

RAFAELO BALBINOT

**CARBONO, NITROGÊNIO E RAZÕES ISOTÓPICAS $\delta^{13}\text{C}$ E $\delta^{15}\text{N}$ NO
SOLO E VEGETAÇÃO DE ESTÁGIOS SUCESSIONAIS DE
FLORESTA OMBRÓFILA DENSA SUBMONTANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Florestal na área de concentração de Conservação da Natureza.

Orientador:

Prof. Dr. Renato Marques

Co-orientadora:

Profa. Dra. Marisa de Cássia Piccolo

**CURITIBA
2009**

parecer

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, professor Renato Marques, pela orientação, grande confiança depositada e aprendizado durante os anos de convivência, e também pela oportunidade de realização deste trabalho junto ao projeto SOLOBIOMA.

À professora Marisa de Cássia Piccolo pela valiosa co-orientação desde o início dos trabalhos.

Ao professor Carlos Bruno Reissmann pelo aprendizado e sincera atenção sempre que requerido.

Aos amigos Kauana Dieckow, Kelly Geronazzo, Wanessa Bujokas, Daniel Corrêa, Ligia de Souza, Aline Rocha e Gustavo Pacheco pela acolhida à “sala do Renato” e pela valiosa ajuda no dia a dia de trabalho.

Ao pessoal da SPVS, pela ajuda nos levantamentos de campo, em especial ao João Maria que me acompanhou em quase todos os dias nas andanças pela reserva.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal pela oportunidade de realização deste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Joana pelo inestimável apoio e incentivo para concluir esta tese, e pela paciência e compreensão nos momentos mais atribulados.

Aos meus pais, Anestor Balbinot e Marlei Pavan Balbinot, por serem a estrutura de onde parto para alcançar meus objetivos.

Quando se caminha com outras pessoas,
Sempre há alguém com quem se pode aprender bastante.

Descubra seus méritos e suas limitações.
Aprenda com seus méritos e estude suas limitações,
para assim superar as suas próprias.

Confúcio

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVO GERAL	15
1.1.1 Objetivos Específicos	15
1.2 HIPÓTESES	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 FLORESTA ATLÂNTICA.....	17
2.2 FLORESTA OMBRÓFILA Densa SUBMONTANA	19
2.3 SUCESSÃO VEGETAL SECUNDÁRIA.....	20
2.4 SUCESSÃO VEGETAL E CICLAGEM DE N E C	21
2.5 ISÓTOPOS ESTÁVEIS	23
2.5.1 Medição de isótopos estáveis.....	24
2.5.2 Carbono	25
2.5.3 Nitrogênio	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	28
3.1.1 Localização e Caracterização	28
3.1.2 Clima	29
3.1.3 Solos	30
3.2 VEGETAÇÃO.....	31
3.2.1 Estádio herbáceo arbustivo	32
3.2.2 Estádio inicial arbóreo.....	33
3.2.3 Estádio florestal médio.....	33
3.2.4 Estádio florestal avançado	34
3.3 LOCALIZAÇÃO E DEFINIÇÃO DAS CRONOSEQUÊNCIAS.....	35

3.5 SELEÇÃO E COLETA DA AMOSTRAS	42
3.5.1 Seleção das espécies vegetais e coleta das folhas	42
3.5.2 Coleta de solo e serapilheira.....	43
3.5.3 Análises físicas e químicas.....	45
3.5.4 Correção da massa do solo	45
3.5.5 Análises estatísticas	46
3.6 REFERÊNCIAS	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
ARTIGO A: CARBON ISOTOPIC COMPOSITION AND CONVERSION IN THE SOIL OF A PASTURE-FOREST CHRONOSEQUENCE IN THE SOUTHERN BRAZILIAN ATLANTIC FOREST	52
A.1 Introduction.....	52
A.2 Material and Methods	53
<i>A.2.1 Study area.....</i>	53
<i>A.2.2 Chronosequences characteristics and definitions</i>	55
<i>A.2.3 Soil and litter collection, preparation and analyses.....</i>	55
<i>A.2.4 Total carbon (TC) and nitrogen (TN).....</i>	56
<i>A.2.5 Correction for soil compaction.....</i>	57
A.3 Results and Discussion	58
<i>A.3.1 Carbon and nitrogen contents, stock and C/N in the soil.....</i>	58
<i>A.3.2 Isotopic discrimination and organic matter source.....</i>	59
A.5 Conclusions	64
A.6 References	65
ARTIGO B: ABUNDÂNCIA NATURAL DE ¹³ C EM FOLHAS DE ESPÉCIES ARBÓREAS E HERBÁCEAS NA MATA ATLÂNTICA DO SUL DO BRASIL	69
B.1 Introdução	69
B.2 Material e Métodos	70
<i>B.2.1 Área de estudo.....</i>	70
<i>B.2.2 Definição e características da cronoseqüência</i>	70
<i>B.2.3 Seleção das espécies vegetais e coleta das folhas</i>	70
<i>B.2.4 Análises de isótopos estáveis ¹³C.....</i>	70
<i>B.2.5 Análises estatísticas.....</i>	71

B.3 Resultados e Discussão	71
<i>B.3.1 Variação entre espécies.....</i>	71
<i>B.3.2 Variação na cronoseqüência.....</i>	75
B.4 Conclusão	76
B.5 Referências	76
ARTIGO C: ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N NO SOLO DE UMA CRONOSQUÊNCIA FLORESTA-PASTAGEM EM FLORESTA ATLÂNTICA NO SUL DO BRASIL.....	79
C.1 Introdução	79
C.2 Material e Métodos	80
<i>C.2.1 Área de estudo.....</i>	80
<i>C.2.2 Definições e características da cronoseqüência</i>	80
<i>C.2.3 Seleção das espécies vegetais e coleta das folhas.....</i>	81
<i>C.2.4 Coleta de solo e serapilheira.....</i>	81
<i>C.2.5 Correção da massa do solo</i>	81
<i>C.2.6 Análises físicas e químicas</i>	81
<i>C.2.7 Análises de $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$.....</i>	81
C.3 Resultados	81
<i>C.3.1 Solo.....</i>	81
<i>C.3.2 Serapilheira.....</i>	85
<i>C.3.3 Folhas</i>	87
C.4 Discussão.....	94
<i>C.4.1 Variações na concentração de N e valores de $\delta^{15}\text{N}$ no solo da cronoseqüência</i>	94
<i>C.4.2 Abundância natural de ^{15}N na Floresta Ombrófila Densa Submontana</i>	96
<i>C.4.3 Abundância natural de ^{15}N na vegetação e o papel da FBN.....</i>	97
C.5 Conclusões	99
C.6 Referências	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Coordenadas geográficas e altitude (em metros em relação ao nível médio do mar) das parcelas em cada estágio das cronosequências na Reserva Natural do Rio Cachoeira, Antonina, PR.....	37
Tabela A.1	Average carbon and nitrogen content (%), stock (kg m^{-2}) and C/N relation in different soil depths of the chronosequence pasture-forest; standard deviations are on the right side of the values.....	59
Tabela A.2	C_4 -derived C and C_3 -derived C contributions to total soil C stocks for each depth, and for the 100 cm of successional stages in tons per hectare. C_4 and C_3 derived C were calculated from soil C concentration, soil $\delta^{13}\text{C}$ and bulk density of each depth.	63
Tabela B.1	Média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, teor de C (%) e relação C/N para as diferentes espécies estudadas; distribuição e número de indivíduos amostrados em cada fase da cronosequência. Valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão.....	72
Tabela C.1	Características físicas e químicas dos solos de acordo com as fases sucessionais e profundidades, para cambissolo em Floresta Ombrófila Densa Submontana no sul do Brasil (\pm desvio padrão).....	82
Tabela C.2	Valores médios de e desvio padrão de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas folhas para as famílias botânicas e espécies coletadas na RNRC de acordo com cada fase sucessional considerada. Ausência do valor do DP significa que só um exemplar foi coletado.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Remanescentes florestais e ecossistemas associados (mangue e restingas) da Mata Atlântica no estado do Paraná no ano de 2008 (SOS Mata Atlântica; Inpe, 2009).....	18
Figura 3.1	Estado do Paraná, Município de Antonina e Reserva Natural do Rio Cachoeira.....	28
Figura 3.2	Cronoseqüência CA-1 com os pontos de coleta em cada fase sucessional considerada na RNRC, Antonina-PR. (Fonte: SPVS, Labsig, 2008).....	35
Figura 3.3	Cronoseqüência CA-2 e CA-3 com os pontos de coleta em cada fase sucessional considerada, na RNRC, Antonina-PR. (Fonte: SPVS, Labsig, 2008).....	36
Figura 3.4	Áreas de pastagem em uso (P) no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR....	38
Figura 3.5	Áreas de regeneração herbáceo-arbustiva (H) no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR.....	39
Figura 3.6	Áreas de regeneração inicial arbórea (A) no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR.....	40
Figura 3.7	Áreas de regeneração estágio médio de regeneração (M) no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR.....	41

Figura 3.8	Áreas de floresta primária pouco alterada (F) no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR.....	41
Figura 3.9	Coletas de solo na Reserva Natural do Rio Cachoeira, no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR.....	43
Figura 3.10	Coleta de serapilheira em áreas com e sem presença de gramíneas no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR.....	44
Figura A.1	$\delta^{13}\text{C}$ at different depths in the soil under the chronosequence plots.....	60
Figura A.2	$\delta^{13}\text{C}$ values in soil organic matter in each stage.....	61
Figura A.3	Carbon resultant (ton C ha ⁻¹) from the C ₄ and C ₃ plants according de sucessional stages, until 100 cm of depth.....	64
Figura B.1	Média e desvio padrão nos valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e do teor de carbono do <i>Panicum maximum</i> na pastagem em uso (P) e na pastagem abandonada (H).....	74
Figura B.2	Média e desvio padrão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, teor de C(%) e relação C:N de acordo com as fases da cronosequência.....	75
Figura C.1	Variação nos valores de ¹⁵ N(‰), teores de N(%) e relação C:N no solo até 100 cm de profundidade (A, C e D) variação dos valores de ¹⁵ N(‰) até 20 cm de profundidade, nas diferentes fases sucessionais (B).....	83

Figura C.2	Variação nos valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$, teores de N(%) e relação C:N nas diferentes profundidades até 100 cm (Tukey, HSD, $p>0,05$).....	84
Figura C.3	Valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$, teores de N(%) e relação C:N na serapilheira das fases sucessionais H, A, M e F.....	86
Figura C.4	Correlação na serapilheira, entre a relação C:N e $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ (A), e entre a concentração de N(%) e $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	87
Figura C.5	Valores médios e erro padrão de $\delta^{15}\text{N}$ nas folhas de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa Submontana e gramíneas exóticas. Números entre parênteses indicam o número de observações, os nomes científicos sublinhados indicam espécies leguminosas.....	89
Figura C.6	Valores médios de $\delta^{15}\text{N}$, concentração de N(%) e relação C:N foliar de todas as espécies amostradas em cada fase sucessional (Tukey, HSD, $p>0,05$).....	90
Figura C.7	Valores médios e erro padrão de $\delta^{15}\text{N}$ foliar três espécies pioneiras (<i>T. pulchra</i> , <i>M. coriaceae</i> e <i>S. multijuga</i>) e uma espécie secundária inicial (<i>C. sylvestris</i>), e de três espécies secundárias tardias não leguminosas (<i>S. guianensis</i> , <i>E. edulis</i> e <i>H. alchorneoides</i>) que ocorreram em mais de uma fase	91
Figura C.8	Valores médios de $\delta^{15}\text{N}$, N(%) e relação C:N para espécies leguminosas e não leguminosas da área de estudo. As barras verticais representam o desvio padrão e os retângulos os erro padrão.....	92

Figura C.9	Correlações dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ com N(%) e relação C:N nas folhas das espécies amostradas.....	93
------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

RESUMO

Este trabalho faz parte do Projeto SOLOBIOMA com estudos focados na ciclagem biogeoquímica dos nutrientes e na diversidade e função da biota do solo em diversos ambientes representativos do mosaico vegetacional que é a Mata Atlântica no Paraná. Conhecer a dinâmica do carbono e do nitrogênio nestes ambientes tem sido um dos objetivos destes estudos. Para desvendar as complexas interações entre uso da terra, diversidade biológica, biogeoquímica e estrutura funcional dos ecossistemas faz-se necessário o emprego de técnicas analíticas apropriadas. Novas e inovadoras abordagens estão sendo aplicadas para ajudar a entender esta complexidade. Entre as metodologias analíticas, a Espectrometria de Massa da Razão Isotópica (EMRI) é uma ferramenta poderosa. Pequenas variações na abundância natural de isótopos de carbono (^{13}C) e nitrogênio (^{15}N) nos ecossistemas podem ser precisamente medidas e relacionadas com mudanças na vegetação. O objetivo deste trabalho foi determinar a abundância natural de ^{13}C e ^{15}N na vegetação, solo e serapilheira em uma cronoseqüência pastagem-floresta no ecossistema da Floresta Ombrófila Densa Submontana, no litoral do estado do Paraná. A cronoseqüência consistiu em três repetições das seguintes fases sucessionais: pastagem em uso (P), floresta nos estádios de regeneração herbáceo-arbustivo (H), inicial arbóreo (A), estágio médio (M) e floresta em estágio avançado (F), perfazendo 15 parcelas de estudo. Foram escolhidas as cinco espécies com maior IVIa em cada estágio sucessional e as espécies leguminosas que ocorressem, sob Cambissolo. A coleta do material vegetal (folhas) foi realizada durante o mês de janeiro de 2008 e as amostras de solo e serapilheira nos meses de junho e julho de 2007. Em cada parcela foram coletadas três amostras compostas de solo nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 e 40-100 cm; e 15 amostras aleatórias de serapilheira fina, utilizando um coletor com 25 x 25 cm. Na fase sucessional P, a produção de material vegetal de plantas C_4 causou uma variação no sinal isotópico que permitiu evidenciar a contribuição destas plantas para a matéria orgânica do solo. Porém, alguns anos após o abandono da pastagem, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ voltaram a ficar mais próximos daqueles produzidos pela vegetação florestal. As fases H, A e M mostraram valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente inferiores às fases P e F, principalmente na camada superficial do solo, indicando que a entrada de N atmosférico ocorreu para suprir a demanda de N no sistema. A determinação do $\delta^{15}\text{N}$ se mostrou importante ferramenta na discriminação das fontes de N usadas pelas plantas e quando feita em amostras de serapilheira e solo possibilita a avaliação da eficiência da ciclagem nas diferentes fases da sucessão. A principal fonte de N para as plantas é o N da matéria orgânica do solo, mas o aumento da demanda de N pelo incremento na biomassa (fase A) parece resultar na utilização de outra fonte suplementar (N atmosférico), para que seja possível manter o desenvolvimento da sucessão vegetal. A FBN desenvolve um papel importante no suprimento de N durante o processo de sucessão vegetal secundária após o abandono das áreas utilizadas como pastagem não sendo mais significativa num estágio primário de desenvolvimento da Floresta Ombrófila Densa Submontana.

Palavras-chave: Floresta Atlântica, isótopos de C e N, abundância natural, serapilheira.

ABSTRACT

This work is part of the SOLOBIOMA project, focused on the biogeochemistry cycle of nutrients and diversity and function of the soil biota in a chronosequence of sites, from pasture to old growth forest, in the Southern Atlantic Forest of Brazil. The understanding of the carbon and nitrogen dynamics is one of the project's aims. To know the complex interactions between land use, biological diversity, biogeochemistry and functional structure of ecosystems we need to employ adequate analytical techniques. The use of the Isotopic Ratio Mass Spectrometry (IRMS) is one of the powerful techniques employed to help the understanding of these interactions. Small variations of the C and N isotopic natural abundance in the ecosystems can be measured with great precision, being these variations related to changes in the vegetation community. The aim of this work was to measure the natural abundance of ^{13}C and ^{15}N in the vegetation, soil and litter in a pasture-forest chronosequence in a Southern Brazilian Atlantic Forest. The chronosequence consisted in three repetitions of the following vegetation communities: Pasture (P), Herbaceous Forest (H), Initial Arboreal Forest (A), Medium Forest (M) and Old Growth Forest (F), amounting to 15 study areas. The species selection in each stage of the chronosequence was made according to the Importance Value Adjusted Index (IV_{Ia}), being chosen the five species with the greatest IV_{Ia} in each successional stage and the leguminous species occurring in the plot. The collection of the vegetal material (leaves) was carried out during January of 2008. Soil and litter samples were collected in June and July of 2007. In each plot were collected 15 composite soil samples at 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 and 40-100 cm of depth, and 15 random litter samples using a square collector with 25 x 25 cm. In the P plots the presence of C_4 plants changed the isotopic C constitution allowing to identify the contribution of these plants to the soil organic matter. But some years after the abandon of the pasture the $\delta^{13}\text{C}$ values became again closest to that of the forest vegetation. The stages H, A and M showed lower values of $\delta^{15}\text{N}$ when compared to stages P and F in the superficial layer of the soil, indicating that N supply from atmosphere was occurring as a demand of the system. The $\delta^{15}\text{N}$ determination in the leaves showed to be a useful tool to discriminate the N sources to plants, and to evaluate the N cycling in the ecosystem when measured on soil and litter samples. The main N source to plants is the soil organic matter but competition between plants and the rising of the N demand direct then to use a supplementary source (N from atmosphere) to maintain the development of the forest succession. The biological N fixation plays an important role, after the pasture abandon, but it stays only until the reaching of the forest climax when this is not more relevant.

Key-words: Atlantic Rainforest, C and N isotopes, natural abundance, litter.

1 INTRODUÇÃO

Na Mata Atlântica do Estado do Paraná, a vegetação que originalmente recobria a área inclui, entre outras formações vegetacionais, a Floresta Ombrófila Densa Submontana (IBGE, 1992). Em 2009, boa parte desta vegetação encontra-se alterada. Em alguns locais foi totalmente substituída por outros usos do solo (principalmente pastagens para criação de gado bovino e bubalino) e em outros locais apenas descaracterizada pela extração de madeira ou de outras plantas de interesse econômico. Algumas áreas, após exploração antrópica, foram abandonadas e entraram em processo de sucessão secundária. Assim, atualmente, a Mata Atlântica paranaense é caracterizada por um mosaico vegetacional composto pelos mais diversos estádios de regeneração após o uso antrópico e por manchas de floresta pouco alterada.

Em 2002, com a criação do Projeto SOLOBIOMA (www.solobioma.ufpr.br), foram iniciados vários estudos focados na ciclagem biogeoquímica dos nutrientes e na diversidade e função da biota do solo em diversos ambientes representativos deste mosaico vegetacional. Conhecer a dinâmica do carbono (C) e do nitrogênio (N) nestes ambientes tem sido um dos objetivos destes estudos. Porém, para desvendar as complexas interações entre uso da terra, diversidade biológica, biogeoquímica e estrutura funcional dos ecossistemas faz-se necessário o emprego de técnicas analíticas apropriadas.

Novas e inovadoras abordagens estão sendo aplicadas para ajudar a entender esta complexidade. Entre as metodologias analíticas, a Espectrometria de Massa da Razão Isotópica (EMRI) é uma ferramenta poderosa. Pequenas variações na abundância natural de isótopos de carbono (^{13}C) e nitrogênio (^{15}N) nos ecossistemas podem ser medidas com grande precisão, sendo estas variações relacionadas com mudanças na vegetação (SMITH; EPSTEIN, 1971). Assim, estas variações podem ser usadas para identificar os efeitos antrópicos sobre a estrutura dos ecossistemas (p.ex. mudança de vegetação). As análises isotópicas são consideradas, atualmente, como uma importante ferramenta para fisiologistas, ecólogos e outros pesquisadores que estudam os ciclos dos elementos e matéria no ambiente. Além disso, a abundância natural isotópica pode ser usada: para traçar

padrões e verificar mecanismos fisiológicos em organismos; traçar fluxos energéticos em cadeias alimentares e ainda no estabelecimento das vias de ciclagem de nutrientes em ecossistemas terrestres e aquáticos (LAJTHA; MARSHALL, 1994).

1.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivos: (i) estimar a abundância natural de ^{13}C e ^{15}N na vegetação, solo e serapilheira em uma cronoseqüência pastagem-floresta no ecossistema da Floresta Ombrófila Densa Submontana, no litoral do Paraná, Brasil e (ii) identificar a existência de correlações entre os valores isotópicos de C e N e as mudanças na comunidade vegetal e com a dinâmica destes elementos no ecossistema.

1.1.1 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- (a) Determinar a relação isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ no solo, em diferentes profundidades, ao longo das diferentes fases da cronoseqüência floresta-pastagem;
- (b) Determinar a relação isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ na serapilheira acumulada, ao longo da cronoseqüência floresta-pastagem;
- (c) Determinar a relação isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ nas principais espécies vegetais ocorrentes em cada uma das fases da cronoseqüência floresta-pastagem;
- (d) Determinar a origem do estoque de carbono orgânico no solo nas fases da cronoseqüência floresta-pastagem;
- (f) identificar a predominância entre as fontes (solo ou atmosfera) de N para as plantas.

1.2 HIPÓTESES

- (1) A relação isotópica $\delta^{13}\text{C}$ serve de referência para identificar a origem (plantas C_3 ou C_4) do carbono orgânico no solo;
- (2) A maior parte do carbono orgânico presente no solo da área com pastagem é proveniente da vegetação florestal;

- (3) Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ no solo são crescentes na sequência: pastagem, regeneração herbácea, floresta inicial, floresta média e floresta avançada, e os valores de $\delta^{15}\text{N}$ encontrados nas plantas leguminosas e não-leguminosas refletem a fonte principal de obtenção de nitrogênio (solo x atmosfera);
- (4) uma mesma espécie em diferentes fases da cronosequência apresentará variações nos valores de $\delta^{15}\text{N}$.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FLORESTA ATLÂNTICA

A Mata Atlântica é um complexo e exuberante conjunto de ecossistemas de grande importância por abrigar uma parcela significativa da diversidade biológica do Brasil, reconhecida nacional e internacionalmente no meio científico. Lamentavelmente, é também um dos biomas mais ameaçados do mundo devido às constantes agressões ou ameaças de destruição dos habitats nas suas variadas tipologias e ecossistemas associados (SOS Mata Atlântica; INPE, 2009)

A Mata Atlântica está distribuída ao longo da costa atlântica do país, atingindo áreas da Argentina e do Paraguai nas regiões sudeste e sul. De acordo com o Mapa da Área de Aplicação da Lei nº 11.428, de 2006, segundo Decreto nº 6.660, de 21 de novembro de 2008, publicado no Diário Oficial da União de 24 de novembro de 2008, a Mata Atlântica abrangia originalmente 1.315.460 km² no território brasileiro (Figura 2.1). Seus limites originais contemplavam áreas em 17 Estados, (PI, CE, RN, PE, PB, SE, AL, BA, ES, MG, GO, RJ, MS, SP, PR, SC e RS), o que correspondia a aproximadamente 15% do Brasil (IBGE, 2008). Nessa extensa área, vive atualmente cerca de 61% da população brasileira, ou seja, com base no Censo Populacional 2007 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), são mais de 112 milhões de habitantes em 3.222 municípios, que correspondem a 58% dos existentes no Brasil. Destes, 2.594 municípios possuem a totalidade dos seus territórios no bioma e mais 628 municípios estão parcialmente inclusos, conforme dados extraídos da malha municipal do IBGE (2005).

De acordo com recentes estudos, as áreas de Mata Atlântica remanescentes somam hoje apenas 102.012 km² (Figura 2.1), ou seja, 7,9% da cobertura original. Os desflorestamentos no período 2005-2008 totalizaram 102.938 hectares, mantendo a média anual de 34.121 hectares de desflorestamento por ano, bem próximo da média anual identificada no período de 2000-2005, que foi de 34.965 hectares por ano (SOS Mata Atlântica; INPE, 2009), demonstrando estar ainda sob intensa pressão antrópica.

O estado do Paraná possuía, originalmente, 98% de seu território coberto pela Floresta Atlântica, ou seja, 19.667.485 há. No ano de 2008 esta cobertura estava reduzida para 2.071.685 ha, representando 10,5% da cobertura original. O desflorestamento no Estado no período 2005-2008 foi de 9.978 ha (0,51%) (SOS Mata Atlântica; INPE, 2009). Como pode ser visto na Figura 2.1, estes remanescentes estão distribuídos de forma extremamente fragmentada por todo Estado, tendo como grande áreas contínuas apenas o Parque Estadual do Iguaçu e a região litorânea do estado.

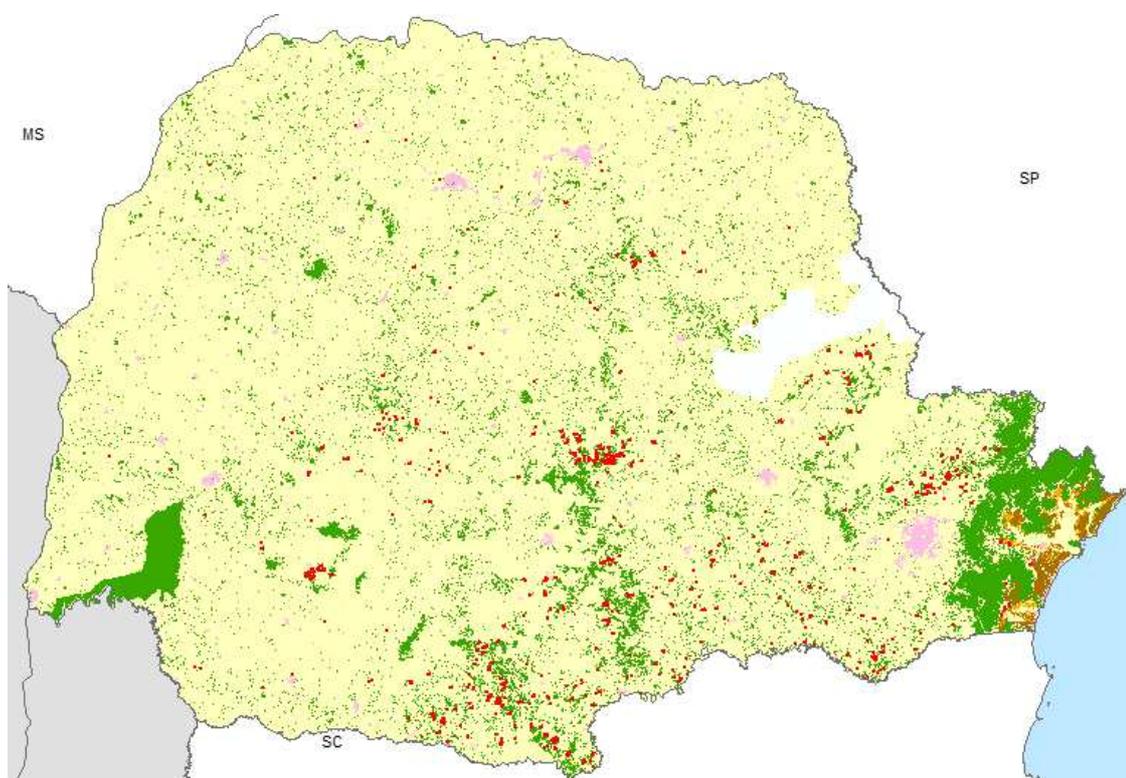


Figura 2.1: Remanescentes florestais e ecossistemas associados (mangue e restingas) da Mata Atlântica no estado do Paraná no ano de 2008 (SOS Mata Atlântica; Inpe, 2009)

O termo Floresta Atlântica pode ter duas conotações: 1) Floresta Atlântica *sensu stricto*, que é a Floresta Ombrófila Densa (IBGE, 1992), também conhecida por Floresta Pluvial Subtropical da Encosta Atlântica (MAACK, 1981) e 2) Floresta Atlântica *sensu lato*, que inclui as fitofisionomias florestais do interior que compreendem, segundo o Decreto Presidencial nº 750/1993, a Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional

Semidecidual, Floresta Estacional Decidual, além de manguezais, restingas, campos de altitude, brejos interioranos e encaves florestais do Nordeste.

2.2 FLORESTA OMBRÓFILA DENSA SUBMONTANA

Conforme Roderjan et al. (1997), a vegetação da FODS não está sujeita a limitações pelo excesso ou pela falta de água no solo, possui uma cobertura florestal multiestratificada, o dossel podendo atingir uma altura entre 30 e 35 m, sendo composto originalmente pela *Ocotea catharinensis* (canela-preta), *Sloanea guianensis* (laranjeira-do-mato), *Alchornea triplinervia* (tapiá), *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Nectandra rigida* (canela-garuva), *Aspidosperma olivaceum* (peroba-vermelha), *Virola oleifera* (bocuva), dentre muitas outras. Nos estratos inferiores evidenciam-se a *Bathysa meridionalis* (macaqueiro), *Euterpe edulis* (palmito), *Mollinedia* spp (pimenteira), *Psychotria suterella* (grandiúva-d'anta, café-d'anta), *Geonoma gamiova* (palha) e *Clusia criuva* (mangue-do-mato).

No levantamento da Vegetação da Área de Proteção Ambiental de Guaratuba (APA de Guaratuba), Roderjan et al. (1997) encontraram 138 espécies arbóreas, distribuídas em 34 famílias botânicas, sendo as mais representativas a Myrtaceae (26 espécies), Rubiaceae (16 espécies), Lauraceae (9 espécies), Euphorbiaceae (8 espécies) e Moraceae (7 espécies).

Athayde (1997), ao realizar levantamento da composição florística e estrutura fitossociológica em quatro estádios sucessionais de uma Floresta Ombrófila Densa Submontana (FODS), em Guaraqueçaba (PR), salienta a existência de um total de 304 espécies distribuídas em 91 famílias e 195 gêneros, sendo 185 de hábito arbóreo, 50 arbustivas e 43 herbáceas. Como famílias mais representativas o autor encontrou Myrtaceae (33), Asteraceae (30), Melastomataceae (19), Rubiaceae (18), Lauraceae (11) e Euphorbiaceae (9). A mesma autora, salienta que no local estudado o estágio arbóreo inicial, com cerca de 15 a 20 anos de desenvolvimento, apresenta indícios de transição para a fase seguinte, com a ocorrência de várias espécies em comum a fase arbórea avançada, foram registrados 78 espécies, distribuídas em 61 gêneros e 40 famílias. No estrato superior ocorre o predomínio de *Tibouchina pulchra*, ocorrendo também com posição de destaque no estrato

intermediário, sendo esta a espécie de maior importância geral nesta fase. Destacam-se também no estrato superior a *Vernonia puberula*, *Symplocos laxiflora*, *Hyeronima alchomeoides*, *Cecropia pachystachya*, *Senna multijuga* e *Rapanea ferruginea*. Há uma mistura de espécies nos estratos superior e inferior, denotando caráter temporário deste estrato. Já no inferior ocorre a maior densidade e número de indivíduos, destacando-se a *Cupania oblongifolia*, *Peschiera catharinensis*, *Aegiphilla selowiana*, *Miconia dosecandra* e *Cecropia pachystachya*. A família mais representativa foi a Melastomataceae, e com menor densidade a Myrtaceae, porém destacou-se em número de espécies.

