



Embrapa

Amazônia Oriental

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS – PPGCA

RODRIGO OLIVEIRA DO NASCIMENTO

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS SECUNDÁRIAS E
FLORESTAS PRIMÁRIAS QUEIMADAS NA AMAZÔNIA CENTRO-ORIENTAL**

Belém-Pará

2018

RODRIGO OLIVEIRA DO NASCIMENTO

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS SECUNDÁRIAS E
FLORESTAS PRIMÁRIAS QUEIMADAS NA AMAZÔNIA CENTRO-ORIENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará em parcerias com o Museu Paraense Emílio Goeldi-MPEG e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa, para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Clima e dinâmica socioambiental na Amazônia

Orientadora: Dra. Joice Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Jos Barlow

Belém-Pará

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca do Instituto de Geociências/SIBI/UFPA

Nascimento, Rodrigo Oliveira do, 1992-

Fixação biológica de nitrogênio em florestas secundárias e florestas primárias queimadas na Amazônia Centro-Oriental / Rodrigo Oliveira do Nascimento. – 2018

77 f. : il. ; 30 cm

Inclui bibliografias

Orientadora: Joice Ferreira

Coorientador: Jos Barlow

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Geociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Belém, 2018.

1. Nitrogênio - Fixação. 2. Reservas florestais - Amazônia. 3. Florestas - Reprodução - Amazônia. I. Título.

CDD 22. ed.: 572.545

Elaborado por Hélio
Braga Martins

CRB-2/698

RODRIGO OLIVEIRA DO NASCIMENTO

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS SECUNDÁRIAS E
FLORESTAS PRIMÁRIAS QUEIMADAS NA AMAZÔNIA CENTRO-ORIENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará em parcerias com o Museu Paraense Emílio Goeldi-MPEG e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa, para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Clima e dinâmica socioambiental na Amazônia

Belém, 28 de fevereiro de 2018

Banca examinadora:



Profª. Joice Ferreira – Orientadora
Doutora em Ecologia
Embrapa Amazônia Oriental



Prof. José Henrique Cattanio - Membro
Doutorado em Agronomia Tropical
Universidade Federal do Pará



Prof. Steel Vasconcelos – Membro
Doutorado em Recursos e Conservação Florestais
Embrapa Amazônia Oriental



Profª. Grazielle Sales – Membro
Doutorado em Biologia Vegetal
Universidade Federal do Pará

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente à Deus por ter proporcionado tantas experiências boas na minha vida. Com a presença dEle, consegui seguir sempre de cabeça erguida, superando os problemas e aproveitando o máximo possível dos momentos de felicidade. Obrigado também por colocar essas pessoas maravilhosas e competentes envolvidas neste projeto.

Aos meus pais, Iranilde e Rotterdam, por todos os momentos de afeto, carinho, dedicação e apoio, tentando me mostrar os melhores caminhos para ser feliz e digno como pessoa, e agora, como profissional. Agradeço pelos conselhos e críticas construtivas. Isso me ajudou a ser quem sou e em quem me espelhar. Cada sentimento e experiências vividas com vocês serão lembrados para sempre.

Aos meus irmãos, Gustavo e Natália, que sempre estiveram do meu lado, me dando forças e ajudando com suas palhaçadas quando necessário. Vocês também são minha tranquilidade em casa.

À minha avó Lindalva, por ser a pessoa mais feliz do mundo. Aquela que também te deixa em pé em qualquer momento, dando incentivo, alegria e conselhos, além da paz espiritual passada com um grande sorriso no rosto.

À minha avó Maria (In memoriam) que sempre esteve nos alegrando e aconselhando aqui neste plano. Suas palavras e seu sorriso sempre estarão aqui, acalmando minha alma. Tenho certeza que você está feliz e nos cobrindo de bênçãos.

À minha família como um todo, que me apoiaram em todas as fases da vida, independentemente da situação. E como sempre, comemoraremos com muita festa quando esta fase chegar a um fim. Vocês são a minha base.

À minha namorada Larissa, aquela que teve a maior compreensão e paciência. Agradeço ainda mais pelo amor, carinho e ajuda dada em todos os momentos que precisei. Você vem participando de todas as principais etapas da minha vida, e quero que isso permaneça para sempre. Isso vale também para a sua família que sempre me apoiou.

À minha orientadora, Joice Ferreira, que será sempre um exemplo de profissionalismo não só para mim, mas para diversas pessoas que tive a oportunidade de conhecer durante o período de mestrado. Que a nossa amizade perdure por muito tempo e que Deus continue abençoando e preservando a “senhora”. Você é um espelho de como seguir no mundo acadêmico e científico. Sou muito grato de tê-la como minha orientadora.

Ao meu coorientador, Jos Barlow, que mesmo com a distância física, esteve presente e ajudando sensivelmente no decorrer da escrita desta dissertação.

Aos colaboradores desta escrita, Erika, Sarah, Amanda, Filipe, Fernando, Jamile que ajudaram em cada detalhe deste trabalho, e também nos momentos de descontração. Desejo todo sucesso para vocês e que muitos trabalhos ainda sejam feitos em parceria. Vocês são incríveis pessoas e profissionais.

A todos os integrantes dos projetos RAS, ECOFOR e AFIRE, por todo o conhecimento e amizade adquiridos com vocês no período do mestrado. Tenho certeza que vocês ainda irão crescer ainda mais individual e coletivamente.

À banca examinadora por todas as críticas construtivas desde a qualificação, que ajudaram diretamente na melhoria desta dissertação.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, pelo suporte dado para mim, como aluno, e de todo o aprendizado adquirido pelas disciplinas.

Aos meus amigos de infância do Mendarinha, que estão comigo há muitos anos com nossa amizade sempre forte. Vocês sempre estarão no meu coração.

Aos meus amigos e colegas de sala mestrado, pois são estes que sabem realmente o que se passou no decorrer dessa pequena, mas fundamental, trajetória de vida. Principalmente para a galera do Chopp e Melhor churras Ever.

À Galera do Lado Direito, meus grandes amigos desde a graduação e que com certeza levarei para o resto de minha vida. Mesmo com o grupo separado fisicamente e com caminhos profissionais distintos, ainda conseguimos permanecer unidos, compartilhando muita alegria e momentos que ficarão na memória. Agradeço pela amizade que tenho com vocês.

Aos meus outros amigos, que mesmo estando próximos ou não, ajudaram direta ou indiretamente para o meu desenvolvimento como pessoa.

Aos amigos e funcionários do laboratório do LASS/Embrapa. Que a amizade criada perdure. E agradeço bastante pelo suporte dado para a realização deste trabalho.

Aos LBA e aos funcionários da base de campo do LBA por todo o suporte dado não só a mim mas para os pesquisadores em geral. A infraestrutura dada por vocês, ajuda de forma essencial na pesquisa. Louro e Adão, obrigado pelas conversas e pelo excelente suporte alimentício. Já já volto para comer aquele creme de cupuaçu com chocolate.

E por fim, mas não menos importante, à comunidade do Branco e do São Jorge, região de Santarém que ajudaram incessantemente no período de campo da dissertação. Vocês são mais que colaboradores, são amigos que adquiri para a vida.

RESUMO

Entender os mecanismos que influenciam na capacidade de regeneração das florestas tropicais é altamente relevante no contexto atual de grande perda e degradação dos ecossistemas. Espécies da família Fabaceae apresentam resiliência após distúrbios, através do mecanismo simbiótico de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), importante para a manutenção de ciclos biogeoquímicos dos ecossistemas. O objetivo deste trabalho foi investigar o papel da fixação biológica de nitrogênio na regeneração natural de florestas secundárias e florestas primárias queimadas em uma região centro-oriental da Amazônia. Para isso, foram estudados 15 transectos (0,25ha cada) que englobavam três classes florestais: florestas secundárias (>17,5 anos), florestas primárias queimadas recentemente (17 meses) e florestas primárias intactas. Foram selecionados e avaliados todos os indivíduos da família Fabaceae (DAP>10cm) com potencial de nodulação indicado na literatura ocorrentes nos transectos. Amostras de solo foram coletadas para a checagem da presença de nódulos ativos e a nodulação foi estimada em nível individual, de espécie, classe florestal e ecossistêmico. Foram avaliados o carbono total e nitrogênio total no solo. Um modelo GLM foi utilizado para testar quais as principais variáveis preditoras que explicam o incremento de massa nodular, entre conteúdo de carbono e nitrogênio nos solos e variáveis dendométricas (diâmetro do caule, área de dossel das plantas e massa de raízes). Dos 133 indivíduos estudados, foram detectados 43 (32%) com nódulos ativos. Isto representou 18 espécies e 9 gêneros da família Fabaceae. O gênero *Inga* foi o que apresentou maior frequência de nodulação, com a espécie *Inga pilosula* como a maior massa de nódulos e (6,14 g.m⁻²). Uma variação intraespecífica de massa nodular também foi notada. As florestas secundárias apresentaram probabilidade de nodulação de três a cinco vezes superior às outras classes florestais. Além disso, a massa total de nódulos foi maior em florestas secundárias (9.37 g.m²) em comparação à florestas queimadas (6.54 g.m²) e florestas intactas (3.05 g.m²). Não foi possível encontrar evidências fortes de que houve uma contribuição importante da fixação biológica de nitrogênio nas florestas queimadas. A principal variável explicativa para a massa de nódulos foi o carbono total no solo. Junto com o carbono, outras variáveis também foram selecionadas como preditoras da massa de nódulos: o nitrogênio total no solo, diâmetro à altura do peito (DAP) e área de dossel. Os resultados sugerem a contribuição da fixação biológica de nitrogênio na regeneração de florestas na região de Santarém, fundamentalmente nas florestas secundárias e na existência potencial de entradas de nitrogênio no ecossistema através da fixação biológica. Os resultados do presente estudo são importantes para aumentar

o entendimento dos mecanismos que dirigem a recuperação das florestas na Amazônia aos distúrbios.

Palavras-chave: Amazônia. Classes florestais. Fixação Biológica de Nitrogênio. Nodulação.

ABSTRACT

Understanding the mechanisms that influence the regeneration capacity of tropical forests is highly relevant in the current context of great loss and degradation of ecosystems. Species of Fabaceae family present resilience after disturbances through the symbiotic mechanism of Biological Nitrogen Fixation (BNF), important for the maintenance of biogeochemical cycles of the ecosystems. The aim of this work was to investigate the role of biological nitrogen fixation in the natural regeneration of secondary forests and burned primary forests in the eastern-central Amazon region. For this, 15 transects (0,25ha each one) were studied, covering three forest classes: secondary forests (> 17.5 years), recently burned primary forests (17 months) and undisturbed primary forests. All individuals of the Fabaceae family (DAP> 10cm) with nodulation potential indicated in the literature occurring in the transects were selected and evaluated. Soil samples were collected to check the presence of active nodules, and nodulation was estimated at individual, species, forest class and ecosystem levels. The total carbon and nitrogen in the soil were evaluated. A GLM model was used to test the main predictor variables that explain the nodular mass increment, including carbon and nitrogen content in soils and dendrometric variables (diameter at breast height, canopy area and root mass). Of the 133 individuals studied, 43 (32%) were detected with active nodules. This represented 18 species and 9 genera of Fabaceae family. The genus *Inga* presented the highest nodulation frequency, with the species *Inga pilosula* showing the largest nodule mass (6,14 g.m⁻²). A large intraspecific variation of nodular mass was found in the study. Secondary forests showed a probability of nodulation three to fivefold higher than the other forest classes. Moreover, the total nodule mass was higher in secondary forests (9.37 g.m²) in comparison to burned forests (6.54 g.m²) and undisturbed forests (3.05 g.m²). No strong evidences were found for an important contribution of the biological fixation of nitrogen in burned forests. The main explanatory variable for nodule mass was soil total carbon. Along with carbon, other variables were also selected as predictors of nodule mass: soil total nitrogen, diameter at breast height (DBH) and canopy area. The results suggested an important contribution of biological nitrogen fixation in the regeneration of forests in the Santarém region, mainly in secondary forests and the potential of nitrogen inputs into the ecosystem through biological fixation. The results of the present study are important to increase the understanding of the mechanisms that drive the Amazon forest recovery to disturbances.

Keywords: Amazon. Biological Nitrogen Fixation. Forest classes. Nodulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Localização da área de estudo e distribuição dos transectos (10m x 250m, cada) dentro de microbacias hidrográficas para as três classes florestais estudadas na região de Santarém, Amazônia Centro-Oriental.....37
- Figura 2- Probabilidade de encontrar indivíduos com FBN nas diferentes espécies de Fabaceae com capacidade de nodulação amostradas em florestas na Amazônia Centro-Oriental, em Santarém, Pará. Os pontos mostram a probabilidade de se encontrar espécies nodulantes nos transectos estudados e as barras significam os erros probabilísticos para cada espécie.....43
- Figura 3- Variação na nodulação entre espécies fixadoras de nitrogênio em florestas na região Centro-Oriental da Amazônia (Santarém, Pará). As barras cinzas determinam a amplitude de massa nodular pelos indivíduos de cada espécie estudada. Os pontos representam a média de nodulação por espécie.....44
- Figura 4- Comparação da nodulação em espécies fixadoras de nitrogênio que ocorreram em diferentes classes florestais na região centro-oriental da Amazônia (Santarém, Pará). Os pontos representam as médias da massa nodular em cada espécie. As barras cinzas determinam a amplitude de massa nodular pelos indivíduos de cada espécie estudada. Os pontos representam a média de nodulação por espécie.....45
- Figura 5- Distribuição da massa de nódulos por classe florestal. Cada círculo vazado representa a soma de massa nodular por indivíduo e os triângulos em vermelho, a média por classe florestal.....46
- Figura 6- Número de indivíduos nodulantes por classe florestal na região centro-oriental da Amazônia (Santarém, Pará).....47
- Figura 7- Probabilidade de encontrar espécies FBN nodulando em nível de classe florestal...47
- Figura 8- Correlação entre a massa de nódulos e o carbono orgânico (a), nitrogênio total (b), diâmetro a altura do peito das plantas (c) e área de dossel das plantas (d). As classes florestais estão representadas pela cor verde claro (floresta secundária), verde escuro (floresta primária intacta) e vermelho escuro (floresta primária queimada). São detalhados também o coeficiente de correlação de Pearson (r) e sua probabilidade de significância (p).....50

Figura 9- Distribuição dos valores médios carbono total (verde) e de nitrogênio total (amarelo) ao longo das idades sucessionais (17, 20 e 27.5 anos) em solos de florestas secundárias na Amazônia Centro-Oriental, Santarém, Pará. As amostras de solos foram coletadas sob as copas de indivíduos da família Fabaceae.....51

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Frequência de nodulação por cada espécie nas três classes florestais estudadas. A frequência de nodulação foi calculada pela razão do somatório dos indivíduos nodulantes por espécies pelo total de indivíduos de cada espécie. As espécies que apresentaram nodulação ativa estão em negrito, com o número de indivíduos nodulantes entre parênteses em cada classe florestal. As subfamílias estão divididas em: *Mimosoideae* (M), *Papilionoideae* (P) e *Caesalpinioideae* (C)*.....41
- Tabela 2- Estimativa de fixação de nitrogênio em escala ecossistêmica dos transectos estudados (0,25 ha por transecto)..... 48
- Tabela 3- Modelos que melhor explicam a quantificação de biomassa nodular. classe = classe florestal; C = carbono total (%); dap = diâmetro à altura do peito (cm); N = nitrogênio total (%); raiz (g.m^{-2}). Variáveis do modelo: Intrc = Intercepto linear da equação GLM; df = grau de liberdade ; logLik = probabilidade logatômica ; AICc = Critério de Informação de Akaike corrigido; delta = diferença entre os valores AIC para dois modelos; weight = peso de AIC.....49
- Tabela 4- Lista de indivíduos encontrados com potencial de nodulação (n = 133) nos transectos estudados da região de Santarém, com suas respectivas variáveis estudadas. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.60
- Tabela 5- Média e desvio padrão das variáveis explicativas e de massa nodular do conjunto total de indivíduos estudados por transecto (n=15) da região de Santarém, Amazônia centro-oriental. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.....63
- Tabela 6- Média e desvio padrão das variáveis preditoras do total de indivíduos nodulantes (n = 133) estudados por classe florestal, na região de Santarém, Amazônia centro-oriental.....64
- Tabela 7- Média e desvio padrão das variáveis explicativas e de massa nodular somente dos indivíduos com nódulos ativos por transecto (n=10) da região de Santarém, Amazônia centro-oriental. Os transectos que apresentaram apenas um indivíduo nodulante, ou seja, sem desvio padrão, está representado pela sigla NA*. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.....64

Tabela 8- Média e desvio padrão das variáveis preditoras e de massa nodular somente dos indivíduos com nódulos ativos por classe florestal, na região de Santarém, Amazônia centro-oriental. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada..... 64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
CAPÍTULO 2 O PAPEL DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA FLORESTA AMAZÔNICA	19
2.1 DISTÚRBIOS E DEGRADAÇÃO FLORESTAL.....	19
2.2 FLORESTAS SECUNDÁRIAS.....	21
2.3 O CICLO DO NITROGÊNIO E A DEGRADAÇÃO FLORESTAL.....	23
2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	27
CAPÍTULO 3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS SECUNDÁRIAS E FLORESTAS PRIMÁRIAS QUEIMADAS NA AMAZÔNIA CENTRO-ORIENTAL	33
3.1 INTRODUÇÃO.....	33
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.2.1 Área de estudo.....	36
3.2.2 Seleção dos indivíduos da família Fabaceae.....	37
3.2.3 Amostragem de solo	38
3.2.4 Quantificação de massa nodular	38
3.2.5 Estimativa de variáveis dendométricas das árvores.....	39
3.2.6 Análise de solo.....	39
3.2.7 Análise estatística.....	40
3.3 RESULTADOS.....	41
3.3.1 Presença de espécies que nodulam na comunidade.....	41
3.3.2 Frequência de nodulação e biomassa nodular	41
3.3.3 Comparação da nodulação entre as três classes florestais.....	46
3.3.4 Fixação de nitrogênio em nível ecossistêmico	48
3.3.5 Possíveis fatores controladores de biomassa nodular	49
3.4 DISCUSSÃO	52
3.4.1 Nodulação nas florestas estudadas.....	52

3.4.2 Comparação da nodulação entre florestas com diferentes níveis de distúrbio.....	53
3.4.3 Possíveis fatores controladores de biomassa nodular	56
3.5 CONCLUSÃO	59
3.6 MATERIAL SUPLEMENTAR.....	60
CAPÍTULO 4 - O PAPEL DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGENIO NA REGENERAÇÃO DE FLORESTAS TROPICAIS: QUAIS AS IMPLICAÇÕES E DESDOBRAMENTOS DO PRESENTE ESTUDO?	65
REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO GERAL

A Floresta Amazônica é considerada um dos sistemas ecológicos mais importantes do mundo, constituindo a maior floresta tropical remanescente do globo (FOLEY et al., 2007). Estas florestas tropicais apresentam grande diversidade de flora e fauna (VIEIRA et al., 1996), alto sequestro de carbono, produtividade bruta total elevada (BRIENEN, et al., 2015; POORTER et al., 2016) e produção de serviços ecossistêmicos (GIBSON et al., 2011; LEWIS et al., 2015). Entretanto, estes serviços encontram-se ameaçados pela intensidade das atividades antrópicas nesta região (LEWIS et al., 2015).

As principais atividades antrópicas são: (a) extração madeireira (b) desmatamento seguido por práticas agropecuárias, representadas por pastagens, culturas anuais, cultivos perenes, as quais geralmente envolvem o uso do fogo (NEPSTAD et al., 2014; SILVA; OLIVEIRA, 2014) e (c) abertura de rodovias para a integração das regiões brasileiras (FEARNSIDE, 2006; FRASER, 2014).

A Amazônia Legal apresenta uma área total desmatada de 777.170 km², representando 19,47 % da sua área de floresta (INPE, 2017). Os remanescentes florestais encontram-se em diferentes estágios de perturbação ou níveis de degradação (SOUZA JR, et al., 2013). A degradação das florestas está associada com eventos como queimada e exploração de madeira (BARLOW et al., 2016).

A definição de degradação florestal na literatura é bastante controversa havendo mais de cinquenta definições para o termo (GHAZOUL et al., 2015). Entretanto, a degradação florestal geralmente engloba a perda de algum atributo, função ou serviço em resposta a distúrbios. O termo distúrbio é conceituado como um evento discreto no tempo que interrompe a composição, estrutura ou função do ecossistema, provocando mudanças nos recursos, espécies ou ambiente físico (GHAZOUL et al., 2015). Entretanto, a recuperação das florestas pode variar de acordo com a resiliência florestal, conceituada como a tendência de um ecossistema retornar ao estado estável pré-distúrbio (GHAZOUL et al., 2015).

Estudos com o uso de sensoriamento remoto mostraram que no período de 2007 a 2013, as áreas de degradação florestal foram equivalentes ao dobro das áreas desmatadas na Amazônia (INPE, 2017a, 2017b). Esta constatação indica a necessidade de focos de estudo não somente no desmatamento, mas também na degradação florestal, entendendo os impactos para orientar ações de mitigação e controle (FERREIRA et al., 2015). Os estudos já realizados em florestas degradadas e secundárias indicam grande potencial de regeneração destes ecossistemas, pois ainda apresentam grande riqueza em biodiversidade e estoques de carbono,

em comparação aos demais usos da terra (BARLOW, et al., 2016; SOLAR, et al., 2015). Entretanto, se os distúrbios são intensos e frequentes, os ecossistemas podem ser alterados para um estado difícil de retornar ao estado estável anterior (GHAZOUL et al., 2015), e isso cabe também para a Floresta Amazônica (NEPSTAD et al., 2008).

Entre as ações antrópicas que resultam em degradação florestal, o fogo é reconhecido com maior facilidade e com mais potencial de destruição a curto e longo prazo (CARMENTA, et al., 2011). As queimadas são culturalmente empregadas na Amazônia como meios para o preparo da terra para os diferentes fins econômicos, por conta da simplicidade e baixos custos desta prática (CARMENTA, et al., 2011). Esta cultura regional explica a incidência crescente de fogo na Amazônia, apesar da redução nas taxas de desmatamento nas últimas décadas (ARAGÃO; SHIMABUKURO, 2010). Ainda mais importante é que as queimadas tenderão a ser mais frequentes no futuro com as mudanças climáticas globais, especialmente pela intensidade das secas que ocasionam aumento da flamabilidade das florestas (NEPSTAD et al., 2004). A maior flamabilidade é ocasionado principalmente pela intensificação das atividades antrópicas e conseqüente aumento de clareiras, diminuição do dossel e aumento da temperatura do solo (NEPSTAD et al., 2008).

O fogo interfere na estrutura vegetal (BARLOW; PERES, 2004), abundância, riqueza e desenvolvimento sucessional das florestas (BALCH, 2014; BARLOW; PERES, 2008; MASSAD et al., 2012). As queimadas promovem mudanças na estrutura e traços funcionais da vegetação, alteram a resiliência de ecossistemas florestais e influenciam na regeneração de florestas, favorecendo as espécies mais resistentes ao distúrbio (HIGGINS et al., 2007). Além disso, eventos repetidos de fogo acarretam a perda de nutrientes essenciais para a nutrição vegetal (PELEGRINI et al., 2015; WAN et al., 2001), especialmente de macronutrientes como nitrogênio e fósforo (PELEGRINI et al., 2015).

Com o aumento dos distúrbios e sucessões florestais, diversos estudos tentam entender o papel da regeneração florestal nas funções e serviços ecossistêmicos. Serviços ecossistêmicos estão diretamente ligados à resiliência e estabilidade da biomassa florestal (POORTER et al., 2016). As florestas secundárias podem oferecer habitats adequados à manutenção da biodiversidade, servindo como base de reestabelecimento de espécies endêmicas e especialistas em áreas pós-distúrbio (CHAZDON, 2012). Além deste, outros benefícios são oferecidos por estes sistemas, como ampliação de fragmentos com função de corredores ecológicos, amenização de efeitos de borda, prevenção à erosão e a recuperação dos nutrientes do solo (ALMEIDA et al., 2015; CHAZDON; GUARIGUATA, 2016; FOLEY

et al. 2007; MASSOCA et al., 2012). As florestas secundárias contribuem ainda para conservar água e aumentar estoques de carbono, reduzindo as emissões de gases do efeito estufa, o que contribui para a regularização do efeito climático global (CHAZDON; GUARIGUATA, 2016; POORTER et al., 2016).

