT (2004) Padrões sócio-espaciais de desflorestamento e suas implicações para a fragmentação florestal: Estudo de caso na Bacia do Rio Macacu, RJ. *Sci For Sci* 13–24.
- Carvalho FA, Nascimento MT, Braga JMA (2006) Composição e riqueza florística do componente arbóreo da Floresta Atlântica submontana na região de Imbaú, Município de Silva Jardim, RJ. *Acta Bot Brasilica* 20:727–740. doi: 10.1590/S0102-33062006000300022
- Chaloub RM, Reinert F, Nassar CAG, et al (2010) Photosynthetic properties of three Brazilian seaweeds. *Rev Bras Botânica* 33:371–374. doi: 10.1590/S0100-84042010000200017
- Clark DA (2004) Sources or sinks? The responses of tropical forests to current and future climate and atmospheric composition. *Philos Trans R Soc London Ser B-Biological Sci* 359:477–491. doi: 10.1098/rstb.2003.1426
- Coley PD (1988) Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia* 74:531–536. doi: 10.1007/BF00380050
- Costa GF, Marengo RA (2007) Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amaz* 37:229–234. doi: 10.1590/S0044-59672007000200008
- Dalling JW, Lovelock CE, Hubbell SP (1999) Growth responses of seedlings of two neotropical pioneer species to simulated forest gap environments. *J Trop Ecol* 15:827–839. doi: 10.1017/S0266467499001200
- Dawson TE, Mambelli S, Plamboeck AH, et al (2002a) Stable isotopes in plant ecology. *Annu Rev Ecol Syst* 33:507–559. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.33.020602.095451
- Dawson TE, Mambelli S, Plamboeck AH, et al (2002b) Stable isotopes in plant ecology. *Annu Rev Ecol Syst* 33:507–559. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.33.020602.095451
- Demmig-Adams B, Adams-III WW, Barker DH, et al (1996) Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol. Plant.* 98:253–264. doi: 10.1034/j.1399-3054.1996.980206.x
- Denslow JS, Schultz JC, Vitousek PA, Strain B (1990) Growth Responses of Tropical Shrubs to Treefall Gap Environments. *Ecology* 71:165–179. doi: 10.2307/1940257
- Dias D, Marengo R (2007) Efeito da nebulosidade nos parâmetros da fluorescência em *Minquartia guianensis* Aubl. *Rev Bras Biociências* 5:54–56.

- Duarte HM, Geßler A, Scarano FR, et al (2005) Ecophysiology of six selected shrub species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE-Brazil. *Flora Morphol Distrib Funct Ecol Plants* 200:456–476. doi: 10.1016/j.flora.2005.02.004
- Duursma RA, Marshall JD (2006) Vertical canopy gradients in  $\delta^{13}\text{C}$  correspond with leaf nitrogen content in a mixed-species conifer forest. *Trees - Struct Funct* 20:496–506. doi: 10.1007/s00468-006-0065-3
- Ehleringer JR (1991)  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  fractionation and its utility in terrestrial plant studies. In: *Carbon Isotope Techniques*. 187-200 p.
- Ehleringer JR, Cooper TA (1988) Correlations between carbon isotope ratio and microhabitat in desert plants. *Oecologia* 76:562–566. doi: 10.1007/BF00397870
- Esau K (1985) *Anatomia vegetal*. pp. 779
- Evans JR, Poorter H (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Environment* 24:755–767. doi: 10.1046/j.1365-3040.2001.00724.x
- Evans RDD (2001) Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. *Trends Plant Sci* 6:121–126. doi: 10.1016/S1360-1385(01)01889-1
- Evaristo VT (2008) Dinâmica da comunidade e das principais populações arbustivo-arbóreas de mata atlântica em plantios abandonados de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson). Dissertação (Mestre em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Rio de Janeiro. 158p.
- Evaristo VT, Braga JMA, Nascimento MT (2011) Atlantic Forest regeneration in abandoned plantations of eucalypt (*Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill and L. A. S. Johnson) in Rio de Janeiro, Brazil. *Interciencia* 36:431–436.
- Fahn A (1979) Secretory tissues in plants. pp. 302
- Farquhar G, Richards R (1984) Isotopic Composition of Plant Carbon Correlates with Water - Use Efficiency of Wheat Genotypes. *Aust J Plant Physiol* 11:539–552. doi: 10.1071/PP9840539
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40:503–537. doi: 10.1146/annurev.pp.40.060189.002443
- Favaretto VF, Martinez CA, Soriani HH, Furriel RPM (2011) Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under

- sun and shade conditions. *Environ Exp Bot* 70:20–28. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.06.003
- Fernandes VF, Bezerra L de A, Mielke MS, et al (2014) Leaf anatomy and ultrastructure of *Ocimum gratissimum* under different light radiation levels. *Ciência Rural* 44:1037–1042.
- Field C, Mooney H (1983) Leaf age and seasonal effects on light, water, and nitrogen use efficiency in a California shrub. *Oecologia* 56:348–355. doi: 10.1007/BF00379711
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, et al (2006) Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO<sub>2</sub> concentration. *New Phytol* 172:73–82. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01794.x
- Franeev RJ, Gifford RM, Sharkey TD, Weir B (1985) Physiological influences on carbon isotope discrimination in huon pine (*Lagarostrobos franklinii*). *Oecologia* 66:211–218. doi: 10.1007/BF00379857
- Genty B, Briantais J-M, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 990:87–92. doi: 10.1016/S0304-4165(89)80016-9
- Grime AJP, Jeffrey DW (1965) Seedling Establishment in Vertical Gradients of Sunlight. *J Ecol* 53:621–642. doi: 10.2307/2257624
- Hanba YT, Mori S, Lei TT, et al (1997) Variations in leaf <sup>13</sup>C along a vertical profile of irradiance in a temperate Japanese forest. *Oecologia* 111:253–261. doi: 10.1007/s004420050158
- Hanson HC (1917) Leaf-Structure as Related to Environment. *Am J Bot* 4:533–560.
- Higuchi CT (2007) *Byrsonima* spp: estudo anatômico e histoquímico foliar, atividade antimicrobacteriana e citotoxicidade de extratos e seus derivados. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, São Paulo. 86p.
- Austin JR, Frost E, Vidi PA, et al (2006) Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *Plant Cell* 18:1693–1703. doi: 10.1105/tpc.105.039859
- Justo CF, Soares ÂM, Gavilanes ML, Castro EM De (2005) Plasticidade anatômica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). *Acta Bot Brasilica* 19:112–123. doi: 10.1590/S0102-33062005000100011

- Kikuzawa K (1991) A Cost-Benefit Analysis of Leaf Habit and Leaf Longevity of Trees and Their Geographical. *Am Nat* 138:1250–1263. doi: 10.1086/285281
- Kitao M, Lei TT, Koike T, et al (2000) Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. *Physiol Plant* 109:284–290. doi: 10.1034/j.1399-3054.2000.100309.x
- Klein DE, Gomes VM, Silva-Neto SJ, Da Cunha M (2004) The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Ann Bot* 94:733–740. doi: 10.1093/aob/mch198
- Kooten O van, Snel JFH (1990) The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth Res* 25:147–150. doi: 10.1007/BF00033156
- Kranabetter JM, Simard SW, Guy RD, Coates KD (2010) Species patterns in foliar nitrogen concentration, nitrogen content and <sup>13</sup>C abundance for understory saplings across light gradients. *Plant Soil* 327:389–401. doi: 10.1007/s11104-009-0062-6
- Lage-Pinto F (2012) *Ecofisiologia de duas espécies nativas da Mata Atlântica: Estudo fotossintético em áreas de plantio de eucalipto removido, abandonado e submetido à remoção da serapilheira em uma Reserva Biológica (REBIO União, RJ)*. Tese (Doutor em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Rio de Janeiro. 93p.
- Lage-Pinto F, Bernini E, Nascimento MT, Vitória AP (2015) Ecophysiology of two tropical species in an abandoned eucalypt plantation : effect of plant litter removal and seasonality. *Biotemas* 28:27–37. doi: 10.5007/2175-7925.2015v28n2p27
- Lage-Pinto F, Oliveira JG, Da Cunha M, et al (2008) Chlorophyll a fluorescence and ultrastructural changes in chloroplast of water hyacinth as indicators of environmental stress. *Environ Exp Bot* 64:307–313. doi: 10.1016/j.envexpbot.2008.07.007
- Lavid N, Barkay Z, Tel-Or E (2001) Accumulation of heavy metals in epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). *Planta* 212:313–322. doi: 10.1007/s004250000399
- Lavinsky AO (2009) *Características fotossintéticas e crescimento inicial de mudas de Euterpe Edulis em ambientes de “Cabruca.”* Dissertação (Mestre em Produção Vegetal). Universidade Estadual de Santa Cruz. 74p.
- Le Roux X, Bariac T, Sinoquet H, et al (2001) Spatial distribution of leaf water-use efficiency and carbon isotope discrimination within an isolated tree crown. *Plant, Cell Environ* 24:1021–1032. doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.00756.x
- Lee DW, Oberbauer SF, Johnson P, et al (2000) Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (dipterocarpaceae) species. *Am J Bot* 87:447–455. doi: 10.2307/2656588

- Lemos Filho JP, Goulart MF, Lovato MB (2004) Chlorophyll fluorescence parameters in populations of two legume trees: *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosoideae) and *Cassia ferruginea* (Schrad.) Schrad. ex DC. (Caesalpinoideae). *Rev Bras Botânica* 27:527–532. doi: 10.1590/S0100-84042004000300012
- Lichtenthaler HK, Buschmann C, Döll M, et al (1981) Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynth Res* 2:115–141. doi: 10.1007/BF00028752
- Lima GS, da Camara CAG, de Moraes MM (2015) Composition of Essential Oil from Leaves of *Byrsonima Sericea*. *Chem Nat Compd* 51:581–582. doi: 10.1007/s10600-015-1353-1
- Loss A, Pereira MG, Schultz N, et al (2010) Quantificação do carbono das substâncias húmicas em diferentes sistemas de uso do solo e épocas de avaliação. *Bragantia* 69:913–922. doi: 10.1590/S0006-87052010000400018
- Mantuano DG, Barros CF, Scarano FR (2006) Leaf anatomy variation within and between three “restinga” populations of *Erythroxylum ovalifolium* Peyr. (Erythroxylaceae) in Southeast Brazil. *Rev Bras Botânica* 29:209–215. doi: 10.1590/S0100-84042006000200002
- Marinho RO de S (2008) Estudo fitoquímico da espécie *Byrsonima sericea* e sua aplicação em dermocosmética. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). 74p.
- Martinelli L, Almeida S, Brown I, et al (1998) Stable carbon isotope ratio of tree leaves, boles and fine litter in a tropical forest in Rondônia, Brazil. *Oecologia* 114:170–179. doi: 10.1007/s004420050433
- Martinelli LA, Pierre J, Balbault H, et al (2007) The use of carbon and nitrogen stable isotopes to track effects of land-use changes in the Brazilian Amazon Region. In: *Stable isotopes as indicators of ecological change*. pp 301–318
- Martins JR, Alvarenga AA de, Castro EM De, et al (2010) Teores de pigmentos fotossintéticos e estrutura de cloroplastos de Alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. *Ciência Rural* 40:64–69. doi: 10.1590/S0103-84782010000100011
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *J Exp Bot* 51:659–668. doi: 10.1093/jexbot/51.345.659
- Meziane D, Shipley B (1999) Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. *Plant Cell Environ* 22:447–459. doi: 10.1046/j.1365-3040.1999.00423.x

- Michener R, Lajtha K (2007) Stable isotopes in Ecology and Environmental Science. pp. 594
- Miner BG, Sultan SE, Morgan SG, et al (2005) Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends Ecol Evol* 20:685–692. doi: 10.1016/j.tree.2005.08.002
- MMA-ICMBio (2007) Plano de recuperação ambiental das áreas ocupadas por eucaliptais na Reserva Biológica União/RJ. pp. 142
- Molas J (2002) Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni(II) complexes. *Environ Exp Bot* 47:115–126. doi: 10.1016/S0098-8472(01)00116-2
- Moore P (1980) The advantages of being evergreen. *Nature* 285:535. doi: 10.1016/S0169-5347(00)89156-9
- Moraes LFD, Assumpção JM, Luchiari C, Pereira TS (2006) Plantio de espécies arbóreas nativas para a restauração ecológica na Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57:477–489.
- Mori SA (1989) Eastern, extra-Amazonian Brazil. In: In Floristic inventory of tropical countries: the status of plant systematics, collections, and vegetation, plus recommendations for the future (D.G. Campbell & H.D. Hammond, eds.). pp. p. 427-454
- Munné-Bosch S, Alegre L (2004) Die and let live: Leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Funct Plant Biol* 31:203–216. doi: 10.1071/FP03236
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858. doi: 10.1038/35002501
- Nery FC, Alvarenga AA De, Justo CF, et al (2007) Aspectos anatômicos de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Rev Bras Biociências* 5:129–131.
- Neto MTC (2003) Efeito do Déficit Hídrico na Transpiração e Resistência Estomática da Mangueira. *Rev Bras Frutic* 25:93–95. doi: 10.1590/S0100-29452003000100027
- Nogueira A, Martinez CA, Ferreira LL, Prado CHBA (2004) Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica* 42:351–356. doi: 10.1023/B:PHOT.0000046152.05364.77
- Ometto JPHB, Ehleringer JR, Domingues TF, et al (2006) The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. *Biogeochemistry* 79:251–274. doi: 10.1007/s10533-006-9008-8

- Ort DR (2001) When there is too much light. *Plant Physiol* 125:29–32. doi: 10.1104/pp.125.1.29
- Osmond CB (1994) What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: *Photoinhibition of photosynthesis, from molecular mechanisms to the field*. pp. 24
- Palhares D, Franco a C, Zaidan LP (2010) Respostas fotossintéticas de plantas do cerrado nas estações seca e chuvosa. *Rev Bras Biociências* 8:213–220.
- Pate J (2001) Carbon Isotope Discrimination and Plant Water-Use Efficiency. In: *Stable Isotope Techniques in study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems*. pp. 18
- Ponton S, Dupouey J-L, Bréda N, Dreyer E (2002) Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype x environment interactions. *Tree Physiol* 22:413–422. doi: 10.1093/treephys/22.6.413
- Poorter L (1999) Growth responses of 15 rain forest tree species to a light gradient; the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct Ecol* 13:396-410. doi: 10.1046/j.1365-2435.1999.00332.x
- Prado CHB, Wenhui Z, Rojas MHC, Souza GM (2004) Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brazilian J Plant Physiol* 16:7–16. doi: 10.1590/S1677-04202004000100002
- Rabelo GR, Vitória ÂP, da Silva MVA, et al (2013) Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees - Struct Funct* 27:259–272. doi: 10.1007/s00468-012-0796-2
- Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS, et al (1998) Relationships of leaf dark respiration to leaf nitrogen, specific leaf area and leaf life span: atest across biomes and functional groups. *Oecologia* 114:471–482. doi: 10.1007/s004420050471
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, et al (2009) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol Conserv* 142:1141–1153. doi: 10.1016/j.biocon.2009.02.021
- Richardson J (2001) Rapid DiversiPcation of a Species-Rich Genus of Neotropical Rain Forest Trees. *Science (80- )* 293:2242–2245. doi: 10.1126/science.1061421
- Robakowski P, Samardakiewicz S, Kierzkowski D (2004) Variation in ultrastructure of chloroplasts in needles of silver fir (*Abies Alba* Mill.) saplings growing under the canopies of diverse tree species. *Polish J Ecol* 52:821–825.
- Rossatto DR, Hoffmann WA, de Carvalho Ramos Silva L, et al (2013) Seasonal variation

- in leaf traits between congeneric savanna and forest trees in Central Brazil: Implications for forest expansion into savanna. *Trees - Struct Funct* 27:1139–1150. doi: 10.1007/s00468-013-0864-2
- Sarijeva G, Knapp M, Lichtenthaler HK (2007) Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of *Ginkgo* and *Fagus*. *J Plant Physiol* 164:950–955. doi: 10.1016/j.jplph.2006.09.002
- Silva AS, Oliveira JG, da Cunha M, Vitória AP (2010) Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic forest. *Brazilian J Plant Physiol* 22:245–254. doi: 00.0000/S00000-000-0000-0
- Sobrado MA (2008) Leaf characteristics and diurnal variation of chlorophyll fluorescence in leaves of the “Bana” vegetation of the Amazon region. *Photosynthetica* 46:202–207. doi: 10.1007/s11099-008-0033-9
- Souza GS, Castro EM, Soares AM, et al (2011) Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. *Semin Agrar* 32:1843–1854. doi: 10.5433/1679-0359.2011v32Suplp1843
- Sultan SE (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci* 5:537–542. doi: 10.1016/S1360-1385(00)01797-0
- Teixeira MC, de Oliveira Vieira T, de Almeida TCM, Vitória AP (2015) Photoinhibition in Atlantic Forest native species: short-term acclimative responses to high irradiance. *Theor Exp Plant Physiol* 27:183–189. doi: 10.1007/s40626-015-0043-5
- Valladares F, Guzmán B (2006) Original article Canopy structure and spatial heterogeneity of understory light in an abandoned Holm oak woodland. *Ann For Sci* 63:749–761. doi: 10.1051/forest
- Valladares F, Niinemets Ü (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:237–257. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173506
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, et al (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81:1925–1936. doi: 10.1890/0012-9658(2000)081[1925:PPRTLO]2.0.CO;2
- Veloso H, Filho AR, Lima JCAJ (1991) Classificação da Vegetação Brasileira Adaptada a um Sistema Universal. IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos

Ambientais, Rio de Janeiro. pp. 124

- Vitoria AP, Vieira TDO, Camargo PDB, Santiago LS (2016) Using leaf  $\delta^{13}\text{C}$  and photosynthetic parameters to understand acclimation to irradiance and leaf age effects during tropical forest regeneration. For Ecol Manage 379:50–60. doi: 10.1016/j.foreco.2016.07.048
- Wright SJ, Schaick CP (1994) Light and the Phenology of Tropical Trees. Am Nat 143:192–199.

## CAPÍTULO 2: FOTOINIBIÇÃO EM ESPÉCIES NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA: RESPOSTAS ACLIMATATIVAS DE CURTO PRAZO À IRRADIÂNCIA DIRETA

Teixeira, M.C.<sup>1</sup>; Vieira, T. de O.<sup>1</sup>; Almeida, T. C. M.<sup>2</sup>; Vitória, A. P.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Brasil

<sup>2</sup> Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Brasil

Submetido à revista *Theoretical Experimental Plant Physiology* em 17 Julho 2015,

Publicado em 15 Outubro 2015.

### Resumo

O manejo florestal em uma reserva biológica está removendo o eucalipto. *Siparuna guianensis* (secundária inicial), *Xylopia sericea* e *Byrsonima sericea* (pioneira) são as três espécies nativas mais abundantes no sub-bosque de eucaliptos. A fluorescência de clorofila e os pigmentos fotossintéticos foram analisados a cada 2 semanas durante 120 dias após a corte e as questões levantadas foram: (i) As três espécies recuperarão seu desempenho fotossintético após 120 dias? (ii) O tempo de recuperação será semelhante entre essas espécies? (iii) O desempenho fotossintético varia com a hora do dia (8:00, 12:00 e 16:00)? Todas as três espécies recuperaram desempenho fotossintético após 120 dias. O quenching não-fotoquímico (NPQ) aumentou aproximadamente 40, 30 e 20% para *S. guianensis*, *X. sericea* e *B. sericea*, respectivamente, entre os dias 45 e 75 após a corte raso. No entanto, o desempenho fotossintético caiu apenas nos primeiros 45 dias ( $F_v/F_m$ : 0,73, 0,71 e 0,75 e  $\Delta F/F_m'$  0,56, 0,70 e 0,68 para *S. guianensis*, *X. sericea* e *B. sericea*, respectivamente). O maior valor de NPQ em *S. guianensis* está associada com o menor valor de  $\Delta F/F_m'$  e qP, sugerindo que esta espécie pode ser mais tolerante à sombra, em comparação com os outros. O PCA mostrou que *B. sericea* recupera mais rapidamente e/ou é menos afetada pela irradiância, quando comparado com as demais espécies analisadas. O desempenho fotossintético foi menor às 12:00 e 16:00, destacando a capacidade de recuperação noturna das espécies regenerantes do sub-boque e a fotoinibição dinâmica. Essas espécies apresentaram alto potencial de predomínio na área manejada e, portanto é importante acompanhar a dominância dessas espécies para evitar problemas ambientais.

Palavras-chave: aclimação fotossintética, biodiversidade, eficiência fotoquímica, manejo florestal.