Encontrando-se bem desenvolvida estrutura e floristicamente a fase arbórea avançada possui indivíduos de grande porte, apesar do extrativismo do *Euterpe edulis*. Foram identificadas 137 espécies, pertencentes a 102 gêneros e 49 famílias. O dossel caracteriza-se por uma baixa densidade de indivíduos ocorrendo com baixas freqüências, sendo as espécies mais representativas deste estrato a *Ocotea odorifera*, *Sloanea guianensis*, *Brosimum lactecens* e *Vernonia puberula*. No estrato intermediário merecem destaque *Calyptanthes grandifolia* var. *grandifolia*, *Rheedea gardneriana*, *Guapira opposita*, *Calyptanthes lucida* e *Peschiera catharinensis*, entre outras.

2.3 SUCESSÃO VEGETAL SECUNDÁRIA

De acordo com o Manual Técnico da Vegetação Brasileira (IBGE, 1992) a vegetação secundária é a que se estabelece após o abandono de áreas perturbadas, seja pela supressão total da vegetação ou pela extração de grande parte das espécies encontradas em uma comunidade. A composição depende da interação de variados fatores como tipo, intensidade e duração da perturbação, disponibilidade de matriz de recolonização e tamanho da área que sofreu a perturbação. Normalmente, os estádios iniciais da sucessão secundária são compostos por espécies herbáceas pioneiras, pertencentes principalmente às famílias Poaceae, Asteraceae e Melastomataceae. Com o decorrer do processo, espécies arbustivas e algumas arbóreas pioneiras iniciam seu estabelecimento, aumentando consideravelmente o sombreamento e o teor de matéria orgânica do

solo (MOS), propiciando assim a seqüência de estabelecimento de espécies cada vez mais exigentes, características de estádios mais desenvolvidos das florestas.

Segundo Brown; Lugo (1990), floresta secundária é aquela que se forma como conseqüência da intervenção humana sobre áreas florestais, estando excluída desta definição a floresta resultante de distúrbios naturais, como deslizamentos, incêndios naturais e furacão. Finegan (1996) define floresta secundária como sendo o processo de desenvolvimento de vegetação lenhosa em terras abandonadas depois que sua vegetação original foi destruída por atividades humanas.

Na legislação brasileira, a vegetação secundária encontra-se definida em diversas resoluções advindas do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). A Resolução nº 26, de dezembro de 1994, no seu Artigo 2º, resolve que “Vegetação secundária ou em regeneração é aquela resultante dos processos naturais de sucessão, após supressão total ou parcial de vegetação primária por ações antrópicas ou causas naturais, podendo ocorrer árvores remanescentes da vegetação primária” (CONAMA,1994).

Assim, em muitos países da América Tropical, as florestas secundárias têm cada vez maior importância como provedoras dos produtos e serviços tradicionalmente prestados pelas florestas primárias (FINEGAN, 1996). Junto com a conservação das florestas primárias e outros usos da terra, os agricultores e os pecuaristas têm permitido que importantes e crescentes áreas revertam-se até florestas secundárias (SMITH et al., 1997).

2.4 SUCESSÃO VEGETAL E CICLAGEM DE N e C

A sucessão vegetal é um processo dinâmico que implica, especialmente, em unidades fitoecológicas florestais, em mudanças fisionômicas, estruturais e florísticas acentuadas quando da passagem de uma fase inicial, mais simples, para uma fase mais avançada, de maior complexidade e estabilidade (GALVÃO et al., 1999). Este processo de substituição demanda alterações na quantidade de biomassa estocada em cada fase, promovendo a melhora das características físico-químicas do solo por meio da adição de matéria orgânica (WISNIEWSKI, 1997; GALVÃO, 1999).

Em áreas onde a vegetação original foi retirada a sucessão obedece ao ritmo de recuperação do solo degradado, processo este que sofre influência da própria vegetação via adição de matéria orgânica e regulação do regime hídrico e térmico no decorrer do processo (WISNIEWSKI, 1997). Estudos desenvolvidos por Boeger (2000) em sucessão da Floresta Atlântica, mostraram uma tendência de aumento dos valores de N, P e K na serapilheira na medida em que a sucessão ecológica avançava. Delitti (1993) comenta que durante o estágio inicial a ciclagem de nutrientes da serapilheira não é muito desenvolvida, sendo que os nutrientes são retirados, em sua maior parte, do solo.

As florestas tropicais geralmente são mais ricas em N que as florestas temperadas devido a uma maior ciclagem do elemento (MARTINELLI et al., 1999). A intensa radiação solar e a grande quantidade de chuva nas regiões de clima tropical faz com que as taxas de decomposição da matéria orgânica do solo sejam elevadas, acarretando em uma acelerada ciclagem dos nutrientes e uma intensa atividade microbiana (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002) que, atrelada a alta disponibilidade N nas folhas e nos solos bem como a quantidade de serapilheira produzida e sua concentração de N, faz com que as florestas tropicais apresentem um ciclo mais aberto na ciclagem de N, tornando essas regiões propícias às perdas de N e conseqüentemente grandes produtoras de gases biogênicos como CO₂ e N₂O (DAVIDSON; KINGERLEE, 1997).

A mineralização microbiológica do NH₄⁺-N da matéria orgânica do solo é a principal fonte de N disponível para as plantas em muitos ecossistemas florestais e as taxas de mineralização do N podem regular a produtividade de muitas florestas (NADELHOFFER; ABER; MELILLO, 1983)

Segundo VITOUSEK e REINERS (1975), a incorporação de nutrientes na biomassa aumenta rapidamente no início do processo sucessional até chegar a um máximo, decaindo lentamente até um estágio de equilíbrio entre entradas e saídas. Esses autores também salientaram que a relação entre a biomassa foliar e a biomassa lenhosa diminui durante a sucessão.

No solo, a matéria orgânica também é uma importante fonte de nitrogênio. Devido à atividade biológica, o solo passa a conter, através da matéria orgânica, dois importantes elementos não existentes no material de origem do solo carbono e

nitrogênio. O nitrogênio provém de pequenas adições anuais de nitrogênio inorgânico pela água da chuva e fixação do nitrogênio atmosférico por microorganismos. De acordo com dados de Souza (2006) em áreas de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas no litoral do Paraná, o aporte de NO_3 é de $5,7 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ em florestas secundárias em estágios médio e avançado de regeneração. Dado que parte do carbono do material vegetal original foi transformado em dióxido de carbono e com posterior perda, o húmus fica enriquecido com nitrogênio em relação ao material vegetal original. Os teores de carbono e de nitrogênio totais são reduzidos pelo cultivo do solo quando comparado com a mata nativa. A serapilheira que também é chamada de liteira, representa a principal fonte de carbono para o solo.

2.5 ISÓTOPOS ESTÁVEIS

Os isótopos são átomos de um elemento que têm as mesmas propriedades químicas, porém diferentes massas. A palavra “isótopo” vem do grego, isos (igual) e topos (lugar), a qual se refere a um local comum de um elemento específico na tabela periódica. Um átomo é composto de um núcleo cercado por elétrons, sendo o núcleo composto de prótons (Z) e nêutrons (N) que constituem a massa do átomo. A massa atômica de um elemento atômico, por sua vez, é a soma de $Z + N$ no núcleo. Um núcleo, ou átomo específico-isótopo, é uma “espécie” de um elemento que pode ser estável ou radioativo, definido pelo seu único número de prótons (Z) e nêutrons (N) (DAWSON; BROOKS, 2001).

Enquanto os prótons são positivamente carregados (Z+), os elétrons são negativamente carregados (e-) e os nêutrons não possuem carga (N). Assim, isótopos são átomos de um mesmo elemento que possuem o mesmo Z, mas diferente N. Por exemplo, todos os isótopos de carbono têm seis prótons, mas o isótopo radioativo ^{14}C tem dois nêutrons a mais ($N = 8$) que o seu isótopo estável e mais comum ^{12}C ($N = 6$). Um isótopo é considerado estável quando a razão Z/N é de aproximadamente 1 – 1,5. Os isótopos estáveis de muitos elementos são formados por isótopos abundantes e um ou dois isótopos relativamente menos abundantes (DAWSON; BROOKS, 2001).

Muitos processos naturais causam uma distribuição desigual de isótopos pesados e leves entre os compostos. Esta distribuição pode dar informações sobre a físico-química e processos metabólicos que ocorrem em transformações isotópicas. A transformação isotópica que promove mudanças na abundância natural de isótopos leves e pesados entre a fonte e seus produtos é chamada fracionamento isotópico. Este fracionamento existe devido aos isótopos mais leves formarem ligações químicas que requerem menos energia para serem rompidas. Em reações químicas, os isótopos mais leves geralmente reagem mais rapidamente e tendem a estar mais concentrados nos produtos (DAWSON; BROOKS, 2001). Quando o $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ são transformados, ocorre uma discriminação entre os dois isótopos (leve e pesado), ou seja, um isótopo muda de estado preferencialmente em relação ao outro. Isso faz com que os produtos das reações apresentem mínimas variações na proporção $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ e ou $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ na casa dos milhares (‰) (ALVES et al., 1999). A variação existente na faixa de valores isotópicos em materiais de interesse biológico pode ser utilizada para marcar e traçar elementos que se movem em ciclos biogeoquímicos complexos, tanto em plantas como em dietas de animais (SANTIAGO et al., 2005).

2.5.1 Medição de isótopos estáveis

Para medir os isótopos estáveis são tomadas amostras de material conhecido como ar, solo, água e/ou tecido de plantas ou animais. As amostras são convertidas em gás, via combustão, sendo logo introduzidas num espectrômetro de massas, ionizadas e suas moléculas separadas de acordo com sua massa. Assim, a proporção de massa/carga é medida de acordo com a proporção (R) de isótopos pesados (^{15}N ou ^{13}C) a leves (^{14}N ou ^{12}C) da amostra (DAWSON; BROOKS, 2001). Essas proporções são convertidas em valores de delta (δ), em partes por mil (‰), por meio da fórmula:

$$\delta \text{ ‰} = \frac{[R \text{ amostra} - R \text{ padrão}]}{R \text{ padrão}} \times 10^3$$

O $R_{\text{padrão}}$ se refere à proporção padrão de um material aceito internacionalmente que é específico para cada isótopo analisado. No caso do carbono o padrão é a argila Pee Dee Belemnita (PDB). Este material tem a maior relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dentre as substâncias naturais baseadas em carbono, por conveniência sua relação isotópica é tida como zero. O padrão para o nitrogênio é o ar atmosférico, também considerado com relação isotópica igual a zero.

Cabe destacar que os termos “empobrecido” ou “enriquecido” são usados na literatura para se referir ao isótopo mais pesado, por exemplo, “a amostra estava empobrecida de ^{13}C ...” (SANTIAGO et al., 2005).

2.5.2 Carbono

O carbono entra na biosfera na forma de CO_2 atmosférico que é fixado pelas plantas por meio da fotossíntese. A matéria orgânica produzida durante a fotossíntese tem um valor de $\delta^{13}\text{C}$ que indica a rota metabólica da planta (SMITH; EPSTEIN, 1971). Os principais processos que influenciam no fracionamento isotópico do carbono nas plantas são a difusão de CO_2 e o processo de carboxilação. A diferença no fracionamento isotópico do carbono em plantas C_3 e C_4 é devida principalmente às diferenças no fracionamento isotópico entre as enzimas RuBisCO e a PEP-carboxilase (EHLERINGER; HALL; FARQUHAR, 1993).

As plantas com rota metabólica C_3 apresentam um valor de $\delta^{13}\text{C}$ entre -10 e -35‰, as plantas C_4 tem valores entre -9 e -17‰ (FARQUHAR; O'LEARY; BERRY, 1982). A variação isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ é útil na determinação do tipo de vegetação do local estudado. Isto se deve às características isotópicas bem marcadas das plantas, de acordo com a via fotossintética de C (C_3 , C_4 e CAM) (FARQUHAR, EHLERINGER; HUBICK 1989). Tecidos de plantas dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4 apresentam valores médio de $\delta^{13}\text{C}$ entre -27 e -12‰, respectivamente (SMITH; EPSTEIN, 1971).

As características isotópicas da vegetação seriam transmitidas, ao menos parcialmente, à matéria orgânica do solo, uma vez que esta última resulta diretamente da transformação dos resíduos vegetais. Sob este aspecto, a matéria orgânica de solos cobertos por campo ocupado por gramíneas deveria se diferenciar

nitidamente da de solos sob florestas (NADELHOFFER; FRY, 1988). Medições isotópicas do carbono orgânico do solo estão sendo utilizadas com sucesso para documentar os efeitos das práticas de uso do solo e mudança da vegetação nos ecossistemas naturais (FRANK et al., 1995)

A razão isotópica da matéria orgânica expressa a razão entre o isótopo pesado e o leve de uma amostra em comparação a um padrão. O padrão universal ao qual se comparam todas as amostras a serem analisadas é um fóssil de *Belemnitella americana* da formação Peedee (PDB) da Carolina do Sul, Estados Unidos da América (LAJTHA; MARSHALL, 1994).

2.5.3 Nitrogênio

Existem dois isótopos estáveis de N (^{14}N e ^{15}N), e a média natural de abundância no ar desses isótopos é constante, sendo de 99,63 e 0,3663% respectivamente. O padrão usado para medir a razão entre o isótopo pesado e o leve é o N_2 atmosférico (LAJTHA; MARSHALL, 1994). A análise isotópica envolve o estabelecimento da razão entre ^{15}N e ^{14}N na amostra de interesse, a qual é comparada com a razão observada num padrão, nitrogênio atmosférico (ar). Comparações destas razões indicam se a amostra tem mais ^{15}N (positivo) ou menos (negativo). Estes valores indicam se a amostra é enriquecida (+) ou empobrecida (-) em ^{15}N com relação ao padrão. Os valores isotópicos são apresentados como $\delta^{15}\text{N}$ (delta nitrogênio-15) em unidades por mil (‰) (HOEFS, 2001).

O $\delta^{15}\text{N}$ das plantas assemelha-se ao de sua fonte de nitrogênio por duas razões: (i) as plantas não fracionam o nitrogênio quando absorvem nitrato; (ii) as plantas reutilizam seu nitrogênio com produtos em um grau maior que os animais. Portanto, as vias biossintéticas em plantas, que não fracionam o nitrogênio, dependem de uma variação na composição da fonte de nitrogênio, o que pode revelar plantas com distintas assinaturas isotópicas. Por exemplo, o solo contém mais ^{15}N que a atmosfera; assim, plantas que fixam o nitrogênio atmosférico são empobrecidas quanto a esse elemento, em relação às não-fixadoras para um mesmo local (GANNES; DEL RIO; KOCK, 1998).

A conversão de N em formas orgânicas por fixação biológica de N parece discriminar pouco contra o ^{15}N , assim, a assinatura isotópica das leguminosas, quando estão fixando N_2 atmosférico, tendem a ser próximas de 0‰ (EHLERINGER; RUNDEL, 1989). As espécies que não são fixadoras de N_2 atmosférico mostram grande variação na sua assinatura isotópica que depende da taxa de mineralização de N no solo (GARTEN; VAN MIEGROET, 1994). Dessa forma o $\delta^{15}\text{N}$ da planta pode ser usado para determinar se a fonte de N é predominantemente de origem atmosférica ou do solo (NARDOTO, 2005). Normalmente, o $\delta^{15}\text{N}$ do solo e das árvores que derivam seu N do solo, é altamente enriquecido em muitas florestas tropicais (MARTINELLI et al., 1999), o que tornaria possível identificar com alguma segurança, quais espécies de leguminosas teriam a maioria do seu N derivado da Fixação Biológica (NARDOTO, 2005).

O nitrogênio presente no material orgânico do solo tende a ser mais rico em ^{15}N se comparado aos tecidos aéreos, indicando uma discriminação microbiana durante o processo de decomposição. As diferenças no $\delta^{15}\text{N}$ entre a fonte de N e a planta são normalmente consequência de reações mediadas por enzimas que discriminam contra o isótopo de N mais pesado (^{15}N), como o processo de assimilação de NH_4^+ pela síntese de glutamina ou a assimilação de NO_3^- pela redutase do nitrato (DAWSON et al., 2002).

Apesar do crescente conhecimento sobre a abundância natural do $\delta^{15}\text{N}$, ainda não estão completamente compreendidas as causas determinantes de sua presença em sistemas naturais. Uma das dificuldades é que o fracionamento do $\delta^{15}\text{N}$ não é devido somente à atividade biológica, mas é também em função de processos físico-químicos. Entre os fatores que influenciam os valores de $\delta^{15}\text{N}$ no solo estão: idade do solo, distúrbios, frequência da ocorrência de fogo, umidade do solo e precipitação atmosférica, mineralização/nitrificação líquida e potencial e fontes pontuais de N isotopicamente distinto (STEWART; SCHMIDT, 1999, apud SCHMIDT; STEWARD, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

3.1.1 Localização e Caracterização

Este trabalho foi conduzido na Reserva Natural do Rio Cachoeira (RNRC) localizada às coordenadas 25°19'15"S e 48°42'24"O, 35 km ao norte de Antonina, na região litorânea do estado do Paraná (Figura 3.1). A reserva recobre 86 km² dentro da Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba e comporta planícies litorâneas e encostas da Serra do Mar (FERRETI; BRITZ, 2006). A RNRC faz parte da Zona de Conservação da Vida Silvestre da Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba. O município de Antonina possui uma área total de 88.255 ha, dos quais 70.012 ha (79%) são remanescentes florestais, distribuídos 58.163 ha de florestas, 5.527 ha de mangues e 6.321 ha de restingas (SOS Mata Atlântica; INPE, 2009).

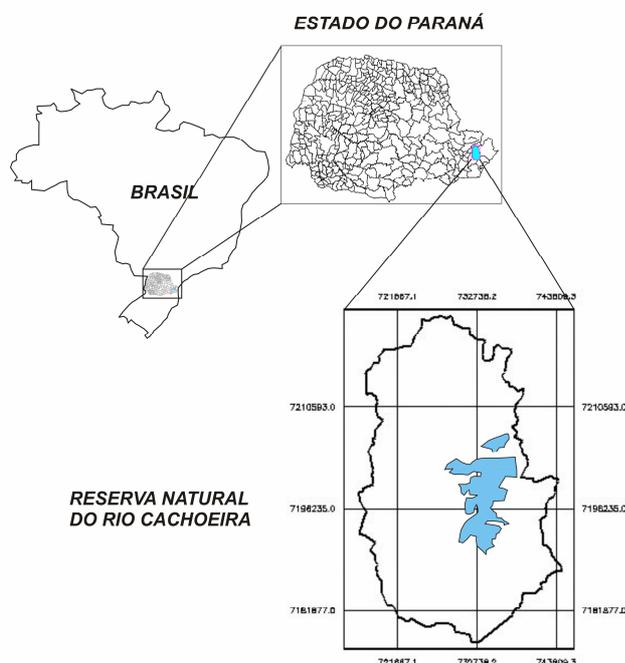


Figura 3.1: Estado do Paraná, Município de Antonina e Reserva Natural do Rio Cachoeira. (Fonte: O autor)

A área da RNRC corresponde a 10,33% do município de Antonina, em uma região onde predominam, como atividades geradoras de renda, a bubalinocultura e a rizicultura para os grandes proprietários e o cultivo de banana e mandioca para os médios e pequenos (SPVS, 2005).

Na RNRC a maior parte da área nas encostas das montanhas sofreu corte seletivo das espécies de alto valor e desflorestamento nas planícies e encostas menos íngremes para a instalação de pastagens e, em pequena escala, cultivos agrícolas. As comunidades vizinhas à Reserva sobrevivem da pesca, cultivo de banana, gengibre e outros vegetais, entre outras atividades. Nas grandes fazendas a principal atividade ainda é a criação de búfalos e gado, para leite e carne (FERRETI; BRITTEZ, 2006).

3.1.2 Clima

Nas porções serranas da RNRC o tipo climático característico, definido por Köppen, é o subtropical úmido mesotérmico (Cfa), no qual o mês mais frio tem a temperatura média inferior a 18° C, porém superior a -3° C, e o mais quente apresenta temperatura média superior a 22° C (IPARDES, 1991). As variações térmicas são amenas, de modo que a média das temperaturas máximas se mantém entre 25 e 26° C e a média das mínimas entre 16 e 17° C (IAPAR, 2008).

A região está sujeita a geadas pouco freqüentes e há precipitações regulares todos os meses do ano, sem apresentar estação seca definida, o que representa um fator determinante nas transformações e decomposição dos materiais vegetais depositados sobre o solo. Devido a expressão do seu relevo com bruscas variações altimétricas, a temperatura média sobre esse ambiente diminui cerca de 0,6° C a cada 100 m de altitude (SPVS, 2005). As precipitações nas encostas atingem valores entre 3300 mm e 3450 mm, mas que já atingiram cifras de até 7400 mm na porção sul da escarpa, abastecendo uma rede fluvial que desempenha um papel fundamental no sistema de drenagem da planície, onde os valores médios situam-se ao redor de 1976 mm (MAACK, 1981). A precipitação média anual varia entre 2500 e 3000 mm (IPARDES, 1991), e o trimestre mais chuvoso corresponde a dezembro-fevereiro e o menos chuvoso junho-agosto (IAPAR, 2008).

3.1.3 Solos

O presente trabalho foi desenvolvido em florestas sobre solo classificado com CAMBISSOLO HÁPLICO (DYSTROCHREPT equivalente aproximado – USA, 1999), que inclui solos com horizonte A proeminente e/ou moderado, sendo a de maior distribuição na Serra do Mar e é encontrada em florestas submontanas e montanas (SPVS, 2002).

Segundo Embrapa (2005), compreendem solos constituídos por material mineral com características que variam muito de um local para o outro, podendo ser desde fortemente até imperfeitamente drenados, de rasos a profundos, de cor bruna ou bruno-amarelada até vermelho escuro, de alta a baixa saturação de bases e de atividade química da fração coloidal. Normalmente, possuem horizonte B incipiente subjacente a qualquer tipo de horizonte superficial.

Cúrcio (dados não publicados) desenvolveu detalhado estudo sobre esta classe de solo e suas características na região litorânea do Paraná, incluindo a área onde este trabalho de tese de doutorado se desenvolveu. Segundo suas descrições, são considerados pouco evoluídos pedogeneticamente e, por este motivo, têm suas características fortemente influenciadas pelo material de origem. Na Serra do Mar é bastante comum identificar-se a presença de micas biotitas, minerais facilmente intemperizáveis, atestando a sua pequena evolução. Em paisagens sobre xistos, a presença torna-se potencializada a ponto de haver a necessidade da adjetivação micácea para a textura. Apresentam textura média ou argilosa, mas raramente muito argilosa, sendo sempre dessaturados por bases, com teores médios a altos em relação ao alumínio trocável. Teores um pouco mais elevados em bases se fazem presentes quando derivados de diabásio (diques), no entanto, não o suficiente para caracterizar como eutróficos (saturação por bases superior a 50%). Sua profundidade de solum (horizontes A + B) é muito variável e depende de uma série de fatores como: rocha de origem, grau de evolução, forma de encosta e declive, além da posição na paisagem. É comum identificar a presença de cascalho, pedregosidade e rochosidade, principalmente em solos com gênese de coluvionamento, fato comum na Serra do Mar. Quando se encontram sob relevos com declividade superior a 65%, com elevada pedregosidade e com pequena

espessura (inferior a 50 cm), apresentam alto potencial ao fluxo de massa, determinando grande fragilidade ambiental. Quando derivados de xisto, a grande quantidade de micas e os elevados teores de silte, potencializam ainda mais a predisposição à erosão. A garantia de sua estabilidade é função principalmente da manutenção da cobertura vegetal.

Segundo Rachwal; Curcio (1994), os Cambissolos são solos minerais pouco desenvolvidos, não hidromórficos, situam-se em ambientes de encostas e sua posição na paisagem, relevo e material de origem determinam o grau de desenvolvimento e a profundidade do Solum. Em relação à profundidade, podem ser subdivididos em: rasos, quando a espessura for inferior a 0,5 m; pouco profundos, quando situam-se entre 0,5 e 1 m e profundos, com espessura superior a 1 m. De acordo com Embrapa (2005), compreendem solos constituídos por material mineral com horizonte B incipiente (Bi) imediatamente abaixo do horizonte A, ou horizonte hístico com espessura inferior a 40 cm.

3.2 VEGETAÇÃO

A RNRC está situada numa região que compreende desde a porção de encosta da Serra do mar, basicamente as diferenças na estrutura e florística entre as formações da vegetação é devido a fatores físicos, como diferentes feições geológicas, pedológicas e relevo que se interagem formando diversos compartimentos geomorfológicos (SPVS, 2005). Neste trabalho optou-se pelo ambiente de encosta que, de acordo com SPVS (2005) é caracterizado por áreas de relevo bastante ondulado, onde encontram-se, principalmente, os Cambissolos e Argissolos. Predominam as formações secundárias em seus diversos estádios sucessionais, porém, em condições bastantes isoladas, normalmente em áreas com maior declive, a vegetação encontra-se mais conservada mantendo as características estruturais, fisionômicas e florísticas da Floresta Ombrófila Densa Submontana (FODS).

A FODS compreende as formações florestais que ocupam a planície litorânea com sedimentos quaternários continentais (depósitos coluviais) e o início das encostas da Serra do Mar, situadas entre aproximadamente 20 e 600 m s.n.m.

(RODERJAN et al. 1997). Assim, a cobertura típica é florestal, multiestratificada, cujo dossel pode atingir até 30-35 m de altura (GUAPYASSÚ, 1994; RODERJAN et al., 1997; ATHAYDE, 1997).

No início do século passado, a transformação avançou para as encostas da Serra do Mar, tendo em vista a extração de um apreciável número de boas madeiras (o que aconteceu até a década de 1980) e a melhor qualidade de seus solos. Atualmente, tanto na planície litorânea, como no início das encostas (até 600 m s.n.m.), as formações florestais existentes são predominantemente secundárias, advindas do processo natural de regeneração (RODERJAN et al., 2002).

Os estádios sucessionais encontrados na área de estudo foram definidos e classificados segundo informações fornecidas pela Organização Não-Governamental gestora RNRC, Sociedade de Preservação da Vida Silvestre (SPVS; TNC, 2000), bem como a partir de expedições de campo, realizadas com este objetivo.

3.2.1 Estádio herbáceo arbustivo

Esse estágio inicial de regeneração ocorre nas áreas onde as pastagens foram abandonadas há aproximadamente dois a cinco anos. Caracteriza-se pela ocorrência de espécies herbáceas, arbustivas e algumas arbóreas pioneiras, representadas principalmente por espécies heliófitas, tais como gramíneas *Andropogon bicornis*, *Brachiaria humidicola*, *Panicum* spp. Poaceae e *Ossaea amigdaloides*, *Leandra* spp, *Miconia* spp. Melastomataceae (pixiricas), além de *Vernonia beirychi* – Asteraceae (assa-peixe), *Desmodium incanum*, *D. adscendens* Fabaceae (carrapicho) e diversas outras compostas *Eclipta alba*, *Ageratum conizoides*, *Vernonia* spp, *Eupatorium* spp. Asteraceae. Tal formação é conhecida popularmente por “capoeirinha”, dando aparência de áreas campestres ou trechos de vegetação arbustiva bastante densa, com estrato herbáceo menos denso.

Nessa situação, a diversidade de espécies é reduzida, emergindo elementos da flora original por meio de rebrota, ocorrem também espécies arbóreas de ciclo vital reduzido e crescimento rápido, formando maciços densos, onde predominam

Myrsine spp. Myrsinaceae (capororocas), *Tibouchina pulchra* (Jacatirão) e *Jacaranda puberula* – Bigoniaceae (caroba), entre outras.

3.2.2 Estádio inicial arbóreo

Após um período de aparente dinamismo, as espécies herbáceas e arbustivas pioneiras são substituídas por “arvoretas”, cuja fase de instalação se processa de forma muito agressiva e com uma alta densidade de indivíduos. Destacam as seguintes espécies: Capororocas (*Myrsine* spp. - Myrsinaceae), tabocuva (*Pera glabrata* – Euphorbiaceae), caroba (*Jacaranda puberula* – Bigoniaceae), jacatirão (*Tibouchina pulchra* Melastomataceae) jacarandá–lombriga (*Andira anthelmintica* – Fabaceae), ingá (*Inga sessilis* – Mimosaceae), barreleira (*Acnistus arborescens* – Solanaceae). Podem ocorrer outras espécies, porém com menor densidade. Neste estágio, o estrato herbáceo desaparece quase completamente e, no sub-bosque, surgem as espécies que irão compor o estágio seguinte.

3.2.3 Estádio florestal médio

O estágio médio de sucessão é caracterizado pela ocorrência de espécies arbustivas e arbóreas pioneiras representadas principalmente por Melastomataceae, Euphorbiaceae e Rubiaceae. Nessa situação, a diversidade de espécies ainda é reduzida, emergindo elementos arbóreos de crescimento rápido e tolerantes a elevada incidência lumínica; formando grupamentos densos, com alto número de indivíduos distribuídos nas classes de diâmetro mais reduzido. Normalmente há o predomínio de uma ou outra espécie, havendo a formação de grupamentos com baixa riqueza específica. São espécies típicas deste estágio: jacatirão (*Tibouchina pulchra* – Melastomataceae), tabocuva (*Pera glabrata* – Melastomataceae) capororocas (*Myrsine* spp.), embaúba (*Cecropia* sp. – Cecropiaceae), tapiá (*Alchornea iricurana* – Euphorbiaceae); a jacataúva (*Citharexylum mirianthum*), mais adaptada ao ambiente de planície, e a guaricica (*Volchysia bifalcata* – Vochysiaceae) comum no ambiente de encosta, principalmente em áreas com Argissolo. O estrato arbustivo-herbáceo é bastante desenvolvido, dominado por

diversas espécies que por vezes formam densos emaranhados, muitas vezes ocupados por taquarinhas (Poaceae) em conjunto com lianas representadas pelas famílias Sapindaceae, Bignoniaceae e Apocynaceae.

