



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

LETICIA YUKARI SEKI

**BIOMARCADORES DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO
EM ESPÉCIES ARBÓREAS DE UM FRAGMENTO DE
FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL**

Londrina
2021

LETICIA YUKARI SEKI

**BIOMARCADORES DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO
EM ESPÉCIES ARBÓREAS DE UM FRAGMENTO DE
FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como um dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Londrina
2021

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

S463 Seki, Leticia Yukari .
Biomarcadores da disponibilidade de nitrogênio em espécies arbóreas de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual / Leticia Yukari Seki. - Londrina, 2022.
55 f. : il.

Orientador: Halley Caixeta Oliveira.

Coorientador: Mariana Fernandes Hertel.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2022.

Inclui bibliografia.

1. Cultivos agrícolas - Tese. 2. Fragmentação - Tese. 3. Deposição de nitrogênio - Tese. 4. Fertilizantes - Tese. I. Caixeta Oliveira, Halley. II. Fernandes Hertel, Mariana. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU 574

LETICIA YUKARI SEKI

**BIOMARCADORES DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO
EM ESPÉCIES ARBÓREAS DE UM FRAGMENTO DE
FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como um dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. José Marcelo Domingues Torezan
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Artur Berbel Lirio Rondina
Centro Universitário de Ourinhos - FIO

Londrina, 20 de dezembro de 2021.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar força diariamente para cumprir a minha missão.

Agradeço aos meus pais, por me darem a vida e por me incentivarem de diversas formas na minha caminhada profissional.

Agradeço às minhas amigas que estiveram comigo durante esses anos de dedicação, que foram aliviadoras da tensão e companheiras nos meus dias difíceis. Amanda, Desiree, Luciana e Mayara, muito obrigada.

Agradeço à amiga que a pós-graduação me trouxe, Heloísa, que dividiu comigo os momentos difíceis, as coletas, os experimentos e todo o aprendizado que adquiri nessa jornada.

Agradeço aos colegas de laboratório, que me auxiliaram durante as coletas e estiveram presentes nos meus momentos de necessidade.

Sou muito grata ao meu professor, Halley, que desde o início foi presente, compreensivo e um excelente orientador.

Agradeço à Mariana, por aceitar me orientar e compartilhar seu conhecimento e tempo na construção deste trabalho.

Agradeço aos professores José Antonio Pimenta, Renata Stolf Moreira e Edmilson Bianchini pelo apoio e disponibilidade.

Agradeço à direção da Unidade de conservação Parque Estadual Mata dos Godoy por permitir o acesso ao fragmento durante as coletas.

Agradeço ao Programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD)-CNPq pelo apoio financeiro, que nos garantiu deslocamento e equipamentos para a realização do trabalho.

Agradeço à banca, por aceitarem o convite e pelas considerações que serão feitas. “O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.”

SEKI, Leticia Yukari. **Biomarcadores da disponibilidade de nitrogênio em espécies arbóreas de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual**. 2021. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

O nitrogênio (N) é um nutriente considerado essencial para as plantas. Faz parte da composição de moléculas como as clorofilas, as proteínas e as bases nitrogenadas. Porém, quando em quantidades excessivas, pode ser prejudicial para as espécies arbóreas e para a biodiversidade como um todo, já que a maior disponibilidade de N pode alterar as interações competitivas entre espécies vegetais. A deposição de N é proveniente de vários fatores, sendo um deles o uso de fertilizantes químicos nitrogenados nas culturas agrícolas. A Floresta Estacional Semidecidual (Bioma Mata Atlântica) é formada principalmente por fragmentos florestais rodeados por cultivos agrícolas. Este trabalho teve como objetivo avaliar possíveis alterações no metabolismo de N de espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica que estão próximas a áreas com aplicação de fertilizantes nitrogenados. Foram amostradas as seguintes espécies: *Croton floribundus* Spreng., *Heliocarpus popayanensis* Kunth., *Astronium graveolens* Jacq. (espécies intolerantes à sombra), *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., *Aspidosperma polyneuron* Müll.Arg. e *Guarea kunthiana* A. Juss. (tolerantes à sombra). Foram coletadas folhas e seiva do xilema de indivíduos dessas espécies próximos ao cultivo agrícola considerada a borda adjacente à cultura – BAC) e de indivíduos próximos a um reflorestamento (considerada a borda adjacente ao reflorestamento – BAR). Foram analisados parâmetros como o transporte de NO_3^- , NH_4^+ e aminoácidos na seiva do xilema e seu acúmulo nas folhas, atividade da enzima nitrato redutase (NR) nas folhas e acúmulo de proteínas. Os resultados obtidos indicaram alteração no metabolismo de N de indivíduos de espécies arbóreas localizados próximos ao cultivo agrícola, o que indica maior disponibilidade de N, que pode estar sendo ofertado pela aplicação de fertilizantes nitrogenados nas culturas. As espécies arbóreas e variáveis estudadas podem servir como bioindicadores para monitoramentos futuros em áreas de fragmento florestal que estão circundadas por áreas agrícolas, a fim de identificar possíveis alterações no metabolismo de N.

Palavras-chave: cultivos agrícolas; fragmentação; deposição de nitrogênio; fertilizantes nitrogenados; floresta estacional semidecidual.

SEKI, Leticia Yukari **Biomarkers of nitrogen availability in tree species from a Semideciduous Seasonal Forest fragment.** 2021. 56 p. Dissertation (Masters' degree in Biological Sciences) - State University of Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Nitrogen (N) is a nutrient considered essential for plants, as it is part of the composition of molecules such as chlorophyll and nitrogenous bases. However, when in excessive amounts, it can be harmful to plants and biodiversity as a whole; because greater availability of N can affect the competitive interactions between plant species. The higher deposition of N can be caused by several factors, such as the use of chemical nitrogen fertilizers in agricultural crops. The Seasonal Semideciduous Forest is part of the Atlantic Forest Biome, and it is mainly formed by forest fragments surrounded by crops. Therefore, this work aimed to evaluate changes in the N metabolism of tree species native to the Atlantic Forest near areas exposed to the application of nitrogen fertilizers. The following species were sampled: *Croton floribundus* Spreng., *Heliocarpus popayanensis* Kunth. and *Astronium graveolens* Jacq. (shade-intolerant species), *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., *Aspidosperma polyneuron* Müll.Arg. and *Guarea kunthiana* A.Juss. (shade-tolerant species). We collected leaves and xylem sap of species close to agricultural cultivation considered the agriculture adjacent border – BAC) and species close to reforestation (considered the reforestation adjacent border – BAR). Parameters involving N metabolism were analyzed, such as the transport of NO_3^- , NH_4^+ and amino acids in the xylem sap and its accumulation in leaves, the activity of the enzyme nitrate reductase (NR) in leaves, and protein accumulation. Individuals of *C. floribundus* located close to agricultural cultivation showed higher NR activity, NO_3^- input in the xylem sap, NO_3^- accumulation, and leaf proteins. Individuals of *H. popayanensis* located in BAC showed higher transport of NO_3^- in the sap, accumulation of NH_4^+ , NO_3^- and proteins in the leaves, compared to individuals present in BAR. The results indicate an alteration in the N metabolism of individuals of tree species located close to agricultural crops, suggesting greater availability of N, which may be a result of the application of nitrogen fertilizers. The studied tree species and parameters can be bioindicators for future monitoring in fragment areas surrounded by agricultural areas. They can help identify possible changes in N metabolism of tree species.

Key words: agricultural crops; fragmentation; nitrogen deposition; nitrogen fertilizers; semideciduous seasonal forest.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Atributos edáficos em fragmento de Floresta Estacional Semidecidual na borda agrícola (BAC) e na borda do reflorestamento (BAR). Os valores indicam média \pm erro padrão (n= 6) dos seguintes parâmetros: pH, matéria orgânica, carbono (C), nitrogênio total (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), capacidade de troca de cátions, saturação por bases, NO_3^- e NH_4^+ (** $p < 0,001$; NS: diferença não significativ; teste *t* de Student)31
- Tabela 2 -** Valores de *p* da PERMANOVA comparando os parâmetros: concentração de NO_3^- nas folhas e seiva do xilema, concentração de NH_4^+ nas folhas e seiva do xilema, concentração de aminoácidos nas folhas e seiva do xilema e concentração de proteínas nas folhas de indivíduos coletados nos anos de 2017 e 2019 em comparações feitas entre a BA e a BR Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as bordas (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)40

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Representação do ciclo de N na atmosfera. O N passa pela forma gasosa e por íons solúveis até que seja incorporado a compostos orgânicos nos organismos vivos (Modificado de: TAIZ *et al.*, 2017)14
- Figura 2** - Esquema da assimilação de N pelas raízes e folhas das plantas. O NO_3^- e NH_4^+ são absorvidos pelas células das raízes e podem ser assimilados na própria raiz ou serem transportados pelo xilema até as células foliares. (RN: nitrato redutase; RNi: nitrito redutase; GS: glutamina sintetase; GOGAT: glutamato sintase; GLN: glutamina; GLU: glutamato (modificado de: BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000)16
- Figura 3** - Imagem aérea do Parque Estadual Mata dos Godoy. A região adjacente ao cultivo agrícola está indicada como BAC e a região adjacente ao reflorestamento está indicada como BAR. As duas linhas brancas indicam as áreas das bordas onde ocorreram as coletas (Google Earth, 2019)23
- Figura 4** - Cobertura do dossel (A) e Incidência luminosa (B) (em %) nas duas bordas do fragmento florestal (BAR: borda adjacente ao reflorestamento e BAC: borda adjacente ao cultivo agrícola. As colunas são médias + erro-padrão (n=7)29
- Figura 5.** Amplitude de umidade (A) (%) e temperatura (B) ($^{\circ}\text{C}$) durante oito dias em duas bordas do fragmento florestal (BAR: borda adjacente ao reflorestamento e BAC: borda adjacente ao cultivo agrícola). As linhas são médias \pm erro padrão (n=8).....30
- Figura 6** - Comparações das respostas metabólicas de *Croton floribundus* entre indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f**: concentração de NO_3^- na folha; **NO₃⁻s**: concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH₄⁺f**:

concentração de NH_4^+ na folha; **NH₄⁺s**: concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. * representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (*p<0,05; #p<0,05)32

Figura 7 - Comparações das respostas metabólicas de *Heliocarpus popayanensis* entre indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f**: concentração de NO_3^- na folha; **NO₃⁻s**: concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH₄⁺f** - concentração de NH_4^+ na folha; **NH₄⁺s**: concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. * representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (*p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,0001; #p<0,05; ## p<0,01)33

Figura 8 - Comparações das respostas metabólicas de *Astronium graveolens* entre indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f**: concentração de NO_3^- na folha; **NO₃⁻s**: concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH₄⁺f**: concentração de NH_4^+ na folha; **NH₄⁺s**: concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. * representa diferença

significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (*p<0,05; **p<0,01; # p<0,05; ## p<0,01).....34

Figura 9 - Comparações das respostas metabólicas de *Aspidosperma polyneuron* entre indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas em log₁₀. **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f**: concentração de NO₃⁻ na folha; **NO₃⁻s**: concentração de NO₃⁻ na seiva do xilema; **NH₄⁺f**: concentração de NH₄⁺ na folha; **NH₄⁺s**: concentração de NH₄⁺ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. * representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (*p<0,05; ** p<0,01).....34

Figura 10 - Comparações das respostas metabólicas de *Cabralea canjerana* entre indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas em log₁₀. **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f**: concentração de NO₃⁻ na folha; **NO₃⁻s**: concentração de NO₃⁻ na seiva do xilema; **NH₄⁺f**: concentração de NH₄⁺ na folha; **NH₄⁺s**: concentração de NH₄⁺ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. * representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (*p<0,05; *** p<0,001; # p<0,05; ## p<0,01; ### p<0,001)35

Figura 11 - Comparações das respostas metabólicas de *Guarea kunthiana* entre indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f**: concentração de NO₃⁻ na folha; **NO₃⁻s**: concentração de NO₃⁻ na seiva do xilema; **NH₄⁺f**: concentração de NH₄⁺ na folha; **NH₄⁺s**: concentração de NH₄⁺ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. * representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (*p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; # p<0,05; ### p<0,001)35

Figura 12 - Análise de componentes principais com os dados coletados em 2017, com indivíduos localizados na borda do fragmento florestal adjacente ao cultivo agrícola (BAC) e na borda adjacente ao reflorestamento (BAR). Os pontos representam as espécies: *Croton floribundus* (CfBR e CfBA), *Heliocarpus popayanensis* (HpBR e HpBA), *Cabrlea canjerana* (CcBR e CcBA), *Astronium graveolens* (AgBR e AgBA), *Guarea kunthiana* (GkBR e GkBA), *Aspidosperma polyneuron* (ApBR e ApBA). Os vetores representam as variáveis: atividade da NR foliar (NRf), acúmulo de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻f), transporte de NO₃⁻ na seiva do xilema (NO₃⁻ s), acúmulo de NH₄⁺ foliar (NH₄⁺ f), transporte de NH₄⁺ na seiva (NH₄⁺ s), acúmulo de aminoácidos(aaf), transporte de aminoácidos (aas) e acúmulo de proteínas (protf) (* PERMANOVA <0,05; ** PERMANOVA <0,01; *** PERMANOVA <0,001)38

Figura 13 - Análise de componentes principais com os dados coletados em 2019, com indivíduos localizados na borda do fragmento florestal adjacente ao cultivo agrícola (BAC) e na borda adjacente ao reflorestamento (BAR). Os pontos representam as

espécies: *Croton floribundus* (CfBR e CfBA), *Heliocarpus popayanensis* (HpBR e HpBA), *Cabralea canjerana* (CcBR e CcBA), *Astronium graveolens* (AgBR e AgBA), *Guarea kunthiana* (GkBR e GkBA), *Aspidosperma polyneuron* (ApBR e ApBA). Os vetores representam as variáveis: atividade da NR foliar (NRf), acúmulo de NO_3^- foliar (NO_3^- f), transporte de NO_3^- na seiva do xilema (NO_3^- s), acúmulo de NH_4^+ foliar (NH_4^+ f), transporte de NH_4^+ na seiva (NH_4^+ s), acúmulo de aminoácidos(aaf), transporte de aminoácidos (aas) e acúmulo de proteínas (protf) (** PERMANOVA <0,01; *** PERMANOVA <0,001).....39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	20
3	HIPÓTESES	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	ESPÉCIES ESTUDADAS	22
4.2	COLETA DE DADOS	23
4.3	CARACTERIZAÇÃO DAS BORDAS FLORESTAIS	25
4.4	ANÁLISES BIOQUÍMICAS	26
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
5	RESULTADOS	29
5.1	CARACTERIZAÇÃO DAS BORDAS	29
5.2	ANÁLISES METABÓLICAS.....	31
5.3	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	36
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
	APÊNDICES	55
	APÊNDICE 1	55
	APÊNDICE 2	56

1. INTRODUÇÃO

O Bioma Mata Atlântica é considerado um dos 25 hotspots mundiais de biodiversidade. A Mata Atlântica abrange cerca de 15% do território nacional, ocupando 17 estados. É o lar de aproximadamente 72% dos brasileiros, concentrando 70% do PIB do país. Serviços essenciais, como abastecimento de água, manutenção do clima, agricultura, pesca, energia elétrica e turismo dependem da Mata Atlântica (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2021).

