

# XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

## “Fixação Biológica de Nitrogênio em Áreas de Restauração: Abundância Natural de $^{15}\text{N}$ de Leguminosas Arbóreas Nativas Plantadas por Semeadura Direta”

**LUCIANA DELLA COLETTA<sup>(1)</sup>, PABLO GUENTHER SOARES<sup>(2)</sup>, GABRIELA BIELEFELD NARDOTO<sup>(3)</sup>, FABIANO DE CARVALHO BALIEIRO<sup>(4)</sup>, RICARDO RIBEIRO RODRIGUES<sup>(5)</sup> & LUIZ ANTONIO MARTINELLI<sup>(6)</sup>**

**RESUMO** – Este trabalho teve como objetivo avaliar ao longo do tempo o papel da fixação biológica de nitrogênio (FBN) por organismos associados a leguminosas arbóreas nativas semeadas diretamente no campo na dinâmica do N em uma área sob restauração florestal. Para isso, foi usado o método da abundância natural do nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e suas respectivas concentrações. As características do solo estudado, indicando uma baixa disponibilidade de N, juntamente com as diferenças no  $\delta^{15}\text{N}$  encontradas entre a leguminosa não-fixadora de N (espécie referência) e as leguminosas potencialmente fixadoras de N, sugerem que aos quatro anos após a germinação, uma das principais fontes de N para as espécies de leguminosas arbóreas estudadas é a FBN.

**Palavras-Chave:** (Leguminosas, Semeadura Direta,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , Nitrogênio)

### Introdução

O agronegócio é um dos responsáveis pelo acentuado desenvolvimento econômico do Estado de São Paulo, devido principalmente a cultura da cana-de-açúcar [1]. Nos últimos quinze anos é o Estado onde a expansão da cultura canavieira ocorreu através da substituição de pastagens pela cana, cobrindo aproximadamente 14% da área do estado [2]. Tendo em vista a crescente demanda por fontes renováveis de energia, a perspectiva futura é de uma difusão ainda maior da lavoura canavieira por parte dos produtores rurais, sendo o etanol um dos principais e mais promissores biocombustíveis; pois seu balanço energético é geralmente positivo, ou seja, o crescimento da cana de açúcar absorve mais carbono do que é emitido quando o etanol é queimado como combustível [3]. Adicionalmente, seu preço da produção é relativamente baixo [4]. Devido a esse

atrativo econômico promissor, os remanescentes de florestas nas regiões próprias ao cultivo vêm sendo suprimidos para dar lugar à expansão agrícola [5]. Atualmente, restam apenas 25% (500 km<sup>2</sup>) das matas ciliares remanescentes nas sete principais bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. Os outros 75% (4500 km<sup>2</sup>) foram convertidas em cana e pastagem [6].

No Estado de São Paulo, estas áreas constituem o principal alvo das ações de restauração de florestas, por assumirem um papel fundamental em vários aspectos ecológicos da paisagem [6].

Nos ecossistemas terrestres, onde foi removida a cobertura florestal e com ela rompida a manutenção dos nutrientes entre a serapilheira e o componente vegetal vivo, o nitrogênio é considerado o elemento mais limitante para o desenvolvimento das plantas [7]. A disponibilidade de N pode atuar como um mecanismo importante no controle da taxa, direção e substituição de espécies que regulam a sucessão. Em áreas degradadas, onde a disponibilidade é normalmente baixa, as leguminosas arbóreas mostram-se como uma fonte primária de nitrogênio capaz de permitir a recolonização vegetal e o aumento da biodiversidade [8].

