JOÃO PEDRO BATISTA FERNANDES CUNHA

A APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO AFETA DISTINTAMENTE A FISIOLOGIA E O CRESCIMENTO DE MUDAS DE CINCO ESPÉCIES ARBÓREAS DA MATA ATLÂNTICA

Londrina
2023

JOÃO PEDRO BATISTA FERNANDES CUNHA

A APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO AFETA DISTINTAMENTE A FISIOLOGIA E O CRESCIMENTO DE MUDAS DE CINCO ESPÉCIES ARBÓREAS DA MATA ATLÂNTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Renata Stolf Moreira.

Londrina
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Cunha, João Pedro Batista Fernandes.
A aplicação de Nitrogênio e Fósforo afeta distintamente a fisiologia e o crescimento de mudas de cinco espécies arbóreas da Mata Atlântica / João Pedro Batista Fernandes Cunha. - Londrina, 2023.
49 f.

Orientador: Renata Stolf Moreira.
Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2023.
Inclui bibliografia.

1. fisiologia vegetal - Tese. 2. deposição de N - Tese. 3. deposição de P - Tese. 4. Mata Atlântica - Tese. I. Stolf Moreira, Renata. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 574

JOÃO PEDRO BATISTA FERNANDES CUNHA

A APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO AFETA DISTINTAMENTE A FISIOLOGIA E O CRESCIMENTO DE MUDAS DE CINCO ESPÉCIES ARBÓREAS DA MATA ATLÂNTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

_____
Orientadora: Prof.ª Dr.ª Renata Stolf Moreira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

_____
Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

_____
Prof. Dr.ª Mariana Fernandes Hertel
L'Institut de Biosciences et Biotechnologies d'Aix-Marseille, Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives – Cadarache – BIAM (França)

_____
Prof. Dr. Cristiano Medri
Universidade Estadual de Londrina – UEL

_____
Prof. Dr. José Marcelo Torezan
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 02 de março de 2023.

AGRADECIMENTOS

À professora Renata e aos professores Halley e Pimenta por toda orientação durante a realização deste trabalho. Aos colegas do laboratório de Ecofisiologia Vegetal por toda ajuda e colaboração. À minha família e amigos por todo apoio e incentivo.

Ao Projeto Ecológico de Longa Duração (PELD-MANP), apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária, do qual o presente estudo fez parte, pelo financiamento.

O presente trabalho foi realizado com bolsas da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (processo 88887.626074/2021-00) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo 159585/2021-0).

To the Long Term Ecological Project (PELD-MANP), supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação Araucária, which the present study was part of, for the funding.

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 (process 88887.626074/2021-00) and by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (process 159585/2021-0).

CUNHA, João Pedro Batista Fernandes Cunha. **A aplicação de nitrogênio e fósforo afeta distintamente a fisiologia e o crescimento de mudas de cinco espécies arbóreas da mata atlântica**. 2023. 49 f. Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

RESUMO

Nitrogênio (N) e fósforo (P) são nutrientes minerais essenciais, cuja disponibilidade é determinante para crescimento e desenvolvimento vegetal. Com o aumento da deposição antropogênica de nutrientes, especialmente N, a disponibilidade destes nutrientes nos ecossistemas terrestres deve aumentar, afetando o desenvolvimento vegetal. Este estudo tem como objetivo identificar como espécies arbóreas da Mata Atlântica com características ecológicas contrastantes respondem ao aumento da disponibilidade N e P no solo. Durante nove semanas, três espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica intolerantes à sombra e duas tolerantes à sombra foram submetidas a aplicações semanais de $(NH_4)_2SO_4$ ([N] = 4mM), NaH_2PO_4 ([P] = 1mM), ambas as soluções ou apenas água (tratamentos N, P, N+P e controle). Foram realizadas análises de trocas gasosas, biometria, determinações das concentrações foliares de N e P e análises químicas do solo. Nenhuma das espécies estudadas apresentou acúmulo de N após adição do nutriente. Além disso, nenhuma alteração do pH ou da disponibilidade de P no solo foi observada em razão da aplicação de N durante o período de estudo, enquanto o P adicionado acumulou-se no solo e nas folhas de três das cinco espécies estudadas. A aplicação dos nutrientes promoveu alterações fisiológicas e de crescimento em todas as espécies. As espécies intolerantes à sombra *Cecropia pachystachya* e *Heliocarpus popayanensis* responderam positivamente à adição conjunta de N e P, mas não aos nutrientes isolados. A terceira espécie intolerante à sombra, *Croton floribundus*, teve seu crescimento estimulado apenas pela adição de P. Entre as espécies tolerantes à sombra, *Cariniana estrellensis* teve o crescimento reduzido pela aplicação dos nutrientes separadamente, mas estimulado pela aplicação de N+P, enquanto *Aspidosperma polyneuron* respondeu positivamente a todos os tratamentos. Os resultados obtidos indicam que, a despeito do grau de tolerância à sombra, cada espécie responde de forma específica à adição de N e P.

Palavras-chave: deposição de N; deposição de P; espécies tolerantes à sombra; espécies intolerantes à sombra; floresta tropical; limitação nutricional.

CUNHA, João Pedro Batista Fernandes Cunha. **The application of nitrogen and phosphorus affects differently the growth and physiology of five tree species from the Atlantic Forest**. 2023. 49 pp. Thesis /Dissertation (Master's degree in Biological Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

ABSTRACT

Nitrogen (N) and phosphorus (P) are essential mineral nutrients which availability is critical for plant growth and development. With the increased anthropogenic nutrient deposition, especially N, the availability of these nutrients in terrestrial ecosystems is expected to increase, affecting plant development. This study aims to identify how tree species in the Atlantic Forest with contrasting ecological characteristics respond to increased N and P availability in the soil. During nine weeks, tree shade intolerant and two shade tolerant tree species native from the Atlantic Forest were subjected to weekly applications of (NH4)2SO4 ([N] = 4mM), NaH2PO4 ([P] = 1mM), both solutuions or just water (N, P, N+P, and control treatments). Gas exchange, biometry, foliar N and P concentrations, and soil chemical analyses were performed. None of the studied species showed N accumulation after nutrient addition. Furthermore, no changes in soil pH or P availability were observed due to N application during the study period, while added P accumulated in the soil and leaves of three out of five species studied. Nutrient applications caused physiological and growth changes in all species. Shade-intolerant species, Cecropia pachystachya and Heliocarpus popayanensis, responded positively to combined N and P addition but not to individual nutrients. The third shade-intolerant species, Croton floribundus, had its growth stimulated only by P addition. Among shade-tolerant species, Cariniana estrellensis had its growth reduced by separate nutrient applications but stimulated by N+P addition, while Aspidosperma polyneuron responded positively to all treatments. The results indicate that, regardless of shade tolerance, each species responds specifically to N and P addition.

Key-words: N deposition; P deposition; shade tolerant species; shade intolerant species; nutritional limitation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema simplificado do ciclo do N 16

Figura 2 – Esquema simplificado do ciclo do P 17

Figura 3 – Concentração de N e P nas folhas de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5% 33

Figura 4 – Taxas de crescimento relativo e de assimilação líquida de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5%.....33

Figura 5 – Análise de trocas gasosas de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5% 36

Figura 6 – Análise de componentes principais baseada em todos os parâmetros biométricos, de trocas gasosas e de concentração de nutrientes nas folhas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis*

(*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas aos tratamentos Controle, N, P e N+P 37

Figura 7 – *Heatmap* de todos os parâmetros biométricos, de trocas gasosas e de concentração de nutrientes nas folhas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Desvios para o vermelho indicam aumento, enquanto desvios para o azul indicam redução 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise química do solo, realizada antes e após o cultivo de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Asteriscos indicam diferença estatística em relação ao solo pré-tratamento após teste t de Student em nível de significância de 5%.....30

Tabela 2 – Parâmetros biométricos de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5% 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Taxa fotossintética líquida
ACP	Análise de componentes principais
AF	Área foliar total
Ap	*Aspidosperma polyneuron*
C_a	Concentração ambiental de CO_2
Ce	*Cariniana estrellensis*
Cf	*Croton floribundus*
C_i	Concentração intercelular de CO_2
Cp	*Cecropia pachystachya*
CTC	Capacidade de troca de cátions
DAP	Diâmetro na altura do peito
E	Taxa de transpiração
FES	Floresta Estacional Semidecidual
g_s	Condutância estomática
Hp	*Heliocarpus popayanensis*
k	Eficiência instantânea de carboxilação
MSC	Massa seca do caule
MSF	Massa seca das folhas
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca da raiz
MST	Massa seca total
N	Nitrogênio
P	Fósforo
TAL	Taxa assimilatória líquida
TCR	Taxa de crescimento relativo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

2 MATERIAIS E MÉTODOS 23
2.1 MATERIAL VEGETAL 23
2.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO 24
2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 25
2.4 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS 25
2.5 BIOMETRIA 26
2.6 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES FOLIARES DE N E P 26
2.7 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO 27
2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 27

3 RESULTADOS 29
3.1 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO 29
3.2 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES FOLIARES DE N E P 29
3.3 BIOMETRIA 31
3.4 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS 33
3.5 ANÁLISES MULTIVARIADAS 36

4 DISCUSSÃO 40

5 CONCLUSÃO 44

REFERÊNCIAS 45

1 INTRODUÇÃO

Os nutrientes minerais são determinantes para o crescimento e desenvolvimento vegetal e podem ser classificados quanto à sua essencialidade. Os nutrientes minerais essenciais são aqueles sem os quais as plantas não completam seu ciclo de vida normal, já os não essenciais podem ser dispensáveis. Os nutrientes minerais essenciais são classificados ainda quanto às suas concentrações relativas nos tecidos vegetais, sendo os micronutrientes os encontrados em menor concentração e os macronutrientes os encontrados em maior concentração (KUMAR.; KUMAR; MOHAPATRA, 2021). O nitrogênio (N) e o fósforo (P) são macronutrientes minerais essenciais ao desenvolvimento vegetal, cuja disponibilidade é limitante para a produtividade primária de diversos ecossistemas terrestres (ELSER et al., 2007; MATSON et al., 1999; VITOUSEK et al., 2010).

De acordo com Vitousek et al. (2010), a limitação nutricional é verificada quando, após a adição de determinado elemento essencial e biologicamente disponível, há aumento significativo em algum processo biológico ou compartimento ecossistêmico, como a produtividade primária ou a biomassa. Dentre as formas de se avaliar a limitação nutricional sobre o desenvolvimento vegetal, estão as análises da disponibilidade de nutrientes no solo, da alocação de biomassa vegetal para aquisição destes recursos e das concentrações dos elementos no tecidos vegetais (Vitousek et al., 2010).

Frequentemente, os processos biológicos são limitados por múltiplos recursos e diferem em requisitos de acordo com o organismo ou ecossistema em análise (Vitousek et al., 2010). Desta forma, o suprimento conjunto de diferentes recursos pode resultar em interações positivas ou negativas que afetam distintamente espécies ou grupos funcionais de um mesmo ecossistema (ELSER et al., 2007; VITOUSEK et al., 2010). Isto pode ser verificado através dos diferentes ajustes morfológicos e fisiológicos que as plantas são capazes, tais como realocação de massa entre raízes e parte aérea e alteração na eficiência de uso dos recursos, de acordo com a disponibilidade ambiental destes (FIELD et al., 1992).

O N é o nutriente mineral encontrado em maior quantidade nos tecidos vegetais e está amplamente presente na composição de importantes biomoléculas como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos (GALLOWAY et al., 2004). Este elemento compõe quase 80% da atmosfera em sua forma não reativa (N_2), na qual dois átomos

de N encontram-se fortemente ligados por uma tripla ligação covalente, indisponível à maioria dos seres vivos, incluindo as plantas (GALLOWAY et al., 2004). A entrada do N no ciclo biológico das plantas depende da sua fixação em formas reativas de N (NH_3, NH_4, NO, NO_2, HNO_3), o que pode ocorrer por meios naturais ou antrópicos (Figura 1) (BOBBINK et al., 2010).

A fixação biológica natural de N é realizada por organismos procariontes que ocorrem de forma livre na natureza, ou em associação a outros seres vivos (incluindo algumas espécies de plantas), e que possuem a enzima nitrogenase. Através de uma reação catalisada por esta enzima, em condições anaeróbicas e com alto custo energético, estes organismos são capazes de reduzir o N_2 a NH_3 (amônia) (GABY; BUCKLEY, 2011). Espécies de N reativo também são geradas de forma natural na atmosfera devido às altas temperaturas provocadas por relâmpagos, que produzem NO a partir da reação do N com oxigênio. A oxidação do NO produz NO_2 e, posteriormente, HNO_3 que se deposita no solo através da chuva e poeira (GALLOWAY et al., 2004).