O alto crescimento da população humana e, conseqüentemente, as altas taxas de urbanização fragmentaram a Mata Atlântica brasileira (RIBEIRO *et al.*, 2009). Os fragmentos se encontram próximos a áreas antropizadas, as quais contribuem com a deposição de N, principalmente as indústrias, áreas agrícolas e a combustão causada pela grande quantidade de veículos (BULBOVAS *et al.* 2020). O processo de fragmentação e a conseqüente descaracterização de habitats tem levado à perda de biodiversidade das florestas nas últimas décadas (PIMM *et al.*, 2014).

Os fragmentos de Mata Atlântica que ainda remanescem se encontram separados entre si (GASCON *et al.*, 2000). A Floresta Estacional Semidecidual (FES) faz parte do Bioma Mata Atlântico e tem sofrido uma diminuição, devido principalmente à expansão agropecuária. Os fragmentos remanescentes se encontram envolvidos por matrizes agrícolas (RIBEIRO *et al.*, 2009).

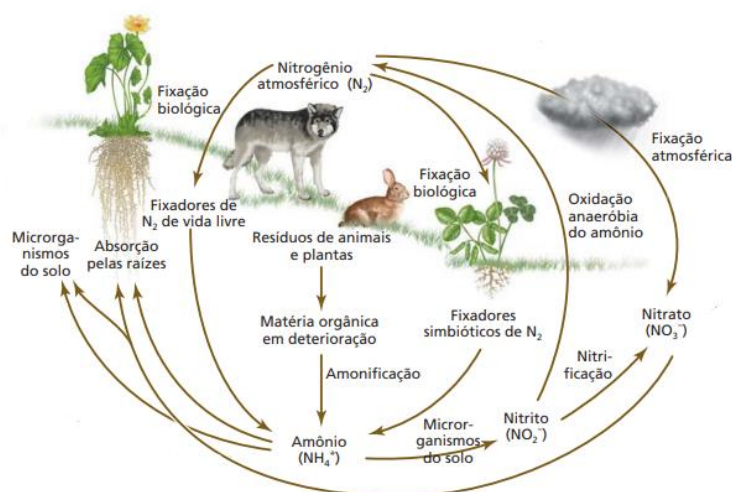
Os fertilizantes nitrogenados utilizados nos cultivos agrícolas possuem uma grande concentração de nitrogênio (N) (FRAZÃO *et al.*, 2014). Estes fertilizantes são muito solúveis na água, o que facilita a sua dispersão no ambiente. São aplicados no solo no momento do plantio, que geralmente ocorre em um período mais chuvoso; devido a isso, esses compostos são em parte lixiviados (SUBBARAO *et al.*, 2006). Alguns estudos observaram que o aproveitamento do N pelas plantas cultivadas em desenvolvimento é menor do que 40% do fertilizante aplicado (FIXEN; WEST, 2002).

Os fertilizantes químicos que são intensivamente aplicados nas áreas agrícolas podem causar impactos significativos no ambiente, como a

1 eutrofização de lagos e rios, a acidificação dos solos, a contaminação de
 2 aquíferos e reservatórios de água, e a geração de gases associados ao efeito
 3 estufa e destruição da camada de ozônio (SAMBUICHI *et al.*, 2012). A amônia
 4 (NH_3), quando presente na atmosfera, pode reagir com óxidos de enxofre e
 5 formar sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, o qual é precipitado por meio das chuvas,
 6 e seu acúmulo causa acidificação no solo (MOSIER *et al.*, 2004).

7 O N é abundante na atmosfera, estando presente na sua forma
 8 gasosa (N_2). Porém, o N_2 não é aproveitado pelas plantas, as quais não
 9 conseguem assimilá-lo. Para estar disponível para as plantas, é preciso que
 10 ocorra uma transformação do N gasoso para formas reativas como NO_3^- e
 11 NH_4^+ . Esse processo é chamado de fixação de N, o qual acontece por
 12 processos industriais ou naturais (Figura 1). A fixação de N por meio industrial
 13 utiliza a energia da queima de combustíveis fósseis e, como resultado, tem a
 14 produção de fertilizantes nitrogenados. Os fertilizantes são utilizados para
 15 adicionar o N reativo diretamente ao solo (CORDEIRO *et al.*, 2001). O uso de
 16 combustíveis fósseis também está envolvido com a liberação na atmosfera de
 17 óxidos de N e amônia (NH_3), os quais são precipitados junto às chuvas,
 18 adicionando mais N no solo (LI *et al.*, 2016).

19 O processo de fixação natural do N pode ocorrer na atmosfera
 20 (através da chuva ou descargas elétricas), ou pela fixação biológica, na qual
 21 microrganismos presentes no solo sintetizam NH_3 , que é liberada no solo
 22 (FAQUIN, 2001; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001).



23
 24

Figura 1: Representação do ciclo de N na atmosfera. O N passa pela forma gasosa e por íons

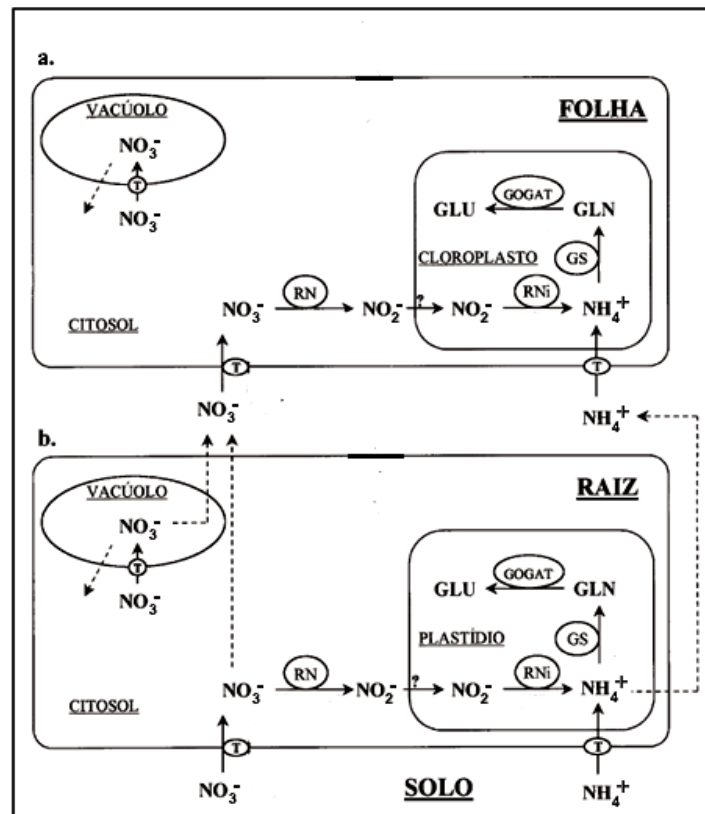
1 solúveis até que seja incorporado a compostos orgânicos nos organismos vivos (Modificado de:
2 TAIZ *et al.*, 2017).

3 O N presente no solo, originado da fixação de N₂ ou da
4 decomposição da matéria orgânica, sofre amonificação e nitrificação,
5 produzindo NH₄⁺ e NO₃⁻, respectivamente, e essas são as principais formas de
6 N utilizadas pelas plantas (TAIZ *et al.*, 2017).

7 Após a absorção pela raiz, o NO₃⁻ é convertido a nitrito (NO₂⁻) pela
8 ação da enzima nitrato redutase (NR), o que pode acontecer nas folhas (após a
9 translocação de NO₃⁻ via xilema) ou nas raízes (KRAPP, 2015). A atividade da
10 NR foliar depende da luz, além do suprimento de NO₃⁻ (KAWACHI *et al.*, 2002).
11 O NO₂⁻ formado é convertido a NH₄⁺ nos plastídios, pela ação da enzima nitrito
12 redutase. O NH₄⁺ resultante, ou absorvido diretamente, é assimilado em
13 aminoácidos pela ação das enzimas glutamina sintetase e glutamato sintase
14 (KRAPP, 2015) (Figura 2).

15 O NH₄⁺ absorvido diretamente pelas raízes é preferencialmente
16 assimilado de forma rápida nesse local para evitar os seus efeitos tóxicos. Essa
17 reação de assimilação ocorre quando a enzima glutamina sintetase combina o
18 NH₄⁺ com glutamato para formar o aminoácido glutamina (TAIZ *et al.*, 2017)
19 (Figura 2).

20



1

2 **Figura 2:** Esquema da assimilação de N pelas raízes e folhas das plantas. O NO_3^- e NH_4^+ são
 3 absorvidos pelas células das raízes e podem ser assimilados na própria raiz ou serem
 4 transportados pelo xilema até as células foliares. (RN: nitrato redutase; RNi: nitrito redutase;
 5 GS: glutamina sintetase; GOGAT: glutamato sintase; GLN: glutamina; GLU: glutamato
 6 (modificado de: BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

7

8 Com o aumento da emissão de N reativo na atmosfera, a deposição
 9 de compostos nitrogenados também aumentou de forma significativa. Alguns
 10 estudos sugerem que algumas florestas, principalmente as mais próximas de
 11 grandes centros, receberam grande carga de compostos de N, e chegaram ao
 12 ponto de serem classificadas como saturadas do nutriente (ALLEN *et al.*,
 13 2011).

14 A manutenção da biodiversidade depende de um equilíbrio entre as
 15 espécies coexistentes em um ecossistema e, a deposição de N favorece
 16 algumas espécies vegetais mais dependentes de N em comparação a outras
 17 espécies que são prejudicadas ou menos favorecidas com o excesso deste
 18 nutriente (GARCIA; CARDOSO; SANTOS, 2013).

1 Outros estudos indicam que respostas metabólicas e fisiológicas são
2 dependentes de características ecofisiológicas das espécies arbóreas quando
3 se trata do aumento do N disponível, sendo algumas delas: demanda por
4 nutrientes, tolerância ou intolerância à sombra e taxa de crescimento (MO; LI;
5 GUNDERSE, 2008; TRIPATHI; RAGHUBANSHI, 2014; GARGALLO-GARRIGA
6 *et al.*, 2017). Uma deposição elevada de N a longo prazo pode causar efeitos
7 negativos, como o aumento de NH_4^+ no solo, causando acidificação e
8 toxicidade para as plantas (BOBBINK *et al.*, 2010). Além disso, o excesso de N
9 reativo, quando alcança águas superficiais, induz o processo de eutrofização, o
10 que causa grande perda de biodiversidade (PIERZYNSKI *et al.*, 2005).

11 Atualmente, existem alguns estudos que avaliaram as possíveis
12 consequências do aumento da deposição de N em florestas. Mao *et al.*, (2018)
13 demonstraram que a deposição simulada de N em espécies de sub-bosque em
14 uma floresta tropical no sul da China, levou ao acúmulo de N foliar em todas as
15 espécies arbóreas estudadas, mesmo que essas já vivessem em um ambiente
16 rico em N. Além do maior acúmulo de N, foi possível observar um desequilíbrio
17 nutricional nas plantas e a redução de sua capacidade fotossintética (MAO *et*
18 *al.*, 2018). Lu *et al.*, (2010) observaram que, com o aumento da deposição de
19 N, ocorreu diminuição na diversidade de espécies em uma floresta tropical na
20 China. Isso pode ter ocorrido devido aos diferentes nichos ocupados pelas
21 espécies, que são restringidas por diferentes recursos (TILMAN; PACALA,
22 1993; FARGIONE *et al.*, 2007).

23 Em 2003, Aidar *et al.* observaram que espécies arbóreas da Mata
24 Atlântica que pertencem a diferentes grupos sucessionais podem apresentar
25 diferentes estratégias na absorção e na assimilação do N. As espécies
26 intolerantes à sombra demonstram certa preferência pela absorção e
27 assimilação de NO_3^- , pois a atividade da enzima NR é alta nas folhas e é
28 grande o transporte desse íon na seiva do xilema. Em contrapartida, as
29 espécies tolerantes à sombra apresentam baixa atividade da NR nas folhas e
30 um maior transporte de aminoácidos na seiva do xilema, o que indica maior
31 assimilação de N nas raízes (AIDAR *et al.*, 2003).

1 Os mesmos resultados foram observados nos trabalhos de Oliveira
2 *et al.* (2017) e Debiasi *et al.* (2019), nos quais mudas de espécies arbóreas
3 nativas da Mata Atlântica de diferentes grupos sucessionais (tolerantes e
4 intolerantes à sombra) foram tratadas com soluções contendo fontes de NH_4^+ e
5 NO_3^- . As espécies intolerantes à sombra apresentaram alta atividade da NR
6 foliar, indicando preferência na absorção de NO_3^- , já as espécies tolerantes à
7 sombra apresentaram baixa atividade da NR foliar e grande transporte de
8 aminoácidos na seiva do xilema, sugerindo maior assimilação de N nas raízes.