## ABSTRACT

Forest management in a biological reserve is removing eucalyptus. *Siparuna guianensis* (early secondary), *Xylopia sericea* and *Byrsonima sericea* (pioneers) are the three most abundant native species in the eucalyptus understory. Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic pigments were analyzed every 2 weeks for 120 days after clearcutting to answer: (i) Will the three species recover their photosynthetic performance after 120 days? (ii) Will recovery time be similar across these species? (iii) Does photosynthetic performance vary with time of the day (8:00 am, 12:00 pm, and 4:00 pm)? All the three species recovered photosynthetic performance after 120-days. Non-photochemical quenching (NPQ) increased approximately 40, 30 and 20 % for *S. guianensis*, *X. sericea*, and *B. sericea*, respectively, between days 45 and 75 after clearcutting. However, photosynthetic performance fell only in the first 45 days ( $F_v/F_m$ : 0.73, 0.71, and 0.75 and  $\Delta F/F_m'$  0.56, 0.70 and 0.68 for *S. guianensis*, *X. sericea*, and *B. sericea*, respectively). The higher NPQ in *S. guianensis* is associated with the lower  $\Delta F/F_m'$  and qP, suggesting that this species may be more shade tolerant, compared to the others. The PCA showed that *B. sericea* recovers more quickly and/or is less affected by irradiance, when compared to the other species analyzed. The photosynthetic performance was lower at 12:00 and 4:00 p.m., highlighting the nocturnal recovery capacity of the sub-botanical regenerating species and the dynamic photoinhibition. These species presented high potential for dominance in the managed area and, therefore, it is important to follow the dominance of these species to avoid environmental problems.

Keywords: Biodiversity, Forest management, Photochemical efficiency, Photosynthetic acclimation

## 1. Introdução

Em florestas tropicais a luz é um dos fatores limitantes ao estabelecimento e crescimento das espécies nas comunidades vegetais (Valladares e Niinemets 2008; Houter e Pons, 2014). Não obstante, abertura de clareiras do dossel de florestas é um evento frequente, decorrente da queda ou corte de uma ou mais árvores do dossel, que resulta em mudanças físicas ambientais marcadas, principalmente, por um aumento da irradiação direta sobre o subdossel da floresta (Walters, 2005; Rabelo et al., 2013).

A formação de clareiras resulta, não apenas em sítios de regeneração de espécies, como também em um potencial fator de estresse luminoso (Chazdon et al., 1996). O excesso de irradiação pode diminuir a eficiência fotoquímica, levando a queda da atividade fotossintética e do crescimento em espécies vegetais (Osmond, 1994).

Tem sido sugerido que a capacidade de aclimação a mudanças na intensidade de luz é variável de espécie para espécie e pode estar relacionada ao gradiente de luz que elas recebem durante a fase jovem de desenvolvimento da planta (Krause et al., 2001; Vieira et al. 2015) do grupo sucessional (Chazdon et al., 1996; Ishida et al. 1999; Yamashita et al. 2000) com a sazonalidade (Ishida et al. 2014) e outros fatores.

A maioria dos trabalhos de classificação ecológica de espécies arbóreas comparam as espécies de estágios sucessionais distintos (pioneiras e clímax) (Ishida et al. 1999; Yamashita et al. 2000; Rabelo et al. 2013). Poucos estudos têm sido conduzidos com plantas do mesmo grupo ecológico (por exemplo, com espécies pioneiras) em condições do campo, principalmente em ambientes tropicais. Diferenças no potencial de aclimação e susceptibilidade a fotoinibição após aberturas de clareiras pode ser crítico para determinar o resultado de uma competição por espaço entre os diferentes grupos de espécies de plantas devido à ampla variação da condição luminosa dentro e entre aberturas de clareiras (Yamashita et al. 2000; Krause et al., 2001), elucidando, neste caso, a monodominância de algumas espécies em florestas.

Atualmente, o plano de manejo da Reserva Biológica União (REBIO União, RJ, Brasil) tem promovido a remoção de plantios abandonados de eucaliptos (*Corymbia citriodora*) expondo o sub-bosque regenerante de mata Atlântica que se formou sob o dossel dos eucaliptos à irradiância direta. Este sub-bosque tem como espécies mais abundantes *Xylopia sericea*, *Siparuna guianensis* e *Byrsonima sericea*, todas pertencentes aos estágios iniciais de sucessão, sendo classificadas como pioneiras ou secundárias iniciais (Lorenzi, 2000; Evaristo, 2008).

Este é o cenário ideal para avaliações no campo das respostas aclimatativas à luz de espécies nativas deste importante bioma brasileiro, o mais biodiverso ‘hotspots’ do país (Myers et al. 2000). A perda de biodiversidade é um sério problema neste bioma, e ações de implementação do manejo florestal permite a manutenção e/ou aumento da biodiversidade, a fim de evitar a monodominância.

Assim, medições da fotossíntese foram realizadas antes e 120 dias após remoção de eucaliptos, em três horários diferentes do dia (8 h, 12 h, e 16 h) para encontrar as respostas a três perguntas elementares: 1) As três espécies do sub-bosque regenerante conseguirão recuperar seu desempenho fotossintético após curto período (120 dias) de exposição à irradiação direta? 2) O tempo de recuperação do desempenho fotossintético será similar nas três espécies? 3) Existe diferença no desempenho fotossintético destas espécies em relação aos horários do dia?

## 2. Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido em uma Reserva Biológica de mata Atlântica (REBIO União, Brasil) (22° 27' 30''S e 42° 02' 15''W) em sub-bosque regenerante de um plantio de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook) L. A. Johnson e K. D. Hill) sem tratos silviculturais há 17 anos. A vegetação é classificada como floresta ombrófila densa (IBGE, 1992). O clima da região é tropical úmido ( $A_w$  em classificação climática Köppen, 1948). A temperatura anual é de 25°C e a média de pluviosidade é de 1.700 a 2.200 mm por ano, com 85% das chuvas distribuídas entre outubro e março.

As medidas foram feitas antes ( $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (0 dias) e após ( $1480 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) da abertura do dossel de eucalipto (15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias).

Antes e após a remoção dos eucaliptos por corte raso, sete indivíduos jovens ( $n = 7$ ) de *Xylopia sericea* A. St.-Hil. (pioneira), *Siparuna guianensis* Aubl. (secundária inicial) e *Byrsonima sericea* D.C. (pioneira), classificadas segundo Lorenzi (2000) tiveram a fluorescência da clorofila *a* medida em três horários: 8 h, 12 h e 16 h com o uso de fluorímetro modulado portátil (FMS2 Hansatech, UK), de acordo com Van Kooten e Snel (1990). Os parâmetros avaliados foram:  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$ ,  $\Delta F/F_m$ , qP e NPQ.

Para a quantificação de pigmentos fotossintéticos dois discos ( $0.502 \text{ cm}^2$ ) foliares foram retirados de 7 indivíduos por espécie ( $n = 7$ , as mesmas folhas utilizadas na análise de fluorescência da clorofila *a*). Cada disco foliar em tubo falcon contendo 5 mL de solvente orgânico (dimetilsufóxido, DMSO) envolvido com papel de alumínio para proteger da luz. O DMSO foi analisado em espectrofotômetro de 480 nm, 649 nm e 665

nm. Clorofilas *a*, *b*, carotenoides, clorofilas totais (*a* + *b*) e razão clorofila *a*:clorofila *b* foi calculada de acordo com Wellburn (1994). Valores foram expressados em nmol cm<sup>-2</sup>.

Todos os dados foram avaliados usando a análise de variância (two-way ANOVA) e as médias foram comparadas usando o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Foi aplicada uma análise em componentes principais (PCA), para verificar a relação dos diferentes conjuntos amostrais em grupos a partir do conjunto de variáveis consideradas (Legendre e Legendre, 1998), considerando as seguintes variáveis:  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$ ,  $\Delta F_m/F_m'$ , qP, NPQ, clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides. Previamente as variáveis foram padronizadas, quanto às unidades, e centralizadas (Clarke e Warwick, 1994).

### 3. Resultados

#### 3.1. Fluorescência da clorofila *a* e pigmentos fotossintéticos

A avaliação do desempenho fotoquímico e da composição de pigmentos fotossintéticos revelou comportamento distinto entre as espécies no decorrer do período de avaliação.

Foi verificada diferença significativa, ao longo do dia e do tempo de avaliação, com menores valores médios para  $F_v/F_m$ ,  $\Delta F_m/F_m'$  e qP registrados as 12:00 h e 16:00 h e maiores valores médios de NPQ nos mesmos horários (Figura 1).

Aos 45 dias de avaliação foram encontrados os valores médios mínimos para razão  $F_v/F_m$  de 0,73 para *S. guianensis*, de 0,71 para *X. sericea* e de 0,75 para *B. sericea* ao meio-dia (Figura 1).

Os valores médios de  $\Delta F_m/F_m'$  (entre 0,7 e 0,8) e de  $F_v/F_m$  (entre 0,8 e 0,9) observados no início da manhã foram ligeiramente mais altos que os obtidos no resto do dia, atingindo valores mínimos ao meio-dia, quando o déficit de pressão de vapor (DPV) costuma ser mais intenso. A redução dos valores de  $F_v/F_m$  e  $\Delta F_m/F_m'$  coincidiu com o aumento nos valores de dissipação não-fotoquímica NPQ. Na maioria das espécies, esse aumento do NPQ foi verificado próximo ao meio-dia e as 16 h (Figura 1).

Os valores de qP no início da manhã (8 h) foram em torno de 0,90, para as três espécies durante todo o período de avaliação. A espécie *B. sericea* teve maior valor de qP no horário de 16 h (Figura 1).

Os valores médios de NPQ foram diferentes entre as espécies. *S. guianensis* mostrou maiores valores médios as 12 h e 16 h, de 45 dias até 75 dias de avaliação, seguido por maiores valores de *X. sericea* e *B. sericea* (Figura 1).

Houve diferença significativa para a concentração de carotenóides em função do período de avaliação para as três espécies. Foi observado aumento na concentração de carotenóides para todas as espécies, principalmente para *B. sericea* ( $8,38 \text{ nmol.cm}^{-2}$ ). No entanto, a razão clorofilas totais/carotenóides reduziu em função do tempo, e apenas aos 60 dias para *X. sericea* foi observado aumento no valor da razão clorofilas totais/carotenóides. Para razão clorofila *a/b* foi observado aumento aos 60 dias após a remoção da cobertura do dossel, para *X. sericea* e *B. sericea* (Figura 1).

A análise em componentes principais (PCA) permitiu a extração e explicação de dois eixos, que explicaram 89,4% da variação entre os valores dos parâmetros:  $F_v/F_m$ ,  $\Delta F/F_m'$ , qP, NPQ, clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides (Figura 2).

O eixo 1, que representou 68,9% da variação, foi formado principalmente pelas extremas das coordenadas negativas:  $F_v/F_m$  ( $r = -0,45$ ),  $\Delta F/F_m'$  ( $r = -0,43$ ) e qP ( $r = -0,45$ ), com o tempo de avaliação à irradiância sendo representado por este eixo. A distribuição das amostras ao longo deste eixo ilustrou a formação de dois grupos de amostras distintas relacionadas à espécie *X. sericea* com valores dos parâmetros associados ao início do tempo de avaliação (0 dias) (Figura 2).

O eixo 2, que explicou 20,4% da variação, foi formado principalmente pelas extremas das coordenadas negativas de NPQ ( $r = -0,72$ ) e clorofila *b* ( $r = -0,56$ ), sendo representado, principalmente, pelas três espécies *X. sericea*, *S. guianensis* e *B. sericea* associadas aos parâmetros NPQ e clorofila *b* (120 dias) (Figura 2).

#### 4. Discussão

Os menores valores encontrados para  $F_v/F_m$ ,  $\Delta F/F_m'$  e qP ao longo das horas do dia e por 120 dias demonstrou que o aumento do NPQ (maior dissipação de calor) junto a redução do qP, permitiu que menos energia fosse direcionada a atividade fotossintética e isto mostra o efeito da remoção da cobertura do dossel sobre as espécies.

Valores médios reduzidos de  $F_v/F_m$  aos 45 dias de avaliação para as espécies *S. guianensis* e *X. sericea* indicam que o fotossistema II (PSII) foi afetado e a conversão de energia não foi preservada, visto que os valores não estão de acordo com a faixa proposta por Butler e Kitajima (1975) que é entre 0,75 e 0,85. Entretanto, o valor de  $F_v/F_m$  para *B. sericea* sugere que a espécie tenha maior potencial de aclimação do aparato fotossintético para tolerar a variação de irradiância em relação as demais espécies.

Os valores médios maiores de qP do início da manhã mostrou maior capacidade de converter a energia absorvida em fotoassimilados do que as demais espécies. O alto valor

de qP encontrado, evidencia a capacidade de aclimação à irradiância das espécies. Em estudo realizado por Franco et al. (2007) em árvores do Cerrado, os autores obtiveram valores de qP em torno de 0,80, pouco antes do nascer do sol, tal resposta foi relacionada com rápida conversão de zeaxantina para violaxantina, indicando fotoproteção das espécies.

O aumento na concentração de carotenóides, sob alta intensidade luminosa, promove a ativação do ciclo das xantofilas, especificamente a zeaxantina, que promove a dissipação do excesso de energia na forma de calor (Demmig-Adams e Adams, 1992). Os resultados sugerem que a via de dissipação de energia (NPQ) juntamente com os carotenóides estariam sendo moduladas pelo aumento da irradiância e seria uma resposta aclimatativa das espécies, demonstrando a capacidade de se fotoprotger, pois a ação concomitante evita ou minimiza a ocorrência de processos danosos ao FSII (Demmig-Adams et al., 1990; Demmig-Adams e Adams, 1992). Ishida et al. (2014) encontraram relação entre o aumento do valor NPQ e razão clorofilas totais/carotenoides em resposta a estação seca. Outros estudos da REBIO União com as mesmas espécies (*B. sericea* - Silva et al. (2010), *S. guianensis* e *X. sericea* – Lage-Pinto et al. 2012) encontraram a hipótese de ação de sinergismo. Estes autores não encontraram mudanças na capacidade fotossintética ( $F_v/F_m$  e outros parâmetros) entre as estações (seca e chuvosa) em ambientes sombreados, apenas em clareiras, na estação seca, foi observado redução na capacidade fotossintética destas espécies.

Os valores de NPQ de *S. guianensis* obtidos no presente estudo foram três e duas vezes mais elevados do que para *B. sericea* e *X. sericea* durante o período e exposição à irradiância. O maior valor de NPQ em *S. guianensis* é associado ao menor valor de  $\Delta F/F_m'$  e qP observados, sugerindo que esta espécie pode ser mais tolerante ao sombreamento, em comparação com os outros. De fato, *S. guianensis* está classificada como espécie secundária enquanto as outras espécies são pioneiras, é possível concluir que a intensidade da resposta aclimatativa dessas espécies varia, embora todas elas estejam classificadas como espécies do estágio inicial de sucessão.

Além do aumento da NPQ, observamos menor relação clorofila total/carotenóide. Esta constatação indica que as espécies avaliadas melhoraram o acúmulo de carotenoides sob alta irradiância, conforme relatado anteriormente (Silva et al., 2010, Lage-Pinto et al., 2012, Vieira et al. 2015). Esta estratégia fisiológica está diretamente relacionada a ação fotoprotetora dos carotenóides e o importante papel que estes compostos desempenham na dissipação como emissão de calor (qNP e NPQ) (Ma et al. 2003; Demmig-Adams e Adams

III, 2006). Sob alta irradiância, o ciclo de xantofila é ativado, auxiliando na dissipação do excesso de energia (Demmig-Adams e Adams 1992, Franco et al. 2007). Um estudo que investigou a associação da ciclo de xantofila com a cinética de fluorescência de clorofila *a* em maior detalhe relataram a correlação entre o aumento dos valores de NPQ e a concentração de zeaxantina (Franco et al., 2007). Isso pode ser atribuída à rápida diminuição da atividade do NPQ, que por sua vez está associada à dissipação de calor causada por um gradiente eletroquímico de prótons através da membrana do tilacóide e a excitação de moléculas de zeaxantina (Thiele et al., 1998; Franco et al. 2007). A rápida reversão da zeaxantina em violaxantina, o que acontece em poucas horas, também foi relatado por Franco et al. (2007), indicando o papel central do ciclo das xantofilas na fotossíntese.

No presente estudo apesar das três espécies nativas estarem classificadas como espécies do estágio inicial de sucessão, ou seja, espécies requerentes por altas intensidades de luz, as mesmas mostraram diferente tempo de recuperação para aclimação sob alta irradiância como visto na PCA (Figura 2). A PCA mostrou que *B. sericea* conseguiu recuperar mais rapidamente o desempenho fotossintético em 120 dias de exposição à irradiância direta, pois os valores obtidos no tempo de 120 dias se aproximaram dos valores no tempo zero. No entanto, após a remoção da espécie exótica, os parâmetros fotossintéticos das três espécies retornaram ao normal, e os indivíduos não exibiram nenhum sinal de terem sido afetados. Deve-se notar o crescimento de espécies de gramíneas e nenhuma clorose em espécies de árvores nativas jovens foram observadas ao longo do estudo na área, sugerindo que a três espécies avaliadas poderão eventualmente estabelecer, prejudicando o crescimento de outras espécies nativas da floresta. Além disso, as espécies nativas analisadas podem aumentar os índices de sombreamento na área e, subsequentemente, promover o aumento da riqueza de espécies, embora a biodiversidade possa ser reduzida se o estabelecimento delas for mais abundantes por longo período. Nesse sentido, é importante monitorar abundância das espécies e o desempenho fotossintético das espécies na área, compreender os fatores que regem a recuperação e a dinâmica das florestas tropicais.

## 5. Conclusão

Em resposta as três questões que nortearam este trabalho:

1 - As três espécies foram capazes de recuperar sua capacidade fotoquímica após 120 dias de exposição à luz direta, sugerindo que as espécies estejam aclimatadas as condições ambientais.

2 - Houve distinção na resposta aclimatativa das espécies dentro do mesmo grupo funcional. As espécies *S. guianensis* e *B. sericea* recuperaram o desempenho fotossintético antes do que *X. sericea*, que recuperou tardiamente.

3 – Houve diferença no desempenho fotossintético das três espécies em relação aos horários do dia.

## 6. Agradecimentos

A CAPES pelo suporte financeiro. UENF pela infraestrutura. Aos técnicos Helmo e Gerson pelo apoio nas atividades de campo. Ao professor Dr.º. Tito Cesar Marques de Almeida pelas contribuições quanto ao programa Prime.

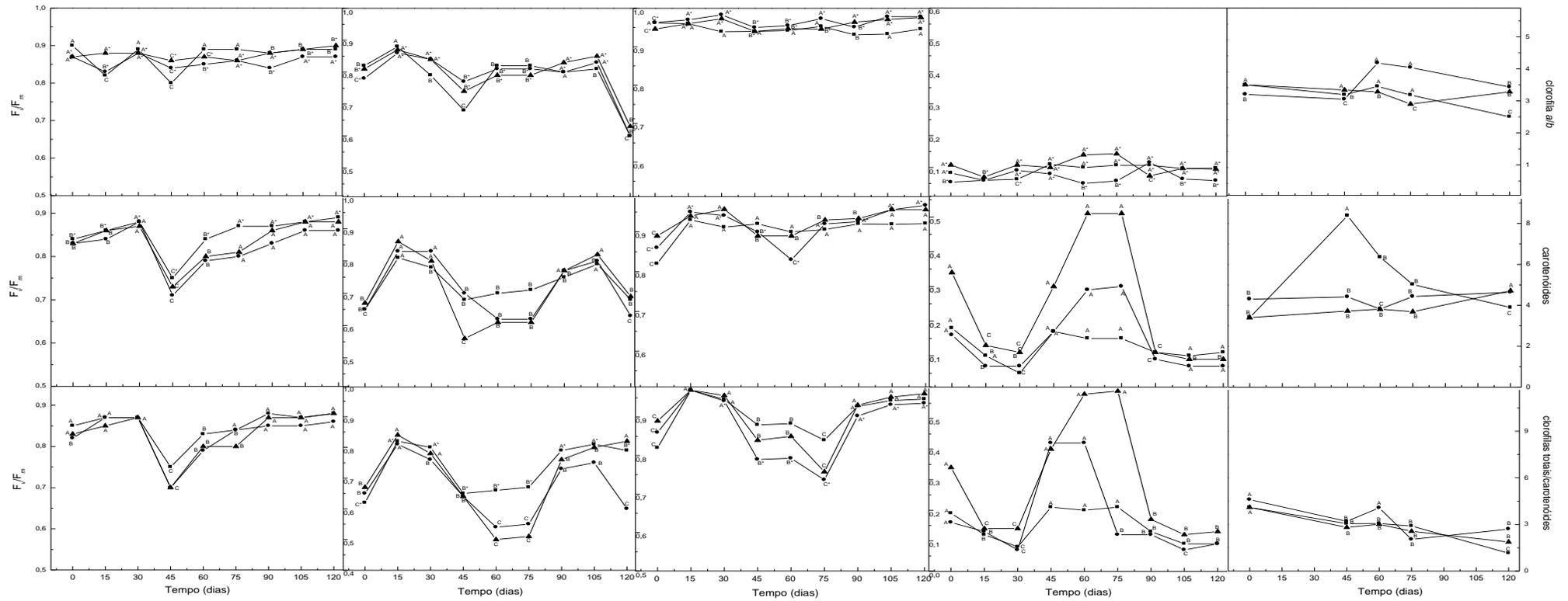


Figura 1. Fluorescência da clorofila *a* ( $F_v/F_m$ ,  $\Delta F/F_m'$ ,  $qP$  e NPQ) para as espécies *S. guianensis* ( $\triangle$ ); *X. sericea* ( $\circ$ ); *B. sericea* ( $\square$ ) ao longo de 120 dias de exposição direta à irradiância e durante as horas do dia (8h: A, D,G,J; 12h: B, E, H, K, e 16 h: C, F, I, L) e pigmentos fotossintéticos (clorofila b, carotenoides e clorofilas totais/carotenoides) ao longo de 120 dias as 12h (M, N, O). Letras maiúsculas foram estatisticamente significativas ao longo dos dias. \* indica que foi estatisticamente significativo para hora do dia.