Atividades antrópicas poluidoras, como a queima de biomassa e combustíveis fósseis para produção de energia, também contribuem para liberação de NO e NO_2 na atmosfera, que se depositam no solo pelo mesmo processo que o HNO_3 (GALLOWAY et al., 2004). As mais significativas quantidades de N reativo inseridas nos ecossistemas decorrem, entretanto, da fixação antropogênica de N. A partir de 1913, com a descoberta do processo químico de Haber-Bosch, foi possível fixar industrialmente o N atmosférico na forma de NH_3, destinando-o à produção de explosivos e, principalmente, fertilizantes (FOWLER et al., 2013; GALLOWAY et al., 2004; GALLOWAY; COWLING, 2002).

Outra fonte de N reativo no solo é a decomposição de matéria orgânica por microrganismos, como fungos e bactérias, através do processo de amonificação. A amônia resultante deste processo ou da fixação atmosférica, apresenta-se na solução do solo na forma de NH_4^+ (amônio) (GALLOWAY et al., 2004). Esta molécula pode ser diretamente absorvida pelas raízes ou oxidada a NO_2^- e, posteriormente, a NO_3^-, por bactérias nitrificantes dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, respectivamente. Durante o processo de nitrificação, prótons H^+ são liberados, contribuindo para a redução do pH do solo (DIXON; KAHN, 2004). No solo o NO_3^- pode ser perdido para o lençol freático via lixiviação, sofrer o processo de desnitrificação por meio da atuação de bactérias desnitrificantes, regenerando N_2 (GALLOWAY et al., 2004).

O NO_3^- absorvido é reduzido a nitrito (NO_2^-) pela enzima nitrato redutase nas raízes ou translocado para as folhas, onde pode ser reduzido pela mesma enzima. O nitrito formado é, então, reduzido a NH_4^+ pela enzima nitrito redutase no interior de plastídios. O amônio resultante desta reação, ou que fora diretamente absorvido do solo, pode então ser incorporado em aminoácidos pela ação sequencial das enzimas glutamato sintetase e glutamina-2-oxoglutarato aminotransferase (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

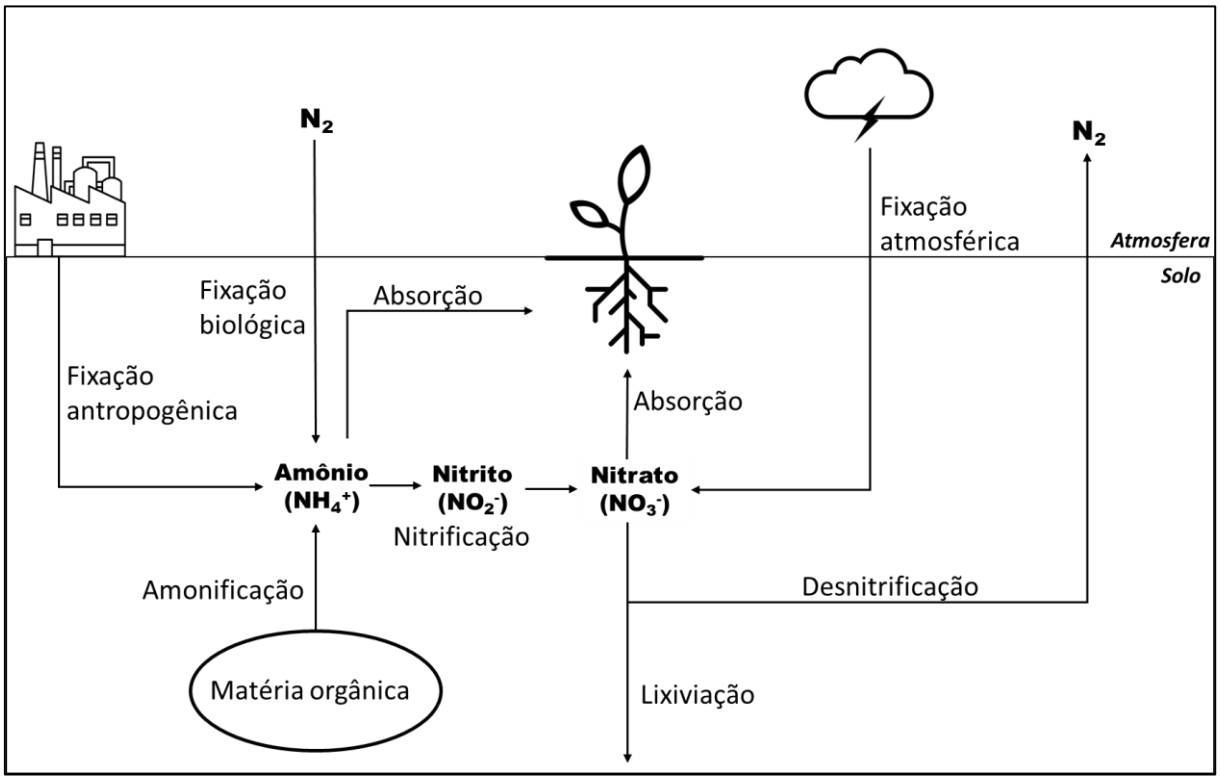

Figura 1. Esquema simplificado do ciclo no N. Fonte: o próprio autor.

O P constitui moléculas importantes para o metabolismo energético, como o ATP e açúcares fosfatados, além dos fosfolipídios presentes na membrana plasmática e dos ácidos nucleicos (SHEN et al., 2011). Diferente do N, sua origem no solo se dá a partir do intemperismo rochoso. Dentre as fontes primárias de P, estão os minerais apatita, strengita e variscita, de baixa reatividade e lenta liberação. Secundariamente, o P se apresenta na formas dos fosfatos ($H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$) de cálcio (Ca), ferro (Fe) e alumínio (Al), cuja solubilização depende diretamente do pH edáfico (SHEN et al., 2011) (Figura 2).

Com o aumento do pH edáfico, a solubilidade dos fosfatos de Fe e Al aumenta, porém a do fosfato de Ca reduz, exceto para valores de pH acima de 8. Dessa forma,

em solos mais ácidos, a solubilidade de P é menor. O fosfato pode estar ainda adsorvido a partículas de argila, óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio e, embora presente, indisponível às plantas (FILIPPELLI, 2002). Isto ocorre porque estas partículas e minerais possuem grande área superficial, fornecendo diversos sítios de adsorção por atração eletrostática. Solos altamente intemperizados possuem maior eletropositividade e, consequentemente, maior adsorção aniônica devido. O mesmo ocorre com a redução do pH do solo, que leva ao predomínio de partículas com cargas superficiais positivas. Nestas condições, o solo atua como dreno de P, competindo com as plantas e microrganimos pelo P (SHEN et al., 2011).

Outro importante compartimento de P no solo refere-se à sua porção orgânica, cuja disponibilização a partir da matéria orgânica depente do processo de mineralização, realizado através da liberação de enzimas fitases e fosfatases pelas raízes ou microrganismos. Estas enzimas atuam hidrolisando principalmente ortofosfatos de monoésteres, ortofosfatos de diésteres e fosfonatos, liberando P inorgânico no meio, que pode ser absorvido pelas raízes (FILIPPELLI, 2002; OELKERS; VALSAMI-JONES, 2008; SHEN et al., 2011).

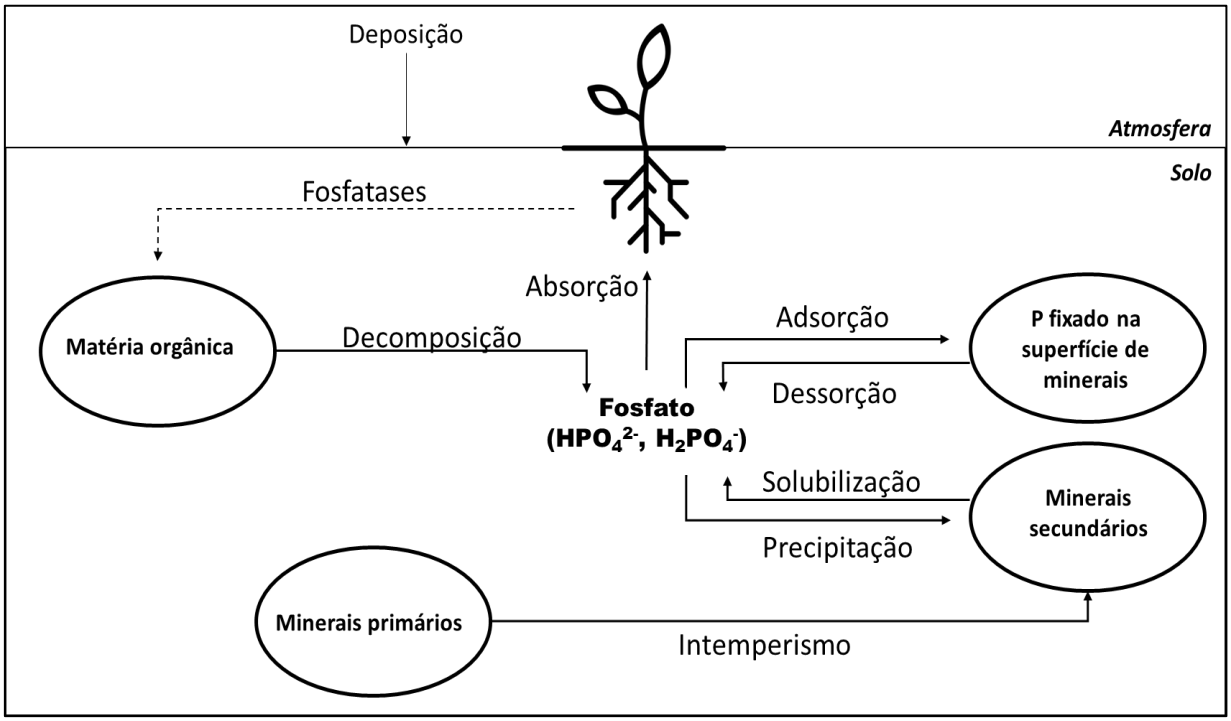

Figura 2. Esquema simplicaficado do ciclo do P. Fonte: o próprio autor.

Ao ser absorvido pelas raízes via transportadores do tipo simporte H^+ de alta afinidade, o fosfato é incorporado a moléculas orgânicas, como açúcares, lipídios e

nucleotídeos. A principal reação de assimilação de fosfato constitui a formação de ATP nas mitocôndrias durante a respiração, e nos cloroplastos durante a fotossíntese (SHEN et al., 2011).

A extenção da área de arbsorção de nutrientes pelas raízes é diretamente dependente do comprimento, volume, ramificação e presença dos pelos radiciais no sistema de raízes, além da associação com microrganismos, como as micorrizas. Cerca de 80% das plantas terrestres realizam associações simbióticas com estes fungos, que maximizam a área de absorção de água e nutrientes (principalemente P) (CARDOSO; NOGUEIRA; ZANGARO, 2017; RONDINA et al., 2019).

De acordo com Rondina et al. (2019), a associação micorrízica é especialmente relevante para espécies características do início da sucessão ecológica, que possuem crescimento acelerado e têm sua alta demanda nutricional suprida, em parte, através desta associação. Em contraste, espécies típicas dos estágios sucessionais mais avançados, que ocupam ambientes mais sombreados e apresentam crescimento mais lento, têm menor dependência da associação com micorrizas, já que nestes estágios a deposição e decomposição de matéria orgânica por microrganismos no solo é maior (RONDINA et al., 2019).

O lento processo de introdução do P via intemperismo rochoso, associado à sua baixa mobilidade no solo e perda gradativa ao longo do tempo através da lixiviação, torna este recurso especialmente indisponível em solos mais antigos, como os de florestas tropicais (ELSER et al., 2007; VITOUSEK et al., 2010). Embora a deposição de P possa ocorrer através do transporte de poeira emitida para atmosfera ou em regiões próximas à áreas agrícolas, de intensa fertilização, ela é menos significativa que a deposição de N (TIPPING et al., 2014; PEÑUELAS et al., 2013). Desta forma, estes ecossistemas tendem a ser especialmente limitados por P, visto que o N é continuinamente introduzido a partir da fixação biológica e da deposição atmosférica natural e antrópica, enquanto o P tende a esgotar-se (ELSER et al., 2007; MATSON et al., 1999; VITOUSEK et al., 2010).

A deposição antropogênica de N potencialmente intensifica a limitação por P, visto que, dentre as consequências do excesso de N, está a acidificação do solo, provocada pelo aumento das taxas de nitrificação (ABER et al., 1993; MATSON et al., 1999; MO et al., 2008). Modelagens teóricas estimaram que a deposição antropogência total de N aumentou de 86,6 Tg N ano^{-1} em 1984 para 93,6 Tg N ano^{-1} em 2016, enquanto a deposição anual de P em todo planeta é estimada em 3,7 Tg P

ano^{-1} (ACKERMAN; MILLET; CHEN, 2019; TIPPING et al., 2014). Além disso, *hotspots* de deposição de N foram identificados no leste asiático, Europa, América do Norte e sul do Brasil (ACKERMAN; MILLET; CHEN, 2019). Projeções futuras indicam um aumento exponencial até 2050, atingindo taxas anuais de deposição de até 270 Tg N (GALLOWAY et al., 2004).