9 Um estudo realizado por Bardy (2020) envolvendo espécies
10 arbóreas nativas de Mata Atlântica de diferentes grupos ecológicos, avaliou a
11 resposta de mudas após serem cultivadas com adição de N. Foi observado um
12 aumento no acúmulo de NO_3^- nas folhas de *Croton floribundus* (espécie
13 intolerante à sombra) e *Guarea kunthiana* (espécie tolerante à sombra), sendo
14 que a última também acumulou aminoácidos e N total. Em *Aspidosperma*
15 *polyneuron* (espécie tolerante à sombra), foi observada maior atividade da NR
16 foliar e transporte de aminoácidos na seiva do xilema e, nas folhas de
17 *Astronium graveolens* (espécie intolerante à sombra), acúmulo de proteínas. As
18 respostas das espécies tratadas com N em casa de vegetação obtidas por
19 Bardy (2020) indicam que existem diferentes estratégias das plantas quando
20 expostas a elevadas quantidades de N. Além disso, alguns parâmetros
21 demonstraram melhores biomarcadores do que outros, como o NO_3^- em
22 relação ao NH_4^+ .

23 Outros estudos que foram desenvolvidos em florestas tropicais
24 demonstraram que o aumento da concentração de N foliar pode ser
25 acompanhado de um acúmulo de aminoácidos (individuais ou totais) e também
26 de proteínas nas folhas das espécies arbóreas. Isso pode ocorrer quando as
27 espécies estão expostas a grandes quantidades de N, e assim, podem
28 responder ao estresse ambiental acumulando metabólitos de N, principalmente
29 nas folhas (BAUER *et al.*, 2000; BUBIER *et al.*, 2011).

30 Apesar de já existirem alguns estudos que avaliaram as prováveis
31 consequências do excesso de N nas florestas, os estudos envolvendo o Bioma
32 Atlântico são escassos. Estudos como os de Aidar *et al.* (2003), Oliveira *et al.*

1 (2017), Debiasi *et al.* (2019) e Bardy (2020) foram essenciais para esclarecer
2 como o N pode agir de diferentes formas em diferentes grupos ecológicos.
3 Porém, é interessante analisar se os fatores observados se repetem no
4 ambiente florestal, já que a Mata Atlântica, principalmente a FES, atualmente
5 está exposta às condições de grande deposição de N.

6 Explorar melhor o efeito do aumento de N no solo em espécies
7 arbóreas do Bioma Mata Atlântica é importante para que possamos prever
8 possíveis modificações na biodiversidade e comunidades vegetais, além de
9 propor novas estratégias para a conservação. A avaliação das respostas
10 metabólicas é essencial para identificar espécies bioindicadoras e
11 biomarcadores do excesso de N no solo (DÍAZ-ÁLVAREZ; LINDIG-CISNEROS;
12 BARRERA, 2018).

13

1 **2. OBJETIVO**

2 Avaliar os parâmetros do metabolismo do N em seis espécies
3 arbóreas nativas de diferentes grupos ecológicos presentes em duas bordas de
4 um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual expostas ou não à
5 influência da matriz agrícola adjacente.

6

1 **3. HIPÓTESE**

2 Diferente dos indivíduos das espécies arbóreas que ocorrem
3 adjacentes ao reflorestamento, aqueles que ocorrem adjacentes ao cultivo
4 agrícola apresentam alterações em traços relacionados ao metabolismo do N
5 que indicam uma maior disponibilidade desse nutriente.

6 Espécies arbóreas tolerantes e intolerantes à sombra pertencentes
7 ao ambiente florestal apresentarão diferentes respostas em relação aos
8 parâmetros do metabolismo do N.

9

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ESPÉCIES ESTUDADAS

Foram utilizadas seis espécies arbóreas nativas da Floresta Estacional Semidecidual. As espécies são pertencentes a grupos ecológicos distintos, sendo três intolerantes à sombra, e três tolerantes à sombra.

Croton floribundus Spreng. pertence à família Euphorbiaceae e é conhecida popularmente como capixingui. É heliófita, podendo ser decídua ou semidecídua. É muito característica de mata primária e secundária e é encontrada nas bordas florestais (LORENZI, 1992).

Heliocarpus popayanensis Kunth. pertence à família Malvaceae e é conhecida também como jangadeiro, é uma espécie semidecídua, e heliófita. É encontrada em clareiras e beira de matas, principalmente em formações secundárias (LORENZI, 2008).

Astronium graveolens Jacq. pertence à família Anacardiaceae e é uma árvore semidecídua (PERINA, 2011), emergente, que demanda luz e possui madeira densa (CARVALHO, 2006). É frequentemente encontrada no cerrado, cerradão, florestas ribeirinhas e florestas estacionais semidecíduais (SANTIN, 1989).

Aspidosperma polyneuron Müll. Arg. pertence à família Apocynaceae, também conhecida como Peroba-Rosa, é semidecídua (PERINA, 2011). Ocorre geralmente em solos férteis e profundos, exclusivamente no interior da floresta primária densa (LORENZI, 1992). É uma espécie tolerante à sombra e emergente quando adulta, atingindo até 30 metros de altura (CHAGAS E SILVA; SOARES SILVA, 2000).

Cabralea canjerana (Vell). Mart. é uma espécie pertencente à família Meliaceae, e é considerada perene (PERINA, 2011). É uma espécie tolerante à sombra que atinge o dossel (CHAGAS E SILVA; SOARES-SILVA, 2000)

Guarea kunthiana A. Juss. é uma espécie perene que pertence à família Meliaceae (PERINA, 2011). É uma espécie tolerante à sombra que ocupa o subosque e atinge até 10 metros quando adulta (CHAGAS E SILVA; SOARES-SILVA, 2000).

4.2. COLETA DE DADOS

A coleta foi realizada no Parque Estadual Mata dos Godoy, que está localizado na Fazenda Santa Helena – Distrito de Espírito Santo, localizado a 15 km do centro de Londrina. O fragmento possui 675,60 ha de Floresta Estacional Semidecidual, e está inserido no Bioma Mata Atlântica (INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ, 2017). A Mata dos Godoy é considerada uma das principais áreas de preservação ambiental do estado do Paraná; porém, hoje se encontra circundada por culturas agrícolas produtoras de soja, milho e trigo.

Um dos locais estudados no fragmento está em contato direto com cultura agrícola, a qual chamamos de borda adjacente ao cultivo agrícola, estando mais passível de ser afetada pelo uso dos fertilizantes agrícolas. A outra borda estudada está em contato direto com um sítio de restauração florestal, que foi implantado no ano de 1990, estando assim protegida do uso dos fertilizantes, a qual foi utilizada como referência (Figura 3).



Figura 3: Imagem aérea do Parque Estadual Mata dos Godoy. A região adjacente ao cultivo agrícola está indicada como BAC e a região adjacente ao reflorestamento está indicada como BAR. As duas linhas brancas indicam as áreas das bordas onde ocorreram as coletas (Google Earth, 2019).

1 Foram amostrados sete indivíduos de cada espécie na borda
2 adjacente ao cultivo agrícola (BAC) e sete na borda adjacente ao
3 reflorestamento (BAR), totalizando quatorze indivíduos para cada uma das
4 espécies. A coleta foi feita através de busca ativa, coletando preferencialmente
5 de indivíduos mais jovens, com crescimento secundário, aparentemente sadios
6 e pouco predados, que não estivessem diretamente expostos à luz solar, e que
7 se encontrassem no máximo até dez metros do início da borda em direção ao
8 interior da floresta.

9 As coletas foram realizadas nos anos de 2017 e 2019, no mês de
10 abril, em que ocorre o cultivo de milho. Nessa fase, a aplicação de fertilizantes
11 nitrogenados na cultura é muito comum, o que aumenta as chances de se
12 detectar um possível excesso de N nas espécies arbóreas coletadas. Os
13 fertilizantes nitrogenados que são comumente aplicados nessa época são a
14 ureia ((NH₂)₂CO) e o sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) (BARBOSA FILHO *et al.*,
15 2014).

16 Para coletar a seiva do xilema, foi selecionado um galho que já
17 apresentasse crescimento secundário. Suas folhas foram retiradas antes da
18 coleta da seiva e a casca foi retirada com um estilete. Foi utilizada uma bomba
19 a vácuo manual que extraiu a seiva do xilema a partir da pressão negativa
20 criada. A seiva coletada foi imediatamente armazenada em gelo e
21 posteriormente mantida no congelador (-20°C) até o momento das análises de
22 NO₃⁻, NH₄⁺ e aminoácidos totais.

23 As folhas coletadas para a análise dos metabólitos nitrogenados
24 primários foram limpas com água destilada. Amostras de folha (0,2 g) foram
25 imediatamente armazenadas em 5 mL de solução MCW
26 (metanol:clorofórmio:água, 12:5:3, v/v/v), que foi mantida em geladeira até o
27 momento da extração.

28 Para a análise da atividade da enzima nitrato redutase *in vivo*, foram
29 utilizadas folhas frescas, que foram limpas e pesadas (0,15 g) imediatamente
30 após a coleta.

31

4.3. CARACTERIZAÇÃO DAS BORDAS FLORESTAIS

Para caracterizar as condições microclimática e edáfica das duas bordas, foram verificados parâmetros como luminosidade, temperatura do ar, umidade do ar e do solo, nutrientes e características físico-químicas do solo.

No ano de 2017 foi realizada a coleta do solo nas duas bordas florestais, seis amostras em cada borda, totalizando doze amostras de solo. A coleta foi realizada utilizando um trado, a serapilheira foi removida e o trado inserido na camada superficial do solo (0 – 10 cm). O solo foi armazenado em sacos plásticos, vedado e mantido em geladeira até o momento da análise. A partir das amostras de solo foram feitas análises de pH, matéria orgânica, carbono (C), nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), capacidade de troca catiônica (CTC) efetiva e saturação por bases, no Instituto de Tecnologia e Laboratório (Londrina – PR).

Em 2019, foram realizadas oito medidas de luminosidade em cada borda durante o período da manhã (entre 9 e 10 horas), utilizando-se um luxímetro, e um densiômetro. Com o luxímetro, foram feitas 8 medidas dentro da mata nas duas bordas (até 10 m da borda e próximos da coleta das espécies arbóreas), seguidas de medidas sob sol pleno. O luxímetro mede a incidência de luz solar em lux, que corresponde à incidência de 1 lúmen em uma superfície de 1 m², medida com luxímetro digital modelo LX1010B (Politem).

$$Luminosidade (\%) = \frac{\text{Medida dentro da mata}}{\text{Medida sob sol pleno}} \times 100$$

O dado de cobertura do dossel foi obtido utilizando um densiômetro (Lemmon, 1956) e as medidas foram feitas na altura do peito (1,3 m).

Medidas de temperatura e umidade relativa do ar foram feitas no ano de 2019 através de data loggers (Easy Log USB) instalados no local (5 para cada borda) os quais foram presos nos troncos das árvores na altura do peito (1,3 m). Para a temperatura e umidade relativa do ar foram calculadas as amplitudes diárias durante 8 dias.

4.4. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

EXTRAÇÃO DOS METABÓLITOS PRIMÁRIOS

Após ao menos 15 dias de armazenamento na solução de MCW, as amostras de folhas foram pulverizadas em N₂ líquido. O extrato foi centrifugado a 13700 x g por 30 minutos e o sobrenadante foi coletado. Ao sobrenadante, foram adicionados clorofórmio e água (proporção de 4 volumes de sobrenadante:1 volume de clorofórmio:1,5 volume de água). A solução foi agitada em vórtex e mantida em temperatura ambiente por 24 horas. O sobrenadante foi coletado e medido seu volume após volatilização da parte hidrofóbica em banho maria para as dosagens de compostos de baixo peso molecular (aminoácidos, NO₃⁻ e NH₄⁺ (OLIVEIRA; SODEK, 2013).

As proteínas foram extraídas do precipitado obtido na extração do MCW. O precipitado foi lavado com 6 mL de água destilada, seguido por agitação no vórtex e depois centrifugando a 1300 x g por 30 minutos. A água foi retirada com pipeta e descartada. Foi adicionado 1 mL de NaOH 0,1 M ao resíduo lavado, agitado em vórtex e mantido por 24 horas em temperatura ambiente. Os tubos passaram novamente pela centrífuga a 13700 x g por 20 minutos e o sobrenadante coletado para a dosagem de proteínas em espectrofotômetro.

Para as dosagens feitas na seiva do xilema não foi necessária a extração dos metabólitos.

ANÁLISE DOS METABÓLITOS

A concentração de NO₃⁻ foi determinada após a redução de NO₃⁻ a NO₂⁻ pelo cloreto de vanádio (VCl₃ 0,4% em HCl 0,5 M). O NO₂⁻ resultante da reação foi dosado usando o reagente de Griess (sulfanilamida 1% em HCl 1,5 N e N-(naftil)-etilenodiamina 0,02%) através da leitura da absorbância a 540 nm (MIRANDA *et al.*, 2001).

O NH₄⁺ foi quantificado pela leitura de absorbância de 625 nm após 35 minutos a 37°C na reação de Berthelot com o uso de dois reagentes:

1 reagente 1 (fenol 1% e nitroprussiato de sódio 0,02mM) e reagente 2 (NaOH
2 125 mM, Na₂HPO₄ 150mM e NaClO 0,12%). (MCCULLOUGH, 1967).

3 Os aminoácidos livres totais foram determinados utilizando tampão
4 citrato 0,2 M (pH 5), ninhidrina 5% (em metilcelusolve) e KCN 0,01 M (em
5 metilcelusolve). Após a adição dos reagentes, os tubos foram tampados e
6 mantidos a 100 °C por 20 minutos em banho-maria. Para finalizar foi
7 adicionado etanol 60% e leu-se a absorbância a 570 nm (YEMM; COCKING,
8 1955).

9 O conteúdo de proteínas foi determinado seguindo as especificações
10 do fabricante, com a utilização do reagente Coomassie Brilliant Blue G-250 da
11 Bio-Rad, utilizando comprimento de onda de 595 nm (BRADFORD, 1976).