Em situações onde já se observa o maior desenvolvimento deste estágio sucessional, começam a surgir espécies que também apresentam crescimento rápido, mas com necessidades mais específicas quanto ao sombreamento e condições edáficas. Assim, são incorporados à comunidade indivíduos de tabocuva (*Pera glabrata* – Euphorbiaceae), licurana (*Hyeronima alchorneoides* – Euphorbiaceae), leiteiro (*Sapium glandulatum* – Euphorbiaceae), ariticum (*Rollinia sericea*, *R. emarginata* – Annonaceae), embaúba (*Cecropia pachystachya* – Cecropiaceae), embaubarana (*Porouma guianensis* – Cecropiaceae), entre diversas outras. Estas espécies acabam por dominar o estrato arbóreo ao longo do processo sucessional, resultando em maior sombreamento para os estratos inferiores da floresta.

3.2.4 Estádio florestal avançado

O estágio avançado de sucessão é caracterizado pela ocorrência predominante de espécies arbóreas representadas principalmente por Myrtaceae (*Myrcia* spp, *Calyptanthes* spp), Lauraceae (*Ocotea* spp. e *Nectandra* spp.) e Euphorbiaceae (*Alchornea* spp.).

Nessa situação, a diversidade de espécies é maior se comparada aos estádios anteriores, com predominante ocupação do elemento arbóreo formando uma floresta similar à original, mas com riqueza específica menor.

Neste contexto podem ser citados: tanheiro ou tapiá (*Alchornea triplinervia*, *A. glandulosa* – Euphorbiaceae), que ocorre desde os estádios menos avançados até as florestas primárias, caroba (*Jacaranda puberula* – Bignoniaceae), guamirins (*Myrcia* spp, *Eugenia* spp, *Calyptanthes* spp – Myrtaceae), canelas (*Ocotea aciphylla*, *Ocotea catharinensis*, *Nectandra membranacea*, *N. rigida*, *N. oppositifolia*, *N. leucantha* - Lauraceae), miguel-pintado (*Matayba guianensis*, *M. junglandensis* – Sapindaceae), cuvataã (*Cupania oblongifolia* – Sapindaceae), cajarana (*Cabralea canjerana* – Meliaceae), canela-de-veado (*Amaioua guianensis* – Rubiaceae), jurutê

(*Cordia selowiana* – Boraginaceae), ingás (*Inga edulis*, *I. uruguensis* – Mimosaceae), entre outras. Neste estágio, o componente epifítico ocorre de forma mais evidente se comparado aos estádios anteriores, destacando-se representantes de Bromeliaceae, Orchidaceae, Gesneriaceae, Araceae e Polypodiaceae.

3.3 LOCALIZAÇÃO E DEFINIÇÃO DAS CRONOSEQUÊNCIAS

As cronosequências consistem em três repetições dos seguintes estádios sucessionais: pastagem em uso (P), floresta em estágio herbáceo-arbustivo de regeneração (H), floresta em estágio inicial arbóreo de regeneração (A), floresta em estágio médio (M) e floresta em estágio avançado (F), perfazendo 15 parcelas de estudo. As cronosequências, ou repetições, distam de 2 a 4 km entre si em áreas de mesmo solo, topografia e histórico de uso. Sua localização pode ser visualizada nas Figuras 3.2 e 3.3.

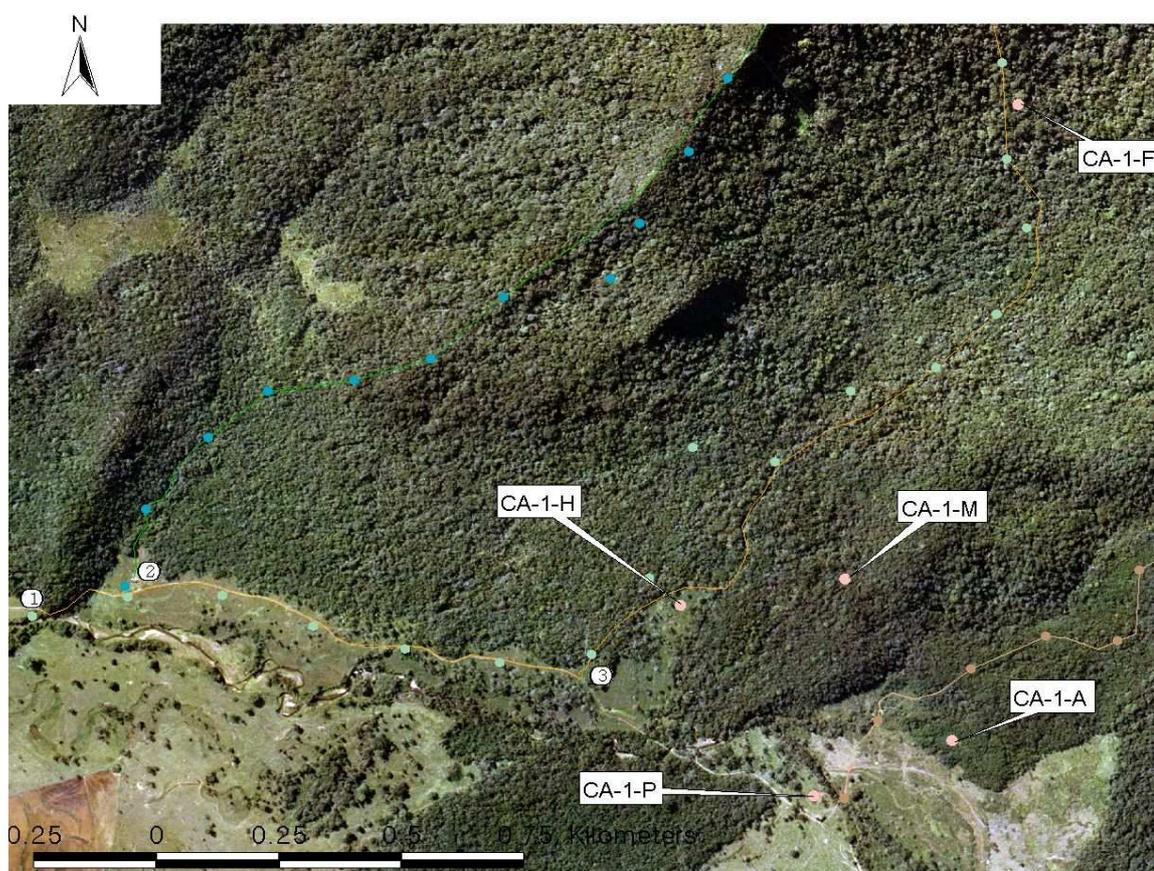


Figura 3.2: Cronosequência CA-1 com os pontos de coleta em cada fase sucessionais considerada, RNRC, Antonina-PR. (Fonte: SPVS, Labsig, 2008).

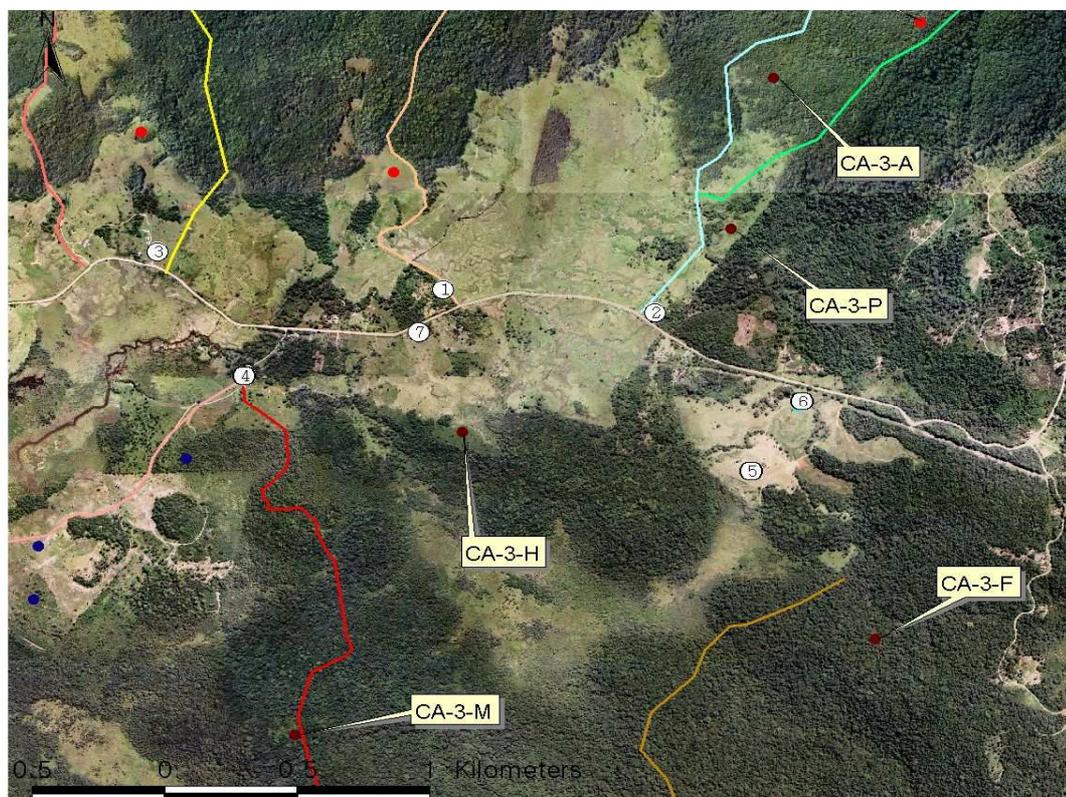
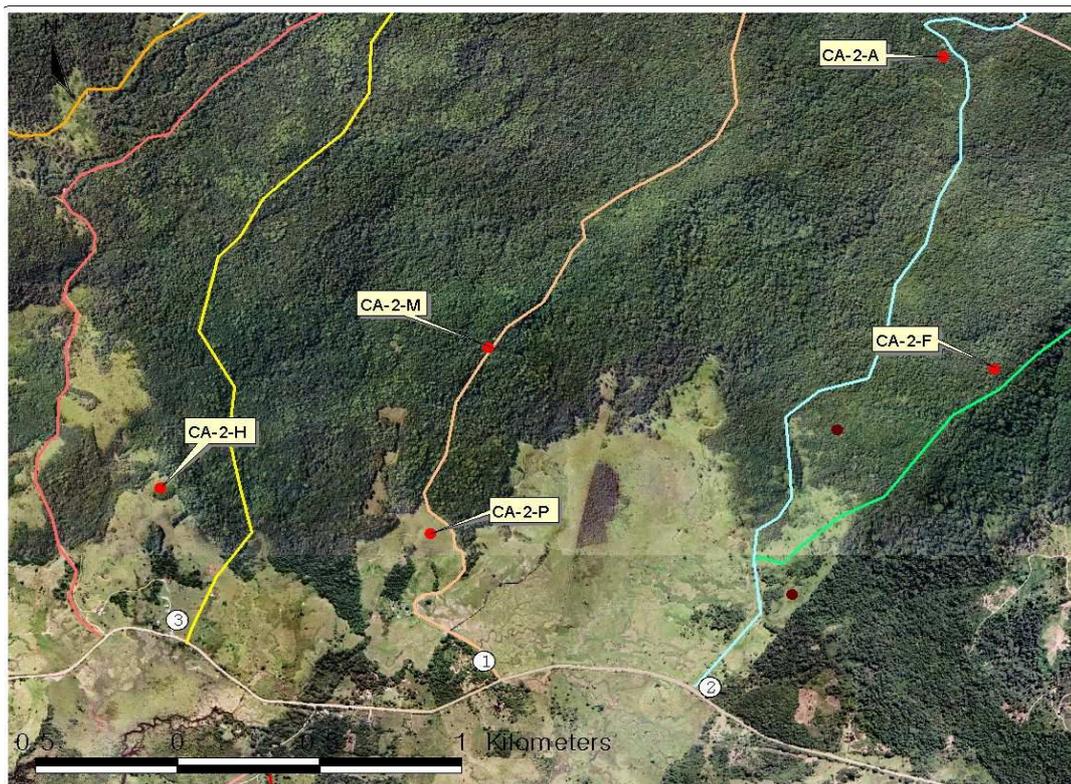


Figura 3.3: Cronosequência CA-2 e CA-3 com os pontos de coleta em cada fase sucessional considerada, RNRC, Antonina-PR. (Fonte: SPVS, Labsig, 2008).

Na Tabela 3.1 constam as coordenadas geográficas e altitude das repetições de cada fase sucessional de cada uma das cronosequências.

Tabela 3.1: Coordenadas geográficas e altitude (em metros em relação ao nível médio do mar) das parcelas em cada estágio das cronosequências na Reserva Natural do Rio Cachoeira, Antonina, PR.

Fase Sucessional	Cronosequência			
		C1	C2	C3
P	Lat.	48°40'25"	48°41'06"	48°43'13"
	Long.	25°15'28"	25°18'37"	25°18'49"
	Alt.	39	25	26
H	Lat.	48°41'03"	48°40'27"	48°39'42"
	Long.	25°18'25"	25°18'25"	25°18'33"
	Alt.	62	86	45
A	Lat.	48°40'17"	48°39'24"	48°39'37"
	Long.	25°15'21"	25°17'24"	28°18'13"
	Alt.	45	80	130
M	Lat.	48°40'23"	48°40'19"	48°40'43"
	Long.	25°15'12"	25°18'03"	25°19'41"
	Alt.	56	141	83
F	Lat.	48°40'12"	48°39'16"	48°39'19"
	Long.	25°14'39"	25°18'06"	25°19'27"
	Alt.	163	260	72

No processo de ocupação do solo na região, as áreas que primeiro foram abandonadas se encontram em cotas mais elevadas. De modo geral as áreas que permaneceram ocupadas com pastagens até os dias de hoje estão nas cotas mais baixas do terreno, devido à facilidade de acesso e manejo, ficando as florestas pouco alteradas (F) situadas nos locais de difícil acesso e/ou em cotas mais elevadas, onde a transformação da floresta em pastagem ou agricultura não foi viável. Apesar desta variação altitudinal, todas as parcelas estão dentro dos limites da Floresta Ombrófila Densa Submontana que, de acordo com Roderjan et al. (1997) e IBGE (1992), ocorre entre 20 a 600 m s.n.m., nas ecostas da serra.

As áreas de pastagem, apesar de ainda estarem em uso, também foram consideradas como estágio sucessional, sendo o ponto zero da sucessão secundária até a fase F, teoricamente o clímax sucessional. A seguir, estão descritas as características específicas de cada um dos estágios sucessionais considerados neste trabalho.

Pastagens em uso (P): Em uso como pastagem para búfalos e bovinos, solo recoberto por gramínea plantada (*P. maximum*; *B. humidicula*) com poucas plantas herbáceas e alguns arbustos, em uso há pelo menos 20 anos (Figura 3.4). Estas pastagens foram estabelecidas após corte e queimada da floresta. Estas áreas recebem apenas fertilização orgânica esporádica além da promovida pelos próprios animais, sendo que o controle de plantas invasoras é feito de forma mecanizada.



Figura 3.4: Aspecto das áreas de pastagem em uso (P) no ecossistema de Floresta Ombrófila Densa Submontana, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)

Regeneração Herbáceo-arbustiva (H): São áreas de pastagem que foram abandonadas há 3- 5 anos. A vegetação de gramíneas está em processo de supressão devido ao sombreamento por ervas e arbustos, bem como algumas espécies arbóreas pioneiras (Figura 3.5). Nesta fase, a diversidade de espécies arbóreas é pequena, emergindo elementos da flora original através de rebrota, sendo também avistadas espécies arbóreas de ciclo vital reduzido e crescimento rápido, formando pequenos maciços.



Figura 3.5: Aspectos das áreas de regeneração herbáceo-arbustiva (H) no ecossistema de FODS, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)

Regeneração Inicial-arbórea (A): Áreas de pastagem abandonadas há 15-20 anos, que se caracterizam pela ausência das espécies gramíneas das pastagens, suprimidas pelo sombreamento, maior diversidade de espécies arbóreas, principalmente pioneiras e algumas secundárias iniciais (Figura 3.6).



Figura 3.6: Aspecto das áreas de regeneração inicial arbórea (A) no ecossistema de FODS, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)

Floresta em fase intermediária de sucessão (M): são áreas de floresta secundária com mais de 30 anos de abandono após o uso como pastagem, que já apresentam grande diversidade de espécies arbóreas (Figura 3.7).

A principal característica dos estádios P, H, A e M, é fato de ter havido uma completa troca no uso da terra, ou seja, a vegetação florestal original foi completamente removida para implantação das pastagens. Ao contrário, nas áreas de floresta pouco alterada (F) a principal característica é nunca terem sido convertidas em outro uso, somente corte seletivo de espécies de alto valor, até os anos 80, e ainda hoje sofrem com o corte ilegal de palmito (Figura 3.8).



Figura 3.7: Aspectos das áreas em estágio médio de regeneração (M) no ecossistema de FODS, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)



Figura 3.8: Aspecto das áreas de floresta primária pouco alterada (F) no ecossistema de FODS, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)

3.5 SELEÇÃO E COLETA DA AMOSTRAS

3.5.1 Seleção das espécies vegetais e coleta das folhas

A caracterização da vegetação na região de estudo foi realizada por Martins (2008, dados não publicados). Em cada repetição de cada fase da cronoseqüência, exceto pastagem, foram instaladas 15 parcelas de inventário florestal permanente de 10 x 10 m onde todos os indivíduos arbóreos com diâmetro à altura do peito (DAP) maior ou igual a 4,8 cm foram medidos, identificados e plaqueteados.

A seleção das espécies em cada fase da cronoseqüência foi feita de acordo com o Índice de Valor de Importância ampliado (IVIa). Sendo escolhidas as cinco espécies com maior IVIa em cada estágio sucessional, além das espécies leguminosas que ocorressem, e algumas de interesse em estudos correlatos.

No total foram amostrados 135 indivíduos, distribuídos em 29 espécies, 27 gêneros e 18 famílias botânicas. Dentre as espécies vegetais duas são gramíneas exóticas introduzidas e 27 são arbóreas. Nas espécies heliófilas, todas as árvores amostradas eram dominantes e/ou codominantes na estrutura vertical da floresta. Quando as espécies eram de sub-bosque eram selecionadas as de maior diâmetro. Também foi tomado o cuidado de selecionar apenas árvores em ótimas condições fitossanitárias.

A coleta do material vegetal (folhas) foi realizada durante os meses de janeiro e fevereiro de 2008. Por meio de escalada e com auxílio de podão foram coletados os ramos de sol (CHEVILLAT et al., 2005), ou seja, do terço superior da copa. Foram coletadas as folhas localizadas a partir do quarto nó no sentido ápice base que estivessem completamente expandidas, evitando-se folhas muito jovens, muito velhas, com ataque de insetos ou fungos (BOERGER, 2000). De cada indivíduo foi coletada uma amostra de aproximadamente 300 g de folhas verdes. As amostras foram secas em estufa a 60° C por 72 h, sendo moídas em moinho tipo Wiley e, posteriormente, novamente moídas em moinho de bola até que toda amostra passasse em peneira de *mesh* 250.

3.5.2 Coleta de solo e serapilheira

As amostras de solo foram coletadas nos meses de junho e julho de 2007. Em cada uma das 15 parcelas (três repetições das fases P, H, A, M e F), foram coletadas 15 amostras de solo nas profundidades 0-5, 5-10, 10-20 e 20-40 cm, que foram reunidas aleatoriamente em três amostras compostas por profundidade de solo. Para estas profundidades as coletas foram feitas em mini-trincheiras escavadas no terreno conforme Figura 3.9B e 3.9C.



Figura 3.9: Coletas de solo na RNRC, no ecossistema de FODS, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)

Para a profundidade de 40-100 cm, foram coletadas três amostras individuais em cada parcela, uma coletada diretamente no perfil em uma trincheira de 1 m de profundidade (Figura 3.8A) e outras duas utilizando trado de rosca (Figura 3.9D). Nas trincheiras de 1 m de profundidade, foram também coletadas três amostras indeformadas de solo em cada profundidade, utilizando-se cilindros de aproximadamente 50 cm³.

As amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas e peneiradas (2 mm) para obtenção da terra fina seca ao ar. Todas as pequenas rochas, raízes e outros materiais foram rigorosamente removidos. Após, aproximadamente 100 g da amostra foi moída em moinho de bola até consistência de talco (250 µm ou menos).

A serapilheira foi coletada em 12 parcelas (três repetições das fases H, A, M e F), na mesma época da coleta de solos. Em cada parcela foram coletadas 15 amostras de serapilheira fina, distribuídas aleatoriamente, utilizando uma moldura com 25 x 25 cm (Figura 3.10), totalizando 60 amostras para análise.



Figura 3.10: Aspecto da coleta de serapilheira em áreas com e sem presença de gramíneas no ecossistema de FODS, no município de Antonina-PR. (Fonte: O autor)

Este material foi seco em estufa a 60° C até peso constante. Rochas pequenas, coprólitos e outros materiais foram rigorosamente removidos logo após a coleta, sendo feita nova inspeção depois da secagem em estufa. A etapa de moagem foi semelhante à do solo.

3.5.3 Análises físicas e químicas

Parte do material coletado foi encaminhado para o Laboratório de Física do Solo e Laboratório de Química e Fertilidade do Solo no Departamento de Solos e Engenharia Agrícola da Universidade Federal do Paraná.

A análise da densidade do solo foi realizada pelo método do cilindro volumétrico (EMBRAPA, 1979) utilizando-se cilindros de aproximadamente 50 cm³.

A análise de granulometria foi realizada segundo o método de Vettori; Pierantoni (1968). As análises químicas foram feitas seguindo a metodologia analítica descrita por Marques; Motta (2003) onde se determinou:

- pH – em solução de CaCl₂ a 0,01 mol/L;
- Al⁺³ – em solução de KCl 1 mol/L
- H + Al – em solução tamponada SMP (pH = 7,5);
- P e K⁺ - em solução extratora de Mehlich;
- CTC – capacidade de troca de cátions por meio da soma dos valores trocáveis de Ca⁺², Mg⁺², K⁺ e H + Al;
- V% - saturação de bases através da soma dos valores de Ca⁺², Mg⁺² e K⁺

As determinações dos teores de C e N foram feitas no Laboratório de Isótopos Estáveis do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP). Fora realizadas por combustão a seco no equipameto Carlo Erba (CNH1110) e as análises isotópicas em um espectrômetro de massas Finigam (modelo Delta Plus) acoplado ao Carlo Erba.

3.5.4 Correção da massa do solo

As estimaivas dos estoques totais de C e N no solo foram feitas considerando a massa do solo até a profundidade de 100 cm, corrigindo a compactação induzida

por cultivo, tração de máquinas e pisoteio do gado. Balesdente et al. (1990) recomendam que a correção dos estoques para comparação entre áreas com diferentes usos da terra tenha como referência o solo sob vegetação nativa próxima ao local amostrado ou, um dos tratamentos que apresente o menor valor na densidade do solo. Para o presente trabalho o solo escolhido como referência foi o da floresta primária pouco alterada (estádio F), por nunca ter sido convertida em outro uso e apresentar os menores valores de densidade do solo. A equação a seguir foi utilizada para este cálculo.

$$E_c = \sum^{n-i} E + [M_{ai} - (\sum^n M_a - \sum^n M_r)] \times (C_i \text{ ou } N_i)$$

Onde:

E_c = Estoque de C ou N corrigido pela massa de solo ($Mg \text{ ha}^{-1}$);

$\sum^{n-i} E$ = Somatório dos estoques das camadas (sem a última camada amostrada);

M_{ai} = Massa de solo da última camada de solo amostrado;

$\sum^n M_a$ = Somatório da massa total de solo amostrado;

$\sum^n M_r$ = Somatório da massa do solo referência;

C_i ou N_i = Teor de C ou N na última camada amostrada.

3.5.5 Análises estatísticas

A distribuição normal dos dados foi avaliada por meio dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Lilliefors. Todos os testes apresentaram distribuição normal segundo os referidos testes, portanto foi utilizada estatística paramétrica e correlação de Pearson para análise dos dados. Quando estavam sendo testadas apenas duas médias utilizou-se o teste t, para testar mais de duas médias foi utilizado o Teste de Tukey. Para o processamento dos dados foi utilizado o software Statística 7.0. Diferenças a 5% de probabilidade foram tidas como significativas.

3.6 REFERÊNCIAS

ALVES, B.J.R.; OLIVEIRA, O.C.de; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. (1999) **Métodos isotópicos**. In: **Fundamentos da matéria orgânica no solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. SANTOS, G.A. e CAMARGO, F.A.O. (eds). Porto Alegre: Gênese. 508 p.

ATHAYDE, S.F. (1997) Composição florística e estrutura fitossociológica em quatro estádios sucessionais de uma Floresta Ombrófila Densa Submontana, como subsídio ao manejo ambiental - Guaraqueçaba/PR. Curitiba, 1997. 163 f. **Dissertação** (Mestrado em Botânica). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

BALESDENT, J.; MARIOTTI, A.; BOISGONTIER, D. (1990) Effect of tillage on soil organica carbon mineralization estimated from ^{13}C abundance in maize fields. **Journal of Soil Science** 41:587-596.

BOERGER, M.R.T. (2000) Morfologia foliar e aspectos nutricionais de espécies arbóreas em três estádios sucessionais de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas, Paranaguá, PR. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Curitiba. 150 f.

BOUTTON, T.W.; ARCHER, S.R.; MIDWOOD, A.J. Stable isotopes in ecosystem science: structure, function and dynamics of a subtropical savanna. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**. 13, 1263-1277 (1999).

BREARLEY, F.G.; PRAJADINATA, S.; KIDD, P.S.; PROCTOR, J.; SURIANTATA, J.P. (1994) Structure and floristic of an old secondary rain forest in Central Kalimantan, Indonesia, and a comparison with adjacent primary forest. **Forest Ecology and Management**. 195: 385-397.

BROW, S.; LUGO, A.E. (1990) Tropical secondary forests. **Journal of Tropical Ecology** 6:1-32.

BUDOSWSKI, G. (1963) Forest sucession in tropical lowlands. Turrialba, v. 13, n. 1, p. 42-44, 1963.

CHEVILLAT, V.S.; SIEGWOLF, T.W.; PEPIN, S.; KÖRNER, C. (2005) Tissue-specific variation of d^{13}C in mature canopy trees in a temperate forest in central Europe. **Basic and Applied Ecology**. 6:519-534.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 26, de 7 de dezembro de 1994**.

CURCIO, G.R. **Principais tipos de solos da planície litorânea do estado do Paraná e suas distribuições na paisagem**. (Dados não publicados)

DAVIDSON, J.T.; KINGERLEE, W. (1997) A global inventory of nitric oxide emissions from soils. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 48, p. 37-50.

DAWSON, T.E.; BROOKS, P.D. (2001) Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. En Unkovich M, Pate J, McNeill A, Gibbs DJ (Eds.) **Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems**. Kluwer. Dordrecht, Holanda. pp. 1-18.

DAWSON, T.E.; MAMBELLI, S.; PLAMBOECK, A.H.; TEMPLER, P.H.; TU, K.P. Stable isotopes in plant ecology. (2002) **Annual Review of Ecology and Systematics**. Vol. 33: 507-559.

DELITTI, W.B.C. (1993) Estudos de ciclagem de nutrientes para a análise funcional de ecossistemas terrestres. In: SIMPÓSIO SOBRE ESTRUTURA, FUNCIONAMENTO E MANEJO DE ECOSSISTEMAS (Rio de Janeiro, 1992), **Anais...** UFRJ, Departamento de Ecologia.

EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D.(1993) **Stable Isotopes and Plant Carbon – Water Relations**. Academic Press, London, 555 p.

EHLERINGER, J.R.; RUNDEL, P.W. (1989) Stable isotopes: History, Units and Instrumentation. In. P.W. RUNDEL, EHLERINGER, J.R.; NAGY, K.A. (eds) , **Stable Isotopes in Ecological Research**. Springer-Verlag, New York, p. 1-15.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro,1979. Não paginado.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos** (2005) 2. ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306 p.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. **Annual. Review. Plant Physiology** 40:503-537

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**. 9: 121– 37

FERRETTI, A.R.; BRITZ, R.M. (2006) Ecological restoration, carbon sequestration and biodiversity conservation: The experience of the Society for Wildlife Research and Environmental Education (SPVS) in the Atlantic Rain Forest of Southern Brazil. **Journal for Nature Conservation** 14:249-259.

FINEGAN, B. (1996). Pattern and process in neotropical secondary rain forests: the first 100 years of succession. **Trends in Ecology and Evolution** 11:119-124.

FRANK ,A.B.; TANAKA, D.L.; HOFMANN, L. AND FOLLETT, R.F. (1995) Soil Carbon and Nitrogen of Northern Great Plains Grasslands as Influenced by Long-Term Grazing **Journal of Range Management**, Vol. 48, No. 5 (Sep., 1995), pp. 470-474

GANNES, L. Z.; DEL RIO, C. M.; KOCK, P. (1998) Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 119a, n. 3, p. 725-737.

GALVÃO, F.; et al. (1999) Avaliação da deposição da serapilheira em diferentes fases serais de Floresta Ombrófila Mista. **V Congresso e Exposição Internacional sobre Floresta**. Curitiba. Bio 1068, CD ROOM

GARTEN, C.T.; VAN MIEGROET, H. (1994) Relationships between soil nitrogen dynamics and natural ^{15}N abundance in plant foliage from Great Smoky Mountain National Park. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 24, n. 8, p. 1636-1645, Aug. 1994.

GUAPYASSÚ, M. S. (1994) Caracterização fitossociológica de três fases sucessionais de uma Floresta Ombrófila Densa Submontana Morretes - Paraná. Curitiba, 150 f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

HOEFS, J. (2001) **Stable isotope geochemistry**, 4th ed.: Springer, 201 p.

IAPAR – Instituto Agrônomo do Paraná. (2008) Disponível em http://www.iapar.br/Sma/Cartas_Climáticas/Classificação_Climática.htm Acesso em 20 dez. 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (1992) Manual técnico da vegetação brasileira. **Manuais técnicos em geociências**, n. 1. IBGE, 1992.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2005) **Malha municipal**. IBGE. Rio de Janeiro.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2008) **Mapa da área da aplicação da Lei 11.428/2006**. IBGE. Rio de Janeiro.

IPARDES. (1991) **Diagnóstico físico-ambiental da Serra do Mar: área Sul**. Curitiba, IPARDES, 2v., 107 p.

LAJTHA, K.; MARSHALL, J.D., 1994. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: Lajtha, K. and Michener, R.H. (Ed.), 1994. **Stable isotopes in ecology and environmental science**, Blackwell, Oxford, pp. 1–21.