A Mata Atlântica é listada como um dos ecossistemas de grande biodiversidade que deve ser exposta às mais altas taxas de deposição de N, ultrapassando 15 kg N ha^{-} (1500 kg km^{-2}) até 2050 (PHOENIX et al., 2006). Esta intensa introdução antropogênica de N reativo impõe um desbalanço nos ciclos biogeoquímicos naturais que representa um importante risco à biodiversidade (LI et al., 2019; PHOENIX et al., 2006; XIANKAI et al., 2008).

Experimentos de fertilização nutricional em campo comumente verificam um estímulo no crescimento vegetal de apenas algumas espécies, geralmente das dominantes ou de rápido crescimento, ou ainda as que estavam espacial ou temporalmente mais responsivas à aquisição de nutrientes no momento da fertilização (MAMOLOS; VERESOGLOU, 2000). Nesta condição alterada de disponibilidade de nutrientes, as relações competitivas entre as espécies são perturbadas, especialmente nas fases de estabelecimento e desenvolvimento inicial (CÁRATE-TANDALLA; LEUSCHNER; HOMEIER, 2015; HOMEIER et al., 2012; LAWRENCE, 2003; MO et al., 2008). Consequentemente, a composição das comunidades vegetais é modificada, resultando frequentemente em perda de biodiversidade por exclusão competitiva (HOMEIER et al., 2012; ISBELL et al., 2013; LIU, 2011; SIDDIQUE et al., 2010; XIANKAI et al., 2008; ZHANG et al., 2021).

Dois padrões de resposta fisiológicas à fertilização com N e P foram identificados por Lawrence (2001) ao comparar duas espécies tolerantes à sombra e duas intolerantes nativas da floresta tropical da Indonésia. A despeito do esperado, os padrões de resposta observados não foram determinados pelo grau de tolerância à sombra. A adição de N e P promoveu aumento da taxa de crescimento de *Persea rimosa* (tolerante à sombra) e *Macaranga gigantea* (intolerante à sombra), quando conjunta, mas não quando apenas um dos dois nutrientes foi aplicado. Já as outras duas espécies estudadas, *Peronema canescens* e *Melicope glabra*, ambas intolerantes à sombra, responderam acumulando nutrientes ao serem tratadas com N e/ou P, sem apresentar aumento do crescimento. (LAWRENCE, 2001).

Em um trabalho posterior, envolvendo um número maior de espécies, Lawrence

(2003) sintetizou através de uma meta-análise os resultados de quinze estudos avaliando o efeito da adição de nutrientes em espécies tropicais tolerantes e intolerantes à sombra. Neste estudo, a autora verificou que uma maior proporção de espécies intolerantes à sombra (73%) respondem positivamente à adição de nutrientes, aumentando a taxa de crescimento relativo e o acúmulo de biomassa. Entre as espécies tolerantes à sombra, esta proporção foi menor (60%) e a tendência observada foi de acúmulo de nutrientes, especialmente P, com 95% das espécies apresentando acúmulo deste elemento.

Uma série de experimentos instalados na reserva da biosfera de Dinghushan, na China, avaliaram os efeitos da fertilização com N e P sobre a produtividade e a fisiologia de espécies arbóreas de uma floresta tropical madura (HUANG; ZHOU; LIU, 2012; MO et al., 2008; ZHU et al., 2013, 2014). O efeito da deposição do N em doses crescentes durante onze meses foi avaliado por Mo et al. (2008). Neste estudo, os autores verificaram um aumento nas taxas fotossintéticas líquidas de *Schima superba* e *Cryptocarya concinna* em doses de até 10 e 15 g N m^{-2} ano^{-1}, respectivamente. Acima dessas concentrações, o N deixou de estimular a fotossíntese e em doses de 30 g N m^{-2} ano^{-1} reduziu a taxa de sobrevivência de mudas de ambas as espécies. Além disso, nas doses mais altas, a adição de N promoveu a acidificação do solo e reduziu o conteúdo de P foliar (MO et al., 2008).

Considerando avaliações feitas no mesmo ecossistema, foi verificada uma redução na biomassa e na produtividade primária após a adição de N em doses superiores a 10 g N m^{-2} ano^{-1} (HUANG; ZHOU; LIU, 2012). Esta redução foi associada ao aumento da limitação por P induzida pela adição de N, evidenciado pelo aumento da razão das concentrações N/P nos tecidos vegetais (HUANG; ZHOU; LIU, 2012). Güsewell (2004) sugere que proporções N/P <10 e >20 indicam limitação da produção de biomassa por N e P, respectivamente, embora estas razões possam variar de acordo com a espécie.

Experimentos subsequentes avaliaram por períodos mais longos os efeitos da adição de N conjunta ao P. Após cinco anos de adições de N em taxas de 150 kg ha^{-1} ano^{-1}, Zhu et al. (2013) verificaram uma redução significativa na proporção de raízes finas vivas, o que foi associado à acidificação edáfica. Além disso, a adição de N aumentou a atividade da enzima fosfatase no solo, mas não a quantidade de P disponível, sugerindo um aumento da demanda por P induzida por N. Resultados similares foram obtidos por outros autores (OLANDER; VITOUSEK, 2000;

TRESEDER; VITOUSEK, 2001). Já a adição de P nas mesmas taxas estimulou o desenvolvimento das raízes finas, aumentou as concentrações de P nas raízes e no solo, e reduziu a atividade da enzima fosfatase (ZHU et al., 2013).

Outros trabalhos no mesmo local avaliaram as respostas fotossintéticas e dos nutrientes foliares à adição de N e de P de duas espécies dominantes tolerantes à sombra (*Randia canthioides* e *C. concinna*) (ZHU et al., 2014). Três anos de adição de N promoveram acúmulo de N e P nas folhas da primeira espécie, e redução do conteúdo de P na segunda espécie, entretanto nenhum parâmetro fotossintético foi alterado em ambas as espécies. Em oposição, a adição de P estimulou a fotossíntese das duas espécies, demonstrando como a disponibilidade de P pode ser limitante para o desenvolvimento de espécies arbóreas em florestas tropicais (ZHU et al. 2014).

Em experimentos similares avaliados as espécies mais comuns nas florestas tropicais montanhosas do Equador, as adições isolada e conjunta de N e P aceleraram o crescimento de *Hieronyma fendleri, Alchornea lojaensis* e *Pouteria torta* (CÁRATE-TANDALLA; LEUSCHNER; HOMEIER, 2015). Já *Graffenrieda emarginata* e *Myrcia* sp. reduziram seu crescimento quando tratadas com N ou P (HOMEIER et al., 2012). Homeier et al. (2012) sugerem que as respostas à adição de N ou P são espécie-específicas e que ao suspender a limitação por estes nutrientes, a competição por outros recursos, como a luz, é intensificada.

Além das diferentes respostas encontradas de acordo com a maior disponibilidade de nutrientes como o P e o N, estudos envolvendo espécies da Mata Atlântica verificaram que espécies que ocorrem em estágios sucessionais distintos podem apresentar preferência por fontes de N específicas, relacionadas à mudança nas características do solo ao longo da sucessão ecológica. Espécies pioneiras por exemplo, apresentam melhor desenvolvimento quando cultivas com nitrato, em comparação ao cultivo com amônio (OLIVEIRA et al., 2017; DEBIASI et al., 2019; DA SILVA et al., 2021).

Bardy (2020) verificou que espécies arbóreas na Mata Atlântica tolerantes e intolerantes à sombra apresentam distintos padrões de resposta à elevada disponibilidade de N. A autora observou que espécies intolerantes à sombra, como *Croton floribundus*, tiveram o crescimento estimulado pela adição de N, enquanto espécies tolerantes à sombra, como *Aspidosperma polyneuron,* apresentaram acúmulo de NO_3^-, proteínas e N total. Estas respostas, entretanto, variaram quando outros nutrientes foram adicionados em conjunto ao N (solução de Hoagland contendo

todos os macro e micronutrientes), demonstrando a necessidade de se investigar os efeitos da aplicação associada de N e o outros nutrientes específicos, especialmente o P.

Investigar como a disponibilidade de N e P no solo afeta a fisiologia de espécies arbóreas da Mata Atlântica com características ecológicas distintas é importante para compreender como as alterações na disponibilidade de recursos minerais pode afetar a composição e a diversidade destas florestas. Além disso, identificar possíveis biomarcadores que indiquem estas alterações permitirá monitorar estes ecossistemas, contribuindo com a sua conservação.

Este estudo tem como objetivo verificar como mudas de espécies arbóreas da Mata Atlântica tolerantes e intolerantes à sombra cultivadas em solo florestal respondem, a curto prazo, à adição elevada de N e P no solo. Além disso, espera-se identificar biomarcadores que possibilitem monitorar as respostas destas espécies ao aumento da disponibilidade de N e/ou P no solo. As hipóteses levantadas são de que (i) as respostas das espécies à adição de N e P serão relacionadas ao grau de tolerância à sombra de cada espécie, (ii) as espécies responderão de forma distinta à aplicação isolada e associada dos nutrientes e (iii) a adição de N reduzirá o pH e a disponibilidade de P no solo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

Foram avaliadas cincos espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica que ocorrem na Floresta Estacional Semidecidual (FES), e que são empregadas em programas de reflorestamento e possuem características ecológicas contrastantes, de acordo com a classificação de Das Chagas e Silva & Soares-Silva (2000).

Cecropia pachystachya Trécul (*Cp*) é uma espécie perenifólia, heliófita, pioneira, pertencente à família Urticaceae, de ampla distribuição no Brasil (GAGLIOTI; AGUIAR, 2022; OLIVEIRA; OLIVEIRA; LORENZI, 2015). Conhecida popularmente como “Embaúba-do-brejo”, apresenta rápido crescimento e pode atingir até 25 metros de altura e diâmetro à altura do peito (DAP) de 45 cm (Carvalho, 2003; OLIVEIRA; LORENZI, 2015). Ocorre frequentemente em matas ciliares, bordas de florestas e clareiras (BATISTA et al., 2008; DAS CHAGAS E SILVA; SOARES-SILVA, 2000).

Heliocarpus popayanensis Kunth. (*Hp*), conhecida popularmente como “Jangadeiro”, é uma espécie de Malvaceae que ocorre desde o México até a Argentina. No Brasil, está presente nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica. É considerada uma espécie semidecídua, heliófita, pioneira (CARVALHO, 2003; FERNANDES-JÚNIOR, 2022; OLIVEIRA; OLIVEIRA; LORENZI, 2015). Quando adulta, pode atingir até 20 metros de altura e DAP de 70 cm (CARVALHO, 2003).

Croton floribundus Spreng. (*Cf*) é uma espécie de Euphorbiaceae heliófita, decídua ou semidecídua classificada como pioneira (CARVALHO, 2003; CARUZO et al., 2022; OLIVEIRA; OLIVEIRA; LORENZI, 2015. Chamada vulgarmente por “Capixingui”, esta espécie arbórea apresenta até 10 metros de altura e DAP de 15 a 30 cm. Ocorre em Matas Ciliares, na Floresta Estacional Semidecidual e na Floresta Ombrófila (CARVALHO, 2003; CARUZO et al., 2022; OLIVEIRA; OLIVEIRA; LORENZI, 2015). Tradicionalmente, é conhecida por suas propriedades medicinais no tratamento de doenças como sífilis e hemorroida (QUEIROZ et al., 2020).

Cariniana estrellensis (Raddi) Kuntze (*Ce*), conhecida popularmente como “Jequitibá-branco”, é uma espécie de Lecythidaceae, secundária tardia e emergente

(CATENACCI et al., 2022; CARUZO et al.,2022; DAS CHAGAS E SILVA; SOARES-SILVA, 2000). É uma planta semidecídua, característica de florestas clímax (OLIVEIRA; OLIVEIRA; LORENZI, 2015). No Brasil, ocorre descontinuamente na Amazônia e na Mata Atlântica, sendo também registrada no Paraguai, Bolívia e Peru (CATENACCI et al., 2022). Apresenta altura média de 15 a 35 metros e DAP entre 50 e 80 cm, embora possa atingir até 50 metros e 215 cm de DAP quando adulta (CARVALHO, 2003).

Aspidosperma polyneuron Muell. Arg. (*Ap*), conhecida popularmente como “Peroba-rosa”, pertence à família Apocynaceae. Trata-se de uma espécie secundária tardia emergente, perenifólia, e que atinge até 50 metros de altura e DAP de 390 cm quando adulta (CARVALHO, 2003). Ocorre na Floresta Estacional semidecidual, desde a Bahia até o Paraná, além dos estados Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Goiás (CASTELLO et al., 2022). Intensamente explorada por conta do valor econômico de sua madeira, está inclusa como espécie ameaçada de extinção na IUCN (WALTER; GILLET, 1997).