12 Em todas as análises citadas acima, a leitura das absorbâncias foi
13 realizada por um leitor de microplacas Spectra Max Plus 384 (Molecular
14 Devices).

15

16 **ANÁLISE *IN VIVO* DA ENZIMA NITRATO REDUTASE**

17 A atividade da enzima nitrato redutase (NR) foi determinada *in vivo*,
18 imediatamente após a coleta de material vegetal fresco, com base no método
19 de extração proposto por Stewart *et al.* (1986). Amostras de folhas foram
20 transferidas para o meio de reação (K₂HPO₄ 0,05 M; pH 7,5; propanol 1% e
21 KNO₃ 0,05 M), submetidas à baixa pressão para infiltração do meio nos tecidos
22 e, subsequentemente, mantidas no escuro por 40 minutos à temperatura
23 ambiente. Uma alíquota foi coletada para dosagem de NO₂⁻, resultante da NR,
24 pela reação com o reagente de Griess e leitura da absorbância a 540 nm
25 (HAGEMAN; REED, 1980).

26

27 4.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

28 **CARACTERIZAÇÃO DAS BORDAS**

29 Os resultados de cada borda (por ano, separadamente) foram
30 submetidas a um teste de normalidade (Shapiro-Wilk), e um teste de
31 homogeneidade das variâncias (Bartlett).

1 Os diferentes parâmetros analisados foram submetidos a um teste *t*
2 de Student, comparando a média da BAC em relação à referência (BAR),
3 utilizando o programa Instat. As amplitudes térmica e de umidade foram
4 submetidas ao mesmo teste, comparando a amplitude diária durante 8 dias
5 entre as duas bordas.

6

7 **ANÁLISES METABÓLICAS**

8 Foi feita uma análise de componentes principais, relacionando as
9 espécies coletadas nas duas bordas com as variáveis analisadas, permitindo
10 verificar a variância entre os dados. Uma PERMANOVA foi feita para verificar
11 se o efeito das bordas foi significativo para cada espécie. A PCA e
12 PERMANOVA foram realizadas no software PAST 4.02.

13 As respostas metabólicas das espécies arbóreas expostas ao cultivo
14 agrícola estão representadas por meio de gráficos radares que foram
15 construídos a partir das razões entre as bordas (BAC/BAR) transformadas em
16 \log_{10} . As médias e erros padrão referentes aos parâmetros metabólicos podem
17 ser verificados nos Apêndices 1 e 2.

18

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS BORDAS

Não foram observadas diferenças da cobertura do dossel, amplitude térmica, amplitude de umidade do ar e umidade do solo entre as bordas (Figuras 4 e 5). Já a incidência de luz foi maior na BAR quando comparada a incidência na BAC (Figura 4).

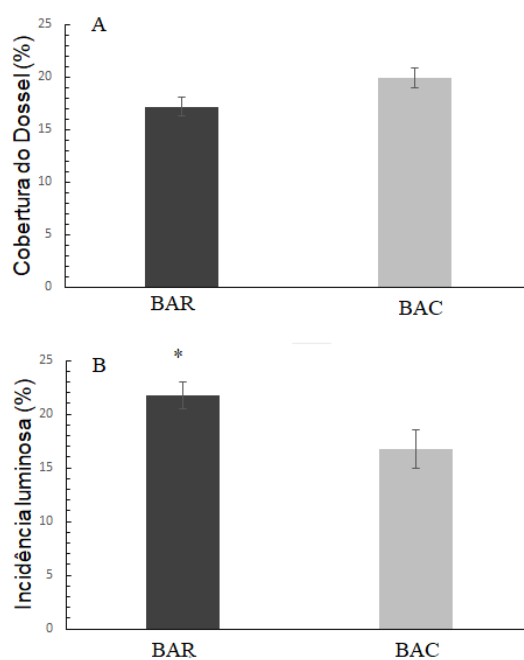
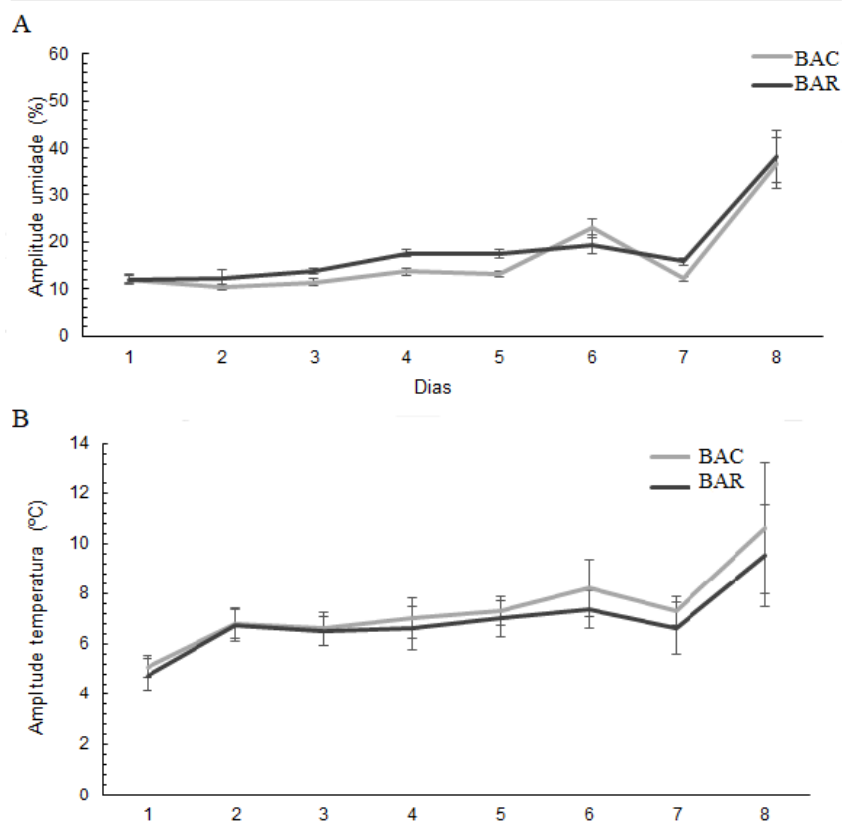


Figura 4. Cobertura do dossel (A) e Incidência luminosa (B) (em %) nas duas bordas do fragmento florestal (BAR: borda adjacente ao reflorestamento e BAC: borda adjacente ao cultivo agrícola. As colunas são médias + erro-padrão (n=7).



1

2 **Figura 5.** Amplitude de umidade (A) (%) e temperatura (B) (°C) durante oito dias em duas
 3 bordas do fragmento florestal. (BAR: borda adjacente ao reflorestamento e BAC: borda
 4 adjacente ao cultivo agrícola). As linhas são médias \pm erro padrão (n=8).

5

6 Dentre os parâmetros do solo analisados, o pH, a CTC efetiva, a
 7 saturação por bases, a quantidade de matéria orgânica, carbono, cálcio e
 8 magnésio foram maiores (1,2; 2,3; 1,8; 1,3; 1,36; 3 e 1,9 vezes,
 9 respectivamente) na BAR. Não foram encontradas diferenças no N total e
 10 potássio, enquanto que o nível de fósforo foi aproximadamente 1,6 vezes maior
 11 na BAC (Tabela 1)

12

13

14

15

16

17

1 **Tabela 1:** Atributos edáficos em fragmento de Floresta Estacional Semidecidual na borda
 2 agrícola (BAC) e na borda do reflorestamento (BAR). Os valores indicam média \pm erro padrão
 3 ($n=6$) dos seguintes parâmetros: pH, matéria orgânica, carbono (C), nitrogênio total (N), fósforo
 4 (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), capacidade de troca de cátions, saturação por
 5 bases, NO_3^- e NH_4^+ (***) $p < 0,001$; NS: diferença não significativ; teste t de Student).

	BAR	BAC
pH	5,57 \pm 0,03 ***	4,66 \pm 0,16
Matéria orgânica (gdm⁻³)	45,39 \pm 1,65 ***	34,27 \pm 1,4
C (gdm⁻³)	26,41 \pm 0,96 ***	19,92 \pm 0,81
N (gdm⁻³)	8,4 \pm 0,65 NS	7,81 \pm 0,53 NS
P (mgdm⁻³)	2,07 \pm 0,2	3,36 \pm 0,21 ***
K (cmol_cdm⁻³)	0,34 \pm 0,08 NS	0,21 \pm 0,03 NS
Ca (cmol_cdm⁻³)	9,37 \pm 0,57 ***	3,91 \pm 0,7
Mg (cmol_cdm⁻³)	2,33 \pm 0,11 ***	1,22 \pm 0,18
CTC efetiva (cmol_cdm⁻³)	12,04 \pm 0,62 ***	5,34 \pm 0,86
Saturação por bases (%)	77 \pm 1,5 ***	43,32 \pm 6,15
Umidade (%)	5,29 \pm 0,39 NS	5,52 \pm 0,1 NS

6
7

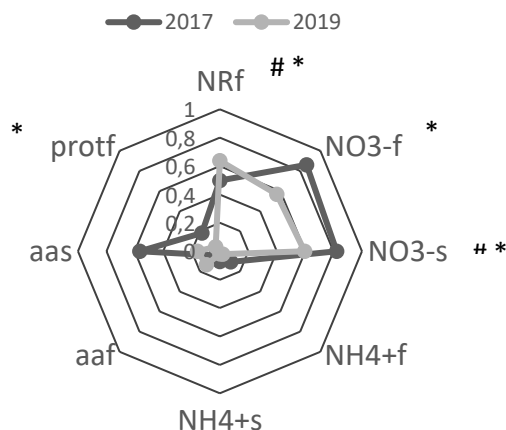
8 5.2. ANÁLISES METABÓLICAS

9 Em ambos os anos analisados, indivíduos de *C. floribundus*
 10 localizados na BAC apresentaram maiores taxas de atividade da NR foliar e
 11 maiores níveis de NO_3^- na seiva do xilema em relação aos amostrados no local
 12 de referência, a borda do reflorestamento. Também foi observado maior
 13 concentração de NO_3^- e proteínas nas folhas de *C. floribundus* na BAC em
 14 relação à referência apenas na coleta realizada em 2017 (Figura 6).

15 Nos indivíduos de *H. popayanensis* localizados na BAC, houve maior
 16 concentração de NO_3^- na seiva do xilema e maiores níveis de proteínas nas
 17 folhas nos dois anos de coleta. Somente no ano de 2017, verificou-se maior
 18 nível de NH_4^+ nas folhas dos indivíduos da BAC e maior atividade da NR; em
 19 2019, houve maior concentração de NO_3^- nas folhas (Figura 7).

1 Em *A. graveolens*, apenas no ano de 2017, os indivíduos na BAC
 2 demonstraram maior concentração de NO_3^- e maior atividade da NR nas folhas
 3 (Figura 7).

4



5

6 **Figura 6.** Comparações das respostas metabólicas de *Croton floribundus* entre indivíduos
 7 localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola
 8 (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da
 9 obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas
 10 em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO3-f**: concentração de NO_3^- na
 11 folha; **NO3-s**: concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH4+f**: concentração de NH_4^+ na
 12 folha; **NH4+s**: concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na
 13 folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. *
 14 representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença
 15 significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (* $p < 0,05$; # $p < 0,05$).

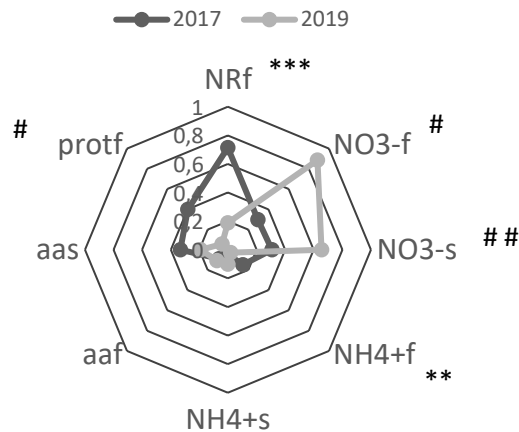
16

17

18

19

20



1

2 **Figura 7.** Comparações das respostas metabólicas de *Heliocarpus popayanensis* entre
3 indivíduos localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola
4 (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da
5 obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas
6 em \log_{10} . **NRf:** Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃-f:** concentração de NO₃⁻ na
7 folha; **NO₃-s:** concentração de NO₃⁻ na seiva do xilema; **NH₄+f:** concentração de NH₄⁺ na
8 folha; **NH₄+s:** concentração de NH₄⁺ na seiva do xilema; **aaf:** concentração de aminoácidos na
9 folha; **aas:** transporte de aminoácidos na seiva; **protf:** concentração de proteínas na folha. *
10 representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença
11 significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$; # $p < 0,05$; ##
12 $p < 0,01$).

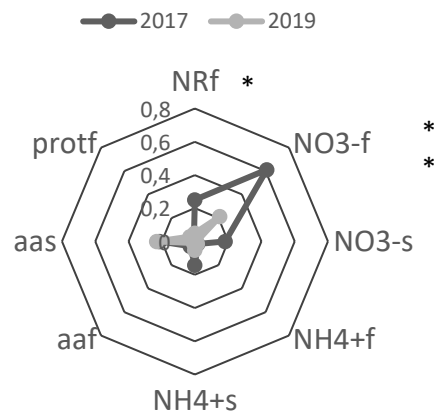
13

14 *Aspidosperma polyneuron* apresentou maior concentração de NO₃⁻
15 na seiva e maior conteúdo de NO₃⁻ na folha de indivíduos localizados na BAC
16 quando comparados aos localizados na BAR, em 2017 e 2019. Houve maior
17 conteúdo de aminoácidos na seiva do xilema somente na coleta de 2017 e
18 maior atividade da NR foliar em 2019, nos indivíduos localizados na BAC
19 (Figura 9).

20 Nos dois anos de coleta, *C. canjerana* apresentou maior acúmulo de
21 proteínas nas folhas de indivíduos localizados em BAC. Somente na coleta de
22 2017, notou-se maior conteúdo de NH₄⁺ na seiva do xilema e maior atividade
23 da NR foliar. Já na coleta de 2019 foi possível observar que os indivíduos
24 próximos à agricultura apresentaram maior concentração de NO₃⁻ e NH₄⁺ nas
25 folhas (Figura 10).