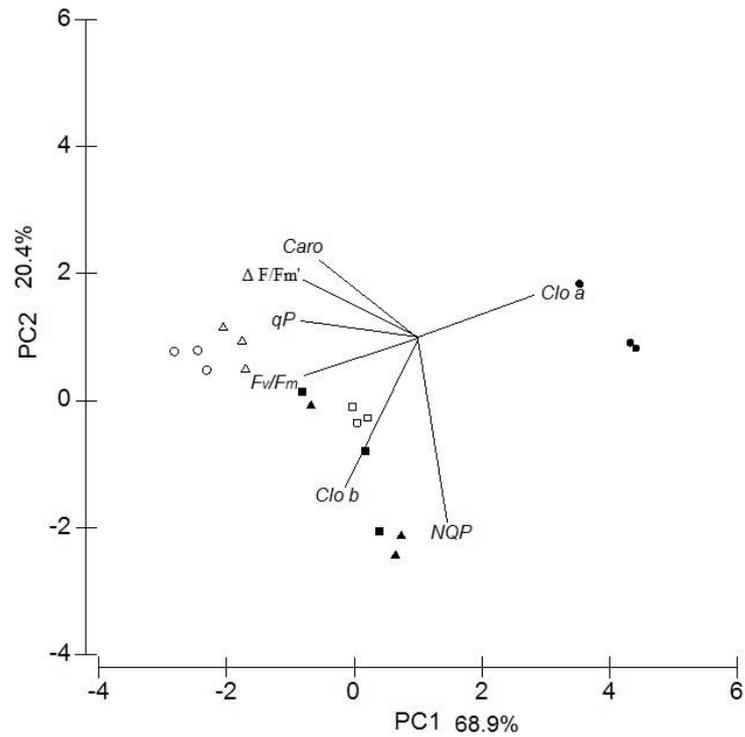


Figura 2. Análise de componentes principais considerando os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* ( $Fv/Fm$ ,  $\Delta Fm/Fm'$ ,  $qP$ ,  $NQP$ ) e pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides) de *Siparuna guianensis* ( $\Delta$ ), *Xylopia sericea* ( $\circ$ ) e *Byrsonima sericea* ( $\square$ ) antes da exposição direta à irradiância (0 dias) e após a exposição direta à irradiância (120 dias). Símbolos fechados (0 dias) e símbolos abertos (120 dias).

## 7. Bibliografia

- Butler WL, Kitajima M (1975) Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. *Biochim Biophys Acta* 376:116–125. doi:10.1016/0005-2728(75)90210-8
- Chazdon RL, Pearcy RW, Lee DW, Fetcher N (1996) Photosynthetic response of tropical forest plants to contrasting light environments. In: Mulkey RL, Chazdon SS, Smith AP (eds) *Tropical forest plant ecophysiology*, 1st edn. Chapman and Hall, New York, pp 5–55
- Clarke KR, Warwick RM (1994) *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth, New York
- Demmig-Adams B, Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to highlight stress. *Annu Rev Plant Phys* 43:599–626. doi:10.1146/annurev.pp.43.060192.003123
- Demmig-Adams B, Adams WW III (2006) Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytol* 172:11–21. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01835.x
- Demmig-Adams B, Adams WW, Heber U, Neimanis S, Winter K, Kruger A, Czygan FC, Blioger W, Bjorkman O (1990) Inhibition of zeaxanthin formation and of rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplasts. *Plant Physiol* 92:293–301. doi:10.1104/pp.92.2.293
- Evaristo VT (2008) *Dinâmica da comunidade e das principais populações arbustivo-arbóreas de mata atlântica em plantios abandonados de eucalipto (Corymbia citriodora (Hook.) K.D.Hill & L.A.S. Johnson)*. Dissertation, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
- Franco AC, Matsubara S, Orthen B (2007) Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in Neotropical savanna trees. *Tree Physiol* 27:717–725. doi:10.1093/treephys/27.5.717
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (1992) *Manual técnico da vegetação brasileira*. Série Manuais Técnicos em Geociências, IBGE, Rio de Janeiro
- Ishida A, Nakano T, Matsumoto Y, Sakoda M, Ang LH (1999) Diurnal changes in leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in three tropical tree species with contrasted light-requirement. *Ecol Res* 14:77–88. doi:10.1046/j.1440-1703.1999.00291.x
- Ishida A, Yamazaki JY, Harayama H, Yazaki K, Ladpala P, Nakano T, Adachi M, Yoshimura K, Panuthai S, Staporn D, Maeda T, Maruta E, Diloksumpun S, Puangchit L (2014) Photoprotection of evergreen and drought-deciduous tree leaves to overcome

- the dry season in monsoonal dry forests in Thailand. *Tree Physiol* 34:15–28. doi:10.1093/treephys/tpt107
- Köppen W (1948) *Climatologia: con un studio de los climas de la tierra*, 1st edn. Fondo de Cultura Econômica, México
- Krause GH, Koroleva OY, Dalling JW, Winter K (2001) Acclimation of tropical tree seedling to excessive light in simulation tree-fall gaps. *Plant Cell Environ* 24:1345–1352. doi:10.1046/j.0016-8025.2001.00786.x
- Lage-pinto F, Bernini E, Oliveira JG, Vitória AP (2012) Photosynthetic analyses of two native Atlantic Forest species in regenerative understory of eucalyptus plantation. *Theor Exp Plant Physiol* 24:95–106. doi:10.1590/S1677-04202012000200003
- Lorenzi H (2000) *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa, São Paulo
- Ma YZ, Holt NE, Li XP, Niyogi KK, Fleming GR (2003) Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting. *Proc Natl Acad Sci* 100:4377–4382. doi:10.1073/pnas.0736959100
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858. doi:10.1038/35002501
- Osmond CB (1994) What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: Baker NR, Bowyer JR (eds) *Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field*, 3rd edn. BIOS Scientific Publishers, Oxford, pp 1–24
- Rabelo GR, Vitória AP, Silva MVA, Cruz RA, Pinho EIB, Ribeiro DR, Freitas AV, Mda Cunha (2013) Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees* 27:259–272. doi:10.1007/s00468-012-0796-2
- Silva AS, Oliveira JG, Cunha M, Vitória AP (2010) Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic Forest. *Braz J Plant Physiol* 22:245–254. doi:10.1590/S1677-04202010000400004
- Thiele A, Krause GH, Winter K (1998) In situ study of photoinhibition of photosynthesis and xanthophyll cycle activity in plants growing in natural gaps of the tropical forest. *Aust J Plant Physiol* 25:189–195. doi:10.1071/PP97119
- Van Kooten O, Snel JFH (1990) The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth Res* 25:147–150. doi:10.1007/BF00033156

- Vieira TO, Degli-Esposti MSO, Souza GM, Rabelo GR, Mda Cunha, Vitória AP (2015) Photoacclimation capacity in seedling and sapling of *Siparuna guianensis* (Siparunaceae): response to irradiance gradient in tropical forest. *Photosynthetica* 53:11–22. doi:10.1007/s11099-015-0073-x
- Wellburn AR (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol* 144:307–313. doi:10.1016/S0176-1617(11)81192-2
- Yamashita N, Ishida A, Kushima H, Tanaka N (2000) Acclimation to sudden increase in light favoring an invasive over native trees in subtropical islands, Japan. *Oecologia* 125:412–419. doi:10.1007/S004420000475

### **CAPÍTULO 3: ALTERAÇÕES ISOTÓPICAS DE CARBONO E NITROGÊNIO EM SISTEMA SOLO-PLANTA EM PLANTIOS DE EUCALIPTOS SUBMETIDOS AO CORTE RASO E NA FLORESTA ATLÂNTICA**

#### **RESUMO**

Estudos da razão isotópica de carbono (C) e nitrogênio (N) em diferentes compartimentos (planta – serapilheira – solo) de um ecossistema permitem compreender a dinâmica desses elementos no sistema solo-planta e inferir sobre seu uso pela comunidade vegetal. Neste estudo foram determinadas as razões isotópicas e elementares de C e N e razão C:N em folhas, solos e serapilheira em área de mata Atlântica secundária da reserva Biológica União e em áreas em que houve o manejo (corte raso) de eucaliptos lá existentes: área manejada há 12 meses (M12, talhão 17) e área manejada há 3 meses (M3, talhão 39C). As frações granulométricas nos solos de três áreas também foram determinadas. As amostras de solo tiveram maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  do que as amostras de folhas e frações de serapilheira. Os resultados para concentrações de C e N foram similares nas três áreas com maiores valores nas frações de serapilheira. A razão C:N foi maior na fração madeira nas áreas manejadas. Os resultados das frações granulométricas do solo foram distintos nas três áreas de estudo.

As áreas de mata secundária e M12 (cujos solos contêm maior quantidade de fração argila e silte, respectivamente) apresentaram no solo maior  $\delta^{15}\text{N}$  e menor razão C:N quando comparadas a área M3 (com maior quantidade de fração areia). Relação inversamente proporcional foi observada entre  $\delta^{15}\text{N}$  e razão C:N do solo. Solos argilosos (mata) apresentaram maior valor do  $\delta^{15}\text{N}$ , enquanto solos arenosos (M3) apresentaram maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$ . O  $\delta^{13}\text{C}$  do solo também foi alterado pelo manejo, com M3 apresentando os maiores valores possivelmente devido a presença de Poaceae (C4) resultante da maior irradiância pós manejo. Isto é corroborado pelo maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  na fração resto da serapilheira no M3. Através do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  podemos sugerir que houve decomposição da matéria orgânica, sendo esta maior na área de mata do que nas áreas manejadas. Assim, podemos concluir que as razões isotópicas e elementares de C e N foram distintas entre compartimentos e áreas de estudo devido às alterações ambientais advindas do manejo florestal e podem ser utilizadas como marcadores do manejo e uso do solo.

Palavras-chave: folhas, serapilheira, isótopos estáveis de C e N, solo superficial.

## ABSTRACT

Studies of the isotopic ratio of carbon (C) and nitrogen (N) in different compartments (plant - litter - soil) of an ecosystem allow to understand the dynamics of these elements in the soil - plant system and infer about their use by the plant community. In this study, the isotopic and elemental ratios of C and N and C:N ratio in leaves, soils and litter in the secondary Atlantic forest area of the União Biological Reserve and in areas where there was management (shallow cut) of existing eucalyptus: area managed 12 months ago (M12, field 17) and area managed 3 months ago (M3, field 39C). The granulometric fractions in the soils of three areas were also determined. Soil samples had higher values of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  than leaf samples and litter fractions. The results for C and N concentrations were similar in the three areas with the highest values in litter fractions. The C:N ratio was higher in the wood fraction in the managed areas. The results of the soil granulometric fractions were different in the three study areas. Secondary forest and M12 areas (whose soils contain a greater amount of clay and silt fraction, respectively) had a higher  $\delta^{15}\text{N}$  and a lower C:N ratio than the M3 area (with the highest amount of sand fraction). The inversely proportional relationship was observed between  $\delta^{15}\text{N}$  and C: N ratio of the soil. Clay soils (mata) had a higher value of  $\delta^{15}\text{N}$ , while sandy soils (M3) had a higher value of  $\delta^{13}\text{C}$ . The  $\delta^{13}\text{C}$  of the soil was also altered by the management, with M3 presenting the highest values possibly due to the presence of Poaceae (C4) resulting from the higher irradiance after handling. This is corroborated by the higher value of  $\delta^{13}\text{C}$  in the remaining fraction of the naphtha in M3. Through the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  we can suggest that there was decomposition of the organic matter, being this greater in the forest area than in the managed areas. Thus, we can conclude that the isotopic and elemental ratios of C and N were distinct between compartments and areas of study due to environmental changes from forest management and can be used as land use and management markers.

Key words: leaves, litter, stable isotopes of C and N, surface soil.

## 1. Introdução

As florestas estocam o carbono (C) que é acumulado entre o balanço da fotossíntese e respiração destes ecossistemas (Pregitzer e Euskirchen, 2004). Entretanto, a taxa de acúmulo de C pela floresta depende da idade da mesma, do período de distúrbio natural ou antrópico, e práticas do uso da paisagem que regulam o ciclo e o estoque de C (Houghton 2005). Assim, a retirada e/ou a substituição da vegetação altera o armazenamento de C nos compartimentos do ecossistema, tais como solo, serapilheira, raízes e biomassa da planta (Costa et al., 2005; Balbinot et al., 2003) podendo transformar um ecossistema que armazenava C, em um ecossistema que libera C para a atmosfera (Bayer et al. 2004; Diekow et al. 2005). A distribuição de C nos compartimentos do sistema solo-planta sofre influência do clima, da vegetação, tipo e manejo do solo (Mann 1986).

Os estoques de nitrogênio (N) do solo são controlados especialmente pelas condições climáticas e pela vegetação (Vitousek e Matson 1984). Em solos de florestas tropicais, a concentração de N pode variar entre 0,02 e 0,4 %, podendo, em casos extremos de solos orgânicos, chegar a até 2 % (Stevenson 1994). A maior parte do N existente no solo está na forma orgânica (entre 95 a 98%) e para ser assimilado pelas plantas necessita ser transformado nas formas inorgânicas íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Stevenson 1994).

Os principais minerais que compõem a estrutura do solo são areia, argila, silte, além de compostos orgânicos que formam agregados de tamanho e estabilidade distintas (Tisdall e Oades 1982). Os solos com maior quantidade das frações leves (argila e silte) têm baixa razão C:N e maior capacidade de reter a matéria orgânica do solo (MOS), fornecendo melhores condições para decomposição pelos microrganismos do solo (Lima et al. 2008). Assim, em solos mais argilosos, são esperadas maiores concentrações de C e N devido ao aumento da umidade do solo e da adsorção da MOS na fração argila (Lima et al., 2008; Gama-Rodrigues et al. 2005; Stemmer et al. 1998; Volkoff et al., 1977). A fração areia tem baixa capacidade de reter a MOS, e por isso os solos terão alta razão C:N (Rosell et al. 1996). Assim, solos mais arenosos apresentarão valores de C e N mais próximo aos valores de C e N da serapilheira das espécies vegetais recentemente decompostas nestes solos (Rosell et al. 1996). Desta forma, a textura do solo exerce um controle importante sobre a ciclagem de C e N, influenciando na estocagem e dinâmica destes elementos nos solos de florestas tropicais (Trumbore e Camargo, 2009).

A decomposição de MOS e sua incorporação por microrganismos do solo leva a resíduos de MO estabilizados (Gleixner et al., 2002, Lutzow et al., 2006), enquanto as

proporções de razão C:N no solo diminuem (Kramer et al., 2003). Com a razão C:N decrescente no solo, os compostos orgânicos são cada vez mais utilizado como uma fonte C, enquanto o excesso N é mineralizado, resultando amostras de solo com maiores valores do  $\delta^{15}\text{N}$  (Snider et al., 2002, Dijkstra et al., 2006). Assim, a matéria orgânica mineral (MOM) do solo tem, geralmente, menor razão C:N e é enriquecida em  $\delta^{15}\text{N}$  e mais estável do que a matéria orgânica em partículas (MOP) que a derivou (Baisden et al., 2002; Liao et al., 2006). A estabilidade da MOS pode ser estimada a partir de isótopos estáveis (Clercq et al., 2015). Um método alternativo foi desenvolvido pela primeira vez por Conen e colaboradores (2008) para sistemas de prados alpinos não perturbados, utilizando as relações de isótopos estáveis de C e N, demonstrando que da relação entre a razão C:N e o  $\delta^{15}\text{N}$  pode-se inferir sobre a estabilidade do MOM e da POM (matéria orgânica particulada), em diferentes práticas e usos dos solos (Conen et al. 2008). Segundo Conen e colaboradores (2008), solos com MO mais estáveis seriam aqueles em que enquanto ocorre o aumento do  $\delta^{15}\text{N}$  a razão C:N diminui.

A ciclagem de C e N é um processo ecológico fundamental na dinâmica desses elementos no sistema solo-planta. Neste sistema, a serapilheira funciona como um “reservatório” destes e de outros elementos (Silva et al. 2013). O estudo dos processos que ocorrem nos compartimentos solo e vegetação possibilita inferir sobre as estratégias de crescimento e sobrevivência de plantas em um determinado ecossistema (Vitousek e Sanford, 1986) e/ou sobre a eficiência de uso desses elementos pela comunidade vegetal (Silver 1994).

Variações isotópicas nas espécies vegetais, no solo e na sua matéria orgânica (MOS) são influenciadas pelo clima, pela própria vegetação (composição do tecido), atividade dos microorganismos presentes nos solos e distúrbios naturais e/ou antrópicos (Trumbore e Camargo, 2009). O valor da  $\delta^{13}\text{C}$  de uma folha é determinado pela via fotossintética, mas pode ser modulado por fatores como as condições ambientais, disponibilidade de nutrientes e pela história de vida (Farquhar et al. 1989). As plantas  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$  e CAM (Crassulacean Acid Metabolism) apresentam distintas discriminações para o  $^{13}\text{C}$ , devido ao fracionamento durante os processos bioquímicos pertinentes a cada síndrome fotossintética. A maioria das espécies de florestas tropicais apresenta síndrome fotossintética  $\text{C}_3$  (Smith e Epstein, 1971), apresentando  $\delta^{13}\text{C}$  menor valor (entre  $-34$  e  $-22$  ‰) do que as espécies do tipo  $\text{C}_4$  ( $-7$  e  $-16$  ‰) e CAM ( $-10$  e  $-28$  ‰) (Farquhar 1983).

O  $\delta^{13}\text{C}$  da folha influencia o  $\delta^{13}\text{C}$  de outros compartimentos do ecossistema, por exemplo, o solo e a serapilheira. A respiração nestes diferentes compartimentos do

ecossistema altera o  $\delta^{13}\text{C}$  da atmosfera próxima a eles (até 1 m), cujo valor do  $\delta^{13}\text{C}$  é menor do que o do compartimento que o gerou devido ao fracionamento que ocorre no processo respiratório (Fischer e Tieszen, 1995).

Os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  da serapilheira ou da MOS refletem o  $\delta^{13}\text{C}$  da vegetação existente e anterior, pois as frações lenhosas têm lenta decomposição microbiana (Martinelli et al., 2009; Freitas et al. 2001). A taxa de decomposição da MOS e, conseqüentemente, de liberação de C e N para o sistema está relacionada com fatores bióticos, como a atividade microbiana do solo, a concentração de N nas plantas, a composição química do material a ser decomposto na serapilheira, como também umidade e temperatura, manejo florestal, textura e profundidade do solo (Martinelli et al., 2009; Bustamante et al., 2004; Stemmer et al., 1998).