2.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO

As sementes de todas as espécies foram obtidas de viveiros comerciais, exceto as de *C. floribundus*, que foram coletadas em um fragmento florestal próximo à Universidade Estadual de Londrina. As sementes foram germinadas em bandejas plásticas contendo areia esterilizada. Após a germinação, plântulas com pelo menos o primeiro par de folhas completamente expandido foram transferidas para sacos plásticos individuais (6,5cm de diâmetro e 17,5 cm de altura) contendo solo de remanescente da FES (Tabela 1) coletado no Parque Estadual Mata dos Godoy (23°26’26”S, 51°15’16”W), em Londrina, PR. Este solo é classificado como Ferralsol Rhódico, composto por 80% de argila, originada de rocha basáltica (FAO; UNESCO, 1971).

Para um maior controle e homogeneidade das condições de cultivo, todo experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual de Londrina (23°19’30”S, 51°11’52”W). As espécies *A*. *polyneuron*, *C*. *estrellensis*, *C*. *floribundus* foram submetidas aos tratamentos entre abril e junho de 2022, enquanto

H. *popayanensis* entre maio e julho, e *C*. *pachystachya* entre junho e agosto do mesmo ano. As plantas foram mantidas sob sombrite, simulando subosque florestal (luminosidade de aproximadamente 200 µmol de fótons m^{-2} s^{-1}, medida às 10 horas da manhã de um dia ensolarado). Sempre que necessário, as plantas foram irrigadas com água, evitando estresse hídrico.

2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O aumento da disponibilidade de N e/ou P para as mudas das espécies estudas foi obtido através de nove aplicações semanais de 50mL de $(NH_4)_2SO_4$ ([N] = 4mM) e/ou NaH_2PO_4 ([P] = 1mM) (equivalentes à deposição anual total de 448 kg N ha^{-1} e 240 kg P ha^{-1}, considerando o volume dos sacos plásticos e o tempo de experimento). A intensidade da aplicação dos nutrientes foi determinada considerando estudos anteriores do grupo de pesquisa (BARDY, 2020; OLIVEIRA et al., 2017) e experimentos semelhantes disponíveis na literatura (CÁRATE-TANDALLA; LEUSCHNER; HOMEIER, 2015; HOMEIER et al., 2012; LAWRENCE, 2001; MAO et al., 2018; ZHU et al., 2014). Parte das plantas foi mantida como grupo controle sem receber nenhuma adição de nutrientes, enquanto parte recebeu apenas N ou P (tratamentos N e P, respectivamente). Um último grupo foi fertilizado com ambos os nutrientes (tratamento N+P), neste caso, as aplicações de N e P ocorreram em dias diferentes, evitando encharcamento do solo.

2.4 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS

Um analisador de gases por infravermelho (IRGA) modelo *LI-COR 6400XT* (LI-COR Biosciences, EUA) foi utilizado para determinar a taxa fotossintética líquida (*A*) (µmol m^{-2} s^{-1}), a condutância estomática (g_s) (mol m^{-2} s^{-1}), a taxa de transpiração (*E*) (mmol m^{-2} s^{-1}) e a concentração intercelular (C_i) de CO_2 (µmol mol^{-1}). Foi calculada a eficiência instantânea de carboxilação ($k=A/C_i$). As análises foram realizadas entre 8h e 10h da manhã em dias ensolarados utilizando-se a folha completamente expandida

mais jovem conectada à uma câmara de 6 cm², sob radiação fotossinteticamente ativa (PAR) saturante (1500 µmol m^{-2} s^{-1}) e fluxo de 400 mL min^{-1} sob disponibilidade de CO_2 ambiental (C_a).

2.5 BIOMETRIA

Plantas foram desensacadas e separadas em raiz, caule e folhas para obtenção das medidas de massa fresca (g) e área foliar total (AF) (cm²), através de uma balança analítica de precisão e um integrador de área foliar LI-3000C (LI-COR Biosciences, Estados Unidos), respectivamente. As amostras frescas de raiz, caule e folha, acondicionadas em sacos de papel individuais, foram mantidas em estufa a 60 ºC até atingirem massa constante para pesagem das respectivas massas secas (MSR, MSC, MSF). Este procedimento foi realizado antes do início (i) e ao final dos tratamentos (f). Foram calculados os valores de massas seca da parte aérea ($MSPA = MSC + MSF$) (g), massa seca total ($MST = MSPA + MSR$) (g) e a razão de massa seca entre a raiz e a parte aérea ($MSR/MSPA$) (g g^{-1}). Através dos valores iniciais e finais de massa seca total (MSTi e MSTf) e área foliar total (AFi e AFf) foi calculada a taxa assimilatória líquida ($TAL = \frac{(MSTf - MSTi)\ x\ (lnAFf - lnAFi)}{(AFf - AFi)\ x\ t}$) (mg cm^{-2} dia^{-1}) e a taxa de crescimento relativo (TCR= $\frac{\mathrm{lnMSTf} - \mathrm{lnMSTi}}{t} x1000$) (mg g^{-1} dia^{-1}), em que t representa o tempo total do experimento (63 dias).

2.6 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES FOLIARES DE N E P

O conteúdo de N total nas folhas (N) (mg g^{-1}) foi determinado através da digestão de amostras de até 200 mg de tecido vegetal seco em ácido sulfúrico (H_2SO_4), com progressivo aumento de temperatura até 350ºC. Após o resfriamento dos extratos, as amostras foram destiladas em hidróxido de sódio (NaOH) e colhidas em um recipiente contendo uma solução indicadora com ácido bórico (H_3BO_3). A concentração final da amostra foi determinada espectrofotometricamente a 697 nm

(KJEDAHL, 1883).

O conteúdo de P total nas folhas (P) (mg g^{-1}) foi dosado a partir da digestão nitroperclórica de amostras de até 500 mg de material vegetal seco, com progressivo aumento de temperatura até 210ºC. O extrato obtido foi diluído com água deionizada para posterior reação com molibdato (solução STM) e ácido ascórbico por 30 minutos. Por fim, a concentração de P das amostras foi determinada espectrofotometricamente a 660 nm (QUINLAN; DESESA, 1955).

2.7 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

Análises químicas do solo foram realizadas pelo Instituto de Tecnologia e Laboratórios (ITL – Londrina/PR) antes do início (solo pré-tratamento) e ao final dos experimentos. O pH foi determinado através do método SMP, o conteúdo de N através do método de Kjeldahl (KJEDAHL, 1883), P e K através da extração MEHLICH-1 (MEHLICH, 1973), Ca e Mg através da extração em KCl 1 mol L^{-1}.

2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O experimento foi montado sob delineamento inteiramente casualisado. Foram utilizadas quatro repetições para determinação das MST_i, nove repetições biológicas para as análises biométricas e de trocas gasosas (exceto *Hp*, n=7) e quatro repetições para determinação das concentrações foliares de N e P. Para determinação química do solo foram utilizadas duas amostras compostas, obtidas a partir da homogeneização de dez subamostras.

Comparações de médias foram realizadas para todos os parâmetros através da ANOVA de um fator, exceto para as análises de solo, que foram comparadas através do teste t de Student. Os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram avaliados pelos testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, e, quando não atendidos, os dados foram transformados via Box-Cox. No caso de diferença significativa no teste de ANOVA, as médias foram

comparadas através do teste de Fisher.

Além disso, foram realizadas análises de componentes principais (A*CP*) e *heatmap* para identificar padrões de agrupamento entre as espécies. Todas as análises foram realizadas através do software R Studio 4.1.3, em nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS

3.1 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

A análise química do solo, realizada ao fim dos tratamentos, revelou que nenhum dos tratamentos, adição de N, P ou de ambos, alterou o pH, as concentrações de N, K, Ca, Mg, matéria orgânica, a CTC e a saturação de bases no solo. O único parâmetro alterado em relação ao solo pré-tratamento foi a concentração de P no solo, que aumentou em todos os tratamentos para todas as espécies, inclusive nos grupos controle (exceto para grupo controle de *A. polyneuron*) (Tabela 1).

3.2 Determinação das concentrações foliares de N e P

Nenhuma das espécies estudadas apresentou alteração nas concentrações foliares de N com os tratamentos avaliados em relação ao controle. *C. floribundus* e *C. estrellensis* também não tiveram as concentrações foliares de P alteradas por nenhum dos tratamentos (Figura 3).

Já para *C. pachystachya*, o cultivo com adição de N reduziu a concentração foliar de P em 14%. Quando cultivada com P ou N+P, os níveis deste nutriente nas folhas aumentaram em 60% e 131%, respectivamente. Mudas de *H. popayanensis* e *A. polyneuron* também acumularam P nas folhas com os tratamentos P (*Hp*: 76% e *Ap*: 134%) e N+P (*Hp*: 74% e *Ap*: 58%) (Figura 3).

Tabela 1 – Análise química do solo, realizada antes e após o cultivo de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Asteriscos indicam diferença estatística em relação ao solo pré-tratamento após teste t de Student em nível de significância de 5%.

Parâmetro	Espécie	Solo pré-tratamento	Tratamento			
			Controle	N	P	N+P
pH	*Cp*	4,85 ± 0,07	5,05 ± 0,01	4,96 ± 0,01	4,94 ± 0,18	5,03 ± 0,01
	Hp		4,64 ± 0,19	4,67 ± 0,22	5,02 ± 0,01	5,04 ± 0,10
	Cf		4,92 ± 0,16	4,83 ± 0,05	4,98 ± 0,02	5,01 ± 0,02
	Ce		5,06 ± 0,06	4,76 ± 0,01	4,99 ± 0,07	4,74 ± 0,02
	Ap		5,06 ± 0,01	4,91 ± 0,12	4,99 ± 0,01	4,99 ± 0,16
N (g/dm³)	*Cp*	2,10 ± 0,31	2,10 ± 0,02	2,08 ± 0,09	2,06 ± 0,00	2,18 ± 0,02
	Hp		2,12 ± 0,12	2,13 ± 0,05	2,17 ± 0,03	2,42 ± 0,09
	Cf		2,12 ± 0,19	2,28 ± 0,13	2,10 ± 0,06	2,00 ± 0,03
	Ce		2,02 ± 0,21	1,83 ± 0,03	1,72 ± 0,06	1,84 ± 0,18
	Ap		2,11 ± 0,14	2,06 ± 0,01	2,13 ± 0,01	2,10 ± 0,01
P (mg/dm³)	*Cp*	2,30 ± 0,14	4,68 ± 0,14*	3,88 ± 0,01*	6,72 ± 0,19*	5,96 ± 0,78*
	Hp		4,3 ± 0,49*	4,23 ± 0,19*	6,20 ± 0,24*	5,23 ± 0,04*
	Cf		4,05 ± 0,14*	3,74 ± 0,01*	6,90 ± 0,93*	6,79 ± 0,19*
	Ce		3,19 ± 0,09*	3,71 ± 0,34*	6,17 ± 0,58*	6,31 ± 0,39*
	Ap		2,98 ± 0,49	2,84 ± 0,01*	4,92 ± 0,29*	5,23 ± 0,04*
K (cmol/dm³)	*Cp*	0,22 ± 0,08	0,14 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,20 ± 0,00	0,20 ± 0,01
	Hp		0,21 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,26 ± 0,01
	Cf		0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,01
	Ce		0,14 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,02
	Ap		0,21 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,19 ± 0,01
Ca (cmol/dm³)	*Cp*	5,90 ± 1,56	5,02 ± 0,28	4,91 ± 0,15	4,87 ± 0,86	5,52 ± 0,02
	Hp		5,22 ± 1,51	5,09 ± 0,95	6,05 ± 0,45	6,00 ± 0,30
	Cf		6,23 ± 0,15	5,66 ± 0,22	5,29 ± 0,02	5,99 ± 0,77
	Ce		6,21 ± 0,84	5,86 ± 0,37	5,74 ± 0,39	5,46 ± 0,12
	Ap		7,10 ± 0,30	6,70 ± 0,01	6,36 ± 0,37	6,56 ± 0,23
Mg (cmol/dm³)	*Cp*	1,87 ± 0,46	1,80 ± 0,08	1,73 ± 0,05	1,67 ± 0,41	1,91 ± 0,09
	Hp		1,48 ± 0,50	1,63 ± 0,41	2,04 ± 0,19	1,98 ± 0,18
	Cf		2,13 ± 0,17	1,93 ± 0,01	1,91 ± 0,12	2,20 ± 0,25
	Ce		2,40 ± 0,43	2,08 ± 0,16	2,24 ± 0,13	2,05 ± 0,05
	Ap		2,51 ± 0,01	2,40 ± 0,20	2,21 ± 0,14	2,40 ± 0,25
Matéria orgânica (g/dm³)	*Cp*	36,09 ± 6,08	42,02 ± 0,45	41,59 ± 1,95	41,38 ± 0,15	43,72 ± 0,45
	Hp		42,44 ± 2,55	42,66 ± 1,05	43,40 ± 0,60	48,40 ± 1,95
	Cf		42,55 ± 3,91	45,74 ± 2,70	42,12 ± 1,20	40,00 ± 0,60
	Ce		40,42 ± 4,21	36,70 ± 0,75	34,46 ± 1,20	36,80 ± 3,61
	Ap		42,23 ± 2,85	41,27 ± 0,01	42,76 ± 0,30	42,12 ± 0,30