26 Nos dois anos de coleta, os indivíduos de *G. kunthiana* próximos à
27 agricultura conduziram mais NO₃⁻ na seiva do xilema e acumularam mais
28 proteína nas folhas. Em 2017, foi observada uma maior condução de

- 1 aminoácidos na seiva do xilema e, em 2019, um aumento na atividade da NR
 2 foliar e acúmulo foliar de NH_4^+ na BAC (Figura 11).

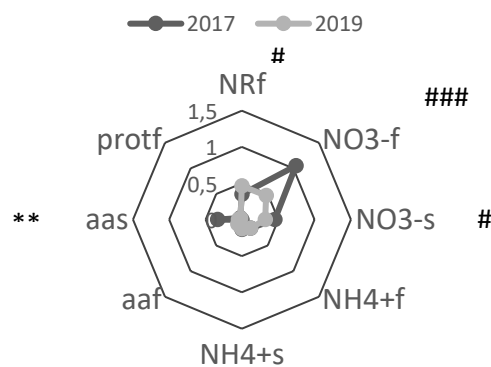


3

- 4 **Figura 8.** Comparações das respostas metabólicas de *Astronium graveolens* entre indivíduos
 5 localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da
 6 obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas
 7 em \log_{10} . **NRf:** Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO3-f:** concentração de NO_3^- na
 8 folha; **NO3-s:** concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH4+f:** concentração de NH_4^+ na
 9 folha; **NH4+s:** concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf:** concentração de aminoácidos na
 10 folha; **aas:** transporte de aminoácidos na seiva; **protf:** concentração de proteínas na folha. *
 11 representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença
 12 significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$).

14

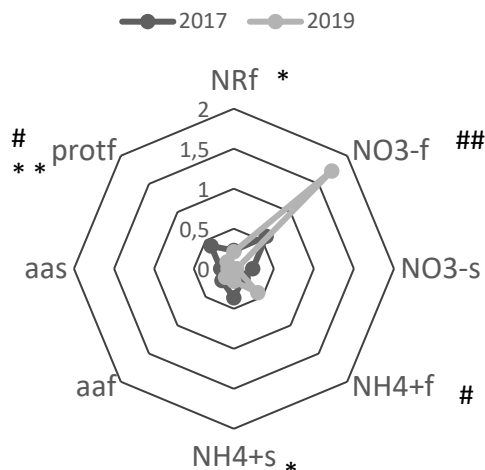
15



16

- 17 **Figura 9.** Comparações das respostas metabólicas de *Aspidosperma polyneuron* entre indivíduos
 18 localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da
 19 obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas
 20 em \log_{10} . **NRf:** Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO3-f:** concentração de NO_3^- na
 21 folha; **NO3-s:** concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH4+f:** concentração de NH_4^+ na
 22 folha; **NH4+s:** concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf:** concentração de aminoácidos na
 23 folha; **aas:** transporte de aminoácidos na seiva; **protf:** concentração de proteínas na folha. *
 24 representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença
 25 significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

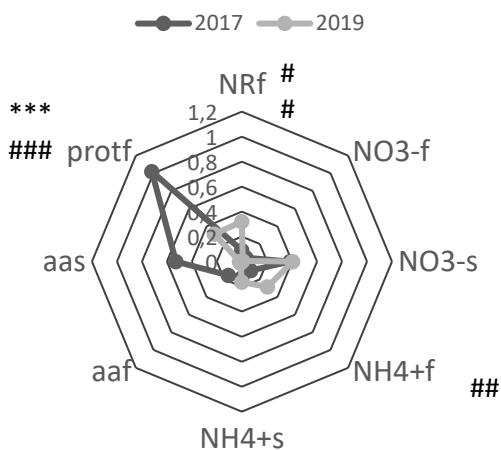
26



1

2 **Figura 10.** Comparações das respostas metabólicas de *Cabralea canjerana* entre indivíduos
3 localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da
4 obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas
5 em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO3-f**: concentração de NO_3^- na
6 folha; **NO3-s**: concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH4+f**: concentração de NH_4^+ na
7 folha; **NH4+s**: concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na
8 folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. *
9 representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença
10 significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ###
11 $p < 0,001$).

13



14

15 **Figura 11.** Comparações das respostas metabólicas de *Guarea kunthiana* entre indivíduos
16 localizados na borda adjacente ao cultivo agrícola (BAC) com indivíduos localizados na borda do reflorestamento (BAR), apresentadas a partir da
17 obtenção das razões entre as avaliações dos resultados das bordas (BAC/BAR) transformadas
18 em \log_{10} . **NRf**: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO3-f**: concentração de NO_3^- na
19 folha; **NO3-s**: concentração de NO_3^- na seiva do xilema; **NH4+f**: concentração de NH_4^+ na
20 folha; **NH4+s**: concentração de NH_4^+ na seiva do xilema; **aaf**: concentração de aminoácidos na
21 folha; **aas**: transporte de aminoácidos na seiva; **protf**: concentração de proteínas na folha. *
22 representa diferença significativa entre BAC e BAR no ano de 2017 e # representa diferença
23 significativa entre BAC e BAR no ano de 2019 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; # $p < 0,05$; ###
24 $p < 0,001$).

25

5.3. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) baseada nos dados metabólicos de 2017 explicou cerca de 57% da variância dos dados nos dois primeiros componentes (CP1: 31,797%; CP2: 24,85%). As variáveis metabólicas analisadas estão representadas por vetores, e a média de cada espécie por borda está representada pelos círculos preenchidos (Figura 12).

É possível observar nos resultados obtidos no ano de 2017 que as espécies *C. floribundus*, *H. popayanensis* e *A. polyneuron* se relacionaram positivamente com as variáveis aminoácidos na seiva, atividade da NR e concentração de NH_4^+ foliares e com o conteúdo de aminoácidos nas folhas, respectivamente. *H. popayanensis* e *A. polyneuron* localizaram-se em extremos opostos do CP1. Houve clara separação entre BAR e BAC para as espécies *A. polyneuron* e *G. kunthiana* no CP1, relacionada positivamente com os teores de NO_3^- e proteínas na folha. Já para *C. floribundus* e *H. popayanensis*, a separação entre as bordas ocorreu principalmente na CP2, relacionada às variáveis aminoácidos na seiva (*C. floribundus*) e NH_4^+ nas folhas (*H. popayanensis*). *A. graveolens* se relacionou positivamente com a variável NO_3^- na seiva e se encontra distante de *G. kunthiana* e *A. polyneuron* ao longo do CP1 (Figura 12).

A PCA baseada nos dados metabólicos de 2019 explicou cerca de 69% da variância dos dados nos dois primeiros componentes (CP1: 41,959%; CP2: 27,854%). Assim como em 2017, a espécie *H. popayanensis* se relacionou positivamente com a NR e o NH_4^+ foliar e *A. polyneuron* principalmente com os conteúdos foliares de NO_3^- e proteínas; ambas as espécies se localizaram em extremos opostos do CP1. Já *G. kunthiana* se relacionou positivamente com as variáveis de aminoácidos na seiva (na BAR) e na folha (na BAC). *C. floribundus* ficou oposta a *A. polyneuron* no CP1. Assim como em 2017, os indivíduos da BAR de *C. floribundus* e *H. popayanensis* se separaram dos indivíduos da BAC no CP2, assim como é evidente a separação entre as bordas em *A. polyneuron* no CP1. *C. canjerana* na BAC se relacionou positivamente com a variável aminoácidos na seiva no ano de 2019, e se encontra em lado oposto de *A. polyneuron* em relação ao CP1 (Figura 13).

1 Na tabela 2, estão indicados os valores de p das PERMANOVAS
2 dos anos de 2017 e 2019. Apenas as espécies *C. floribundus*, *G. kunthiana* e
3 *A. polyneuron* apresentaram diferença significativa nos parâmetros metabólicos
4 entre as bordas analisadas em ambos os anos. *C. canjerana* e *H.*
5 *popayanensis* só apresentaram diferença significativa na coleta de 2017,
6 enquanto *A. graveolens* não apresentou diferença entre as bordas em nenhum
7 dos anos estudados.

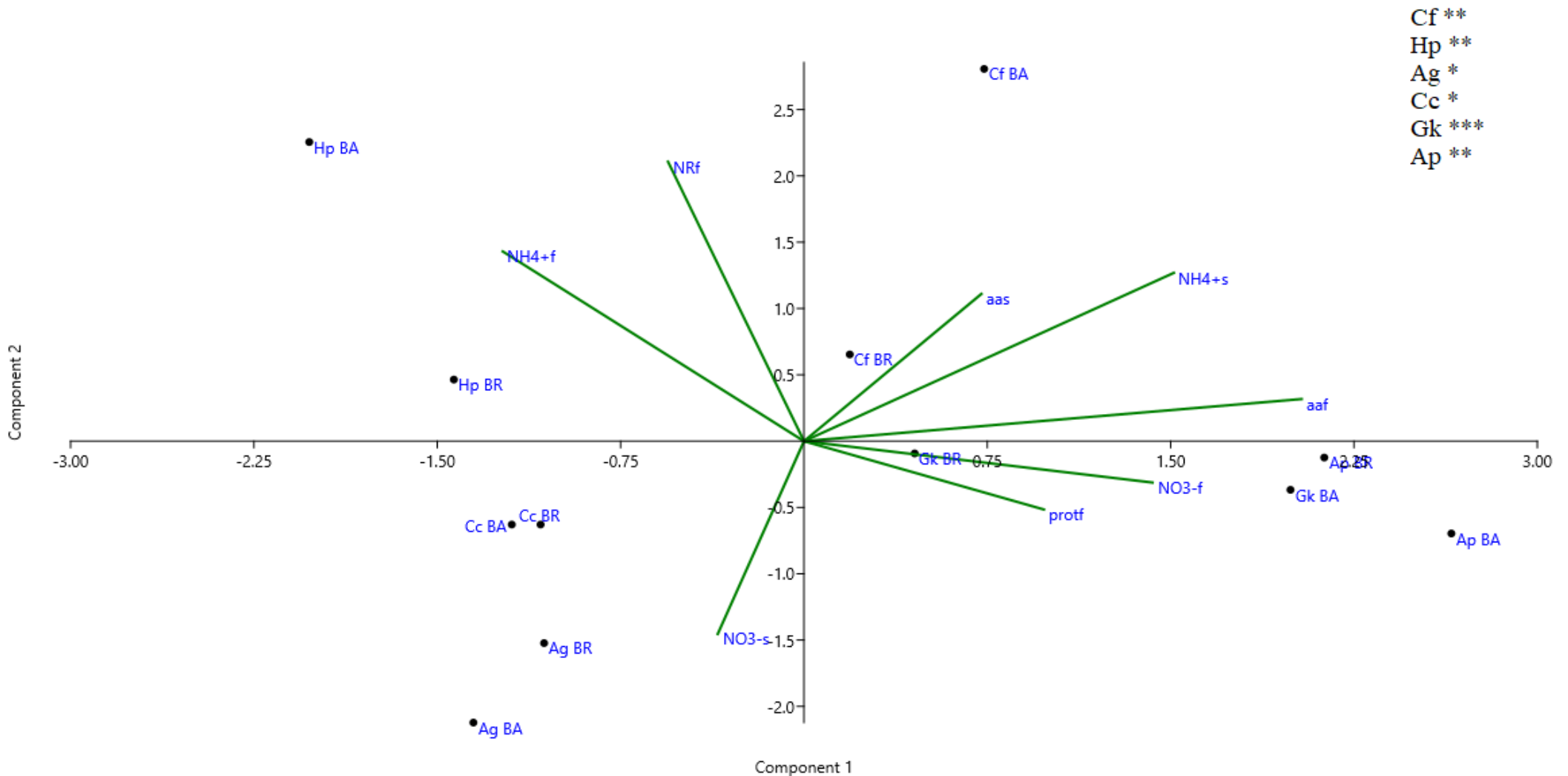


Figura 12. Análise de componentes principais com os dados coletados em 2017, com indivíduos localizados na borda do fragmento florestal adjacente ao cultivo agrícola (BAC) e na borda adjacente ao reflorestamento (BAR). Os pontos representam as espécies: *Croton floribundus* (CfBR e CfBA), *Heliocarpus popayanensis* (HpBR e HpBA), *Cabralea canjerana* (CcBR e CcBA), *Astronium graveolens* (AgBR e AgBA), *Guarea kunthiana* (GkBR e GkBA), *Aspidosperma polyneuron* (ApBR e ApBA). Os vetores representam as variáveis: atividade da NR foliar (NRf), acúmulo de NO_3^- foliar (NO_3^- f), transporte de NO_3^- na seiva do xilema (NO_3^- s), acúmulo de NH_4^+ foliar (NH_4^+ f), transporte de NH_4^+ na seiva (NH_4^+ s), acúmulo de aminoácidos(aaf), transporte de aminoácidos (aas) e acúmulo de proteínas (protf) (* PERMANOVA <0,05; ** PERMANOVA <0,01; *** PERMANOVA <0,001).