Apesar da existência de estudos que abordam os principais fatores de crescimento e desenvolvimento das florestas secundárias, há ainda desafios para se entender quais os mecanismos que geram tais benefícios. Chazdon (2012) abordam que vários fatores influenciam na persistência de florestas em regeneração dentro de paisagens tropicais, como solos, topografia, acesso viário, disponibilidade de nutrientes, natureza da vegetação remanescente e proximidade a zonas urbanas. Além dessas, sabe-se que a intensificação do uso da terra prejudica a resiliência florestal (JAKOVAC et al., 2015), diminuindo a riqueza vegetal (MASSOCA et al., 2012).

A família Fabaceae (leguminosas) apresenta resiliência após os distúrbios, por conta da capacidade de suprir as deficiências de nitrogênio em escala ecossistêmica nos períodos de rápido acúmulo de biomassa, através do mecanismo simbiótico de nodulação (BATTERMAN et al., 2013a; 2013b). Estudos recentes mostraram que espécies da família Fabaceae apresentam um papel importante para a regeneração florestal na Amazônia central (GEHRING et al., 2005) e na Costa Rica (BATTERMAN et al., 2013a).

A família das leguminosas é uma das famílias mais importantes na região Amazônica, em questão de abundância e frequência. No estudo de De Faria et al., (2010), foram encontradas numa região do estado do Pará, 199 espécies da família Fabaceae, com a confirmação de que, deste total, 137 nodulavam. Além disso, há a possibilidade de descobrir novas espécies nodulantes, com o aumento de estudos sobre esta família vegetal (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SPRENT, 2009).

As espécies que realizam Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), em simbiose com microrganismos, transformam estrategicamente o nitrogênio atmosférico na forma nutritiva para a planta (i.e., amônia) (ARAÚJO et al., 2012; BATTERMAN et al., 2013a; 2013b; YANG et al., 2010). O nitrogênio biotômico atmosférico (N_2) não é uma forma assimilável pelas plantas, necessitando do solo ou de outros mecanismos, como a FBN, para a nutrição vegetal (DAVIDSON et al., 2007). Percebe-se então, a importância dos estudos sobre a produção de nódulos simbióticos nas raízes de leguminosas para fixação de nitrogênio disponível (BATTERMAN et al., 2013a), e o entendimento dos fatores controladores dessa produção (COSTA, et al., 2013).

É relevante assim, investigar se a fixação biológica de nitrogênio pelas plantas leguminosas é um fenômeno importante para a regeneração das florestas após distúrbios, e em particular das florestas primárias degradadas que nunca foram objeto de estudo neste tema. Durante uma seca intensa entre 2015-2016, a região de Santarém, incluindo diversos municípios, teve queimadas sem precedentes na história. Isto está relacionado a um forte El-Niño que colocou cerca de 13% da floresta amazônica em seca extrema (JIMÉNEZ-MUÑOZ et al., 2016). Isto mostra a necessidade crescente de estudos que compreendam os mecanismos dos ecossistemas para a recuperação dos distúrbios.

Sabe-se da importância da regeneração das florestas degradadas pós-distúrbios para conservar a biodiversidade e manter serviços ecossistêmicos essenciais (BARLOW et al., 2016; EDWARDS et al., 2011; SOLAR et al., 2015). Entender os mecanismos que influenciam a capacidade de regeneração destas florestas é altamente relevante no contexto atual que prioriza a conservação e restauração florestal (ARAGÃO; SHIMABUKURO, 2010; BERENGUER et al., 2014). Em nosso conhecimento, apenas um estudo foi realizado associando leguminosas e regeneração florestal na Amazônia brasileira (GERHING et al., 2005), sendo que este estudo investigou apenas as florestas secundárias. O comportamento da FBN não é conhecido para florestas primárias recuperando de distúrbios como fogo e exploração madeireira. O entendimento deste processo torna-se ainda mais importante com as mudanças climáticas, que vêm intensificando as secas, aumentando a flamabilidade das florestas e a susceptibilidade das florestas da Amazônia às queimadas.

O objetivo principal deste trabalho foi investigar o papel das leguminosas fixadoras de nitrogênio na regeneração natural de florestas secundárias e florestas primárias queimadas na região de Santarém, Amazônia Centro-Oriental. Para tanto, foram desenvolvidos estudos comparativos em florestas de três tipos: florestas secundárias, florestas primárias queimadas e florestas primárias intactas que serviram de referência. Os objetivos específicos do estudo foram: **i)** Investigar a ocorrência de FBN entre as espécies de leguminosas que ocorrem na área de estudo; **ii)** Quantificar a fixação de nitrogênio a partir dos nódulos simbióticos ativos em nível individual, de espécie, por classe florestal e ecossistêmico; **iii)** Determinar as principais variáveis preditoras que explicam o incremento de massa nodular em Santarém.

O capítulo 1 deste trabalho aborda o estado da arte do conhecimento sobre a fixação biológica de nitrogênio em florestas. Em particular, são abordados aspectos da degradação das florestas e o mecanismo de fixação de nitrogênio, além do ciclo biogeoquímico do nitrogênio.

O capítulo 2, apresentado em formato de artigo científico, descreve uma pesquisa empírica realizada em 15 sítios de floresta de terra firme na região de Santarém, na Amazônia Centro-Oriental. Nesta pesquisa, foi investigada a ocorrência de nodulação nas raízes das espécies de Fabaceae ocorrentes nos sítios, comparando três tipos de floresta representando níveis diferentes de distúrbio. Dessa forma, buscou-se compreender possíveis relações da FBN na regeneração das florestas submetidas a distúrbios na região.

No capítulo 3, são discutidas as principais conclusões do estudo bem como as implicações e possíveis desdobramentos dos resultados encontrados sobre a fixação biológica de nitrogênio em florestas submetidas a distúrbios.

CAPÍTULO 2 O PAPEL DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA FLORESTA AMAZÔNICA

2.1 DISTÚRBIOS E DEGRADAÇÃO FLORESTAL

O desmatamento não é o único responsável pela redução e perda de biodiversidade e serviços ecossistêmicos na Amazônia. A degradação florestal, por eventos como queimadas, exploração madeireira e fragmentação, representa impacto negativo importante na Amazônia (BARLOW et al., 2016). A degradação florestal pode ter impactos de magnitude comparada ao desmatamento, por exemplo, quando a frequência das queimadas e outros distúrbios afetam integralmente uma vasta área (MASSAD et al., 2013; ZARIN et al., 2005). Em áreas submetidas ao extrativismo frequente, a floresta pode permanecer num constante estágio de sucessão inicial, sendo um risco para a conservação de fragmentos florestais (BRANCALION et al., 2012).

Há mais de 50 formas de conceituar degradação florestal, mas de forma geral, pode ser definida como “um estado de sucessão seguindo distúrbios causados pelo ser humano, onde os processos ecológicos da dinâmica florestal são diminuídos ou severamente limitados” (GHAZOUL et al., 2015). A degradação resulta na perda de biomassa e biodiversidade florística e faunística (PARROTA et al., 2012). A degradação florestal apresenta níveis de intensidade variados que necessitam de mais estudos para o entendimento espaço-temporal dos seus efeitos bem como os eventos naturais causadores de degradação (GHAZOUL et al., 2015).

A degradação florestal no estado do Pará atingiu uma área de 12.809 km² no ano de 2016, representados por queimada e extração de madeira. Isso é equivalente a 60% a mais que o total desmatado na Amazônia (7.989 km²) e mais de 4 vezes a área desmatada no estado (3.025 km²), entre agosto de 2015 a julho de 2016 (CARDOSO et al., 2017). Observou-se também que a maior parte da degradação foi resultante das queimadas (12.382 km²), com uma menor contribuição da exploração de madeira (427 km²) (CARDOSO et al., 2017). Além disso, entre 2015 e 2016, Santarém foi o município com a segunda maior área degradada do estado do Pará, com cerca de 1.913 km² (CARDOSO et al., 2017).

O impacto ambiental negativo da degradação florestal é muitas vezes subestimado. A extração seletiva de madeira e a caça predatória são difíceis de serem detectadas pelas metodologias de monitoramento atuais, dificultando a realização de estudos (DAVIDSON;

MARTINELLI, 2009). Entretanto, sabe-se do seu potencial para a diminuição na conservação e serviços ecossistêmicos (BERENGUER et al., 2014; MASSAD et al., 2012). O corte seletivo pode resultar numa maior vulnerabilidade ao fogo, através da abertura do dossel, que torna o microclima mais seco, aumentando o potencial de flamabilidade da área (FEARNSIDE, 2005).

O fogo representa o tipo de degradação com efeitos mais rápidos e de maior devastação para as florestas (CARMENTA et al., 2011). A percepção dos regimes de seca cada vez mais extremas com maior duração do El Niño ocorridos nos anos de 1998, 2005, 2009 e 2015 (POORTER et al., 2016), e as mudanças de uso do solo, se somam para afetar a resiliência de florestas com as secas e menor umidade no ambiente (BARLOW; PERES, 2004). Dessa forma, há um aumento da probabilidade de incêndios, o que prejudica as florestas primárias e a população humana envolta (MASSOCA et al., 2012). O sucesso da permanência vegetal pós-distúrbio apresenta alta relação com a disponibilidade de água para o ambiente, influenciando na sobrevivência e no crescimento estrutural vegetal (ALVES; METZGER, 2006; POORTER et al., 2016). Com o aumento da disponibilidade hídrica pelas chuvas, o período de crescimento vegetal é intensificado, assim como o acúmulo de biomassa (POORTER et al., 2016).

A Floresta Amazônica sempre foi vista como imune ao fogo, pelo excesso de serapilheira úmida (combustível) no solo (BARLOW; PERES, 2004). Entretanto, com os eventos de seca mais intensos e frequentes, a resiliência ao fogo está decrescendo (DAVIDSON et al., 2012; MASSAD, et al., 2012). As queimadas resultam em mortalidade desde a primeira intervenção humana em determinada área (BARLOW; PERES, 2004; 2008). Com o aumento do potencial de combustão de florestas após a primeira queimada, os efeitos do uso repetitivo do fogo são ainda mais desastrosos (FEARNSIDE, 2005). Estudos demonstram que quanto maior a quantidade de queimadas em florestas, maior a redução da riqueza florestal e também do acúmulo de biomassa acima do solo (BARLOW; PERES, 2004; 2008). A despeito de todos os impactos negativos da degradação, se a fonte de distúrbio for interrompida, as florestas podem se regenerar e conservar parte importante da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos (CHAZDON, 2012).

Sabe-se que o monitoramento de florestas degradadas é uma ferramenta importante para subsidiar estratégias de manutenção dos serviços ecossistêmicos, aumento de borda da paisagem e corredores ecológicos (SOLAR et al., 2015). A exploração madeireira com manejo adequado pode recuperar estoques de carbono e manter a riqueza da biodiversidade,

conservando as florestas em comparação com outras formas de uso da terra (FERREIRA et al. 2015).

A queimada é conceituada como o “processo de combustão de fitomassa e/ou subprodutos desta combustão” (LOMBARDI, 2005). Os efeitos dos distúrbios de queimadas estão cada vez mais presentes nos estudos acadêmicos, devido ao crescimento, demanda socioeconômica e mudanças climáticas, característico de países em desenvolvimento, como o Brasil. Se os fenômenos de seca e atividades frequentes de queimadas se intensificarem no futuro, hipotetiza-se que a Amazônia perderá sua função de sequestro de carbono, e se tornará emissor de carbono (BALCH, 2014). Outros estudos sobre ciclo do carbono também chegam à mesma conclusão (NEPSTAD et al., 2014; ZARIN et al., 2005).

O fogo apresenta um papel importante nos ecossistemas tropicais, sendo um grande interventor da estrutura e composição das florestas (BARLOW; PERES, 2008). As árvores grandes e mais antigas apresentam uma melhor adaptação ao fogo, entretanto, são as primeiras a sofrerem com o estresse hídrico em períodos prolongados de seca (MASSAD et al., 2012). Com a diminuição da diversidade de plantas, também há a redução de oferta de frutos e outros tipos de alimento, conseqüentemente, diminuindo a abundância e diversidade faunística (BARLOW; PERES, 2004).

2.2 FLORESTAS SECUNDÁRIAS

As Florestas Secundárias (FS) apresentam diversos conceitos (FERREIRA, 1997). Entretanto, todos apresentam o distúrbio como fator chave para caracterizar a floresta secundária, sendo de origem humana ou natural. Apesar da possibilidade de os distúrbios ambientais serem originados por fenômenos naturais, como furacões, ciclones e tempestades, os estudos recentes focam a regeneração sucessional a partir de perturbações antrópicas (CHAZDON et al., 2016, POORTER et al., 2016). Para este trabalho, adota-se o conceito de floresta secundária como “sucessão resultante dos processos naturais, após supressão total ou parcial da vegetação primária por ações antrópicas ou causas naturais, podendo haver árvores remanescentes da vegetação primária” (CONAMA n° 392, 2007).

A Amazônia é uma das áreas mais estudadas quanto às mudanças de uso da terra, principalmente pela sua biodiversidade e a intensa transformação das paisagens naturais pelas atividades antrópicas de caráter desordenado e acelerado (DAVIDSON et al., 2012; FOLEY et al., 2007; JÚNIOR, 2012; NEPSTAD et al., 2014; VIEIRA; GARDNER, 2012; YANG et al., 2010;). As mudanças na paisagem foram acentuadas a partir da década de 60, com a

integração política da Amazônia Legal e as zonas de fronteiras agrícolas (SALOMÃO et al., 2012; VIEIRA; GARDNER, 2012).

Estas atividades têm características predatórias, levando à supressão florestal nativa e a utilização de modelos de produção ineficientes e incompatíveis com as características ambientais locais, o que gera alterações na paisagem regional e perda das funções e benefícios ecossistêmicos (MASSOCA et al., 2012). A expansão secundária constitui-se em uma “segunda natureza”, representada pelas modificações antrópicas, o que interfere diretamente nos caminhos de sucessão até a classificação de florestas maduras (VIEIRA; GARDNER, 2012).

As florestas secundárias apresentam uma biodiversidade inferior às florestas primárias, além de acúmulo de biomassa reduzido (FELDPAUSCH et al., 2007, LIMA et al., 2007; SOLAR et al., 2015). Uma meta-análise de 600 trabalhos concluiu que a riqueza de florestas secundárias leva cerca de 50 anos para alcançar as de uma floresta primária. Entretanto, grande parte das espécies são generalistas (MARTIN et al., 2013). Concluiu-se que as taxas de crescimento e colonização dependem do tipo e intensidade do distúrbio e que dificilmente as florestas secundárias igualam a riqueza completa de florestas primárias (MARTIN et al., 2013). Em estudos das florestas tropicais do planeta, a biodiversidade foi também substancialmente inferior quando houve algum tipo de distúrbio humano, apesar da relação também com a região geográfica, grupo taxonômico, estrutura ecológica e tipo de distúrbio (BARLOW et al., 2016; GIBSON et al., 2011).

Entretanto, percebe-se a importância destes ecossistemas com grande potencial de serviços ambientais para o homem e ao meio ambiente (CHAZDON, 2012). As florestas secundárias fornecem diversos serviços ecossistêmicos, como a proteção da integridade ecológica dos sistemas aquáticos, ampliação de fragmentos com função de corredores ecológicos, amenização de efeitos de borda manutenção dos processos de polinização, controle de plantas invasoras e pragas, ajuda nos ciclos biogeoquímicos e conservação de nutrientes, proteção do solo contra erosão e oferecem habitats adequados para espécies florestais (CHAZDON, 2012; CHAZDON; GUARIGUATA, 2016; FOLEY et al., 2007; MASSOCA et al., 2012; VIEIRA; GARDNER, 2012).

Florestas em regeneração podem se tornar a principal fonte de gases do efeito estufa, dependendo da intensidade e avanço da degradação florestal e desmatamento (BRANCALION et al., 2012). O potencial de sequestro e mitigação de carbono de florestas secundárias no Neotrópico é imenso (PAN et al., 2011; POORTER et al., 2016). Florestas

secundárias apresentam altas taxas de sequestro de carbono, contribuindo positivamente às mudanças climáticas do globo. O sequestro anual após vinte anos de sucessão representa onze vezes mais do que a taxa de sequestro da floresta amazônica madura e cerca de duas vezes mais a taxa de estoque de extrativismo vegetal no mesmo bioma (POORTER et al., 2016).

A identificação dos diferentes estágios sucessionais de florestas secundárias é um dos desafios encontrados em estudos recentes, além da quantificação das mesmas através de sensoriamento remoto (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009; SALOMÃO et al., 2012). Este tipo de abordagem permite comparar estudos e examinar as características estruturais, florísticas e propriedades e funções ecossistêmicas de cada estágio (SALOMÃO et al., 2012). A classificação de estágios de sucessão de florestas secundárias, descritas pelos mesmos autores, segue um período inicial (capoeirinha), com idade de cinco anos, podendo chegar até dez anos, dependendo do grau de degradação do solo e escassez de propágulos, com presença de espécies de plantas herbáceas anuais ou bianuais (pioneiras); período intermediário (capoeira), com idade de dez até vinte anos, com uma diversidade de espécies pioneiras e espécies lenhosas de médio porte (arbustivo-arbórea); e o estágio avançado, com uma riqueza maior de espécies e com características tolerantes à iluminação e idade acima de vinte anos.

Chazdon (2012) apresenta uma classificação com características semelhantes, mas com quatro níveis de sucessão: início do povoamento (0-15 anos); exclusão de espécies intolerantes à sombra (15-50 anos); reinício do sub-bosque (30-200 anos); e floresta madura (maior que 200 anos). O dinamismo é concentrado nos estágios iniciais de sucessão, com acelerado aumento de densidade de indivíduos, acúmulo de biomassa, com pouca riqueza, entretanto, alta abundância e de vida curta (ARAÚJO et al., 2005).

2.3 O CICLO DO NITROGÊNIO E A DEGRADAÇÃO FLORESTAL

O nitrogênio é um importante constituinte do planeta, onde está distribuído principalmente nas rochas, fundo dos oceanos e sedimentos, representando 98% do nitrogênio existente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Em formato gasoso diatômico não combinado (N_2), representa o elemento mais abundante na atmosfera, e segunda maior representação do elemento no globo (ROSA et al., 2003). Na biosfera, o nitrogênio encontra-se predominantemente em forma orgânica de matéria morta (94%) e os 6% restantes nos seres vivos, dos quais 4% representam a biota microscópica no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A maior parte do nitrogênio orgânico no solo encontra-se como proteínas, peptídeos, ácidos nucleicos e uréia. Estes compostos apresentam cadeias carbônicas complexas que

necessitam de diversas enzimas para a quebra e mineralização destes substratos, tornando-os disponíveis para a biota no solo e para as plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A mineralização de nitrogênio no solo ocorre com cerca de 10% do total de nitrogênio orgânico no solo, enquanto que a fração envelhecida de nitrogênio, cerca de metade do estoque, praticamente não pode ser mineralizado. Contudo, esta baixa porcentagem ainda representa grande quantidade de nitrogênio liberada para o solo, podendo suprir as exigências ambientais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A mineralização de nitrogênio inicia com a ação de peptidases extracelulares que quebram as moléculas de proteína, liberando peptídeos e aminoácidos, iniciando o ciclo do nitrogênio. As reações químicas finais são transportadas para o interior das células, onde são metabolizados, produzindo amônia (NH_3) e compostos orgânicos intermediários (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Esta conversão química de nitrogênio orgânico em amônia é conceituada como amonificação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A transformação de N_2 em NH_3 pode ocorrer por fenômenos físicos (relâmpagos e faíscas elétricas), em menor proporção, ou por bactérias (gêneros *Rhizobium*, *Azotobacter* e *Clostridium*), algas azuis (gêneros *Anabaena* e *Nostoc*) e fungos que vivem livres no solo ou associados às raízes (ROSA et al., 2003). A amônia produzida logo se equilibra com água em solo e forma íon amônio (NH_4^+) que é absorvido ou sofre a próxima fase do ciclo do nitrogênio que é a nitrificação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A nitrificação é um processo importante no ciclo do nitrogênio, pois como a forma amoniacal é a principal forma de nitrogênio disponível para a maioria das plantas, o processo influencia na produtividade primária dos ecossistemas com a transformação do amônio em ânions nitrogenados (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Isto é um fator determinante na ecologia e biodiversidade de comunidades. A nitrificação é realizada por bactérias quimiautotróficas gram-negativas que desempenham esta atividade como fonte de energia para fixação de CO_2 . A nitrificação é dividida em nitritação e nitratação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A nitritação é a transformação de amônio (NH_4^+) em nitrito (NO_2^-), mediada, por exemplo, por bactérias do gênero *Nitrosomonas*. O nitrito imediatamente é oxidado em nitrato (NO_3^-), representado pelo processo de nitratação. Este processo é realizado por exemplo, por bactérias do gênero *Nitrobacter* (ROSA et al., 2003). Apesar da nitrificação bacteriana ser a principal via de disponibilização de nitrito e nitrato no solo, há ainda a nitrificação heterotrófica, realizada por fungos (*Aspergillus*, *Penicillium* e *Cephalosporium sp*)

(MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), e a nitrificação por leguminosas fixadoras de nitrogênio via serapilheira (HIPKIN et al., 2004).

As formas inorgânicas produzidas disponíveis no solo podem seguir vários destinos, determinando os fluxos de nitrogênio no sistema. O íon nitrito é raramente encontrado no solo. Isso se deve pelo alto potencial tóxico e carcinogênico deste composto. Assim, o nitrito é rapidamente convertido em nitrato, diminuindo o impacto nocivo sobre os seres vivos e ao meio ambiente. Os íons amônio e nitrato são preferencialmente absorvidos pela maioria das plantas, principalmente o íon nitrato (COLETTA, 2010). Os dois podem também ser reutilizados pelos microrganismos, em caso de condições favoráveis para imobilização.

Há também a possibilidade de perda desses íons no solo. O amônio é um composto estável no solo, já que é um cátion que pode ser adsorvido aos colóides do solo. Entretanto, o nitrato é um ânion e fica mais solúvel no solo, podendo facilmente ser lixiviado e levado para fora da zona radicular (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Esta translocação entre outros fatores (i.e., aeração do solo, pH e temperatura no solo) levam a um processo seguinte do ciclo do nitrogênio: a redução química de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Completando o ciclo do nitrogênio, as formas oxidadas são reduzidas por processos assimilatórios ou dissimilatórios (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A desnitrificação respiratória é o principal e mais conhecido processo redutivo e de perda de nitrogênio do solo para a atmosfera, consistindo na redução química (oxidação fosforilativa) de formas oxidadas a formas gasosas, envolvendo quatro fases redutivas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As reações químicas seguem uma sequência oxidativa de nitrito (NO^-), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio diatômico (N_2). Todos esses processos conservam energia e ocorrem em condições anaeróbicas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O ciclo do nitrogênio é aberto à natureza, sofrendo bastante perdas, tornando-se um dos nutrientes que mais limita o crescimento das plantas (VITOUSEK; FARRINGTON, 1997). As ações antrópicas tornam os fluxos deste nutriente ainda mais instáveis, levando a uma grande preocupação. Os principais responsáveis pelas alterações deste ciclo são a expansão da fronteira agrícola, o aumento do consumo de fertilizantes nitrogenados, o crescimento populacional e acelerada urbanização. Estes fenômenos aumentam as taxas de mineralização e mobilização de nitrogênio nos solos e, conseqüentemente, a sua lixiviação (FILOSO et al., 2006). Neste contexto, estudos estão intensificando o conhecimento sobre os fluxos do ciclo do nitrogênio em diversos aspectos (BATTERMAN et al. 2013a; 2013b; GEHRING et al., 2005; ROGGY et al., 1999).

Embora o ciclo do nitrogênio seja bastante estudado quanto ao seu funcionamento e comportamento, pouco se sabe sobre este nutriente nas florestas tropicais (BATTERMAN et al. 2013a; DAVIDSON et al., 2007; GEHRING et al., 2005; FIGUEIRA, 2006;). Há um número ainda menor de estudos sobre o comportamento do nitrogênio numa resolução espaço-temporal (WAN et al., 2001). O caráter de limitação de nitrogênio no ecossistema é dependente principalmente da idade do solo, e os solos mais antigos aumentam de profundidade com uma menor latitude (WALKER; SYERS, 1976; VITOUSEK, 1984). Em solos mais antigos, a intensidade de lixiviação aumenta sendo que quanto mais velho o solo, maior será a perda de nitrogênio na forma disponível (VITOUSEK, 1984).