As variações no  $\delta^{15}\text{N}$  em plantas são resultados de diversos processos biogeoquímicos, tais como nitrificação, mineralização, lixiviação, desnitrificação, volatilização, fatores abióticos (temperatura e umidade), associação com *Rhizobium* (no caso de plantas fixadoras de  $\text{N}_2$ ) e com micorrizas, variações temporais e espaciais quanto à disponibilidade de N no solo, o tipo de fonte de N (orgânico ou inorgânico), textura do solo, entre outros (Handley et al., 1999; Dawson et al. 2002; Bustamante et al. 2004; Ometto et al. 2006; Vallano and Sparks 2013). O fracionamento do N na planta, particularmente no processo de realocação e reabsorção de N, conjuntamente com a idade foliar influenciam também no valor do  $\delta^{15}\text{N}$  de árvores tropicais (Santiago et al. 2004). Variações no comprimento e profundidade alcançada pelas raízes de árvores nos solos também podem alterar o  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas (Martinelli et al., 2009).

Entre distintos ecossistemas, a variação do  $\delta^{15}\text{N}$  pode ser afetada pelos mesmos fatores citados acima. Entretanto, variações na fonte de N ( $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$ ) dentro de um ecossistema não interferem no  $\delta^{15}\text{N}$  (Craine et al. 2015).

O maior valor do  $\delta^{15}\text{N}$  em compartimentos do sistema solo-planta é um reflexo da maior disponibilidade de N no sistema, maiores taxas de transformação de N no solo e de perdas de N para a atmosfera. Também indica a importância de entradas e saídas de N no sistema solo-planta comparado a sistemas que exibem menor valor do  $\delta^{15}\text{N}$  (Reis 2013).

A depender da cobertura vegetal, variações na razão isotópica e elementar de C e N são verificadas no sistema solo-planta (Martin et al., 1990; Fonseca, 1984). No caso da substituição de florestas tropicais por monocultivos de eucalipto, tem sido relatado que a serapilheira dos eucaliptos é de baixa qualidade nutricional quando comparada àquela da maioria das florestas tropicais naturais, apresentando maior razão C:N e menores

concentrações de nutrientes (Rezende et al. 2001; Villela et al. 2001; Gama-Rodrigues et al. 2008). A baixa qualidade nutricional da serapilheira de eucalipto quando comparada àquela da maioria das florestas tropicais naturais (Gama-Rodrigues e Barros, 2002), pode ser explicada pelo fato das folhas de eucalipto serem resistentes à decomposição devido à presença de polifenóis e terpenos voláteis (Moral e Muller, 1969).

Nos anos iniciais de plantio de eucaliptos, o que se observa é uma redução de C orgânico nas camadas superficiais destes solos relacionada à mudança do uso do solo (mata nativa para plantio de eucalipto) (Nilsson e Schopfhauser, 1995). Entretanto, os resultados obtidos com o plantio de eucaliptos têm sido controversos. Em alguns casos, a substituição da vegetação nativa por monocultivos tem aumentado os estoques de C orgânico total (Guo e Gifford, 2002; Lima et al., 2006; Rangel e Silva, 2007) e, em outros casos, tem diminuído influenciado por fatores climáticos, textura do solo (muito argiloso) e abundância de óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al), compostos que podem formar complexos agregados com a MOS (Guo e Gifford, 2002; Zinn et al., 2005). Indivíduos de eucaliptos apresentam rápido crescimento, produção de biomassa e deposição de serapilheira elevada contribuindo na formação de MOS e no aumento da concentração de C e N em solos sob eucaliptais (Gama-Rodrigues et al., 2008; Gatto et al., 2010; Pegoraro et al., 2011). Assim, a serapilheira de eucaliptos também pode contribuir para a ciclagem de nutrientes nos solos e nutrição das plantas ( Guo e Sims, 1999; Dutta e Agrawal, 2001).

Em 2013 foi posto em prática o plano de manejo dos eucaliptais na REBIO União, pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e Ministério do Meio Ambiente (MMA), que consiste na retirada das árvores de eucalipto sendo realizada através de anelamento, corte seletivo e corte raso, de acordo com a idade de cada plantio e estado de regeneração natural dos sub-bosques (MMA-ICMBio 2007). Com o manejo dos eucaliptais na REBIO União, padrões de umidade e temperatura do solo foram alterados, alterando também processos ecológicos nestas áreas. Desta forma, é importante avaliar o que poderá ocorrer com a estrutura física e a dinâmica dos nutrientes no solo, a contribuição da MOS, bem como a qualidade e quantidade da serapilheira.

Ampliar os conhecimentos acerca das práticas de manejo na dinâmica do C e N em remanescentes de Mata Atlântica é prioritário para o melhor entendimento e restauração dos processos ecológicos funcionais e estruturais deste bioma ameaçado.

## 2. Objetivo geral

Avaliar a influência manejo florestal nas razões isotópicas e elementares de C e N no sistema solo-planta, assim como na granulometria do solo em três distintas áreas (mata secundária e áreas manejadas). Com base neste contexto foram levantadas as seguintes questões: 1) o manejo florestal alterou as razões isotópicas e elementares de C e N em folhas no sistema solo - planta? 2) a presença de eucalipto e/ou manejo alterou a concentração de C e N no solo? Como a granulometria do solo influencia em tais valores? 3) a estabilidade da MOS será distinta entre as três áreas de estudo?

## 3. Hipóteses

- 1) A presença de eucalipto e/ou o seu manejo altera as razões isotópicas e elementares de C e N em folhas, solos e frações de serapilheira.
- 2) Solos mais argilosos serão enriquecidos em  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ .
- 3) Maior estabilidade de MOS será observada na área de mata secundária em relação as áreas manejadas.

## 4. Material e Métodos

### 4.1. Área de estudo

A Reserva Biológica União ocupa uma área total de cerca 3126 hectares, com 2.906 ha de Mata Atlântica e 220 ha de eucalipto (MMA-ICMBio 2007).

O clima predominante na região é o tropical úmido ( $A_w$ , Alvares et al., 2013), com temperatura média anual de 24 °C e pluviosidade anual média de 2.200 mm (dados da Reserva Biológica de Poço das Antas, localizada a 31 km da Reserva Biológica União). O período chuvoso concentra-se entre os meses de outubro e abril (Silva et al. 2010).

O estudo foi realizado em três áreas desta reserva: uma área de mata secundária e duas áreas manejadas: M12 (manejo com corte raso do eucalipto 12 meses antes da avaliação deste estudo) e M3 (manejo com corte raso do eucalipto 3 meses antes da avaliação deste estudo) (Tabela 1, Figura 1).



Figura 1. Imagens das áreas na REBIO União. (A) mata secundária; (B) área manejada há 12 meses (M12); (C) área manejada há 3 meses (M3).

Tabela 1. Caracterização das condições das áreas de estudo (mata secundária, área manejada há 12 meses (M12) e área manejada há 3 meses (M3) na REBIO União, em dezembro de 2013. - não aplicável.

	Mata secundária	M12	M3
Condição de desenvolvimento do sub-bosque	Vegetação densa	Sub-bosque desenvolvido	Sub-bosque pouco desenvolvido
Média da irradiância ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	9	1.480	1.100
Distância da floresta secundária (m)	-	1.300	350
Área Total (ha)	-	5,02	9,59
Ano do plantio de eucalipto (anos)	-	1967*	1968*
Espaçamento entre eucalipto (m)	-	1,5 x 3*	1,5 x 3*
Manejo de remoção do eucalipto	Não	Sim	Sim
Tempo de remoção do eucalipto (meses) no momento da análise	-	12	3
Presença de gramíneas	-	Não*	Sim*
Tipo de solo	argissolo vermelho-amarelo distrófico latossólico <sup>1</sup>	argissolo vermelho-amarelo distrófico latossólico <sup>2</sup>	argissolo vermelho-amarelo distrófico latossólico <sup>2</sup>

\* (MMA-ICMBio, 2008); 1- Silva, 2009; 2 - Miranda et al., 2007.

#### 4.2. Espécies vegetais e número amostral

Nas áreas dos plantios de eucalipto, dez indivíduos de três espécies nativas da Mata Atlântica que estão entre as mais representativas do sub-bosque (Evaristo, 2008; Evaristo et al., 2011) foram amostrados: *Siparuna guianensis* Aubl. (Siparunaceae), classificada como secundária inicial; *Xylopia sericea* A. St.-Hill (Annonaceae) e *Byrsonima sericea* D.C. (Malpighiaceae), classificados como pioneiras (Carvalho et al. 2006).

Para a área de mata secundária, além das três espécies encontradas no sub-bosque das áreas de eucalipto, foram amostrados cinco indivíduos por espécie (Tabela 2).

Tabela 2. Lista de espécies nativas da Mata Atlântica e suas respectivas famílias botânicas na área de mata secundária da REBIO União. N = 5-10.

Espécies	Família Botânica
<i>Geissospermum laeve</i> (Vell.) Miers.	Apocynaceae
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos.	Bignoniaceae
<i>Mabea fistulifera</i> Mart.	Euphorbiaceae
<i>Senefeldera verticillata</i> (Vell.) Croizat	Euphorbiaceae
<i>Apuleia liocarpa</i> (Vogel) J.F. Macbr.	Fabaceae
<i>Pseudopiptadenia contorta</i> (DC.) G.P. Lewis & M.P. Lima	Fabaceae
<i>Ocotea diospyrifolia</i> (Meisn.) Mez	Lauraceae
<i>Miconia hypoleuca</i> (Benth.) Triana	Melastomataceae
<i>Tibouchina estrellensis</i> (Raddi) Cogn.	Melastomataceae
<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	Meliaceae
<i>Brosimum glazioui</i> Taub.	Moraceae
<i>Ficus gomelleira</i> Kunth & C.D. Bouché	Moraceae
<i>Heliscostylis tomentosa</i> (Poepp. & Endl.) Rusby	Moraceae
<i>Viola bicuhyba</i> (Schott ex Spreng.) Warb.	Myristicaceae
<i>Viola gardneri</i> (A. DC.) Warb.	Myristicaceae
<i>Cupania racemosa</i> (Vell.) Radlk.	Sapindaceae
<i>Micropholis guyanensis</i>	Sapotaceae
<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Siparunaceae
<i>Xylopia sericea</i> A. St.-Hill	Annonaceae
<i>Byrsonima serica</i> D.C.	Malpighiaceae
<i>Citharexylum myrianthum</i> Cham.	Verbenaceae

#### 4.3. Coleta e preparo das amostras de folha para análises isotópicas

Para a determinação do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  foram coletadas folhas fotossinteticamente ativas do terceiro par. Para cada 5 a 7 indivíduos foram coletadas entre 5 e 10 folhas que foram secas em estufa a 50°C por 48 horas e posteriormente maceradas conjuntamente em nitrogênio líquido formando um material homogêneo. Este material foi pesado (0,5 mg) e inserido em cápsulas de estanho para determinação isotópica e elementar (n = 5 - 10 amostras de folhas).

#### 4.4. Coleta e preparo de amostra do solo para análises isotópicas

O solo superficial (0-10 cm) foi coletado utilizando uma armação quadrada de madeira (20 x 20 cm), em um total de 400 cm<sup>2</sup>, distribuída aleatoriamente de cada uma das três áreas de estudo em 03 de dezembro de 2013 (período chuvoso), totalizando 75 amostras (n = 25). Não houve espaçamento determinado entre os pontos de coletas das amostras, pois foram selecionados pontos amostrais ao acaso e o espaçamento entre esses pontos variou de acordo com o tamanho da área de estudo (Figura 2).



Figura 2. Imagem do quadrado 20 x 20 cm para serapilheira e solo.

As amostras de solo foram, primeiramente, secas ao ar livre. Posteriormente, o solo foi colocado em estufa a 80 °C por 48 h para a secagem. As amostras de solo foram homogeneizadas, moídas e peneirada em malha de 2 mm (Telles et al. 2003). Este material foi pesado (10 mg) e inserido em cápsulas de estanho para determinação isotópica (n = 25).

#### 4.5. Determinação das frações granulométricas do solo

A coleta para determinação da composição granulométrica foi realizada na profundidade de 0-10 cm de solo superficial utilizando-se 400 cm<sup>2</sup> a partir da mesma estrutura quadrada da Figura 2. As amostras foram secas ao ar, destorroadas e as frações acima de 2 mm foram separadas por peneiração em intervalos sucessivos, enquanto as frações menores do que 2 mm foram determinadas através do analisador de partícula por difração a laser (Shimadzu modelo SALD-3101) em várias frações conforme escala Wentworth (Tabela 3) (Wentworth 1922). O amostrador SALD-3101 possui uma bomba radial de tipo vertical que possui aproximadamente 5.000cm<sup>3</sup>/min de taxa de fluxo, sendo capaz de circular as partículas de alta densidade e desiguais desde várias centenas de micro metro até vários milímetros, cobrindo uma faixa de 0,05 a 3000 µm. No equipamento, uma alíquota de amostra úmida é colocada sob agitação em banho com ultrassom por 10 minutos para desagregação das partículas. Após essa etapa, é realizada a determinação da distribuição granulométrica por difração a laser, causada por interação do feixe de laser com as partículas (McCave et al. 1986; Blott et al. 2004).

Tabela 3. Distribuição das frações granulométricas de acordo com Wentworth (1922).

Peneiramento - Escala Wentworth	Mm	(phi)
Matacão	>265	<-8
Bloco	256 – 64	-8 a -6
Seixo	64 – 4	-6 a -2
Grânulo	4 – 2	-2 a -1
Cascalho	>265 – 2	<-8 a -1
Difração a Laser - Escala Wentworth	Mm	(phi)
Areia muito grossa	2 – 1	-1 a 0
Areia grossa	1 - 0,500	0 a 1
Areia média	0,500 - 0,250	1 a 2
Areia fina	0,250 - 0,125	2 a 3
Areia muito fina	0,125 - 0,062	3 a 4
Areia total	0,062 - 2,000	-1 a 4
Silte/Argila	0,062 - <0,00049	4 a >11
Silte Grosso	0,062 - 0,031	4 a 5
Silte médio	0,031 - 0,016	5 a 6
Silte fino	0,016 - 0,008	6 a 7
Silte muito fino	0,008 - 0,004	7 a 8
Silte	0,062 - 0,004	4 - 8
Argila	0,004 <0,00049	8 a >11

Para controle analítico de precisão foi medido a variação analítica entre triplicatas analíticas a cada 20 amostras com resultados de coeficiente de variação aceitáveis inferior a 10%. A exatidão foi determinada através de três amostras certificadas fornecidas pelo fabricante do equipamento com faixa de tamanho de partículas diferenciadas (JISS 11, *Lycopodium* e glass beads – Tabela 4). O limite de detecção do método foi de 0,1%.

Tabela 4. Materiais de referência para granulômetro SALD 3101.

Nome	75% diâmetro ( $\mu\text{m}$ )	50% diâmetro ( $\mu\text{m}$ )	25% diâmetro ( $\mu\text{m}$ )
JISS 11	4,179 $\pm$ 0,99	2,16 $\pm$ 0,41	0,94 $\pm$ 0,27
<i>Lycopodium</i>	34,09 $\pm$ 1,74	31,57 $\pm$ 1,56	28,82 $\pm$ 1,41
Glassbeads	1.490 $\pm$ 94,0	1.355 $\pm$ 90,0	1.221 $\pm$ 84,0

A distribuição granulométrica foi compilada no programa SYSGRAN – versão 3.0 e os dados agrupados nas frações areia, silte e argila. Os dados serão expressos em média e erro padrão.

#### 4.6. Coleta e triagem de serapilheira sobre o solo

A camada de serapilheira sobre o solo foi amostrada através da coleta de todo o material morto acima do solo utilizando-se uma armação quadrada de madeira (20 x 20 cm, Figura 1), em um total de 400 cm<sup>2</sup>, distribuídos aleatoriamente em cada uma três áreas, em 03 de dezembro de 2013 (período chuvoso), totalizando 75 amostras (n = 25).

O material coletado foi acondicionado em sacos de papel e posteriormente seco em estufa à temperatura de 80 °C por 48 h. As amostras de serapilheira foram triadas nas seguintes frações: folhas (folhas e folíolos inteiros ou fragmentos destes), madeira (pedaços de galhos ou cascas menores que 2 cm de diâmetro e fragmentos), flores + frutos (flores, inflorescência ou órgão e fragmentos reconhecidos como tal, frutos e sementes, inteiras ou em fragmentos) e resto (resíduos menores que 2 mm, material de origem animal e material desconhecido). Os fragmentos de madeira com diâmetro maior que 2 cm foram descartados, já que a metodologia utilizada é considerada inadequada para a amostragem dessa fração (Proctor et al. 1983), assim como raízes destacadas da serapilheira e toda a fração menor que 2 mm, composta principalmente por partículas de solo. As frações foram novamente secas a 80 °C por 24 h após a triagem e pesadas para obtenção do peso seco (n=25).

Após a última pesagem, o material foi moído em moinho de rotor vertical e amostra composta perfazendo um total de 5 amostras para cada fração de serapilheira por área. Destas amostras compostas, 10 mg foram pesados e inserido em cápsulas de estanho para determinação isotópica (n = 5).

#### **4.7. Determinação de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio**

A determinação das concentrações elementares de C e N e da abundância natural dos seus isótopos estáveis ( $^{15}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}$ ) foram determinadas em espectrômetro de massa isotópica ThermoFinnigan Delta V Advantage acoplado a analisador elementar Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific em Bremen, Alemanha) onde é feita a combustão. Os compostos orgânicos, oxidados na presença de oxigênio ultrapuro e de catalisador, foram transformados em  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Estes gases foram separados em linha por cromatografia antes da análise isotópica que também se processa em linha. Os resultados foram obtidos inicialmente relativos a padrões de trabalho para depois serem expressos em relação ao carbonato da formação Pee Dee (Belemnite) para  $\delta^{13}\text{C}$ . Nitrogênio atmosférico foi usado como padrão para  $\delta^{15}\text{N}$ . A precisão da análise foi de  $\pm 0,1$  para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\pm 0,2$  para  $\delta^{15}\text{N}$  e a acurácia para a concentração elementar foi determinada por padrões certificados (Protein OAS/Isotope Cert 114859; Elemental Microanalysis).

## 5. Análise de dados

Após verificada a normalidade e homogeneidade dos dados, estes foram submetidos às análises paramétricas. Para comparar a razão isotópica e elementar de C e N e razão C:N para os diferentes compartimentos e entre as áreas foi utilizada ANOVA (*two-way*) seguida por teste Tukey ( $P = 5\%$ ), que também foi feita para as frações granulométricas nas três áreas de estudo. Regressão linear foi realizada para relacionar a razão isotópica de C e N, e N elementar para os diferentes compartimentos. A análise de variância foi realizada no programa Statistica 7.0 e as análises de regressão linear e gráficos foram feitos no programa Sigma Plot.

A decomposição da MO foi inferida a partir do cálculo, em módulo, da diferença entre o  $\delta^{13}\text{C}$  do solo e das frações de serapilheira. O mesmo foi feito para o  $\delta^{15}\text{N}$ .

## 6. Resultados

Houve variação no  $\delta^{13}\text{C}$  entre as áreas para todos os compartimentos analisados, com exceção da fração folha da serapilheira (Figura 3A). As folhas da área M12 tiveram maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  na comparação com as outras duas áreas. Para os compartimentos fração resto da serapilheira e o solo, o  $\delta^{13}\text{C}$  da M3 sempre foi maior que as da mata secundária e da área M12. Os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foliar variaram entre  $-31,6\text{‰}$  (mata) e  $-32,2\text{‰}$  (M12). Na serapilheira, a fração resto foi a que apresentou maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-23,8\text{‰}$ , M3), enquanto o menor valor foi determinado na fração folha ( $-31,3\text{‰}$ , M12). Os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo variaram entre  $-26,7\text{‰}$  e  $-29,6\text{‰}$  e foram sempre menores que os encontrados para folhas e frações folhas da serapilheira. Na comparação entre os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  do solo e das demais frações da serapilheira não foi verificado padrão (Figura 3A).

Os valores do  $\delta^{15}\text{N}$  sempre foram maiores nas amostras de mata do que em ambas as áreas manejadas, independente do compartimento analisado (Figura 3B). Valores negativos do  $\delta^{15}\text{N}$  foram minoria, tendo sido verificados apenas em três das 12 amostras das frações de serapilheira. Ainda nas frações da serapilheira, o maior valor do  $\delta^{15}\text{N}$  foi encontrado para fração “frutos + flores” ( $3,57\text{‰}$ , mata) e o menor na fração madeira ( $-0,82\text{‰}$ , M12) (Figura 3B). Para folhas e solo apenas valores positivos foram verificados, variando de  $1,6$  a  $2,9\text{‰}$  nas folhas e de  $2,6$  a  $6,0\text{‰}$  no solo.