Recentemente a semeadura direta de espécies arbóreas no campo vem sendo avaliada como uma técnica alternativa para restauração de ecossistemas florestais nos trópicos [9]. Utilizando-se sementes de leguminosas arbóreas (Fabaceae), pode-se aliar esta técnica ao caráter pioneiro de diversos gêneros, aproveitando ainda a diversidade desta família nos trópicos e o potencial de fixação biológica de nitrogênio (FBN) que muitas espécies apresentam em associação com microorganismos [10]. Esta simbiose constitui uma alternativa ecológica e econômica aos fertilizantes nitrogenados; pois, além de dispensar o uso desses adubos, a maioria do N fixado biologicamente é aproveitado pela planta, tornando-se uma importante

<sup>(1)</sup> Primeiro Autor é Mestranda do PPG em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Laboratório de Ecologia Isotópica, Universidade de São Paulo. Av. Centenário, 303, Campus Piracicaba, Piracicaba, SP, CEP: 13416-000. E-mail: [lucioletta@yahoo.com.br](mailto:lucioletta@yahoo.com.br)

<sup>(2)</sup> Segundo Autor é Mestre em Recursos Florestais e Analista de Projetos da Secretaria Estadual do Ambiente. Av. Venezuela, 110, Centro, Rio de Janeiro, RJ, CEP: 20081-312

<sup>(3)</sup> Terceiro Autor é Pós-doutoranda do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Laboratório de Ecologia Isotópica, Universidade de São Paulo. Av. Centenário, 303, Campus Piracicaba, Piracicaba, SP, CEP: 13416-000.

<sup>(4)</sup> Quarto autor é Pesquisador A da Embrapa Solos. Rua Jardim Botânico, 1.024, Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ, CEP: 22460-000.

<sup>(5)</sup> Quinto Autor é Professor Titular do Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade São Paulo. Av. Pádua Dias, 11, Campus Piracicaba, Piracicaba, SP, CEP: 13418-900.

<sup>(6)</sup> Sexto Autor é Professor Titular da Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Av. Centenário, 303, Campus Piracicaba, Piracicaba, SP, CEP: 13416-000.

Apoio financeiro: CAPES e FAPESP.

ferramenta de recuperação de ecossistemas degradados [11].

A abundância natural de isótopos estáveis de nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) pode fornecer medidas integradas sobre sua dinâmica ao longo do tempo [12]. Em termos de fixação biológica, a conversão de  $\text{N}_2$  em formas inorgânicas de nitrogênio discrimina pouco contra o  $^{15}\text{N}$ . Conseqüentemente, a assinatura isotópica das leguminosas, quando estão fixando N da atmosfera, tende a ser aproximadamente de 0-2‰ [12]. Por outro lado, espécies não-fixadoras de N mostram uma grande variação na sua razão isotópica dependendo da taxa de mineralização de N do solo [13]. Dessa forma, variações regulares da razão isotópica de N ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) podem proporcionar informações úteis a respeito das fontes de N utilizadas pelas plantas, bem como de aspectos relacionados ao fluxo de N nos ecossistemas.

O diagnóstico da fixação de nitrogênio pelas árvores é um ponto fundamental para o estudo dessas espécies, tanto para o entendimento de seu papel ecológico no ciclo global do N, como para um manejo sustentável apropriado [5].

Neste trabalho avaliamos, através da abundância natural de  $^{15}\text{N}$ , se leguminosas arbóreas nativas semeadas diretamente no campo em associação com microorganismos simbióticos estavam efetivamente fixando nitrogênio do ar quatro anos após sua semeadura no campo.

## Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Fazenda Mata Chica, município de Morro Agudo, Estado de São Paulo (20°40'32'' S; 48°04'23'' W) em solo classificado como Latossolo Vermelho Eutroférrico [14]. O local, originalmente ocupado por mata ciliar sob domínio do contato Savana Florestada (Cerradão) / Floresta Estacional [15], foi explorado pela lavoura canavieira em um passado recente, sendo posteriormente abandonado em respeito à legislação referente às áreas de preservação permanente. Neste local foram plantadas as seguintes espécies de leguminosas arbóreas pertencentes a família Fabaceae, potencialmente fixadoras de N: *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, *Mimosa bimucronata* (DC.) O. Kuntze, (Mimosoideae); *Erythrina speciosa* Andrews, *Ormosia arborea* (Vell.) Harms, *Poecilanthe parviflora* Benth (Papilionoideae); e uma leguminosa não-fixadora de N, *Acacia polyphylla* DC (Mimosoideae), considerada como espécie referência. Na área experimental foi plantado para todas as espécies o mesmo número de sementes não inoculadas (plantas testemunhas) assim como sementes inoculadas com rizóbio.