MAACK, R. **Geografia física do Estado do Paraná**. Curitiba: Livraria José Olympio, 1981. 442p.

MARQUES, R.; MOTTA, A.C.V. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: Lima, M.R. (Org.) **Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas**. Curitiba, Universidade Federal do Paraná, DSEA, 2003. pp. 81-102.

MARTINELLI, L.A.; PICCOLO, M.C.; TOWNSEND, A.R.; VITOUSEK, P.M.; CUEVAS, E.; MCDOWELL, W.; ROBERTSON, G.P.; SANTOS, O.C.; TRESEDER, K. (1999) Nitrogen stable isotopic of leaves and soil: tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**. Dordrecht, v. 46, n. 1/3, p. 45-65, Jul. 1999.

MARTINS, K.G. **Mudanças na sucessão em fragmentos da Floresta Ombrófila Densa Submontana no litoral do Paraná.** (Dados não publicados)

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. (2002) **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras: UFLA, 626 p.

MORELLATO, L.P.C.; HADDAD, C.F.B. (2000) Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**. 32:786-792.

NARDOTO, G.B. (2005) Abundância natural de ^{15}N na Amazônia e Cerrado – implicações para a ciclagem de nutrientes. **Tese** de Doutorado. Piracicaba, 2005. 100 p.

NADELHOFFER, K.J.; FRY, B. (1988) Controls on Natural Nitrogen-15 and Carbon-13 Abundances in Forest Soil Organic Matter. **Soil Science of Society American Journal** 52: 1633-1640

NADELHOFFER, K.J., ABER, J.D.; MELILLO, J.M. (1983) Leaf-litter production and soil organic matter dynamics along a nitrogen-availability gradient in southern Wisconsin (USA). **Canadian Journal of Forest Research** 13:12-21.

PICCOLO, M.C.; NEILL, C.; MELILLO, J.M.; CERRI, C.C.; STEUDLER, P.A. (1996) ^{15}N natural abundance in forest and pasture soils of the Brazilian Amazon Basin. **Plant and Soil** 182: 249-258

RACHWALL. M.F.; CURCIO, G.R. (1994) Principais tipos de solos do Estado do Paraná: suas características e distribuição na paisagem. In: **A vegetação natural do Estado do Paraná.** IPARDES, Curitiba.

RODERJAN, C.V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y.S.; HATSCHBACH, G.G. (2002) As unidades fitogeográficas do Estado do Paraná. **Ciência & Ambiente**, SANTA MARIA, v. 24, p. 75-92.

RODERJAN, C.V.; KUNIYOSHI, Y.S.; GALVÃO, F. e HATSCHBACH, G.G. (1997) **Levantamento da vegetação da Área de Proteção Ambiental de Guaratuba - APA de Guaratuba.** UFPR – Departamento de Silvicultura e Manejo, 78 p. Relatório Técnico

SANTIAGO, L.S.; SILVEIRA, K.; ANDRADE, J.L.; DAWSON, T.E. (2005) El uso de isótopos estables en biología tropical. **Interciencia**. v.30 n.9, Caracas, sep.

SCHMIDT, S.; STEWART, G.R. (2003) $\delta^{15}\text{N}$ values of tropical savanna and monsoon forest species reflect root specialisations and soil nitrogen status. **Oecologia** n° 134, n. 4, pg. 569-577.

SMITH, B. N., EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. **Plant Physiology**. vol. 47, p. 380-384, 1971

SMITH, J.; SABOGAL, C.; JONG, W.; KAIMOWITZ, D. (1997) Bosques secundarios como recurso para el desarrollo rural y la conservación ambiental en los trópicos de América Latina. **In: Taller Internacional sobre el Estado Actual y Potencial de Manejo y Desarrollo del Bosque Secundario Tropical en América Latina** (1997, Pucallpa, PE). Memorias. p. 79-107.

SOS Mata Atlântica; INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2009) **Atlas dos remanescentes florestais da mata atlântica período 2005-2008**. São Paulo, SP. 156 p.

SOUZA, L.C. de (2006) Dinâmica de nutrientes na precipitação, em solução de solo e lençol freático em três tipologias florestais sobre espodossolo, no litoral do Paraná. **Tese** de Doutorado, UFPR, Curitiba, PR. 93 p.

SPVS - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental. Laboratório de Informações Geográficas (LabSig) 2003. Imagens de satélite. Curitiba, PR.

SPVS; TNC - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental; The Nature Conservancy. 2000. **Projeto de Restauração da Floresta Atlântica**. Curitiba. 17p.

SPVS - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem. (2002). **Levantamento de solo: Reserva Natural do Rio Cachoeira**. 63 p.

SPVS - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem. (2005) **Plano de manejo da Reserva Natural do Rio Cachoeira**. Volume 1, Encartes I, II e III. 310 p.

VELOSO, H.P.; RANGEL-FILHO, A.L.; LIMA, J.C.A. (1991) Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 123 p.

VETTORI, L.; PIERANTONI, H. 1968) **Análise granulométrica: método para determinara fração da argila**. Rio de Janeiro, Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, 8p. (Boletim Técnico, 3).

VITOUSEK, P.M.; REINERS, W.A. (1975) Ecosystem succession and retention: a hypothesis. **BioScience**, Washington D. C., v. 25, n. 6.

WISNIEWSKI, C. (coord.) (1997) Caracterização do ecossistema e estudo das relações solo-cobertura vegetal em planície pleistocênica do litoral paraense. Projeto Integrado – CNPq, Curitiba, 55 p.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

ARTIGO A: CARBON ISOTOPIC COMPOSITION AND CONVERSION IN THE SOIL OF A PASTURE-FOREST CHRONOSEQUENCE IN THE SOUTHERN BRAZILIAN ATLANTIC FOREST

A.1 Introduction

The Atlantic Forest originally covered about 1.350.000 km² approximately 15% of the Brazilian territory, nowadays covers 102,012 km² (7.9%) of the original area (SOS Mata Atlântica; INPE 2009) and is considered a hotspot for biodiversity conservation (MYERS et al., 2000). The deforestation whit posterior use as agriculture and pasture, and fragmentation effect, is largely responsible by the high rates of species extinction (MORELLATO; HADDAD, 2000)

Although in Paraná State the Atlantic Forest represents the better conserved and continuous remnant of this forest in Brazil, most of the area is composed by secondary forests in different development stages (SILVA, 2003) with specifics characteristics that change during the sucessional process, like physics and biological properties of soil (AIDE et al., 2000).

Despite the importance of the Atlantic Forest scarce information exists about how soil organic matter (SOM) stocks and cycling patterns change when a pasture substitute a forest ecosystem and how this is restored after the pasture abandon. Understand the mechanisms that control nutrient fluxes is essential for the development of methods to conserve and protect an ecosystem.

The gain or loss of soil carbon (C) in planted pastures depends on both the rate of decay of organic C derived from the former forest vegetation and the contribution of C from grass roots and litter (NEILL et al., 1997). The losses or gains of soil C which occur following land use change, large amounts of C stored in soils and the huge area of land currently being altered make soils potentially significant sources or sinks of C to the atmosphere (HOUGHTON et al., 1985).

The pasture creation results in a change from forest vegetation (C₃) to pasture grasses (C₄), the origin of soil C in pastures can be knew by natural abundance of

^{13}C stable isotope. The C_3 plants shows $\delta^{13}\text{C}$ values between -10 e -35‰ and de C_4 plants had values between -9 e -17‰ (FARQUHAR; O'LEARY; BERRY, 1982). Changes in the relative proportions of C_3 and C_4 plants can be recognized as a difference between the isotopic composition of the current plants community and that of the SOM. The isotopic difference will be largest immediately following a vegetation change, but will decrease over time as carbon from previous plant community decays out of the organic carbon pool and is replaced by new carbon derived from the new plant community. Thus, the isotopic discrepancy created by the vegetation change will persist for a length of time determined by the soil organic matter turnover rate. In fact after a vegetation change, the rate at which the $\delta^{13}\text{C}$ value of the soil organic carbon changes to approach of the new plant community is a direct measure of the soil organic matter turnover rate in that system (CERRI et al., 1985; BERNOUX et al., 1999).

The isotopic composition of soil organic matter largely reflects the photosynthetic pathway type of the dominant species in the plant community (BOUTTON, 1991).

Stable isotope ratios of elements in both organic and inorganic components of the plant-soil environment often record and integrate information relating to: (1) the identity of the processes that formed this components; (2) the rates of those processes; and (3) the environmental conditions prevailing at the time those components were formed (BOUTTON; YAMASAKI, 1996).

Considering the Atlantic Forest importance and their reduction and fragmentation, this work has the aims: (i) to study the carbon isotopic composition in a pasture-forest chronosequence; (ii) to evaluate the impact of the conversion from forest to pasture and vice-versa on content and distribution of soil organic matter.

A.2 Material and Methods

A.2.1 Study area

This research was carried out in the Reserva Natural do Rio Cachoeira (RNRC) at coordinates ($25^{\circ}19'15''\text{S}$; $48^{\circ}42'24''\text{W}$), located 35 km north of Antonina

county, Paraná state, including the mountain chain “Serra do Mar” and littoral plains until the Atlantic Ocean, covering 204.9 km² inside the a Guaraqueçaba Environment Protection Area with 3134 km².

The predominant climate is moist subtropical (Cfa – Köppen), with mean annual temperature of 21.1° C, without dry season. The mean annual rainfall is between 2,500 e 3,000 mm, more concentrated on January to March (IPARDES 1991).

In the study sites the soil is CAMBISSOLO HÁPLICO, according Brazilian Soil Classification System (Embrapa, 2005). The approximated equivalent soil class by the USA Soil Taxonomy is Inceptisols, great group Dystrocherept (USDA, 1999). The depth of *solun* (A+B horizons) is very variable and depends of many factors as: parent material, development stage, mountain-side form and slope and the position on the landscape (RACHWAL; CURCIO, 1994). In Brazil, Inceptisols are found in the central and southern parts of the Atlantic Forest and due to parent material heterogeneity, relief forms and climatic conditions the soils characteristics are extremely variable (DONAHUE; MILLER; SHICKLUNA, 1983).

In the beginning of the colonization process, in 1950, encouraged by the State Government, big farms started to produce coffe, without success, and gave focus to the wood exploration in the native forest. In the middle of the 60’s, the Federal Government encouraged projects for sustainable management of the natural resources and reforestation, but part of these projects were not implemented and the resources were used in other activities like buffalos and cattle rising (SPVS, 2005)

The forest on this region suffered great modifications by the anthropic activities, mainly during the end of the XIX century and beginning of the XX century, which was the period with social and economic prosperity caused by the agricultural development. On the RNRC, the major part of the area suffered selective wood cutting on the mountain-sides and deforestation on the plains to install pastures and agriculture cultivations. The human community around the RNRC survives mainly from fishing, banana, cassava, ginger and vegetable cultivations. In the big farms the main activity is buffalo and cattle rising (SPVS/TNC, 2000). Nowadays, apparently, the creation of new pastures has stopped, and according the region inhabitants the number of buffalos and cattle is decreasing year after year.

A.2.2 Chronosequences characteristics and definitions

The chronosequence is represented by three repetitions of the following vegetation types: Pasture (P), Herbaceous Forest (H), Initial Arboreal Forest (A), Medium Forest (M) and Old Growth Forest (F), comprising 15 study areas. The different sequences sites were within 2-4 km of each other and in areas of similar topography and soil. The characteristics of each vegetation type is described below.

P - nowadays are used by cattle and buffalo, covered by planted grass (*Panicum maximum* and or *Brachiaria humidicula*), with few herbs and bushes, and have been used as pasture during thirty years in average. These pastures were established after cutting and or burning of the original forest. They were actively grazed at an average annual rate of approximately 1.5 animal ha⁻¹ and there isn't chemical fertilization. The weeds were controlled by mechanic process.

H - grass vegetation in suppression process, more herbs and specially bushes, besides from two to eight pioneer tree species. Three to five years after pasture abandon.

A - absence or inexpressive presence of grass, fifteen to twenty years after pasture abandon, predominance of pioneer trees species.

M - several trees species, higher diversity, with more than thirty years of abandon after the use as pasture.

F - a primary formation, never been used as pasture, suffered only selective cut of high value species, until the 80's, and *Euterpe edulis* (palmito) illegal harvesting until nowadays.

A.2.3 Soil and litter collection, preparation and analyses

Soil samples were collected in June and July 2007. In each of the 15 plots (3 replications of P, H, A, M and F plots) were collected 15 soil samples at 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 cm of depth, which were randomly assembled in three composite samples per soil depth. For the layer 40-100 cm of depth three individual samples were collected in each plot, totalizing 225 soil samples to analyze.

Litter samples were collected in 12 plots (3 replications of H, A, M and F plots) inside a frame of 25 x 25 cm, randomly in 15 places of each plot, and grouped per plot in 5 composite samples, totalizing 60 litter samples to analyze.

All soil samples were air dried and sieved (2 mm) and all stones, roots and others materials were removed with extreme careful. After, approximately 30 g of material was grounded, using a ball mill, to a talcum powder texture (250 µm or less).

For the soil analysis, 25 to 45 mg of material was weighted, depending on the soil layer considered (less material for the surface layers). For the litter, analysis approximately 2 mg of material was used. First the ^{12}C was determined in an elemental analyser Carlo Erba (CHN 1110) and subsequently to a mass spectrometer (ThermoQuest-Finnigan Delta Plus) were the ^{13}C values were obtained. All the analysis were performed at the Laboratory of Isotopic Ecology in the Centre of Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo, Brazil.

The $\delta^{13}\text{C}$ value was expressed using

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \frac{(R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1}{R_{\text{standard}}} \times 10^3$$

where: R is $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Pee Dee Belemnite (PDB) was used as standard. The analytical error was within $\pm 0.15\text{‰}$.

According to Cerri et al. (1985), the estimation of the carbon from forest (C_f) and from pasture (C_p) in the SOM is possible by the use of the following equations:

$$C_{\text{past}} = [(\delta^{13}\text{C}_{\text{past}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{flta}}) / (\delta^{13}\text{C}_{\text{pl}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{flta}})] \times \%C_{\text{t}}$$

$$C_{\text{f}} = \% C_{\text{t}} - C_{\text{past}}$$

where: C_{past} = %C pasture soil; $\delta^{13}\text{C}_{\text{past}}$ = $\delta^{13}\text{C}$ pasture soil; $\delta^{13}\text{C}_{\text{flta}}$ = $\delta^{13}\text{C}$ forest soil; $\delta^{13}\text{C}_{\text{pl}}$ = $\delta^{13}\text{C}$ grass; C_t = % C total of pasture; C_f = % de C total of forest.

A.2.4 Total carbon (TC) and nitrogen (TN)

The TC and TN were estimated according the equation:

$$TC/TN = SD \times h \times A \times \%C/N / 100$$

where: TC/TN = total carbon/nitrogen stockpile (kg m^{-2}); SD = soil density (kg m^{-3}); h = layer thickness (m); A = area (1 m^2); %C/N = soil carbon/nitrogen content (%)

A.2.5 Correction for soil compaction

To correct the soil compaction induced by cultivation, traction of agricultural machinery and animals grazing, the total C and N stocks in the soil were estimated as total C or N content of the same weight of soil as that present to 100 cm depth in a reference profile. Balesdent et al. (1990) recommends that the reference profile is often a profile neighboring native vegetation, but if no such area is available, or no information is available as the history of the area prior to the installation of the experiment, any one treatment (preferably that with the lowest soil mass in the profile) can be used to correct the others. In this work, the selected soil as reference was the old growth forest soil (stage F of the cronosequence), because have never been used as pasture and showed the lowest soil mass in the profile. The correction is mathematically expressed as:

$$E_c = \sum^{n-i} E + [M_{ai} - (\sum^n M_a - \sum^n M_r)] \times (C_i \text{ ou } N_i)$$

Where:

E_c = is the total C or N stock (Mg ha^{-1}) in the soil to a depth equivalent to the same mass of soil as that in the reference profile;

$\sum^{n-i} E$ = The sum of total carbon content in the layers (without the deepest layer);

M_{ai} = The mass of the soil in the deepest layer in the treatment profile;

$\sum^n M_a$ = The sum of the mass of soil in all layers in the treatment profile;

$\sum^n M_r$ = The sum of the mass of soil in all layers in the reference soil profile;

$C_i \text{ ou } N_i$ = The concentration of C or N in the deepest layer in the treatment profile.

A.3 Results and Discussion

A.3.1 Carbon and nitrogen contents, stock and C/N in the soil

Carbon and nitrogen showed to be more concentrated in the surface layers of the soil, decreasing until the depth of 100 cm (Table 4.1). The lowest value observed was 6.4 g kg^{-1} at the depth 40-100 cm in the plot P, and highest was 41.4 g kg^{-1} at the depth 0-5 cm in the plot M. Nitrogen content varied from 0.6 to 3.0 g kg^{-1} , and the C/N ratio varied from 11.1 to 13.7 being the highest values of N observed in the surface and lowest ones at 40-100 cm of depth. For the C/N values the highest ones were in the surface layers of the soil.

Under old growth forest (F) it was stocked 3.78 kg m^{-2} of carbon in the first 20 cm (Table 1), value approximated to that observed by Bernoux et al. (1999) of 3.46 kg m^{-2} in natural Amazonian Forest. Neill et al. (1997a) examined seven chronosequences of forest and pasture along a 700 km transect in Rondônia, and the forest soil C stocks to 30 cm ranged from 2.74 to 6.20 kg m^{-2} .

The soils under the stages H and A presented de highest carbon stock 11.85 and 11.37 kg m^{-2} (at 100 cm), respectively, $1,65$ and $1,17 \text{ kg m}^{-2}$ higher than F soil (10.20 kg m^{-2}), but the values of accumulated carbon don't differ statistically for all depths between vegetation stages ($p < 0,05$).

Neill et al. (1997b) studying Ultisols on the southwestern of the Brazilian Amazonian Basin found in the top 50 cm 4.64 , 5.28 , 6.56 and 6.12 kg m^{-2} in pastures aged 13, 20, 41 and 81 years-old; only the two oldest pastures being statistically different from the forest (4.33 kg m^{-2}). In this work, the pastures in the top 40 cm stocked 5.73 kg m^{-2} , very similar to the old pastures studied by Neil et al. (1997b), and the F stage showed a higher stock (5.78 kg m^{-2}) as occurred in the forest and youngest pastures of the work in the Amazonian soils. On the other hand, Salimon, Wadt and Melo (2007) observed the pasture soils showing higher carbon stock in comparison with the forest soils, due to the highest bulk density and carbon content in all depths; but the values differed only for the 0-5 cm layer ($p < 0,05$).

Table A.1: Average carbon and nitrogen content (%), stock (kg m^{-2}) and C/N relation in different soil depths of the chronosequence pasture-forest; standard deviations are on the right side of the values.

Level cm	Bulk density g cm^{-3}	Carbon		Nitrogen		C/N
		On level (%)	Accumulated kg m^{-2}	On level (%)	Accumulated kg m^{-2}	
Pasture (P)						
0-5	0.89 ± 0.37	3.31 ± 0.91	1.19 ± 0.39	0.27 ± 0.06	0.09 ± 0.04	12.0 ± 0.7
5-10	1.06 ± 0.16	2.33 ± 0.79	2.19 ± 0.71	0.20 ± 0.06	0.18 ± 0.06	11.6 ± 0.5
10-20	1.13 ± 0.09	1.56 ± 0.36	3.66 ± 0.93	0.14 ± 0.03	0.31 ± 0.08	11.5 ± 0.7
20-40	1.14 ± 0.10	0.91 ± 0.27	5.73 ± 0.85	0.08 ± 0.02	0.50 ± 0.07	11.1 ± 0.7
40-100	1.16 ± 0.20	0.64 ± 0.25	9.85 ± 1.54	0.06 ± 0.02	0.88 ± 0.11	11.1 ± 0.9
Herbaceous (H)						
0-5	0.82 ± 0.11	3.69 ± 0.44	1.33 ± 0.34	0.28 ± 0.05	0.10 ± 0.03	13.2 ± 0.7
5-10	0.98 ± 0.08	2.66 ± 0.27	2.43 ± 0.53	0.21 ± 0.03	0.19 ± 0.05	13.0 ± 0.5
10-20	1.12 ± 0.05	1.91 ± 0.16	4.13 ± 0.56	0.15 ± 0.01	0.32 ± 0.05	12.6 ± 0.1
20-40	1.12 ± 0.09	1.07 ± 0.09	6.52 ± 0.73	0.09 ± 0.01	0.52 ± 0.06	12.2 ± 0.2
40-100	1.13 ± 0.16	0.85 ± 0.02	11.85 ± 1.41	0.07 ± 0.00	0.96 ± 0.11	12.2 ± 0.0
Initial (A)						
0-5	0.72 ± 0.08	3.69 ± 0.44	1.33 ± 0.18	0.29 ± 0.05	0.10 ± 0.02	13.0 ± 0.7
5-10	0.92 ± 0.01	2.75 ± 0.39	2.42 ± 0.29	0.22 ± 0.03	0.19 ± 0.03	12.3 ± 0.7
10-20	1.09 ± 0.16	1.72 ± 0.50	3.91 ± 0.70	0.14 ± 0.04	0.31 ± 0.06	11.9 ± 0.6
20-40	1.12 ± 0.14	1.01 ± 0.44	6.06 ± 1.31	0.09 ± 0.04	0.50 ± 0.12	11.6 ± 0.5
40-100	1.10 ± 0.21	0.86 ± 0.21	11.37 ± 1.78	0.08 ± 0.02	0.99 ± 0.14	11.1 ± 1.0
Medium (M)						
0-5	0.70 ± 0.08	4.14 ± 0.67	1.45 ± 0.39	0.30 ± 0.02	0.11 ± 0.02	13.7 ± 1.3
5-10	0.91 ± 0.09	2.82 ± 0.42	2.59 ± 0.56	0.22 ± 0.02	0.19 ± 0.03	12.9 ± 0.7
10-20	1.00 ± 0.07	1.66 ± 0.16	4.03 ± 0.70	0.13 ± 0.01	0.31 ± 0.04	12.4 ± 0.3
20-40	1.02 ± 0.15	0.91 ± 0.18	5.92 ± 0.98	0.08 ± 0.01	0.47 ± 0.06	11.5 ± 0.5
40-100	1.07 ± 0.11	0.67 ± 0.13	10.07 ± 1.81	0.06 ± 0.01	0.84 ± 0.15	11.4 ± 0.7
Forest (F)						
0-5	0.72 ± 0.08	3.58 ± 0.35	1.29 ± 0.07	0.28 ± 0.03	0.10 ± 0.01	12.7 ± 0.7
5-10	0.79 ± 0.16	2.80 ± 0.28	2.34 ± 0.18	0.23 ± 0.02	0.19 ± 0.01	12.1 ± 0.7
10-20	0.83 ± 0.27	1.67 ± 0.15	3.78 ± 0.59	0.15 ± 0.01	0.32 ± 0.03	11.5 ± 0.9
20-40	0.95 ± 0.17	1.05 ± 0.12	5.78 ± 0.85	0.09 ± 0.01	0.49 ± 0.05	11.3 ± 0.6
40-100	1.01 ± 0.07	0.73 ± 0.13	10.20 ± 1.91	0.06 ± 0.01	0.97 ± 0.12	11.4 ± 0.5

The A and F stages showed the highest nitrogen accumulation in the soil, 0.99 and 0.97 kg m^{-2} at 0-100 cm, and the values of accumulated nitrogen don't differ statistically between all depths in each stages.

The bulk density increased under pastures, mainly on the surface layers, but in average these increase were relatively modest, the major difference was in 0-5 cm layer 19,2%. The bulk density values didn't show significant differences between the same depths in all stages (Tukey, HSD, $p > 0,05$).

A.3.2 Isotopic discrimination and organic matter source

The $\delta^{13}\text{C}$ values in superficial layer (0-5 cm) were higher on P (-21.9‰) and H (-20.1‰) stages in comparison with A (-27.4‰), M (-28.1‰) and F (-27.9‰) stages,

due to the inputs of the vegetal material rich in ^{13}C , from the pasture (Figure 1). Despite the significant difference, in average the forest soils were 6.9‰ lighter on $\delta^{13}\text{C}$ values, identifying what plant community is responsible to produce the SOM in each considered stage, the average soil $\delta^{13}\text{C}$ values in pastures sites is characteristic from a mix of forest (C_3 plants) and pasture (C_4 plants) carbon. The $\delta^{13}\text{C}$ values increase progressively in old pastures (BERNOUX et al., 1999) reflecting a gradual replacement of C_3 carbon with C_4 carbon (ULLOA; VELDKAMP; KONING, 2005).

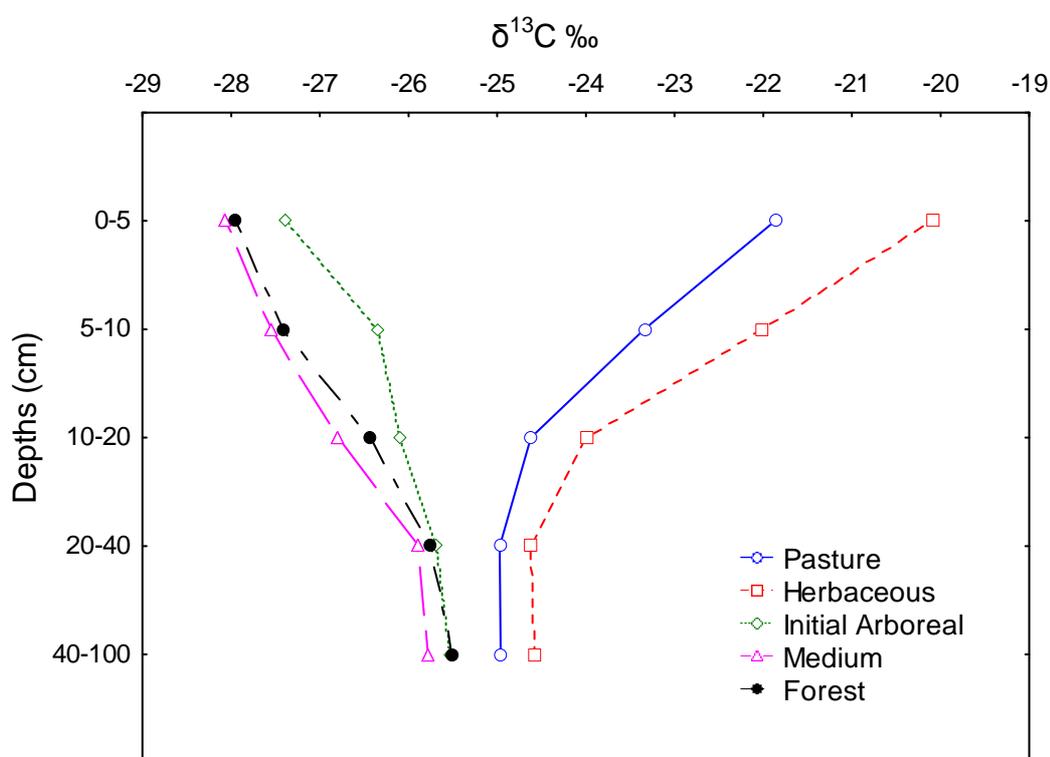


Figure A.1: $\delta^{13}\text{C}$ at different depths in the soil under the chronosequence plots.

In the H stage after de pasture abandon and stoping graze the C_4 plants could growth and increase their biomass, consequently the $\delta^{13}\text{C}$ values in the soil were increased too. This effect is more evident in the surface (until 20 cm) levels.

In the soils where de C_3 plants were dominant an $\delta^{13}\text{C}$ increase varying from 1.7 to 2.4‰ took place. This results from enrichment of ^{13}C in organic matter during the decomposition process (YONEYAMA et al., 2006). But where the C_4 plants were dominant the inverse occurred, the $\delta^{13}\text{C}$ values reduced 2.8 and 4.5‰ for the P and H stages respectively. The more negative $\delta^{13}\text{C}$ values in the deeper levels on these

stages probably result from the organic matter from C₃ (forest) plants remaining in the SOM. The $\delta^{13}\text{C}$ values under pasture soils were between the typical values from C₃ and C₄ plants, indicating an important carbon quantity remaining from the forest. Similar tendency was found by Moraes et al. (1996); Salimon; Wadt; Melo (2007) and López; Veldkamp; Koning (2005).

For the A, M and F stages the $\delta^{13}\text{C}$ values are less negative in the deeper soil layers, and this can be explained by fractionation of the SOM during its decomposition along the soil profile (MARTINELLI et al., 1999). Similar behaviour was observed by Melo (2003) in Amazonian forest soils, where $\delta^{13}\text{C}$ was -28,6‰, in the surface and -25,2‰ more deeper in the soil. Nardoto (2005) studying soils under Cerrado and Amazonian forest also obtained similar results of ¹³C enrichment in the deeper soil layers. The isotopic discrimination shows clearly that the photosynthetic pathway is responsible to produce “new” organic matter for the soil, the transition from C₄ to C₃ plant community on the Figure A.2, is exactly pointed by $\delta^{13}\text{C}$ values. This process is more pronounced in the superficial soil layers (0-5; 5-10 cm), but is detectable in the deepest layers too (20-40; 40-100 cm).

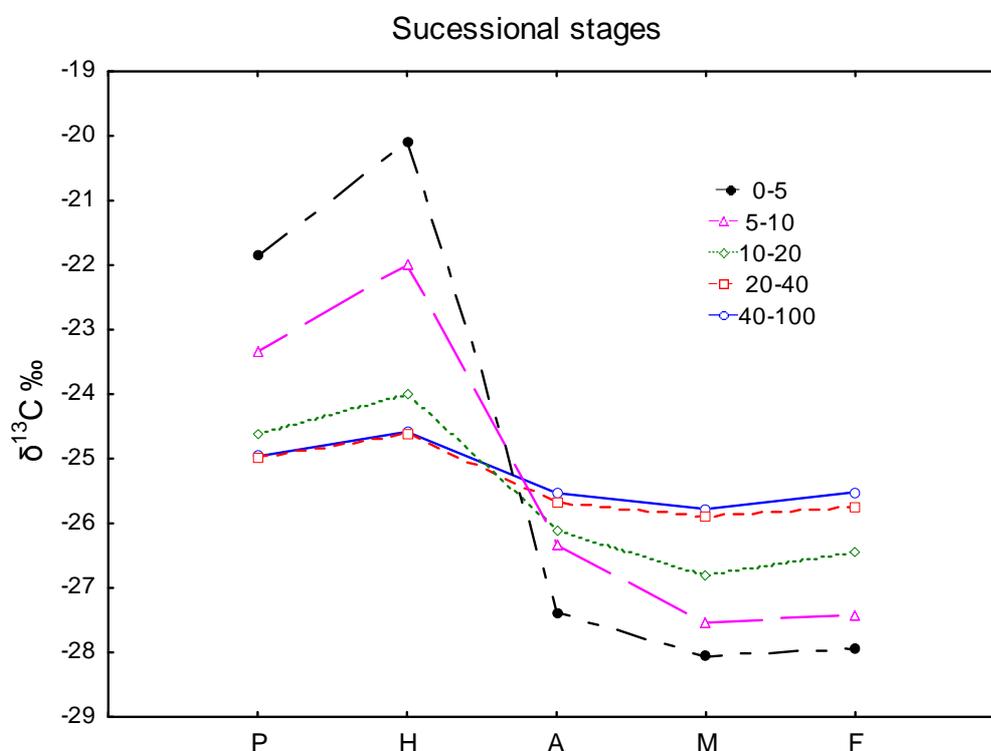


Figure A.2: $\delta^{13}\text{C}$ values in the chronosequence plots according to soil depth.