Seguindo esta interpretação, com a supressão vegetal sem manejo adequado, as propriedades e funcionamento dos ciclos biogeoquímicos não permanecem da mesma forma. Há a perda dos nutrientes por percolação e lixiviação. O nitrogênio, diferentemente dos outros nutrientes ainda volatiliza como um gás e lixivia com maior facilidade (DAVIDSON et al., 2007). O nitrogênio volatiliza com temperaturas a partir de 200°C e apresenta uma alta perda no solo em ocorrências de queimadas em áreas com quantidade de combustível excedente a 3370 kg/ha (WAN et al., 2001). Assim, supõe-se que as florestas degradadas apresentem limitação de nitrogênio disponível, principalmente após a incidência de fogo (BATTERMAN et al., 2013a; VITOUSEK; FARRINGTON, 1997). Outros estudos indicam que há a diminuição de macronutrientes essenciais (nitrogênio e fósforo) no solo, com a intensificação do uso de queimadas (PELEGRINI et al., 2015)

Estudos de balanço de massa em florestas amazônicas mostram que as perdas de nitrogênio acima do solo após o fogo são de 51 a 62% (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009). Ademais, há uma pequena parcela de perda que surge após as perturbações, através de influxos nas águas subterrâneas, escoamento de pequenos rios e emissões gasosas (N₂O) dos solos, num período bem curto de duração, mas que pode ser contabilizado negativamente para o ecossistema (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009).

Wan et al. (2001) demonstraram, a partir de uma meta-análise, que as variações de nitrogênio do solo apresentam comportamentos distintos após o efeito de queimadas no solo. Em curto prazo, o fogo reduz significativamente a quantidade de nitrogênio residual (combustível), aumenta o nível de amônia e nitrato disponível no solo e o fogo não apresenta efeitos na concentração total de nitrogênio (WAN et al., 2001). Entretanto, as concentrações crescentes de nitrato e amônia voltam a decrescer logo após um curto período (até um ano) (COSTA et al., 2013; WAN et al., 2001). Comportamento semelhante para o nitrato foi

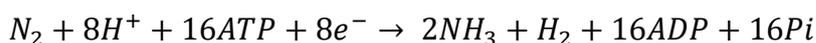
encontrado em florestas amazônicas no leste do Pará, com a diminuição de sua concentração entre um e dois anos após a queima da área de estudo (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009).

Os tipos de queimada (fogo controlado, corte e queima e incêndio florestal) influenciam também na concentração de nitrogênio no solo em florestas, nos quais o corte e queima e incêndios florestais são os principais distúrbios para perda de nitrato e amônia (WAN et al., 2001).

2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Entre os quatro elementos essenciais mais abundantes da Terra (carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio), o nitrogênio apresenta somente 0,04% nas formas combinadas orgânicas e inorgânicas nos ecossistemas aquáticos e terrestres, os quais a maioria dos seres vivos dependem (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Como uma estratégia evolutiva, uma pequena parcela de espécies de procariotos possui uma enzima chamada nitrogenase que é capaz de reduzir o nitrogênio atmosférico (N₂) para a amônia (NH₃), forma inorgânica, convertendo assim uma composição de nitrogênio disponível para plantas e outros organismos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os organismos que conseguem realizar esta conversão são chamados de fixadores de nitrogênio ou diazotróficos, e realizam o mecanismo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (COLETTA, 2010).

A equação deste processo, com a nitrogenase como catalisador, é apresentada a seguir:



Os fotossintatos (i.e., ATP) são essenciais para os organismos fixadores de nitrogênio, como mostrado na equação. Além da geração de energia para o processo, os fotossintatos são substratos de crescimento e manutenção das células microbianas, além de suprir esqueletos de carbono e força redutora para a assimilação de NH₃ e ao sistema nitrogenase (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A nitrogenase é uma enzima versátil. Além da redução de N-NH₃, ela catalisa a redução de vários outros tipos de substratos. Uma delas é a de acetileno (C₂H₂) para etileno (C₂H₄) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Este processo é conhecido como atividade de redução de acetileno (ARA) que é uma técnica metodológica bastante utilizada para estudar a FBN em espécies vegetais. A ARA pode ser utilizada em estudos qualitativos para encontrar organismos fixadores de nitrogênio (BATTERMAN et al., 2013a, 2013b; ROGGY et al., 1999; WURZBURGER; HEDIN, 2015).

A maioria das espécies bacterianas que realizam a FBN são de vida livre, e numa alta gama de ecossistemas (BARRON et al., 2009; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; NASTO et al.,

2014). Entretanto, serão focados para este trabalho somente a simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio e plantas hospedeiras da família Fabaceae.

As espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL) são coletivamente chamadas de rizóbios. Os rizóbios são alfa-proteobactérias gram-negativas (i.e., *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*), com respiração aeróbica obrigatória sem endósporos (COLETTA, 2010; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A fixação de nitrogênio por simbiose entre bactérias e plantas é considerada como a mais evoluída e de maior eficiência. Esta simbiose é caracterizada pela formação de estruturas hipertróficas, os nódulos, nas raízes e excepcionalmente, no caule (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os benefícios para as plantas e bactérias são de acúmulo de nitrogênio e fornecimento de carbono assimilável, respectivamente (COLETTA, 2010). Entretanto a FBN não é observada como um todo para a família Fabaceae.

A FBN apresenta relação com caráter evolutivo da família Fabaceae, com a taxa e presença de espécies nodulantes variando bastante entre suas subfamílias (ROGGY et al., 1999). Estudos hipotetizam esta diferenciação nodular pela linhagem evolutiva, na qual a subfamília Caesalpinioideae é a subfamília menos evoluída e também com menor espécies nodulantes, comparado às outras subfamílias das Fabaceae (ROGGY et al., 1999; SPRENT, 2009).

Outra possível explicação de sucesso das Fabaceae na FBN é da alta demanda de níveis de nitrogênio, por conta da estratégia de vida dessas espécies vegetais. Espécies nodulíferas apresentam altos teores de nitrogênio em seus tecidos vegetais. Assim, as leguminosas necessitam de um fornecimento eficiente de nitrogênio para suprir estas altas demandas (MCKEY, 1994).

A diferenciação nodular intraespecífica também é encontrada nos estudos sobre FBN em plantas. Um exemplo disso são as espécies do gênero *Inga*. Este gênero é bastante distribuído tanto em espécies quanto em números pelo neotrópico, com cerca de 300 espécies (BARRON et al., 2011; DE FARIA et al., 2010). Ela também é uma das principais representantes das espécies que realizam a FBN (BARRON et al., 2010). Entretanto, nem todas as espécies são nodulíferas. Em um estudo no estado do Pará, foram encontradas 23 espécies do gênero *Inga*, sendo que 18 espécies estavam nodulando (DE FARIA et al., 2010).

Batterman et al. (2013a) quantificaram a nodulação em cronossequência de florestas secundárias e quais espécies apresentaram maior nodulação em transectos no Panamá. Os resultados inferiram que as florestas estudadas dependem de um conjunto diversificado, com

espécies nodulando desigualmente, para a fixação de nitrogênio para ajudar no desenvolvimento vegetal ecossistêmico (BATTERMAN et al., 2013a). Wurzburger; Hedin (2015) concluíram, a partir de diversas variáveis (i.e., formas inorgânicas de nitrogênio, fósforo extraível, DAP) que a diversidade taxonômica é o principal vetor de alteração de massa nodular entre espécies da família Fabaceae.

Para o estabelecimento da simbiose com nódulos efetivos, as etapas fundamentais são: pré-infecção (reconhecimento e interações entre as superfícies dos simbioses); infecção da planta pela bactéria e formação do nódulo; e funcionamento dos nódulos por fixação de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O reconhecimento inicial entre os simbioses é realizado por moléculas exsudadas pela planta que ativam os genes de nodulação (gene *nod*) da bactéria. As moléculas ativadoras são identificadas como flavonoides, chalconas, betaínas e isoflavonóides conjugados, dependendo da espécie hospedeira (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os genes *nod* só são encontrados em bactérias nodulíferas e apresentam grande importância para FBN, como mostra a seguir. Com o contato das moléculas ativadoras aos genes *nod*, inicia-se a síntese de fatores *nod*, conhecidos como lipoquitooligossacarídeos (LQO), hormônios (citocinina) e diacilglicerol diglicosil (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estes compostos induzem o processo de infecção no hospedeiro o que leva à nodulação. Ademais, diferentes tipos de polissacarídeos extracelulares (PSE) e moléculas com propriedades antigênicas de reação cruzada (lectinas) liberados pelas bactérias, cooperam no processo de interação das superfícies (aderência) da bactéria e da planta hospedeira (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Após toda essa interação química na superfície dos simbioses, há o processo de infecção. Este processo pode ocorrer na epiderme, feridas ou pelos radiculares, sendo os dois primeiros com ou sem cordões de infecção, nas raízes da planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A principal delas é a infecção por pelos radiculares com cordão de infecção. Esta entrada de bactérias apresenta os seguintes passos: multiplicação de bactérias ao redor do pelo, ligação das bactérias, encurvamento dos pelos, infecção seletiva, formação e crescimento do cordão de infecção no córtex vegetal e liberação das bactérias nas células do córtex (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Por fim, o resultado final é o nódulo ativo. O nódulo e seu funcionamento é a característica principal representativa de evolução às outras formas de FBN (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No interior dos nódulos no solo, os bacteróides estão em íntima relação com a planta, relação essa que é modulada fisiológica, bioquímica e geneticamente, o que

garante maior eficiência da simbiose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Genes do hospedeiro são especificamente sintetizados durante a forma de nódulos, chamados genes nodulinas, envolvidos no processo de infecção e de formação do nódulo e no seu funcionamento. A partir dos genes nodulina, há a produção das nodulinas (proteínas vegetais) que apresentam diferentes funções (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Uma delas é a nodulina leg-leguminosa. Por mediar processos redutivos, a nitrogenase de modo geral, é extremamente sensível ao oxigênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os organismos FBN, em geral, desenvolveram vários mecanismos para proteger o sítio da nitrogenase da interferência do oxigênio (i.e., proteção respiratória, produção de polissacarídeos extracelulares), entretanto, a leg-leguminosa é a mais eficiente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A leg-hemoglobina tem a função de transportar oxigênio em taxas suficientes e constantes (efeito-tampão) para o metabolismo aeróbio dos bacteróides, sem excessos para inibir a atividade da nitrogenase (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). E assim como as hemoglobinas do corpo humano, as das simbioses apresentam coloração avermelhada ao interior dos nódulos (SPRENT, 2009). Há a possibilidade de simbioses apresentarem coloração amarelada ou branca, mas isso não quer dizer que não estão fixando nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Há também as nodulinas glutamina sintetase e o glutamato sintetase que ajudam no processo de assimilação do nitrogênio fixado (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Assim como no ciclo do nitrogênio, as atividades antrópicas também influenciam diretamente na FBN das espécies da família Fabaceae. Com a deficiência de nitrogênio em solos impactados, as espécies que realizam FBN têm uma competição vantajosa para se desenvolver, favorecendo o crescimento e desenvolvimento, além de ajudar no reestabelecimento e estabilidade do ciclo do nitrogênio da área impactada (VITOUSEK; FIELD, 1999) e ajudar no estoque de carbono pelo crescimento vegetal acelerado (BATTERMAN et al., 2013a). A simbiose planta-bactéria pode ser incentivada em resposta à necessidade de suprimento de nitrogênio para o desenvolvimento e crescimento vegetal, além da perda deste nutriente no solo por lixiviação e volatilização após distúrbios (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009; YANG et al., 2010). Ademais, a FBN ocorre tanto em espécies pioneiras quanto nas de sucessão tardia (ARAÚJO, 2012; ROGGY et al., 1999). Entretanto, foi indicada uma maior taxa de FBN ecossistêmica em florestas secundárias mais jovens, ao redor de 12 anos (BATTERMAN et al., 2013a). A riqueza de espécies de leguminosas

presentes em um ecossistema ajuda como chave elementar para o incremento da fixação de nitrogênio e é um mecanismo com caráter facultativo (BATTERMAN et al., 2013a).

Entretanto, fatores ainda não tão conhecidos podem influenciar na potencialidade de produção de nódulos, principalmente em florestas em regeneração, onde as funções ecossistêmicas encontram-se desequilibradas. Os fatores de limitação na produção de nódulos pelas leguminosas estão voltados principalmente para a disponibilidade de nutrientes no solo (BARRON et al., 2009; BATTERMAN et al., 2013b). Mesmo sabendo-se da importância desse grupo vegetal em florestas tropicais, ainda há lacunas no conhecimento de controle de fixação biológica de nitrogênio pela disponibilidade de nutrientes, como o nitrogênio, fósforo e molibdênio (BARRON et al., 2009, 2011; BATTERMAN et al., 2013b; MCKEY, 1994).

A presença de altas concentrações de nitrogênio inorgânico limita a produção nodular (BARRON et al., 2011). Entretanto, a mobilidade de nitrogênio no solo é alta, por volatilização, percolação e lixiviação (DAVIDSON et al., 2004; FELDPAUSCH et al., 2004).

Em relação ao fósforo, dependendo das condições locais, a nodulação pode ou não ocorrer, por conta da restrição deste elemento em solos tropicais (BATTERMAN et al., 2013a). O fósforo é considerado o maior nutriente limitante de produtividade em florestas tropicais maduras e em regeneração, em solos altamente ácidos (BATTERMAN et al., 2013b; DAVIDSON et al., 2007;). O aumento de fósforo no solo aumenta a atividade da enzima nitrogenase e conseqüentemente, favorece a realização da FBN quando este mecanismo é acionado (BARRON et al., 2009).

Batterman et al. (2013b) realizaram um estudo utilizando a espécie nodulante *Inga punctata*, para a investigação das taxas de nodulação em diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo. As taxas de fixação foram mais elevadas quando não havia nenhum incremento de nitrogênio e fez-se uma adição mediana de fósforo. A atividade nodulante era quase inexistente quando as dosagens eram extremas para ambos os nutrientes,

A simbiose para FBN necessita da disponibilidade de molibdênio para a fixação do nitrogênio atmosférico, já que este micronutriente é uma das principais proteínas da nitrogenase (BARRON et al., 2009). Este elemento é considerado como limitador de fixadores heterotróficos de nitrogênio (BARRON et al., 2009). Num estudo no Panamá com amostras com gradientes de concentração de molibdênio adicionados no solo, observou-se que as taxas de fixação foram limitadas por molibdênio (BARRON et al., 2009). Batterman et al. (2013a) também concordam teoricamente que o molibdênio se torna um limitador para

espécies vegetais. Além dos nutrientes disponíveis, a idade sucessional florestal e a limitação de luz solar também são fatores que apresentam interferências na FBN (MCKEY, 1994).

Sucessivos eventos de fogo e supressão vegetal podem reduzir a quantidade de nitrogênio no solo e, conseqüentemente, aumentar a razão carbono/nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Com a redução de nitrogênio no solo, a formação de nódulos por FBN pode apresentar um incremento nos ecossistemas afetados. Batterman et al. (2013a) estudaram florestas secundárias em cronossequência no Panamá e apresentaram resultados contundentes em que a maior nodulação ocorreu com idades sucessionais iniciais (12 anos), diminuindo para níveis baixos até 80 anos de sucessão. Este incremento nodular coincidiu com o período de maior acumulação de biomassa dos indivíduos no estudo. Isto leva à conclusão de que as FBN melhoram o suprimento de nitrogênio em áreas onde a concentração deste elemento se encontrava baixo, colaborando com o crescimento vegetal. Gehring et al. (2005) encontraram espécies fixadoras de nitrogênio nodulantes durante os primeiros 25 anos de sucessão, na Amazônia Central.

O conjunto de estudos aqui apresentados constituem evidências científicas de um papel importante da FBN na regeneração das florestas tropicais. Entretanto, muitas lacunas de conhecimento persistem. Há desconhecimento, por exemplo, se o mecanismo da FBN é somente observado na regeneração de florestas secundárias ou se também ocorre na regeneração de florestas primárias degradadas por fogo. Além disso, é importante ampliar o conhecimento geral sobre a abrangência espacial e as escalas de ocorrência desse fenômeno. A presente dissertação visa a contribuir no preenchimento destas lacunas de conhecimento para as florestas amazônicas.

CAPÍTULO 3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS SECUNDÁRIAS E FLORESTAS PRIMÁRIAS QUEIMADAS NA AMAZÔNIA CENTRO-ORIENTAL

3.1 INTRODUÇÃO

Distúrbios antrópicos como queimadas e desmatamentos representam impactos cada vez mais importantes nas florestas tropicais (BARLOW et al., 2016; DAVIDSON et al., 2012). A manutenção da rica biodiversidade nestas florestas depende da conservação de áreas primárias não perturbadas e do incentivo à recuperação de florestas degradadas. Entender os mecanismos que influenciam na capacidade de regeneração dessas florestas é, portanto, altamente relevante na conservação e para a restauração florestal (CHAZDON et al., 2009; POORTER et al., 2016).

A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é considerada como uma importante função que leva ao enriquecimento de nitrogênio disponível em florestas tropicais numa escala ecossistêmica (HEDIN et al., 2009). A família Fabaceae realiza a FBN como recurso para a obtenção de nitrogênio por meio de simbiose mutualística com bactérias (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; ROGGY et al., 1999). Estudos prévios têm demonstrado ampla presença e distribuição das espécies fixadoras de nitrogênio no neotrópico (DE FARIA et al., 2010; ROGGY et al., 1999; VITOUSEK; HOWARTH, 1991). A família Fabaceae também é uma das mais representativas tanto em número quanto em frequência na região Amazônica (DE FARIA et al., 2010). Somente na Amazônia central, foram descritas 137 espécies nodulantes (DE FARIA et al., 2010). Na Guiana Francesa, foram encontradas 44 espécies com estruturas nodulares (ROGGY et al., 1999). Estima-se que 23% da família Fabaceae (16.527 espécies) já foi estudada sobre o potencial de nodulação e que desta porcentagem, 88% são espécies nodulíferas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Entretanto, ainda há muitas espécies a serem estudadas e a porcentagem de espécies nodulíferas identificadas deve ser ainda maior (SPRENT, 2009).

As mudanças de uso da terra promovem alterações na ciclagem de nutrientes e, em particular, perdas de nitrogênio por volatilização e lixiviação do nitrato (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009; WAN et al., 2001). Perdas de nutrientes dos ecossistemas amazônicos são resultantes dos diversos processos associados à degradação das florestas e mudanças de uso do solo, como queimadas, erosão, emissão de gases pelos solos, lixiviação e extração de componentes florestais (MARKEWITZ et al., 2004). Grande parte do nitrogênio da biomassa

das florestas é perdida durante as queimadas o que reduz a disponibilidade deste elemento e promove um ciclo mais conservativo, com a limitação de nitrogênio disponível nos ecossistemas (DAVIDSON et al., 2007).

Em geral, ocorre uma recuperação no ciclo do nitrogênio e aumento da sua disponibilidade na medida em que as florestas vão se regenerando ao longo do tempo (DAVIDSON et al., 2004). A recuperação do ciclo de nitrogênio foi demonstrada em cronossequência de florestas secundárias no leste da Amazônia (DAVIDSON et al., 2007).

A FBN contribui na recuperação do ciclo do nitrogênio e suprimento do nitrogênio necessário após distúrbios e usos da terra prévios, com papel central na ciclagem de nutrientes de florestas secundárias em recuperação (BATTERMAN et al., 2013a; GEHRING et al., 2005). As espécies fixadoras de N_2 são capazes de suprir as deficiências de nitrogênio enquanto mantem altas taxas de acumulação de biomassa características dos estágios iniciais da sucessão florestal secundária (BATTERMAN et al., 2013a).

Se, por um lado, evidências se acumulam sobre a importância da FBN em florestas secundárias, a capacidade de nodulação em florestas primárias é menos expressiva (GEHRING et al., 2005). Estudo na Amazônia Central, utilizando isótopos de ^{15}N , encontrou evidências de que nas florestas maduras, a FBN é comparativamente mais baixa ou quase ausente em relação às florestas secundárias (GEHRING et al., 2005). Estudo com espécies do gênero *Inga* no Panamá, encontrou alta fixação de N_2 em florestas perturbadas (incluindo florestas com dossel aberto, várzea e florestas secundárias), enquanto a massa nodular em florestas maduras intactas foi próxima ou igual a zero (BARRON et al., 2011). Espécies com potencial de nodulação em florestas de várzea, que são sujeitas a maior depleção de nutrientes, também apresentaram maior nodulação do que em florestas de terra firme na Amazônia (DE FARIA et al., 2010). Em conjunto, estes resultados evidenciam uma associação da FBN com a ocorrência de distúrbios que resultam na redução da disponibilidade de nitrogênio nos ecossistemas (BARRON et al., 2011). Para áreas que sofreram degradação pelas queimadas, não há registros, em nosso conhecimento, do comportamento da FBN em espécies vegetais florestais.

A FBN é muito provavelmente um mecanismo facultativo, que se manifesta principalmente em resposta à deficiência em nitrogênio (BARRON et al., 2011) e também à combinação de nitrogênio e fósforo disponível no solo (BATTERMAN et al., 2013b). Outros possíveis fatores determinantes na presença de nodulação, além dos distúrbios (BARRON et al., 2011; DE FARIA et al., 2010) referem-se a estrutura das plantas (variáveis

dendrométricas), que ajuda na disponibilidade de iluminação (MCKEY, 1994; WURZBURGER; HEDIN, 2015); na idade das florestas em sucessão (BATTERMAN et al., 2013a); caráter evolutivo das subfamílias (ROGGY et al., 1999); e diversidade de espécies com potencial de capacidade nodulante variável (BATTERMAN et al., 2013a; WURZBURGER; HEDIN, 2015).

A presente pesquisa objetiva entender se a FBN seria associada à recuperação de florestas em uma área na Amazônia Centro-Oriental em florestas jovens *versus* florestas maduras. Investigamos, especialmente, o papel das queimadas na fixação de nitrogênio das florestas, indagando se o fogo atua como estimulante ou supressor da fixação, abordagem esta não encontrada na literatura para florestas tropicais. Estas questões foram investigadas tanto em escala individual quanto ecossistêmica. Além da capacidade de nodulação de cada espécie, variável mais comum investigada nos diferentes estudos (GEHRING et al., 2005; ROGGY et al., 1999), quantificou-se também a massa de nódulos produzida por indivíduo.

As seguintes hipóteses foram testadas: 1) As florestas secundárias tem maior nodulação, em escala individual e ecossistêmica, em comparação às florestas maduras; 2) As florestas primárias queimadas tem maior nodulação, em escala individual e ecossistêmica, em comparação às florestas primárias intactas; 3) A massa de nódulos é relacionada principalmente ao conteúdo de nitrogênio nos solos, sendo esta variável mais importante para explicar a massa de nódulos que variáveis dendrométricas da planta e sua consequente capacidade de explorar recursos ambientais como luz e massa de raízes.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

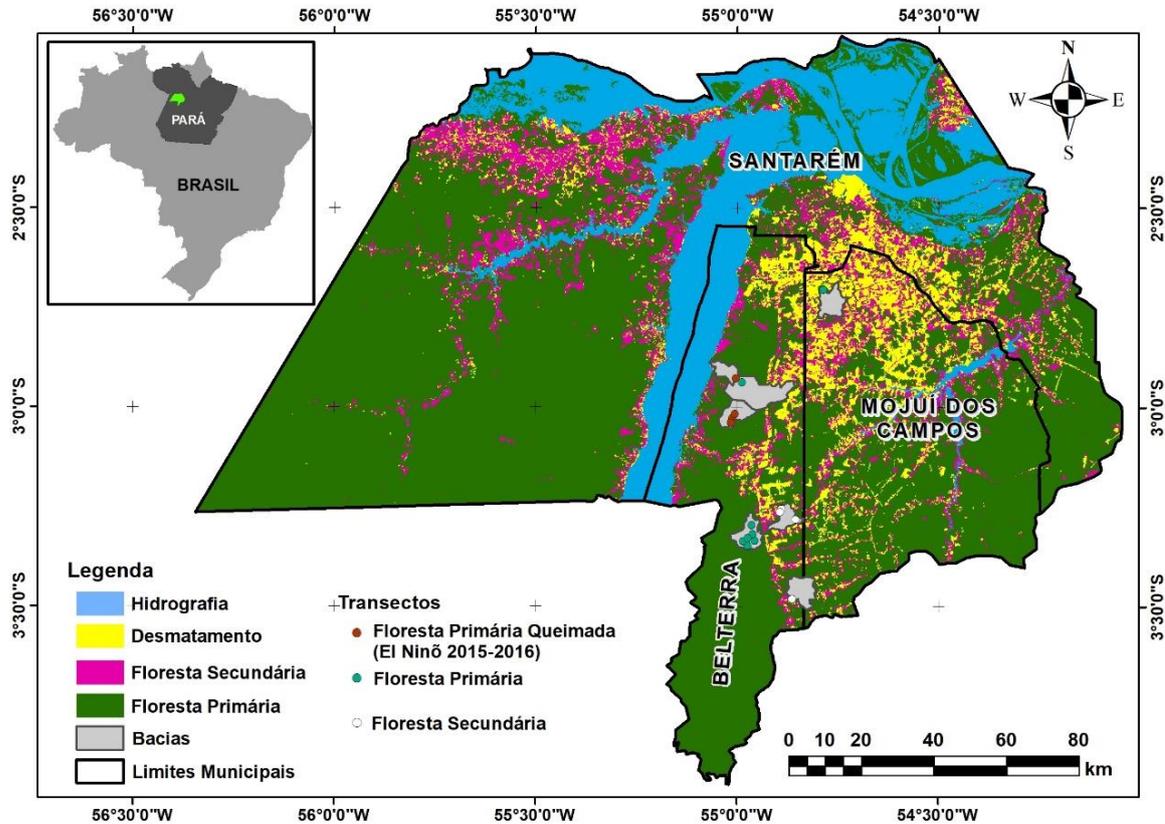
3.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado na Amazônia centro-oriental, na região de Santarém, que engloba os municípios de Santarém, Mojuí dos Campos e Belterra (Figura 1). Santarém situa-se na região oeste do estado do Pará (2° 27" 00' S; 54° 42" 00' W), na confluência dos rios Amazonas e Tapajós (CLIMATE-DATA, 2018).