As coletas de material foliar foram realizadas aos sete meses (2005), e aos quatro anos após a semeadura no campo (2009), secas em estufa a 60°C durante 48 horas e trituradas a fino pó. Foram coletadas amostras superficiais de solo (0-5cm) oriundas da área experimental durante as mesmas épocas. As amostras foram secas ao ar e destorroadas em peneira de 2 mm,

sendo sub-amostras obtidas através do quarteador de Jones, e subsequentemente moídas. Foram pesadas de 1 a 2 mg de material foliar e de 25 a 50 mg de solo em cápsulas de estanho para posterior determinação da razão isotópica ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ), concentração elementar de N e C e a razão C:N através do analisador elementar de combustão (EA - Carlo Erba) em linha com espectrômetro de massas (Delta Plus, Finnigan Mat, San José, CA, USA). A abundância natural do  $^{15}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}$  foi expressa como desvio por mil (‰) de um padrão internacionalmente reconhecido, através da equação:  $\delta = (R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}} - 1) \times 1000$ , onde R é a razão molar  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ou  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  na amostra e no padrão. O padrão usado para o C foi o Peedee Belemnite (PDB), enquanto o padrão para o N foi o ar atmosférico. A atropina foi utilizada como referência para o material foliar e LECO foi usado para o solo. O erro analítico aceitável para C, N,  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  foi de 0,3%, 0,1%, 0,3‰ e 0,5‰, respectivamente.

As concentrações de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_3^-$  da camada superficial do solo (0-5 cm) realizado aos quatro anos após a semeadura, foram determinadas usando um sistema automático de injeção de fluxo contínuo (FIA - Flow Injection Analysis) [16].

Como os dados do material foliar não seguiram uma distribuição normal foram aplicados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney. Os dados de solo seguiram uma distribuição normal e foram aplicados os testes paramétricos ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Unequal N HSD. As análises estatísticas foram feitas usando o pacote estatístico STATISTICA versão 6.1 para Windows [17]. Diferenças a 5% de probabilidade foram tidas como significantes.

## Resultados

### 1. Caracterização do solo

O solo teve um pH ( $\text{CaCl}_2$ ) ligeiramente ácido, em torno de 4,8; teor de carbono de 28 g  $\text{dm}^{-3}$ ; P 12 mg  $\text{dm}^{-3}$ ; e CTC de 88 (mmolc  $\text{dm}^{-3}$ ) e valor V de 65%. A composição isotópica do C e N assim como o N-total e a razão C:N da camada superficial do solo (0-5 cm) da área de estudo estão apresentadas na Tabela 1.

Os valores médios de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_3^-$  no solo (0-5 cm) foram  $3,4 \pm 1,6 \mu\text{g g}^{-1}$  (média  $\pm$  DP), e  $1,2 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$  respectivamente.

### 2. Composição isotópica e concentração de N foliar

#### 2.1 Sete meses após a germinação

O  $\delta^{15}\text{N}$  foliar médio das leguminosas fixadoras semeadas foi de  $2,6 \pm 1,3\text{‰}$  (média  $\pm$  DP), enquanto que a leguminosa referência *Acacia polyphylla* se mostrou cerca de 4,0‰ mais enriquecida em  $^{15}\text{N}$  (Figura 1). Houve grande variação no  $\delta^{15}\text{N}$  entre as espécies no início do experimento. *E. speciosa* e *O. arborea* apresentaram os menores valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , indicando maior proporção do  $\text{N}_2$  fixado da atmosfera na constituição de seus tecidos foliares (Figura 1). *P. parviflora*, *M. bimucronata* e *E. contortisiliquum* apresentaram valores intermediários de  $\delta^{15}\text{N}$ , com

grande variação entre os indivíduos amostrados. A concentração de N nos tecidos foliares variou entre 1,5% e 4,6%. A menor razão C:N foi observada em *E. contortisiliquum* e *E. speciosa*, seguida por *M. bimucronata*. Em nenhum dos parâmetros avaliados o tratamento utilizado (inoculação com rizóbio) mostrou diferença significativa.