CTC	*Cp*	13,22 ± 2,05	13,62 ± 0,59	13,19 ± 0,34	13,33 ± 0,36	14,23 ± 0,05
	Hp		14,60 ± 1,37	14,56 ± 0,48	14,68 ± 0,78	15,00 ± 0,13
	Cf		15,14 ± 0,01	14,51 ± 0,36	13,12 ± 0,30	14,76 ± 0,94
	Ce		14,63 ± 1,22	14,74 ± 0,60	13,73 ± 0,26	14,41 ± 0,37
	Ap		15,71 ± 0,17	15,13 ± 0,15	14,75 ± 0,26	15,05 ± 0,36
Saturação de bases (V%)	*Cp*	60,00 ± 6,64	51,32 ± 4,93	51,75 ± 0,48	50,61 ± 8,22	53,72 ± 0,68
	Hp		46,97 ± 9,48	47,84 ± 7,85	57,09 ± 1,38	55,03 ± 2,81
	Cf		55,99 ± 2,17	53,16 ± 2,84	55,71 ± 0,17	56,29 ± 3,25
	Ce		59,67 ± 3,80	54,62 ± 1,37	58,91 ± 2,77	52,87 ± 0,30
	Ap		62,58 ± 1,22	61,57 ± 2,29	58,90 ± 2,49	60,96 ± 4,70

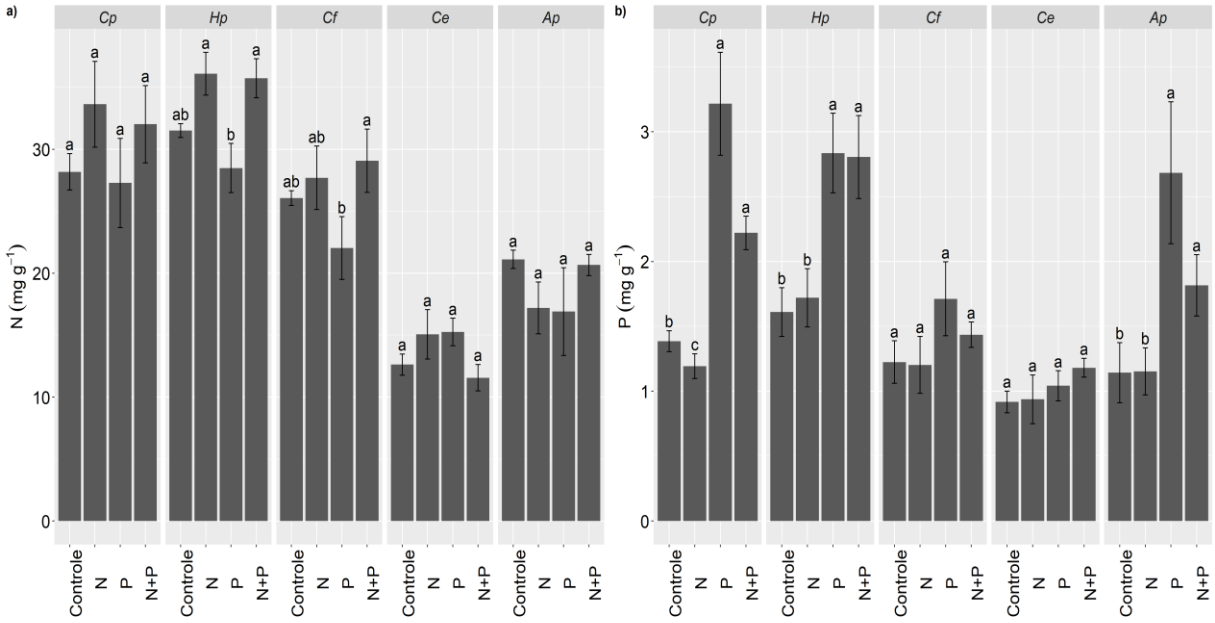

Figura 3 – Concentração de N e P nas folhas de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5%.

3.3 BIOMETRIA

A fertilização com N ou P resultou em poucas alterações biométricas nas espécies intolerantes à sombra *C. pachystachya* e *H. popayanensis*. Foi observado apenas um aumento da razão MSR/MSPA com o tratamento N na primeira espécie, e um aumento da massa seca das raízes com o tratamento P, na segunda. Entretanto,

quando ambos os nutrientes foram fornecidos, as duas espécies apresentaram aumento da área foliar, das massas secas das raízes, parte aérea e total (*Cp*: 153%; *Hp*: 115%), e das taxas de crescimento relativo (*Cp*: 68%; *Hp*: 131%) e assimilação líquida (*Cp*: 39%; *Hp*: 86%) (Tabela 2 e Figura 4).

De modo similar às demais espécies intolerantes à sombra, mudas de *C. floribundus* tratadas com N não tiveram nenhum parâmetro biométrico alterado. Nesta espécie, entretanto, a aplicação de P estimulou o desenvolvimento das raízes e da parte aérea, resultando em aumento nas massas secas das raízes, parte aérea (46%) e total (36%), da razão MSR/MSPA e das taxas de crescimento relativo (93%) e assimilação líquida (120%). Quando N e P foram aplicados, apenas a massa seca da parte aérea (42%) e a área foliar aumentaram (52%) (Tabela 2 e Figura 4).

Na espécie tolerante à sombra *C. estrellensis*, tanto a adição de N, quanto a adição de P foram prejudiciais ao desenvolvimento vegetal, reduzindo a massa seca total (N: 19%; P: 29%) e a taxa de crescimento relativo (N: 22%; P: 35%). Além disso, a adição de N reduziu a taxa de assimilação líquida em 21% e a adição de P reduziu a área foliar em 53%. Quando tratada com ambos os nutrientes, entretanto, *C. estrellensis* apresentou respostas similares à das espécies intolerantes à sombra *C.* pachystachya e *H. popayanensis.* Sendo verificado aumento das massas secas da parte aérea (45%) e total (21%), e das taxas de crescimento relativo (19%) e assimilação líquida (31%) (Tabela 2 e Figura 4).

Na segunda espécie tolerante à sombra, *A. polyneuron*, todos os tratamentos promoveram aumento das massas secas da parte aérea e total (N: 67%, P: 48% e N+P: 22%), da área foliar e das taxas de crescimento relativo (N: 293%, P: 205% e N+P: 107%) e assimilação líquida (N: 218%, P: 319% e N+P: 83%), sendo os aumentos mais expressivos observados nos tratamentos que receberam apenas um dos nutrientes, em relação ao tratamento com ambos. Além disso, foi verificado um efeito positivo do N sobre a massa seca das raízes, que aumentou com os tratamentos N e N+P (Tabela 2 e Figura 4).

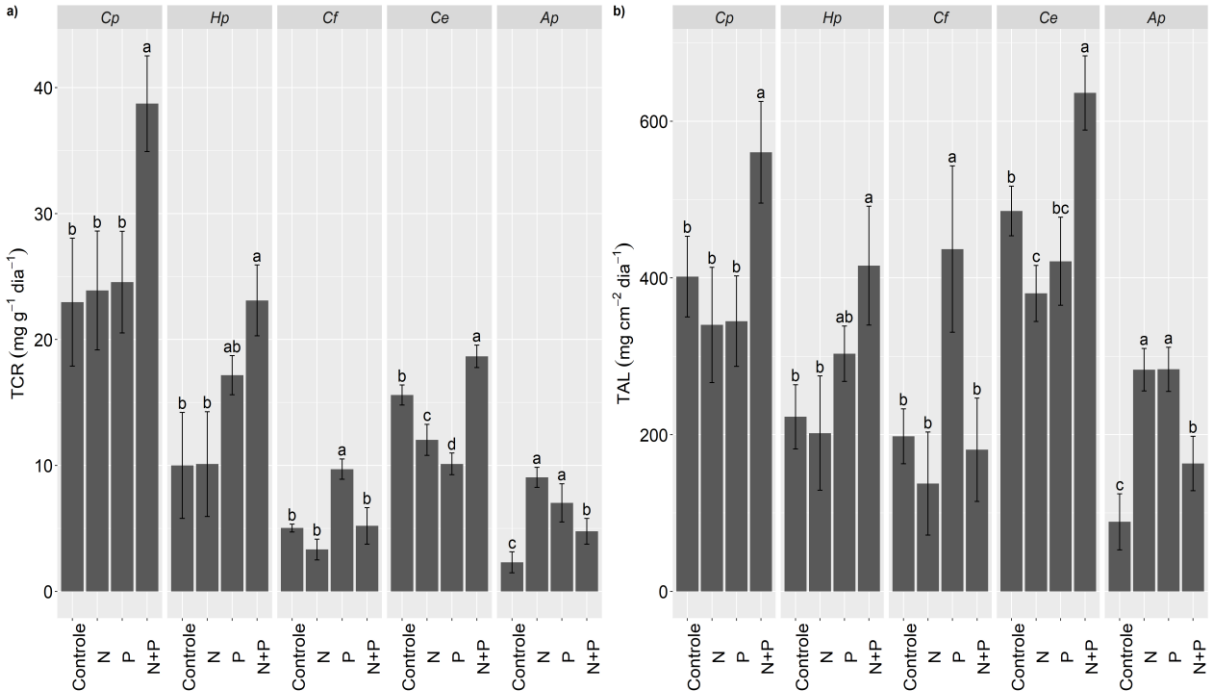

Figura 4 – Taxas de crescimento relativo e de assimilação líquida de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas aos tratamentos Controle, N, P e N+P. Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5%.

3.4 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS

Mudas de *C. pachystachya* apresentaram redução na fotossíntese líquida e na eficiência instantânea de carboxilação quando submetidas aos tratamentos N (*A*: 18% e *k*: 12%) e P (*A*: 29% e *k*: 25%). Além disso, a adição de P reduziu a condutância estomática. Já quando tratadas com os dois nutrientes, verificou-se aumento na condutância estomática, resultando em maior transpiração (Figura 5).

C. floribundus manteve a taxa fotossintética líquida e a eficiência instantânea de carboxilação constantes em todos os tratamentos. A condutância estomática reduziu com os tratamentos N e P, enquanto a transpiração reduziu em todos os tratamentos (Figura 5).

Mudas de *A. polyneuron* apresentaram decréscimo na taxa fotossintética líquida e na transpiração de 33% e 30%, respectivamente, quando cultivadas com N. Quando tratadas com P, entretanto, estes parâmetros aumentaram (*A*: 27% e *E*: 33%)

e a eficiência instantânea de carboxilação reduziu (28%). Com a adição de ambos os nutrientes, a taxa fotossintética e a eficiência instantânea de carboxilação aumentaram em 20% e 42%, respectivamente, e a transpiração reduziu em 28% (Figura 5).

As espécies *H. popayanensis* e *C. estrellensis* não apresentaram nenhuma alteração em suas trocas gasosas, exceto pela condutância estomática, que aumentou em 20% na segunda espécie com adição de N (Figura 5).

Tabela 2 – Parâmetros biométricos de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5%.