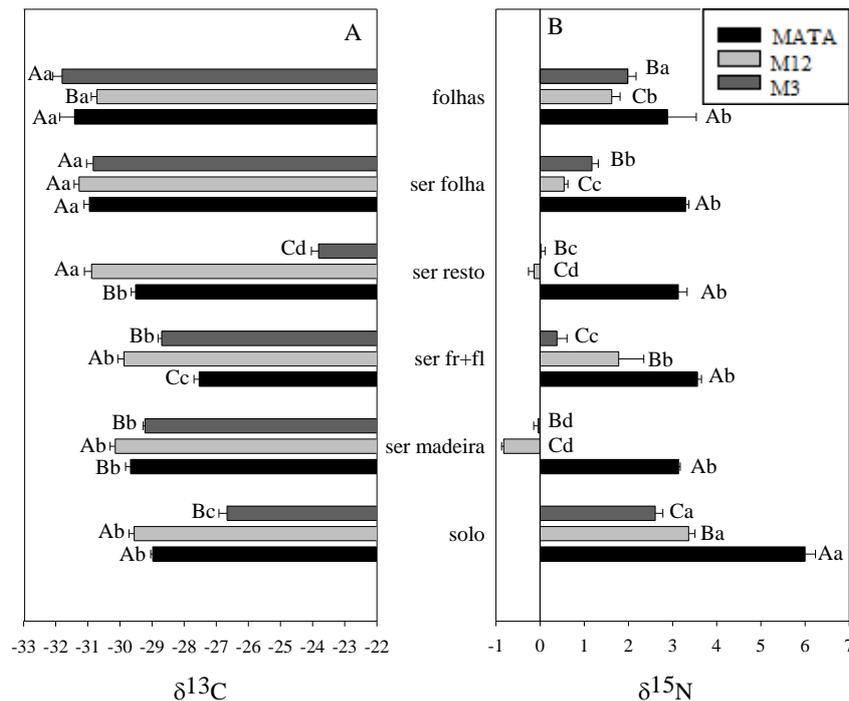


Figura 3. Delta  $^{13}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) em três compartimentos: folhas, frações de serapilheira sub-divididas em folhas; resto; flores + frutos; madeira, e solo de três áreas: mata secundária (preto), área manejada há 12 meses (M12) (cinza claro) e área manejada há 3 meses (M3) (cinza escuro) na REBIO União em dezembro de 2013. Ser = serapilheira. Letras maiúsculas entre áreas e letras minúsculas entre compartimentos.

A diferença entre o  $\delta^{13}\text{C}$  das distintas frações da serapilheira (folha, madeira, e “frutos+flores”) e o  $\delta^{13}\text{C}$  do solo para as três áreas de estudo foi respectivamente 2,0; 0,7; 0,5 ‰ para mata secundária, 1,7; 0,6; 0,3 ‰ para M12, e 4,2; 2,6; 2,0 ‰ para M3. Diferenças no  $\delta^{13}\text{C}$  da fração resto e o  $\delta^{13}\text{C}$  do solo apresentaram valores negativos para área de mata secundária e M3 (-1,5 e -2,8 ‰, respectivamente); enquanto para M12 o valor foi positivo, 1,32 ‰.

A diferença entre o  $\delta^{15}\text{N}$  das distintas frações da serapilheira (folha, madeira, e “frutos+flores”, resto) e o  $\delta^{15}\text{N}$  do solo para as três áreas de estudo foi respectivamente, para mata secundária -2,7; -2,9; -2,4; -2,9 ‰, M12 (-2,8; -2,5; -1,6; -3,2 ‰) e M3 (-1,4; -2,6; -2,2; -2,6 ‰) para fração folha, madeira, “frutos+flores” e resto, respectivamente.

Através da regressão linear entre  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  de todos os compartimentos estudados pôde-se verificar aumento concomitantemente entre as duas variáveis no sentido solo > serapilheira > folhas para as três áreas de estudo. (Figura 4A, C e E). Na maioria dos casos, as amostras das diversas frações da serapilheira apresentaram valores intermediários entre os extremos dos valores de folhas e solo (Figura 4A, C e E). Relação inversa foi observada

entre o  $\delta^{15}\text{N}$  e a concentração de nitrogênio elementar (N%) nas três áreas, com os solos apresentando sempre valores de concentração elementar de N próximos a zero e maiores valores do  $\delta^{15}\text{N}$  do que todos os outros compartimentos, sendo o oposto verificado para as folhas (Figura 4B, D e F). Os valores das diversas frações da serapilheira apresentaram valores intermediários entre  $\delta^{15}\text{N}$  e N (%).

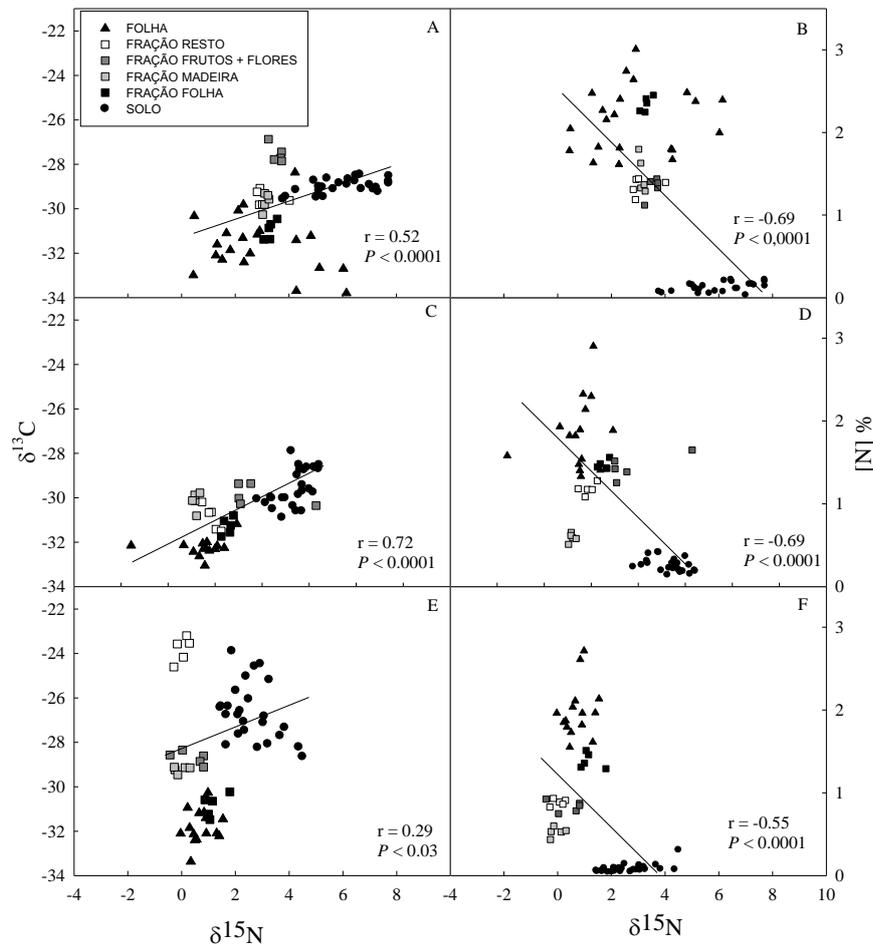


Figura 4. Regressão linear entre delta  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e o delta  $^{13}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C}$ ), e entre  $\delta^{15}\text{N}$  e a concentração elementar de N (%) para os compartimentos folha (círculo fechado), frações de serapilheira (quadrados em escala de cinza) e solo (triângulo fechado) na área de mata secundária (A, B); área manejada há 12 meses (M12) (C, D) e área manejada há 3 meses (M3) (E, F) na REBIO União em dezembro de 2013.

Para as concentrações de C e N elementar na camada superficial (0-10 cm) do solo foram observados maiores valores (3,28 e 0,26 %, respectivamente) na M12 do que nas áreas de mata secundária (1,47 e 0,13 %, respectivamente) e M3 (1,49 e 0,09 %, respectivamente) (Tabela 5). Para as folhas, maiores valores de C (%) foram encontrados nas amostras da M3, enquanto maiores valores de N (%) foram encontrados nas amostras

de mata e M12. A concentração de C elementar de todas as frações de serapilheira foram menores na M3. Independente da área, os valores de concentração de C e N estiveram assim distribuídos: folhas > frações de serapilheira > solo. Os valores para razão C:N decresceram das frações de serapilheira (madeira) > folhas > solo (Tabela 5). Na serapilheira o maior valor da razão C:N foi obtido nas frações madeira das áreas manejadas, enquanto na mata a razão C:N não variou entre as frações madeira, “frutos + flores” e resto. Nos solos a maior razão C:N foi encontrado para a M3, nas folhas a maior razão C:N foi na área M12 (Tabela 5).

Tabela 5. Carbono elementar, nitrogênio elementar e a razão C:N em três compartimentos (solo, frações da serapilheira e folhas) em solos da REBIO União (mata secundária, área manejada há 12 meses (M12) e área manejada há 3 meses (M3)). Letras maiúsculas comparam as áreas e letras minúsculas comparam os compartimentos. Média e erro padrão. n = 25 (solo e frações da serapilheira) e n = 5 – 10 (folhas). Ser. Serapilheira.

Área	Fração	C (%)	N(%)	C:N
MATA	Solo	1,5 ± 0,1 Bc	0,1 ± 0,1 Bc	16,5 ± 2,8 Ac
	Ser. Folhas	46,9 ± 0,7 Ba	2,3 ± 0,1 Aa	23,4 ± 0,5 Cb
	Ser. Madeira	46,5 ± 1,9 Aa	1,5 ± 0,1 Ab	36,9 ± 1,4 Ba
	Ser. Frutos + Flores	47,7 ± 0,1 Aa	1,3 ± 0,1 Ab	42,0 ± 1,9 Ba
	Ser. Resto	50,1 ± 0,6 Aa	1,4 ± 0,1 Ab	43,4 ± 1,3 Ba
	Folhas	42,4 ± 0,4 Bb	2,1 ± 0,1 Aa	21,1 ± 0,5 Bb
M12	Solo	3,3 ± 0,1 Ac	0,3 ± 0,1 Ad	15,8 ± 0,8 Ad
	Ser. Folhas	48,6 ± 0,4 Ba	1,5 ± 0,1 Ba	38,6 ± 0,5 Bc
	Ser. Madeira	48,4 ± 0,8 Aa	0,6 ± 0,1 Bc	96,3 ± 4,5 Aa
	Ser. Frutos + Flores	49,8 ± 0,3 Aa	1,5 ± 0,1 Aa	40,5 ± 1,6 Bb
	Ser. Resto	48,4 ± 0,6 Aa	1,2 ± 0,1 Bb	48,0 ± 0,8 Bb
	Folhas	44,8 ± 0,7 Ab	2,6 ± 0,2 Aa	44,8 ± 2,4 Ab
M3	Solo	1,5 ± 0,1 Bb	0,2 ± 0,1 Bc	21,2 ± 0,7 Ac
	Ser. Folhas	51,4 ± 1,1 Aa	1,4 ± 0,1 Ba	43,3 ± 0,9 Ab
	Ser. Madeira	47,5 ± 0,6 Aa	0,5 ± 0,1 Bb	106,2 ± 5,9 Aa
	Ser. Frutos + Flores	46,3 ± 0,6 Aa	0,8 ± 0,1 Bb	65,1 ± 2,7 Aa
	Ser. Resto	45,1 ± 0,4 Ba	0,9 ± 0,1 Cb	59,6 ± 1,4 Aa
	Folhas	45,2 ± 0,5 Aa	2,0 ± 0,2 Ba	23,4 ± 0,9 Bc

Através da regressão linear entre  $\delta^{15}\text{N}$  e razão C:N do solo de todas as áreas pôde-se verificar que houve um aumento da razão C:N com concomitante redução do  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 5). Variações nos valores do  $\delta^{15}\text{N}$  do solo entre as áreas de estudo foram observadas com a área de mata secundária tendo maior valor do  $\delta^{15}\text{N}$  em comparação com as áreas manejadas que não variaram muito se comparadas entre si (Figura 5). Os valores da razão C:N do solo não diferiram entre a mata secundária e M12, mas estes foram menores se comparados com a área M3 (Figura 5). Ainda, foi observado que as áreas de mata secundária e M12 (solo que contem maior quantidade de fração argila e silte, respectivamente – Figura 6) tiveram maior  $\delta^{15}\text{N}$  e menor razão C:N (Figura 5) comparado a área M3 (com maior quantidade de fração areia – Figura 6).

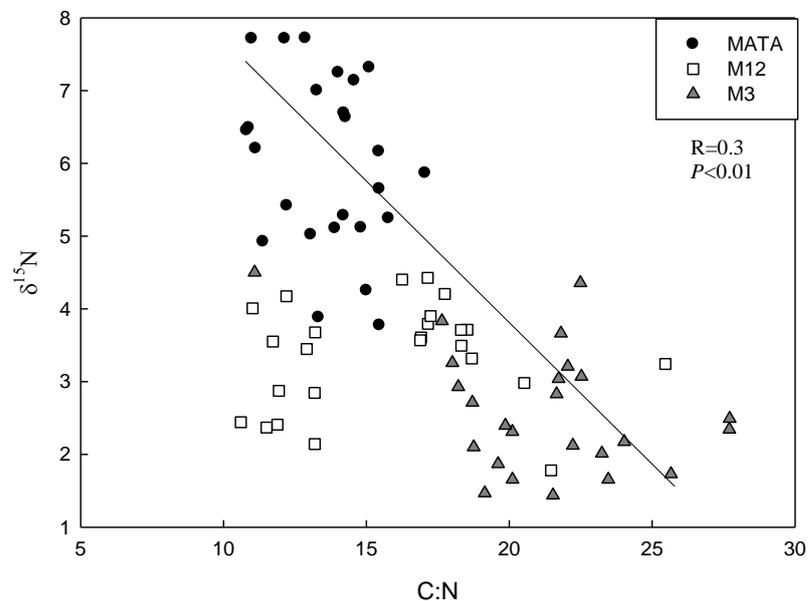


Figura 5. Regressão linear entre o delta  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e a razão C:N do solo nas áreas de mata secundária (círculos em preto), área manejada a 12 meses (M12, quadrado branco) e área manejada a 3 meses (M3, triângulo cinza).  $n = 25$ .  $P < 0,01$ .

A granulometria do solo foi distinta nas três áreas. Na mata secundária foi obtida maior quantidade de argila e na área M3 maior quantidade de areia. Na M12 foi encontrada similaridade entre teor de argila e areia e maior quantidade de silte em relação às demais áreas (Figura 6). Maiores quantidade de frações leves (argila e silte) (Figura 6) foram obtidas na mata secundária e na área manejada a mais tempo (M12), as quais também apresentaram as maiores concentrações de N elementar nos solos (Tabela 5).

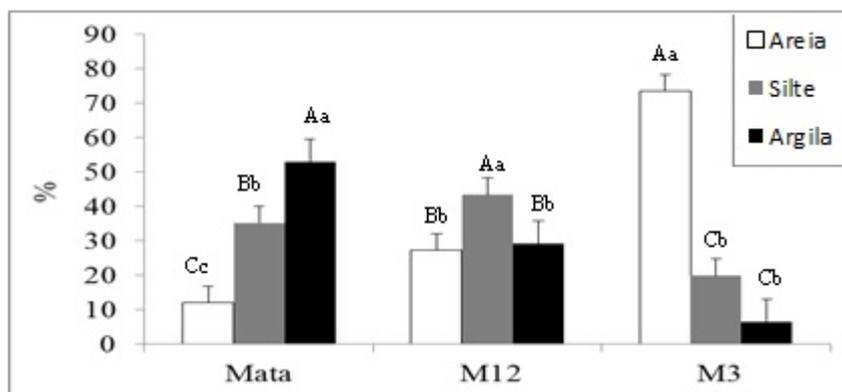


Figura 6. Média e erro padrão da porcentagem das frações areia (2 mm – 63  $\mu$ m) (branco), silte (63  $\mu$ m – 4  $\mu$ m) (cinza claro) e argila (< 4  $\mu$ m) (preto) em três solos da REBIO União: na mata secundária, área manejada há 12 meses (M12) e área manejada há 3 meses (M3). Letras maiúsculas entre áreas e letras minúsculas entre as frações. n = 25.

## 7. Discussão

### 7.1. Alteração do $\delta^{13}\text{C}$ em todos os compartimentos do ecossistema em função do manejo florestal

O manejo florestal alterou o  $\delta^{13}\text{C}$  a depender do compartimento e das áreas avaliadas do ecossistema. Os maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  na fração resto da serapilheira e no solo da M3 refletem a presença, ciclagem e incorporação no solo do C proveniente da fotossíntese de espécies de Poaceae (gramíneas), com síndrome fotossintética C4 (Baruch et al. 1985; Sage 2004). Na M3, o sub-bosque regenerante de espécies arbóreas de Mata Atlântica não era tão desenvolvido quanto na M12, possibilitando a maior incidência de irradiância no solo da floresta logo após a retirada do dossel de eucalipto. Isto favoreceu o estabelecimento de gramíneas na M3, cuja assinatura isotópica é distinta das espécies arbóreas (espécies C3) (Farquhar et al. 1989). Estas gramíneas contribuem para a MOS (Freitas et al. 2001; Almeida 2012), levando ao maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  do solo. Entretanto, esta maior disponibilidade inicial de irradiância também favoreceu o rápido crescimento do sub-bosque regenerante de Mata Atlântica (observação pessoal).

Os maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foliar na M12 em comparação com a área de mata secundária e M3 se devem ao fato destas folhas terem sido formadas sob maior irradiância, após o manejo (cerca de  $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Já as folhas da M3, coletadas 3 meses após o manejo, se formaram quando ainda existia o sombreamento pela espécie exótica, antes do manejo e por isso apresentam valores mais baixos de  $\delta^{13}\text{C}$  (-31,76 ‰). Áreas expostas à maior irradiância propiciam condições ambientais que levam a maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (Ehleringer et al. 1986; Hanba et al. 1997; Van der Sleen et al. 2014). Espécies arbóreas da

Mata Atlântica crescendo em gradiente de irradiância podem variar seu  $\delta^{13}\text{C}$  geralmente entre -34,0 ‰ e -32,0 ‰ em condições de interior de mata (em torno de  $9 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) até cerca de -31,0 ‰ a -29,0 ‰ (quando crescendo em torno de  $550 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) (Vitoria et al. 2016). Esta faixa de variação no  $\delta^{13}\text{C}$  foliar (entre 4,0 ‰ e 5,0 ‰) têm sido descrita, de acordo com variações na irradiância como também em função de mudanças ambientais tais como baixa disponibilidade de água e aumento de temperatura (Buchmann et al., 1998).

Os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  nas folhas e na fração folha do presente estudo estão em consonância com vários outros estudos conduzidos em florestas tropicais (Bonal et al., 2000; Martinelli et al., 2009, 2007, 1998; Ometto et al., 2006). Os valores obtidos do  $\delta^{13}\text{C}$  para as folhas são refletidos nos encontrados nas frações folha da serapilheira. Entretanto, as demais frações da serapilheira que representam os drenos da planta (flores + frutos e madeira) mostram maiores valor do  $\delta^{13}\text{C}$  em comparação com as folhas (órgãos fonte). Variações entre o  $\delta^{13}\text{C}$  de órgãos fonte e dreno tem sido relatadas (Cernusak et al. 2009). A extensão do enriquecimento pode variar dependendo do tecido, espécies, e possivelmente do ambiente (Cernusak et al. 2009).

Os distintos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  entre folhas (fonte), e madeira e “frutos + flores” (drenos) podem ser explicados pelas hipótese compiladas na revisão de Cernusak et al., 2009: (1) as folhas têm uma concentração maior de lignina do que as raízes, que possuem mais celulose. Em geral, a celulose (Badeck et al., 2005; Leavitt e Long, 1982) presente nos tecidos de órgãos drenos da planta, como frutos + flores e na madeira, possuem maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  comparada a lignina e lipídios (Park e Epstein, 1961; Wilson e Grinstead, 1977) presente em órgãos fonte (folhas) (Cernusak et al. 2009). A diferença na assinatura isotópica nos tecidos acontece por causa do fracionamento isotópico (Badeck et al. 2005); (2) carboidratos exportados durante a noite teriam maiores valores do  $\delta^{13}\text{C}$  e, utilizados, preferencialmente, para o crescimento quando comparado com aqueles carboidratos, por exemplo, a sacarose, cujo valor do  $\delta^{13}\text{C}$  é menor, exportados durante o dia para os órgãos fontes, associado ao crescimento foliar (hipótese de Tcherkez et al. (2004) citada em Cernusak et al. (2009). Na mata secundária, os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foram enriquecidos na sequência solo > frações de serapilheira > folhas (Figura 3). O maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  nos solos superficiais da Mata Atlântica em comparação com os demais compartimentos analisados pode ser explicado pela rápida mineralização de componentes que possuem menor valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (Parron et al. 2003), assim como com o aporte de matéria orgânica que tem maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (Gama-Rodrigues et al. 2008). Tendências

semelhantes foram observadas em outro estudo em floresta tropical, no qual as plantas  $C_3$  são dominantes (Neill et al. 1996).