## 2.2 Quatro anos após a germinação

Em geral, as espécies potencialmente fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico apresentaram valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  próximos à faixa indicativa de FBN ( $0,1 \pm 1,2\%$ ). A espécie referência *A. polyphylla* apresentou média de  $5,4 \pm 2,6\%$  (Figura 1). O valor mínimo e máximo foi representado pela *E. speciosa* ( $-1,0\%$ ) e *E. contortisiliquum* ( $3,7\%$ ) respectivamente. A concentração de N nos tecidos foliares variou de 1,8% (*P. parviflora*) a 4,8% (*E. speciosa*), enquanto a razão C:N apresentou uma grande variação de 8,9 (*E. speciosa*) a 25,4 (*P. parviflora*).

Não foi observada em nenhum dos parâmetros analisados diferença significativa entre os indivíduos inoculados e não inoculados com rizóbio, para uma mesma espécie de leguminosa.

Comparando os diferentes parâmetros analisados nas diferentes épocas de coleta (sete meses e quatro anos após a germinação) não foram observadas diferenças significativas no  $\delta^{15}\text{N}$  entre a espécie referência *A. polyphylla*, mas foi significativamente maior comparado às outras espécies estudadas ( $P < 0,05$ ) (Figura 1). Em relação ao  $\delta^{13}\text{C}$ , observa-se uma tendência dos valores se tornarem mais leves aos quatro anos de idade em comparação com os resultados obtidos aos sete meses ( $P < 0,05$ ). Apenas *M. bimucronata* e *P. parviflora* não apresentaram diferenças significativas no  $\delta^{13}\text{C}$  foliar entre os dois períodos (Figura 1).

## Discussão

A resposta da fotossíntese e respiração em relação à precipitação ou disponibilidade de água é refletida na composição isotópica do C da vegetação [18]. Após quatro anos de germinação, a maioria das espécies apresentaram  $\delta^{13}\text{C}$  menor comparado aos sete meses de idade, sugerindo uma mudança no microclima da área sob restauração. Isto é refletido na adaptação das espécies a um ambiente de maior estabilidade microclimática, levando a uma maior discriminação contra  $^{13}\text{C}$ , devido a forte relação entre a condutância estomática e a capacidade fotossintética como encontrado em um fragmento de cerrado próximo a área de estudo [19].

Já as análises de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  podem proporcionar informações úteis a respeito das fontes de N utilizadas pelas plantas e transformações do N nos ecossistemas [12, 20], uma vez que as variações do  $\delta^{15}\text{N}$  são refletidas no fracionamento isotópico do N com um enriquecimento isotópico do substrato em relação ao produto [12].

O  $\delta^{15}\text{N}$  foliar depende da fonte de N assimilado pelas plantas, da profundidade do solo de onde o N é adquirido, da forma do N utilizado e da influência das associações com micorrizas e do fracionamento durante e após a absorção de N pelas plantas [21]. Normalmente o N do solo é enriquecido em  $^{15}\text{N}$  como resultado de fracionamento durante os processos microbiológicos como a mineralização da matéria orgânica e denitrificação [12].

O  $\delta^{15}\text{N}$  do solo foi similar ao da planta referência (*A. polyphylla*) nos dois períodos estudados (Tabela 1 e Figura 1), enquanto que as leguminosas potencialmente fixadoras de N apresentaram aos quatro anos de idade valores de  $\delta^{15}\text{N}$  próximos à faixa indicativa de FBN ( $0-2\%$ ) [12] sugerindo que estes indivíduos em associação com microorganismos, estejam fixando N<sub>2</sub> da atmosfera.