1

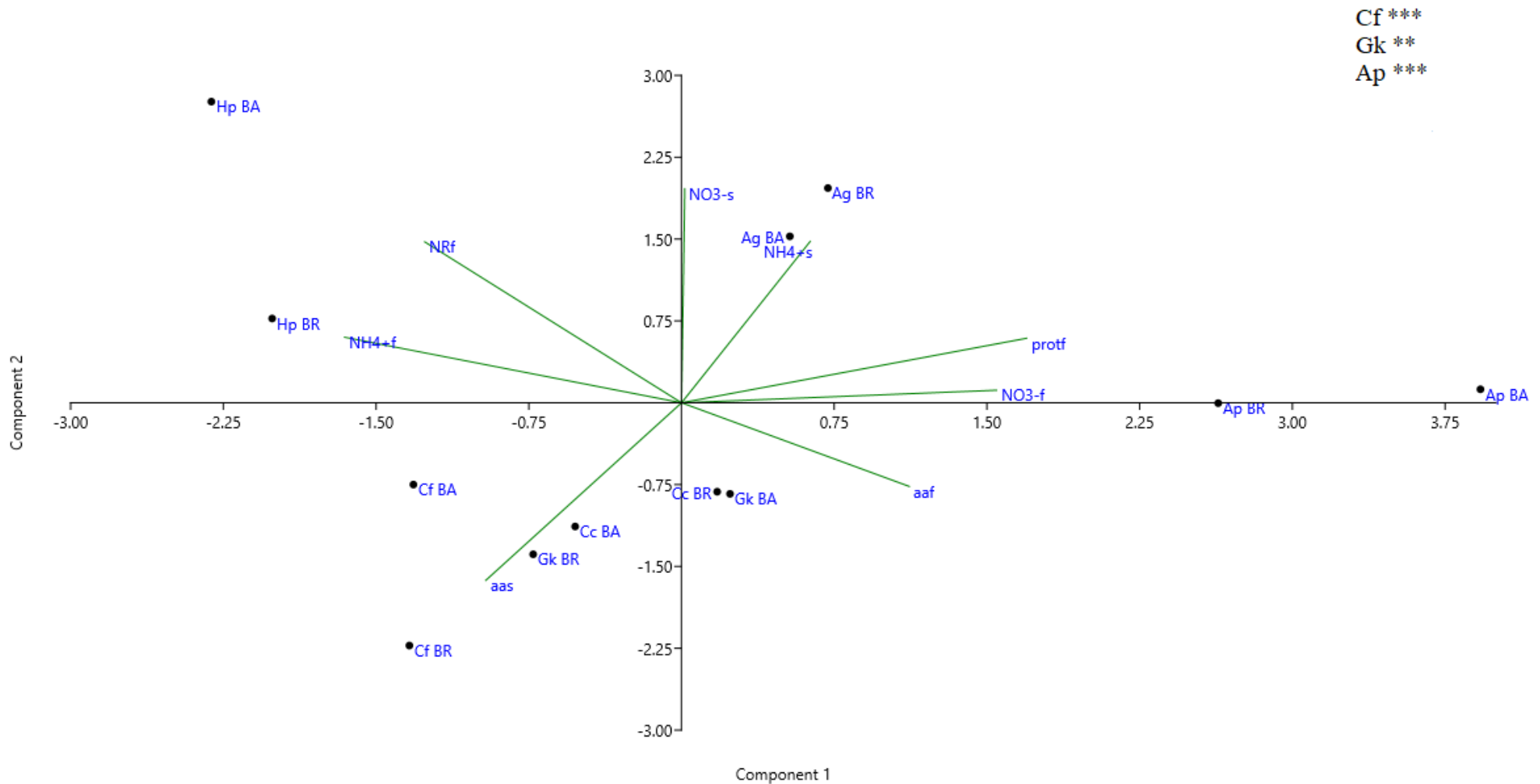


Figura 13. Análise de componentes principais com os dados coletados em 2019, com indivíduos localizados na borda do fragmento florestal adjacente ao cultivo agrícola (BAC) e na borda adjacente ao reflorestamento (BAR). Os pontos representam as espécies: *Croton floribundus* (CfBR e CfBA), *Heliconia popayanensis* (HpBR e HpBA), *Cabralea canjerana* (CcBR e CcBA), *Astronium graveolens* (AgBR e AgBA), *Guarea kunthiana* (GkBR e GkBA), *Aspidosperma polyneuron* (ApBR e ApBA). Os vetores representam as variáveis: atividade da NR foliar (NRf), acúmulo de NO₃⁻ foliar (NO₃⁻f), transporte de NO₃⁻ na seiva do xilema (NO₃⁻s), acúmulo de NH₄⁺ foliar (NH₄⁺f), transporte de NH₄⁺ na seiva (NH₄⁺s), acúmulo de aminoácidos(aaf), transporte de aminoácidos (aas) e acúmulo de proteínas (protf) (** PERMANOVA <0,01; *** PERMANOVA <0,001).

1 **Tabela 2.** Valores de *p* da PERMANOVA comparando os parâmetros: concentração de NO₃⁻
 2 nas folhas e seiva do xilema, concentração de NH₄⁺ nas folhas e seiva do xilema, concentração
 3 de aminoácidos nas folhas e seiva do xilema e concentração de proteínas nas folhas de
 4 indivíduos coletados nos anos de 2017 e 2019 em comparações feitas entre a BA e a BR Os
 5 asteriscos indicam diferenças significativas entre as bordas (* *p*<0,05; ** *p*< 0,01; *** *p*<0,001).

	BAC x BAR	BAC x BAR
	2017	2019
Cf	0,0048 **	0,0007 ***
Hp	0,0008 **	0,1481
Ag	0,316	0,7713
Cc	0,017*	0,0666
Gk	0,0009 ***	0,0018 **
Ap	0,0022 **	0,0006 ***

6

7

6. DISCUSSÃO

O microclima foi igual entre as bordas do fragmento comparadas, ou seja, a amplitude de temperatura, a umidade relativa do ar e a cobertura do dossel não diferiram entre a BAC e a BAR. Entretanto, a luminosidade foi menor na BAC, o que pode estar relacionado à maior ocupação de espécies heliófitas, como as lianas, na região de borda dos fragmentos florestais (LAURANCE; WILLIAMSON, 2001; SCHNITZER; DALLING; CARSON, 2000), o que pode diminuir a incidência luminosa no sub-bosque da BAC.

Nas análises do solo, ao contrário do que era esperado, a quantidade de N total não diferiu entre as duas bordas. O não acúmulo de N na BAC pode ter ocorrido devido à alta lixiviação do NO_3^- , o qual pode ser rapidamente perdido após a sua aplicação (BLOOM; SMITH, 2017). Porém, parâmetros como pH, matéria orgânica, C, Ca, Mg, CTC efetiva e saturação por bases foram maiores na BAR, o que pode indicar uma maior fertilidade no solo dessa região, sugerindo maior deposição de serapilheira proveniente do reflorestamento e da borda da floresta adjacente ao reflorestamento (PIMENTA *et al.*, 2011). A serapilheira pode apresentar contribuição para a fertilidade do solo, já que fornece nutrientes e estimula a atividade microbiana do solo (GAMA-RODRIGUES *et al.*, 2008), estudos afirmam que em solos tropicais e subtropicais as propriedades químicas, físicas e biológicas têm relação estreita com a matéria orgânica do solo (CIOTTA *et al.*, 2003). O solo de BAC apresentou pH mais ácido em comparação ao solo de BAR, o que também justifica a maior fertilidade de BAR, já que o pH mais ácido prejudica a decomposição de matéria orgânica e reduz os teores de cátions trocáveis (TOMÉ JÚNIOR, 1997; CERRI; VOLKOFF, 1988).

Apesar de a análise do solo pertencente à BAC não ter apresentado acúmulo de N, os traços funcionais relacionados ao metabolismo de N nas espécies arbóreas localizadas na BAC se mostraram alterados quando comparados aos das espécies localizadas na BAR. A atividade da NR foliar foi mais alta na BAC em todas as espécies no ano de 2017, sendo que em *C. floribundus* este resultado se repetiu nos dois anos estudados. O aumento da atividade da enzima NR nas folhas de indivíduos localizados na BAC (mais evidente nas espécies intolerantes à sombra) ocorre devido à maior

1 capacidade desse grupo sucessional de assimilar o N nas folhas. A atividade
2 da NR foliar é estimulada pela disponibilidade de NO_3^- , ou seja, uma maior
3 assimilação de NO_3^- indica uma maior absorção do ânion (AIDAR et al., 2003;
4 OLIVEIRA et al., 2017). LIU e colaboradores (2018) apresentaram resultados
5 similares ao tratarem espécies arbóreas com N durante 3 meses, foi observado
6 aumento da atividade da NR em uma espécie arbórea intolerante à sombra
7 após o tratamento com N, corroborando com os resultados obtidos neste
8 estudo.

9 Além disso, exceto *G. kunthiana*, todas as espécies acumularam
10 mais NO_3^- nas folhas na BAC em pelo menos um dos anos de coleta. Já o
11 maior transporte de NO_3^- na seiva do xilema ocorreu em *C. floribundus*, *H.*
12 *popayanensis*, *G. kunthiana* e *A. polyneuron*. O aumento no transporte de NO_3^-
13 na seiva indica maior absorção deste ânion nos indivíduos da BAC,
14 considerando que algumas espécies arbóreas acumulam compostos de N
15 quando estão expostas à uma maior disponibilidade deste nutriente (RICHTER
16 et al., 1995; BAUER et al., 2004; BUBIER et al., 2011).

17 O acúmulo de NH_4^+ nas folhas ocorreu nas espécies *H.*
18 *popayanensis*, *C. canjerana* e *C. floribundus* e sua concentração na seiva do
19 xilema foi maior em *C. canjerana*. O NH_4^+ , quando presente em grandes
20 quantidades, pode causar efeitos tóxicos para as plantas, como a dissipação
21 do gradiente transmembrana que é necessário para o transporte de elétrons na
22 cadeia respiratória e fotossíntese (BLOOM, 2017). Por isso, as plantas
23 comumente assimilam o NH_4^+ rapidamente após a sua absorção, evitando a
24 sua toxicidade (OLIVEIRA et al., 2017; SARASKETA et al., 2016). Algumas
25 espécies demonstraram acúmulo e transporte de NH_4^+ apesar de sua
26 toxicidade, isso pode ocorrer devido à variedade de estratégias que podem ser
27 adotadas no uso de N (DEBIASI et al., 2019).

28 Não foi observada maior concentração de aminoácidos nas folhas
29 das espécies arbóreas estudadas, porém, *G. kunthiana* e *A. polyneuron*
30 apresentaram maior transporte de aminoácidos na seiva do xilema nos
31 indivíduos próximos à agricultura em 2017, o que pode ser um indício do uso
32 desses aminoácidos na produção de componentes nitrogenados. Isso ocorre

1 principalmente à assimilação de N nas raízes e transporte de aminoácidos na
2 seiva do xilema. É uma resposta comum as espécies tolerantes à sombra
3 demonstrarem maior absorção de NH_4^+ e assimilação em aminoácidos nas
4 raízes quando expostas à maior disponibilidade de N, evitando seu acúmulo e
5 consequente toxicidade, seguido do transporte dos aminoácidos até a parte
6 aérea via seiva do xilema (OLIVEIRA *et al.*, 2013; SARASKETA *et al.*, 2014,
7 2016).

8 As proteínas se acumularam nas folhas de indivíduos de *C.*
9 *floribundus*, *H. popayanensis*, *C. canjerana*, e *G. kunthiana*; sendo que nas três
10 últimas isso foi observado nos dois anos de coleta. O excesso de N disponível
11 pode induzir as plantas a absorver, assimilar e alocar o N nas formas de
12 proteínas, clorofila e aminoácidos (RICHTER *et al.*, 1995; BAUER *et al.*, 2004;
13 BUBIER *et al.*, 2011), o que pode justificar o acúmulo de proteínas em tais
14 indivíduos presentes em BA. Mao *et al.*, 2018, observaram um aumento nos
15 níveis de aminoácidos e proteínas nas folhas de espécies presentes em uma
16 floresta tropical no Sul da China, quando expostas à uma deposição excessiva
17 de N.

18 Apesar da plasticidade das respostas das espécies arbóreas
19 estudadas, houve um padrão entre as espécies tolerantes e intolerantes à
20 sombra, que também foi observado no estudo de BARDY (2020), em que *C.*
21 *floribundus* (intolerante à sombra) também apresentou acúmulo de proteínas,
22 NO_3^- nas folhas e maior transporte de NO_3^- na seiva do xilema, nos indivíduos
23 tratados com N. *G. kunthiana* apresentou acúmulo de NO_3^- , aminoácidos e
24 proteínas nas folhas e, maior transporte de NO_3^- na seiva do xilema. Já *A.*
25 *polyneuron* demonstrou acúmulo de NO_3^- , proteínas e aminoácidos nas folhas,
26 e transportou mais aminoácidos quando tratada com N (BARDY, 2020).

27 Nos dois anos de coleta, as variáveis que mais se repetiram foram
28 acúmulo de proteínas nas folhas e maior condução de NO_3^- na seiva do xilema
29 dos indivíduos próximos à agricultura. Dentre as espécies estudadas, as
30 intolerantes à sombra *C. floribundus*, *H. popayanensis* e *A. graveolens*
31 apresentaram alterações no metabolismo do nitrogênio características de
32 espécies intolerantes à sombra, como já visto em alguns estudos que afirmam

1 preferência de absorção e condução de NO_3^- na seiva de espécies intolerantes
2 à sombra, as quais costumam assimilar o ânion nas folhas (AIDAR et al., 2003;
3 OLIVEIRA et al., 2017; DEBIASI et al., 2019). A assimilação de N nas folhas é
4 dependente da energia produzida na fotossíntese, que necessita de luz, o que
5 justifica a maior taxa de atividade da NR em folhas de espécies intolerantes à
6 sombra (GUO et al., 2007). Entre as espécies tolerantes à sombra, *C.*
7 *canjerana* e *G. kunthiana* apresentaram acúmulo de proteínas nos dois anos de
8 coleta, e em *G. kunthiana* também se repetiu o maior transporte de NO_3^- na
9 seiva nos indivíduos localizados na BAC. Oliveira et al. (2017) identificaram um
10 maior acúmulo de compostos nitrogenados em *G. kunthiana* quando tratada
11 com N, característica de espécies tolerantes à sombra, que tendem a acumular
12 estes compostos devido ao seu lento crescimento. *A. polyneuron*, também uma
13 espécie tolerante à sombra, concentrou NO_3^- nas folhas e transportou este
14 ânion na seiva do xilema nos dois anos, nos indivíduos localizados na BAC.
15 Alguns trabalhos já observaram um lento crescimento de *A. polyneuron*
16 relacionado à alta densidade de sua madeira (SCHÖNGART, 2008; BARBOSA
17 et al., 2018; BLAGITZ et al., 2019).