A classificação dominante do clima da região é Am (Köppen e Geiger), ou seja, clima de monção. As temperaturas são elevadas, com média anual de 25,9 °C, com pluviosidade significativa em todos os meses do ano (CLIMATE-DATA, 2018).

O estudo foi realizado em 15 transectos (10m x 250m, 0,25ha cada), distribuídos em 5 microbacias hidrográficas. Com exceção de um transecto, todos estavam localizados no interior da Floresta Nacional do Tapajós (Figura 1). Os transectos englobaram florestas primárias sem sinais de distúrbio (n=5), florestas primárias queimadas durante o *El Niño* 2015-16 (n=5) e florestas secundárias (n=5), ou seja, florestas que sofreram corte raso e estão em processo de regeneração. As florestas primárias com distúrbio foram queimadas no final de 2015, em consequência de forte *El Niño* que atingiu a região, e as coletas deste estudo foram realizadas 17 meses após as queimadas. As florestas secundárias têm idades variando de 17,5 a > 27 anos, conforme indicado por análises temporais de imagens de satélite (GARDNER et al., 2013) e não tem registro de queimadas durante a sucessão florestal. Os transectos estudados aqui constituem uma subamostra de um total de 225 transectos que vêm sendo monitorados desde 2010 pela Rede Amazônia Sustentável-RAS (GARDNER et al., 2013). Todos estão localizados em áreas de terra firme, delimitados a um mínimo de 100m da borda, e tem uma distância mínima de 1500m entre si. Para maiores detalhes metodológicos sobre as características dos sítios de estudo, veja Gardner et al. (2013).

Figura 1- Localização da área de estudo e distribuição dos transectos (10m x 250m, cada) dentro de microbacias hidrográficas para as três classes florestais estudadas na região de Santarém, Amazônia Centro-Oriental.



Os solos de Santarém têm predomínio de Latossolos Amarelos distróficos típicos de textura média argilosa e muito argilosa, Argissolos Amarelos distrófico típico (textura média e argilosa) e Gleissolos Háplicos (CDP, 2016).

3.2.2 Seleção dos indivíduos da família Fabaceae

A lista das espécies de plantas arbóreas (árvores e lianas) presentes nos transectos estudados foram obtidas a partir de inventários florestais realizados pelo projeto RAS nos anos de 2014 e 2016. Foram selecionadas dos inventários as espécies pertencentes à família Fabaceae. Nessa filtragem, foram identificadas 280 plantas pertencentes a 65 espécies. A revisão de literatura indicou que destas, 31 espécies apresentavam potencial de nodulação, totalizando 133 plantas a serem investigadas (DE FARIA et al., 2010; SPRENT, 2009). Foram avaliados em campo, por meio da amostragem de solos, todos os 133 indivíduos (DAP > 10cm) com potencial de nodulação (Tabela 4 – Material Suplementar). No presente estudo, considerou-se a classificação da família Fabaceae em três subfamílias (Papilionoideae, Caesalpinioideae e Mimosoidade), conforme (LPWG, 2013) para permitir comparações com

os estudos prévios de FBN (FARIAS et al., 2010; ROGGY et al. 1999). Ou seja, a nova classificação de Fabaceae em seis subfamílias (LPWG, 2017) não foi considerada neste estudo.

3.2.3 Amostragem de solo

A amostragem de solo seguiu o método descrito por Batterman et al. (2013a) com modificações. A área de coleta dos solos foi restrita à área da copa de cada planta, calculada pela área de uma elipse, projetada no solo e dividida em quatro quadrantes. A coleta de solo foi feita de forma aleatória em cada quadrante. O número total de amostras de solo por planta variou de acordo com o comprimento do dossel estimado: 6 amostras (dossel \leq 5 m), 12 amostras ($5 <$ dossel \leq 10 m) e 18 amostras (dossel $>$ 10 m). As amostras variaram de 1 a 4 amostras por quadrante, dependendo do comprimento do dossel.

As amostras foram retiradas com o uso de tubos cilíndricos de alumínio (5 cm de diâmetro) a 10 cm de profundidade para a avaliação de nódulos nas raízes, profundidade esta que apresenta cerca de 85% das raízes finas de uma árvore (BARRON et al., 2011).

As amostras de solos foram acondicionadas em sacolas plásticas duplamente envoltas para a preservação das mesmas. Em laboratório, foi feita a separação manual do solo em raízes finas e grossas e posteriormente, a checagem da presença de nódulos nos solos ou raízes com o auxílio de uma lupa. A amostragem de solo foi realizada de março a abril de 2017.

3.2.4 Quantificação de massa nodular

Os nódulos foram avaliados quanto à presença e massa seca nodular. Somente nódulos ativos, caracterizados por coloração interna avermelhada ou amarelada e consistência viscosa foram registrados, seguindo padronizações da literatura (BARRON et al., 2011; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SPRENT, 2009). A procura de nódulos foi feita num prazo máximo de 72 horas após a chegada dos solos do campo, evitando a deterioração dos nódulos. As amostras de raízes e nódulos foram levadas a uma estufa a 65°C por 72 horas e depois pesados com uma precisão de 0,0001g (Balança modelo Shimadzu – AUY220). A massa seca dos nódulos por transecto foi expressa em g.m^{-2} e g.ha^{-1} para o entendimento da massa nodular numa escala individual, de espécie, subfamília e ecossistêmica.

A unidade de massa nodular em g.m^{-2} foi quantificada a partir dos dimensionamentos do tubo cilíndrico (altura = 10 cm; diâmetro = 5 cm; área do cilindro = $15,7 \text{ cm}^2$). Foi calculada a massa nodular em g.cm^{-2} , inicialmente, e transformada em g.m^{-2} . Após gerar esta

estimativa, a massa nodular em g.m^{-2} foi multiplicada pela área da raiz por indivíduo, projetado pela área do dossel, representando a massa nodular por indivíduo (g) e por fim, extrapolado para a área do transecto (0,25 ha), representando a massa nodular em nível ecossistêmico (g.ha^{-1}). No nível ecossistêmico, foram somadas todas as amostras de solo (com ou sem nódulos) de cada transecto.

A partir da quantificação nodular na região de Santarém, foi avaliada a representatividade dos indivíduos nodulantes em nível de comunidade. Foi calculada a porcentagem da biomassa dos indivíduos nodulantes, dividindo o número de indivíduos com nódulos pelo total de indivíduos da comunidade. Isso vale também para a porcentagem representativa de indivíduos sobre a comunidade e área basal (Tabela 2).

3.2.5 Estimativa de variáveis dendométricas das árvores

Foram mensuradas a biomassa aérea, área do dossel e massa de raiz por planta, com intuito de entender se estas variáveis apresentam relação com a massa de nódulos. O cálculo da biomassa foi realizado a partir da equação de estimativa de biomassa dada por Chave et al. (2014), utilizando as variáveis Diâmetro à Altura do Peito (DAP), densidade da madeira e altura, variáveis estas disponibilizadas pelo projeto RAS, juntamente aos inventários florestais. Os números dessas variáveis para cada indivíduo nodulante estão dispostos no Material Suplementar (Tabela 4).

Após a triagem de raízes para localizar os nódulos de cada indivíduo (descrita nas seções anteriores), estas estruturas foram lavadas em água corrente e posteriormente secas em estufa a 65°C por 72 horas, pesadas e estimadas para o indivíduo (g.m^{-2}), estimativa esta semelhante à da massa nodular, na qual se usou o somatório de massa de raiz coletada por indivíduo, baseado na área do tubo de coleta ($\text{área} = 15,7 \text{ cm}^2$) e posteriormente transformado em g.m^{-2} . A área do dossel foi estimada e calculada a partir da área de uma elipse.

3.2.6 Análise de solo

Com o solo separado pela triagem laboratorial descrita anteriormente, foram feitas análises de carbono total e de nitrogênio total. Foi feita uma amostra composta ($n=1$) a partir de cada amostra retirada por indivíduo. A amostra composta por indivíduo foi secada ao ar em recipientes de alumínio com cerca de 0,20 a 0,80g e após a secagem de 48 horas, foram macerados e peneirados (malha 100). As amostras peneiradas foram pesadas com no máximo 0,20g e acondicionadas em recipientes cerâmicos para a quantificação por combustão de via seca de C_{total} e N_{total} em Analisador Elementar (LECO-CNS 2000) (KOWALENKO, 2001).

3.2.7 Análise estatística

Para a quantificação de biomassa nodular, foi feito o somatório de todas as amostras com nódulos para cada indivíduo. A partir desta soma, os valores foram dimensionados em nível de indivíduo (g.m^{-2}), espécie (g.m^{-2}) e de ecossistema (g.ha^{-1}). As médias e desvios padrões foram calculados para classe florestal (secundária, primária queimada e primária intacta) e espécies nodulantes (Tabela 5, 6, 7 e 8).

A comparação das médias das três classes florestais estudadas foi feita por meio do teste de Kruskal-Wallis, uma vez que os dados não apresentavam distribuição normal.

Foi analisada a probabilidade de se encontrar árvores nodulantes por classe florestal. Para essa análise, foram calculadas as frações de indivíduos nodulantes por todos os indivíduos estudados por classe florestal (eq.1). Posteriormente foi calculado o erro padrão de probabilidade de cada classe florestal (eq.2).

$$p = \frac{\text{nod}}{\text{potnod}} \quad (\text{eq.1})$$

$$SEP = \sqrt{\frac{p(p-1)}{n}} \quad (\text{eq.2})$$

Onde: p = proporção de probabilidade; nod = espécie nodulante; potnod = espécie com potencial nodulante; SEP = Erro padrão de probabilidade; n = tamanho amostral por classe.

O modelo linear generalizado (GLM) foi utilizado para modelar a variação na massa de nódulos. Para selecionar as variáveis explanatórias do modelo, foram analisadas as correlações de todas as variáveis do estudo usando o coeficiente de correlação de Pearson. Para as variáveis preditoras que apresentavam alta correlação entre si, foram selecionadas aquelas com maior correlação ($r > 0,7$) com a variável resposta (massa nodular - g.m^{-2}) (ZUUR et al., 2009). A partir desta verificação, foram retiradas as variáveis biomassa e relação C:N, por estarem altamente correlacionadas com outras variáveis do modelo e menor correlação com a variável resposta e também altura vegetal, por apresentarem baixa correlação com a massa nodular ($r = 0,04$).

Foram utilizadas na modelagem, as seguintes variáveis preditoras: classe florestal, massa de raiz (g.m^{-2}), área de dossel (m^2), carbono total (%), nitrogênio total (%) e diâmetro a altura do peito (DAP, em cm). Gráficos de correlação foram gerados com estas variáveis para ilustrar o sentido dominante de cada uma com a variável resposta, massa de nódulos (g.m^{-2}).

Com todos os possíveis modelos rodados, foram ranqueados os melhores através do “AICc delta” e “AICc weight” (BURNHAM; ANDERSON, 2002). A relação confiável com a

quantificação de biomassa nodular foi baseada apenas em modelos que apresentaram “AICc delta” < 2,00 (BERENGUER et al., 2014).

As análises foram feitas no software R versão 1.0.44 (R Core Development Team, 2012). Foi usado o pacote ‘psych’, função ‘pairs.panels’ para a análise de coeficiente de correlação de Pearson e o pacote ‘MuMIn’ para rodar os modelos GLM com sua função ‘dredge’ para ranquear os melhores modelos.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Presença de espécies que nodulam na comunidade

A nodulação ativa foi detectada em 43 indivíduos, do total estudado (n = 133), pertencentes a 18 espécies e 9 gêneros da família Fabaceae (Tabela 1), equivalente a 32% de indivíduos, 58% das espécies e 90% dos gêneros avaliados. A subfamília que apresentou maior porcentagem de indivíduos com nodulação foi a Mimosoideae (67%), seguida da Papilionoideae (28%) e Caesalpinioideae (5%) (Tabela 1). As espécies fixadoras de nitrogênio constituem 2,79% das plantas e 0,42% da área basal em toda a comunidade.

3.3.2 Frequência de nodulação e biomassa nodular

Entre as 18 espécies em que foram detectados nódulos, na região de Santarém, oito são representadas pelo gênero *Inga*. As maiores frequências de nodulação também foram encontradas no gênero *Inga*, sendo *I. heterophylla* (n=6) e *I. thibaudiana* (n=7). Entre todos os gêneros com potencial de nodulação estudados, apenas *Zygia* não apresentou nenhum indivíduo nodulando nos transectos (Tabela 1).

Tabela 1- Frequência de nodulação por cada espécie nas três classes florestais estudadas. A frequência de nodulação foi calculada pela razão do somatório dos indivíduos nodulantes por espécies pelo total de indivíduos de cada espécie. As espécies que apresentaram nodulação ativa estão em negrito, com o número de indivíduos nodulantes entre parênteses em cada classe florestal. As subfamílias estão divididas em: Mimosoideae (M), Papilionoideae (P) e Caesalpinioideae (C)*.

Espécies	Subfamília	Secundária	Primária	Primária queimada	Total	(continua)
						Frequência de nodulação
<i>Abarema jupunba</i>	M	0 (0)	1 (0)	0 (0)	1 (0)	0,00
<i>Abarema mataybifolia</i>	M	0 (0)	1 (1)	5 (0)	6 (1)	0,16
<i>Enterolobium schomburgkii</i>	M	1 (1)	1 (0)	0 (0)	2 (1)	0,50
<i>Inga alba</i>	M	5 (2)	6 (1)	1 (0)	12 (3)	0,25

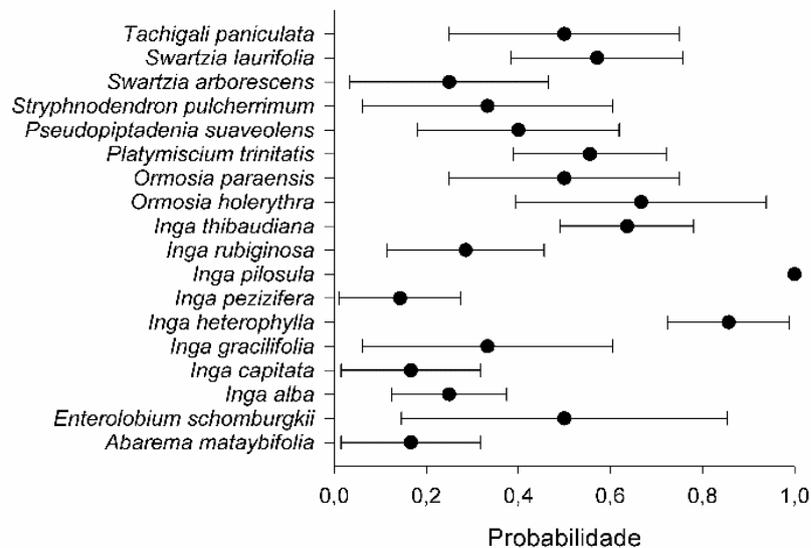
(conclusão)

Espécies	Subfamília	Secundária	Primária	Primária queimada	Total	Frequência de nodulação
<i>Inga capitata</i>	M	0 (0)	2 (0)	4 (1)	6 (1)	0,16
<i>Inga gracilifolia</i>	M	0 (0)	3 (1)	0 (0)	3 (1)	0,33
<i>Inga heterophylla</i>	M	7 (6)	0 (0)	0 (0)	7 (6)	0,85
<i>Inga macrophylla</i>	M	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	0,00
<i>Inga marginata</i>	M	0 (0)	1 (0)	3 (0)	4 (0)	0,00
<i>Inga microcalyx</i>	M	0 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)	0,00
<i>Inga pezizifera</i>	M	0 (0)	6 (1)	1 (0)	7 (1)	0,14
<i>Inga pilosula</i>	M	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1,00
<i>Inga rubiginosa</i>	M	2 (1)	2 (0)	3 (1)	7 (2)	0,28
<i>Inga stipularis</i>	M	2 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0,00
<i>Inga thibaudiana</i>	M	5 (5)	3 (1)	3 (1)	11 (7)	0,63
<i>Ormosia flava</i>	P	0 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)	0,00
<i>Ormosia holerythra</i>	P	3 (2)	0 (0)	0 (0)	3 (2)	0,66
<i>Ormosia paraensis</i>	P	3 (1)	1 (1)	0 (0)	4 (2)	0,50
<i>Platymiscium trinitatis</i>	P	7 (5)	2 (0)	0 (0)	9 (5)	0,55
<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	M	2 (1)	1 (0)	2 (1)	5 (2)	0,4
<i>Stryphnodendron paniculatum</i>	M	0 (0)	1 (0)	0 (0)	1 (0)	0,00
<i>Stryphnodendron polystachyum</i>	M	1 (0)	0 (0)	2 (0)	3 (0)	0,00
<i>Stryphnodendron pulcherrimum</i>	M	3 (1)	0 (0)	0 (0)	3 (1)	0,33
<i>Swartzia arborescens</i>	P	2 (1)	1 (0)	1 (0)	4 (1)	0,25
<i>Swartzia flaemingii</i>	P	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	0,00
<i>Swartzia laurifolia</i>	P	4 (4)	0 (0)	3 (0)	7 (4)	0,57
<i>Swartzia polyphylla</i>	P	0 (0)	1 (0)	0 (0)	1 (0)	0,00
<i>Tachigali alba</i>	C	0 (0)	1 (0)	0 (0)	1 (0)	0,00
<i>Tachigali paniculata</i>	C	1 (0)	2 (2)	1 (0)	4 (2)	0,50
<i>Zygia racemosa</i>	M	0 (0)	4 (0)	4 (0)	8 (0)	0,00
<i>Zygia ramiflora</i>	M	0 (0)	1 (0)	4 (0)	5 (0)	0,00
Total		48 (30)	43 (8)	42 (5)	133 (43)	0,32

* No presente estudo não foi adotada a classificação atual de Fabaceae em seis subfamílias (LPWG, 2017)

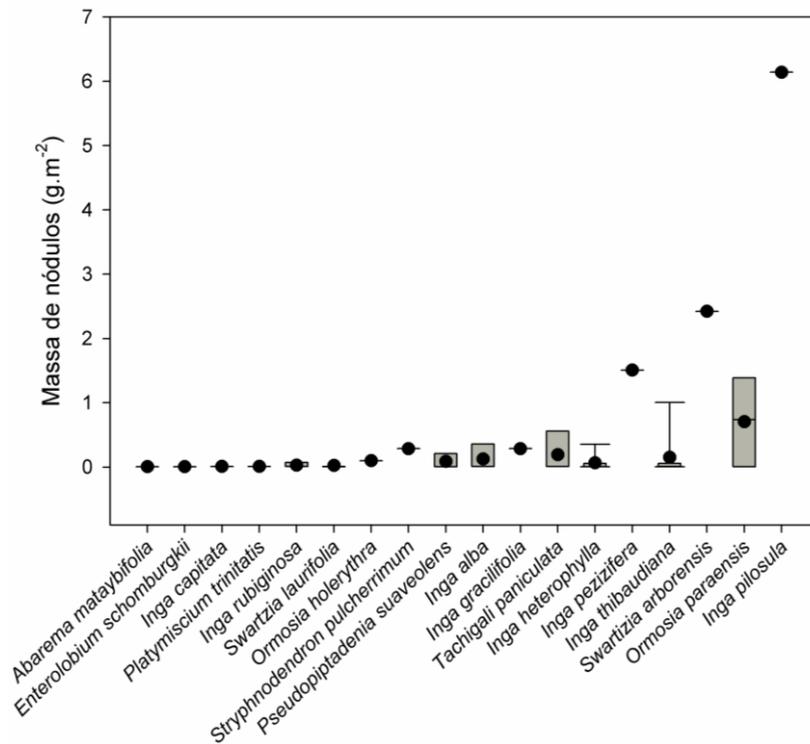
As espécies *Inga heterophylla* (85%, \pm 13%) *Inga thibaudiana* (63%, \pm 14%) e *Ormosia holerythra* (66%, \pm 27%) foram as que apresentaram maior probabilidade de se encontrar indivíduos com nodulação (Figura 2).

Figura 2- Probabilidade de encontrar indivíduos com FBN nas diferentes espécies de Fabaceae com capacidade de nodulação amostradas em florestas na Amazônia Centro-Oriental, em Santarém, Pará. Os pontos mostram a probabilidade de se encontrar espécies nodulantes nos transectos estudados e as barras significam os erros probabilísticos para cada espécie.



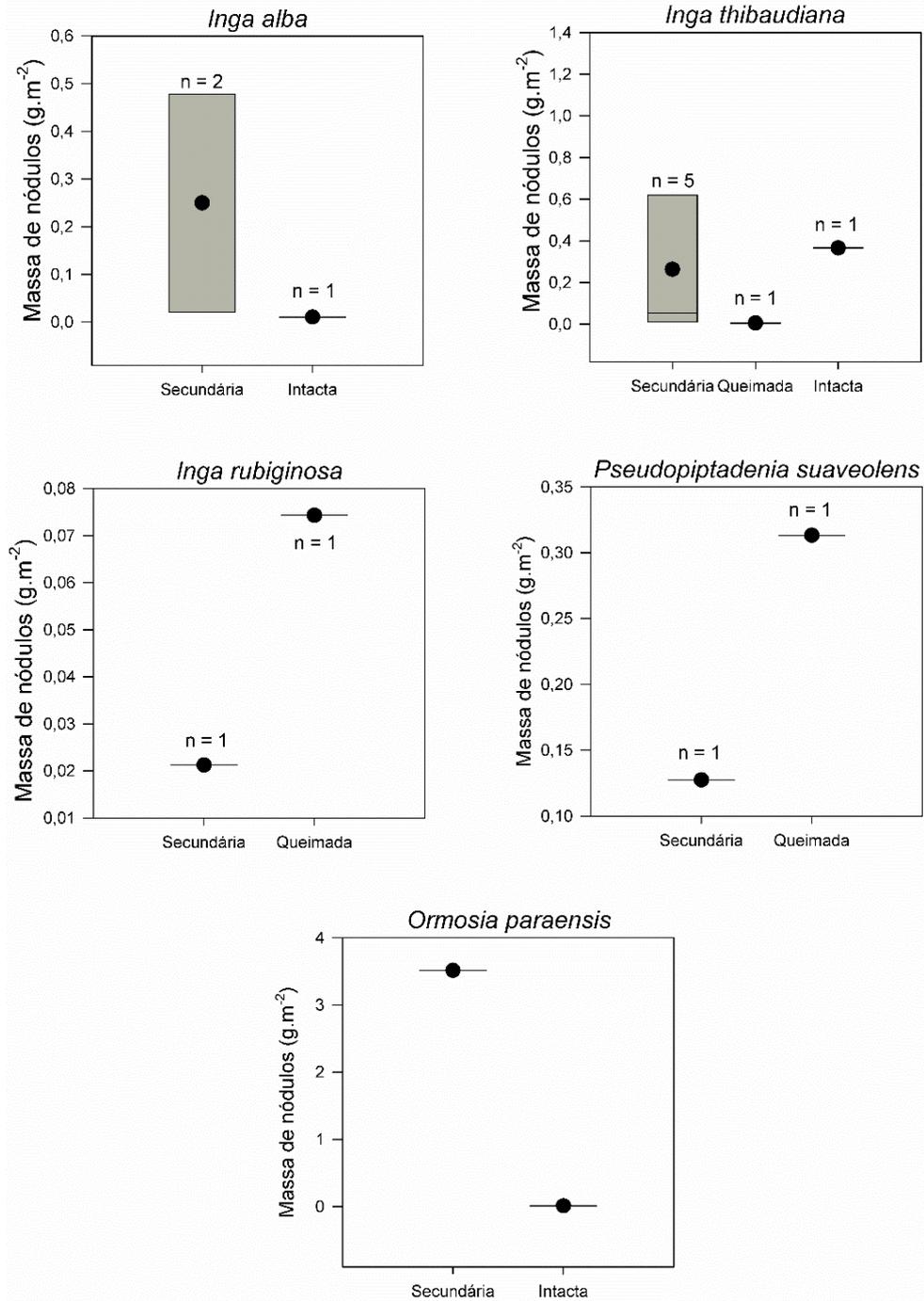
A biomassa de nódulos por espécie variou de 0,005 a 6,14 g.m⁻². A diferença na capacidade nodular entre as espécies investigadas foi significativa (Figura 3). Os maiores valores de massa de nódulos foram observados nas espécies *Inga pilosula*, *Ormosia paraensis*, *Swartzia arborens*, *Inga thibaudiana* e *Inga pezizifera*. A espécie que apresentou maior valor de massa nodular foi *Inga pilosula* (6,14 g.m⁻²), porém a mesma foi representada por um único indivíduo. A maioria das espécies, entretanto, apresentou valores muito baixos de nodulação (0,005 g.m⁻²) (Figura 3).