The isotopic discrepancy created by the vegetation change will persist for a length of time determined by the soil organic matter turnover rate. In fact, following a vegetation change ($C_3 \rightarrow C_4$ or vice versa), the rate which the $\delta^{13}C$ value of soil organic carbon changes to approach that of the new plant community is a measure of the soil organic matter turnover rate in that system (BALESDENT, GIRARDIN; MARIOTI, 1993).

Considering the chronosequence as a regeneration process, when the ecosystem is on A stage, approximately 15-20 years after the pasture abandon, almost all organic carbon comes from C_3 plants. However, the C_4 carbon is significantly present until M stage, more than 30 years after the pasture abandon. At 0-5; 5-10; 10-20; 20-40 and 40-100 cm the carbon from C_4 plants in the soil organic matter represented 39.1; 27.4; 14.9; 6.6; 6.0% and 50.3; 36.1; 19.1; 9.3; 8.8% in the P and H stages respectively (Table A2). In the A stage the highest value was 7.8% at 5-10 cm. Cerri (1989) found similar data where carbon from C_4 represented 38 and 42.5% in 2 and 8 years-old pastures. The major part of the stored carbon in the soil is from the remaining SOM from the C_3 (forest) plants, the pasture being responsible to add carbon in the soil and increase temporarily the carbon stock. In the Andisols studied by Ulloa; Veldkamp; Koning (2005), in a pasture-derived soil C practically disappeared after more than 15 years of secondary forest.

Considering the pasture abandon and a secondary succession taking place, immediately after the abandon an increase of carbon from pasture occurred, because the buffalo and cattle retreat allowed the free growth of the C_4 plants which are more efficient in taking advantage of this situation. The SOM increased by C_4 plants on P and H stages was later consumed by mineralization in the next stages (A; M; F) (Figure A.3; Table A.2).

Table A.2: C₄-derived C and C₃-derived C contributions to total soil C stocks for each depth, and for the 100 cm of successional stages in Mg per hectare. C₄ and C₃ derived C were calculated from soil C concentration, soil δ¹³C and bulk density of each depth. The values between parenthesis are proportional contribution in percentage (%).

Depths (cm)	P		H		A		M		F	
	C ₄	C ₃								
0-5	4.7 (39)	7.3 (61)	6.6 (50)	6.6 (50)	0.5 (4)	12.8 (96)	0.0	14.9	0.0	12.9
5-10	2.7 (27)	7.3 (73)	3.9 (36)	7.1 (64)	0.9 (8)	9.9 (92)	0.0	11.0	0.0	11.1
10-20	2.2 (15)	12.4 (85)	3.2 (19)	13.7 (81)	0.8 (5)	14.2 (95)	0.0	14.4	0.0	13.9
20-40	1.5 (7)	19.2 (93)	2.2 (9)	21.8 (91)	0.2 (1)	21.3 (99)	0.0	18.9	0.0	19.9
40-100	2.5 (6)	38.7 (94)	4.8 (9)	48.4 (91)	1.1 (2)	52.1 (98)	0.0	41.5	0.0	44.2
Total (C₄+C₃)	13.8 (14)	84.7 (86)	21.3 (18)	97.1 (82)	3.4 (3)	110.3 (97)	0.0	100.7	0.0	102.0
TOTAL	98.48		118.45		113.7		100.7		102.0	

The significance of C₄ carbon is very higher if we take only de superficial layers (0-10 cm) approximately 40% (stages P, H and A), but this layers, despite de high carbon content, represent in average 23% of the total carbon stock until 100 cm of depth. The major part of the stored carbon in the soil is from the remaining SOM from the C₃ (forest) plants, the pasture being responsible to add carbon in the soil and increase temporarily the carbon stock. In the Andisols studied by Ulloa,;Veldkamp; Koning (2005), in a pasture-derived soil C practically disappeared after more than 15 years of secondary forest.

Bernoux et al. (1990), observed that after deforestation and land use as pasture, occurs a progressive decrease of the remaining carbon from the forest (C_f) with time, because there is no organic matter input from C₃ plants, and the carbon from C₄ plants (C_p) increases. In all pastures studied by those authors the relative proportion of C_p decreased according the depth. Comparisons between pastures indicated that oldest pastures have a major proportion of C_p instead of C_f.

During the first decade of pasture development, grass-derived C rapidly replaces forest-derived soil C, while maintaining or slightly increasing total soil C stocks (NEILL et al., 1996)

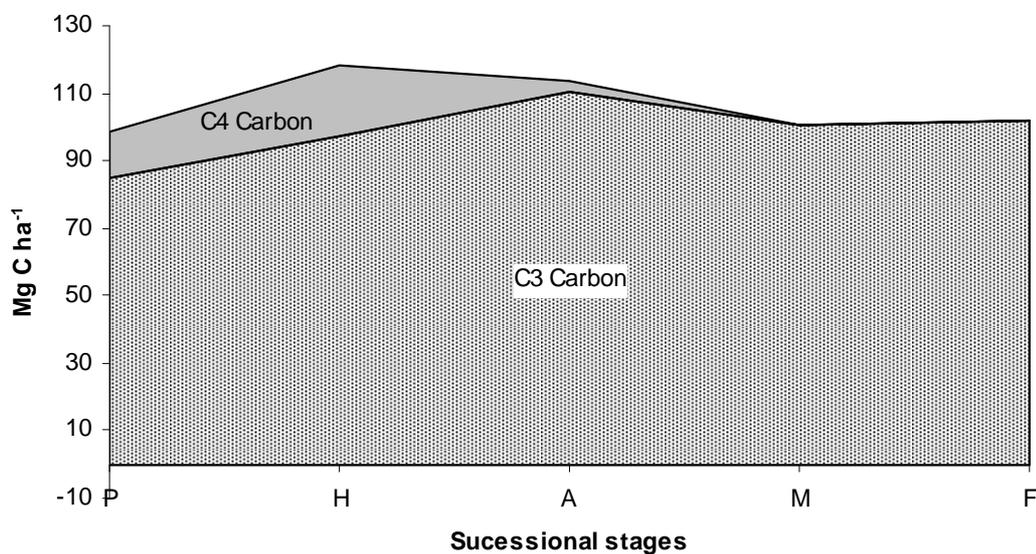


Figure A.3: Carbon resultant (in ton C ha⁻¹) from the C₄ and C₃ plants according to successional stages, until 100 cm of depth.

This change on the carbon stock promoted by vegetation community change has direct implications on the carbon sequestration in the ecosystem. Due to the increase in the soil carbon stock under pasture, mainly on superficial layers, the carbon emissions for the original forest suppression need to be compensated by C₄ plants carbon sequestration, by reducing in this way the soil net emission. And the opposite, when a pasture was abandoned and a secondary forest succession overcame.

A.5 Conclusions

The input of biomass from C₄ plants caused a variation in the isotopic constitution of C allowing to identify the contribution of these plants to the soil organic matter. But some years after the abandonment of the pasture the $\delta^{13}\text{C}$ values became again closest to that of the forest vegetation.

A.6 References

AIDE, T. M.; ZIMMERMAN, J. K.; PASCARELLA, J.B.; RIVERA, L.; MARCANO-VEGA, H. (2000) Forest regeneration in a chronosequence of tropical abandoned pastures: implications for restoration ecology. **Restoration Ecology** 8:328-338.

BALESDENT, J.; GIRARDIN, C.; MARIOTTI, A., (1993) Site-related $\delta^{13}\text{C}$ of tree leaves and soil organic matter in a temperate forest. **Ecology** 74:1713-1721.

BERNOUX, M.; CERRI, C.C.; NEILL, C.; de MORAES, J.F.L., (1998) The use of stable isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. **Geoderma**, 82 :43-58

BERNOUX, M.; FEIGL, B.J.; CERRI, C.C.; GERALDES, A.P.A.; FERNANDES, S.A.P. (1999) Carbono e nitrogênio em solo de uma cronosequência de floresta tropical - pastagem de Paragominas. **Scientia Agricola**. Piracicaba. 56:777-783, n. 4. .

BOUTTON, T.W. (1991) Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, Terrestrial, Marine, and Freshwater Environments. In: **Carbon Isotope Techniques**. Coleman, David C. and Fry, Brian (eds.) p. 173-185.

BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S.I. (eds.), 1996. **Mass Spectrometry of Soils**. Marcel Dekker, New York, 492 pp.

BROWN, S. (1997) Estimating biomass and biomass change of tropical forests: a primer. **FAO Forestry Papers**, v. 134, n.61.

BROWN, S.; LUGO, A.E. (1982) The storage and production of organic matter in tropical forests and their role in the global carbon cycle. **Biotropical**. v. 14, n. 3, p. 161-187.

CERRI, C.C.; FELLER, C.; BALESDENT, J.; VITÓRIA, R.L.; PLENECASSAGNE, A. (1985) Application du traçage isotopique naturel en ^{13}C , à l'étude de la dynamique de la matière organique dans les sols. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris**, v. 300, n. 1, p. 423-429.

CERRI, C.C. (1989) Dinâmica da matéria orgânica em solos de pastagens. In: Simpósio sobre ecossistemas e pastagens, Jaboticabal, 1989. **Anais**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. p. 135-147.

CERRI, C.C.; ANDREUX, F.; EDUARDO, B.P. (1992) O ciclo do carbono no solo. In: **Microbiologia do Solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Coords.) Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, SP. 360 p.

DIXON, R.K. et al. (1994) Carbon pools and flux of global forest ecosystems. **Science**. 236: 185-190.

DONAHUE, R.L.; MILLER, R.; SHICKLUNA, J. (1983) **Soils: An Introduction to Soils and Plant Growth**. 5th ed. Prentice-Hall.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos** (2005) 2. ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306 p.

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. **Australian Journal of Plant Physiology** 9, pp. 121–137.

HOUGHTON R. A.; BOONE, R.D.; MELILLO, J.M.; PALM, C.A.; WOODWELL, G.M.; MYERS, N. MOORE, B.; SKOLE, D.L. (1985) Net flux of carbon dioxide from tropical forests in 1980. **Nature** 316, 617-620.

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. (2008) Disponível em http://www.iapar.br/Sma/Cartas_Climáticas/Classificação_Climática.htm Acesso em 20 dez. 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2008) **Mapa da área da aplicação da Lei 11.428/2006**. IBGE. Rio de Janeiro.

IPARDES. (1991) **Diagnóstico físico-ambiental da Serra do Mar: área Sul**. Curitiba, IPARDES, 2v., 107p.

ULLOA, L. M.; VELDKAMP, E.; DE KONING G.H.J (2005) Soil Carbon Stabilization in Converted Tropical Pastures and Forests Depends on Soil Type. **Soil Science Society American Journal**. 69:1110–1117.

MARTINELLI L.A.; PICCOLO, M.C.; TOWNSEND, A.R.; VITOUSEK, P.M.; CUEVAS, E.; MCDOWELL W.; ROBERTSON; G.P.; SANTOS, O.C.; TRESEDER, K. (1999) Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry** 46: 45–65.

MELO, A.W.F. (2003) Avaliação do estoque e composição isotópica do carbono do solo do Acre. 2003. Dissertação (**Mestrado**) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853-858.

MORAES, J.F.L.; VOLKOFF, B.; CERRI, C.C.; BERNOUX, M. (1996) Soil properties under Amazon Forest and changes due the pasture installation in Rondônia, Brazil. **Geoderma**. 70:63-81.

MORELLATO, L.P.C.; HADDAD, C.F.B. (2000) The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica** 32:786-792.

NARDOTO, G.B. Abundância natural de ^{15}N na Amazônia e Cerrado – implicações para a ciclagem de nutrientes. **Tese** de Doutorado. Piracicaba, 2005. 100 p.

NEILL, C.; FRY, B.; MELILLO, J.M.; STEUDLER, P.A.; MORAES, J.F.L.; CERRI, C.C. (1996) Forest- and pasture-derived carbon contributions to carbon stocks and microbial respiration of tropical pasture soils. **Oecologia**, 107:113-119.

NEILL, C.; CERRI, C.C.; MELILLO, J.M.; FEIGL, B.J.; STEUDLER, P.A.; MORAES, J.F.L.; PICCOLO, M.C. (1997) Stocks and dynamics of soil carbon following deforestation for pasture in Rondônia. In: **Soil processes and the carbon cycle**. LAL, R.; KIMBLE, J.M.; FOLLET, R.F. and STEWART, B.A. (eds.). CRC Press LCC. Pg. 9-27.

NEILL, C.; CERRI, C.C.; MELILLO, J.M.; STEUDLER, P.A.; CERRI, C.C.; DE MORAES, J.F.L. PICCOLO, M.C.; BRITO, M. (1997a) Soil carbon and nitrogen stocks following forest clearing for pasture in the southwestern Brazilian Amazon. **Ecological Applications** 7(4) :1216-1225.

NEILL, C.; PICCOLO, M.C.; CERRI, C.C.; STEUDLER, P.A.; MELLILLO, J.M.; BRITO, M. (1997b) Net nitrogen mineralization and net nitrification rates in soils following deforestation pasture across de southwestern Brazilian Amazon Basin landscape. **Oecologia** 110:243-252.

PICCOLO, M.C.; NEILL, C.; CERRI, C.C. (1994) Natural abundance of ^{15}N in soils along forest-to-pasture chronosequences in Western Brazilian Amazon Basin. **Oecologia**, 99:112-117.

RACHWALL. M.F.; CURCIO, G.R. (1994) Principais tipos de solos do Estado do Paraná: suas características e distribuição na paisagem. In: **A vegetação natural do Estado do Paraná**. IPARDES, Curitiba.

SALIMON, C.I.; WADT, P.G.S.; MELO, A.W.F. de (2007) Dinâmica do carbono na conversão de floresta para pastagens em argissolos da formação geológica Solimões, no sudoeste da Amazônia. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v.7, nº 1, p. 29-38.

SOS Mata Atlântica; INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2009) **Atlas dos remanescentes florestais da mata atlântica período 2005-2008**. São Paulo, SP. 156 p.

SPVS/TNC - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental/The Nature Conservancy. (2000) **Projeto de Restauração da Floresta Atlântica**. Curitiba. 17p.

SPVS/TNC – Sociedade de Preservação da Vida Silvestre e The Nature Conservancy (2002) **Reserva Natural do Rio Cachoeira: Levantamento de solos**. Curitiba,. 63 p.

ULLOA, L. M.; VELDKAMP, E.; DE KONING G.H.J (2005) Soil Carbon Stabilization in Converted Tropical Pastures and Forests Depends on Soil Type. **Soil Science Society American Journal**. 69:1110–1117.

USDA - United States Department of Agriculture (1999) **Soil Taxonomy: A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys**. 2o Ed. By Soil Survey Staff. Natural Resources Conservation Service, Number 436. 836 p.

YONEYAMA, T.; OKADA, H.; CHONGPRADITNUM, P.i; ANDO, S.; PRASERTSAK, P.; HIRAI, K. (2006) Effects of vegetation and cultivation on $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and estimation of its turnover in Asian tropics: A case study in Thailand. **Soil Science and Plant Nutrition**. 52:95-102.

ARTIGO B: ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{13}C EM FOLHAS DE ESPÉCIES ARBÓREAS E HERBÁCEAS NA MATA ATLÂNTICA DO SUL DO BRASIL

B.1 Introdução

O carbono (C) entra na biosfera na forma de CO_2 atmosférico que é fixado pelas plantas por meio da fotossíntese. A matéria orgânica produzida durante a fotossíntese tem um valor de $\delta^{13}\text{C}$ que indica a rota metabólica da planta (C_3 , C_4 e CAM (SMITH; EPSTEIN, 1971).

Além dessa fonte de variação entre plantas C_3 e C_4 , os fatores ambientais também causam mudanças na composição isotópica entre as espécies de plantas. Nas plantas C_3 o valor de $\delta^{13}\text{C}$ aumenta linearmente com o decréscimo na relação entre a concentração de CO_2 intracelular e no ambiente (ci/ca) (FARQUHAR et al., 1982). Fatores ambientais podem reduzir a relação ci/ca. A alta radiação (aumentando o fluxo de CO_2 através do estômato) e o stress hídrico (causando o fechamento dos estômatos) causam aumento nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ em plantas C_3 . Assim, medições da composição isotópica da folhagem e do material orgânico podem ser úteis para examinar as complexas interações entre as árvores em florestas e seu ambiente de crescimento (CHEVILLAT et al., 2005). Durante a fotossíntese, o ^{13}C é discriminado contra seu isótopo leve ^{12}C , deixando a matéria orgânica empobrecida em ^{13}C em relação ao ar ambiente. A discriminação do ^{13}C está relacionada com a troca gasosa de CO_2 e com a eficiência no uso da água, sendo diretamente proporcional à razão entre concentração interna (ci) e externa (ca) de CO_2 , ao qual reflete o balanço entre condutância do estômato e a capacidade fotossintética (CHEVILLAT et al., 2005).

Em contraste, a variação isotópica nas espécies C_4 é menos sensível à variação na relação ci/ca (EVANS et al., 1986). Diels et al. (2001) revisando vários estudos observaram que as mudanças na composição isotópica em espécies C_4 em resposta às condições ambientais, como radiação e precipitação, são menores, mas nem por isso desprezíveis; e a direção desta mudança é mais difícil de ser predita em comparação com as espécies C_3 . A consequência destes fatos é que os fatores

ambientais podem causar variações do $\delta^{13}\text{C}$ entre espécies, particularmente entre as C_3 .

As análises da razão do carbono isotópico em plantas podem ajudar a compreender o ciclo do carbono fornecendo uma informação quantitativa dos limites da atividade fotossintética (FARQUHAR et al., 1989; EHLERINGER; MONSON, 1993). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ nas folhas são em parte determinados pelo caminho fotossintético e em parte pela capacidade de troca de gases, com as condições ambientais e com a disponibilidade de nutrientes (OMETTO et al., 2006).

O uso da análise dos isótopos estáveis em material vegetal pode fornecer importantes informações sobre a ecologia e dinâmica da vegetação e suas interações com o meio ambiente circundante (OMETTO et al., 2006). Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a variabilidade dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ nas folhas como modo para interpretar aspectos da ciclagem do C em uma cronosequência floresta-pastagem no ecossistema da Floresta Atlântica no sul do Brasil.

B.2 Material e Métodos

B.2.1 Área de estudo

Conforme item 3.1 (pg. 28).

B.2.2 Definição e características da cronosequência

Conforme item 3.3 (pg. 36).

B.2.3 Seleção das espécies vegetais e coleta das folhas

Conforme item 3.5.1 (pg. 42).

B.2.4 Análises de isótopos estáveis ^{13}C

As determinações analíticas foram realizadas no Laboratório de Isótopos Estáveis do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP). Do material beneficiado (seco e moído *mesh* 250) foram pesadas sub-amostras de 2 ($\pm 0,013$) mg que foram acondicionadas em cápsulas de estanho. Estas cápsulas eram introduzidas no analisador elementar (Carlo Erba 1110) para determinação de ^{12}C e ^{14}N via combustão. Posteriormente o gás seguia para um espectrômetro de massas ThermoQuest-Finnigam Delta Plus para determinação do $\delta^{13}\text{C}$.

A abundância natural de ^{13}C e ^{15}N é expressa em desvios por mil (‰) de um padrão internacional que no caso do C é a Peedee Belemnite (PDB) formação rochosa calcárea da Carolina do Sul, EUA.

$$\delta (\text{‰}) = [R \text{ sample} / R \text{ standard} - 1] \times 1000$$

Onde R = razão molar $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ na amostra e no padrão.

B.2.5 Análises estatísticas

Conforme item 3.5.3 (pg. 44).

B.3 Resultados e Discussão

B.3.1 Variação entre espécies

Devido a uma maior diversidade, as fases mais avançadas (M e F) tiveram um maior número de espécies amostradas. O valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ nas espécies C_3 analisadas foi de $-30,6\text{‰} \pm 1,5$ ($n = 127$; $-27,3$ a $-34,7\text{‰}$) (Tabela B.1). Estes valores, apesar de estarem dentro da faixa de variação encontrada em outros estudos, estão um pouco abaixo da média geral apresentada para as plantas C_3 que é de -27‰ (-21 a -35‰) (EHLERINGER, 1991). Porém, são um pouco superiores a valores encontrados em outras florestas tropicais, como alguns estudos na região amazônica, que apresentaram valores de $-32,1\text{‰}$ (MARTINELLI et al., 1998;

MARTINELLI et al., 1994; BUCHMANN et al., 1997) e $-32,2\text{‰}$ (OMETTO et al., 2006). A magnitude da variação dos valores foliares de $\delta^{13}\text{C}$ entre espécies C_3 foi de $4,1\text{‰}$, consideravelmente superior aos $2,5\text{‰}$ encontrados por Hanba; Noma; Umeki (2000); Chevillat et al. (2005); e aos 3‰ de Garten; Taylor (1992), todos em floresta temperadas, e $2,5\text{‰}$ encontrado por Ometto et al. (2006) em floresta amazônica.

Tabela B.1: Família, espécie botânica e número de árvores amostradas. Média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, teor de C e N (%) e relação C/N para as diferentes espécies estudadas. Valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão.

Família	Espécie	n	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	C (%)	N (%)	C:N (%)
Arecaceae	<i>Euterpe edulis</i>	9	-31,7 (1,4)	50,5 (2,5)	2,6 (0,2)	20,4 (2,0)
Bignoniaceae	<i>Jacaranda micrantha</i>	1	-30,7	51,8	1,8	23,9
Cecropiaceae	<i>Cecropia</i> sp.	2	-29,6 (0,6)	49,6 (0,8)	3,3 (0,2)	14,6 (0,8)
Elaeocarpaceae	<i>Sloanea guianensis</i>	8	-30,0 (0,5)	49,1 (1,2)	2,1 (0,5)	18,4 (3,4)
	<i>Alchornea triplinervia</i>	5	-29,1 (0,7)	42,8 (0,7)	2,4 (0,4)	16,1 (1,8)
Euphorbiaceae	<i>Hieronyma alchorneoides</i>	9	-29,5 (1,5)	48,6 (3,7)	2,2 (0,4)	21,1 (4,6)
	<i>Pera glabrata</i>	6	-29,5 (1,1)	49,0 (2,1)	2,4 (0,3)	16,7 (3,4)
Fabaceae	<i>Andira anthelmia</i>	2	-29,9 (1,4)	50,3 (1,9)	2,7 (0,3)	20,3 (1,8)
	<i>Centrolobium</i> sp.	1	-29,4	50,4	1,7	14,6
	<i>Inga edulis</i>	1	-31,7	52,4	3,3	24,9
	<i>Platymiscium floribundum</i>	1	-30,4	50,2	3,4	12,3
	<i>Pseudopiptadenia warmingii</i>	1	-29,2	51,9	2,8	20,7
Lauraceae	<i>Cryptocaria aschersoniana</i>	5	-31,0 (1,2)	48,7 (3,9)	2,2 (0,1)	17,6 (2,1)
	<i>Ocotea catharinensis</i>	6	-32,6 (1,2)	50,8 (1,0)	3,6 (0,3)	26,3 (5,4)
Melastomataceae	<i>Tibouchina pulchra</i>	10	-29,2 (0,6)	49,8 (1,2)	2,1 (0,2)	23,9 (7,6)
Mimosaceae	<i>Inga afinis</i>	1	-30,9	53,1	3,3	23,3
Mircinaceae	<i>Myrsine coriacea</i>	10	-30,8 (0,5)	50,4 (3,9)	2,6 (0,2)	20,6 (4,8)
Myristicaceae	<i>Virola bicuhyba</i>	3	-30,1 (0,3)	48,1 (0,1)	2,2 (0,3)	21,6 (0,8)
Myrtaceae	<i>Marlierea tomentosa</i>	4	-33,1 (1,0)	50,9 (0,4)	1,4 (0,1)	28,2 (6,1)
Poaceae	<i>Panicum maximum</i>	11	-12,6 (0,4)	47,4 (5,9)	2,7 (0,3)	19,8 (5,2)
	<i>Brachiaria humidicola</i>	1	-13,4	45,0	1,9	21,0
Quinaceae	<i>Quiina glaziovii</i>	3	-31,8 (1,2)	50,4 (0,5)	3,6 (1,5)	32,7 (6,2)
Rubiaceae	<i>Bathysa australis</i>	5	-31,0 (0,7)	48,0 (4,8)	2,5 (0,4)	22,9 (5,5)
	<i>Psychotria nuda</i>	5	-32,1 (0,9)	46,9 (2,8)	2,9 (0,3)	18,7 (8,4)
Salicaceae	<i>Casearia decandra</i>	3	-31,6 (0,3)	47,4 (4,4)	2,0 (0,2)	21,2 (6,0)
	<i>Casearia sylvestris</i>	7	-31,4 (0,9)	48,1 (3,1)	2,9 (0,3)	20,1 (2,9)
Sapindaceae	<i>Cupania oblongifolia</i>	6	-29,5 (1,3)	49,3 (4,4)	2,3 (0,2)	22,5 (3,5)
Verbenaceae	<i>Cytharexylum myrianthum</i>	2	-29,1 (0,3)	46,5 (0,2)	1,7 (0,1)	21,3 (0,4)

As espécies que apresentaram os menores valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ foram *Marlierea tomentosa* (-33,1‰) e *Ocotea catharinensis* (-32,6‰), presentes somente na fase F, e *Psychotria nuda* (-32,3‰) e *Euterpe edulis* (31,7‰) duas espécies típicas de sub-bosque encontradas nas fases M e F. Segundo Ometto et al. (2006), estes valores empobrecidos de ^{13}C refletem uma forte contribuição das folhas parcialmente a totalmente sombreadas na fotossíntese das copas.

Os maiores valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ foram encontrados em espécies típicas das fases iniciais (H e A) como *Cytherexylum myrianthum* (-29,1‰), *Tibouchina pulchra* (-29,2‰), *Cecropia glaziowii* (-29,6‰), *Andira anthelmia* (-29,9‰) e em espécies com grande capacidade de adaptação encontradas desde a fase H até M, conhecidas como secundárias iniciais, como *Cupania oblongifolia* (-29,5‰), *Hieronyma alchorneoides* (-29,5‰) e *Pera glabrata* (-29,5‰). Estes dois grupos, das maiores e menores médias de $\delta^{13}\text{C}$ são significativamente diferentes pelo teste de t ($p>0,05$).

Apesar da clara tendência descrita acima, pequenas variações nos valores observados poderiam ser atribuídas também à variabilidade nos valores de fotossíntese devido às variações de luminosidade dentro da floresta. Bassow; Bazzaz (1997) demonstraram que a fotossíntese pode variar entre espécies e entre indivíduos da mesma espécie em florestas temperadas. Isto também é verdade para florestas tropicais (MARTINELLI et al., 1998), onde o elevado número de espécies e indivíduos por hectare pode promover uma alta variedade de ambientes em termos de fotossíntese que irá afetar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da vegetação. As variações na iluminação das copas também podem ser responsáveis por muito desta variação (BERR; VARNEY; FLANAGAN, 1997), como foi observado por Martinelli et al. (1998) e pode ajudar a explicar a variação nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados neste trabalho.

Os teores de C variaram entre 37,9 e 54,5%, sendo significativamente maiores nas leguminosas. As espécies não-leguminosas apresentaram, em contrapartida, valores maiores na relação C/N. As plantas C_3 apresentaram teor de C e relação C:N significativamente maior que as C_4 .

A duas espécies de ciclo C_4 , *Panicum maximum* (-12,6‰) e *Brachiaria humidicola* (-13,4‰), apresentaram valores bem mais altos quando comparadas às espécies C_3 ; e dentro da faixa de variação relatada por Ehleringer (1991), com

média de 12,0‰ (entre 10 e 14‰). No caso do *Panicum maximum* que é a principal pastagem utilizada na região foram identificadas variações significativas na média dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre P (-12,3‰), em uso, e H (-12,8‰) onde a presença de arbustos e algumas árvores pioneiras provocam sombreamento (Figura B.1). O teor de carbono aumentou significativamente de 42,8% em P para 44,7% em H. O mesmo fato foi observado por Buchmann et al. (1996) que observaram em estudos de campo e estufa que a variação na intensidade luminosa e disponibilidade de água causaram mudanças entre 0,3 a 4,0‰ nos valores de $\delta^{13}\text{C}$.

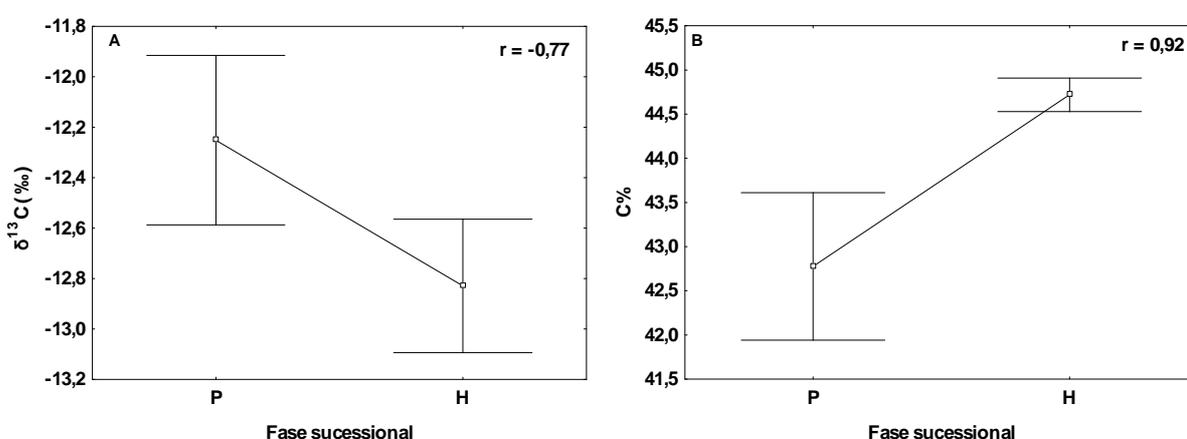


Figura B.1: Média e desvio padrão nos valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (A) e do teor de carbono (B) do *Panicum maximum* na pastagem em uso (P) e na pastagem abandonada (H).