Devido ao preparo do solo e os cuidados necessários ao provimento de melhores condições ao estabelecimento das plantas semeadas diretamente no campo, a fase inicial de recuperação do ambiente florestal teve características análogas à implantação de culturas agrícolas, por exemplo. A perturbação mecânica do solo e o revolvimento de suas camadas superficiais provocado pelas máquinas estimulam a mineralização do N orgânico do solo e, na ausência de fertilizantes sintéticos, constituem a principal fonte de N para o crescimento vegetal [22]. Com isso, níveis elevados de FBN na fase inicial do experimento seriam pouco prováveis, principalmente em solos como o da área em estudo — onde antes do plantio apresentava densa camada orgânica superficial — para se sobressair em estágios intermediários da sucessão vegetal. Após quatro anos, as concentrações de N inorgânico encontradas no solo, indicam uma alta razão amônio/nitrato, mas uma baixa disponibilidade de N para as plantas, como encontrado para outras áreas de cerrado [23].

As características do solo, indicando uma baixa disponibilidade de N juntamente com as diferenças no  $\delta^{15}\text{N}$  encontradas entre a planta referência e as potencialmente fixadoras de N, sugerem que aos quatro anos após a germinação, uma das principais fontes de N para as espécies de leguminosas arbóreas estudadas é a FBN.

## Conclusões

As leguminosas arbóreas nativas se mostraram como uma boa alternativa para revegetação de áreas degradadas já que efetivamente fixam N da atmosfera aumentando o aporte deste nutriente. Resta destacar que fixando ou não N<sub>2</sub> atmosférico, as leguminosas possuem um papel chave no sistema. O estilo de vida com alto requerimento de N das leguminosas leva a uma baixa razão C:N foliar, indicando uma alta qualidade do material vegetal produzido [8, 24]. Dessa forma, possuem um papel importante não só na redistribuição de N, como também de outros nutrientes que, assim como o N, serão mineralizados e tornar-se-ão disponíveis novamente para a comunidade vegetal.

## Agradecimentos

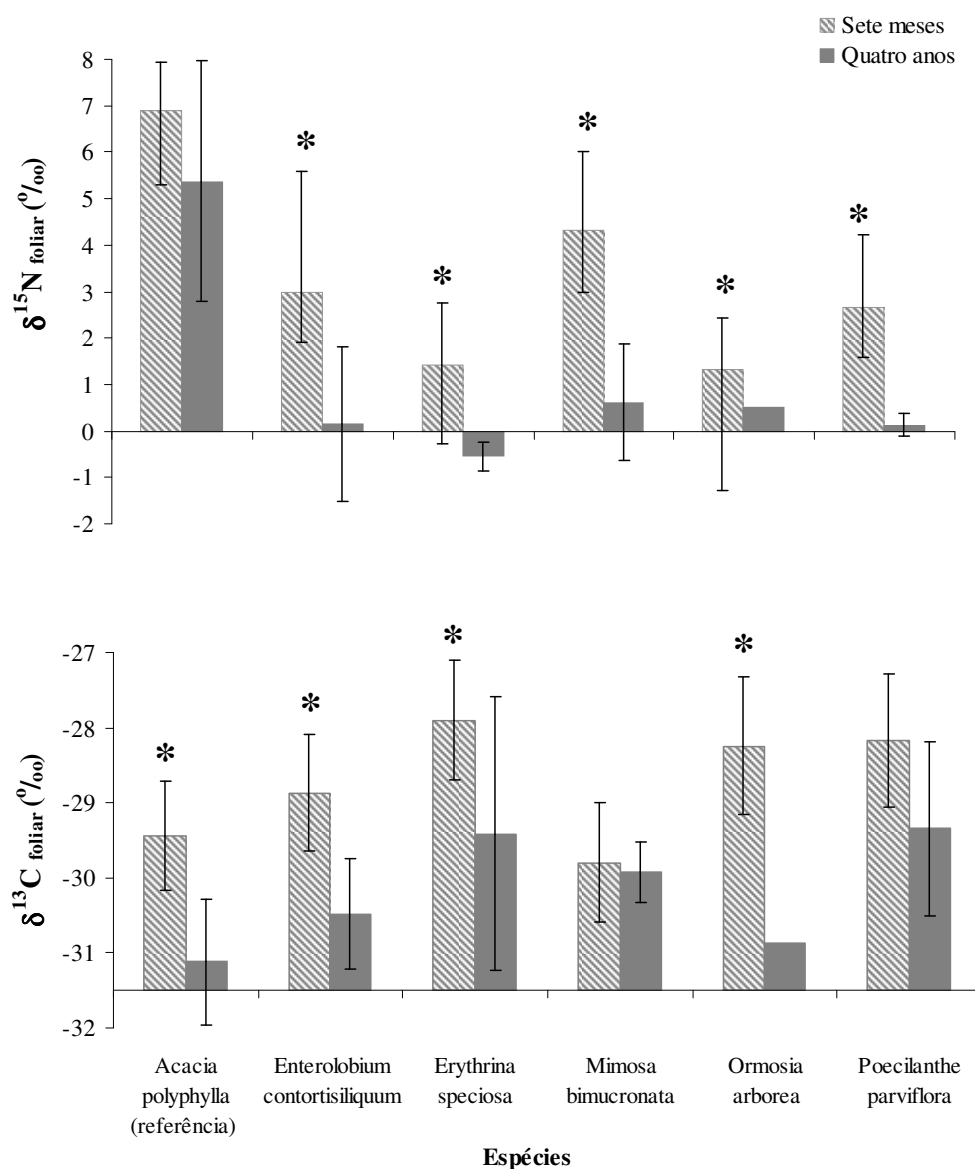
À FAPESP pela bolsa concedida a aluna de mestrado: Processo nº 08/52281-5, à CAPES – Coordenadoria de Aperfeiçoamento e Pessoal de Nível Superior e à Companhia Açucareira Vale do Rosário.