Figura 3- Variação na nodulação entre espécies fixadoras de nitrogênio em florestas na região Centro-Oriental da Amazônia (Santarém, Pará). As barras cinzas determinam a amplitude de massa nodular pelos indivíduos de cada espécie estudada. Os pontos representam a média de nodulação por espécie.



Foi encontrada também variação na massa nodular intraespecífica, ainda que o número amostral seja insuficiente para permitir uma comparação estatística (i.e., espécies com somente um indivíduo nodulante em cada classe florestal). Indivíduos das espécies *Pseudopiptadenia suaveolens* e *Inga rubiginosa* apresentaram maior massa de nódulos nas florestas primárias queimadas em comparação às florestas secundárias (Figura 4). Já os indivíduos das espécies *Ormosia paraensis* e *Inga alba* apresentaram maior massa de nódulos nas florestas secundárias quando comparados aos indivíduos em florestas sem distúrbio (Figura 4).

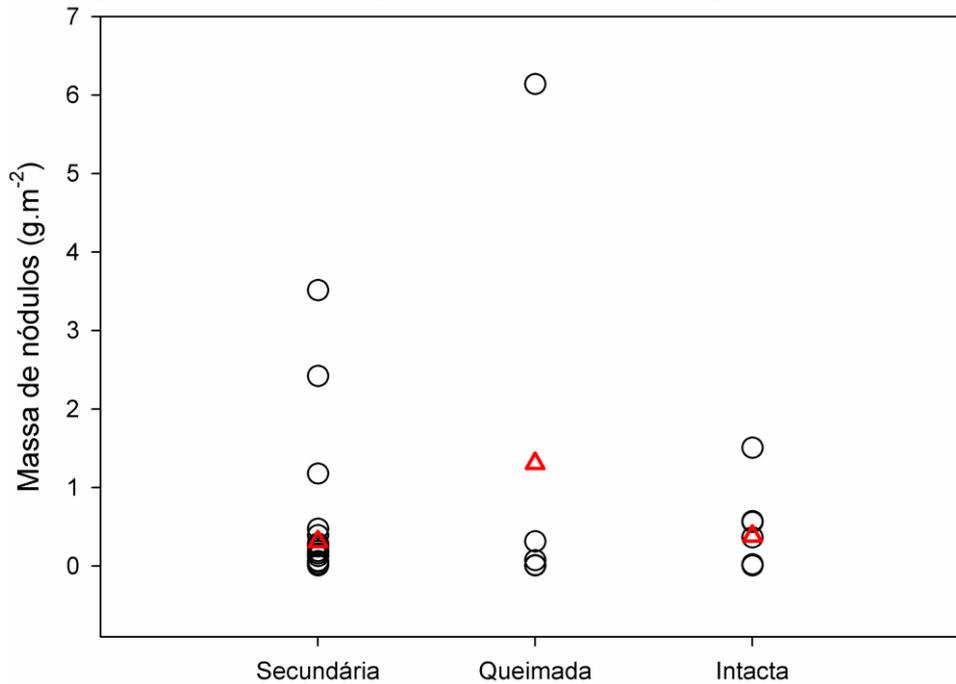
Figura 4- Comparação da nodulação em espécies fixadoras de nitrogênio que ocorreram em diferentes classes florestais na região centro-oriental da Amazônia (Santarém, Pará). Os pontos representam as médias da massa nodular em cada espécie. As barras cinzas determinam a amplitude de massa nodular pelos indivíduos de cada espécie estudada. Os pontos representam a média de nodulação por espécie.



3.3.3 Comparação da nodulação entre as três classes florestais

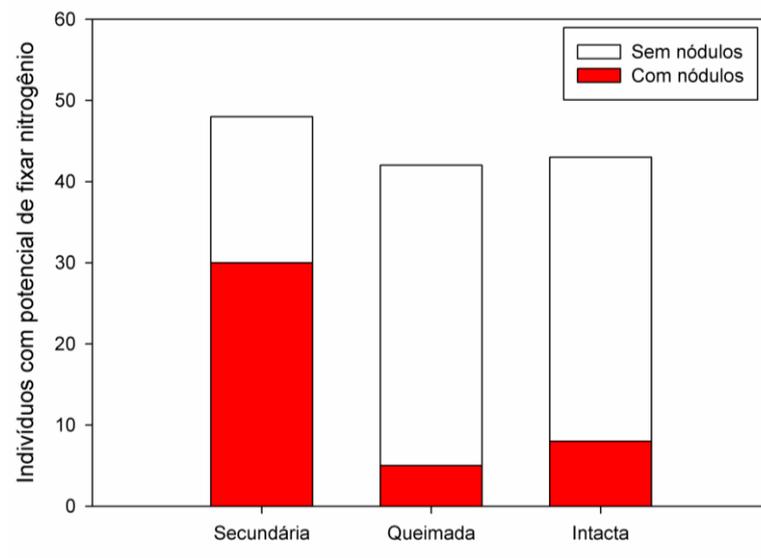
A maior frequência de nodulação individual foi encontrada em florestas secundárias (Figura 5). Nesta classe foram encontrados 30 indivíduos, seguido pelas florestas primárias intactas (8 indivíduos) e florestas primárias queimadas (5 indivíduos) (Figura 6).

Figura 5- Distribuição da massa de nódulos por classe florestal. Cada círculo vazado representa a soma de massa nodular por indivíduo e os triângulos em vermelho, a média por classe florestal.



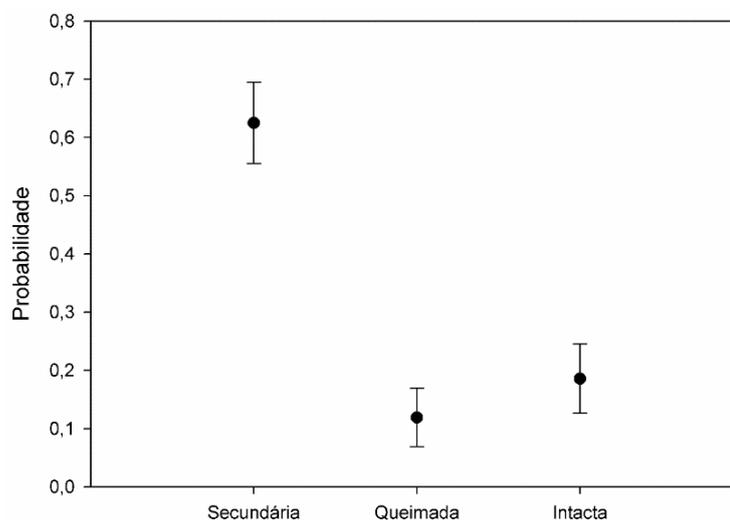
Comparando os indivíduos nodulíferos com os indivíduos que não apresentam nódulos, por classe florestal, as florestas secundárias também apresentaram maior porcentagem de indivíduos com nódulos ativos (62,5%) do que florestas primárias queimadas (11,9%) e florestas primárias intactas (18,6%) (Figura 7).

Figura 6- Número de indivíduos nodulantes por classe florestal na região centro-oriental da Amazônia (Santarém, Pará).



A probabilidade de se encontrar indivíduos nodulantes foi significativamente maior nas florestas secundárias (62,5%, \pm 6,98%), comparado às florestas primárias, tanto queimada (11,9%, \pm 4,99%) quanto intacta (18,6%, \pm 5,93%) (Figura 7). As florestas secundárias apresentaram um somatório total de massa nodular de 9,37 g.m⁻² e as florestas primárias queimadas e primária intacta, 6,54 e 3,05, respectivamente.

Figura 7- Probabilidade de encontrar espécies FBN nodulando em nível de classe florestal.



Por outro lado, a média de massa de nódulos foi superior em florestas primárias queimadas (1,030 g.m⁻² \pm 2,70), seguida de florestas primárias intactas (0,382 g.m⁻² \pm 0,518) e florestas secundárias (0,312 g.m⁻² \pm 0,771) (Tabela 8. Material Suplementar). O maior valor de massa nodular nas florestas queimadas se deve principalmente a um único indivíduo *Inga*

pilosula que representou um *outlier* díspar aos valores da média geral encontradas na pesquisa ($0,44 \text{ g.m}^{-2}$).

Como mencionado nas análises estatísticas, foram calculados também as médias e desvios padrões por nível de transecto e classe florestal para cada variável estudada na região de Santarém. Estes dados estão dispostos no Material Suplementar, representados pelas Tabelas 5, 6, 7 e 8.

3.3.4 Fixação de nitrogênio em nível ecossistêmico

As estimativas de nodulação em nível ecossistêmico foram bastante variáveis (0 a 1234 g.ha^{-1}) (Tabela 2). As florestas secundárias apresentaram a nodulação mais expressiva entre todas as classes florestais, apresentando a maior proporção de indivíduos com nódulos e maior contribuição de espécies fixadoras de nitrogênio na biomassa. A nodulação total em florestas secundárias também foi alta em geral (máximo 512 g.ha^{-1}) (Tabela 2). Por outro lado, a maior massa nodular foi encontrada na floresta queimada (1234 g.ha^{-1}) resultante do alto valor de nodulação registrado para um indivíduo de *Inga pilosula* (Tabela 2).

Tabela 2- Estimativa de fixação de nitrogênio em escala ecossistêmica dos transectos estudados (0,25 ha por transecto).

Transecto	Classe florestal	Indivíduos nodulantes (n)	Biomassa nodulantes (kg)	% indivíduos total	% biomassa total	Nodulação total por transecto (g)	Nodulação total (g.ha^{-1})
1	Secundária	0	0	0	0	0	0
2	Secundária	2	555,98	2,90	9,30	0,47	1,89
3	Secundária	5	631,49	4,20	6,07	5,16	20,67
4	Secundária	4	291,17	3,39	0,60	116,30	465,21
5	Secundária	19	2955,31	15,32	21,19	128,13	512,53
6	Queimada	0	0,00	0	0	0	0
7	Queimada	0	0,00	0	0	0	0
8	Queimada	1	98,56	1,14	0,17	0,08	0,32
9	Queimada	2	803,78	2,02	1,40	22,32	89,26
10	Queimada	2	710,82	1,87	1,4	308,69	1234,78
11	Intacta	0	0	0	0	0	0
12	Intacta	0	0	0	0	0	0
13	Intacta	1	121,46	0,78	0,12	0,08	0,31
14	Intacta	2	332,43	1,71	0,4	22,81	91,23
15	Intacta	5	1991,68	4,31	3,7	33,14	132,57

3.3.5 Possíveis fatores controladores de biomassa nodular

A partir das variáveis selecionadas, os melhores modelos ($\Delta \leq 2,00$) que respondem à massa nodular nos transectos estudados estão descritos na tabela a seguir (Tabela 3).

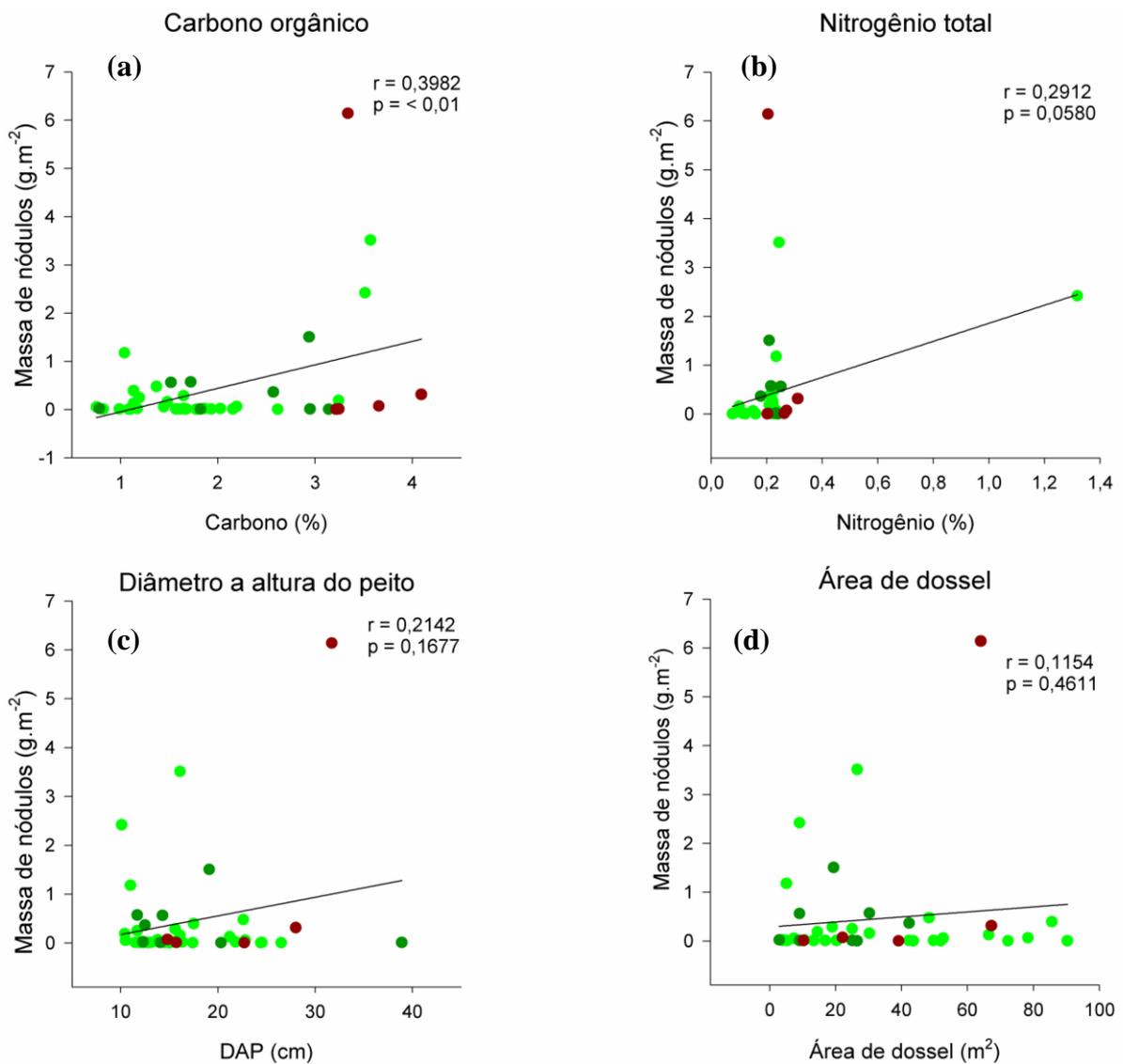
Tabela 3- Modelos que melhor explicam a quantificação de biomassa nodular. classe = classe florestal; C = carbono total (%); dap = diâmetro à altura do peito (cm); N = nitrogênio total (%); raiz (g.m^{-2}). Variáveis do modelo: Intra = Intercepto linear da equação GLM; df = grau de liberdade ; logLik = probabilidade logatômica ; AICc = Critério de Informação de Akaike corrigido; delta = diferença entre os valores AIC para dois modelos; weight = peso de AIC

Intra	classe	C	dap	dossel	N	raiz	df	logLik	AICc	delta	weight
-0.53170		0.4866					3	-61.680	130.0	0.00	0.149
-0,6597		0.4156			1.163		4	-60.892	130.8	0.86	0.097
-0.67820		0.4530	0.02552				4	-61.172	131.4	1.42	0.073
-0.705400		0.4852		0.007889			4	-61.222	131.5	1.52	0.070
-1.199000		0.3504	0.03513		1.472		5	-59.942	131.5	1.53	0.069
-0.915700		0.3990		0.010430	1.403		5	-60.091	131.8	1.83	0.060

O carbono total no solo foi a melhor variável explicativa para a biomassa de nódulos, por apresentar menor valor de delta (BURNHAM; ANDERSON, 2002). A variável carbono total sozinha, representa o melhor modelo e está presente em todos os outros principais modelos (Tabela 3). O segundo melhor modelo inclui o carbono total e o nitrogênio total no solo. A partir do terceiro modelo, mas não menos importante, as variáveis DAP e área de dossel também ajudam na explicação do aumento de massa nodular nos transectos estudados.

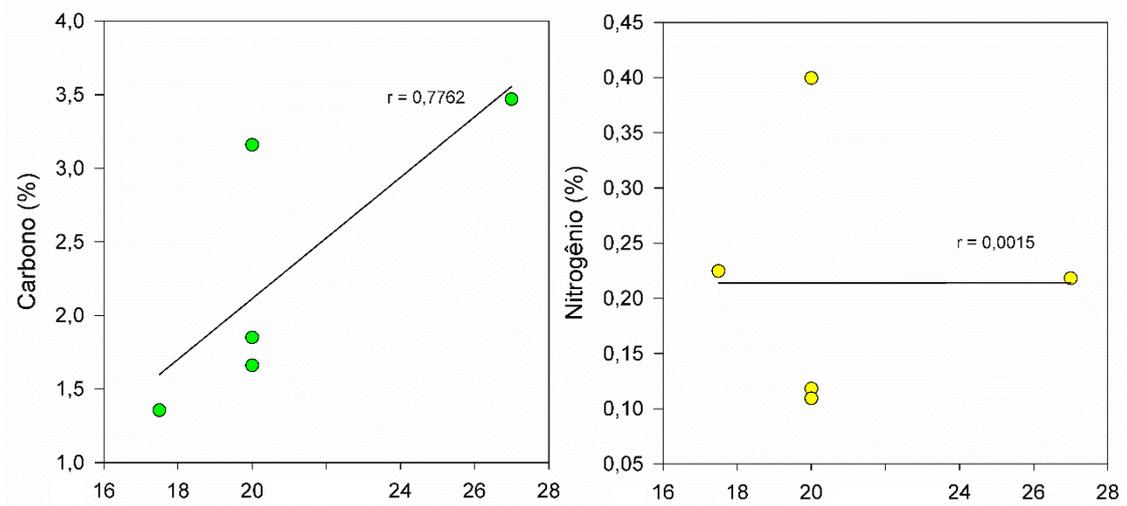
As duas variáveis com maior correlação nos modelos, carbono total e nitrogênio total, tiveram relação significativamente positiva com a biomassa de nódulos (Figura 8). O diâmetro a altura do peito e área de dossel, apesar de estar entre os principais modelos, não mostraram uma correlação significativa com a massa de nódulos (Figura 8c, 8d).

Figura 8- Correlação entre a massa de nódulos e o carbono orgânico (a), nitrogênio total (b), diâmetro a altura do peito das plantas (c) e área de dossel das plantas (d). As classes florestais estão representadas pela cor verde claro (floresta secundária), verde escuro (floresta primária intacta) e vermelho escuro (floresta primária queimada). São detalhados também o coeficiente de correlação de Pearson (r) e sua probabilidade de significância (p).



A concentração de carbono orgânico aumentou com a idade das florestas secundárias, enquanto a concentração de nitrogênio total não sofreu variação ao longo da cronossequência (Figura 9). Entretanto, a concentração de nitrogênio não apresentou mudança entre as idades sucessionais ($r = 0,0015$) (Figura 9).

Figura 9- Distribuição dos valores médios carbono total (verde) e de nitrogênio total (amarelo) ao longo das idades sucessionais (17, 20 e 27.5 anos) em solos de florestas secundárias na Amazônia Centro-Oriental, Santarém, Pará. As amostras de solos foram coletadas sob as copas de indivíduos da família Fabaceae.



3.4 DISCUSSÃO

O presente estudo analisou o papel da fixação biológica de nitrogênio sobre a regeneração de florestas na Amazônia centro-oriental, um mecanismo de grande importância para a manutenção dos ciclos biogeoquímicos das florestas tropicais (GERBER et al., 2010). Foi analisada a ocorrência de nodulação como indicador da FBN em escala individual, de espécies, classe florestal, e ecossistêmica. Observou-se que 32% dos indivíduos avaliados estavam nodulando ativamente, os quais foram mais representados pelas espécies do gênero *Inga* (Tabela 1). A variação intraespecífica de massa nodular também foi notada (Figura 4). As florestas secundárias apresentaram probabilidade de nodulação de três a cinco vezes superior às outras classes florestais estudadas (Figura 7). Além disso, a nodulação total estimada das florestas secundárias (9,37 g.m²) foi três vezes maior que a de uma floresta intacta (3,05 g.m²). Estes resultados confirmam a primeira hipótese do estudo de que haveria uma nodulação mais expressiva nas florestas secundárias em relação às demais florestas. Por outro lado, não houve evidências suficientes com os resultados obtidos para confirmar a segunda hipótese do estudo de que as florestas queimadas teriam maior nodulação em comparação às florestas intactas. A massa de nódulos, em escala de indivíduo ou ecossistemas, por sua vez, não foi maior nas florestas secundárias em relação às demais. Contrariando a terceira hipótese do estudo, o teor de nitrogênio dos solos não foi a variável mais importante para explicar a massa de nódulos. De forma surpreendente, o conteúdo de carbono total nos solos foi a variável que explicou mais significativamente a massa de nódulos de uma planta, embora o nitrogênio total, o DAP e área de dossel das plantas também contribuíssem em menor proporção.

3.4.1 Nodulação nas florestas estudadas

Os resultados em nível de espécie do presente estudo, com taxa de nodulação de 32% de indivíduos e 58% das espécies avaliadas, são compatíveis com os demais estudos para a região amazônica. Um dos trabalhos pioneiros para descobrir novas espécies nodulantes na região (Guiana Francesa) encontrou cerca de 67% de espécies nodulantes (n=44) (ROGGY et al., 1999). Em outro estudo no estado do Pará, Brasil, 67% das espécies em florestas de terra firme apresentaram nodulação (DE FARIA et al., 2010).

De forma igualmente congruente, as duas espécies de *Inga* que apresentaram expressiva massa de nódulos em Santarém (*I.pezizifera* e *I.thibaudiana*) estão entre as principais espécies com maior quantidade de massa nodular em florestas secundárias no

Panamá (BATTERMAN et al., 2013). Os transectos estudados em Santarém apresentaram oito espécies do gênero *Inga* com nodulação confirmada, compostas por 22 indivíduos. De Faria et al. (2010) encontraram 16 espécies do gênero (compreendendo 70 indivíduos) com nódulos ativos em áreas de terra firme.

De fato, o gênero *Inga* é descrito na literatura como um dos gêneros mais comuns em apresentar nodulação e maiores fixadores de nitrogênio existente (BARRON et al., 2011). É importante ressaltar que este gênero apresenta uma distribuição extensa no neotrópico, com cerca de 300 espécies (BARRON et al., 2011; DE FARIA, 2010). Este gênero também apresenta um crescimento rápido de dossel após eventos de degradação nas florestas (WUZBURGER; HEDIN, 2015). Para os transectos estudados, dos 22 indivíduos nodulantes do gênero, 18 estavam presentes em áreas que já sofreram algum tipo de degradação (floresta secundária ou floresta primária queimada). Essa alta capacidade de nodulação, possivelmente resultando em altas taxas de FBN, pode consistir em uma estratégia para o desenvolvimento mais rápido das plantas e pelo fato de poder explorar recursos como radiação solar por conta da abertura do dossel (WURZBURGER; HEDIN, 2015).