18 Apesar da similaridade entre os resultados obtidos nas espécies intolerantes à
19 sombra, entre as outras espécies arbóreas estudadas houve uma maior
20 variação das estratégias de uso do N. As espécies tolerantes à sombra podem
21 apresentar diferentes respostas pelo fato de este grupo incluir uma ampla
22 diversidade de estratégias, já que envolve espécies que apresentam diferentes
23 níveis de tolerância à sombra, desde as mais tolerantes que ocupam
24 permanentemente o sobosque (*G. kunthiana*) até aquelas que possuem
25 variados graus de tolerância ao longo do crescimento e ocupam o dossel e o
26 estrato emergente (*C. canjerana* e *A. polyneuron*). Além disso, o trabalho é
27 uma proposta inicial, o que não abre espaço para uma generalização do
28 comportamento dos grupos ecológicos.

29 A similaridade no microclima nas duas regiões estudadas indica que
30 as alterações no metabolismo de N das espécies próximas ao cultivo agrícola
31 estão ocorrendo devido ao excesso de N nessa região, já que os parâmetros
32 microclimáticos não estão afetando de maneira distinta as espécies arbóreas.
33 De acordo com os resultados obtidos também é possível observar que a

1 análise das variáveis do metabolismo de N são melhores parâmetros a serem
2 observados do que o conteúdo de N no solo, já que este pode ser perdido e
3 absorvido rapidamente, ou estar sendo consumido pela microbiota do solo.

4 As alterações observadas no metabolismo do N de espécies
5 arbóreas próximas a uma plantação agrícola indicam que a adubação
6 nitrogenada afeta árvores de um fragmento florestal. Dentre as perspectivas
7 futuras que estes resultados fornecem, está a investigação da extensão da
8 influência da borda agrícola nos fragmentos. Assim, distâncias seguras da
9 aplicação de N próximo aos fragmentos florestais podem ser determinadas
10 para melhor preservar ambientes de Mata Atlântica.

11

7. CONCLUSÃO

De acordo com o que foi observado pelas análises, os resultados corroboram com a hipótese, em que era esperado que as espécies arbóreas demonstrassem indícios de alterações no metabolismo de N quando próximas ao cultivo agrícola. Porém os grupos ecológicos distintos não apresentaram diferença no metabolismo do N como esperado.

Os parâmetros que se demonstraram serem melhores indicadores de alterações no metabolismo de N foram: transporte de NO_3^- na seiva do xilema, acúmulo de NO_3^- e proteínas nas folhas, já que apareceram na maioria das espécies. Já as espécies que se demonstraram mais responsivas e com alterações consistentes nas duas coletas foram *Heliocarpus popayanensis*, *Croton floribundus*, *Guarea kunthiana* e *Aspidosperma polyneuron*

13

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1
2
- 3 AIDAR M. P. M.; SCHMIDT S.; MOSS G.; STEWART G. R.; JOLY C. A.
4 Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic
5 Forest. **Plant Cell Environment**, v. 26, p.389 – 399, 2003.
- 6
- 7 ALLEN, A. G.; MACHADO, C. M. D.; CARDOSO, A. A.; Measurements and
8 modeling of reactive nitrogen deposition in southeast Brazil. **Environmental**
9 **Pollution**, v. 159, n. 5, p. 1190-1197, 2011.
- 10
- 11 BARBOSA FILHO, M. P.; FAGERIA, N. K.; SILVA, O. F. Fontes e métodos de
12 aplicação de nitrogênio em feijoeiro irrigado submetido a três níveis de acidez
13 no solo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 785-792, 2004.
- 14
- 15 BARBOSA, A. C. M.; PEREIRA, G. A.; GRANATO-SOUZA, D.; SANTOS, R.
16 M.; FONTES, M. A. L. Tree rings and growth trajectories of tree species from
17 seasonally dry tropical forest. **Australian Journal of Botany**, v. 65, n. 5, p.
18 414–427, 2018.
- 19
- 20 BARDY, Lara Raposo. **Efeito do aumento do nitrogênio no solo em mudas**
21 **de espécies arbóreas da Mata Atlântica**. 2020. 45 p. Dissertação (Mestrado
22 em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.
- 23
- 24 BAUER, G. A.; BAZZAZ, F. A.; MINOCHA, R.; LONG, S.; MAGILL, A.; ABER,
25 J.; BERNTSON, G. M. Effects of chronic N additions on tissue chemistry,
26 photosynthetic capacity, and carbon sequestration potential of a red pine (*Pinus*
27 *resinosa* Ait.) stand in the NE United States. **Forest Ecology and**
28 **Management**, v. 196, n. 1, p. 173-186, 2004.
- 29
- 30 BAUER, G. A.; PERSSON, H.; PERSSON, T.; MUND, M.; HEIN, M.;
31 KUMMETZ, E.; MATTEUCCI, G.; VAN OENE, H.; SCARASCIA-MUNGNOZZA,
32 G. Linking plant nutrition and ecosystem processes. *In*: SCHULZE, E. D.
33 **Carbon and Nitrogen Cycling in European Forests**. Berlin: Springer, p. 63-
34 98, 2000.
- 35
- 36 BLAGITZ, M.; BOTOSSO, P. C.; LONGHI-SANTOS, T.; BIANCHINI, E. Tree
37 rings in tree species of a seasonal semi-deciduous forest in southern Brazil:
38 wood anatomical markers, annual formation and radial growth
39 dynamic. **Dendrochronologia**, v. 55, n. 93-104, 2019.
- 40

- 1 BLOOM, J. A. Assimilação de Nutrientes Inorgânicos. *In*: TAIZ, L.; ZEIGER, E.
2 **Fisiologia Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 353-376.
3
- 4 BLOOM, J. A.; SMITH, S. Nutrição Mineral. *In*: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia**
5 **Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 119-140.
6
- 7 BOBBINK, R.; HICKS, K.; GALLOWAY, J.; SPRANGER, T.; ALKEMADE, R.;
8 20 ASHMORE, M.; BUSTAMANTE, M.; CINDERBY, S.; DAVIDSON, E.;
9 DENTENER, F.; EMMETT, B.; ERISMAN, J.W.; FENN, M.; GILLIAM, F.;
10 NORDIN, A.; PARDO, L.; 22 DE VRIES, W. Global assessment of nitrogen
11 deposition effects on terrestrial plant 23 diversity: a synthesis. **Ecological**
12 **Applications**, v.20, p. 30–59, 2010.
13
- 14 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of
15 microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding.
16 **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
17
- 18 BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação
19 do nitrogênio em plantas. **Ciência Rural**. v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.
20
- 21 BUBIER, J. L.; SMITH, R.; JUUTINEN, S.; MOORE, T. R.; MINOCHA, R.;
22 LONG, S.; MINOCHA, S. Effects of nutrient addition on leaf chemistry,
23 morphology, and photosynthetic capacity of three bog shrubs. **Oecologia**, v.
24 167, p. 355-368, 2011.
25
- 26 BULBOVAS, P.; CAMARGO, C. Z. S.; FERREIRA, M. L.; DOMINGOS, M.
27 Anthropogenic interferences in the nutritional status of tree species growing in urban
28 and peri-urban Atlantic forest remnants. **Urban Forestry & Urban Greening**, v.
29 50, p. 126642, 2020.
30
- 31 CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: EMBRAPA
32 Informação Tecnológica, 2006.
33
- 34 CERRI, C. C.; VOLKOFF, B. Matéria orgânica de três solos dos campos
35 inundáveis da Ilha de Marajó (PA). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.
36 12, n. 2, p. 93-100, 1988.
37
- 38 CORDEIRO, A. M., PINHEIRO-ALVES, M. C., SIMOES, P., & SOVERAL-DIAS,
39 J. Effect of nitrogen and potassium fertilisation on olive maturation: preliminary
40 results. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1-2, p. 12-19, 2001.

- 1
2 CHAGAS E SILVA, F.; SOARES-SILVA, L. H. Arboreal flora of the Godoy
3 Forest state park, Londrina, PR. Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 57, n.
4 1, p. 107-120, 2000.
- 5
6 DEBIASI, T. V.; CALZAVARA, A. K.; SILVA, L. M. I.; SILVA, J. G.; BIANCHINI,
7 E.; PIMENTA, J. A.; STOLF-MOREIRA, R.; AIDAR, M. P. M.; SODEK, L.;
8 OLIVEIRA, H. C. Nitrogen metabolismo of neotropical tree seedlings with
9 contrasting ecological characteristics. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, p.
10 131, 2019.
- 11
12 DÍAZ-ÁLVAREZ, E. A.; LINDIG-CISNEROS, R.; BARRERA, E. Biomonitors of
13 atmospheric nitrogen deposition: potential uses and limitations. **Conservation**
14 **Physiology**, v. 6, n. 1, p. coy011, 2018.
- 15
16 FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Dissertação (Especialização em
17 Solos e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- 18
19 FARGIONE, J.; TILMAN, D.; DYBZINSKI, R.; LAMBERS, J. H. R.; CLARK, C.;
20 HARPOLE, W. S.; KNOPS, J. M. H.; REICH, P. B.; LOREAU, M. From selection
21 to complementarity: shifts in the causes of biodiversity–productivity relationships
22 in a long-term biodiversity experiment. **Proceedings of the Royal Society B:**
23 **Biological Sciences**, v. 274, n. 1611, p. 871-876, 2007.
- 24
25 FIXEN, P. E.; WEST, F. B. Nitrogen fertilizers: meeting contemporary
26 challenges. **Ambio: a Journal of the Human Environment**. v.31, n. 2, p. 168-
27 176, 2002.
- 28
29 FRAZÃO, J. J.; SILVA, A. R.; SILVA, V. L.; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. S.
30 Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho.
31 **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 12, p.
32 1262-1267, 2014.
- 33
34 FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. Disponível em:
35 <<https://www.sosma.org.br>>. Acesso em: 10 de out. de 2021.
- 36
37 GAMA-RODRIGUES, E. F. D.; BARROS, N. F. D.; PIO VIANA, A.; SANTOS, G.
38 D. A. Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do
39 solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por
40 plantações de eucalipto, em diferentes sítios da Região Sudeste do Brasil.
41 **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 4, p. 1489-1499, 2008.

- 1
2 GARCIA, G.; CARDOSO, A. A.; SANTOS, O. A. M. From shortage to stress on
3 earth: a century of changes in the nitrogen cycle. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p.
4 1468-1476, 2013.
- 5
6 GARGALLO-GARRIGA, A; WRIGHT, S.L.; SARDANS, J.; PÉREZ-TRUJILLO,
7 M.; ORAVEC, M.; VECEROVÁ, K.; URBAN, O.; FERNÁNDEZ-MARTÍNES, M.;
8 PARELLA, T.; PEÑULAS, J. Long-term fertilization determines different
9 metabolomic profiles and responses in saplings of three rainforest tree species
10 with different adult canopy position. **Plos one**, v. 5, n. 5, p. 1-21, 2017.
- 11
12 GASCON, C., WILLIAMSON, G. B.; FONSECA, G. A. B. Receding forest edges
13 and vanishing reserves. **Science**, 288, n. 5470, p. 1356-1358, 2000.
- 14
15 GUO, S.; ZHOU, Y.; SHEN, Q.; ZHANG, F. Effect of ammonium and nitrate
16 nutrition on some physiological processes in higher plants- growth,
17 photosynthesis, photorespiration, and water relations. **Plant Biology**, v. 9, n. 1,
18 p. 21-29, 2007.
- 19
20 HAGEMAN, R. H.; REED, A. J. [24] Nitrate reductase from higher plants.
21 In: **Methods in enzymology**. Academic Press, p. 270-280, 1980.
- 22
23 HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio na
24 cultura da soja. **Embrapa Cerrados** (INFOTECA-E), n. 13, p. 38, 2001.
- 25
26 Instituto Ambiental do Paraná (IAP). Parque Estadual Mata dos Godoy.
27 Disponível em: <[http://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Parque-Estadual-Mata-dos-](http://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Parque-Estadual-Mata-dos-Godoy-PEMG)
28 [Godoy-PEMG](http://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Parque-Estadual-Mata-dos-Godoy-PEMG) > Acesso em: 14 de outubro de 2021.
- 29
30 KAWACHI, T.; SUEYOSHI, K.; NAKAJIMA, A.; YAMAGATA, H.; SUGIMOTO,
31 T.; OJI, Y. Expression of asparagine synthetase in rice (*Oryza sativa*) roots in
32 response to nitrogen. **Physiologia Plantarum**, v. 114, n. 1, p. 41-46, 2002.
- 33
34 KRAPP, A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with
35 missing pieces. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 25, p. 115-122, 2015.
- 36
37 LAURANCE, W. F.; WILLIAMSON, G. B. Positive feedbacks among forest
38 fragmentation, drought, and climate change in the Amazon. **Conservation**
39 **Biology**, v. 15, n. 6, p. 1529-1535, 2001.