Variável	Espécie	Tratamento			
		Controle	N	P	N+P
MSR (g)	*Cp*	0,04 ± 0,02 b	0,05 ± 0,04 b	0,06 ± 0,02 ab	0,10 ± 0,05 a
	Hp	0,02 ± 0,02 c	0,04 ± 0,02 bc	0,10 ± 0,06 ab	0,10 ± 0,08 a
	Cf	0,09 ± 0,01 b	0,08 ± 0,01 b	0,13 ± 0,03 a	0,07 ± 0,02 b
	Ce	0,15 ± 0,01 a	0,16 ± 0,02 a	0,14 ± 0,01 a	0,12 ± 0,02 b
	Ap	0,05 ± 0,01 b	0,09 ± 0,02 a	0,06 ± 0,01 b	0,09 ± 0,01 a
MSPA (g)	*Cp*	0,27 ± 0,13 b	0,29 ± 0,20 b	0,28 ± 0,12 b	0,68 ± 0,27 a
	Hp	0,56 ± 0,23 b	0,57 ± 0,31 b	0,75 ± 0,13 b	1,18 ± 0,29 a
	Cf	0,12 ± 0,03 b	0,13 ± 0,02 b	0,18 ± 0,02 a	0,18 ± 0,04 a
	Ce	0,44 ± 0,05 b	0,43 ± 0,06 b	0,42 ± 0,06 b	0,65 ± 0,06 a
	Ap	0,15 ± 0,02 c	0,29 ± 0,03 a	0,31 ± 0,04 a	0,21 ± 0,03 b
MSR/MSPA	*Cp*	0,15 ± 0,03 c	0,22 ± 0,05 a	0,17 ± 0,02 bc	0,18 ± 0,03 b
	Hp	0,05 ± 0,04 a	0,07 ± 0,04 a	0,13 ± 0,08 a	0,08 ± 0,05 a
	Cf	0,51 ± 0,13 b	0,59 ± 0,10 b	0,84 ± 0,12 a	0,56 ± 0,07 b
	Ce	0,28 ± 0,02 a	0,28 ± 0,03 a	0,35 ± 0,07 a	0,26 ± 0,04 b
	Ap	0,28 ± 0,06 ab	0,29 ± 0,04 ab	0,25 ± 0,02 b	0,32 ± 0,04 a
MST (g)	*Cp*	0,32 ± 0,16 b	0,34 ± 0,24 b	0,33 ± 0,14 b	0,81 ± 0,33 a
	Hp	0,59 ± 0,24 b	0,61 ± 0,32 b	0,86 ± 0,16 b	1,28 ± 0,36 a
	Cf	0,25 ± 0,04 b	0,21 ± 0,04 b	0,34 ± 0,06 a	0,22 ± 0,07 b
	Ce	0,70 ± 0,07 b	0,56 ± 0,08 c	0,49 ± 0,05 c	0,85 ± 0,09 a
	Ap	0,22 ± 0,04 c	0,38 ± 0,03 a	0,33 ± 0,06 a	0,27 ± 0,05 b
AF (cm^2)	*Cp*	151,38 ± 51,02 b	126,73 ± 76,52 b	125,97 ± 50,16 b	273,26 ± 97,50 a
	Hp	175,46 ± 62,97 b	203,35 ± 60,21 b	240,95 ± 29,58 b	366,61 ± 103,07 a
	Cf	32,28 ± 10,57 b	21,45 ± 6,66 b	32,07 ± 16,01 b	49,18 ± 16,76 a
	Ce	84,67 ± 15,29 a	73,17 ± 22,57 a	39,24 ± 24,71 b	68,34 ± 13,74 a
	Ap	29,06 ± 4,88 d	54,66 ± 7,35 b	73,77 ± 7,95 a	38,50 ± 7,68 c

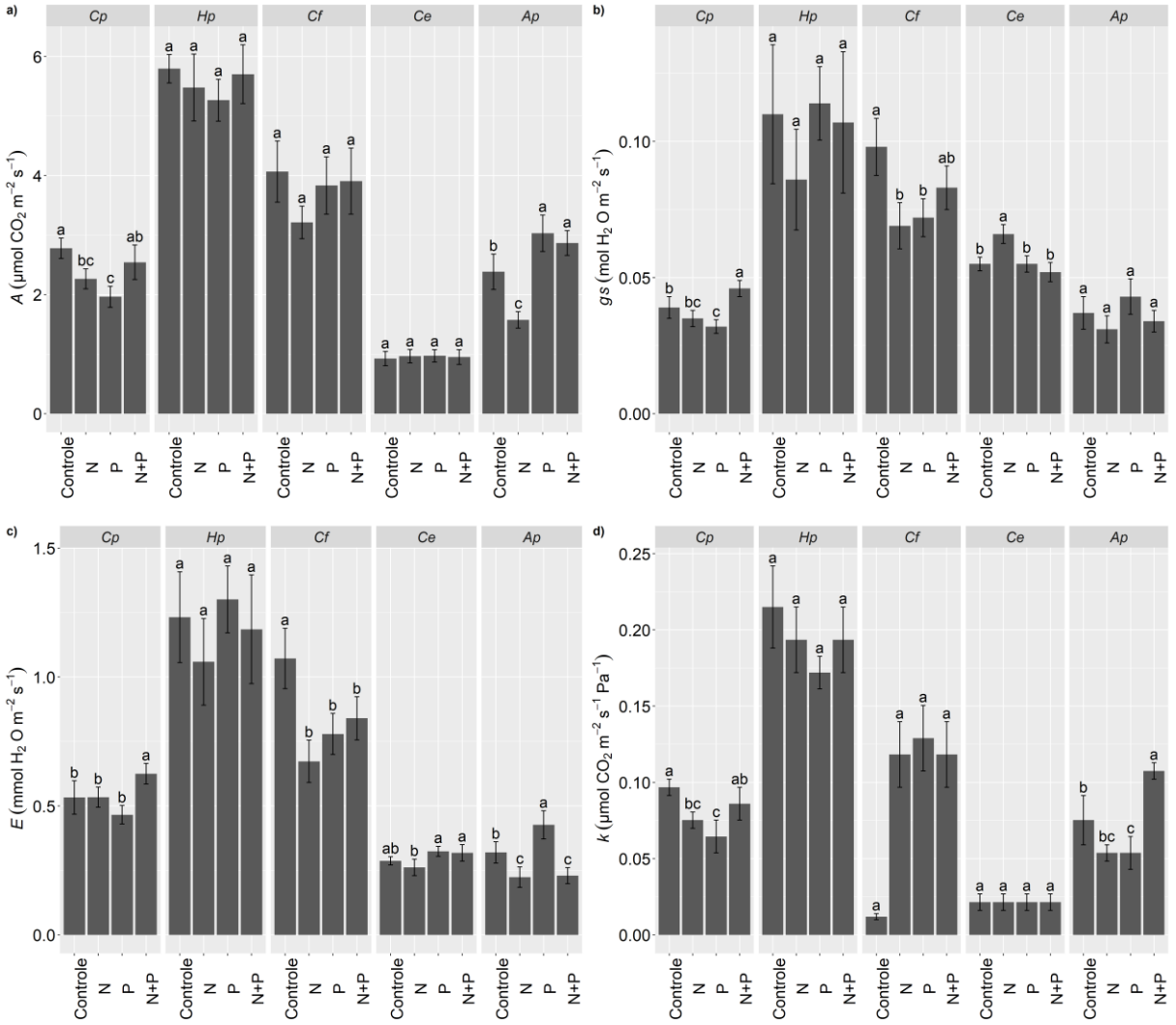

Figura 5 – Análise de trocas gasosas de mudas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Os resultados estão apresentados em valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa após análise de variância e teste de Fisher em nível de significância de 5%.

3.5 ANÁLISES MULTIVARIADAS

Os dois primeiros componentes da ACP (Figura 6) explicam juntos 72,5% da variação dos dados (CP1:45,43% e CP2: 27,07%). Todos os parâmetros se concentraram na parte positiva do primeiro eixo, com exceção da MSR e da MSR/MSPA que ficaram na parte negativa, e da TAL que ficou no centro. Ademais, verifica-se uma concentração dos parâmetros biométricos e da concentração de P nas folhas na parte

superior do segundo componente, e dos parâmetros de trocas gasosas e da concentração foliar de N na parte inferior.

A espécie H. popayanensis, juntamente com o tratamento N+P de *C. pachystachya*, foram grupos mais responsivos à maioria dos parâmetros. Os demais tratamentos de *C. pachystachya* se concentram ao centro do gráfico, demonstrando pouca responsividade aos parâmetros analisados.

As espécies *C. floribundus* e *A. polyneuron* aparecem agrupadas no quadrante inferior esquerdo, indicando que estas espécies apresentaram respostas semelhantes aos tratamentos, negativamente relacionadas à maioria dos parâmetros biométricos. A espécie *C. estrellensis* aparece no quadrante superior esquerdo, positivamente relacionada à MSR e a TAL.

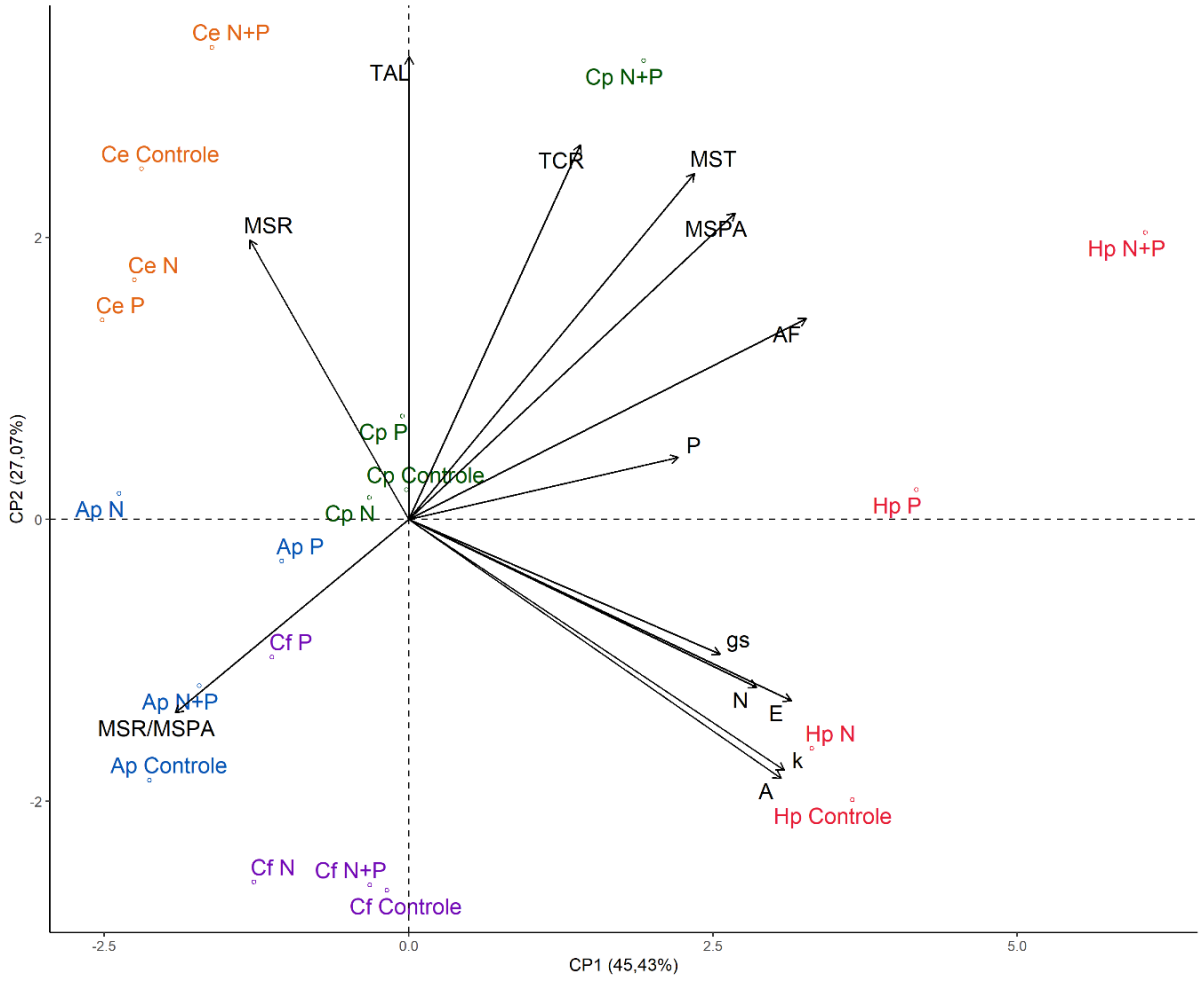

Figura 6 – Análise de componentes principais baseada em todos os parâmetros biométricos,de trocas gasosas e de concentração de nutrientes nas folhas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton*

floribundus (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas aos tratamentos Controle, N, P e N+P.

Os padrões de agrupamento produzidos no *heatmap* (Figura 7) indicam que as espécies *C*. *pachystachya* e *C. estrellensis* foram mais responsivas ao tratamento contendo ambos os nutrientes, enquanto *C. floribundus* foi mais responsiva ao tratamento contendo apenas P. A espécie *H*. *popayanensis* foi igualmente responsiva a ambos os tratamentos contendo P (tratamentos P e N+P) e *A. polyneuron* foi igualmente responsiva aos tratamentos contendo apenas um dos nutrientes (tratamentos N e P). Os parâmetros mais afetados pelos tratamentos foram os parâmetros biométricos, especialmente a MST, a TCR e a TAL.