Finalmente, os resultados em Santarém, de que há proporção muito maior de nodulação na subfamília Mimosoideae, está de acordo com estudos prévios (ROGGY et al. 1999). Há uma provável relação da simbiose da FBN com o nível evolutivo dos gêneros das plantas, sendo que as subfamílias Mimosoideae e Papilionoideae teriam sofrido uma evolução mais acelerada que a Caesalpinioideae (ALLEN; ALLEN, 1981; DE FARIA et al., 1989)

3.4.2 Comparação da nodulação entre florestas com diferentes níveis de distúrbio

Um dos resultados mais marcantes do presente estudo foi a alta frequência de espécies com nodulação nas florestas secundárias em comparação às demais florestas. Este padrão era esperado com base em estudos prévios demonstrando a alta frequência de FBN na sucessão de florestas secundárias (e.g. BATTERMAN et al., 2013a).

O estudo de Gehring et al. (2005) mostrou a existência de nodulação em florestas secundárias até 25 anos de sucessão secundária, enquanto em Batterman et al. (2013a) foi demonstrado um pico de nodulação em florestas secundárias mais jovens, i.e., cerca de 12 anos. O que se observou no presente estudo é que apesar das florestas secundárias de Santarém estarem num estágio de sucessão superior (> 17,5 anos), esta classe ainda apresentou frequência de nodulação superior às florestas primárias, sejam intactas ou queimadas. Portanto, a primeira hipótese deste trabalho foi confirmada, uma vez que as

florestas secundárias apresentaram maior contribuição da fixação biológica de nitrogênio por conta da frequência de espécies efetivamente nodulando (Figura 6).

As florestas que sofreram distúrbios recentes de queimadas apresentaram a menor frequência de nodulação. Por outro lado, foi observada uma maior massa total de nódulos nas florestas queimadas do que nas intactas, resultante principalmente da ocorrência de um único indivíduo de *Inga pilosula* que teve a massa de 6,14 g.m⁻². O fato dos resultados para a classe florestal queimada terem sido dirigidos principalmente por esse indivíduo não reúne evidências suficientes para confirmar a hipótese 2, na qual as florestas primárias queimadas apresentariam maior nodulação que florestas primárias intactas. O conhecimento da literatura sobre a fixação biológica de nitrogênio em florestas primárias queimadas é escasso. Não se sabia qual o comportamento da nodulação nesta classe florestal. Esta espécie impulsionou a contribuição de FBN ecossistêmica e não se sabe se este valor se refere a uma característica própria da espécie, independente de classe florestal, ou uma resposta aos distúrbios do fogo sofridos recentemente. Não foram encontrados embasamentos na literatura sobre esta espécie da família Fabaceae.

A falta de respostas claras sobre a FBN em florestas queimadas pode estar relacionada ao fato das queimadas serem recentes, ou seja, apenas 17 meses anteriores ao estudo. As perdas de nitrogênio em ecossistemas terrestres acima do solo após a ocorrência de fogo são de 51 a 62% (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009). Entretanto, o fogo causa um grande, mas breve, pulso de mineralização líquida de nitrogênio resultante das cinzas após um incêndio, levando à diminuição da imobilização de N e ao aumento da mineralização líquida (WAN et al., 2001). O amônio e nitrato, formas inorgânicas de nitrogênio de fácil assimilação vegetal, podem permanecer no solo por até um ano após as queimadas resultantes da volatilização e condensação superficial ao solo, bem como ao aumento na mineralização de nitrogênio (WAN et al., 2001). Assim, a FBN provavelmente seria reprimida na presença de maior disponibilidade de nitrogênio, característica do período imediatamente após às queimadas (VITOUSEK; FIELD, 1999).

Apesar de que um aumento da FBN ser esperado em áreas que apresentam algum tipo de distúrbio, como abertura de clareiras e conversão total de florestas (BARRON et al., 2011; BATTERMAN et al., 2013a), as florestas recentemente queimadas podem não apresentar o mesmo comportamento. É possível que apesar do declínio de formas mineralizadas de nitrogênio causadas pelo distúrbio fogo, a depleção desse nutriente para as plantas ainda não se encontrava em nível de perda suficiente para desencadear o mecanismo de FBN. Isso pode

ser observado pelas concentrações de nitrogênio entre as classes florestais (Figura 8b). A média de teor de nitrogênio total em florestas queimadas foi maior (0,26%) do que em florestas secundárias (0,20%) e florestas primárias intactas (0,22%) (Tabela 6. Material Suplementar).

Da mesma forma, a nodulação baixa ou ausente em florestas maduras intactas está de acordo com a literatura (GEHRING et al., 2005; VITOUSEK; FIELD, 1999). Esperava-se menor nodulação onde a demanda por nitrogênio é menor (BARRON et al., 2011). Apesar de que o nitrogênio é considerado um dos nutrientes mais limitantes de produção primária líquida (VITOUSEK; HOWARTH, 1991), as florestas intactas supostamente conseguem manter o nitrogênio disponível de forma suficiente no seu sistema, evitando grandes perdas via ciclagem fechada deste nutriente (GEHRING et al., 2005).

A frequência de nodulação das espécies variou de forma pronunciada entre classes florestais mostrando um padrão consistente de fixação facultativa (Figura 5) (BARRON et al., 2011; BATTERMAN et al., 2013a). Foi observada a variação de massa nodular entre indivíduos da mesma espécie em Santarém (variação interespecífica), assim como em Barron et al. (2011) (Figura 4). Além da variação entre indivíduos da mesma espécie, foi observada a variação de massa nodular entre as espécies estudadas em Santarém (variação intraespecífica) (Figura 3). Há sim uma diversidade nodular intraespecífica no mecanismo de FBN, guiando-se pelo estudo de gradientes de idade sucessional de florestas secundárias no Panamá (BATTERMAN et al., 2013a). Estudo mostrou também que a diversidade taxonômica é o principal vetor intensificador de massa nodular, explicando que há espécies evolutivamente superfixadoras, utilizando a FBN como uma estratégia de crescimento rápido dependendo dos distúrbios a que elas estão expostas (WURZBURGER; HEDIN, 2015). Ainda há controvérsias; outras linhas de pesquisa atestam que a FBN seria um mecanismo obrigatório e sem controle pelas plantas (HEDIN et al., 2009). Entretanto, os resultados aqui obtidos sustentam a ideia de que as espécies com potencial de fixar nitrogênio utilizam este mecanismo somente quando necessário, ou seja, quando há maior demanda por nitrogênio (BARRON et al., 2011; BATTERMAN et al., 2013a).

O presente estudo corrobora, portanto, o importante papel da FBN na sucessão secundária (BATTERMAN et al., 2013a). Esta importância está diretamente ligada com o suprimento da alta demanda de nitrogênio em sucessão vegetal. Na Guiana Francesa, o nitrogênio derivado da atmosfera contribuiu com cerca de 54% da nutrição de nitrogênio de espécies que realizam FBN (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009). Este incremento de

nitrogênio disponível pode levar a um outro ponto de importância da FBN que é o crescimento vegetal a partir da elevação do teor de nitrogênio disponível para as espécies nodulantes. No Panamá, os indivíduos fixadores de nitrogênio apresentaram um acúmulo de biomassa nove vezes mais rápido que espécies vizinha não fixadoras (BATTERMAN et al., 2013a). Além disso, a fixação apresentou mesma tendência positiva de acúmulo de biomassa, com pico em florestas com idade sucessional de 12 anos no Panamá (BATTERMAN et al., 2013a).

Com o crescimento vegetal individual de indivíduos da família Fabaceae, senescência e queda das folhas, ricas em nitrogênio (MCKEY, 1999), o benefício atribui-se para todo o ecossistema, ajudando no crescimento vegetal geral, mesmo com a possível realocação de nutrientes das folhas (VENEKLAAS, 1991). Florestas secundárias apresentam um acúmulo de biomassa onze vezes maior que florestas maduras no neotrópico, servindo como excelentes sequestradores de carbono (POORTER et al., 2016). E no neotrópico em regeneração (cerca de 50% das florestas atuais) há uma grande distribuição de espécies FBN (POORTER et al., 2016). Conciliando os dados citados anteriormente com aumento da massa nodular e incremento de biomassa aérea vegetal nas florestas secundárias (BATTERMAN et al., 2013a), percebe-se os benefícios em nível de ecossistema obtidos pelas espécies que realizam a Fixação Biológica de Nitrogênio.

3.4.3 Possíveis fatores controladores de biomassa nodular

Os resultados dos modelos GLM mostraram surpreendentemente que o carbono total foi a variável que mais controla o aumento de biomassa nodular (Tabela 3). Portanto, estes resultados refutaram a terceira hipótese do estudo de que o nitrogênio total seria o principal fator. O nitrogênio total contribuiu de alguma forma, mas não foi o principal modelo, assim como as variáveis dendrométricas da planta (DAP e comprimento de dossel), em ordem decrescente de maiores variáveis preditoras (Tabela 3).

Todas essas variáveis são indicadas na literatura por apresentarem possíveis relações com a presença e produção de nódulos. Variáveis estruturais das plantas como o tamanho da copa ou o porte da planta influenciam na disponibilização de nutrientes essenciais no solo para realizar a simbiose entre planta e bactérias (BATTERMAN et al. 2013b; WURZBURGER; HEDIN, 2015). A maior estatura das plantas serve como uma estratégia de alcance de dossel, favorecendo a captação de raios solares e contribuindo no crescimento vegetal após a degradação ambiental (MCKEY, 1994; WURZBURGER; HEDIN, 2015).

Como descrito na literatura de forma geral, os macronutrientes podem ser considerados como maiores limitantes na FBN (BATTERMAN et al., 2013b; GERBER et al., 2010; VITOUSEK; HOWARTH, 1991). O carbono total foi a variável preditora com maior correlação ($r = 0,3982$) para a biomassa nodular. Enquanto que o nitrogênio total apresentou uma correlação positiva ($r = 0,2912$) com a capacidade de nodulação, o inverso do padrão registrado na literatura (GERBER et al., 2010; VITOUSEK; FIELD, 1999).

A correlação entre carbono total e massa nodular do estudo apresentou tendência positiva (Figura 8a). Isto corrobora com modelos de ciclos ecossistêmicos de carbono e nitrogênio, que mostram que as baixas taxas de fixação de nitrogênio causam a diminuição do estoque de carbono, levando a um baixo crescimento e regeneração florestal e com altas taxas de fixação, encontra-se um aumento no estoque de carbono (GERBER et al., 2010).

Esta relação positiva do carbono total no solo e FBN também está ligada às reações químicas da simbiose entre planta e bactéria. Os benefícios para as plantas e bactérias são de acúmulo de nitrogênio e fornecimento de carbono assimilável, respectivamente (COLETTA, 2010). Os fotossintatos produzidos na transformação de N_2 a NH_3 (i.e., ATP) são essenciais para os organismos fixadores de nitrogênio. Além da geração de energia para o processo simbiótico de FBN, os fotossintatos são substratos que suprem esqueletos de carbono e força redutora para a assimilação de NH_3 e ao sistema nitrogenase (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Conclui-se que o carbono no solo é uma fonte essencial para gerar energia, impulsionando a fixação de nitrogênio.

Outra possível interpretação está na relação C:N dos transectos estudados. A concentração de carbono total apresentou maior proporção de variação do que a de nitrogênio total (2,56 %, $\pm 1,03$; 0,23 %, $\pm 0,10$, respectivamente) (Tabela 6. Material Suplementar). Isto pode ser visto com maior clareza para as florestas secundárias (Figura 9). Com a estagnação do N e elevação de C nos solos, mais difícil será a decomposição da matéria orgânica no solo, além de menor quantidade de nitrogênio para o ecossistema (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Assim, o mecanismo de FBN pode ser acionado, para recompor o nitrogênio não disponível.

Foi observado também relação positiva entre nitrogênio total e massa de nódulos em Santarém (Figura 8b). As espécies fixadoras apresentam alto custo nutricional de vida (i.e., alta capacidade de fotossíntese, sementes ricas em nitrogênio, aumento de defesa contra herbivoria por conta da composição vegetal rica em nitrogênio), elevando a necessidade de nitrogênio mesmo em ambientes onde este nutriente no solo é suficiente para espécies não fixadoras (MCKEY, 1994).

Um outro ponto de vista sobre a relação entre nitrogênio e massa de nódulos é a observação de que altas taxas de fixação são sustentadas em florestas tropicais pobres em fósforo e ricas em nitrogênio. Este padrão serviria para aumentar a capacidade competitiva de uma planta para adquirir fósforo, em nível ecossistêmico (NASTO et al., 2014; VITOUSEK; FIELD, 1999). Espécies vegetais que realizam FBN, podem produzir altas taxas de fosfatase também, ajudando na mineralização do fósforo orgânico (NASTO et al., 2014). Assim, como os solos amazônicos apresentam padrão de baixo teor de fósforo (DAVIDSON; MARTINELLI, 2009), supõe-se que os solos das florestas de Santarém possam apresentar baixo teor deste macronutriente limitante, variável que não foi mensurada neste trabalho.

A área do dossel e o diâmetro do caule das plantas apresentaram, correlação fraca, porém positiva com a produção de massa nodular (Figura 8c e 8d). Estas variáveis estão diretamente ligadas com a facilitação dos indivíduos vegetais em alcançar o dossel e adquirir maior intensidade de iluminação (WUZBURGER; HEDIN, 2015). A iluminação é considerada um fator limitante por conta do considerável custo energético necessário para estabelecer as estruturas nodulantes (ROGGY et al., 1999), além de ajudar diretamente no crescimento estrutural rápido em áreas que sofreram algum distúrbio, através da fotossíntese (WUZBURGER; HEDIN, 2015). Regiões que sofreram distúrbios como florestas secundárias e florestas com clareiras recentes, apresentando maior acesso a luz, mostraram maior quantidade de nódulos no Panamá (BARRON et al., 2011).

Finalmente, mais estudos são necessários para explicar porque o carbono total seria tão importante para o mecanismo de FBN. Sabe-se que o carbono tem relação com distúrbios florestais. As perdas de carbono por desmatamento ou queimadas é gradualmente convertida durante a regeneração florestal, através da liteira e produção de biomassa radicular (CHAZDON, 2012). Além disso, o maior acúmulo de biomassa vegetal coincide com as maiores taxas de nodulação na sucessão florestal (BATTERMAN et al., 2013a). É possível que outras associações não investigadas no estudo estejam influenciando nas relações observadas, uma vez que o teor de carbono vai se acumulando, juntamente com uma série de mudanças ambientais, com o tempo sucessional nos ecossistemas.

3.5 CONCLUSÃO

A fixação biológica de nitrogênio tem um papel importante nas florestas da região de Santarém, papel sugerido pela maior frequência de nodulação nas florestas em regeneração. A FBN possivelmente contribui com importantes entradas de nitrogênio nos ecossistemas. Este favorecimento foi observado principalmente na classe de floresta secundária, que apresentou maior frequência de indivíduos com nódulos. Nas florestas queimadas, há indivíduos nodulando, inclusive com grande massa de nódulos, porém não se pode afirmar que o fogo recente estimulou a nodulação. Para as florestas maduras, a nodulação foi baixa tanto em frequência quanto em massa nodular. Entre as variáveis ambientais estudadas, o carbono total representou um importante determinante da massa de nódulos nas plantas estudadas. Entretanto, estudos adicionais são necessários para esclarecer um possível papel do carbono total na massa de nódulos. São necessários principalmente estudos de longo prazo para acompanhar possíveis efeitos das queimadas sobre processos ecossistêmicos como a Fixação Biológica de Nitrogênio.

3.6 MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 4- Lista de indivíduos encontrados com potencial de nodulação (n = 133) nos transectos estudados da região de Santarém, com suas respectivas variáveis estudadas. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.

Trans.	Classe	Espécie	Dossel elipsóide (m ²)	Massa Nódulos (g.m ⁻²)	C (%)	N (%)	DAP (cm)	Altura (m)
1	Sec	<i>Inga thibaudiana</i>	60,44	0,0636	2,19	0,151	13,8	11,0
1	Sec	<i>Swartzia arborescens</i>	7,06	2,4203	3,51	1,318	10,1	9,0
1	Sec	<i>Ormosia paraensis</i>	20,72	3,5138	3,57	0,244	16,1	15,0
1	Sec	<i>Ormosia paraensis</i>	17,33	0,0000	3,19	0,239	17,8	15,0
1	Sec	<i>Ormosia paraensis</i>	7,77	0,0000	3,24	0,235	11,6	13,0
1	Sec	<i>Ormosia holerythra</i>	11,30	0,1910	3,24	0,209	10,4	9,0
2	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	65,94	0,0053	1,78	0,123	26,5	12,0
2	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	31,40	0,0106	1,59	0,114	12,9	9,5
2	Sec	<i>Swartzia arborescens</i>	23,74	0,0000	1,53	0,091	10,4	10,0
2	Sec	<i>Swartzia laurifolia</i>	20,80	0,1592	1,48	0,101	16,1	15,0
2	Sec	<i>Ormosia holerythra</i>	10,13	0,0106	1,66	0,121	11,5	9,0
2	Sec	<i>Stryphnodendron pulcherrimum</i>	77,71	0,01062	1,96	0,133	31,0	12,0
2	Sec	<i>Swartzia laurifolia</i>	3,77	0,0106	1,62	0,081	12,3	14,0
3	Sec	<i>Enterolobium schomburgkii</i>	56,52	0,0053	1,08	0,076	24,4	15,0
3	Sec	<i>Swartzia laurifolia</i>	32,66	0,0053	2,62	0,160	17,4	15,0
4	Sec	<i>Inga rubiginosa</i>	23,75	0,0000	4,16	0,306	19,7	13,0
4	Sec	<i>Inga alba</i>	12,56	0,0000	3,03	0,260	14,0	15,0
4	Sec	<i>Inga alba</i>	46,51	0,0000	3,95	0,159	41,2	25,0
4	Sec	<i>Ormosia holerythra</i>	13,19	0,0000	3,18	0,182	11,2	14,0
4	Sec	<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	27,63	0,0000	3,02	0,184	13,8	14,0
5	Sec	<i>Inga thibaudiana</i>	5,416	1,1783	1,04	0,234	11,0	12,0
5	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	30,61	0,0000	0,69	0,240	15,9	14,0
5	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	40,82	0,0583	1,44	0,230	22,8	14,0
5	Sec	<i>Tachigali paniculata</i>	8,48	0,0000	0,99	0,234	25,5	25,0
5	Sec	<i>Inga alba</i>	2,59	0,0212	1,17	0,229	21,8	23,0
5	Sec	<i>Stryphnodendron pulcherrimum</i>	14,75	0,2866	1,65	0,220	15,6	9,0
5	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	61,23	0,3927	1,13	0,213	17,5	11,0
5	Sec	<i>Stryphnodendron polystachyum</i>	27,79	0,0000	1,37	0,228	14,5	11,0
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	7,63	0,0000	0,59	0,238	16,3	13,0
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	3,14	0,0212	1,86	0,214	15,4	15,0
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	2,51	0,0212	1,65	0,215	12,1	9,0
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	14,76	0,0000	1,33	0,225	17,0	14,0
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	3,14	0,0106	1,93	0,223	13,1	15,0
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	3,14	0,0106	1,68	0,225	14,5	14,0
5	Sec	<i>Inga thibaudiana</i>	38,31	0,0106	0,99	0,227	14,0	13,0
5	Sec	<i>Inga thibaudiana</i>	15,70	0,0106	0,82	0,240	11,9	14,0
5	Sec	<i>Inga rubiginosa</i>	5,89	0,0212	2,03	0,229	16,3	14,0
5	Sec	<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	52,12	0,1273	1,13	0,226	21,2	16,0
5	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	19,62	0,2494	1,19	0,222	11,7	13,0

Trans.	Classe	Espécie	Dossel (m ²)	Massa Nódulos (g.m ⁻²)	C (%)	N (%)	DAP (cm)	Altura (m)
5	Sec	<i>Platymiscium trinitatis</i>	6,30	0,0106	2,15	0,207	24,5	17,0
5	Sec	<i>Inga heterophylla</i>	34,54	0,0053	1,10	0,226	15,0	14,0
5	Sec	<i>Inga thibaudiana</i>	5,71	0,0530	0,75	0,239	10,5	15,0
5	Sec	<i>Inga stipularis</i>	12,56	0,0000	1,43	0,218	11,9	11,0
5	Sec	<i>Inga stipularis</i>	16,64	0,0000	1,18	0,224	11,9	11,0
5	Sec	<i>Inga alba</i>	37,05	0,4777	1,37	0,225	22,6	20,0
5	Sec	<i>Swartzia laurifolia</i>	13,19	0,0106	1,57	0,220	12,7	13,0
5	Sec	<i>Inga alba</i>	15,70	0,0000	1,43	0,219	17,4	14,0
5	Sec	<i>Stryphnodendron pulcherrimum</i>	31,40	0,0000	2,28	0,202	18,2	16,0
6	Int	<i>Inga pezizifera</i>	19,78	0,0000	2,47	0,199	13,8	13,0
6	Int	<i>Inga microcalyx</i>	53,38	0,0000	2,35	0,194	19,1	25,0
6	Int	<i>Inga pezizifera</i>	26,84	0,0000	1,85	0,204	16,8	NA
7	Int	<i>Inga alba</i>	52,59	0,0000	2,26	0,201	38,8	27,0
7	Int	<i>Inga alba</i>	51,37	0,0000	1,28	0,220	30,8	25,0
7	Int	<i>Tachigali paniculata</i>	2,23	0,0212	0,78	0,233	12,3	25,0
7	Int	<i>Inga capitata</i>	10,05	0,0000	1,37	0,223	10,4	13,0
7	Int	<i>Inga gracilifolia</i>	7,53	0,0000	0,46	0,240	11,7	11,0
7	Int	<i>Ormosia paraensis</i>	18,84	0,0106	1,82	0,209	38,9	30,0
7	Int	<i>Inga gracilifolia</i>	23,55	0,5732	1,72	0,215	11,7	11,0
7	Int	<i>Zygia racemosa</i>	10,36	0,0000	0,96	0,134	13,5	8,0
7	Int	<i>Inga rubiginosa</i>	10,67	0,0000	1,37	0,097	10,3	9,0
7	Int	<i>Tachigali paniculata</i>	7,065	0,5626	1,52	0,251	14,3	27,0
7	Int	<i>Zygia racemosa</i>	17,70	0,0000	1,44	0,174	11,5	11,0
7	Int	<i>Inga thibaudiana</i>	88,55	0,0000	2,88	0,194	14,7	14,0
7	Int	<i>Inga thibaudiana</i>	47,10	0,0000	1,64	0,172	18,4	20,0
7	Int	<i>Zygia ramiflora</i>	18,84	0,0000	1,55	0,126	11,5	12,0
7	Int	<i>Inga thibaudiana</i>	31,40	0,3662	2,57	0,178	12,5	15,0
8	Int	<i>Tachigali alba</i>	157,00	0,0000	2,79	0,228	50,0	37,0
8	Int	<i>Zygia racemosa</i>	14,76	0,0000	3,12	0,256	14,6	16,0
8	Int	<i>Inga gracilifolia</i>	22,14	0,0000	2,79	0,218	12,3	15,0
8	Int	<i>Abarema jupunba</i>	12,56	0,0000	2,79	0,241	20,9	22,0
8	Int	<i>Ormosia flava</i>	14,44	0,0000	3,30	0,264	23,3	27,0
8	Int	<i>Inga alba</i>	17,27	0,0000	2,38	0,198	17,0	15,0
9	Int	<i>Inga capitata</i>	12,56	0,0000	3,24	0,262	14,3	13,0
9	Int	<i>Inga rubiginosa</i>	25,90	0,0000	3,07	0,225	10,5	13,0
9	Int	<i>Inga alba</i>	8,44	0,0106	2,95	0,234	14,1	21,0
9	Int	<i>Inga pezizifera</i>	26,84	0,0000	3,39	0,260	21,6	23,0
9	Int	<i>Inga pezizifera</i>	15,07	1,5074	2,94	0,209	19,1	16,0
9	Int	<i>Inga pezizifera</i>	16,33	0,0000	3,06	0,206	14,3	14,0
9	Int	<i>Inga pezizifera</i>	13,81	0,0000	2,86	0,206	13,6	14,0
9	Int	<i>Enterolobium schomburgkii</i>	14,76	0,0000	2,99	0,230	18,7	24,0
10	Int	<i>Inga marginata</i>	14,44	0,0000	2,21	0,167	15,7	14,0
10	Int	<i>Inga alba</i>	169,56	0,0000	2,61	0,174	29,3	20,0