- 1
2 LEMMON, Paul E. A spherical densiometer for estimating forest overstory
3 density. **Forest science**, v. 2, n. 4, p. 314-320, 1956.
4
5
6 LI, Y.; SCHICHTEL, B. A.; WALKER, J. T.; SCHWEDE, D. B.; CHEN, X.;
7 LEHMANN, C. M. B.; PUCHALSKI, M. A.; GAY, D. A.; COLLETT, J. L.
8 Increasing importance of deposition of reduced nitrogen in the United States.
9 **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**
10 **America**, v. 113, n. 21, p. 5874-5879, 2016.
11
12 LIU, N.; WU, S.; GUO, Q.; WANG, J.; CAO, C.; WANG, J. Leaf nitrogen
13 assimilation and partitioning differ among subtropical forest plants in response
14 to canopy addition of nitrogen treatments. **Science of The Total Environment**,
15 v. 637-638, p. 1026-1034, 2018.
16
17 LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de**
18 **plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, p.352,
19 1992.
20
21 LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de**
22 **plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, p. 384,
23 2008.
24
25 LU, X.; MO, J.; GILLIAM, F.S.; ZHOU, G.; FANG, Y. Effects of experimental
26 nitrogen additions on plant diversity in an old-growth tropical forest. **Global**
27 **Change Biology**, v, 16, p. 2688-2700, 2010.
28
29 MAO, Q.; LU, X.; MO, H.; GUNDERSEN, P.; MO, J. Effects of simulated N
30 deposition on foliar nutrient status, N metabolism and photosynthetic capacity of
31 three dominant understory plant species in a mature tropical forest. **Science of**
32 **the Total Environment**, v. 610–611, p. 555-562, 2018.
33
34 MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct
35 colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.
36
37 MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A rapid, simple
38 spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite.
39 **Nitric Oxide**, v. 5, n. 1, p. 62-71, 2001.
40

- 1 MO, J.; LI, D.; GUNDERSEN, P. Seedling growth response of two tropical tree
2 species to nitrogen deposition in southern China. **European Journal of Forest**
3 **Research**, v. 127, p. 275-283, 2008.
- 4
- 5 MOSIER A. R.; SYERS J. K.; FRENEY J. R. **Agriculture and the nitrogen**
6 **cycle. Assessing the impacts of fertilizer use on food production and the**
7 **environment**. Washington: SCOPE 65, Island Press, 2004. 291 p.
- 8
- 9 OLIVEIRA, H.C.; SILVA, L.M.I.; FREITAS, L.D.; DEBIASI, T.V.; MARCHIORI,
10 N.M.; AIDAR, M.P.M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; STOLF-MOREIRA, R.
11 Nitrogen use strategies of seedlings from neotropical trees species of distinct
12 successional groups. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 114, p. 119-127,
13 2017.
- 14
- 15 OLIVEIRA, H.C.; SODEK, L. Effect of oxygen deficiency on nitrogen
16 assimilation and amino acid metabolism by soybean root segments. **Amino**
17 **Acids**, v. 44, p. 743-755, 2013.
- 18
- 19 PERINA, B. B. **Fenologia de espécies arbóreas de uma Floresta estacional**
20 **semidecidual do Sul do Brasil**. 2011. 70p. Dissertação (Mestrado em
21 Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.
- 22
- 23 PIERZYNSKI, G. M.; VANCE, G. F.; SIMS, J. T.; **Soils and Environmental**
24 **Quality**, 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2005.
- 25
- 26 PIMENTA, J. A.; ROSSI, L. B.; TOREZAN, J. M. D.; CAVALHEIRO, A. L.;
27 BIANCHINI, E. Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de um
28 reflorestamento e de uma floresta estacional semidecidual no sul do Brasil.
29 **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 53-57, 2011.
- 30
- 31 PIMM, S. L.; JENKINS, C. N.; ABELL, R.; BROOKS, T. M.; GITTLEMAN, J. L.;
32 JOPPA, L. N.; RAVEN, P. H.; ROBERTS, C. M.; SEXTON, J. O. The
33 biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection.
34 **Science**, v. 344, n. 6187, p. 987-998, 2014.
- 35
- 36 RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.;
37 HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the
38 remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological**
39 **Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, 2009.
- 40

- 1 RICHTER, C. M.; KRANIG, S.; WILD, A. Contents of free amino acids in
2 needles of Norway spruce trees in relation to novel forest decline. Studies on
3 trees from a site in the northern Black Forest. **Environmental Pollution**, v. 87,
4 n.3, p. 303-312, 1995.
- 5
- 6 SAMBUICHI, R. H. R.; OLIVEIRA, M. A. C; SILVA, A. P. M.; LUEDEMANN, G.
7 A Sustentabilidade ambiental da agropecuária brasileira: impactos, políticas
8 públicas e desafios. Instituto de pesquisa econômica aplicada (IPEA), v. 1782,
9 p. 6-46, 2012.
- 10
- 11 SANTIN, D.A. **Revisão taxonômica do gênero Astronium Jacq. e**
12 **revalidação do gênero Myracrodruon Fr. Allem. (Anacardiaceae).** 1989.
13 Dissertação - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.
- 14
- 15 SARASKETA, A.; GONZÁLEZ-MORO, M. B.; GONZÁLEZ-MURUA, C.;
16 MARINO, D. Exploring ammonium tolerance in a large panel of *Arabidopsis*
17 *thaliana* natural accessions. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 20, p.
18 6023-6033, 2014.
- 19
- 20 SARASKETA, A.; GONZÁLEZ-MORO, M. B.; GONZÁLEZ-MURUA, C.;
21 MARINO, D. Nitrogen source and external medium pH interaction differentially
22 affects root and shoot metabolism in *Arabidopsis*. **Plant Science**, v. 7, p. 7-29,
23 2016.
- 24
- 25 SCHNITZER, S. A.; DALLING, J. W.; CARSON, W. P. The impact of lianas on
26 tree regeneration in tropical forest canopy gaps: evidence for an alternative
27 pathway of gap-phase regeneration. **Journal of Ecology**, v. 88, n. 4, 655-666,
28 2000.
- 29
- 30 SCHÖNGART, J. Growth-Oriented Logging (GOL): a new concept towards
31 sustainable forest management in Central Amazonian várzea floodplains.
32 **Forest Ecology Management**, v. 256, n. 1-2, p. 46–58, 2008.
- 33
- 34 STEWART, G. R.; POPP, M.; HOLZAPFEL, I.; STEWART, J. A.;
35 DICKIE-ESKEW, A. Localization of nitrate reduction in ferns and its relationship
36 to environment and physiological characteristics. **New Phytologist**, v. 104, n. 3,
37 p. 373-384, 1986.
- 38
- 39 SUBBARAO, G. V.; ITO, O.; SAHRAWAT, K. L.; BERRY, W. L.; NAKAHARA,
40 K.; ISHIKAWA, T.; WATANABE, T.; SUENAGA, K.; RONDON, M.; RAO, I. M.
41 Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems -

- 1 challenges and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n.
2 4, p. 303-335, 2006.
- 3
- 4 TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e**
5 **desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017, 858 p.
- 6
- 7 TILMAN, D.; PACALA, S. The maintenance of species richness in plant
8 communities. **Unknown Journal**, p. 13-25, 1993.
- 9
- 10 TOMÉ JÚNIOR, J. B. **Manual para interpretação de análise do solo**. Guaíba:
11 Agropecuária, v. 247, p. 89-107, 1997.
- 12
- 13 TRIPATHI, S.N.; RAGHUBANSHI, A.S. Seedling growth of five tropical dry
14 forest tree species in relation to light and nitrogen gradients. **Journal of Plant**
15 **Ecology**, v. 7, n. 3, p. 250-263, 2014.
- 16
- 17 YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin.
18 **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.
- 19

1 **Apêndice 1.** Médias e erro padrão das análises bioquímicas referentes ao ano de 2017. As unidades utilizadas estão representadas na tabela.
 2 **NRf:** Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f:** concentração de NO₃⁻ na folha; **NO₃⁻s:** concentração de NO₃⁻ na seiva do xilema; **NH₄⁺f:**
 3 concentração de NH₄⁺ na folha; **NH₄⁺s:** concentração de NH₄⁺ na seiva do xilema; **aaf:** concentração de aminoácidos na folha; **aas:** transporte de
 4 aminoácidos na seiva; **protf:** concentração de proteínas na folha.

	NR (nmol/g)	NO₃⁻ f (μmol/g)	NO₃⁻ s (μmol/mL)	NH₄⁺ f (μmol/g)	NH₄⁺ s (μmol/mL)	Aaf (μmol/g)	Aas (μmol/mL)	Protf (μmol/g)
Cf BA	33,96 ± 6,33	2,06 ± 0,59	1,59 ± 0,30	0,79 ± 0,19	0,25 ± 0,08	12,11 ± -0,72	5,41 ± 2,42	10,67 ± 0,20
Cf BR	10,77 ± 3,15	0,35 ± 0,04	0,45 ± 0,22	0,85 ± 0,25	0,21 ± 0,07	11,01 ± 1,46	1,47 ± 0,33	6,63 ± 0,08
Hp BA	44,3 ± 12,94	0,48 ± 0,11	1,20 ± 0,17	3,33 ± 0,20	0,12 ± 0,02	5,80 ± 1,11	1,08 ± 0,41	2,56 ± 0,06
Hp BR	6,11 ± 0,76	0,36 ± 0,44	0,60 ± 0,14	2,37 ± 0,22	0,01 ± 0,01	4,74 ± 0,47	0,43 ± 0,22	1,02 ± 0,02
Ag BA	5,88 ± 0,62	0,36 ± 0,07	0,53 ± 0,06	0,38 ± 0,14	0,04 ± 0,03	2,96 ± 2,68	1,34 ± 1,22	16,42 ± 1,18
Ag BR	3,52 ± 0,12	0,5 ± 0,03	0,3 ± 0,04	0,40 ± 0,15	0,06 ± 0,05	1,29 ± 1,17	1,62 ± 1,47	16,10 ± 1,94
Ap BA	2,94 ± 1,64	39,55 ± 3,76	3,4 ± 0,53	0,10 ± 0,02	0,21 ± 0,02	22,96 ± 2,69	1,85 ± 0,15	12 ± 0,11
Ap BR	1,90 ± 1,32	16,33 ± 3,82	1,05 ± 0,16	0,20 ± 0,09	0,28 ± 0,06	22,77 ± 3,27	0,85 ± 0,19	10,81 ± 0,16
Cc BA	7,57 ± 0,71	0,30 ± 0,05	0,21 ± 0,06	0,51 ± 0,19	0,03 ± 0,03	1,86 ± 1,69	1,40 ± 1,27	3,96 ± 1,30
Cc BR	4,69 ± 0,75	0,41 ± 0,05	0,32 ± 0,02	0,37 ± 0,14	0,01 ± 0,01	3,51 ± 3,19	2,05 ± 1,86	10,05 ± 1,92
Gk BA	4,21 ± 0,70	0,28 ± 0,04	1,51 ± 0,29	0,45 ± 0,04	0,19 ± 0,06	24,82 ± 2,16	3,18 ± 0,88	77,21 ± 0,88
Gk BR	5,20 ± 0,60	0,27 ± 0,30	0,62 ± 0,16	0,46 ± 0,12	1,44 ± 1,27	17,41 ± 3,44	1,31 ± 0,39	7,39 ± 0,07

5

6

7

8

9

1
2
3
4
5

Apêndice 2. Médias e erro padrão das análises bioquímicas referentes ao ano de 2019. As unidades utilizadas estão representadas na tabela.

NRf: Atividade da enzima nitrato redutase na folha; **NO₃⁻f:** concentração de NO₃⁻ na folha; **NO₃⁻s:** concentração de NO₃⁻ na seiva do xilema; **NH₄⁺f:** concentração de NH₄⁺ na folha; **NH₄⁺s:** concentração de NH₄⁺ na seiva do xilema; **aaf:** concentração de aminoácidos na folha; **aas:** transporte de aminoácidos na seiva; **protf:** concentração de proteínas na folha.

	NR ($\mu\text{mol/g}$)	NO ₃ ⁻ f ($\mu\text{mol/g}$)	NO ₃ ⁻ s ($\mu\text{mol/mL}$)	NH ₄ ⁺ f ($\mu\text{mol/g}$)	NH ₄ ⁺ s ($\mu\text{mol/mL}$)	Aaf ($\mu\text{mol/g}$)	Aas ($\mu\text{mol/mL}$)	Protf ($\mu\text{mol/g}$)
Cf BA	6,29 ± 1,13	3,13 ± 1,80	1,43 ± 0,23	1,53 ± 0,23	0,32 ± 0,05	18,28 ± 2,06	2,81 ± 1,50	2,30 ± 0,15
Cf BR	1,45 ± 0,24	0,41 ± 0,10	0,36 ± 0,11	1,43 ± 0,09	0,30 ± 0,10	13,43 ± 0,84	8,28 ± 4,28	1,89 ± 0,19
Hp BA	13,90 ± 3,37	1,14 ± 0,53	5,82 ± 1,13	2,87 ± 0,34	0,42 ± 0,08	15,56 ± 2,72	1,50 ± 0,27	1,55 ± 0,19
Hp BR	11,42 ± 2,73	0,30 ± 0,13	2,30 ± 1,02	3,05 ± 0,38	0,33 ± 0,08	12,10 ± 0,89	0,97 ± 0,35	1,47 ± 0,12
Ag BA	4,86 ± 0,74	1,68 ± 0,56	3,82 ± 0,69	1,42 ± 0,12	0,65 ± 0,26	19,23 ± 2,54	0,67 ± 0,46	25,91 ± 2,39
Ag BR	3,77 ± 0,28	2,72 ± 1,06	3,92 ± 1,10	1,50 ± 0,11	0,73 ± 0,05	41,73 ± 23,19	1,26 ± 0,75	23,55 ± 2,03
Ap BA	0,50 ± 0,13	43,22 ± 5,50	2,78 ± 0,47	0,11 ± 0,05	0,41 ± 0,05	48,23 ± 3,64	0,76 ± 0,16	34,11 ± 2,90
Ap BR	1,44 ± 0,32	16,11 ± 3,83	2,22 ± 0,94	0,16 ± 0,05	0,55 ± 0,03	39,57 ± 4,16	0,85 ± 0,20	32,19 ± 2,97
Cc BA	4,62 ± 1,01	2,39 ± 0,60	1,78 ± 0,38	2,26 ± 0,50	0,32 ± 0,05	57,83 ± 7,41	1,69 ± 0,89	2,18 ± 0,12
Cc BR	2,84 ± 0,38	0,41 ± 0,31	1,53 ± 0,34	1,06 ± 0,20	0,46 ± 0,05	40,83 ± 4,90	2,69 ± 1,25	2,87 ± 0,15
Gk BA	0,96 ± 0,20	0,49 ± 0,09	3,26 ± 0,60	1,10 ± 0,22	0,079 ± 0,03	27,50 ± 2,64	2,02 ± 0,51	21,73 ± 1,88
Gk BR	1,63 ± 0,21	0,50 ± 0,06	1,28 ± 0,23	2,35 ± 0,25	0,092 ± 0,02	28,56 ± 1,56	2,10 ± 0,45	9,82 ± 1,14