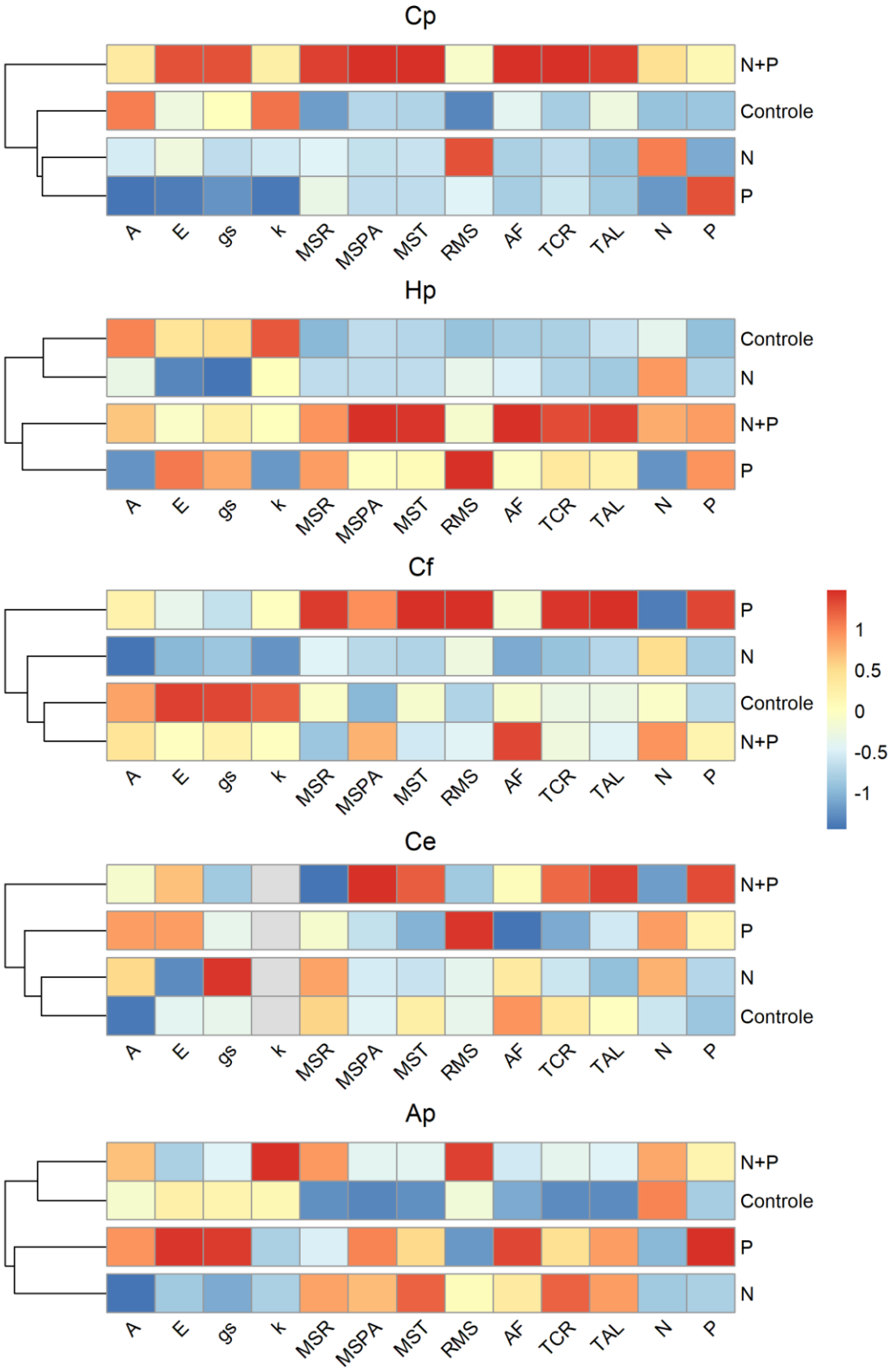

Figura 7 – Mapa de calor de todos os parâmetros biométricos, de trocas gasosas e de concentração de nutrientes nas folhas de *Cecropia pachystachya* (*Cp*), *Heliocarpus popayanensis* (*Hp*), *Croton floribundus* (*Cf*), *Cariniana estrellensis* (*Ce*) e *Aspidosperma polyneuron* (*Ap*) submetidas à aplicação de N, P, ambos os nutrientes (N+P) ou apenas água (Controle). Desvios para o vermelho indicam aumento, enquanto desvios para o azul indicam redução.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, não houve alteração da quantidade total de N presente no solo ou do pH edáfico em nenhum dos tratamentos após a aplicação de N em taxas equivalentes a deposição anual de 448 kg N ha^{-1} por nove semanas. Estes resultados sugerem que o solo utilizado se encontrava saturado de N, como é característico de florestas tropicais, sendo o tempo de experimento insuficiente para alterar a química do solo, apesar da intensa taxa de deposição. O N adicionado que não fora absorvido pelas plantas ou pela microbiota do solo, provavelmente foi perdido via lixiviação (VITOUSEK et al., 2010). Em consonância a estes achados, Mao et al. (2018) verificaram acidificação do solo somente após dois anos de aplicações de 150 kg N ha^{-1} ano^{-1} e um aumento de 48% na quantidade total do nutriente presente no solo ao final de seis anos de experimento.

Embora não tenha sido verificado aumento da concentração de N no solo, a aplicação do nutriente a curto prazo foi suficiente para promover alterações fisiológicas e de crescimento que podem conferir vantagem competitiva a espécies com traços ecológicos específicos (HAN et al., 2020).

Muitos trabalhos reportam uma correlação direta entre a taxa fotossintética máxima e os níveis de N na folha, já que o N é um dos principais componentes das proteínas do aparato fotossintético (HIDAKA; KITAYAMA, 2009). Porém, neste estudo, nenhuma das espécies aumentou a concentração de N nas folhas ou a *A* nos tratamentos contendo N.

Esta parece ser uma resposta espécie-específica, dependente da intensidade e duração das aplicações de N, já que estudos de fertilização observam espécies acumulando N nas folhas mesmo em solos ricos em N (MO et al., 2008). Espécies que apresentam acúmulo do nutriente, enquanto outras não, quando submetidas às mesmas condições são reportados na literatura em experimentos com duração a partir de 18 semanas até seis anos, e com taxas anuais de aplicação de N que variam entre 50 kg ha^{-1} ano^{-1} e 540 kg ha^{-1} ano^{-1} (CÁRATE-TANDALLA; LEUSCHNER; HOMEIER, 2015; HOMEIER et al., 2012; LAWRENCE, 2001; MAO et al., 2018; ZHU et al., 2014).

Já o P, acumulou-se no solo ao final do experimento em todos os tratamentos, incluindo os que não receberam adição do nutriente (exceto o grupo controle de *A. polyneuron*). Conforme esperado, nos tratamentos P e N+P este acúmulo foi maior,

indicando uma capacidade do solo em reter o P adicionado, já o P é pouco móvel no solo e difícil de ser lixiviado (SHEN et al., 2011).

Diferente do observado com o N, três das cinco espécies estudadas, incluindo duas intolerantes à sombra (*C. pachystachya e H. popayanensis*) e uma tolerante (*A. polyneuron*) apresentaram acúmulo de P com os tratamentos P e N+P. Esta absorção de nutrientes acima da necessidade metabólica pode constituir uma estratégia adaptativa à baixa disponibilidade natural do P, o que possibilitaria um aumento da taxa de crescimento após a supressão de outras limitações (LAWRENCE, 2001).

C. pachystachya e *H. popayanensis* não apresentaram aumento do crescimento com as adições isoladas de N e P, provavelmente porque a adição de apenas um destes nutrientes altera o balanço nutricional N/P levando a uma ausência de efeito positivo sobre o crescimento (CARNICER et al, 2014).

Quando tratadas com N+P, *C. pachystachya e H. popayanensis* responderam positivamente, indicando uma co-limitação pelos dois nutrientes. É possível que as aplicações isoladas de cada um destes nutrientes tenham aumentado a demanda pelo outro, de modo que estas espécies tenham sido capazes de aumentar o crescimento apenas com o tratamento N+P (LAWRENCE, 2001). Um exemplo desta relação pode ser verificada na síntese de RNAs mensageiros (compostos ricos em P), necessários para transcrição de proteínas (compostos ricos em N), que por sua vez sua vez são indispensáveis para fixação de CO_2 (MARKLEIN; HOULTON, 2012).

Embora as mudas de *C. pachystachya* tenham mantido suas biomassas inalteradas com o tratamento N, foi verificado uma redução nos parâmetros de trocas gasosas *A* e *k* e na concentração de P das folhas com este tratamento. Além disso, houve aumento na razão MSR/MSPA, o que pode ser uma resposta à redução da disponibilidade de P em razão da maior disponibilidade de N. Resultados similares foram obtidos por Mo et al. (2008), que constataram em duas espécies arbóreas tropicais uma redução na taxa fotossintética máxima, associada a uma menor concentração foliar de P, após adição de N. Nas folhas, o P é um componente essencial dos açúcares fosfatados, fosfolipídios, e ATP, fundamentais para a fotossíntese. Desta forma, é possível que o decréscimo na *A* observada se deva a uma redução na disponibilidade destes compostos (GÜSEWELL, 2004).

A terceira espécie intolerante à sombra, *C. floribundus*, não respondeu aos tratamentos N e N+P, mas teve seu crescimento estimulado pela adição de P isoladamente, apresentando aumento da massa seca total, taxa de crescimento

relativo e taxa assimilatória líquida com este tratamento, sugerindo que o desenvolvimento das mudas desta espécie foi limitado especificamente por P. De acordo com Carnicer et al. (2014), características como a taxa de crescimento, ciclo de vida e estratégia reprodutiva relacionam-se com a estequiometria entre carbono, N e P em cada espécie, determinando como espécie pode responder à aplicação de nutrientes.

Em *A. polyneuron*, espécie tolerante à sombra que apresentou acúmulo de P nas folhas, os tratamentos P e N+P também aumentaram a MST, a AF, a TAL e a *A*, indicando que que esta espécie foi capaz de utilizar eficientemente o P absorvido para aumentar a eficiência fotossintética, o crescimento e as reservas do nutriente. Espécies adaptadas aos estágios finais da sucessão ecológica, como é o caso de *A. polyneuron*, apresentam maior eficiência fotossintética no uso de P em razão da redução da disponibilidade de P ao longo da sucessão (HAN et al., 2020; HIDAKA; KITAYAMA, 2009).

Em concordância a estes resultados, Zhu et al. (2014), verificaram um aumento da concentração de clorofilas *a* e *b*, e da taxa fotossintética máxima, após a adição de P. Um aumento da concentração destes pigmentos permite uma maior captação energética na etapa fotoquímica da fotossíntese, aumentando o potencial de fixação de CO_2 (EVAN; CLARKE, 2018)

Embora não tenha sido verificado nenhum efeito da adição de P sobre a g_s de *A. polyneuron*, verificou-se um aumento da taxa transpiratória e uma redução da *k* com este tratamento, provavelmente relacionada a um aumento da concentração de CO_2 intercelular. Considerando que uma maior taxa transpiratória possibilita aumentar a absorção de nutrientes, é possível que esta tenha sido uma estratégia de evitação à limitação de P, visto que esta espécie apresentou acúmulo do nutriente em seus tecidos (ZHU et al., 2014).

A. polyneuron também respondeu positivamente ao tratamento N. Embora a *A* tenha sido reduzida com este tratamento, verificou-se um aumento do acúmulo de biomassa por unidade de área foliar, indicado pela TAL, e da própria AF com este tratamento, resultando em aumento do crescimento em relação ao controle. Surpreendentemente, o desempenho das mudas foi inferior no tratamento N+P, em relação aos tratamentos com os nutrientes isolados, mas ainda superior ao respectivo grupo controle.

C. estrellensis, também considerada tolerante à sombra, apresentou respostas opostas às de *A. polyneuron*. Mudas de *C. estrellensis* responderam negativamente tanto à aplicação isolada de N, quanto de P, mas positivamente à aplicação de N+P. É possível que a inibição do crescimento observado nesta espécie com o tratamento N seja um sintoma de toxicidade do amônio, embora esta espécie apresente tolerância ao íon superior a de *H. popayanensis*, que não apresentou tais sintomas (DEBIASI et al., 2019). Em relação ao P, é pouco provável que a adição do nutriente tenha resultado em toxicidade, porém verificou-se um efeito negativo do nutriente sobre a expansão da área foliar, o que reduziu o crescimento.

A diversidade de respostas observadas neste estudo sugere que, a despeito da tolerância à sombra, cada espécie responde de uma forma específica ao aumento da disponibilidade de N e P no solo. De acordo com a hipótese de complementariedade de nichos, esta diversidade de respostas reflete as diferentes adaptações fisiológicas e de crescimento que as espécies vegetais apresentam para explorar e ocupar nichos específicos em ambientes de maior competitividade (KAHMEN et al., 2006). Han et al. (2020) identificaram que dentre estas adaptações, a diversidade de estratégias de uso da luz e de nutrientes estão entre as mais relevantes, e se relacionam positivamente com aumento da diversidade funcional ao longo da sucessão ecológica. Dessa forma, a alteração da disponibilidade de nutrientes no solo, em função de perturbações antropogênicas, pode impactar as relações competitivas entre as espécies no uso destes recursos (LAMBERS et al., 2011; PAYNE et al., 2017).