Diferenças entre os valores do  $\delta^{13}C$  das distintas frações da serapilheira e o  $\delta^{13}C$  do solo são interpretados como consequência da decomposição da MO da serapilheira, enquanto que a obtenção do valor zero sugere ausência de decomposição (Nardoto, comunicação pessoal). A partir dos resultados podemos sugerir que houve decomposição da MO das frações da serapilheira em todas as áreas.

### *7.2. Diferenças na dinâmica do N no sistema solo-planta em função do manejo florestal*

Variações de cerca de 4 ‰ do  $\delta^{15}N$  foliar (nas folhas e fração folha da serapilheira) foram encontradas nas três áreas (Figura 3). O mesmo foi verificado para o  $\delta^{15}N$  dos solos. O  $\delta^{15}N$  variou em função do ambiente, com todas as amostras da área de mata secundária apresentando maiores valores em comparação com as amostras das duas áreas manejadas. Vários aspectos destas áreas podem ter causado esta variação, tais como diferenças na umidade, deposição de serapilheira, taxa de decomposição, textura do solo, fracionamento de N durante as perdas (mineralização, desnitrificação, volatilização e lixiviação) (Näsholm, 1994; Högberg 1997; Martinelli et al., 2009).

Variações nos valores do  $\delta^{15}N$  foliar têm sido encontradas em vários ecossistemas, incluindo ambientes com baixa disponibilidade de N (Nadelhoffer et al. 1996; Bustamante et al. 2004; Coletta et al. 2009) e formações relativamente ricas em N (Ometto et al. 2006). A disponibilidade de N varia com a umidade do solo, com as taxa de mineralização e nitrificação, com o substrato (N orgânico ou inorgânico), com a dissolução do N no solo e sua disponibilidade para as plantas (Högberg, 1997). Outros fatores, incluindo a temperatura ambiente, retranslocação de N nas plantas, fracionamento de N após a absorção pelas plantas, e características intrínsecas da própria planta são conhecidas por modular o  $\delta^{15}N$  foliar (Högberg 1997; Martinelli et al. 1999; Dawson et al. 2002; Amundson et al. 2003; Santiago et al. 2004; Ometto et al. 2006).

Na área de mata secundária foi encontrado maior valor  $\delta^{15}N$  entre os compartimentos na sequência solo > frações de serapilheira > folhas (Figura 3), enquanto nas áreas manejadas o maior valor  $\delta^{15}N$  ocorreu na sequência solo > folha > frações de serapilheira. Maiores diferenças entre o  $\delta^{15}N$  de plantas e solos são esperados em ambientes mais úmidos do que em locais mais secos (Houlton et al., 2007; Schuur e Matson, 2001). Estudos têm mostrado um padrão na distribuição do  $\delta^{15}N$  entre solos e

plantas no qual as plantas apresentam maior valor  $\delta^{15}\text{N}$  do que os solos em função do aumento da precipitação e decréscimo de temperatura (Amundson et al. 2003).

Diferenças entre os valores do  $\delta^{15}\text{N}$  das distintas frações da serapilheira e o  $\delta^{15}\text{N}$  do solo são interpretados como consequência da decomposição da serapilheira, enquanto que a obtenção do valor zero sugere ausência de decomposição (Nardoto, comunicação pessoal). A partir dos resultados podemos sugerir que para o N houve decomposição em todas as áreas, devido aos valores diferentes de zero encontrados.

Mudanças no ciclo de N poderiam também contribuir para esse padrão de diferenças no valor do  $\delta^{15}\text{N}$  na planta e no solo, tais como processos de absorção de N pelas plantas ou taxas de nitrificação e desnitrificação diferentes entre os compartimentos (Schoor e Matson, 2001). A maior diferença entre  $\delta^{15}\text{N}$  foliar e do solo na área de mata (cerca de 3 ‰) do que nas áreas manejadas (1,5 ‰) pode ser devido à maior taxa de nitrificação ( $\text{NH}_4^+$  transformando-se em  $\text{NO}_3^-$ ) na mata (Davidson et al. 2007; Amazonas et al. 2011), o que aumenta o fracionamento associado à conversão de N (Högberg, 1997).

Valores do  $\delta^{15}\text{N}$  similares ao do presente estudo foram também encontrados em solos da Mata Atlântica em São Paulo (Almeida 2012; Gragnani 2014) entre -1,2 ‰ e 6,0 ‰ (Viani, 2010; Almeida, 2012; Lins, 2013; Gragnani, 2014), em serapilheira (entre -1,8 ‰ e 1,8 ‰) (Owen 2013) e em folhas de árvores de florestas tropicais (entre - 3,0 ‰ e 6,0 ‰) ( Roggy et al., 1999; Davidson et al., 2007; Martinelli et al., 2009; Nardoto et al., 2008). Em trabalhos com mais de 12.000 folhas coletadas globalmente, a média de  $\delta^{15}\text{N}$  foi de 0,9 ‰, com 95% das amostras dentro de um intervalo de 15,5 ‰ (-7,8 ‰ a 8,7 ‰) Craine et al. (2009). Localmente, indivíduos podem variar em  $\delta^{15}\text{N}$  por mais de 25 ‰ (Craine et al. 2012).

As amostras de solos das áreas manejadas tiveram menores valores do  $\delta^{15}\text{N}$  em comparação à área de mata secundária. O fracionamento por micro-organismos no solo gera diferenças no  $\delta^{15}\text{N}$  entre ecossistemas que resultam de diferenças na disponibilidade de N, nas taxas de transformação de N no solo e perdas de N para a atmosfera (Högberg 1997). De maneira geral, as áreas de mata são preservadas e caracterizadas por reduzidas concentrações de N inorgânico e taxas de transformação do N no solo, à exceção da fixação biológica do N (FBN) (i.e. produção de amônia -  $\text{NH}_3^+$  - e amônio -  $\text{NH}_4^+$  - a partir do  $\text{N}_2$  atmosférico, mediada por micro-organismos que contêm a enzima nitrogenase). Altas taxas de FBN têm sido observadas em florestas associadas ao sedimento e à serapilheira, aumentando o valor do  $\delta^{15}\text{N}$  em solo de florestas (Toledo et al. 1995; Lee e Joye 2006). Outra explicação seria que sob limitações nutricionais maior será a demanda

por N pela planta devido ao processo de crescimento e menor será a discriminação de  $^{15}\text{N}$  (Högberg 1997). No caso do presente estudo, na área de mata, provavelmente todo o N disponível tende a ser absorvido, independente se é isótopo  $^{14}\text{N}$  ou  $^{15}\text{N}$ , resultando na menor discriminação contra o  $^{15}\text{N}$  durante a absorção pela planta. Observando os valores do  $\delta^{15}\text{N}$  em solo das áreas manejadas infere-se que há menor demanda por N pela vegetação, favorecendo maior discriminação contra o  $^{15}\text{N}$  durante a absorção, como observado por Reis (2013) em manguezais do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, litoral sul do Estado de São Paulo. Para que as áreas de mata secundária e M12 tenham exibido maior  $\delta^{15}\text{N}$  no sistema solo-planta comparado à área M3, é necessário que perdas de N para a atmosfera tenham sido maiores (Högberg 1997) na área de mata e M12 comparado ao M3.

A maior concentração de N elementar na folha do que nos solos e nas frações de serapilheira (Tabela 4) pode ser explicada pela retranslocação deste elemento móvel na planta antes da senescência foliar (Kuang et al., 2010; Satti et al., 2003; Aerts e Chapin, 2000). A grande necessidade de N neste órgão se deve ao processo fotossintético que nele ocorre, no qual estão envolvidas várias enzimas com elevado teor de N (Paul e Pellny, 2003).

O maior valor de N no solo da M12 em comparação com a mata secundária e a M3 pode ser devido ao aumento de serapilheira de eucalipto após manejo na área (12 meses, em comparação a área M3, com apenas 3 meses) e a decomposição deste material proveniente do eucalipto. Gama-Rodrigues e colaboradores (2008) estudaram a quantidade de serapilheira produzida em plantios de eucalipto e em matas nativas e constataram maior quantidade de serapilheira no eucalipto. Em adição, durante o manejo, grande quantidade de folhas e galhos de eucalipto ficaram depositados no solo, tendo sido decomposto nos doze meses anteriores a nossa coleta. Essa maior quantidade de serapilheira em solos após manejo do eucalipto pode ter aumentado a umidade no solo, disponibilizando mais nutrientes, visto a maior concentração de N nas folhas das áreas manejadas do que na área de mata secundária. Além disso, estima-se que o acúmulo de serapilheira em florestas tropicais equivalha a 2 % da fitomassa produzida (Brown e Lugo, 1982) e este valor, em geral, aumenta em áreas manejadas. Tal diferença entre as áreas manejadas, segundo autores como Gama-Rodrigues e Barros (2002) e O'Connell e Sankaran (1997) é decorrente de fatores associados como baixa fertilidade e umidade do solo, pH inadequado à atividade biológica, baixa densidade e diversidade de organismos decompositores em áreas manejadas.

*7.3. A alteração da vegetação pós manejo florestal modificou as propriedades do solo e a concentração elementar e isotópica de C e N.*

A maior concentração de C e N nos solos da área M12 está associada principalmente a dois fatores: maior entrada de serapilheira de eucalipto no sistema em função do manejo, uma vez que apenas os troncos das árvores de eucalipto foram removidos da área para serem comercializados; e ao maior tempo de manejo desta área em comparação com a área M3, o que possibilitou a decomposição e incorporação dos nutrientes desta serapilheira no solo. Entretanto, a maior concentração de C elementar (3,28 %) no solo da M12 (Tabela 4) está entre os mais baixos valores reportados para florestas tropicais, assim como o valor de 3,4 % encontrado por Mazurec et al. (2003) em outro trecho de Mata Atlântica no RJ, a 50 m de altitude. A concentração de C no solo superficial das florestas tropicais pode variar de 3,0 % (Mazurec et al. 2003) a 9,0 % (Clevelario Júnior 1996). Concentração similar de N elementar no solo encontrada na M12 (0,26 %) foi reportada por Villela et al. (2001) em solos superficiais de plantios de eucalipto (0,31 %) também na REBIO União.

Solos com maiores quantidades de silte e argila apresentam menor razão C:N (Stemmer et al. 1998; Christensen 2001). Tal fato foi corroborado no presente trabalho para a M12 e mata secundária, em que foram encontrados maiores quantidades de silte e argila e menor razão C:N nesse solos comparado ao solo da área M3 (Tabela 4; Figura 6). Entretanto, Moreira e Siqueira (2002) não encontraram um padrão entre a razão C:N e as frações granulométricas do solo.

As mudanças na vegetação associadas ao manejo do eucalipto levaram a variações nos valores da razão isotópica nos solos, uma vez que estão associados à razão isotópica da cobertura vegetal pós manejo, como também, a textura e a mineralogia do solo (Six et al. 2001). O acúmulo de matéria orgânica em solos argilosos (área de mata secundária e M12) provém da capacidade da fração argila em adsorver elementos (C e N) tornando-o menos acessível à ação dos microrganismos decompositores (Oades 1995). Entretanto, em solos de textura mais arenosa (M3), a matéria orgânica tende a ser decomposta mais rapidamente, porque a fração areia tem menor capacidade de reter a MOS (Rosell et al. 1996), disponibilizando C para os microrganismos do solo que atuarão primeiramente decompondo o  $^{12}\text{C}$  do substrato. Com isso, o solo arenoso apresentará maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (como foi verificado na figura 3 para a M3). Em adição, a maior presença de gramíneas (plantas C4) no solo M3 comparado ao solo M12, levou a maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo da

área M3 devido as espécies C4 apresentarem menor discriminação isotópica do que espécies C3 e com isso apresentarem maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (Farquhar 1983).

Em estudos em solos de Mata Atlântica (Vitorello et al., 1989; Bonde et al., 1992) e em solos da Floresta Amazônica (Desjardins et al., 1996) foram observados que solos com maior quantidade de argila tiveram maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$ , o que não corrobora com o presente estudo, em que o valor do  $\delta^{13}\text{C}$  foi maior no solo da M3, com maior quantidade de areia (Figura 3 e 6; Tabela 5).

O  $\delta^{15}\text{N}$  do solo aumentou com a diminuição da razão C:N do solo (Figura 5). Craine e colaboradores (2015), através de 6.000 amostras de solo de 910 locais também observaram aumento do  $\delta^{15}\text{N}$  do solo conforme ocorria a redução da razão C:N, como consequência da maior estabilização da MOS. Solos com maiores concentrações de argila, como no caso do solo de mata secundária (no presente estudo), também obtiveram maior valor do  $\delta^{15}\text{N}$  (Craine et al. 2015). As frações argilas e de silte são frequentemente associados a MOS resistente à decomposição (Liao et al. 2006). Segundo Craine e colaboradores (2015) isto está associado com a incorporação de biomassa microbiana, bem como um aumento do tempo médio de residência de C. E ainda, refletiria o grau de transformação microbiológica durante o processo de estabilização da MOS (Craine et al. 2015).

Espera-se que a MOS com mais tempo de incorporação no solo reflita mais na assinatura isotópica de decompositores do que do 'input' inicial advindos da queda de galhos e folhas das plantas (Craine et al. 2015). Sabido isto, as frações da MOS geralmente mostram maiores valores do  $\delta^{15}\text{N}$  em solo humidificados, ou seja com maiores quantidades de frações argila e silte (Liao et al. 2006; Marin-Spiotta et al. 2009). Por exemplo, em um solo tropical rico em argila (no caso da área de mata secundária no presente estudo) maior será o valor do  $\delta^{15}\text{N}$  do solo, rico em argila, em que o aumento da humidificação associado ao processamento microbiano deve ser crescente (Figura 6). Liao e colaboradores (2006) quantificaram isótopos estáveis de C e N de solos, assim como sua granulometria, em locais onde houve manejo florestal e espécies arbóreas e arbustos (plantas C3) foram substituídas por pastagens (plantas C4). Segundo estes autores, os solos com mais frações silte e argila foram aqueles com maiores valores do  $\delta^{15}\text{N}$ , sugerindo estabilização de matéria orgânica. Padrões semelhantes foram observados em uma floresta tropical úmida (Marin-Spiotta et al. 2009). A figura 5 mostra ainda que a relação entre a razão C:N e o  $\delta^{15}\text{N}$  podem ser usados como uma ferramenta para verificar a degradação e estabilização

da MOS em sistemas mais perturbados em comparação com a mata secundária, o que já foi verificado (Conen et al. 2008).

## **8. Conclusão**

Os resultados apresentados neste capítulo corroboraram a hipótese de que o manejo florestal alterou as razões isotópicas e elementares de C e N nos diferentes compartimentos do ecossistema estudado, devido possivelmente às alterações das condições ambientais (irradiância, disponibilidade hídrica, temperatura, aumento da taxa de mineralização e nitrificação), aporte e decomposição de serapilheira, presença de gramíneas e disponibilidade de N nos solos.

O presente estudo permite concluir que houve decomposição da MOS para os elementos C e N , tendo sido esta maior na área de mata do que nas áreas manejadas.

## 9. Referências Bibliográficas

- Aerts R (1997) Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* 79:439–449.
- Aerts R, Chapin FS (2000) The Mineral Nutrition of Wild Plants Revisited: A Re-evaluation of Processes and Patterns. *Adv Ecol Res* 30:1–67.
- Almeida D (2012) Ciclagem de carbono e nitrogênio no solo sob restinga do estado de São Paulo. Dissertação (Mestre em Ecologia Aplicada). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. 95p.
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, et al (2013) Köppen’s climate classification map for Brazil. *Meteorol Zeitschrift* 22:711–728.
- Alves B, Zotarelli L (2005) Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. In: *No Sistema Solo*. pp 343–368
- Amazonas NT, Martinelli LA, Piccolo M de C, Rodrigues RR (2011) Nitrogen dynamics during ecosystem development in tropical forest restoration. *For Ecol Manage* 262:1551–1557.
- Amundson R, Austin AT, Schuur EAG, et al (2003) Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen. *Global Biogeochem Cycles* 17:1031–1042.
- Anderson JM, Swift M. (1983) Decomposition in tropical forests. In: *Tropical rain forest: ecology and management*. pp. 267–274.
- Austin AT, Vitousek PM (1998) Nutrient dynamics on a precipitation gradient in Hawaii. *Oecologia* 113:519–529.
- Badeck FW, Tcherkez G, Nogués S, et al (2005) Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs - A widespread phenomenon. *Rapid Commun Mass Spectrom* 19:1381–1391.
- Bai E, Boutton TW, Liu F, et al (2009) Spatial variation of the stable nitrogen isotope ratio of woody plants along a topographic gradient in a subtropical savanna. *Oecologia* 159:493–503.
- Balbinot R (2009) Carbono, Nitrogênio e razões isotópicas  $\delta^{13}\text{C}$  E  $\delta^{15}\text{N}$  no solo e vegetação de estágios sucessionais de Floresta Ombrófila Densa Submontana. Tese (Doutor em Engenharia Florestal na área de concentração de Conservação da Natureza). Universidade Federal do Paraná. 103p
- Balbinot R, Schumacher MV, Watzlawick LF, Sanquetta CR (2003) Inventário do carbono orgânico em um plantio de *Pinus taeda* aos 5 anos de idade no Rio Grande do Sul. *Rev Ciências Exatas e Nat* 5:59–68.