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ nas gramíneas C_4 mostraram correlação significativa com o teor de C% (-0,87: $p > 0,05$).

A composição isotópica da biomassa pode ser considerada um padrão interno da planta. Logo, a diferença isotópica entre um fracionamento específico e o seu padrão pode ser usado como um critério para caracterizar um fluxo assimilatório ou fotorrespiratório. Assim, o enriquecimento no isótopo ^{12}C é um indicador da dominância do fluxo assimilatório do carbono na síntese de componentes maiores de uma dada fração. O enriquecimento em isótopo ^{13}C indica a predominância do fluxo fotorrespiratório na síntese desta fração (IVLEV, 2004).

Em plantas estressadas, a biomassa se torna enriquecida em ^{13}C , porém depende da fonte do fator de estresse, e irá refletir os caminhos da adaptação bioquímica. Estes fatores incluem disponibilidade de água, taxa de iluminação,

temperatura, salinidade da água, entre outros (IVLEV, 2004). No caso deste trabalho, com base nos valores de $\delta^{13}\text{C}$, seria possível supor que o principal fator de estresse para a gramínea seria o pastoreio do gado com biomassa reduzida, e não o início de um sombreamento após interrupção do pastoreio e grande incremento em biomassa.

B.3.2 Variação na cronosequência

O teor médio de C na fase P (gramíneas) foi significativamente menor que nas demais fases, que não diferiram entre si (Figura B.2A).

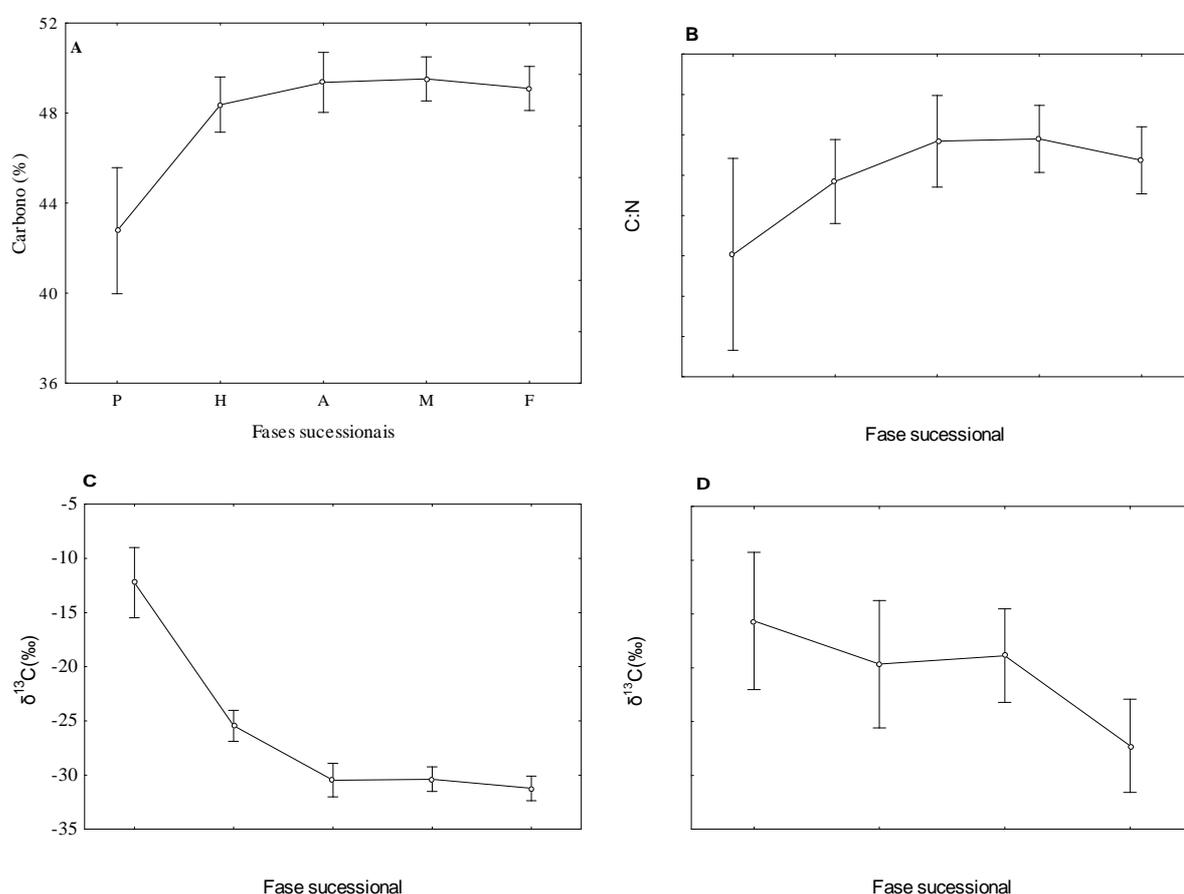


Figura B.2: Média e desvio padrão dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ até 100 cm (C), até 20 cm (D), teor de C% (A) e relação C:N (B) de acordo com as fases da cronosequência

Os valores da relação C:N não diferiram entre as fases da cronosequência (Figura B.2B), apesar de haver uma tendência de menores valores nas fases P e H.

O valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ foi superior na fase P, sendo seguido pelo valor na fase H, que também foi superior aos valores das demais fases, porém, neste caso, a média de H (-25,4‰) contém valores mistos de plantas C_4 e C_3 (Figura B.2C).

Na fase H, se forem excluídos os valores das plantas C_4 , a nova média não difere das fases A, M e F (Duncan, $p > 0,05$) (Figura B.2D), mas permanece a tendência de empobrecimento do ^{13}C com a evolução das fases sucessionais.

Assumindo a tendência de empobrecimento do isótopo ^{13}C encontrada nas plantas C_3 na cronoseqüência (H-A-M-F) (Figura 5.2D), considerando esta seqüência de fases no sentido H (alto estresse) para F (baixo estresse), é possível retomar a conclusão de Ivlev (2004) sobre o enriquecimento do ^{13}C na biomassa de plantas estressadas, e aplicar também para os ambientes da cronoseqüência.

B.4 Conclusões

A biomassa das árvores de estádios iniciais se apresentaram significativamente mais enriquecidas em ^{13}C do que as árvores de estádios mais avançados. Isto sugere um aumento do fluxo fotorrespiratório de assimilação de carbono nos estádios iniciais, decorrente de maior competição, entre as plantas, por água e nutrientes.

B.5 Referências

BASSOW, S.L.; BAZZAZ, F.A. (1997) Intra and inter-specific variation in canopy photosynthesis in a mixed deciduous forest. **Oecologia**. 109:507-515

BERR, S.C.; VARNEY, G.T.; FLANAGAN, L.B. (1997) Leaf $\delta^{13}\text{C}$ in Pinus resinosa trees and understory plants: variation associated with light and CO_2 gradients. **Oecologia**, 13:499-506.

BUCHMANN, N.; BROOKS, J.R.; RAPP, K.D.; EHLERINGER, J.R. (1996). Carbon isotope composition of C_4 grasses is influenced by light and water supply. **Plant, Cell and Environment**. 19:392-402.

BUCHMANN, N.; GUEHL, J.M., BARIGAH, T.S., EHLERINGER, J.R. (1997) Interseasonal comparison of CO_2 concentrations, isotopic composition, and carbon dynamics in an Amazonian rainforest (French Guiana). **Oecologia** 110:120-131

CHEVILLAT, V.S.; SIEGWOLF, T.W.; PEPIN, S.; KÖRNER, C. (2005) Tissue-specific variation of $\delta^{13}\text{C}$ in mature canopy trees in a temperate forest in central Europe. **Basic and Applied Ecology**. 6:519-534.

DIELS, J.; VANLAUWE, B.; SANGINGA, N.; COOLEN, H.; MERCKX, R. (2001) Temporal variations in plant $\delta^{13}\text{C}$ values and implications for using the ^{13}C technique in long-term soil organic matter studies. **Soil Biology & Biochemistry** 33:1245-1251.

EHLERINGER, J.R.; PHILLIPS, S.L.; SCHUSTER, W.F.; SANDQUIST, D.R. (1991) Differential utilization of summer rains by desert plants. *Oecologia*, 88:430-434.

EHLERINGER, J.R.; MONSON, R.K. (1993). Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annual Review Ecology Systematic*. 24: 411–439.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (2005) **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 306 p.

EVANS, J.R.; SHARKEY, D.T.; BERRY, J.A.; FARQUHAR, G.D. (1986) Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO_2 diffusion in leaves of higher plants. **Australian Journal of Plant Physiology** 13:281–292

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. **Australian Journal of Plant Physiology** 9, pp. 121–137.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review Plant Physiology**. *Plant Mol. Biol.* 40: 503–537.

GARTEN, C.T.; e TAYLOR, G.E. (1992). Foliar $\delta^{13}\text{C}$ within a temperate deciduous forest: Spatial, temporal, and species sources of variation. **Oecologia**, 90:1–7.

HANBA, Y.T.; NOMA, N.; UMEKI, K. (2000). Relationship between leaf characteristics, tree sizes and species distribution along a slope in a warm temperate forest. **Ecological Research**, 15:393–403.

IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. (2008) Disponível em http://www.iapar.br/Sma/Cartas_Climáticas/Classificação_Climática.htm Acesso em 20 dez. 2008.

IPARDES. (1991) **Diagnóstico físico-ambiental da Serra do Mar: área Sul**. Curitiba, IPARDES, 2v., 107 p.

IVLEV, A.A. (2004) Contribution of photorespiration to changes of carbon isotope characteristics in plants affected by stress factors. **Russian Journal of Plant Physiology**, 51:271–280

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. **Australian Journal of Plant Physiology** 9, pp. 121–137.

FARQUHAR, G.D., HUBICK, K.T., CONDON, A.G. and Richards, R.A., (1989). Carbon isotope fractionation and plant water-use efficiency. In: Rundel, P.H., Ehleringer, J.R. and Nagy, K.A., Editors, 1989. **Stable Isotopes in Ecological Research Ecological Studies** No 68, Springer-Verlag, New York, pp. 21–40.

MARTINELLI, L.A.; VICTORIA, R.L.; FORSBERG, B.R.; RICHEY, J.E. (1994) Isotopic composition of major carbon reservoirs in the Amazon Foodplain. **International Journal of Ecology Environment Science** 20:31-46

MARTINELLI, L.A.; ALMEIDA, S.; BROWN, I.F.; MOREIRA, M.Z.; VICTORIA, R.L.; STERNBERG, L.S.L.; FERREIRA, C.A.C.; THOMAS, W.W. (1998) Stable carbon isotope ratio of tree leaves, boles and fine litter in a tropical forest in Rondônia, Brazil. **Oecologia** 114:170-179.

OMETTO, J.P.H.B.; EHLERINGER, J.R.; DOMINGUES, T.F.; BERRY, J.A.; ISHIDA, F.Y.; MAZZI, E.; HIGUCHI, N.; FLANAGAN, L.B.; NARDOTO, G.B.; MARTINELLI, L.A. (2006) The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. **Biogeochemistry** 79:251-274.

SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. (1971) Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. **Plant Physiology** 47:380-384.

SPVS; TNC - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental; The Nature Conservance (2000) **Projeto de Restauração da Floresta Atlântica**. Curitiba. 17p.

ARTIGO C: ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N NO SOLO DE UMA CRONOSQUÊNCIA FLORESTA-PASTAGEM EM FLORESTA ATLÂNTICA NO SUL DO BRASIL

C.1 Introdução

A Mata Atlântica abrangia originalmente 1.315.460 km² no território brasileiro (IBGE, 2008). As áreas remanescentes somam hoje 102.012 km², ou seja, 7,9% da cobertura original. Estes remanescentes estão distribuídos de forma extremamente fragmentada, estando ainda sobre intensa pressão antrópica (SOS Mata Atlântica; INPE, 2009). Devido a pressão para preservação e recuperação destes remanescentes, dos quais 10,5% estão no estado do Paraná (SOS Mata Atlântica; INPE, 2009) as áreas de pastagens, uns dos principais usos do solo nesta região (SPVS; TNC, 2000), estão sendo transformadas em áreas de proteção para a restauração da vegetação original.

Nestas áreas, o estudo das características do solo e da vegetação após desflorestamento, cultivo de gramíneas para pastagens, e posterior abandono para recuperação natural, é de grande importância para o entendimento das conseqüências ecológicas do processo desflorestamento-cultivo-recuperação na biogeoquímica dos elementos naturais, no caso, o nitrogênio (N). Segundo Nadelhoffer; Fry (1994) e Högberg (1997), o balanço entre as entradas e saídas de N de um ecossistema pode ser avaliado usando metodologia da abundância natural de isótopos estáveis de N, que é capaz de fornecer medidas integradas sobre a dinâmica do N ao longo do tempo. O fracionamento isotópico é um importante indicador de mudanças na dinâmica e nas fontes de N entre diferentes ecossistemas ou em alterações decorrentes da mudança de uso da terra. A variação natural do $\delta^{15}\text{N}$ no solo reflete, além do fracionamento do N adicionado ao solo durante as transformações microbiológicas, as diferentes fontes de N para o solo (PICCOLO; NEILL; CERRI, 1994; PICCOLO et al., 1996).

Em geral o N dos solos é mais enriquecido em ^{15}N do que o N_2 atmosférico, assim, plantas que tem o solo como fonte primária de N devem apresentar valores maiores de ^{15}N em seus tecidos (YONEYAMA et al., 1993) do que as plantas que

realizam a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (SHEARER; KOHL, 1986). A FBN parece discriminar pouco contra o ^{15}N , o efeito isotópico associado com este processo é modesto, geralmente da ordem de 2‰ (SHEARER; KOHL, 1986). Assim, a assinatura isotópica destas plantas, quando estão fixando N_2 atmosférico, tende a ficar próxima de 0‰ (EHLERINGER; RUNDEL, 1989). Porém, espécies que não são capazes de fixar N_2 atmosférico mostram uma grande variação na sua razão isotópica dependendo da taxa de mineralização de N no solo (GARTEN; VAN MIEGROET, 1994). Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ de um determinada fonte de nitrogênio e as reações pela qual a planta metaboliza este nitrogênio são refletidas nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos tecidos desta planta (YONEYAMA et al., 1993). Isto tornaria possível identificar com alguma segurança, quais espécies de leguminosas teriam a maioria do seu N derivado da FBN. Desta forma, o $\delta^{15}\text{N}$ pode ser usado para determinar se a fonte de N é predominantemente de origem atmosférica ou oriunda do solo (NARDOTO, 2005).

Ainda são poucos os trabalhos em florestas tropicais, principalmente no Sul do Brasil acerca da transformação de florestas primárias em pastagens e seus efeitos nos processos e na dinâmica do N. Especialmente, no caso de abandono da pastagem e estabelecimento de uma sucessão secundária. Neste trabalho serão examinados os valores de ^{15}N na vegetação, serapilheira e solo de uma cronoseqüência floresta-pastagem no ecossistema da Floresta Ombrófila Densa no sul do Brasil. A partir destes dados pretende-se entender melhor a dinâmica e o fracionamento do N nas diferentes fases de regeneração da floresta após o abandono de uma área de pastagem.

C.2 Material e Métodos

C.2.1 Área de estudo

Conforme item 3.1 (pg. 28).

C.2.2 Definições e características da cronoseqüência

Conforme item 3.3 (pg. 36)

C.2.3 Seleção das espécies vegetais e coleta das folhas

Conforme item 3.5.1 (pg. 42).

C.2.4 Coleta de solo e serapilheira

Conforme itens 3.5.2 e 3.5.3 (pg. 42-44).

C.2.5 Correção da massa do solo

Conforme item 3.5.4 (pg. 44).

C.2.6 Análises físicas e químicas

Conforme item 3.5.3 (pg. 44).

C.2.7 Análises de $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$

Deste material beneficiado foram pesadas sub-amostras de 2 mg para folhas e serapilheira e de 25, 25, 30, 35 e 45 mg de solo para as profundidades de 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 e 40-100 cm, respectivamente. Estes valores foram definidos após análises teste feitas com o material de estudo. A determinação dos teores de C e N foram feitas por combustão no equipamento LECO CN-2000, e as leituras da variação isotópicas foram realizadas com o espectrômetro de massas Finnigan Delta Plus, no Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP). A abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) é expressa em desvios por mil (‰) de um padrão internacional, que no caso do N é o ar atmosférico

$$\delta (\text{‰}) = [R \text{ sample} / R \text{ standard} - 1] \times 1000$$

Onde R = razão molar $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ na amostra e no padrão.

C.3 Resultados

C.3.1 Solo

A tabela C.1, a seguir, apresenta os resultados das análises físicas e químicas das amostras dos solo.

Tabela C.1: Características físicas e químicas dos solos de acordo com as fases sucessionais e profundidades, para cambissolo em Floresta Ombrófila Densa Submontana no sul do Brasil (\pm desvio padrão).

Prof. cm	Densidade g cm ⁻³	Nitrogênio total %	Fósforo* mg.dm ⁻³	pH CaCl ₂	H+Al	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB cmolc.dm ⁻³	V (%)	Areia	Silte (%)	Argila
PASTAGEM (P)													
0-5	0.89 ± 0.37	0.27 ± 0.06	10,3 ± 6,77	4,40 ± 0,53	8,0 ± 2,4	3,33 ± 4,9	1,30 ± 1,8	0,33 ± 0,25	4,96 ± 6,98	28,7 ± 35,0	42,7	23,1	34,2
5-10	1.06 ± 0.16	0.20 ± 0.06	7,57 ± 7,48	4,37 ± 0,55	7,1 ± 1,3	2,40 ± 3,6	1,17 ± 1,7	0,17 ± 0,16	3,74 ± 5,46	25,7 ± 32,3	46,0	14,9	39,2
10-20	1.13 ± 0.09	0.14 ± 0.03	3,73 ± 3,11	4,37 ± 0,38	6,3 ± 1,2	1,10 ± 1,5	0,57 ± 0,7	0,13 ± 0,13	1,80 ± 2,33	19,7 ± 23,7	38,9	22,0	39,2
20-40	1.14 ± 0.10	0.08 ± 0.02	2,33 ± 1,40	4,43 ± 0,40	5,6 ± 1,2	0,80 ± 1,0	0,60 ± 0,7	0,12 ± 0,14	1,52 ± 1,96	19,3 ± 24,0	38,5	14,0	47,5
40-100	1.16 ± 0.20	0.06 ± 0.02	3,30 ± 3,24	4,47 ± 0,67	6,7 ± 3,3	0,77 ± 0,9	0,33 ± 0,4	0,15 ± 0,20	1,25 ± 1,59	17,3 ± 21,6	35,7	16,0	48,3
HERBÁCEO (H)													
0-5	0.82 ± 0.11	0.28 ± 0.05	4,70 ± 2,69	4,03 ± 0,32	9,2 ± 2,1	1,07 ± 0,7	0,63 ± 0,5	0,17 ± 0,05	1,87 ± 2,04	16,3 ± 18,0	40,2	21,4	38,3
5-10	0.98 ± 0.08	0.21 ± 0.03	3,77 ± 2,53	4,07 ± 0,25	9,0 ± 2,1	0,73 ± 0,7	0,37 ± 0,3	0,11 ± 0,03	1,21 ± 1,15	12,0 ± 12,1	37,7	24,8	37,5
10-20	1.12 ± 0.05	0.15 ± 0.01	2,30 ± 2,04	4,10 ± 0,17	8,1 ± 2,1	0,67 ± 0,7	0,40 ± 0,5	0,07 ± 0,05	1,14 ± 1,29	12,3 ± 13,7	34,0	16,9	49,2
20-40	1.12 ± 0.09	0.09 ± 0.01	1,30 ± 1,08	4,17 ± 0,29	7,3 ± 2,1	0,40 ± 0,3	0,23 ± 0,2	0,05 ± 0,04	0,68 ± 0,61	10,0 ± 10,4	34,4	13,9	51,7
40-100	1.13 ± 0.16	0.07 ± 0.00	1,07 ± 0,76	4,17 ± 0,31	8,1 ± 3,4	0,33 ± 0,2	0,27 ± 0,1	0,04 ± 0,03	0,64 ± 0,36	8,7 ± 6,7	34,6	12,9	52,5
INICIAL (A)													
0-5	0.72 ± 0.08	0.29 ± 0.05	6,13 ± 0,40	4,07 ± 0,23	9,3 ± 1,4	1,23 ± 0,9	0,70 ± 0,6	0,22 ± 0,06	2,16 ± 1,51	18,3 ± 12,4	39,6	18,8	41,7
5-10	0.92 ± 0.01	0.22 ± 0.03	4,03 ± 1,46	4,10 ± 0,10	9,0 ± 0,7	0,70 ± 0,4	0,47 ± 0,3	0,12 ± 0,05	1,28 ± 0,79	12,3 ± 7,4	41,2	13,8	45,0
10-20	1.09 ± 0.16	0.14 ± 0.04	2,23 ± 0,23	4,17 ± 0,06	7,8 ± 0,0	0,43 ± 0,2	0,30 ± 0,2	0,06 ± 0,01	0,80 ± 0,40	9,3 ± 4,0	38,2	15,2	46,7
20-40	1.12 ± 0.14	0.09 ± 0.04	1,60 ± 0,61	4,17 ± 0,12	6,5 ± 0,6	0,43 ± 0,2	0,30 ± 0,2	0,04 ± 0,01	0,77 ± 0,30	10,7 ± 4,0	40,4	12,1	47,5
40-100	1.10 ± 0.21	0.08 ± 0.02	2,90 ± 1,45	4,10 ± 0,26	7,8 ± 3,1	0,27 ± 0,2	0,27 ± 0,1	0,04 ± 0,01	0,57 ± 0,22	8,0 ± 4,4	41,6	10,1	48,3
MÉDIO (M)													
0-5	0.70 ± 0.08	0.30 ± 0.02	10,3 ± 6,85	3,77 ± 0,23	13,9 ± 4,5	0,47 ± 0,3	0,40 ± 0,3	0,17 ± 0,03	1,03 ± 0,62	6,7 ± 4,0	37,9	17,9	44,2
5-10	0.91 ± 0.09	0.22 ± 0.02	5,20 ± 3,04	3,80 ± 0,26	11,4 ± 4,2	0,30 ± 0,1	0,23 ± 0,1	0,11 ± 0,05	0,64 ± 0,25	5,7 ± 2,1	37,2	12,8	50,0
10-20	1.00 ± 0.07	0.13 ± 0.01	1,87 ± 0,59	3,90 ± 0,17	10,1 ± 5	0,20 ± 0,1	0,10 ± 0,0	0,07 ± 0,03	0,37 ± 0,09	3,7 ± 1,2	34,9	19,5	46,7
20-40	1.02 ± 0.15	0.08 ± 0.01	1,23 ± 0,55	4,03 ± 0,21	9,4 ± 2,4	0,23 ± 0,1	0,13 ± 0,1	0,04 ± 0,02	0,41 ± 0,10	4,7 ± 1,5	35,3	11,4	53,3
40-100	1.07 ± 0.11	0.06 ± 0.01	0,77 ± 0,45	4,07 ± 0,15	8,6 ± 2,1	0,13 ± 0,1	0,10 ± 0,0	0,03 ± 0,02	0,26 ± 0,04	3,0 ± 1,0	32,7	14,0	53,3
FLORESTA (F)													
0-5	0.72 ± 0.08	0.28 ± 0.03	8,30 ± 0,69	3,73 ± 0,21	12,9 ± 2,1	0,60 ± 0,3	0,33 ± 0,2	0,18 ± 0,03	1,11 ± 0,58	8,3 ± 4,4	38,0	14,5	47,5
5-10	0.79 ± 0.16	0.23 ± 0.02	4,90 ± 0,50	3,80 ± 0,10	11,9 ± 1,0	0,43 ± 0,3	0,23 ± 0,1	0,12 ± 0,01	0,79 ± 0,35	6,3 ± 3,1	33,5	19,9	46,7
10-20	0.83 ± 0.27	0.15 ± 0.01	3,63 ± 0,74	3,90 ± 0,10	10,0 ± 0,9	0,37 ± 0,2	0,17 ± 0,1	0,08 ± 0,02	0,61 ± 0,22	5,7 ± 2,3	34,0	20,1	45,8
20-40	0.95 ± 0.17	0.09 ± 0.01	2,27 ± 0,68	3,97 ± 0,06	8,4 ± 0,6	0,27 ± 0,2	0,17 ± 0,1	0,05 ± 0,02	0,48 ± 0,23	5,3 ± 2,1	32,8	18,9	48,3
40-100	1.01 ± 0.07	0.06 ± 0.01	3,27 ± 3,10	4,03 ± 0,12	7,5 ± 0,7	0,18 ± 0,1	0,10 ± 0,0	0,04 ± 0,02	0,40 ± 0,16	4,8 ± 1,8	30,0	16,7	53,3

As proporções de areia, silte e argila não variaram significativamente entre as fases sucessionais, considerando toda camada até 100 cm, e nem nas diferentes profundidades de coleta (Tukey, HSD, $p > 0,05$). O solo foi classificado como textura argilosa (LEMOS; SANTOS, 1996; EUA, 1993).

A acidez foi sempre elevada em todas as profundidades de todas as fases. Na fase P o pH foi extremamente ácido e significativamente (Tukey, HSD, 0,05) diferentes das demais fases, que tiveram pH ácido (Embrapa, 2005). Os valores de Soma de Bases (SB), foram significativamente inferiores nas fases M e F (0,54 e 0,68 cmolc.dm^{-3}) em comparação às fases P, H e A (2,65; 1,16 e 1,12 cmolc.dm^{-3}) que foram semelhantes entre si (Tukey, HSD, $p > 0,05$). Percebe-se uma clara tendência de redução no sentido $P \rightarrow F$. Nas diferentes profundidades não houve diferença significativa na SB, porém isto foi devido a grande variabilidade dos dados, principalmente nas fases P e H.

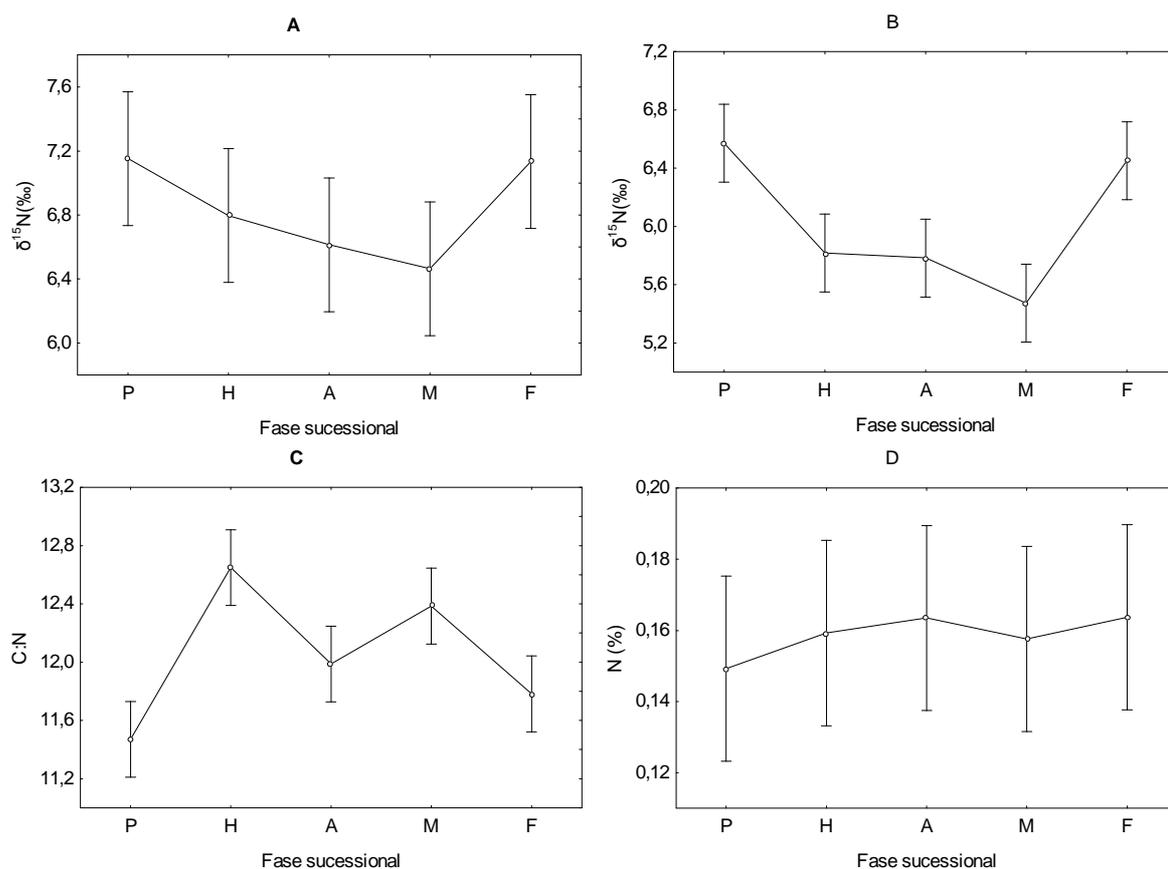


Figura C.1: Variação nos valores de ^{15}N (‰), teores de N(%) e relação C:N no solo até 100 cm de profundidade (A, C e D), variação dos valores de ^{15}N (‰) até 20 cm de profundidade, nas diferentes fases sucessionais (B).

As fases H e A tiveram os maiores valores de nitrogênio acumulado (1,05 e 1,06 kg m⁻²) até 100 cm sendo que o nitrogênio acumulado não diferiu significativamente entre as fases da cronoseqüência. Ocorreu um decréscimo acentuado da concentração de N em relação à profundidade chegando a 0,08% em todas as fases a 40 cm de profundidade. Semelhante decréscimo foi encontrado por Nardoto (2005) em solos da Amazônia, porém com concentrações ainda menores 0,05% a 50 cm.