5 CONCLUSÃO

Este estudo teve como objetivo verificar como mudas de espécies arbóreas da Mata Atlântica tolerantes e intolerantes à sombra cultivadas em solo florestal respondem, a curto prazo, à adição elevada de N e P no solo. A primeira hipótese de que as respostas das espécies estudadas à adição de N e P seriam relacionadas ao grau de tolerância a sombra não foi aceita, embora semelhanças entre espécies com mesmo grau de tolerância à sombra tenham sido verificadas, enquanto a segunda hipótese de que as respostas das espécies difeririam com as aplicações isolada e conjunta dos nutrientes foi aceita. As espécies intolerantes à sombra *C*. *pachystachya* e *H*. *popayanensis* tiveram o crescimento estimulado apenas pela aplicação conjunta dos dois nutrientes, assim como a espécie tolerante à sombra *C*. *estrellensis*. *Croton floribundus* (intolerante à sombra) teve o crescimento estimulado apenas pelo tratamento com P, enquanto a espécie intolerante à sombra *A*. *polyneuron* teve o crescimento estimulado por todos os tratamentos, especialmente nos tratamentos com apenas um nutriente. A terceira hipótese de que a adição de N reduziria o pH e a disponibilidade de P no solo não foi confirmada, já que a aplicação de N não foi suficiente para modificar as características do solo no período estudado. Entretanto, a adição de P aumentou a concentração do nutriente no solo e nas folhas de algumas espécies, o que pode ser utilizado como biomarcador para deposição de P.

REFERÊNCIAS

ABER, J. D. et al. Plant and Soil Responses to Chronic Nitrogen Additions at the Harvard Forest, Massachusetts. **Ecological Applications**, v. 3, n. 1, p. 156–166, jan. 1993.

ACKERMAN, D.; MILLET, D. B.; CHEN, X. Global Estimates of Inorganic Nitrogen Deposition Across Four Decades. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 33, n. 1, p. 100–107, jan. 2019.

BARDY, L. R. **Efeito do aumento do Nitrogênio no solo em mudas de espécies arbóreas da Mata Atlântica**. 2020. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

BATISTA, C. U. N. et al. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 91–98, jan. 2008.

BOBBINK, R. et al. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. **Ecological Applications**, v. 20, n. 1, p. 30–59, jan. 2010.

BREDEMEIER, C; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, p. 365-372, abr. 2000.

CÁRATE-TANDALLA, D.; LEUSCHNER, C.; HOMEIER, J. Performance of Seedlings of a Shade-Tolerant Tropical Tree Species after Moderate Addition of N and P. **Frontiers in Earth Science**, v. 3, p. 75-85, apr. 2015.

CARNICER, J. et al. Global biodiversity, stoichiometry and ecosystem function responses to human-induced C–N–P imbalances. **Journal of Plant Physiology**, v. 172, p. 82-91, 2015.

CARUZO, M.B.R. et al. *Croton* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17512. Acesso em: 17 fev. 2023.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas nativas: silvicultura e usos. In: **SEMANA DO ESTUDANTE UNIVERSITÁRO**. 1. ed. Colombo: Embrapa Florestas, 2003.

CASTELLO, A.C.D. et al. *Aspidosperma* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB4530. Acesso em: 17 fev. 2023.

CATENACCI, F.S. et al. *Cariniana* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8541. Acesso em: 17 fev. 2023.

DA SILVA, R. C. et al. Inorganic nitrogen sources alter the root morphology of neotropical tree seedlings from different successional groups. **Trees**, v. 35, p. 1267-1280, feb. 2021.

DAS CHAGAS E SILVA, F.; SOARES-SILVA, L. H. Arboreal flora of the Godoy Forest State Park, Londrina, PR, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 57, n. 1, p. 107–120, dec. 2000.

DEBIASI, T. V. et al. Nitrogen metabolism of Neotropical tree seedlings with contrasting ecological characteristics. **Acta physiologiae plantarum**, v. 41, p. 1-11, jul. 2019.

DIXON, R.; KAHN, D. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 8, p. 621–631, ago. 2004.

ELSER, J. J. et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems**. Ecology Letters**, v. 10, n. 12, p. 1135–1142, dec. 2007.

EVANS, J. R.; CLARKE, V. C. The nitrogen cost of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 1, p. 7–15, jan. 2019.

FAO; UNESCO. **Soil map of the world**. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, 1971.

FERNANDES-JÚNIOR, A.J. *Heliocarpus* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15722. Acesso em: 17 fev. 2023.

FIELD, C. B. et al. Responses of Terrestrial Ecosystems to the Changing Atmosphere: A Resource-Based Approach. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 23, p. 201–235, jun. 1992.

FILIPPELLI, G. M. The Global Phosphorus Cycle. In: HOLLAND, H. D.; TUREKIAN, K. K. **Reviews in Mineralogy and Geochemistry**, v. 48, n. 1, p. 391–425, out. 2002.

FOWLER, D. et al. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1621, p. 20130164, set. 2013.

GABY, J. C.; BUCKLEY, D. H. A Global Census of Nitrogenase Diversity. **Environmental Microbiology**, v. 13, n. 7, p. 1790–1799, jul. 2011.

GAGLIOTI, A. L.; AGUIAR, D. P. P. ***Cecropia*** **in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15041. Acesso em: 17 fev. 2023.

GALLOWAY, J. N. et al. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, v. 70, n. 2, p. 153–226, nov. 2004.

GALLOWAY, J. N.; COWLING, E. B. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. **Ambio: A Journal of the Human Environment**, v. 31, n. 2, p. 64–71, mar. 2002.

GÜSEWELL, S. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. **New Phytologist**, v. 164, n. 2, p. 243–266, feb. 2004.

HAN, T. et al. Light availability, soil phosphorus and different nitrogen forms negatively affect the functional diversity of subtropical forests**. Global Ecology and Conservation**, v. 24, p. e01334, may. 2020.

HIDAKA, A.; KITAYAMA, K. Divergent patterns of photosynthetic phosphorus-use efficiency versus nitrogen-use efficiency of tree leaves along nutrient-availability gradients. **Journal of Ecology**, v. 97, n. 5, p. 984–991, sep. 2009.

HOMEIER, J. et al. Tropical Andean Forests Are Highly Susceptible to Nutrient Inputs—Rapid Effects of Experimental N and P Addition to an Ecuadorian Montane Forest. **Plos One**, v. 7, n. 10, p. e47128, oct. 2012.

HUANG, W. J.; ZHOU, G. Y.; LIU, J. X. Nitrogen and phosphorus status and their influence on aboveground production under increasing nitrogen deposition in three successional forests. **Acta Oecologica**, v. 44, p. 20–27, oct. 2012.

ISBELL, F. et al. Nutrient enrichment, biodiversity loss, and consequent declines in ecosystem productivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 29, p. 11911–11916, jul. 2013.

KAHMEN, A. et al. Niche Complementarity for Nitrogen: An Explanation for the Biodiversity and Ecosystem Functioning Relationship? **Ecology**, v. 87, n. 5, p. 1244–1255, may. 2006.

KJELDAHL, C. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. **Z Anal Chem**, v. 22, p. 366, 1883.

KUMAR, S.; KUMAR, S.; MOHAPATRA, T. Interaction Between Macro- and Micro-Nutrients in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, jan. 2021.

LAMBERS, H. et al. Plant mineral nutrition in ancient landscapes: high plant species diversity on infertile soils is linked to functional diversity for nutritional strategies. **Plant and Soil**, v. 348, p. 7-27, set. 2011.

LAWRENCE, D. Nitrogen and phosphorus enhance growth and luxury consumption of four secondary forest tree species in Borneo. **Journal of Tropical Ecology**, v. 17, n. 6, p. 859-869, nov. 2001.

LAWRENCE, D. The response of tropical tree seedlings to nutrient supply: meta-analysis for understanding a changing tropical landscape. **Journal of tropical Ecology**, v. 19, n. 3, p. 239-250, apr. 2003.

LI, W. et al. Effects of nitrogen enrichment on tree carbon allocation: A global synthesis. **Global Ecology and Biogeography**, v. 29, n. 3, p. 573-589, dec. 2020.

LIU, X. et al. Nitrogen deposition and its ecological impact in China: an overview. Environmental pollution, v. 159, n. 10, p. 2251-2264, oct. 2011.

MAO, Q. et al. Effects of simulated N deposition on foliar nutrient status, N metabolism and photosynthetic capacity of three dominant understory plant species in a mature tropical forest. **Science of The Total Environment**, v. 610, p. 555–562, dec. 2018.

MARKLEIN, A. R.; HOULTON, B. Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. **New Phytologist**, v. 193, n. 3, p. 696–704, feb. 2012.

MATSON, P. A. et al. The globalization of N deposition: ecosystem consequences in tropical environments. **Biogeochemistry**, v. 46, n. 1, p. 67–83, feb. 1999.

MEHLICH, A. Uniformity of soil test results as influenced by volume weight. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 4, n. 6, p. 475-486, 1973.

MO, J.; LI, D.; GUNDERSEN, P. Seedling growth response of two tropical tree species to nitrogen deposition in southern China. **European Journal of Forest** Research, v. 127, n. 4, p. 275–283, aug. 2008.

OELKERS, E. H.; VALSAMI-JONES, E. Phosphate Mineral Reactivity and Global Sustainability. **Elements**, v. 4, n. 2, p. 83–87, apr. 2008.

OLANDER, L. P.; VITOUSEK, P. M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. **Biogeochemistry**, v. 49, n. 2, p. 175–191, may. 2000.

OLIVEIRA, A. A. R.; LORENZI, H**. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2015.

OLIVEIRA, H. C. et al. Nitrogen use strategies of seedlings from neotropical tree species of distinct successional groups. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 114, p. 119-127, may. 2017.

PAYNE, R. J. et al. Nitrogen deposition and plant biodiversity: past, present, and future. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 15, n. 8, p. 431–436, set. 2017.

PHOENIX, G. K. et al. Atmospheric nitrogen deposition in world biodiversity hotspots: the need for a greater global perspective in assessing N deposition impacts. **Global Change Biology**, v. 12, n. 3, p. 470–476, mar. 2006.

QUEIROZ, S. A. S. et al. Diterpenoids with inhibitory activity of nitrite production from Croton floribundus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 249, p. 112320, mar. 2020.

QUINLAN, K. P.; DESESA, M. A. Spectrophotometric determination of phosphorus as molybdovanadophosphoric acid. **Analytical Chemistry**, v. 27, n. 10, p. 1626–1629, oct. 1955.

R CORE TEAM (2022). **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. Disponível em: https://www.R-project.org/.

SHEN, J. et al. Phosphorus Dynamics: From Soil to Plant. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 997–1005, jul. 2011.

SIDDIQUE, I. et al. Nitrogen and phosphorus additions negatively affect tree species diversity in tropical forest regrowth trajectories. **Ecology**, v. 91, n. 7, p. 11, jul. 2010.

TILMAN, D. Mechanisms of plant competition. In: CRAWLEY, M. J. **Plant Ecology**. London: Blackwell Science, 1996. p. 239-261.

TIPPING, E. et al. Atmospheric deposition of phosphorus to land and freshwater. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 16, n. 7, p. 1608-1617, feb. 2014.

TRESEDER, K. K.; VITOUSEK, P. M. Effects of soil nutrient availability on investment in acquisition of N and P in Hawaiian rain forests. **Ecology**, v. 82, n. 4, p. 946–954, apr. 2001.

VITOUSEK, P. M. et al. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen–phosphorus interactions. **Ecological applications**, v. 20, n. 1, p. 5–15, jan. 2010.

WALTER, K. S.; GILLET, H. J. **Red list of threatened plants: The World Conservation Union.** Switzerland: IUCN, 1997.

XIANKAI, L.; JIANGMING, M.; SHAOFENG, D. Effects of nitrogen deposition on forest biodiversity. **Acta Ecologica Sinica**, v. 28, n. 11, p. 5532-5548, nov. 2008.

ZHANG, R. et al. Shifting community composition determines the biodiversity–productivity relationship under increasing precipitation and N deposition**. Journal of Vegetation**, v. 32, n. 2, p. e12998, mar. 2021.

ZHU, F. et al. Nutrient Limitation in Three Lowland Tropical Forests in Southern China Receiving High Nitrogen Deposition: Insights from Fine Root Responses to Nutrient Additions. **Plos One**, v. 8, n. 12, p. e82661, dec. 2013.

ZHU, F.; LU, X.; MO, J. Phosphorus limitation on photosynthesis of two dominant understory species in a lowland tropical forest. **Journal of Plant Ecology**, v. 7, n. 6, p. 526–534, mar. 2014.