Trans.	Classe	Espécie	Dossel (m ²)	Massa Nódulos (g.m ⁻²)	C (%)	N (%)	DAP (cm)	Altura (m)
10	Int	<i>Abarema mataybifolia</i>	14,44	0,0053	3,14	0,240	20,3	9,0
10	Int	<i>Zygia racemosa</i>	14,76	0,0000	3,01	0,236	14,5	15,0
10	Int	<i>Platymiscium trinitatis</i>	1,57	0,0000	2,62	0,157	18,9	21,0
10	Int	<i>Swartzia arborescens</i>	16,95	0,0000	3,89	0,150	13,0	13,0
10	Int	<i>Swartzia polyphylla</i>	16,48	0,0000	2,37	0,132	22,6	17,0
10	Int	<i>Stryphnodendron paniculatum</i>	13,50	0,0000	3,62	0,205	18,8	23,0
10	Int	<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	32,50	0,0000	3,10	0,182	16,7	19,0
10	Int	<i>Inga alba</i>	125,60	0,0000	2,09	0,130	33,4	26,0
10	Int	<i>Platymiscium trinitatis</i>	9,73	0,0000	3,65	0,173	12,3	21,0
11	Queim	<i>Inga macrophylla</i>	15,54	0,0000	3,39	0,200	12,4	13,0
11	Queim	<i>Zygia racemosa</i>	35,79	0,0000	3,13	0,189	10,7	10,0
11	Queim	<i>Inga capitata</i>	64,05	0,0000	2,82	0,176	19,2	15,0
11	Queim	<i>Inga thibaudiana</i>	30,61	0,0053	3,22	0,203	22,7	9,0
11	Queim	<i>Inga marginata</i>	23,55	0,0000	3,72	0,221	14,5	12,0
11	Queim	<i>Tachigali paniculata</i>	14,44	0,0000	3,83	0,219	15,0	25,0
11	Queim	<i>Inga alba</i>	28,73	0,0000	3,61	0,202	31,4	25,0
11	Queim	<i>Inga pilosula</i>	50,24	6,1411	3,34	0,205	31,7	18,0
11	Queim	<i>Inga thibaudiana</i>	19,23	0,0000	3,38	0,281	15,9	13,0
11	Queim	<i>Inga thibaudiana</i>	26,84	0,0000	3,36	0,268	16,4	16,0
11	Queim	<i>Zygia racemosa</i>	15,07	0,0000	3,40	0,293	22,4	16,0
11	Queim	<i>Inga marginata</i>	31,40	0,0000	2,69	0,279	20,2	16,0
11	Queim	<i>Inga marginata</i>	61,23	0,0000	3,25	0,272	22,5	14,0
11	Queim	<i>Swartzia flaemingii</i>	8,04	0,0000	5,25	0,401	24,3	24,0
11	Queim	<i>Inga capitata</i>	6,15	0,0000	3,73	0,324	16,1	6,0
12	Queim	<i>Inga capitata</i>	7,53	0,0106	3,24	0,263	15,7	12,0
12	Queim	<i>Stryphnodendron polystachyum</i>	3,77	0,0000	2,54	0,224	15,0	9,0
12	Queim	<i>Zygia ramiflora</i>	20,25	0,0000	3,86	0,305	12,3	9,0
12	Queim	<i>Zygia ramiflora</i>	16,01	0,0000	3,05	0,266	12,8	9,0
13	Queim	<i>Inga rubiginosa</i>	15,07	0,0000	3,44	0,276	10,4	12,0
13	Queim	<i>Inga capitata</i>	2,18	0,0000	3,22	0,251	19,1	2,5
13	Queim	<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	59,66	0,0000	3,18	0,252	54,0	40,0
13	Queim	<i>Zygia ramiflora</i>	29,51	0,0000	2,89	0,238	12,6	10,0
13	Queim	<i>Inga pezizifera</i>	14,13	0,0000	3,13	0,252	17,8	15,0
13	Queim	<i>Zygia ramiflora</i>	14,76	0,0000	2,84	0,262	14,7	14,0
14	Queim	<i>Pseudopiptadenia suaveolens</i>	50,24	0,3131	4,09	0,311	28,0	24,0
14	Queim	<i>Zygia racemosa</i>	31,55	0,0000	4,53	0,338	11,2	11,0
14	Queim	<i>Swartzia laurifolia</i>	6,40	0,0000	3,84	0,319	10,0	9,0
14	Queim	<i>Swartzia laurifolia</i>	40,97	0,0000	4,35	0,302	24,0	23,0
14	Queim	<i>Inga rubiginosa</i>	16,95	0,0743	3,66	0,272	14,8	14,5
14	Queim	<i>Zygia racemosa</i>	1,54	0,0000	4,10	0,310	22,1	23,0
14	Queim	<i>Swartzia laurifolia</i>	6,82	0,0000	3,12	0,266	18,5	19,0
14	Queim	<i>Stryphnodendron polystachyum</i>	32,03	0,0000	3,01	0,234	10,6	9,0
15	Queim	<i>Abarema mataybifolia</i>	8,48	0,0000	3,81	0,298	16,0	10,0

Trans.	Classe	Espécie	Dossel (m ²)	Massa Nódulos (g.m ⁻²)	C (%)	N (%)	DAP (cm)	Altura (m)
15	Queim	<i>Inga rubiginosa</i>	24,55	0,0000	3,76	0,289	16,4	23,0
15	Queim	<i>Abarema mataybifolia</i>	50,00	0,0000	3,74	0,291	18,6	17,0
15	Queim	<i>Inga microcalyx</i>	116,80	0,0000	4,25	0,310	29,0	23,0
15	Queim	<i>Abarema mataybifolia</i>	17,80	0,0000	4,24	0,296	21,7	12,0
15	Queim	<i>Abarema mataybifolia</i>	29,43	0,0000	2,77	0,229	20,6	19,0
15	Queim	<i>Abarema mataybifolia</i>	11,30	0,0000	3,27	0,241	18,1	14,0
15	Queim	<i>Ormosia flava</i>	5,93	0,0000	3,94	0,300	16,7	9,0
15	Queim	<i>Swartzia arborescens</i>	10,79	0,0000	3,39	0,250	13,5	9,0

Tabela 5- Média e desvio padrão das variáveis explicativas e de massa nodular do conjunto total de indivíduos estudados por transecto (n=15) da região de Santarém, Amazônia centro-oriental. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.

Classe	C %	N %	Área do dossel (m ²)	Altura (m)	DAP (cm)	Massa de nódulos (g.m ⁻²)
Queim	3,47 (± 0,58)	0,24 (± 0,06)	28,72 (± 17,82)	15,46 (± 5,66)	19,69 (± 6,25)	0,40 (± 1,58)
Queim	3,17 (± 0,55)	0,26 (± 0,03)	11,89 (± 7,569)	9,75 (± 1,5)	13,95 (± 1,65)	0,002 (± 0,005)
Queim	3,11 (± 0,22)	0,25 (± 0,01)	22,55 (± 20,13)	15,6 (± 12,76)	21,43 (± 16,2)	-
Queim	3,83 (± 0,55)	0,29 (± 0,03)	23,31 (± 17,94)	16,56 (± 6,47)	17,4 (± 6,8)	0,04 (± 0,11)
Queim	3,68 (± 0,47)	0,28 (± 0,03)	30,56 (± 35,12)	15,11 (± 5,65)	18,95 (± 4,50)	-
Sec	3,15 (± 0,5)	0,39 (± 0,45)	20,77 (± 20,16)	12 (± 2,75)	13,3 (± 3,15)	1,03 (± 1,54)
Sec	1,66 (± 0,16)	0,10 (± 0,01)	33,35 (± 27,98)	11,64 (± 2,28)	17,24 (± 8,15)	0,03 (± 0,05)
Sec	1,84 (± 1,08)	0,11 (± 0,05)	44,58 (± 16,87)	15 (± NA)*	20,9 (± 4,95)	0,005 (± 0,00)
Sec	3,46 (± 0,55)	0,22 (± 0,06)	24,72 (± 13,83)	16,2 (± 4,97)	19,98 (± 12,2)	-
Sec	1,35 (± 0,44)	0,22 (± 0,01)	18,95 (± 16,13)	14,28 (± 3,59)	16,17 (± 4,26)	0,10 (± 0,24)
Int	2,22 (± 0,33)	0,13 (± 0,005)	33,33 (± 17,71)	19 (± 8,48)	16,56 (± 2,65)	-
Int	1,57 (± 0,64)	0,19 (± 0,04)	26,52 (± 23,76)	17,2 (± 7,61)	17,42 (± 10,0)	0,10 (± 0,21)
Int	2,86 (± 0,32)	0,23 (± 0,024)	39,69 (± 57,56)	22 (± 8,76)	23,01 (± 13,8)	-
Int	3,06 (± 0,18)	0,23 (± 0,02)	16,71 (± 6,413)	17,25 (± 4,65)	15,77 (± 3,64)	0,19 (± 0,53)
Int	2,93 (± 0,61)	0,17 (± 0,037)	39,05 (± 55,02)	18 (± 4,93)	19,6 (± 6,64)	0,0004 (± 0,001)

Tabela 6- Média e desvio padrão das variáveis predictoras do total de indivíduos nodulantes (n = 133) estudados por classe florestal, na região de Santarém, Amazônia centro-oriental.

Classe	C %	N %	Área do dossel (m ²)	Altura (m)	DAP (cm)
Queimada	3,5 (± 0,54)	0,26 (± 0,04)	25,6 (± 22,08)	15,07 (± 6,9)	18,8 (± 7,85)
Secundária	1,86 (± 0,91)	0,22 (± 0,17)	22,95 (± 19,01)	13,84 (± 3,59)	16,56 (± 6,07)
Intacta	2,42 (± 0,82)	0,2 (± 0,04)	30,2 (± 37,4)	18,19 (± 6,57)	18,39 (± 8,65)
Total	2,56 (± 1,03)	0,23 (± 0,1)	26,13 (± 27,1)	15,61 (± 6,03)	17,86 (± 7,55)

Tabela 7- Média e desvio padrão das variáveis explicativas e de massa nodular somente dos indivíduos com nódulos ativos por transecto (n=10) da região de Santarém, Amazônia centro-oriental. Os transectos que apresentaram apenas um indivíduo nodulante, ou seja, sem desvio padrão, está representado pela sigla NA*. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.

Classe	C %	N %	Área do dossel (m ²)	Altura (m)	DAP (cm)	Massa de nódulos (g.m ⁻²)
Queim	3,27 (± 0,08)	0,2 (± 0,001)	40,42 (± 13,87)	13,5 (± 6,36)	27,2 (± 6,36)	3,07 (± 4,33)
Queim	3,24 (± NA)*	0,26 (± NA)*	7,53 (± NA)*	12 (± NA)*	15,7 (± NA)*	3,24 (± NA)*
Queim	3,87 (± 0,3)	0,29 (± 0,02)	33,6 (± 23,5)	19,25 (± 6,71)	21,4 (± 9,33)	0,19 (± 0,16)
Sec	3,12 (± 0,64)	0,48 (± 0,55)	24,88 (± 24,38)	11 (± 2,82)	12,6 (± 2,87)	1,54 (± 1,69)
Sec	1,62 (± 0,10)	0,1 (± 0,01)	26,4 (± 24,4)	11,9 (± 2,65)	15,86 (± 6,19)	0,03 (± 0,06)
Sec	1,84 (± 1,08)	0,11 (± 0,05)	44,6 (± 16,8)	15 (± 0,0)	20,9 (± 4,94)	0,005 (± 0,0)
Sec	1,40 (± 0,41)	0,22 (± 0,008)	19,2 (± 18,8)	14,26 (± 3,31)	16,01 (± 4,45)	0,15 (± 0,28)
Int	1,68 (± 0,64)	0,21 (± 0,02)	16,61 (± 11,9)	21,6 (± 8,17)	17,94 (± 11,7)	0,30 (± 0,27)
Int	2,94 (± 0,007)	0,22 (0,02)	11,75 (± 4,7)	18,5 (± 3,53)	16,6 (± 3,53)	0,75 (± 1,05)
Int	3,13 (± NA)*	0,24 (± NA)*	14,44 (± NA)*	9 (± NA)*	20,3 (± NA)*	0,005 (± NA)*

Tabela 8- Média e desvio padrão das variáveis predictoras e de massa nodular somente dos indivíduos com nódulos ativos por classe florestal, na região de Santarém, Amazônia centro-oriental. Classes florestais: Sec = Secundária; Int = Intacta; Queim = Queimada.

Classe	C %	N %	Área do dossel (m ²)	Altura (m)	DAP (cm)	Massa de nódulos (g.m ⁻²)
Sec	1,7 (± 0,72)	0,23 (± 0,21)	22,86 (± 13,87)	13,48 (± 3,23)	15,85 (± 4,75)	0,31 (± 0,77)
Queim	3,5 (± 0,37)	0,25 (± 0,04)	31,11 (± 15,87)	15,5 (± 5,78)	22,58 (± 7,42)	1,3 (± 2,7)
Int	2,17 (± 0,84)	0,22 (± 0,02)	15,13 (± 19,87)	19,25 (± 7,68)	17,9 (± 9,05)	0,38 (± 0,51)

CAPÍTULO 4 - O PAPEL DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGENIO NA REGENERAÇÃO DE FLORESTAS TROPICAIS: QUAIS AS IMPLICAÇÕES E DESDOBRAMENTOS DO PRESENTE ESTUDO?

O presente estudo analisou a ocorrência da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em florestas na Amazônia brasileira, um mecanismo considerado de grande importância para a manutenção dos ciclos biogeoquímicos das florestas tropicais (GERBER et al., 2010). Foi analisada a FBN em escala individual, de espécies, classe florestal, e ecossistemas. Em escala individual, observou-se que 32% dos indivíduos estavam nodulando ativamente, uma alta frequência conforme esperada para as florestas tropicais. As plantas com nodulação foram representadas principalmente pelo gênero *Inga*, o que confirma a alta capacidade de nodulação desse gênero (BARRON et al., 2011; BATTERMAN et al., 2013a, 2013b; WUZBURGER; HEDIN, 2015). As espécies que apresentaram maior probabilidade de serem encontradas com nódulos nas florestas estudadas de Santarém foram *Inga heterophylla* (85%, $\pm 13\%$) *Inga thibaudiana* (63%, $\pm 14\%$) e *Ormosia holerythra* (66%, $\pm 27\%$) (Figura 2). O indivíduo que apresentou maior massa nodular e também único representante da espécie foi uma *Inga pilosula*, com 6,14 g.m⁻² (Figura 3). As espécies vegetais nodulantes apresentaram variação de massa nodular entre elas, o que também foi notado em outros estudos de florestas do neotrópico (BATTERMAN et al., 2013a; WUZBURGER; HEDIN, 2015).

Das espécies nodulíferas ativas, a maioria estava presente em florestas secundárias (30 indivíduos), do que as florestas primárias intactas (8 indivíduos) e florestas primárias queimadas (5 indivíduos). Esta contribuição de FBN é verificada na probabilidade de encontrar espécies nodulantes por classe florestal a partir dos nossos resultados. A probabilidade de se encontrar indivíduos nodulantes foi bem superior nas florestas secundária (62,5%, $\pm 6,98\%$), comparado às florestas primárias, tanto queimada (11,9%, $\pm 4,99\%$) quanto intacta (18,6%, $\pm 5,93\%$) (Figura 7). Esta maior frequência de espécies nodulantes em florestas secundárias mostrou também uma maior contribuição de fixação de nitrogênio em nível individual, com 9,37 g.m⁻² e as florestas primárias queimadas e primária intacta, 6,54 e 3,05, respectivamente. A alta frequência de nodulação nas florestas secundárias confirmou os estudos prévios para estes sistemas tropicais (BATTERMAN et al., 2013a; GEHRING et al., 2005).

Entretanto, o mesmo padrão não foi observado em termos de massa nodular de florestas secundárias em nível ecossistêmico. As florestas primárias queimadas foram as que apresentaram maior contribuição em comparação às secundárias e primárias intactas. Isso se

deve exclusivamente pelo indivíduo de maior nodulação, *Inga pilosula*. Por conta da falta de informação na literatura sobre a capacidade de nodulação desta espécie, não se sabe se essa amostra representaria um *outlier* ou se a espécie de fato tem elevada capacidade de nodulação. Desta forma, o estudo não obteve evidências suficientes para afirmar que as florestas primárias queimadas teriam grande contribuição da fixação de nitrogênio. Em particular, a questão levantada no presente estudo se o fogo é estimulador ou supressor da FBN continua aberta.

Por fim, quais seriam as variáveis que apresentariam maior relação com a massa nodular para a região de Santarém? As principais variáveis explicativas para a massa de nódulos, de forma surpreendente, foi o carbono total, como variável mais importante e que produziu o melhor modelo preditor da massa de nódulos. Junto com o carbono, outras variáveis também tiveram algum papel na massa de nódulos: o nitrogênio total, seguidos das variáveis dendrométricas diâmetro do caule da planta (DAP) e área de dossel.

As espécies da família Fabaceae que realizam a FBN desempenham um importante papel ecológico e, conseqüentemente, são importantes para as dinâmicas de recuperação e das florestas tropicais (DE FARIA et al., 2010). O trabalho aqui realizado abordando Santarém reuniu evidências científicas importantes, mas deixou lacunas para novas pesquisas, visando a entender melhor o papel da fixação biológica de nitrogênio em florestas primárias queimadas. Os efeitos da fixação de nitrogênio podem ser importantes para entender o estoque de carbono de florestas tropicais, já que esse mecanismo alavanca o crescimento e desenvolvimento vegetal no ecossistema, incorporando os modelos do sistema da Terra (BATTERMAN et al., 2013a; GERBER et al., 2010).

Os efeitos do fogo no estoque e mineralização de nitrogênio no solo ocorrem em curto prazo, nos quais o acúmulo de formas inorgânicas de nitrogênio é incrementado por um breve tempo (aproximadamente 1 ano) e depois há o decréscimo dessas concentrações (WAN et al., 2001). Essa variação temporal abre perspectivas para pesquisas adicionais a essa aqui apresentada no sentido de monitorar a ocorrência de nódulos nas florestas queimadas em um período de tempo mais longo. Estudos sobre alteração da frequência e massa de nódulos e a relação com a variação temporal do nitrogênio dos solos seriam de grande relevância. Além disso, não se sabe qual a contribuição da FBN na colonização em áreas de clareiras de florestas primárias queimadas. As florestas estudadas sofreram grande alteração em sua estrutura, com a perda severa de biomassa do sub-bosque e de árvores de maior porte que vem ocorrendo de forma gradual. Assim, é válida a questão: a regeneração com novos indivíduos

nestas florestas seria semelhante ao de florestas secundárias? Esta é uma abordagem sem conhecimento na literatura. É importante compreender os limiares de tolerância para a fixação de nitrogênio simbiótica e determinar as consequências das queimadas em ciclos biogeoquímicos ao longo da regeneração da floresta.

Além do conhecimento escasso sobre o papel da FBN em florestas primárias queimadas, os estudos quantitativos destes mecanismos simbióticos estão crescendo aos poucos, em nível ecossistêmico. Há poucos trabalhos em florestas tropicais que mostram a capacidade nodular das espécies da família Fabaceae (BARRON et al., 2011; BATTERMAN et al., 2013a; WUZBURGER; HEDIN, 2015). Os dados aqui apresentados para a região de Santarém são inéditos e colaboram para aumentar o entendimento da FBN nos ecossistemas do Brasil, em particular, da Floresta Amazônica, mostrando inclusive a capacidade de algumas espécies que ainda não tinham sido estudadas. Assim, os estudos quantitativos podem continuar na região, para colaborar no arcabouço científico, para entender a capacidade nodular de outras espécies da família Fabaceae, especialmente no contexto de áreas protegidas brasileiras, como é o caso da Floresta Nacional do Tapajós.

As bactérias e plantas que realizam a FBN podem variar de altamente específicas até altamente promíscuas, podendo estabelecer simbiose com poucos ou vários parceiros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Esta relação mostra também novos possíveis estudos para entender quais são os tipos de bactérias que apresentam maior afinidade com as espécies vegetais de florestas tropicais. Isso ajuda a entender se a riqueza de espécies de leguminosas não corresponde necessariamente à diversidade de seus rizóbios associados (DE FARIA et al., 2010).

Por fim, há ainda uma gama de variáveis que podem ser estudadas e que influenciam na capacidade e fixação de nitrogênio no solo, como molibdênio, ferro, fósforo, umidade no solo e compostos inorgânicos de nitrogênio no solo (BARRON et al., 2009; BATTERMAN et al., 2013b; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; WUZBURGER; HEDIN, 2015). Seria interessante também avaliar a relação da nodulação com as emissões de gases nitrogenados dos solos os quais tem importantes impactos nas emissões de gases para a atmosfera.

Em suma, a análise aqui apresentada de 133 indivíduos da família Fabaceae ocorrentes em 3,75ha de florestas em diferentes níveis de distúrbio antrópico na região de Santarém mostrou padrões interessantes. Os resultados sugerem a contribuição da fixação biológica de nitrogênio na região de Santarém e na existência potencial de entradas de nitrogênio no ecossistema através da fixação biológica. A classe que apresentou maior potencial de

contribuição de nitrogênio foi a floresta secundária, por apresentar maior frequência de espécies com nódulos ativos, comparado às florestas primárias queimadas e florestas primárias intactas. A quantificação de massa de nódulos em nível ecossistêmico não variou nitidamente entre classes de floresta.

As florestas primárias mostraram a menor frequência de espécies nodulantes na região de Santarém. Ainda resta a questão sobre qual a contribuição de fixação de nitrogênio por florestas primárias queimadas. É possível que a falta de resposta mais clara no presente estudo deve-se a um fator temporal, pois possivelmente há um incremento de nitrogênio disponível no solo a partir de queimada recente causada por El niño, o que reduz a demanda de nitrogênio e conseqüentemente a ocorrência do mecanismo de fixação biológica de nitrogênio.

Um dos resultados mais marcantes no presente estudo foi de que o carbono total seja a principal variável explicativa para a massa de nódulos nas plantas estudadas. O nitrogênio total, diâmetro do caule e área de dossel da planta também contribuíram positivamente para a massa de nódulos. Entretanto, todas essas variáveis apresentam relação teórica com o incremento da fixação de nitrogênio, voltados para a relação dos ciclos do carbono e nitrogênio e em questões estruturais benéficas para captação de luz, fator importante para o estabelecimento da simbiose de bactérias e plantas fixadoras de nitrogênio. A maior massa de nódulos foi relacionada com uma maior quantidade de carbono total nos solos. Estes resultados podem estar relacionados com o grande custo energético para a realização da FBN, conforme indicado na literatura. Logo, os solos com maior teor de carbono possivelmente oferecem maior substrato que fornecem mais energia necessária no processo de fixação de nitrogênio. Esse resultado do presente estudo não foi encontrado semelhante na literatura e assim abre também oportunidade para novos estudos mais aprofundados sobre essas relações. O aprofundamento desses conhecimentos contribuirá de forma relevante para compreender a resiliência destas florestas e orientar a grande demanda atual quanto à recuperação das florestas tropicais aos distúrbios cada vez mais crescentes.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, O.; ALLEN, K. **The leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation**. Madison, WI, USA: University of Wisconsin Press. 1981.
- ALMEIDA, E. J.; LUIZÃO, F.; RODRIGUES, D. J. Litterfall production in intact and selectively logged forests in southern of Amazonia as a function of basal area of vegetation and plant density. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 2, p. 157-166, 2015.
- ALVES, L. F.; METZGER, J. P. A regeneração florestal em áreas de floresta secundária na Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, SP. **Biota Neotropica** v. 6, n. 2. 2006. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n2/pt/fullpaper?bn00406022006+pt>>. Acesso em: 18 de setembro de 2017.
- ARAGÃO, L. E. O. C.; SHIMABUKURO Y. E. The incidence of fire in Amazonian forests with implications for REDD. **Science** v. 328, p. 1275–1278, 2010.
- ARAÚJO, G.C.; OLIVEIRA JUNIOR, R.C. de; OLIVEIRA, F.A.; GAMA, J.R.V.; GONÇALVES, D.C.M.; ALMEIRA, L.S. Comparação entre floresta primária e secundária com ocorrência de *Attalea maripa* (Aubl.) Mart.: estudo de caso na Amazônia Central. **Floresta e Ambiente**. v. 19, n. 3, p. 325-335, 2012.
- ARAÚJO, M. M.; TUCKER, J. M.; VASCONCELOS, S. S.; ZARIN, D. J.; OLIVEIRA, W.; SAMPAIO, P. D.; VASCONCELOS, L. G. R.; OLIVEIRA, F. A.; COELHO, R. F. R.; ARAGÃO, D. V.; MIRANDA, I. Padrão e processo sucessionais em florestas secundárias de diferentes idades na Amazônia oriental. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 4, p. 343-357, 2005.
- BALCH, J. K. Drought and fire change sink to source. **Nature**. v. 506. p. 41-42, 2014.
- BARLOW, J. LENNOX, G. D.; FERREIRA, J.; BERENGUER, E.; LEES, A. C.; NALLY, R. M.; THOMSON, J. R.; FERRAZ, S. F. B.; LOUZADA, J.; OLIVEIRA, V. H. F.; PARRY, L.; SOLAR, R. R. C.; VIEIRA, I. C. G.; ARAGÃO, L. E. O. C.; BEGOTTI, R. A.; BRAGA, R. F.; CARDOSO, T. M.; JUNIOR, R. C. O.; JUNIOR, C. M. S.; MOURA, N. G.; NUNES, S. S.; SIQUEIRA, J. V.; PARDINI, R.; SILVEIRA, J. M.; VAZ-DE-MELLO, F. Z.; VEIGA, R. C. S.; VENTURIERI, A.; GARDNER, T. A. Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. **Nature**, v. 535, n. 7610, p. 144-147, 2016.
- BARLOW, J.; PERES, C. A. Ecological responses to El Niño–induced surface fires in central Brazilian Amazonia: management implications for flammable tropical forests. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 359, n. 1443, p. 367-380, 2004.
- BARLOW, J.; PERES, C. A. Fire-mediated dieback and compositional cascade in an Amazonian forest. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. v. 363, n. 1498, p. 1787-1794, 2008.
- BARRON, A. R.; PURVES, D. W.; HEDIN, L. O. Facultative nitrogen fixation by canopy legumes in a lowland tropical forest. **Oecologia**, v. 165, n. 2, p. 511–520, 2011.
- BARRON, A. R.; WURZBURGER, N.; BELLENGER, J. P.; WRIGHT, S. J.; KRAPIEL, A. M. L.; HEDIN, L. O. Molybdenum limitation of asymbiotic nitrogen fixation in tropical forest soils. **Nature Geoscience**, v. 2, n. 1, p. 42-45, 2009.