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ não variaram significativamente entre as diferentes fases considerando a camada de solo até 100 cm (Figura C.1A). Apesar disto, é possível perceber uma clara tendência de empobrecimento no valores de $\delta^{15}\text{N}$ a partir do abandono da pastagem, onde ocorre a sucessão vegetal secundária, e enriquecimento na fase F, onde o uso do solo jamais foi alterado. Esta tendência se acentua se analisarmos apenas a camada superficial de 0-20 cm, as fases H, A e M se tornam significativamente empobrecidas em ¹⁵N tanto em relação a pastagem em uso (P) quanto a floresta pouco alterada (F) (Figura C.1B).

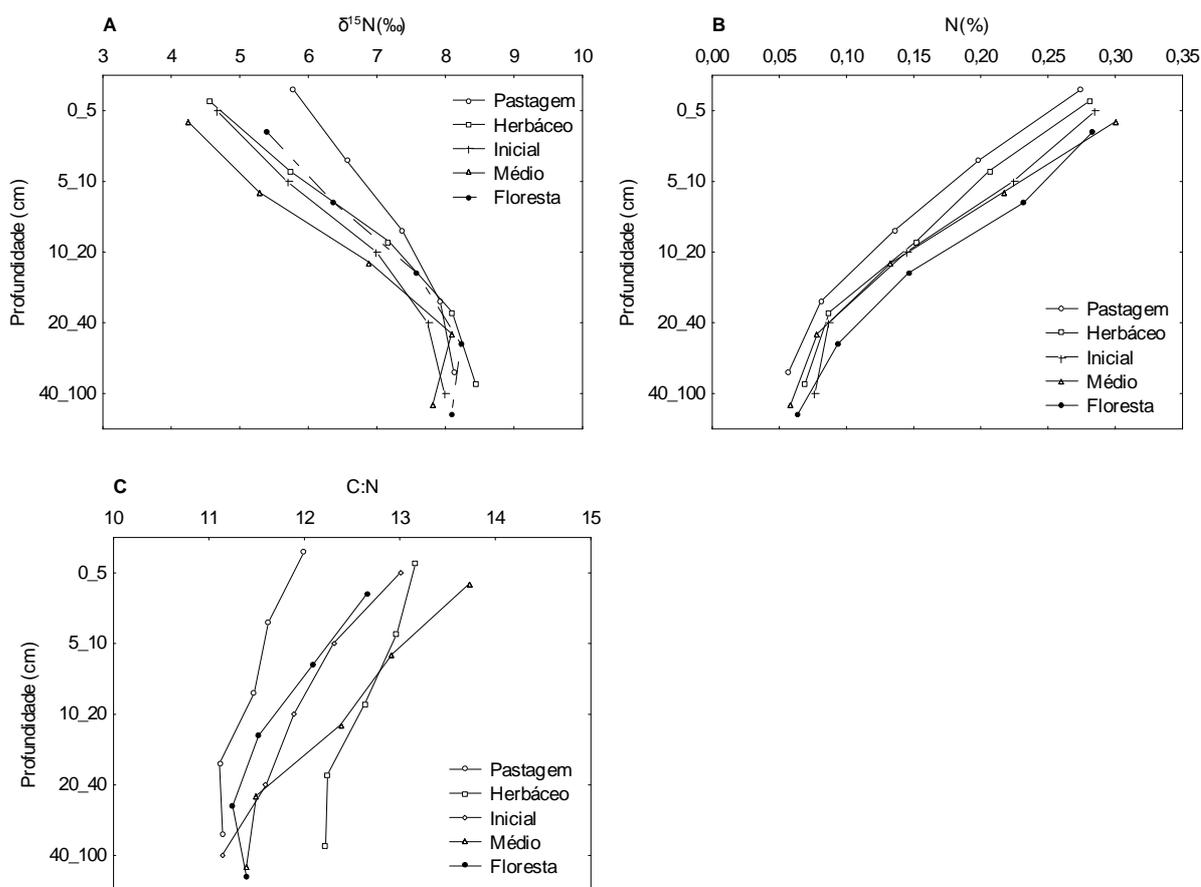


Figura C.2: Variação nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) (A), teores de N(%) (B) e relação C:N (C) nas diferentes profundidades até 100 cm

A relação C:N apresentou grande variação considerando a média até 100 cm, e manteve exatamente o mesmo comportamento na camada até 20 cm (Figura C.1C). Os valores da concentração de N(%) também não diferiram estatisticamente nas camadas até 100 cm bem como na camada até 20 cm (Figura C.1D).

A variação nos valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ foi muito mais sensível ao fator profundidade do solo. As camadas superficiais do solo (0-5 e 5-10) de todas as fases estavam empobrecidas em relação às camadas mais profundas (Figura C.2A). As camadas superficiais dos solos sob pastagem em uso (P), apresentaram os maiores valores médios de $\delta^{15}\text{N}$, 7,2‰, com valor máximo de 9,2‰ e mínimo de 5,0‰. Nos solos sob floresta pouco alterada (F) a amplitude da variação dos teores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$, em todas as profundidades, foi de 4,8‰ (4,4 a 9,2). A partir da profundidade de 20 cm os valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ não apresentaram diferença significativas (Tukey, HSD, $p>0,05$).

O aumento da abundância de ^{15}N e redução da concentração de N com a profundidade do solo é um padrão clássico de ocorrência nos solos (NADELHOFFER; FRY,1988). Isto é comumente atribuído à preferência por ^{14}N sobre o ^{15}N durante a nitrificação ou desnitrificação, que resulta em baixa abundância de ^{15}N nos produtos dessas reações e consequente enriquecimento na abundância nos resíduos (NADELHOFFER; FRY,1988).

Os teores de N(%) foram significativamente diferentes em todas as profundidades analisadas (Figura C.2B). A relação C:N, apesar de não ter apresentado grande variação nos valores, 12,9 de 0-5 cm e 11, 5 de 40-100, a primeira camada foi significativamente diferentes das demais, com clara tendência de redução com a profundidade (Figura C.2C). O teor de N e a relação C:N tiveram relações negativas significativas com os valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ com coeficientes de correlação (r) de -0,78 e -0,63, respectivamente.

C.3.2 Serapilheira

Devido às pastagens estarem em uso não havia formação de serapilheira para coleta, portanto, esta só foi coletada nas fases H, A, M e F. Na fase H a

serapilheira é composta tanto de folhas de espécies arbóreas bem como das gramíneas.

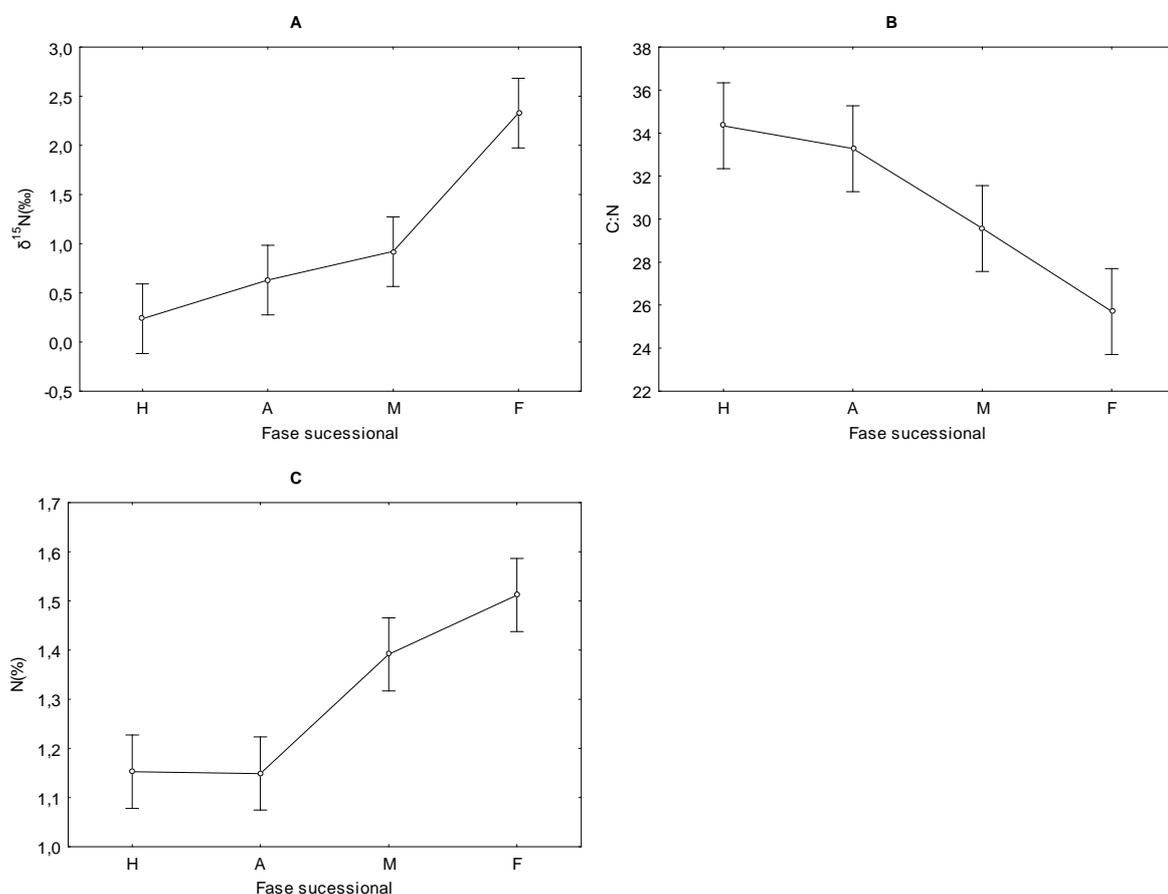


Figura C.3: Valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ (A), teores de N(%) (C) e relação C:N (B) na serapilheira das fases sucessionais H, A, M e F.

A serapilheira da fase F destacou-se como a mais enriquecida, com valores de $\delta^{15}\text{N}$ variando de entre 1,3 e 2,7‰, com diferença significativa de todas as demais fases (Figura C.3A). Os teores de N(%) na serapilheira também apresentaram a mesma tendência e aumento no sentido H→F, porém desta vez as fases M e F foram semelhantes e diferiram das fases H e A, que também foram significativamente semelhantes entre si (Figura C.3C). A relação C:N da serapilheira apresentou clara tendência de redução no sentido H→F (Figura C.3B),.

A relação C:N da serapilheira apresentou valores elevados nas fases H, A e M (Figuras C.3B), geralmente acima de 30, e em torno de 26 na fase F. Segundo Victória; Piccolo; Vargas (1992) relações C:N elevadas causam imobilização do N

mineral, pelo menos temporária, cessando a nitrificação por falta de substrato e podendo causar deficiência de N nos vegetais superiores. Quando a relação C:N atinge valores em torno de 20, o N deixa de ser limitante para os processos microbianos, passando então, a haver liberação de N mineral.

Os valores de $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ na serapilheira de todas as fases coletadas, apresentaram correlação significativa negativa com o valores da relação C:N (-0,74) (Figura C.4A) e significativa positiva com nos valores de N% (Figura C.4B).

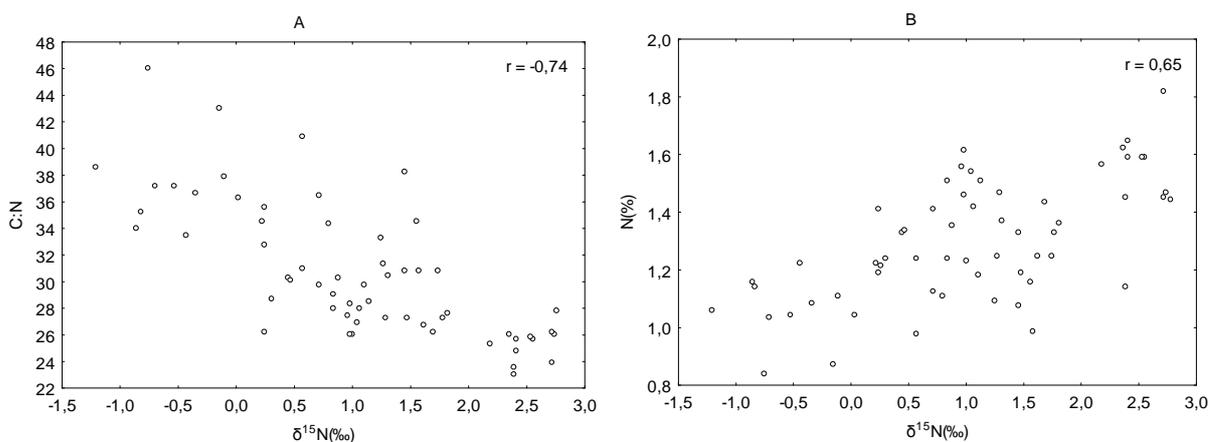


Figura C.4: Correlação na serapilheira, entre a relação C:N e $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ (A), e entre a concentração de N(%) e $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$.

C.3.3 Folhas

Os valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ para as 27 espécies arbóreas analisadas foi de $2,0 \pm 1,39\text{‰}$ ($n=123$). Muito abaixo da média calculada por Martinelli et al. (1999) para 73 espécies em florestas tropicais $3,7 \pm 3,5\text{‰}$. Segundo o mesmo autor este valor sobe para $4,7 \pm 2,1\text{‰}$, se forem excluídas as árvores de florestas montanas e com areia branca no solo. As duas espécies gramíneas encontradas tiveram valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ de $3,3 \pm 0,6\text{‰}$ ($n=12$).

Tabela C.2 – Valores médios de e desvio padrão de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas folhas para as famílias botânicas e espécies coletadas na Reserva Natural do Rio Cachoeira de acordo com cada fase sucessional considerada. Ausência do valor do desvio padrão significa que apenas um exemplar foi encontrado e coletado.

Família	Espécie	Fase sucessional				
		P	H	A	M	F
Arecaceae	<i>Euterpe edulis</i>				0,62 ±0,64	2,19 ±0,26
Bignoniaceae	<i>Jacaranda micrantha</i>		2,22			
Cecropiaceae	<i>Cecropia</i> sp.		4,15±1,33			
Elaeocarpaceae	<i>Sloanea guianensis</i>				-0,04±0,91	2,39 ±0,49
	<i>Alchornea triplinervia</i>		1,41			1,87 ±0,65
Euphorbiaceae	<i>Hieronyma alchorneoides</i>				0,80 ±0,30	3,16 ±1,50
	<i>Pera glabrata</i>		2,02		1,32 ±1,22	
	<i>Andira anthelmia</i>		-0,68±0,06			
	<i>Centrolobium</i> sp.				0,82	
	<i>Inga edulis</i>					1,57
Leguminosae	<i>Platymiscium floribundum</i>				-0,34	
	<i>Pseudopiptadenia warming</i>				1,84	
	<i>Senna multijuga</i>		3,03 ±0,62	0,46 ±1,19		
	<i>Inga afinis</i>					2,23
Lauraceae	<i>Cryptocaria aschersoniana</i>					2,12 ±0,31
	<i>Ocotea catharinensis</i>					2,41±0,93
Melastomatacea	<i>Tibouchina pulchra</i>		2,49 ±1,32	1,72 ±1,39		
Mircinaceae	<i>Myrsine coriacea</i>		0,71±1,39	0,82 ±1,57		
Myristicaceae	<i>Virola bicuhyba</i>					2,69 ±0,47
Myrtaceae	<i>Marlierea tomentosa</i>					3,24 ±1,21
Poaceae	<i>Panicum maximum</i>	3,39 ±0,97	3,13 ±0,58			
	<i>Brachiaria humidicola</i>		3,38			
Quinaceae	<i>Quiina glaziovii</i>					3,52 ±0,83
Rubiaceae	<i>Bathysa australis</i>				3,44 ±1,26	
	<i>Psychotria nuda</i>				2,86 ±1,01	
Salicaceae	<i>Casearia decandra</i>			2,65 ±0,27		
	<i>Casearia sylvestris</i>			1,97 ±0,22	2,87 ±1,02	4,67 ±0,71
Sapindaceae	<i>Cupania oblongifolia</i>				1,68 ±0,66	
Verbenaceae	<i>Cytharexylum myrianthum</i>			2,73 ±0,58		

O menor valor de $\delta^{15}\text{N}$ encontrado foi de -1,6‰ na espécie *M. coriacea*, na fase A, e o máximo valor 5,5‰ para *B. australis* na fase M. A amplitude de variação entre os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ das espécies arbóreas foi ~4,8‰, variação menor do que a encontrada por Bustamante et al. (2004) para o cerrado que foi de ~9‰.

Na Figura C.5 é possível visualizar a distribuição dos sinais isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ das espécies coletadas.

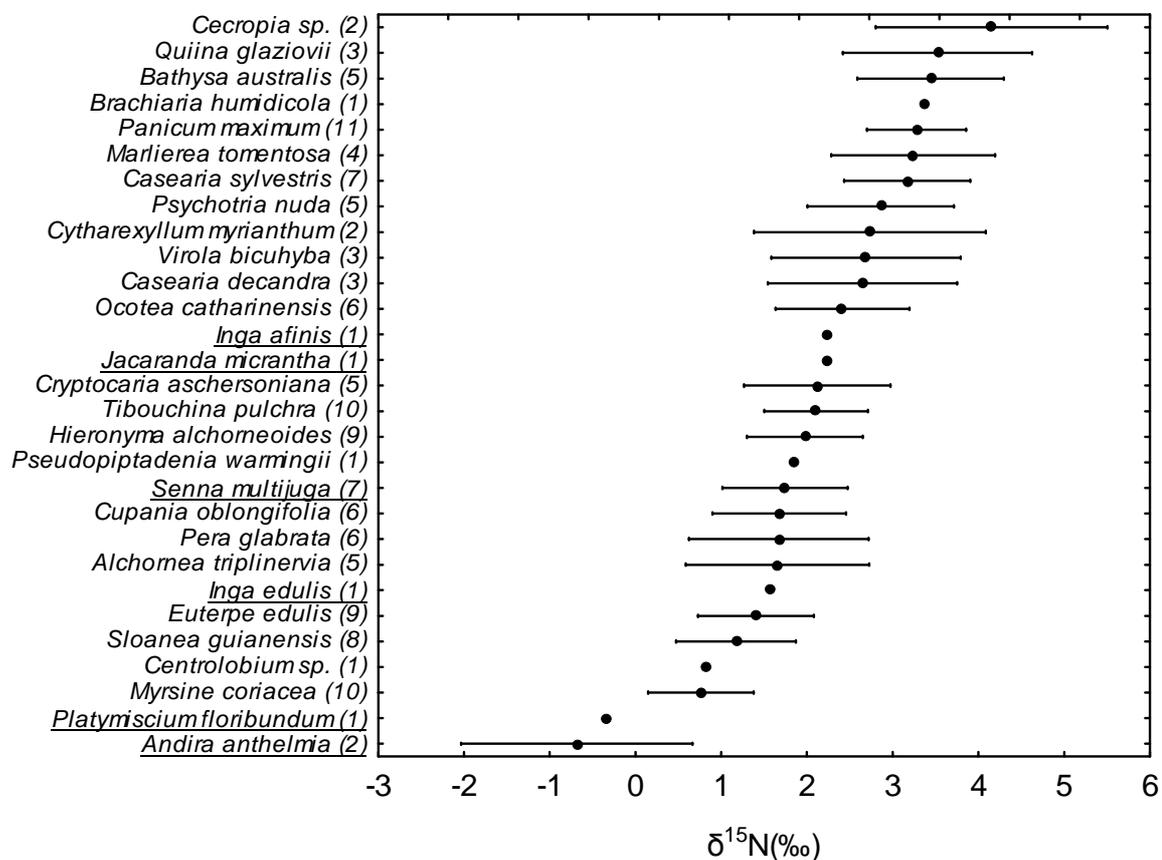


Figura C.5: Valores médios e erro padrão de $\delta^{15}\text{N}$ nas folhas de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa Submontana e gramíneas exóticas. Números entre parênteses indicam o número de observações, os nomes científicos sublinhados indicam espécies leguminosas.

Os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ nas fases P, H e F foram significativamente iguais e entre si e diferentes das fases A e M (Tukey, HSD, $p > 0,05$) (Figura C.6A). Apesar de seguir uma tendência semelhante aos valores de $\delta^{15}\text{N}$, a concentração de N não variou significativamente entre nenhuma das fases sucessionais (Figura C.6B). A relação C:N se correlaciona inversamente com os valores de $\delta^{15}\text{N}$, porém também não apresenta diferenças significativas ao longo das fases sucessionais (Figura C.6C).

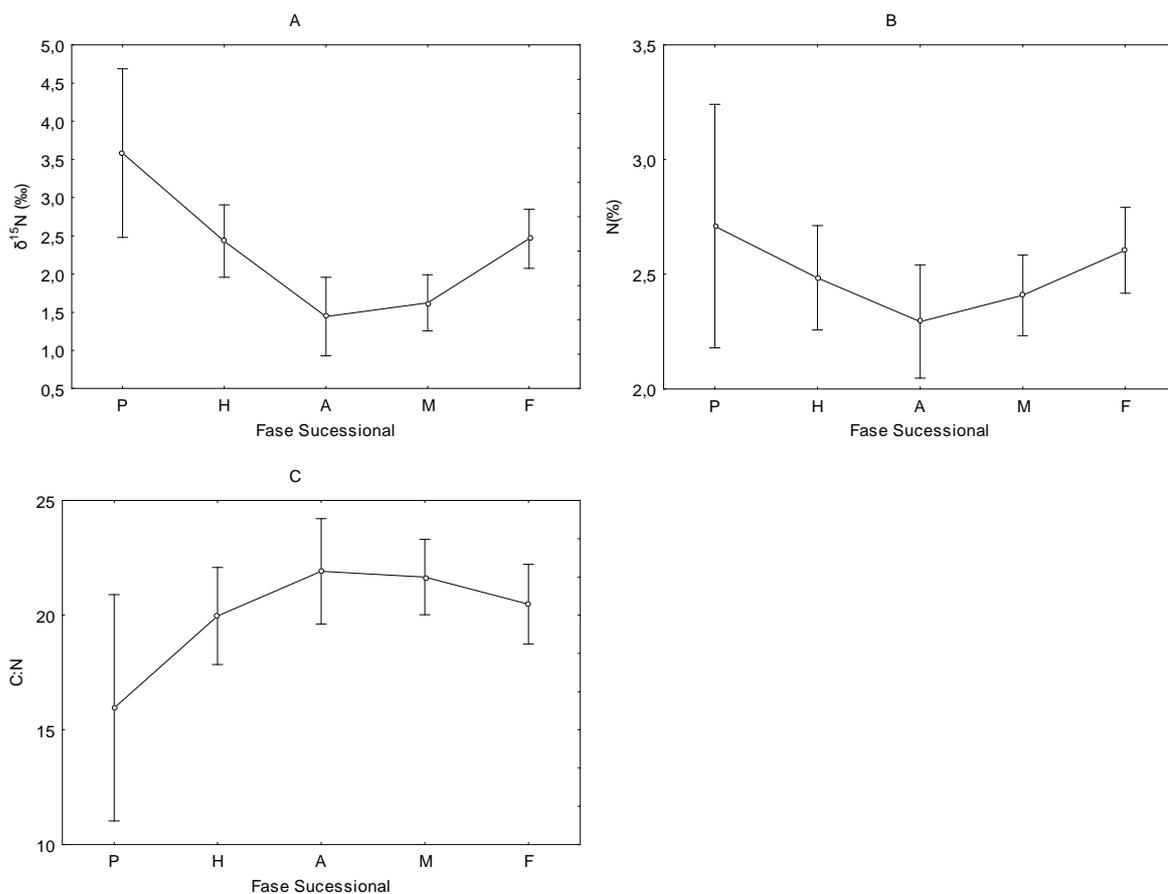


Figura C.6: Valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ (A), concentração de N(%) (B) e relação C:N (C) foliar de todas as espécies amostradas em cada fase sucessional (Tukey, HSD, $p>0,05$).

Duas espécies lenhosas pioneiras *T. pulchra* (não-leguminosa) e *S. multijuga* (leguminosa) apresentaram comportamento semelhante, com valores enriquecidos de $\delta^{15}\text{N}$ no estágio H, com grande presença de gramíneas, reduzindo os valores na fase A. Após supressão total das gramíneas. No caso da *S. multijuga* os valores de $\delta^{15}\text{N}$ apresentados na fase H (3,1‰) são significativamente diferentes ($p>0,01$) do valor na fase A (0,5‰) (Figura C.7). A espécie pioneira *M. coriacea* apresentou valores de $\delta^{15}\text{N}$ empobrecidos nas duas fases em que ocorreu, 0,8 e 0,9‰ fases H e A, respectivamente. A espécie *C. sylvestris*, que é considerada secundária inicial, foi a única que ocorreu em três fases sucessionais, A, M e F, e apresentou valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente diferentes entre si ($p>0,05$).

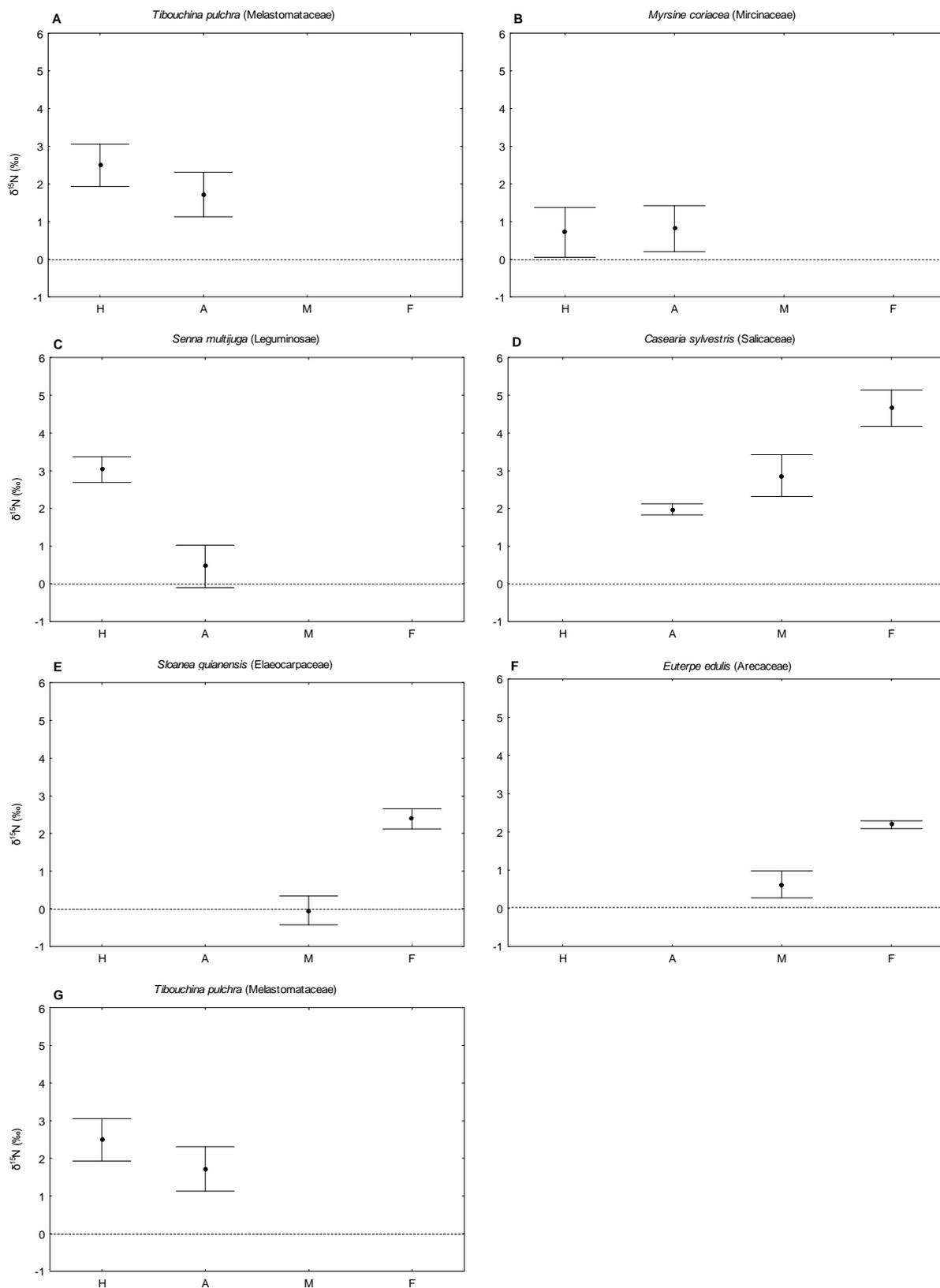


Figura C.7: Valores médios e erro padrão de $\delta^{15}\text{N}$ foliar três espécies pioneiras (*T. pulchra*, *M. coriacea* e *S. multijuga*) e uma espécie secundária inicial (*C. sylvestris*), e de três espécies secundárias tardias não leguminosas (*S. guianensis*, *E. edulis* e *H. alchorneoides*) que ocorreram em mais de uma fase sucessional.

Foi identificado o enriquecimento dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ no sentido A→M→F da ordem de 1,9; 2,9 e 4,1‰, respectivamente. Semelhante tendência de enriquecimento no sentido M→F foi identificada em espécies secundárias tardias ocorrente nestas fases, com valores significativamente diferentes ($p>0,05$) (Figura C.7). A espécie *S. guianensis* apresentou valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ de -0,04‰ na fase M, saltando para 2,4‰ na fase F (Figura C.7).

Os valores foram muito variáveis entre e dentro dos grupos leguminosas e não-leguminosas. O valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ da espécies leguminosas foi de 1,12‰ ($n=14$) e variou desde 3,44 até -1,30‰, das não-leguminosas a média foi 2,20‰ ($n=121$) variando desde 5,52 a -1,59‰ (Figura C.8).