- Barbosa J, Faria S (2006) Aporte de serrapilheira ao solo em estágios sucessionais florestais na reserva biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57:461–476.
- Barreto PAB, Da Gama-Rodrigues EF, Da Gama-Rodrigues AC, et al (2008) Atividade microbiana, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana em plantações de eucalipto, em seqüência de idades. *Rev Bras Cienc do Solo* 32:611–619.
- Barreto PAB, Forestieri E, Gama-rodrigues AC (2014) Carbono das frações da matéria orgânica em solos sob plantações de eucalipto de diferentes idades. *Sci For* 42:581–590.
- Baruch Z, Ludlow M, Davis R (1985) Photosynthetic responses of native and introduced C<sub>4</sub> grasses from Venezuelan savannas. *Oecologia* 67:388–393.
- Bayer C, Martin-Neto L, Mielniczuk J, Pavinato a (2004) Carbon storage in labile fractions of soil organic matter in a tropical no-tillage Oxisol. *Pesqui Agropecu Bras* 39:677–683.
- Blott SJ., Croft DJ., Pye K. b, et al (2004) Particle size analysis by laser diffraction. *Geol Soc Spec Publ* 232:63–73.
- Boeger MRT, Wisniewski C, Reissmann CB (2005) Nutrientes foliares de espécies arbóreas de três estádios sucessionais de floresta ombrófila densa no sul do Brasil. *Acta Bot Brasilica* 19:167–181.
- Bonal D, Barigah TS, Granier A, Guehl JM (2000) Late-stage canopy tree species with extremely low  $\delta^{13}\text{C}$  and high stomatal sensitivity to seasonal soil drought in the tropical rainforest of French Guiana. *Plant, Cell Environ* 23:445–459.
- Bonde TA, Christensen BT, Cerri CC (1992) Dynamics of soil organic matter as reflected by natural  $^{13}\text{C}$  abundance in particle size fractions of forested and cultivated oxisols. *Soil Biol Biochem* 24:275–277.
- Brown S, Lugo AE (1982) Global Carbon Cycle of Organic Matter in Tropical Forests and The Storage and Production Their Role in the Global Carbon Cycle. 14:161–187.
- Brown S, Lugo AE (1990) Effects of forest clearing and succession on the carbon and nitrogen content of soils in Puerto Rico and US Virgin Islands. *Plant Soil* 124:53–64.
- Buchmann N, Brooks JR, Flanagan LB, Ehleringer JR (1998) Carbon isotope discrimination of terrestrial ecosystems. pp. 217.
- Bustamante MMC, Martinelli LA, Silva DA, et al (2004)  $^{15}\text{N}$  Natural abundance in woody plants and soils of Central Brazilian savannas (Cerrado). *Ecol Appl* 14:200–213.
- Carvalho FA, Nascimento MT, Braga JMA (2006) Composição e riqueza florística do

- componente arbóreo da Floresta Atlântica submontana na região de Imbaú, Município de Silva Jardim, RJ. *Acta Bot Brasilica* 20:727–740.
- Carvalho AMX De, Vale HMM Do, Ferreira EM, et al (2008) Atividade microbiana de solo e serapilheira em áreas povoadas com *Pinus elliottii* e *Terminalia ivorensis*. *Rev Bras Ciência do Solo* 32:2709–2716.
- Cernusak LA, Farquhar GD, Pate JS (2005) Environmental and physiological controls over oxygen and carbon isotope composition of Tasmanian blue gum, *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol* 25:129–146.
- Cernusak L, Tcherkez G., Keitel C, et al (2009) Viewpoint : Why are non-photosynthetic tissues generally  $^{13}\text{C}$  enriched compared with leaves in C3 plants? Review and synthesis of current hypotheses. *Funct Plant Biol* 36:199–213.
- Cerri CC, Bernoux M, Carvalho MCS, Volkoff B (2006) Emissões e remoções de dióxido de carbono pelos solos por mudanças de uso da terra e calagem. In: Primeiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa. p 41
- Christensen BT (2001) Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *Eur J Soil Sci* 52:345–353.
- Cianciaruso MV, Pires JSR, Delitti WBC, Silva ÉFLP Da (2006) Produção de serapilheira e decomposição do material foliar em um cerrado na Estação Ecológica de Jataí, município de Luiz Antônio, SP, Brasil. *Acta Bot Brasilica* 20:49–59.
- Clevelario Júnior J (1996) Distribuição de carbono e de elementos minerais em um ecossistema florestal tropical úmido baixo-montana. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Viçosa. 135p
- Coletta L Della, Nardoto GB, Latansio-Aidar SR, et al (2009) Isotopic view of vegetation and carbon and nitrogen cycles in a cerrado ecosystem, southeastern Brazil. *Sci Agric* 66:467–475.
- Costa GS, Gama-Rodrigues AC Da, Cunha GDM (2005) Decomposição e liberação de nutrientes da serapilheira foliar em povoamentos de *Eucalyptus grandis* no norte fluminense. *Rev Árvore* 29:563–570.
- Craine J, Craine JM, Elmore AJ, et al (2009) Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships. *New Phytol* 183:980–992.
- Crawford NM (1995) Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell* 7:859–68.
- Cristina Zancada M, Almendros G, Jiménez Ballesta R (2003) Humus quality after eucalypt reforestations in Asturias (Northern Spain). *Sci Total Environ* 313:245–258.
- Davidson EA, de Carvalho CJR, Figueira AM, et al (2007) Recuperation of nitrogen

- cycling in Amazonian forests following agricultural abandonment. *Nature* 447:995–998.
- Dawson TE, Mambelli S, Plamboek AH, et al (2002) Stable isotopes in plant ecology. *Annu Rev Ecol Syst* 33:507–559
- Descheemaeker K, Muys B, Nyssen J, et al (2006) Litter production and organic matter accumulation in exclosures of the Tigray highlands, Ethiopia. *For Ecol Manage* 233:21–35.
- Desjardins T, Filho Carneiro A, Mariotti A, et al (1996) Changes of the forest-savanna boundary in Brazilian Amazonia during. *Holocene* 108:749–756.
- Diekow J, Mielniczuk J, Knicker H, et al (2005) Soil C and N stocks as affected by cropping systems and nitrogen fertilisation in a southern Brazil Acrisol managed under no-tillage for 17 years. *Soil Tillage Res* 81:87–95.
- Dutta RK, Agrawal M (2001) Litterfall, litter decomposition and nutrient release in five exotic plant species planted on coal mine spoils. *Pedobiologia (Jena)* 45:298–312.
- Ehleringer JR, Field CB, Lin ZF, Kuo CY (1986) Leaf Carbon Isotope Ratio and Mineral Composition in Subtropical Plants Along an Irriance Cline. *Oecologia* 70:520–526.
- Evans RDD (2001) Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. *Trends Plant Sci* 6:121–126.
- Evaristo VT (2008) Dinâmica da comunidade e das principais populações arbustivo-arbóreas de mata atlântica em plantios abandonados de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson). Dissertação (Mestre em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Rio de Janeiro. 158p.
- Evaristo VT, Braga JMA, Nascimento MT (2011) Atlantic Forest regeneration in abandoned plantations of eucalypt (*Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill and L. A. S. Johnson) in Rio de Janeiro, Brazil. *Interciencia* 36:431–436.
- Faria GE De, Barros NF De, Novais RF De, et al (2008) Carbono orgânico total e frações da matéria orgânica do solo em diferentes distâncias do tronco de eucalipto. *Sci For* 36:265–277.
- Farquhar GD (1983) On the nature of carbon isotope discrimination in C<sub>4</sub> species. *Aust J Plant Physiol* 10:205–226.
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40:503–537.
- Fischer JC Von, Tieszen LL (1995) Carbon Isotope Characterization of Vegetation and

- Soil Organic Matter in Subtropical Forest in Luquillo, Puerto Rico. *Biotropica* 27:138–148.
- Fonseca S (1984) Propriedades físicas, químicas e microbiológicas de um Latossolo vermelho-amarelo sob eucalipto, mata natural e pastagem. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas) Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 78p
- Franeey RJ, Gifford RM, Sharkey TD, Weir B (1985) Oecologia in huon pine (*Lagarostrobos franklinii*). *Oecologia* 2:211–218.
- Freitas HA, Pessenda LCR, Aravena R, et al (2001) Late Quaternary vegetation dynamics in the southern Amazon Basin inferred from carbon isotopes in soil organic matter. *Quat Res* 55:39–46.
- Gama-Rodrigues AC, Barros NF (2002) Ciclagem de nutrientes em floresta natural e em plantios de eucalipto e de dandá no sudeste da Bahia, Brasil. *Rev Árvore* 26:193–207.
- Gama-Rodrigues EF, Barros NF, Gama-Rodrigues AC, Santos G de A (2005) Carbon, nitrogen and activity of microbial biomass in soil under eucalypt plantations. *Rev Bras Cienc do Solo* 29:893–901.
- Gama-Rodrigues EF, Barros NF, Vianna AP, Santos G de A (2008) Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da região sudeste do Brasil. *Rev Bras Ciências do Solo* 32:1489–1499.
- Gatto A, de Barros NF, Novais RF, et al (2010) Estoques de carbono no solo e na biomassa em plantações de eucalipto. *Rev Bras Cienc do Solo* 34:1069–1079.
- Gessler A, Gessler A, Keitel C, et al (2007)  $\delta^{13}\text{C}$  of organic matter transported from the leaves to the roots in *Eucalyptus delegatensis*: short-term variations and relation to respired  $\text{CO}_2$ . *Funct Plant Biol* 34:692–706.
- Gagnani JG (2014) Dinâmica do nitrogênio em duas áreas de pastagem em regeneração natural no Parque Estadual da Serra do Mar – núcleo Santa. Dissertação (Mestre em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. 83p
- Guo L., Sims RE. (1999) Litter production and nutrient return in New Zealand eucalypt short-rotation forests: implications for land management. *Agric Ecosyst Environ* 73:93–100.
- Guo LB, Gifford RM (2002) Soil carbon stocks and land use change: A meta analysis. *Glob Chang Biol* 8:345–360.

- Hanba YT, Mori S, Lei TT, et al (1997) Variations in leaf  $^{13}\text{C}$  along a vertical profile of irradiance in a temperate Japanese forest. *Oecologia* 253–261.
- Handley LL, Austin A, Robinson D, et al (1999) The  $^{15}\text{N}$  natural abundance ( $\delta^{15}\text{N}$ ) of ecosystem samples reflects measures of water availability. *Aust J Plant Physiol* 26:185–199.
- Högberg P (1997)  $^{15}\text{N}$  natural abundance in soil – plant systems. *New Phytol* 137:179–203.
- Houghton RA (2005) Aboveground forest biomass and the global carbon balance. *Glob Chang Biol* 11:945–958.
- Houlton BZ, Sigman DM, Schuur E a G, Hedin LO (2007) A climate-driven switch in plant nitrogen acquisition within tropical forest communities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:8902–6.
- Kitao M, Lei TT, Koike T, et al (2000) Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. *Physiol Plant* 109:284–290.
- Kolb KJ, Evans R (2002) Implication of leaf nitrogen recycling on the nitrogen isotope composition of deciduous plant tissues. *New Phytol* 156:57–64.
- Kuang YW, Wen DZ, Li J, et al (2010) Homogeneity of  $^{15}\text{N}$  in needles of Masson pine (*Pinus massoniana* L.) was altered by air pollution. *Environ Pollut* 158:1963–1967.
- Lavelle P, Blanchart E, Martin A, et al (1993) A Hierarchical Model for Decomposition in Terrestrial Ecosystems: Application to Soils of the Humid Tropics. *Biotropica*
- Leavitt SW, Long A (1982) Evidence for  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  fractionation between tree leaves and wood. *Nature* 298:742–744.
- Lima AMN, Da Silva IR, Neves JCL, et al (2008) Frações da matéria orgânica do solo após três décadas de cultivo de eucalipto no Vale do Rio Doce-MG. *Rev Bras Cienc do Solo* 32:1053–1063.
- Lima AMN, Silva IR, Neves JCL, et al (2006) Soil organic carbon dynamics following afforestation of degraded pastures with eucalyptus in southeastern Brazil. *For Ecol Manage* 235:219–231.
- Lins SRM (2013) O papel das leguminosas na dinâmica de nutrientes em uma Floresta Ombrófila densa de Terras Baixas e Montana situadas no PESH, núcleos Picinguaba Santa Virgínia. Dissertação (Mestre em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Centro de Energia Nuclear na Agricultura. 90p
- Luizao RCC, Luizao FJ, Paiva RQ, et al (2004) Variation of carbon and nitrogen cycling processes along a topographic gradient in a central Amazonian forest. *Glob Chang*

- Biol 10:592–600.
- Macedo MO, Resende AS, Garcia PC, et al (2008) Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing trees. *For Ecol Manage* 255:1516–1524.
- Manfrinato W, Piccolo MC, Cerri CC, et al (2001) Medición de la variabilidad espacial y temporal del carbono del suelo con el uso de los isótopos estables, en una transición bosque-pradera en el estado del Parana, Brasil. *Simp Int Medición y Monit la Captura Carbono en Ecosistema For* 1–17.
- Mann LK (1986) Changes in soil carbon storage after cultivation. *Soil Sci.* 142:279–288.
- Mariotti A, Mariotti F, Champigny M-LL, et al (1982) Nitrogen Isotope Fractionation Associated with Nitrate Reductase Activity and Uptake of  $\text{NO}_3^-$  by Pearl Millet. *Plant Physiol* 69:880–884.
- Martin A, Mariotti A, Balesdent J, et al (1990) Estimate of organic matter turnover rate in a savanna soil by  $^{13}\text{C}$  natural abundance measurements. *Soil Biol Biochem* 22:517–523.
- Martinelli L, Almeida S, Brown I, et al (1998) Stable carbon isotope ratio of tree leaves, boles and fine litter in a tropical forest in Rondônia, Brazil. *Oecologia* 114:170–179.
- Martinelli LA, Ometto JPHB, Ferraz ES, et al (2009) Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. pp. 144
- Martinelli LA, Piccolo MC, Townsend AR, et al (1999) Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. *Biogeochemistry* 46:45–65.
- Martinelli LA, Pierre J, Balbault H, et al (2007) The use of carbon and nitrogen stable isotopes to track effects of land-use changes in the Brazilian Amazon Region. In: *Stable isotopes as indicators of ecological change*. pp 318
- Mazurec AP, Carolina A, Ribeiro C, Nascimento T (2003) Quantificação da cobertura florestal e caracterização da estrutura e composição florística de remanescentes de Mata Atlântica na região do entorno da Lagoa de Cima, Campos dos Goytacazes, RJ. In: *Congresso de Ecologia*. 2–4p.
- McCave N, Bryant RJ, Cook HF, Coughanowr CA (1986) Evaluation of a laser-diffraction-size analyzer for use with natural sediments. *Res Methods Pap* 561–564.
- MMA-ICMBio (2007) Plano de recuperação ambiental das áreas ocupadas por eucaliptais na Reserva Biológica União/RJ. pp. 142
- Monteiro MT, Gama-Rodrigues EF (2004) Carbono, nitrogênio e atividade da biomassa

- microbiana em diferentes estruturas de serapilheira de uma floresta natural. *Rev Bras Cienc do Solo* 28:819–826.
- Moraes RM, Delitti WBC, Vuono YS (1999) Litterfall and litter nutrient content in two Brazilian Tropical Forest. *22(1): 1-5*.
- Moral R del, Muller CH (1969) Fog Drip: A Mechanism of Toxin Transport from *Eucalyptus globulus*. *Torrey Bot club* 96:467–475.
- Moreira FM, Siqueira JO (2002) *Microbiologia e bioquímica do solo*. pp. 625
- Nadelhoffer K, Fry B (1994) Nitrogen isotope studies in forest ecosystems. In: *Stable isotopes in Ecology*. pp 22-44
- Nadelhoffer K, Shaver G, Fry B, et al (1996)  $^{15}\text{N}$  Natural Abundances and N Use by Tundra Plants. *Oecologia* 107:386–394.
- Nardoto GB, Bustamante MMDC (2003) Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. *Pesqui Agropecu Bras* 38:955–962.
- Nardoto GB, Ometto JPHB, Ehleringer JR, et al (2008) Understanding the influences of spatial patterns on N availability within the Brazilian Amazon forest. *Ecosystems* 11:1234–1246.
- Näsholm T (1994) Removal of nitrogen during needle senescence in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Oecologia* 99:290–296.
- Neill C, Fry B, Melillo JM, et al (1996) Forest- and pasture-derived carbon contributions to carbon stocks and microbial respiration of tropical pasture soils. *Oecologia* 107:113–119.
- Nilsson S, Schopfhauser W (1995) The carbon-sequestration potential of a global afforestation program. *Clim Change* 30:267–293.
- O’Connell AM, Sankaran K V (1997) Organic matter accretion, decomposition and mineralisation. In: *Management of soil, nutrients and water in tropical plantation forests*. pp 443–480
- Oades JM (1995) Recent advances in organomineral interactions: implications for carbon cycling and soil. In: *Environmental, impact of soil component interactions*. pp 119–133
- Ometto JHB, Ehleringer JR, Domingues TF, et al (2006) The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. *Biogeochemistry* 79:251–274.
- Owen JS (2013) Stable Nitrogen Isotopes in a Forested Watershed in Taiwan. *J For Sci* 29:116–124.

- Park R, Epstein S (1961) Metabolic fractionation of  $^{13}\text{C}$  &  $^{12}\text{C}$  in plants. In: Plant physiology. pp 1–6
- Parron LM, Bustamante MM da C, Prado CLC (2003) Mineralização de nitrogênio e biomassa microbiana em solos de Mata de Galeria: efeito do gradiente topográfico. Bol. Pesqui. Embrapa 9:1–25.
- Paul MJ, Pellny TK (2003) Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. J Exp Bot 54:539–547.
- Pegoraro RF, Silva IR, Novais RF, et al (2011) Estoques de carbono e nitrogênio nas frações da matéria orgânica em argissolo sob eucalipto e pastagem. Ciência Florest 21:261–273.
- Pivello VR, Petenon D, Jesus FM De, et al (2006) Chuva de sementes em fragmentos de Floresta Atlântica (São Paulo, SP, Brasil), sob diferentes situações de conectividade, estrutura florestal e proximidade da borda. Acta Bot Brasilica 20:845–859.
- Powers JS, Tiffin P (2010) Plant functional type classifications in tropical dry forests in Costa Rica: Leaf habit versus taxonomic approaches. Funct Ecol 24:927–936.
- Pregitzer KS, Euskirchen ES (2004) Carbon cycling and storage in world forests: Biome patterns related to forest age. Glob Chang Biol 10:2052–2077.
- Proctor J, Anderson JM, Chai P, Vallack HW (1983) Ecological studies in four contrasting lowland rain forests in Gunung Mulu National Park, Sarawak: I. Forest Environment, structure and floristics. The Journal of Ecology 71:237–260.
- Rangel OJP, Silva CA (2007) Estoques de carbono e nitrogênio e frações orgânicas de latossolo submetido a diferentes sistemas de uso e manejo. Rev Bras Cienc do Solo 31:1609–1623.
- Reis A, Zambonin RM, Nakazono EM (1999) Recuperação de áreas florestais degradadas utilizando a sucessão e as interações planta-animal. Série Cad. da Reserv. da Biosf. da Mata Atlântica 14:1–41.
- Rezende JLP, Garcia QS, Scotti MRMML (2001) Laboratory decomposition of *Dalbergia nigra* All. Ex. Benth and *Eucalyptus grandis* W.Hill Ex. Maiden leaves in forest and eucalypt plantation soils. Acta Bot Bras 15:305–312.
- Robinson D (2001)  $\delta^{15}\text{N}$  as an integrator of the nitrogen. Trends Ecol Evol 16:153–162.
- Roggy JC, Prévost MF, Gourbiere F, et al (1999) Leaf natural  $^{15}\text{N}$  and total N concentration as potencial indicators of plant N nutrition in legumes and pionner species in a rain forest of French Guiana. Oecologia 120:171–182.
- Rosell RA., Galantini JA, Iglesias JO (1996) Organic carbon changes in soil fractions of

- two texturally-different Haplustolls under cultivation. In: Humic substances in soil and water environments. pp 161–162
- Rovira P, Vallejo VR (2002) Labile and recalcitrant pools of carbon and nitrogen in organic matter decomposing at different depths in soil: An acid hydrolysis approach. *Geoderma* 107:109–141.
- Sage RF (2004) The evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis. *New Phytol* 161:341–370.
- Sanaiotti TM, Martinelli LA, Victoria RL, et al (2002) Past Vegetation Changes in Amazon Savannas Determined Using Carbon Isotopes of Soil Organic Matter. *Biotropica* 34:2–16.
- Santiago LS, Kitajima K, Wright SJ, Mulkey SS (2004) Coordinated changes in photosynthesis, water relations and leaf nutritional traits of canopy trees along a precipitation gradient in lowland tropical forest. *Oecologia* 139:495–502.
- Santos AR (2014) Dinâmica da serapilheira e ciclagem de nutrientes na Floresta Ombrófila Densa do Parque Estadual Fontes do Ipiranga, São Paulo, Brasil. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 120p
- Sato T, Kominami Y, Saito S, et al (2010) Temporal dynamics and resilience of fine litterfall in relation to typhoon disturbances over 14 years in an old-growth lucidophyllous forest in southwestern Japan. *Plant Ecol* 208:187–198.
- Satti P, Mazzarino MJ, Gobbi M, et al (2003) Soil N dynamics in relation to leaf litter quality and soil fertility in north-western Patagonian forests. *J Ecol* 91:173–181.
- Schuur EA, Matson PA (2001) Net primary productivity and nutrient cycling across a mesic to wet precipitation gradient in Hawaiian montane forest. *Oecologia* 128:431–442.
- Selle GL (2007) Ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais. *Biosci J* 23:29–39.
- Silva AS, Oliveira JG, da Cunha M, Vitória AP (2010) Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic forest. *Brazilian J Plant Physiol* 22:245–254.
- Silva VE, Silva AC, Pereira RC, et al (2013) Composição lignocelulósica e isotópica da vegetação e da matéria orgânica do solo de uma turfeira Tropical. I - Composição florística, fitomassa e acúmulo de carbono. *Rev Bras Ciências do Solo* 37:121–133.
- Silver WL (1994) Is nutrient availability related to plant nutrient use in humid tropical forests? *Oecologia* 98:336–343.
- Six J, Conant RT, Paul E a, Paustian K (2002) Stabilization mechanisms of soil organic