## Referências

- [1] BOCKRIS, J.O'M. 2007. Will lack of energy lead to the demise of high-technology countries in this century? *International Journal of Hydrogen Energy*, 32:153-158.
- [2] RUDORFF, B.F.T.; BERKA, L.M.S.; MOREIRA, M.A.; DUARTE, V. & ROSA, V.G.C. 2004. Estimativa de área plantada com cana-de-açúcar em municípios do estado de São Paulo por meio de imagens de satélites e técnicas de geoprocessamento: ano safra 2004/2005. *INPE-11421-RPQ/762*. São Paulo, Brazil.
- [3] OLIVEIRA, M.E.D.; VAUGHAN, B.E. & RYKIEL Jr, E.J.J. 2005. Ethanol as fuel: energy, carbon dioxide balances, and ecological footprint. *Bioscience*, 55:593-602.
- [4] MARTINELLI, L.A. & FILOSO, S. 2008. Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: Environmental and social challenges. *Ecological Applications*, 18:885-898.
- [5] SOARES, P.G. 2007. *Efeito da inoculação com rizóbio no estabelecimento, crescimento inicial e abundância natural de 15N em leguminosas (Fabaceae) arbóreas nativas plantadas por semeadura direta*. Dissertação de Mestrado, Recursos Florestais, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.
- [6] SILVA, A.M.; NALON, M.A.; do NASCIMENTO KRONKA, F.J.; ALVARES, C.A.; de CAMARGO, P.B. & MARTINELLI, L.A. 2007. Historical land-cover/use in different slope and riparian buffer zones in watersheds of the state of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola*, 64:325-335.
- [7] VITOUSEK, P. M. & HOWARTH, R. W. 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea - how can it occur? *Biogeochemistry*, 3:87-115.
- [8] SIDDIQUE, I.; ENGEL, V.L.; PARROTTA, J.A.; LAMB, D.; NARDOTO, G.B.; OMETTO, J.P.H.B.; MARTINELLI, L.A. & SCHMIDT, S. 2008. Dominance of legume trees alters nutrient relations in mixed species forest restoration plantings within seven years. *Biogeochemistry*. DOI 10.1007/s10533-008-9196-5.
- [9] BROFAS, G. & KARETSOS, G. 2002. Revegetation of mining spoils by seeding of woody species on Ghiona Mountain, Central Greece. *Land Degradation & Development*, 13:461-467.
- [10] SPRENT, J. I. 1995. Legume trees and shrubs in the tropics: N<sub>2</sub> fixation in perspective. *Soil Biology and Biochemistry*, 27:401-407.
- [11] FRANCO, A.A. & FARIA, S.M. 1997. The contribution of N<sub>2</sub>-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. *Soil Biology and Biochemistry*, 29:897-903.
- [12] HÖGBERG, P. 1997. <sup>15</sup>N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist*, 137: 179-203.
- [13] GARTEN, C.T. & VAN MIEGROET, H. 1994. Relationships between soil nitrogen dynamics and natural <sup>15</sup>N abundance in plant foliage from Great Smoky Mountain National Park. *Canadian Journal of Forest Research*, 24:1636-1645.
- [14] EMBRAPA - Solos. 2006. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 2.ed., Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 306p.