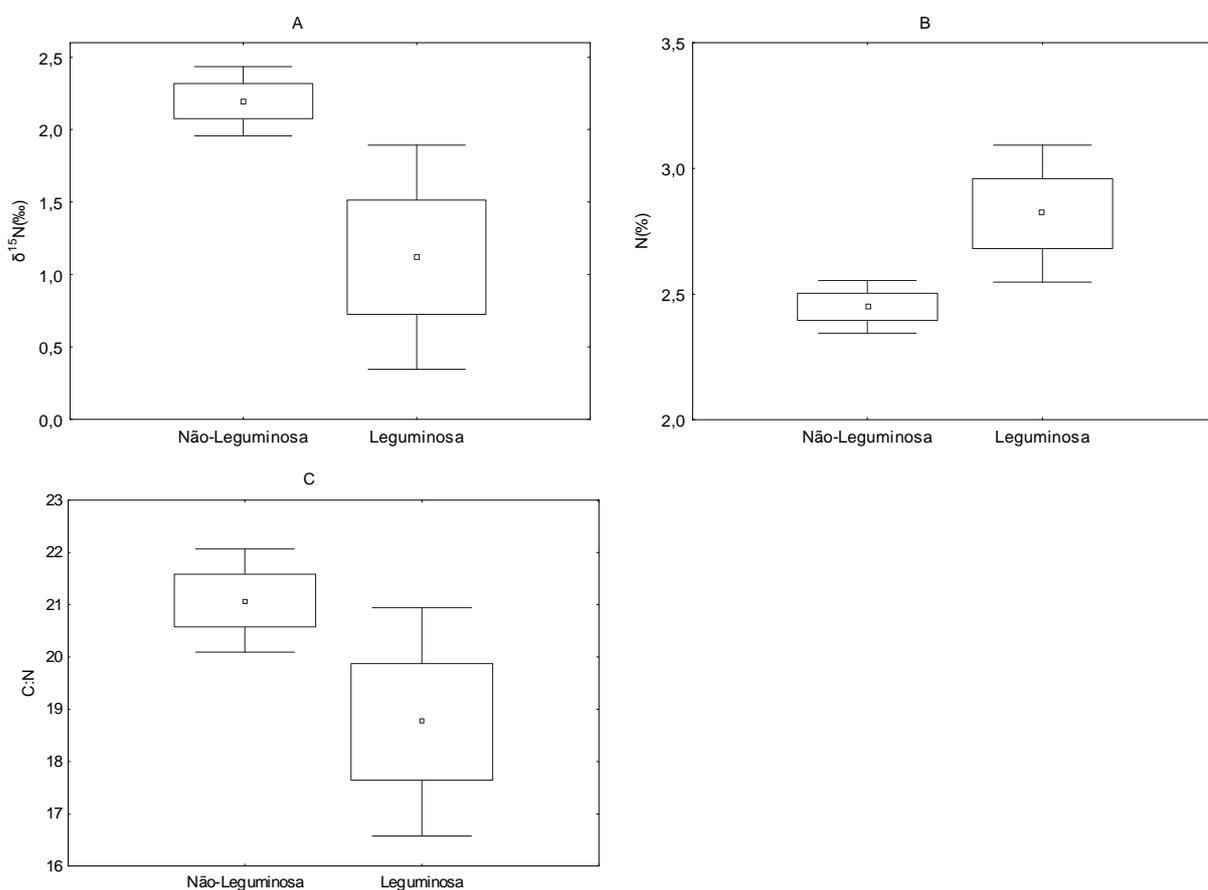


Figura C.8: Valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ (A), N(%) (B) e relação C:N (C) para espécies leguminosas e não leguminosas da área de estudo. As barras verticais representam o desvio padrão e os retângulos os erro padrão.

A concentração de N foi maior nas folhas das espécies leguminosas (2,82%) do que nas não leguminosas (2,45%) pelo teste t ($p > 0,05$). Apesar de a média das espécies leguminosas ter sido menor, como era esperado, pois derivam parte de seu N do ar via FBN, cinco das sete espécies analisadas apresentaram valores positivos de $\delta^{15}\text{N}$, particularmente em *S. multijuga* (fase H) e *I. afinis* e (3,03; 2,23 respectivamente). Do mesmo modo as espécies não leguminosas também apresentaram valores negativos de $\delta^{15}\text{N}$ acusando discriminação do isótopo pesado. Dentre estas, a *M. coriacea*, espécie tipicamente pioneira com grande ocorrência nas fases iniciais, apresentou valores extremamente variáveis -1,59 até 2,7‰ (n = 10).

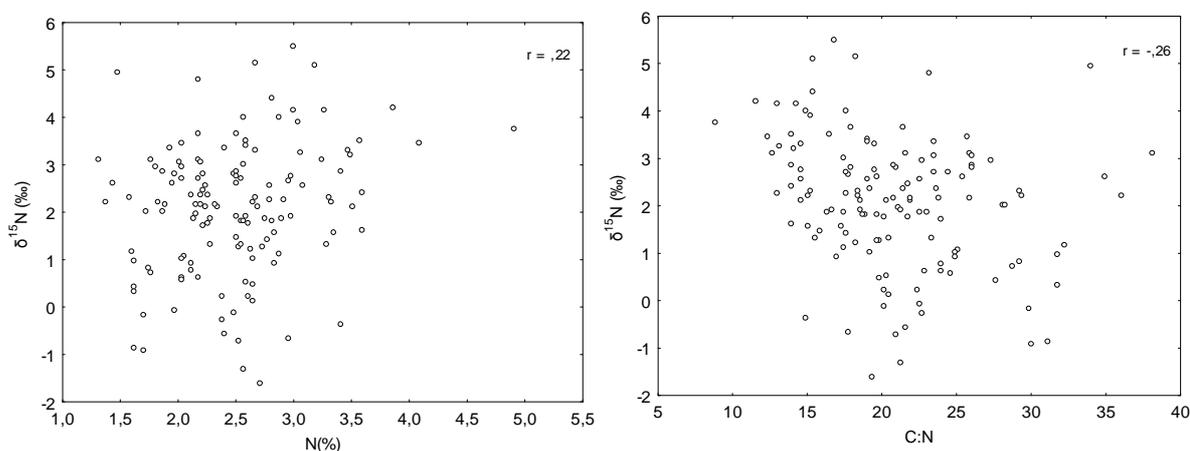


Figura C.9: Correlações dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ com N(%) e relação C:N nas folhas das espécies amostradas.

As concentrações foliares de N foram significativamente maiores nas leguminosas do que nas não leguminosas (Figura C.8B). Esta mesma tendência já foi identificada em outras florestas tropicais e sub tropicais (ROGGY et al., 1999; GEHRING; VLEK, 2004; OMETTO, 2006) no cerrado (BUSTAMANTE et al., 2004) e em savanas australianas (SCHIMDT; STEWART, 2003), confirmando a teoria de McKey (1994) de que as leguminosas tem alto requerimento de N. A concentração média de N(%) das espécies arbóreas, incluindo leguminosas e não leguminosas foi de $2,5 \pm 0,6\%$, superior ao encontrado por Martinelli et al. (1999) para florestas tropicais que foi de $1,9 \pm 0,8\%$.

Isto seria devido aos valores enriquecidos de ^{15}N do solo da pastagem, da acumulação nas plantas e aumento da ciclagem interna, esta última comprovada pela redução da relação C:N da serapilheira no sentido H→A→M→F(Figura C.3B). Elevadas relações C:N contribuem para a baixa taxa de decomposição e mineralização da matéria orgânica, mantendo baixa a disponibilidade de N.

C.4 Discussão

C.4.1 Variações na concentração de N e valores de $\delta^{15}\text{N}$ no solo da cronoseqüência

As concentrações de N total no solo da área de estudo não variaram significativamente nas diferentes fases da cronoseqüência (Tabela 6.1; Figura 6.1D) mesmo entre pastagem (P) e floresta (F). Segundo Neill et al. (1996), o que pode explicar isto, no caso das pastagens, seriam os aportes de C no solo advindo do vigoroso crescimento das gramíneas que conseguem manter o crescimento microbiano e o “turnover” em pastagens de idade intermediária. Durante a primeira década do desenvolvimento da pastagem, o C derivado desta rapidamente substitui o C derivado da floresta, mantendo ou incrementando levemente o estoque de C. Este fato foi observado na área de estudo por Balbinot et al. (dados não publicados), as pastagens em uso apresentaram um estoque de carbono superior ao da floresta primária pouco alterada (F). O carbono derivado das pastagens compôs a maioria (>70%) da respiração microbiana em pastagens de 3 anos e outras mais velhas (NEILL et al., 1996), indicando que os aportes de C da pastagem para o solo preferencialmente à degradação do Matéria Orgânica do Solo (MOS) restante da floresta, abastece a atividade microbiana em pastagens de idade intermediária (NEILL, et al., 1999).

Os fatos que resultam no declínio da ciclagem do N, mas não na redução dos estoques de N e C em pastagens velhas, ainda não são conhecidos, vários mecanismos são possíveis (NEILL, et al., 1999). Um deles pode ser que os microorganismos gradualmente re-trabalhem a MOS nas pastagens para formas mais recalcitrantes tornando o ciclo do N mais lento comparado com a MOS da floresta original. Outra é que as gramíneas das pastagens seqüestrem uma grande

proporção do estoque total no N do solo na biomassa viva abaixo do solo que retornaria relativamente devagar (NEILL et al., 1999). Para validar estas hipóteses seria necessário examinar outros aspectos da qualidade da MOS ou a biomassa subterrânea e estoque de N na biomassa.

Em trabalho desenvolvido na região amazônica por Piccollo; Neill; Cerri (1994), os autores observaram que pastagens estabelecidas em terras desflorestadas apresentaram uma mudança nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas camadas superficiais, geralmente menores, indicando entrada de N atmosférico no sistema. Segundo os autores, o elevado pH, o estabelecimento de gramíneas C_4 (com alta eficiência no uso de nutrientes) e o aumento a disponibilidade de fósforo criariam condições favoráveis para a fixação de N_2 atmosférico. A redução nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos solos sob pastagem também se daria em função fixação de N_2 atmosférico por bactérias de vida livre comumente ocorrentes com gramíneas plantadas tais como *B. humidicola* e *P. maximum* (BODDEY; DÖBEREINER, 1988; MIRANDA; BODDEY, 1987). Piccollo et al. (1996) identificaram este processo em pastagens no estado de Rondônia. No presente trabalho este processo não foi observado, os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ no solo não diferiram entre a pastagem em uso (P) e a floresta pouco alterada (F), tanto na camada superficial, de 0-20 cm, quanto na camada até 100 cm (Figuras C.1A e C.1B). Isto pode, talvez, ser explicado pela não ocorrência de alguns fatores incentivadores desse processo, tais como: o pH permaneceu ácido (em torno de 4,4), após o corte da floresta e queima, e os teores de fósforo permaneceram semelhantes (Tabela C.1).

Apesar das fases P e F serem as mais antagônicas, não diferiram significativamente entre si quanto aos valores de $\delta^{15}\text{N}$, porém apresentaram significativo empobrecimento do isótopo pesado de nitrogênio em relação as fases herbáceo arbustiva (H), inicial arbórea (A) e floresta média (M) que podemos chamar de “intermediárias”, entre estes dois extremos. As fases H, A e M tem valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente inferiores à P e F principalmente na camada superficial do solo, indicando a entrada de N atmosférico (Figura C.2B). Este fato também ocorre sem que as condições de pH e disponibilidade de fósforo (Tabela C.1) comentadas acima, fossem modificadas. O estoque de N total no solo também não foi alterado significativamente nestas fases (Figura C.2D). Isso poderia ser explicado pela

absorção do N do solo, inclusive ^{15}N , que estaria sendo transferido para a biomassa pelo conseqüente aumento expressivo da demanda de N por esta biomassa, para manter processo sucessional. Fato é que, após o abandono das pastagens, ocorre um aumento da biomassa vegetal, tanto das gramíneas, imediatamente após o abandono, como as espécies arbóreas pioneiras de rápido crescimento. Deste modo, sem que ocorra um aumento da oferta de nitrogênio no solo, e com o significativo aumento da demanda, é possível supor que novas fontes de nitrogênio (atmosférico e/ou de camadas mais profundas enriquecidas em ^{15}N) estão sendo exploradas para que seja possível manter o desenvolvimento da sucessão vegetal. Os dados de $\delta^{15}\text{N}$ encontrados nas fases A e M se apresentaram empobrecidos na folhagem, e foram significativamente diferentes das fases P, H e F (Figura C.5A). As fases A e M também apresentaram as menores concentrações de N (Figura C.5B) e as maiores relações C:N (Figura C.5C) nas folhas, apesar de não diferirem estatisticamente das outras fases nestes dois fatores. Esses dados confirmariam a hipótese de que neste momento de grande incremento de biomassa o N disponível no solo não seria suficiente e as plantas estariam suprindo esta deficiência utilizando-se do N atmosférico.

C.4.2 Abundância natural de ^{15}N na Floresta Ombrófila Densa Submontana

O valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ para as 123 árvores amostradas, distribuídas em 27 espécies nas fases H,A,M e F foi de $2,0 \pm 1,4\%$. Os valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ para cada fase sucessional (Tabela C.2) foram 1,9 (n=19); 1,4 (n=22), 1,6 (n=41) e 2,5 (n=41) para as fases H, A, M e F respectivamente. Estes valores são inferiores aos encontrados por Martinelli et al. (1999), que revisando trabalhos desenvolvidos na bacia amazônica encontrou um valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ para as folhas de $3,7 \pm 3,5\%$, e diferem ainda mais do trabalho desenvolvido por Ometto et al. (2006), que encontraram um valor médio de $5,8 \pm 1,6\%$ (n=756). Martinelli et al. (1999) concluíram que as florestas tropicais, em geral, são enriquecidas em ^{15}N comparadas com as florestas temperadas, e as florestas tropicais em que o N é abundante são enriquecidas em ^{15}N quando comparadas com outras florestas tropicais em que o N parece ser limitante. Essas observações sugerem que as

florestas tropicais são sistemas geralmente ricos em N e, portanto, apresentam um ciclo aberto deste elemento, ou seja, as perdas são elevadas, e nestes ambientes os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas folhas são geralmente mais elevados. Exceções a esta generalização são as florestas sobre solos com areia branca e florestas tropicais montanas, onde o N apresenta um suprimento relativamente pequeno (SALATI et al., 1992; CUEVAS; MEDINA, 1988). A área de estudo deste trabalho não se enquadra nos dois casos de exceção, pois está sobre cambissolo (Embrapa, 2005) e em floresta submontana (IBGE, 1992). A partir destes dados seria possível supor que a Floresta Ombrófila Densa Submontana, fora da bacia amazônica, apresenta uma oferta menor de N, principalmente em formações florestais secundárias, e suas respectivas fases, após abandono do uso como pastagem.

C.4.3 Abundância natural de ^{15}N na vegetação e o papel da FBN

A conversão de N_2 em formas orgânicas por FBN parece discriminar pouco contra o ^{15}N , assim, a assinatura isotópica das leguminosas, quando estão fixando N_2 atmosférico tende a ficar próxima de 0‰ (EHLERINGER; RUNDEL, 1989). Por outro lado, espécies que não são capazes de fixar N_2 atmosférico mostram uma grande variação na sua razão isotópica dependendo da taxa de mineralização de N no solo (GARTEN; VAN MIEGROET, 1994). Desta forma, o $\delta^{15}\text{N}$ pode ser usado para determinar se a fonte de N é predominantemente de origem atmosférica ou oriunda do solo (NARDOTO, 2005). Estudos realizados por Högberg; Alexander (1995), Roggy et al. (1999), Gehring; Vlek (2004), usando o método da abundância natural de ^{15}N , apontam para uma FBN baixa ou ausente nas leguminosas arbóreas da mata primária. Segundo Gehring; Vlek (2004) a FBN ocorre em quantidades significativas durante todas as fases da sucessão secundária após agricultura/pastagem de derruba e queima na Amazônia central.

Os resultados encontrados neste trabalho se enquadram neste contexto na medida em que: o $\delta^{15}\text{N}$ médio na fase P foi de 3,4‰, vegetado apenas por *P. maximum*, e na primeira fase de sucessão, após o abandono da pastagem, que é a fase H, o valor se reduz a 2,3% (Tabela C.2, Figura C.5A). Esta média de $\delta^{15}\text{N}$ na fase H é bastante influenciada pela presença de *P. maximum* (3,1‰) e *B. humidicula*

(3,4‰), se estes valores forem excluídos o valor passa para 1,9‰ (Tabela C.2). Na fase A encontramos o menor valor de $\delta^{15}\text{N}$ (1,5‰), indicando, segundo a hipótese, limitação da oferta de N disponível no solo e entrada de N atmosférico. Em seus estudos sobre o papel da FBN em florestas secundárias e primárias na Amazônia central, Gehring; Vlek (2004) observaram que a demanda da vegetação por nitrogênio aumenta rapidamente com a acumulação de biomassa e de nitrogênio na capoeira, diminuindo assim a disponibilidade de nitrogênio no solo. O incremento dos estoques aéreos de nitrogênio desacelerou em capoeira velha porque a acumulação da biomassa diminuiu e a ciclagem interna do nitrogênio ganhou em importância.

Algumas espécies (leguminosas e não leguminosas) pioneiras que ocorreram nas duas fases (H e A), também servem de indicadores deste processo. A espécie *S. multijuga* (leguminosa nodulífera) apresentou valores de $\delta^{15}\text{N}$ de 3,0 e 0,5‰, significativamente diferentes (Figura C.7A) nas fases H e A respectivamente, indicando claramente uma mudança na estratégia nutricional de N. A espécie *T. pulchra*, apesar de não leguminosa, apresentou comportamento semelhante reduzindo seus valores de $\delta^{15}\text{N}$ de 2,5‰ na fase H para 1,7‰ na fase A (Figura C.7C). Outra não leguminosa ocorrente nas duas fases (*M. coriaceae*) apresentou valores baixos de $\delta^{15}\text{N}$ nas duas fases H e A (0,7 e 0,8‰), respectivamente.

Ao contrário da tendência de empobrecimento do $\delta^{15}\text{N}$ observada nas fases H (2,5‰) → A (1,5‰), no sentido das fases M→F ocorreu o enriquecimento do isótopo pesado nas folhas de 1,6 para 2,6‰, significativamente diferente (teste t, $p > 0,05$) (Tabela C.2). As espécies *S. guianensis*, *H. alchorneoides* e *E. edulis* apresentaram valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ da ordem de -0,0; 0,8 e 0,6‰, respectivamente, na fase M, saltando para valores de 2,4; 3,2 e 2,2‰, respectivamente, na fase F (Tabela C.2), todos valores significativamente diferentes (Figura C.7E, C.7F e C.7G). Neste caso, as três espécies que ocorreram nas duas fases comprovam a hipótese da limitação de N disponível no solo, e uso de N atmosférico, em sucessões secundárias e a perda de importância desta fonte em florestas primárias. Sobre estas espécies não foram encontrados registros bibliográficos sobre associações com bactérias ou actinomicetes para FBN. A FBN é um mecanismo de nutrição de nitrogênio que gasta muita energia, as leguminosas precisam investir 30-50% do carbono fixado

para manter as bactérias nodulíferas (LYNCH; WHIPPS, 1990). Por isto a FBN é suprimida quando a disponibilidade de N no solo é suficiente (CHALK, 2000), e a FBN é menor em leguminosas assombradas do que em pleno sol (IZAGUIRRE-MAYORAL et al., 1995; BRYAN et al., 1996). A FBN exige vários nutrientes. Por causa dos altos custos energéticos, sendo o fósforo é o mais importante (SMART et al., 1984; GEHRING et al., 1999). Deste modo, podemos interpretar que a FBN desenvolve um papel importante no suprimento de N durante o processo de sucessão vegetal secundária após o abandono das áreas utilizadas como pastagem não sendo mais significativa num estágio primário de desenvolvimento da Floresta Ombrófila Densa Submontana.

C.5 Conclusões

A determinação do $\delta^{15}\text{N}$ se mostrou importante ferramenta na discriminação das fontes de N usadas pelas plantas e quando feita em amostras de serapilheira e solo possibilita a avaliação da eficiência da ciclagem nas diferentes fases da sucessão.

A principal fonte de N para as plantas é o N da matéria orgânica do solo, mas o aumento da demanda de N pelo incremento na biomassa (fase A) parece resultar na utilização de outra fonte suplementar (N atmosférico), para que seja possível manter o desenvolvimento da sucessão vegetal.

Deste modo, podemos interpretar que a FBN desenvolve um papel importante no suprimento de N durante o processo de sucessão vegetal secundária após o abandono das áreas utilizadas como pastagem não sendo mais significativa num estágio primário de desenvolvimento da Floresta Ombrófila Densa Submontana.

C.6 Referências

BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. (1988) Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: recent results and perspectives for future research. **Plant and Soil**. 108:53-65.

BOERGER, M.R.T. (2000) Morfologia foliar e aspectos nutricionais de espécies arbóreas em três estádios sucessionais de Floresta Ombrófila Densa de Terras

Baixas, Paranaguá, PR. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Curitiba. 150 f.

BRYAN, J. A.; BERLYN, G. P.; GORDON, J. C. (1996). Toward a new concept of the evolution of symbiotic nitrogen fixation in the Leguminosae. **Plant and Soil**, 186:151–159.

BUSTAMANTE, M.M.C.; MARITINELLI, L.A.; SILVA, D.A.; CAMARGO, P.B.; KLINK, C.A.; DOMINGUES, T.F.; SANTOS, R.V. (2004) N-15 natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas (cerrado). **Ecological Applications**, Washington, v. 14, n. 4, p. 200-213.

CHALK, P.M. (2000) Integrated effects of mineral nutrition on legume performance. **Soil Biology Biochemistry** 32: 577-579

CHEVILLAT, V.S.; SIEGWOLF, T.W.; PEPIN, S.; KÖRNER, C. (2005) Tissue-specific variation of $\delta^{13}\text{C}$ in mature canopy trees in a temperate forest in central Europe. **Basic and Applied Ecology**. 6:519-534.

CUEVAS, E.; MEDINA, E. (1988) Nutrient dynamics within Amazonian forests. II fine root growth, nutrient availability and leaf litter decomposition. **Oecologia** 76:222-235

EHLERINGER, J.R.; RUNDEL, P.W. (1989) Stable isotopes: History, Units and Instrumentation. In: P.W. RUNDEL, EHLERINGER, J.R.; NAGY, K.A. (eds), **Stable Isotopes in Ecological Research**. Springer-Verlag, New York, p. 1-15.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos** (2005) 2. ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306 p.

GARTEN, C.T.; VAN MIEGROET, H. (1994) Relationships between soil nitrogen dynamics and natural ^{15}N abundance in plant foliage from Great Smoky Mountain National Park. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 24, n. 8, p. 1636-1645, Aug. 1994.

GEHRING, C.; DENICH, M.; KANASHIRO, M.E.; VLEK, P.L.G. (1999) Response of secondary vegetation in Eastern Amazonia to relaxed nutrient availability constraints. **Biogeochemistry** 45: 223-241

GEHRING, C.; VLEK, P.L.G. (2004) Limitations of the ^{15}N natural abundance method for estimating biological nitrogen fixation in Amazon forest legumes. **Basic and Applied Ecology** 5:567-580.

HÖGBERG, P. (1997) Tansley review No. 95: ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. **New Phytologist** 137: 179-203

HÖGBERG, P.; ALEXANDER, I.J. (1995) Roles of root symbioses in African woodland and forest: evidences from ^{15}N abundance and foliar analysis. **Journal of Ecology** 83:217-224.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (1992) Manual técnico da vegetação brasileira. **Manuais técnicos em geociências**, n. 1. IBGE, 1992.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2008. **Mapa da área da aplicação da Lei 11.428/2006**. IBGE. Rio de Janeiro.

IAPAR – Instituto Agrônomo do Paraná. (2008) Disponível em [http://www.iapar.br/Sma/Cartas Climáticas/Classificação Climática.htm](http://www.iapar.br/Sma/Cartas%20Climáticas/Classificação%20Climática.htm) Acesso em 20 dez. 2008.

IPARDES. (1991) **Diagnóstico físico-ambiental da Serra do Mar: área Sul**. Curitiba, IPARDES, 2v., 107p.

IZAGUIRRE-MAYORAL, M.L.; VIVAS, A.I.; OROPEZA, T. (1995) New insights into the symbiotic performance of native tropical legumes: I.: Analysis of the response of thirtyseven native legume species to artificial shade in a neotropical savanna. **Symbiosis** 19: 111-129

LEMOS, R. C.; SANTOS, R. D. dos. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo** – Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 3ª Ed., p. 83, Campinas-SP, 1996.

LUIZÃO, R.C.C.; BONDE, T.A.; ROSSWAL, T. (1992) Seasonal variation of soil microbial biomass-the effects of clearfelling a tropical rainforest and establishment of pasture in the central Amazon. **Soil Biology Biochemistry**. 24:805-813

LUIZÃO, R.C.C.; LUIZÃO, F.J.; PAIVA, R.Q.; MONTEIRO T.F.; SOUSA, L.S.; KRUIJT, B. (2004) Variation of carbon and nitrogen cycling process along a topographic in a central Amazonian forest. **Global Change Biology**, Oxford, v. 10, n. 5, p. 592-600, May.

LYNCH, J.M.; WHIPPS, J.M. (1990) Substrate flow in the rhizosphere. **Plant Soil** 129: 1-10

MARTINELLI, L.A.; PICCOLO, M.C.; TOWNSEND, A.R.; VITOUSEK, P.M.; CUEVAS, E.; MAcDOWELL, W.; ROBERTSON, G.P.; SANTOS, O.C.; TRESEDER, K. (1999) Nitrogen stable isotopes composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**. 46:45-65.

McKEY, D. (1994) **Legumes and Nitrogen: the evolutionary ecology of a Nitrogen-demanding lifestyle**. Em: Sprent JI e McKey D (eds) *Advances in legume systematics 5: the Nitrogen factor*. pp 211-228 Royal Botanic Gardens, Kew, GB.

NADELHOFFER, K.J.; FRY, B. (1988) Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundances in forest soil organic matter. **Soil Scientific Society American Journal**. 52:1633-1640

NADELHOFFER, K.J.; FRY, B. (1994) Nitrogen isotope studies in forest ecosystems. In. Lajtha, K., Michener, R. (Eds.), **Stable Isotopes in Ecology and Environment Science**. Blackwell Scientific Publications, Boston, MA, p. 23-44.

NARDOTO, G.B. (2005) Abundância natural de ^{15}N na Amazônia e Cerrado – implicações para a ciclagem de nutrientes. **Tese** Doutorado. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2005. 100 p.

NEILL, C.; PICCOLO, M.C.; STEUDLER, P.A.; MELILLO, J.M.; FEIGL, B.J.; CERRI, C.C. (1995) Nitrogen dynamics in soils of forests and active pastures in the western Brazilian Amazon Basin. **Soil Biology and Biochemistry**. 27:1167-1175.

NEILL, C.; FRY, B.; MELILLO, J.M.; STEUDLER, P.A.; MORAES, J.F.L.; CERRI, C.C. (1996) Forest- and pasture-derived carbon contributions to carbon stocks and microbial respiration of tropical pasture soils. **Oecologia**, 107:113-119.

NEILL, C.; PICCOLO, M.C.; MELLILO, J.M.; STEUDLER, P.A.; CERRI, C.C. (1999) Nitrogen dynamics in Amazon forest and pasture soils measured by ^{15}N pool dilution. **Soil Biology & Biochemistry**. 31:567-572.

MIRANDA, C.H.B.; BODDEY, R.M. (1987) Estimation of biological nitrogen fixation associated with 11 ecotypes of *Panicum maximum* grown in nitrogen-15-labeled soil. **Agronomy Journal**. 79:558-563.

MORELLATO, L.P.C.; HADDAD, C.F.B. (2000) Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**. 32:786-792.

OMETTO, J.P.H.B.; EHLERINGER, J.R.; DOMINGUES, T.F.; BERRY, J.A.; ISHIDA, F.Y.; MAZZI, E.; HIGUCHI, N.; FLANAGAN, L.B.; NARDOTO, G.B.; MARTINELLI, L.A. (2006) The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. **Biogeochemistry** 79:251-274.

PICCOLO, M.C.; NEILL, C.; CERRI, C.C. (1994) Natural abundance of ^{15}N in soils along forest-to-pasture chronosequences in the western Brazilian Amazon Basin. **Oecologia**, 99:112-117.

PICCOLO, M.C.; NEILL, C.; MELLILO, J.M.; CERRI, C.C.; STEUDLER, P.A. (1996) ^{15}N natural abundance in forest and pastures soils of the Brazilian Amazon Basin. **Plant and Soil**, 182:149-258.

ROGGY, J.C.; PRÉVOST, M.F.; GOURBIERE, F.; CASABIANCA, H.; GARBAYE, J.; DOMENACH, A.M. (1999) Leaf natural ^{15}N abundance and total N concentration as potential indicators of plant N nutrition in legumes and pioneer species in a rain forest of French Guiana. **Oecologia** 120: 171-182

SALATI, E.; SYLVESTER-BRADLEY, R.; VICTORIA, R.L. (1982) Regional gains and losses of nitrogen in the Amazon Basin. **Plant Soil** 67:367-376

SCHMIDT, S.; STEWART, G.R. (2003) $\delta^{15}\text{N}$ values of tropical savanna and monsoon forest species reflect root specialisations and soil nitrogen status. **Oecologia** n° 134, n. 4, pg. 569-577.

SCHULZE, E.D.; CHAPIN, F.S.; GEBAUER, G (1994) Nitrogen nutrition and isotope differences among life forms at the northern treeline of Alaska. **Oecologia** 100:406-411

SHEARER, G.; KOHL, D. (1986) N_2 -Fixation in field settings: estimations based on natural ^{15}N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**. 13:699-756

SNEDAKER, S.C. (1980) Sucessional immobilization of nutrients and biologically recycling in tropical forests. **Biotropica**. 12: 16-22

SMART, J.B.; DILWORTH, M.J.; ROBSON, A.D. (1984) Effect of phosphorus supply on phosphate uptake and alkaline phosphatase activity in Rhizobia. **Archives Microbiology** 140: 281-286

SOS Mata Atlântica; INPE – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **Atlas dos remanescentes florestais da mata atlântica período 2005-2008**. São Paulo, 2009. 156 p.

SPVS/TNC (Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental/The Nature Conservance). 2000. Projeto de Restauração da Floresta Atlântica. Curitiba. 17p.

UNITED STATES OF AMERICA, SOIL SURVEY STAFF. **Soil survey manual**. Washington, D.C: Department of Agriculture. Soil Conservation Service, 437p. (USDA. Agriculture. Handbook, 18) 2ªed. 1993.

VELOSO, H.P.; RANGEL-FILHO, A.L.; LIMA, J.C.A. (1991) **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 123 p.

VICTORIA, R.L.; PICCOLO, M.C.; VARGAS, A.A.T. (1992) O ciclo do nitrogênio. In: **Microbiologia do solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Coords.) Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, SP. 360 p.

VITOUSEK, P.M.; SANFORD, R.L. Nutrient cycling in moist tropical forest. (1986) **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 137-167.

YONEYAMA, T.; MURAOKA, T.; MURAKAMI, T.; BOONKERD, H. (1993) Natural abundance of ^{15}N in tropical plants with emphasis on tree legumes. **Plant and Soil** 153:295-304.