- matter: Implications for C-saturatin of soils. *Plant Soil* 241:155–176.
- Six J, Guggenberger G, Paustian K, et al (2001) Sources and composition of soil organic matter fractions between and within soil aggregates. *Eur J Soil Sci* 52:607–618.
- Smith BN, Epstein S (1971) Two Categories of  $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$  Ratios for Higher Plants. *Plant Physiol* 47:380–384.
- Souza RC (2012) Efeito da serapilheira sobre a dinâmica de nutrientes em plantios de eucalipto em regeneração natural de Mata Atlântica. Tese (Doutor em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 214p
- Specht A, West PW (2003) Estimation of biomass and sequestered carbon on farm forest plantations in northern New South Wales, Australia. *Biomass and Bioenergy* 25:363–379.
- Stemmer M, Gerzabek MH, Kandeler E (1998) Organic matter and enzyme activity in particle-size fractions of soils obtained after low-energy sonication. *Soil Biol Biochem* 30:9–17.
- Stevenson FJ (1994) Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. pp. 496
- Tcherkez G, Farquhar G, Badeck F, Ghashghaie J (2004) Theoretical considerations about carbon isotope distribution in glucose of  $\text{C}_3$  plants. *Funct Plant Biol* 31:857–877.
- Teixeira J, Moura J, Silva U, et al (2010) Estoque de nitrogênio total e relação C/N influenciados pelo sistema de manejo e uso do solo de Cerrado. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo. pp 1928–1933
- Telles E de CC, Camargo PB, Martinelli LA, et al (2003) Influence of soil texture on carbon dynamics and storage potential in tropical forest soils of Amazonia. *Global Biogeochem Cycles* 17:1–12.
- Tesch ER (2005) Produção de serapilheira em três plantios de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook) L. A. Johnson e K. D. Hill), de diferentes idades, com sub-bosque de mata nativa em regeneração, na Reserva biológica União, RJ. n: VII Congresso de Ecologia do Brasil, 2005, Caxambú. Anais do VII Congresso de Ecologia. 33p
- Tillman D, Wedin D, Knops J (1996) Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 379:718–720.
- Tisdall JM, Oades JM (1982) Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J Soil Sci* 33:141–163.
- Trumbore S, Camargo PB (2009) Soil Carbon Dynamics. *Amaz Glob Chang* 451–462.
- Van der Sleen P, Soliz-Gamboa CC, Helle G, et al (2014) Understanding causes of tree growth response to gap formation:  $^{13}\text{C}$ -values in tree rings reveal a predominant

- effect of light. *Trees - Struct Funct* 28:439–448.
- Viani RAG (2010) Atributos funcionais e a distribuição de espécies do cerradão e da floresta estacional semidecidual. Tese (Doutor em Biologia Vegetal). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 145p
- Vidal MM, Pivello VR, Meirelles ST, Metzger JP (2007) Produção de serapilheira em floresta Atlântica secundária numa paisagem fragmentada (Ibiúna, SP): importância da borda e tamanho dos fragmentos. *Rev Bras Botânica* 30:521–532.
- Vidotto E (2008) Reconstrução paleoambiental (vegetação e clima) no Parque Estadual da Ilha do Cardoso - SP durante o Quaternário tardio. Tese (Doutor em Ciências). Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. 199p
- Villela DM, Nascimento MT, Mazurec AP, et al (2001) Soil chemical properties under *Eucalyptus citriodora* plantations of different ages after a 9-year period of abandonment in União Biological Reserve, Rio de Janeiro State, Brazil. In: International Conference on Land Degradation and Meeting of the IUSS Subcommission C - Soil and Water Conservation. 3-5p
- Vital MHF (2007) Impacto Ambiental de Florestas de Eucalipto. *Rev Do Bndes*, 14:235–276.
- Vitorello VA, Cerri CC, Andreux F, et al (1989) Organic Matter and Natural Carbon-13 Distribution in Forested and Cultivated Oxisols. *Soil Sci Soc Am J* 53:773–778.
- Vitoria AP, Vieira TDO, Camargo PDB, Santiago LS (2016) Using leaf  $\delta^{13}\text{C}$  and photosynthetic parameters to understand acclimation to irradiance and leaf age effects during tropical forest regeneration. *For Ecol Manage* 379:50–60.
- Vitousek P, Sanford RLJ (1986) Nutrient Cycling in Moist Tropical Forest. *Annu Rev Ecol Syst* 17:137–167.
- Volkoff B, Flexor JM, Isabel LS, Isabel MS (1978) Natureza do humus nos latossolos distróficos da Bahia. *Rev Bras Ciências do Solo* 2:59–63.
- Wentworth CK (1922) A Scale of Grade and Class Terms for Clastic Sediments. *J Geol* 30:377–392.
- Wilson AT, Grinsted MJ (1977)  $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$  in cellulose and lignin as palaeothermometers. *Nature* 265:133–135.
- Zinn YL, Lal R, Resck DVS (2005) Changes in soil organic carbon stocks under agriculture in Brazil. *Soil Tillage Res* 84:28–40.

## DISCUSSÃO GERAL

O manejo florestal (corte raso de eucalipto) expôs as espécies nativas do sub-bosque regenerante (*B. sericea*, *S. guianensis* e *X. sericea*) à maior irradiância e temperatura, e conseqüentemente à baixa disponibilidade hídrica. Isto levou à alteração morfológica (externas e ultra-estruturais) e fotossintética das espécies, principalmente durante o período seco.

Fotoinibição foi verificada como resposta de curto prazo (até 3 meses) ao manejo, porém as mesmas foram capazes de recuperar sua capacidade fotoquímica após este período (capítulo 2), não tendo sido observado fotoinibição nestas espécies após um ano de remoção do eucalipto (capítulo 1).

Entretanto, mesmo que discreta, houve distinção na resposta fotoaclimatativa das espécies a curto prazo, embora todas pertençam aos estádios iniciais de sucessão ecológica. As espécies *S. guianensis* e *B. sericea* recuperaram o desempenho fotossintético pouco antes de *X. sericea*. Em geral, é esperado que a espécie classificada em determinado grupo ecológico apresente a maioria das características inerentes àquele grupo. As distintas respostas fotoaclimatativas estariam relacionadas com as variações intra e interespecíficas (Kitajima 1996), podendo estar relacionadas ao gradiente de irradiância que elas receberam ao longo do seu desenvolvimento (Kitajima 1996; Krause et al. 2001).

Para que um grupo ecológico se estabeleça a um determinado ambiente, as espécies devem fazer uso eficiente da luz (maior aproveitamento da conversão de energia luminosa em energia química) para propiciar a eficiência na partição de fotoassimilados e rapidez em respostas aclimatativa, sejam elas morfológicas, anatômicas, de crescimento ou outras (Percy and Way 2012). Possivelmente, as alterações ultra-estruturais dos cloroplastos, desorganização das pilhas tilacoidais, presença de óleos e de compostos fenólicos preveniram danos severos ao aparato fotossintético nas espécies deste estudo (Molas 2002; Munné-Bosch e Alegre 2004; II Austin et al. 2006; Lage-Pinto et al. 2008; Rabelo et al. 2013).

Reduções de  $A$  e  $g_s$  para as espécies foram observadas após manejo florestal onde a irradiância foi maior, principalmente na estação seca. A capacidade fotossintética é uma característica intrínseca de cada espécie vegetal, sendo que as trocas gasosas mudam durante o desenvolvimento do indivíduo e dependem do curso anual e até mesmo do curso diário das flutuações ambientais (luz, temperatura, dentre outros) (Larcher 2000). Além disso, a troca gasosa é um processo intimamente ligado ao suprimento hídrico, sendo, portanto, necessário manter um equilíbrio entre assimilação de C e transpiração. Sob

limitação hídrica, a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> declina em função da redução na *g<sub>s</sub>* (Prado et al. 2004). O fechamento estomático reduz a concentração interna de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*) o que leva a menor discriminação do <sup>13</sup>C (Farquhar et al. 1989), e conseqüentemente a maior valor do δ<sup>13</sup>C.

No presente trabalho, em ambiente com maior irradiância (DRE) o controle estomático foi efetivo, principalmente para *S. guianensis* e *X. sericea*. Estas mostraram-se mais responsivas em termos de *A* quando comparadas à *B. sericea*. Entretanto, enriquecimento em <sup>13</sup>C foi verificado para todas as espécies após manejo florestal.

O δ<sup>15</sup>N foliar é reflexo de vários processos: presença de múltiplas fontes de N com distintos valores isotópicos, associação com micorrizas, variações temporais e espaciais de N disponível, mudanças na demanda e oferta de N para as plantas, entre outros (Robinson et al. 2000; Dawson et al. 2002; Högberg 1997).

Espécies com maior capacidade de adquirir nutrientes do solo apresentam maior potencial de adaptação em ecossistemas pobres em nutrientes (Robinson et al. 2000). As espécies vegetais podem influenciar o solo de diversas maneiras: por meio de diferenças químicas na composição da serapilheira, nos exsudatos liberados pela raiz, nas mudanças do microclima decorrentes do grau de cobertura do solo e nas mudanças na composição do sub-bosque (Hansson 2011). As folhas das espécies vegetais tiveram menores valores do δ<sup>15</sup>N do que o solo e isto aconteceu devido ao fracionamento que ocorre no solo durante as perdas (volatilização, lixiviação, desnitrificação, mineralização) que enriquecem em <sup>15</sup>N os solos tropicais (Näsholm, 1994; Högberg 1997; Martinelli et al., 2009).

Era esperado que na área de mata secundária, que possui maior diversidade de espécies arbóreas, a concentração de N no solo fosse maior do que nas áreas manejadas. No entanto a área de mata secundária mostrou ser um ambiente com menor concentração de N no solo. A área M12 apresentou maior concentração de N no solo, o que não era esperado, pois é sabido que a serapilheira de eucalipto possui baixa qualidade química (Villela et al. 2001; Gama-Rodrigues et al. 2005; Gama-Rodrigues et al. 2008; Souza 2012). O que poderia explicar este fato é o aumento na entrada de N no sistema em função do corte do eucalipto, uma vez que as folhas e caules finos não foram retirados da área e permaneceram decompondo por um ano antes das medidas. Os elementos C, N e a matéria orgânica, juntamente com a razão C:N são importantes indicadores do estado nutricional do solo (Johnson et al. 2009; Benham et al. 2012; Ge et al. 2013), uma vez que durante o processo de mineralização do material orgânico muitos elementos são liberados, tais como N, cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), enxofre (S) e micronutrientes (Sancléments et

al. 2010). De uma maneira geral, o conteúdo de N na serapilheira de eucalipto é relativamente pequeno, quando comparado com florestas nativas tropicais. Isto é uma função da “baixa” qualidade química da serapilheira dos eucaliptos (Villela et al. 2001; Gama-Rodrigues et al. 2005; Gama-Rodrigues et al. 2008; Souza 2012). Entretanto, devido à relevante participação das folhas da serapilheira de eucalipto na serapilheira produzida, esta fração apresentou importante participação no aporte total de nutrientes em ambos os solos referentes às áreas manejadas.

Quando a razão C:N é baixa os organismos decompositores não são limitados pelo N, o que resulta em uma liberação de N inorgânico para a solução do solo, por isso o aumento a concentração de N do solo da área manejada há mais tempo (M12). Este aumento na concentração de N nos solos é muito importante para áreas em fase de restauração (Macedo et al. 2008), já que de acordo com Francis e Read (1994) a queda de serapilheira de *C. citriodora* aumenta não só a incorporação de N no solo, mas também eleva a quantidade de matéria orgânica do solo, o que permitirá a manutenção das espécies nativas sub-bosque regenerante e contribuirá para o sucesso no estabelecimento de novas espécies arbóreas da Mata Atlântica.

O manejo do eucalipto promoveu alterações isotópicas e elementares de C e N tanto em folha como no solo e na serapilheira, além de variações nas respostas fotoquímica a curto prazo, nas trocas gasosas ao longo do tempo, e em características morfológicas externas e ultra-estruturais das folhas. Contudo, este impacto não afetará negativamente a regeneração e manutenção das espécies vegetais mais abundantes do sub-bosque regenerante, pois as mesmas foram capazes de se aclimataram as novas condições ambientais (maior irradiância, temperatura e baixa disponibilidade hídrica).

Abaixo segue as hipóteses testadas e respondidas nesta tese:

1. As três espécies regenerantes do sub-bosque sofrerão fotoinibição após remoção da cobertura do dossel de eucalipto. A hipótese foi aceita, pois as espécies sofreram fotoinibição quando submetidas à irradiância direta ( $1.480 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) em um prazo de até 3 meses.

2. A assimilação de carbono (*A*) das três espécies regenerantes do sub-bosque será menor na condição ambiental de maior irradiância e pouca disponibilidade hídrica (período seco). A hipótese foi aceita porque as três espécies apresentaram menor valor de *A* DRE, principalmente na estação seca.

3. As espécies regenerantes do sub-bosque terão valores maiores de  $\delta^{13}\text{C}$  após remoção do dossel de eucalipto. A hipótese foi aceita porque houve aumento nos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  nas amostras de folhas devido ao controle estomático eficiente destas espécies.

4.  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  dos solos serão influenciadas pelo manejo florestal. A hipótese foi aceita porque o solo da área M3 teve maior valor do  $\delta^{13}\text{C}$  comparado ao demais devido à presença de gramíneas que depois foram decompostas e incorporadas ao solo. Maior valor de  $\delta^{15}\text{N}$  também foi verificado no solo da área da mata, em parte possivelmente como consequência da maior fração de argila neste solo.

5. Solos da área de mata apresentarão maior quantidade de C e N comparados aos solos dos talhões de eucalipto manejados. A hipótese foi refutada, pois a área M12 foi a que apresentou maiores quantidades de C e N. Possivelmente, isto ocorreu devido ao aporte de serapilheira pelo corte de eucalipto há 12 meses que promoveu a incorporação da serapilheira em matéria orgânica do solo, diferindo da área M3 com 3 meses de remoção dos eucaliptais.

Assim, nossos dados apontam evidências para sugerir que isótopos estáveis de C e N podem ser utilizados como marcadores temporais do manejo nesta reserva. Entretanto, algumas questões permanecem em aberto: 1) a maior irradiância poderá favorecer a colonização das áreas manejadas por espécies de gramíneas? e 2) haverá dominância de poucas espécies regenerantes nestes sub-bosques expostos a maior irradiância? É inegável que o corte raso de eucaliptos foi uma ação positiva e se faz necessária visando a preservação da floresta, mas é importante um monitoramento constante destas áreas para que ambas as questões supra-citadas possam ser respondidas e para que o manejo não acarrete no comprometimento da biodiversidade deste importante fragmento de Mata Atlântica do Rio de Janeiro.

## Referências Bibliográficas

- Andrade AG, Costa GS, Faria SM (2000) Deposição e decomposição da serapilheira em povoamentos *Mimosa caesalpinifolia*, *Acacia mangium* e *Acacia holosericea* com quatro anos de idade em Planossolo. *Rev Bras Ciência do Solo* 24:49–57.
- Bayer, C., Mielniczuk J (1999) Dinâmica e função da matéria orgânica. In: Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. pp 9–26.
- Benham SE, Vanguelova EI, Pitman RM (2012) Short and long term changes in carbon, nitrogen and acidity in the forest soils under oak at the Alice Holt Environmental Change Network site. *Sci Total Environ* 421–422:82–93.
- Craswell ET, Lefroy RDB (2001) The role and function of organic matter in tropical soils. *Nutr Cycl Agroecosystems* 61:7–18.
- Dawson TE, Mambelli S, Plamboek AH, et al (2002) Stable isotopes in plant ecology. *Annu Rev Ecol Syst* 33:507–559.
- Emmett BA, Kjonaas OJ, Gundersen P, et al (1998) Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in forests across a nitrogen deposition gradient. *For Ecol Manage* 101:9–18.
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40:503–537.
- Francis R, Read DJ (1994) The contributions of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. *Plant Soil* 159:11–25.
- Fujii K, Hartono A, Funakawa S, et al (2011) Acidification of tropical forest soils derived from serpentine and sedimentary rocks in East Kalimantan, Indonesia. *Geoderma* 160:311–323.
- Gama-Rodrigues EF, Barros NF, Vianna AP, Santos G de A (2008) Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da região sudeste do Brasil. *Rev Bras Ciências do Solo* 32:1489–1499.
- Gama-Rodrigues EF, Barros NF, Gama-Rodrigues AC, Santos G de A (2005) Carbon, nitrogen and activity of microbial biomass in soil under eucalypt plantations. *Rev Bras Cienc do Solo* 29:893–901.
- Ge X, Zeng L, Xiao W, et al (2013) Effect of litter substrate quality and soil nutrients on forest litter decomposition: A review. *Acta Ecol Sin* 33:102–108.
- Gosz JR, Likens GE, Bormann FH (1976) Organic matter and nutrient dynamics of the forest and forest floor in the Hubbard Brook Forest. *Oecologia* 22 IS-:305-320 EP-.
- Hansson K (2011) Impact of Tree Species on Carbon in Forest Soils. pp. 56

- Hobbie EA, Macko SA, Williams M (2000) Correlations between foliar  $\delta^{15}\text{N}$  and nitrogen concentrations may indicate plant-mycorrhizal interactions. *Oecologia* 122:273–283.
- Hobbie SE (1992) Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends Ecol Evol* 7:336–9.
- Högberg P (1997)  $^{15}\text{N}$  natural abundance in soil – plant systems. *New Phytol* 137:179–203.
- II Austin JR, Frost E, Vidi PA, et al (2006) Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *Plant Cell* 18:1693–1703.
- Johnson DW, Miller WW, Susfalk RB, et al (2009) Biogeochemical cycling in forest soils of the eastern Sierra Nevada Mountains, USA. *For Ecol Manage* 258:2249–2260.
- Kikuzawa K (1991) A cost-benefit analysis of leaf habit and leaf longevity of trees and their geographical. *Am Nat* 138:1250–1263.
- Kitajima K (1996) Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. pp. 559–596.
- Krause GH, Koroleva OY, Dalling JW, Winter K (2001) Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. *Plant, Cell Environ* 24:1345–1352.
- Lage-Pinto F, Oliveira JG, Da Cunha M, et al (2008) Chlorophyll a fluorescence and ultrastructural changes in chloroplast of water hyacinth as indicators of environmental stress. *Environ Exp Bot* 64:307–313.
- Larcher W (2000) *Ecofisiologia vegetal*. pp. 531
- Lavelle P, Blanchart E, Martin A, et al (1993) A Hierarchical Model for Decomposition in Terrestrial Ecosystems: Application to Soils of the Humid Tropics. *Biotropica* 25:130–150.
- Lortie CL, Aarssen LW (1996) The specialization hypothesis for phenotypic plasticity in plants. *Int J Plant Sci* 157:484–487.
- Macedo MO, Resende AS, Garcia PC, et al (2008) Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing trees. *For Ecol Manage* 255:1516–1524.
- Martinelli LA, Ometto JPHB, Ferraz ES, et al (2009) Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. pp. 144.
- Molas J (2002) Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni(II) complexes. *Environ Exp Bot* 47:115–126.
- Munné-Bosch S, Alegre L (2004) Die and let live: Leaf senescence contributes to plant

- survival under drought stress. *Funct Plant Biol* 31:203–216.
- Pearcy RW, Way DA (2012) Two decades of sunfleck research: Looking back to move forward. *Tree Physiol* 32:1059–1061.
- Prado CHB, Wenhui Z, Rojas MHC, Souza GM (2004) Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brazilian J Plant Physiol* 16:7–16.
- Prescott CE, Chappel HN, Vesterdal L (2000) Nitrogen in Roots of Sandhill Oaks Douglas-Fir at sites differing in soil nitrogen capital. *Ecology* 82:1878–1886.
- Rabelo GR, Vitória ÂP, da Silva MVA, et al (2013) Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees - Struct Funct* 27:259–272.
- Robinson D, Handley LL, Scrimgeour CM, et al (2000) Using stable isotope natural abundances ( $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ ) to integrate the stress responses of wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch.) genotypes. *J Exp Bot* 51:41–50.
- Sanclements MD, Fernandez IJ, Norton SA (2010) Soil chemical and physical properties at the Bear Brook Watershed in Maine, USA. *Environ Monit Assess* 171:111–128.
- Six J, Conant RT, Paul E a, Paustian K (2002) Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturatin of soils. *Plant Soil* 241:155–176.
- Souza RC (2012) Efeito da serapilheira sobre a dinâmica de nutrientes em plantios de eucalipto em regeneração natural de Mata Atlântica. Tese (Doutor em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 214p.
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, et al (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81:1925–1936.
- Vieira CR, Weber OL dos S, Liuti RF, Scaramuzza JF (2014) Alterações da relação C/N de um latossolo vermelho-amarelo sob diferentes coberturas vegetais em Brasnorte – MT. *Rev Inst Flor* 26:183–191.
- Villela DM, Nascimento MT, Mazurec AP, et al (2001) Soil chemical properties under *Eucalyptus citriodora* plantations of different ages after a 9-year period of abandonment in União Biological Reserve, Rio de Janeiro State, Brazil. In: International Conference on Land Degradation and Meeting of the IUSS Subcommittee C - Soil and Water Conservation. 3-5p.
- Vitousek PM (1982) The University of Chicago Nutrient Cycling and Nutrient Use Efficiency. *Am Nat* 119:553–572.