- BATTERMAN, S. A.; HEDIN, L.O.; RANSIJN, J.; CRAVEN, D.J.; HALL, J.S. Key hole of symbiotic dinitrogen fixation in tropical forest secondary succession. **Nature**. v. 502, p. 224-227, 2013a.
- BATTERMAN, S. A.; WURZBURGER, N.; HEDIN, L. O. Nitrogen and phosphorus interact to control tropical symbiotic N₂ fixation: a test in *Inga punctata*. **Journal of Ecology**, v. 101, n. 6, p. 1400-1408, 2013b.
- BERENGUER, E.; FERREIRA, J.; GARDNER, T. A.; ARAGÃO, L. E. O. C.; CAMARGO, P. B. de; CERRI, C. E.; DURIGAN, M.; OLIVEIRA JUNIOR, R. C. de; VIEIRA, I. C. G.; BARLOW, J. A large-scale field assessment of carbon stocks in human-modified tropical forests. **Global Change Biology**. v. 20, n. 12, p. 3713–3726, 2014.
- BRANCALION, P. H. S.; VIANI, R. A. G.; RODRIGUES, R. R.; CÉSAR, R. G. Estratégias para auxiliar na conservação de florestas tropicais secundárias inseridas em paisagens alteradas. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat.**, Belém, v. 7, n. 3, p. 219-234, 2012.
- BRIENEN, R. J. W.; PHILLIPS, O. L.; FELDPAUSCH, T. R.; et al. Long-term decline of the Amazon carbon sink. **Nature**, v. 519, n. 7543, p. 344–348, 2015.
- BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Model selection and multi-model inference: a practical information-theoretic approach (2nd ed). **Springer-Verlag**, New York, NY, USA. 2002.
- CARDOSO, D.; RIBEIRO, J.; SALOMÃO, R.; FONSECA, A.; SOUZA JR., C. **Degradação Florestal no estado do Pará**. Belém: Imazon, 2017. (agosto de 2015 a julho de 2016). p. 1.
- CARMENTA, R.; PARRY, L.; BLACKBURN, A.; VERMEYLEN, S.; BARLOW, J. Understanding human-fire interactions in tropical forest regions: a case for interdisciplinary research across the natural and social sciences. **Ecology and Society**, v. 16, n. 1, 2011. Disponível em: < <https://www.ecologyandsociety.org/vol16/iss1/art53/>>. Acesso: 25 de abril de 2017.
- COMPANHIA DOCAS DO PARÁ (CDP). **Diagnóstico ambiental do porto de Santarém**. Santarém/PA: Secretaria de Portos, 2016.
- CHAVE, J. et al. Improved allometric models to estimate the aboveground biomass of tropical trees. **Global change biology**, v. 20, n. 10, p. 3177-3190, 2014.
- CHAZDON, R. L. Regeneração de florestas tropicais. **Boletim Museu Emílio Goeldi. Série Ciências Naturais**, Belém, v. 7, n. 3, p. 195-218, 2012.
- CHAZDON, R. L.; GUARIGUATA, M. R. Natural regeneration as a tool for large-scale forest restoration in the tropics: prospects and challenges. **Biotropica**, v. 48, n. 6, p. 716-730, 2016.
- CHAZDON, R. L.; BROADBENT, E. N.; ROZENDAAL, D. M. A.; BONGERS, F.; ET AL. Carbon sequestration potential of second-growth forest regeneration in the Latin American tropics. **Science Advances**, v. 2, p.1-10, e1501639, 2016.
- CHAZDON, R. L.; PERES, C. A.; DENT, D.; SHEIL, D.; LUGO, A. E.; LAMB, D.; STORK, N. E.; MILLER S. E. The potential for species conservation in Tropical Secondary Forest. **Conservation Biology**, v. 23, n. 6, p. 1406–1417, 2009.

CLIMATE-DATA. **Clima:** Santarém. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/location/4512/>>. Acessado em 14 de março de 2018,

COLETTA, L. D. **Estudo da fixação biológica do nitrogênio em leguminosas (família Fabaceae) arbóreas tropicais através do enriquecimento isotópico do N15.** 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Centro de energia nuclear na agricultura. Piracicaba, São Paulo. 2010.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. RESOLUÇÃO (CONAMA). **Resolução N° 392/07. Definição de vegetação primária e secundária de regeneração de Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais.** Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA_RES_CONS_2007_392.pdf>>. Acessado em: 20 de agosto de 2016.

COSTA, F.S.; MORENO, A.L.; BARDALES, N.G.; CARVALHO JUNIOR, A.; SANTOS, J.C.; BRITO, E.S. Estoques de carbono e nitrogênio de solos de florestas primária e secundária em regeneração espontânea e pastagens do estado do Acre, sudoeste da Amazônia brasileira. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO**, 34., 2013. Ciência do solo: para quê e para quem: anais. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Florianópolis, 2013.

DAVIDSON, E. A.; CARVALHO, C. J. R.; VIEIRA, I. C. G.; FIGUEIREDO, R. O.; MOUTINHO, P.; ISHIDA, F. Y.; SANTOS, M. T. P. dos; GUERRERO, J. B.; KALIF, K.; SABÁ, R. T. Nitrogen and phosphorus limitation of biomass growth in a tropical secondary forest. **Ecological Applications**, v. 14, n. sp4, p. 150-163, 2004.

DAVIDSON, E. A.; CARVALHO, C. J. R.; FIGUEIRA, A. M.; ISHIDA, F. Y.; OMETTO, J. P. H. B.; NARDOTO, G. B.; SABÁ, R. T.; HAYASHI, S. N.; LEAL, E. C.; VIEIRA, I. C. G.; MARTINELLI, L. A. Recuperation of nitrogen cycling in Amazonian forests following agricultural abandonment. **Nature**. v. 447, p. 995-998, 2007.

DAVIDSON, E.A.; ARAÚJO, A. C.; ARTAXO, P.; BALCH, J. K.; BROWN, I. F.; BUSTAMANTE, M. M. C.; COE, M. T.; DEFRIES, R. S.; KELLER, M.; LONGO, M.; MUNGER, J. W.; SCHROEDER, W.; SOARES-FILHO, B. S.; JUNIOR, C. M. S.; WOFSY, S. C. The Amazon basin in transition. **Nature**. v.481, p. 321–328, 2012.

DAVIDSON, E.A.; MARTINELLI, L.A. Limitações de nutrientes para a regeneração de floresta secundária. **Amazonia and Global Change**. 2009. p. 299-309. (Geophysical Monograph Series, v. 186).

DE FARIA, S. M.; DIEDHIU, A. G.; LIMA, H. C.; RIBEIRO, R. D.; GALIANA, A.; CASTILHO, A. F.; HENRIQUES, J. C. Evaluating the nodulation status of leguminous species from the Amazonian forest of Brazil. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 11, p. 3119-3127, 2010.

DE FARIA, S. M.; LEWIS, G. P.; SPRENT, J. I.; SUTHERLAND, J. M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist** v. 111 p. 607±619, 1989.

EDWARDS, D. P.; LARSEN, T. H.; DOCHERTY, T. D.; ANSELL, F. A.; HSU, W. W.; DERHÉ, M. A.; HAMER, K. C.; WILCOVE, D. S. Degraded lands worth protecting: the biological importance of Southeast Asia's repeatedly logged forests. Proceedings of the Royal Society of London B: **Biological Sciences**, v. 278, n. 1702, p. 82-90, 2011.

FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia brasileira: história, índices e consequências. **Megadiversidade**. v.1. n,1, p. 113-123, 2005.

FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia: dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazonica**. v. 36n. 3, p.395 – 400, 2006.

FELDPAUSCH, T. R.; PRATES-CLARK C. D.; FERNANDES E. C. M.; RIHA S. J. Secondary forest growth deviation from chronosequence predictions in central Amazonia. **Global Change Biology** v. 13n. 5p. 967-979, 2007.

FELDPAUSCH, T.R.; RONDON, M.A.; FERNANDES, E.C.M.; RIHA, S.J.; WANDELLI, E. Carbon and nutrient accumulation in secondary forests regenerating on pastures in central Amazonia. **Ecological Applications**, v. 14n. 4, p. 164–176, 2004.

FERREIRA, J.; BLANC, L.; KANASHIRO, M.; LEES, A. C.; BOURGOIN, C.; FREITAS, J. V.; GAMA, M. B.; LAURENT, F.; MARTINS, M. B.; MOURA, N.; d'OLIVEIRA, M. V.; SOTTA, E. D.; SOUZA, C. R.; RUSCHEL, A. R.; SCHWARTZ, G.; ZWERTS, J.; SIST, P. **Degradação florestal na Amazônia: como ultrapassar os limites conceituais, científicos e técnicos para mudar esse cenário**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. 2015.

FERREIRA, R.L.C. **Estrutura e dinâmica de uma floresta secundária de transição, Rio Vermelho e Serra Azul de Minas, MG**. 1997. 208 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

FIGUEIRA, A. M. S. **Mudanças no uso e cobertura do solo na Amazônia e suas implicações no ciclo de nitrogênio**. 2006. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia aplicada). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP, 2006.

FILOSO, S; MARTINELLI, L. A.; HOWARTH, R. W.; BOYER, E. W., DENTENER, F. Human activities changing the nitrogen cycle in Brazil. In: MARTINELLI, L. A.; HOWARTH, R. W. **Nitrogen cycling in the Americas: natural and anthropogenic influences and controls**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 61-89.

FOLEY, J. A; ASNER, G. P.; COSTA, M. H.; et al. Amazonia loss of Amazon revealed: ecosystem Basin forest goods degradation and and in the The Ecological Society. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 5, p. 25–32, 2007.

FRASER, B. Carving up the Amazon. A rash of road construction is causing widespread change in the world’s largest tropical forest — with potentially global consequences. **Nature**. v. 509. p. 418 – 419, 2014.

GARDNER, T. A.; FERREIRA, J.; BARLOW, J.; LEES, A. C.; PARRY, L.; VIEIRA, I. C. G.; ARAGÃO, L. E. A social and ecological assessment of tropical land uses at multiple scales: the Sustainable Amazon Network. **Phil. Trans. R. Soc. B**, v. 368, n. 1619, 2013.

GEHRING, C.; VLEK, P.L.G.; SOUZA, L.A.G. de; DENICH, M. Biological nitrogen fixation in secondary regrowth and mature rainforest of central Amazonia. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v.111, n.1/4, p.237-252, 2005.

GERBER, S.; HEDIN, L. O.; OPPENHEIMER, M.; PACALA, S. W.; SHEVLIAKOVA, E. Nitrogen cycling and feedbacks in a global dynamic land model. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 24. GB1001. p. 01-15, 2010.

GHAZOUL, J.; BURIVALOVA, Z.; GARCIA-ULLOA, J. G.; KING, L. A. Conceptualizing forest degradation. **Trends in ecology & evolution**, v. 30, n. 10, p. 622-632, 2015.

GIBSON, L. et al. Primary forests are irreplaceable for sustaining tropical biodiversity. **Nature**, v. 478, n. 7369, p. 378-381, 2011.

HEDIN, L. O.; BROOKSHIRE, E. N. J.; MENGE, D. N. L.; BARRON, A. R. The nitrogen paradox in tropical forest ecosystems. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 40, p. 613-635, 2009.

HIPKIN, Charles R. et al. Nitrification by plants that also fix nitrogen. **Nature**, v. 430, n. 6995, p. 98, 2004.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBIO). **A floresta Nacional do Tapajós**. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/flonatapajos/>> Acessado em 18 de janeiro de 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). **Projeto PRODES**. 2017a. Disponível em: <<http://www.obt.inpe.br/prodes/>>. Acesso em: 06 jul. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). **Projeto DEGRAD**. 2017b. Disponível em: <<http://www.obt.inpe.br/degrad/>>. Acesso em: 22 de março de 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). **Projeto PRODES: Monitoramento da floresta amazônica brasileira por satélite**. Disponível em: <<http://www.obt.inpe.br/prodes/index.html>>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2018.

JAKOVAC, C. C.; PEÑA-CLAROS, M.; KUYPER, T. W.; BONGERS, F. Loss of secondary-forest resilience by land-use intensification in the Amazon. **Journal of Ecology**, v. 103, n. 1, p. 67–77, 2015.

JIMÉNEZ-MUÑOZ, J. C.; MATTAR, C.; BARICHIVICH, J.; SANTAMARÍA-ARTIGAS, A.; TAKAHASHI, K.; MALHI, Y.; SOBRINO, J. A.; VAN DER SCHRIER, G. Record-breaking warming and extreme drought in the Amazon rainforest during the course of El Niño 2015–2016. **Scientific Reports**, v. 6, p. 33130, 2016.

JÚNIOR, S.B. Enriquecimento de florestas secundárias como tecnologia de produção sustentável para a agricultura familiar. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Ciências Naturais**, Belém, v.7, n.3, p. 331-337, 2012.

KOWALENKO, C. G. Assessment of LECO CNS-2000 analyzer for simultaneously measuring total carbon, nitrogen, and sulphur in soil. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v. 32, n. 13-14, p. 2065–2078, 2001.

LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP (LPWG). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44-77, 2017.

LEWIS, S. L.; EDWARDS, D. P.; GALBRAITH, D. Increasing human dominance of tropical forests. **Science**, v. 349, n. 6250, p. 827-832, 2015.

LIMA, A. J. N.; TEIXEIRA, L. M.; CARNEIRO, V. M. C.; SANTOS, J.; HIGUCHI, N. Análise da estrutura e do estoque de fitomassa de uma floresta secundária da região de Manaus AM, dez anos após corte raso seguido de fogo. **Acta Amazonica**. v. 37, n. 1, p. 49 – 54, 2007.

LOMBARDI, R. J. R. **Estudo da recorrência de queimadas e permanências de cicatrizes do fogo em áreas selecionadas do cerrado brasileiro, utilizando imagens TM/Landsat**. 2005. 174f. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto). Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. São José dos Campos, SP. 2005.

MARKEWITZ, D.; DAVIDSON E.; MOUTINHO, P.; NEPSTAD, D. Nutrient loss and redistribution after forest clearing on a highly weathered soil in Amazonia. **Ecological Applications**, v. 14, n. sp4, p. 177-199, 2004.

MARTIN, P. A.; NEWTON, A. C.; BULLOCK, J. M. Carbon pools recover more quickly than plan biodiversity in tropical secondary forests. **Proc. R. Soc. B. The Royal Society**. p. 2013-2236, 2013.

MASSAD, T. J.; BALCH, J. K.; DAVIDSON, E. A.; BRANDO, P. M.; MEWS, C. L.; PORTO, P.; QUINTINO, R. M.; VIEIRA, S. A.; JUNIOR, B. H. M.; TRUMBORE, S. E. Interactions between repeated fire, nutrients, and insect herbivores affect the recovery of diversity in the southern Amazon. **Oecologia**, v. 172, n. 1, p. 219-229, 2013.

MASSOCA, P. E.; JOKOVAC, A. C. C.; BENTOS, T. V.; WILLIAMSON, G. B.; MESQUITA, R. C. G. Dinâmica e trajetórias da sucessão secundária na Amazônia central. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat.**, Belém, v. 7, n. 3, p. 235-250, 2012.

MCKEY, D. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. **Advances in Legume Systematics**, v. 5, p. 211-228, 1994.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e biotecnologia do solo**. 2 ed. [S.l.]: Editora UFLA, 2006. p. 729

NASTO, M. K.; ALVAREZ-CLARE, S.; LEKBERG, Y.; et al. Interactions among nitrogen fixation and soil phosphorus acquisition strategies in lowland tropical rain forests. **Ecology Letters**, v. 17, n. 10, p. 1282–1289, 2014.

NEPSTAD, D. C.; STICKLER, C. M.; SOARES-FILHO, B.; MERRY, F. Interactions among Amazon land use, forests and climate: prospects for a near-term forest tipping point. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 363, n. 1498, p. 1737-1746, 2008.

NEPSTAD, D. et al. Slowing Amazon deforestation through public policy and interventions in beef and soy supply chains. **Science** v. 344, n. 1118, p. 1118-1123, 2014.

NEPSTAD, D.; LEFEBVRE, P.; SILVA, U. L.; TOMASELLA, J.; SCHLESINGER, P.; SOLORZANO, L.; MOUTINHO, P.; RAY, D.; BENITO, J. G. Amazon drought and its implications for forest flammability and tree growth: A basin-wide analysis. **Global Change Biology**, v. 10, n.5, p. 704-717, 2004.

PAN, Y.; BIRDSEY, R. A.; FANG, J., HOUGHTON, R.; KAUPPI, P. E.; KURZ, W. A.; PHILLIPS, O. L.; SHVIDENKO, A.; LEWIS, S. L.; CANADELL, J. G.; CIAIS, P.; JACKSON, R. B.; PACALA, S. W.; MCGUIRE, A. D.; PIAO, S.; RAUTIAINEN, A.; SITCH, S.; HAYES, D. A large and persistent carbon sink in the world's forests. **Science** v. 333, p. 988-993, 2011.

- PARROTTA, J. A.; WILDBURGER, C.; MANSOURIAN, S. (Ed.). **Understanding relationships between biodiversity, carbon, forests and people: the key to achieving REDD + objectives**. Vienna, Austria: International Union of Forest Research Organizations. 2012. 161 p. (IUFRO World Series, v. 31).
- PELEGRINI, A. F. A.; HEDIN, L. O.; STAVNER, A. C.; GOVENDER, N. Fire alters ecosystem carbon and nutrients but not plant nutrient stoichiometry or composition in tropical savanna. **Ecology Society of America**. v. 96, n. 5, p. 1275-1285, 2015.
- POORTER, L.; BONGERS, F.; AIDE, T. M. Biomass resilience of Neotropical secondary forests. **Nature**, Nature Publishing Group, v. 530, n. 7589, p. 211–214, 2016.
- ROGGY, J.C.; PREVOST, M.F.; GARBAYE, J.; DOMENACH, A.M. Nitrogen cycling in the tropical rain forest of French Guiana: Comparison of two sites with contrasting soil types using $\delta^{15}\text{N}$. **Journal of Tropical Ecology**, New York, v.15, p.1-22, 1999.
- ROSA, R. S.; MESSIAS, R. A.; AMBROZINI, B. **Importância da compreensão dos ciclos biogeoquímicos para o desenvolvimento sustentável**. Universidade de São Paulo. Instituto de química de São Carlos. São Carlos, SP, 2003.
- SALOMÃO, R. P.; VIEIRA, I. C. G.; JÚNIOR, S. B.; AMARAL, D. D.; SANTANA, A. C. Sistema capoeira Classe: *uma proposta de sistema de classificação de estágios sucessionais de florestas secundárias para o estado do Pará*. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi**. Série Cienc. Nat., Belém, v. 7, n. 3, p. 297-317, 2012.
- SILVA, M. M.; OLIVEIRA, F.A. A importância socioambiental das florestas secundárias em Altamira-Pará. **Revista EDUCamazônia**. Ano 7, v. XII, n. 1, p. 195-208, 2014.
- SOLAR, R. R. D. C.; BARLOW, J.; FERREIRA, J.; BERENQUER, E.; LEES, A. C.; THOMSON, J. R.; LOUZADA, J.; MAUÉS, M.; MOURA, N.; OLIVEIRA, V. H. F.; CHAUL, J. C.; SCHOEREDER, J. H.; VIEIRA, I. C. G.; MAC NALLY, R.; GARDNER, T. A. How pervasive is biotic homogenization in human-modified tropical forest landscapes?. **Ecology Letters**, v. 18, n. 10, p. 1108-1118, 2015.
- SOUZA JR, C. M.; SIQUEIRA, J. V.; SALES, M. H.; FONSECA, A. V.; RIBEIRO, J. G.; NUMATA, I.; COCHRANE, M. A.; BARBER, C. P.; ROBERTS, D. A.; BARLOW, J. Ten-year Landsat classification of deforestation and forest degradation in the Brazilian Amazon. **Remote Sensing**, v. 5, n. 11, p. 5493-5513, 2013.
- SPRENT, J. **Legume nodulation**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2009.
- VENEKLAAS, Erik J. Litterfall and nutrient fluxes in two montane tropical rain forests, Colombia. **Journal of Tropical Ecology**, v. 7, n. 3, p. 319-336, 1991.
- VIEIRA, I.C.G.; SALOMÃO, R.P.; NEPSTAD, D.C.; ROMA, J.; ROSA, N. O Renascimento da floresta no rastro da agricultura. **Ciência Hoje**, n.119, p.38-44, 1996.
- VIEIRA, I.C.G; GARDNER, T.A. Florestas secundárias tropicais: ecologia e importância em paisagens antrópicas. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi**. Série Ciências Naturais, Belém, v.7, n.3, p. 191-194, 2012.
- VITOUSEK, P. M. Litterfall, nutrient cycling, and nutrient limitation in tropical forests, **Ecology**, v. 65, p. 285-298, 1984.

- VITOUSEK, P. M.; FIELD, C. B. Ecosystem constraints to symbiotic nitrogen fixers: a simple model and its implications. **Biogeochemistry**, v.46, p.179–202, 1999.
- VITOUSEK, P. M.; HOWARTH, R. W. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? **Biogeochemistry**, v. 13, n. 2. p. 87–115, 1991.
- VITOUSEK, P.M.; FARRINGTON, H. Nutrient limitation and soil development: Experimental test of biogeochemical theory. **Biogeochemistry**, v.37, p.63–75, 1997.
- WALKER T. W; SYERS J.K. The fate of phosphorus during pedogenesis. **Geoderma**, v.15. p. 1–19, 1976.
- WAN, S.; HUI, D.; LUO, Y. Fire effects on nitrogen pools and dynamics in terrestrial ecosystems: A meta-analysis. **Ecological Applications**, v. 11, n. 5, p. 1349-1365, 2001.
- WURZBURGER, N.; HEDIN, L. O. Taxonomic identity determines N₂ fixation by canopy trees across lowland tropical forests. **Ecology Letters**, v. 19, n. 1, p. 62–70, 2016.
- YANG, X.; RICHARDSON, T.K.; JAIN, A. Contributions of secondary forest and nitrogen dynamics to terrestrial carbon uptake. **Biogeosciences**, v.7, p. 3041-3050, 2010.
- ZARIN, D. J.; DAVIDSON, E. A.; BRONDIZIO, E.; VIEIRA, I. C. G.; SÁ, T.; FELDPAUSCH, T.; SCHUUR, E. A. G.; MESQUITA, R.; MORAN, E.; DELAMONICA, P.; DUCEY, M. J.; HURTT, G. C.; SALIMON, C.; DENICH, M. Legacy of fire slows carbon accumulation in Amazonian forest regrowth. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 3, n. 7, p. 365-369, 2005.
- ZUUR, A. F. et al. **Mixed effects models and extensions in ecology with R**. New York, NY, USA: Springer, 2009.