- [15] SÃO PAULO (estado). 2005. Secretaria do Meio Ambiente / Instituto Florestal. Inventário florestal da vegetação natural do estado de São Paulo. *Imprensa Oficial*. 200p.
- [16] RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. 1981. *Flow injection analysis*. New York: Wiley Interscience, 395p.
- [17] STATSOFT, INC. STATISTICA. 2004 [Online]. *Statistica 6.0*. Homepage: <http://www.statsoft.com>.
- [18] FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R. & HUBICK, K.T. 1989. Carbon isotope discrimination and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40:503-537.
- [19] COLETTA, L.D.; NARDOTO, G.B.; LATANSIO-AIDAR, S.R.; da ROCHA, H.R.; AIDAR, M.P.M. & OMETTO, J.P.H.B. 2009. An isotopic view of vegetation and carbon and nitrogen cycles in a cerrado ecosystem, southeastern Brazil. *Scientia Agricola*, no prelo.
- [20] MARTINELLI, L.A.; PICCOLO, M.C.; TOWNSEND, A.R.; VITOUSEK, P.M.; CUEVAS, E.; MCDOWELL, W.H.; 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.
- [21] NADELHOFFER, K.J.; SHAVER, G.; FRY, B.; GIBLIN, A.; JOHNSON, L. & MCKANE, R. 1996. <sup>15</sup>N natural abundance and N use by tundra plants. *Oecologia*, 107:386-394.
- [22] BODDEY, R.M.; PEOPLES, M.B.; PALMER, B. & DART, P.J. 2000. Use of <sup>15</sup>N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 57:235-270.
- [23] NARDOTO, G.B. & BUSTAMANTE, M.M.C. 2003. Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 38:955-962.
- [24] NARDOTO, G.B.; OMETTO, J.P.H.B.; EHLERINGER, J.R.; HIGUCHI, N.; BUSTAMANTE, M.M.C. & MARTINELLI, L.A. 2008. Understanding the influences of spatial patterns on N availability within the Brazilian Amazon forest. *Ecosystems* 11:1234-1246.

**Tabela 1.** Composição isotópica de C e N e a razão C:N do solo da área de estudo (0-5 cm de profundidade), analisados em diferentes épocas (sete meses e quatro anos após a germinação), tendo o fragmento florestal Mata Chica próximo ao experimento como solo referência (número à direita do símbolo ( $\pm$ ) referente ao desvio em relação à média e letras iguais não diferem entre si na mesma linha pelo teste de Unequal N HSD a 5%).

Parâmetros	Sete meses	Quatro anos	Fragmento Florestal
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	7,4 $\pm$ 0,4a	7,9 $\pm$ 0,3b	5,4 $\pm$ 0,8c
N (g kg <sup>-1</sup> )	1,6 $\pm$ 0,1a	1,4 $\pm$ 0,1a	2,6 $\pm$ 0,6b
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-18,5 $\pm$ 0,5a	-19,8 $\pm$ 0,9b	-23,7 $\pm$ 0,9c
C:N	13,6 $\pm$ 0,3a	15,2 $\pm$ 0,3b	13,4 $\pm$ 2,1a



**Figura 1.** Valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) (média  $\pm$  1 desvio padrão) nos tecidos foliares de leguminosas arbóreas, aos sete meses e quatro anos após a semeadura direta no campo em Morro Agudo, SP (\* valores médios diferem estatisticamente entre si em relação aos dois períodos de coleta pelo teste de Mann-Whitney a 5%).