UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FLORESTAIS E DA MADEIRA

LUCAS JOSÉ MENDES

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PLANTIO DE *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg INTRODUZIDO EM PASTAGEM NO SUL DO ESPÍRITO SANTO

JERÔNIMO MONTEIRO
ESPÍRITO SANTO
2018

LUCAS JOSÉ MENDES

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PLANTIO DE *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg INTRODUZIDO EM PASTAGEM NO SUL DO ESPÍRITO SANTO

Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

JERÔNIMO MONTEIRO
ESPÍRITO SANTO
2018

LUCAS JOSÉ MENDES

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PLANTIO DE *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg INTRODUZIDO EM PASTAGEM NO SUL DO ESPÍRITO SANTO

Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Aprovado em: 09 de julho de 2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Vinicius Winckler Caldeira / Orientador

DCFM/CCAE/UFES

Pesquisador Dr. Ranieri Ribeiro Paula / Coorientador

DCFM/CCAE/UFES

Drª. Valéria Hollunder Klippel

DCFM/CCAE/UFES

Dr. Paulo André Trazzi

DCFM/CCAE/UFES

A Deus que permitiu que tudo pudesse ser realizado.

Aos meus pais Pedro Augusto da Silva e Glória de Lourdes Silva, a minha vitória, será eternamente nossa.

Ao meu afilhado/sobrinho Pietro Lopes Mendes, que é um presente em minha vida.

Dedico este trabalho.

“Seja a mudança que você quer ver no mundo.”

Mahatma Gandhi

AGRADECIMENTOS

A Deus, que é meu guia em todos os momentos.

Aos meus pais, Pedro Augusto da Silva e Glória de Lourdes Silva e meu irmão Gustavo Mendes da Silva por serem meus maiores exemplos de amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao Ranieri Ribeiro Paula, pela orientação e apoio na elaboração deste trabalho, além da oportunidade e paciência para minha aprendizagem nesses dois anos de iniciação cientifica.

Ao professor Marcos Vinicius Winckler Caldeira, por todos os ensinamentos, conselhos e amizade.

A Universidade Federal do Espírito Santo, por ter me dado todo o suporte para minha qualificação profissional, através do corpo docente, direção e administração.

A FAPES/CNPq Edital Nº 012/2014-DCR (Processo 71416382) pelo financiamento da pesquisa; ao Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA-USP pela realização das análises isotópicas; e ao IFES Campus Alegre, ES, pela disponibilização da área de estudo.

A turma de Engenharia Florestal 2014/1 e agregados pela amizade e companheirismo nessa trajetória. Em especial a Álison, Anna Lara, Amanda, Bianca, Ítalo, Jamile, Larissa, Mariana, Samuel e Vanessa que fazem parte das minhas melhores recordações.

Ao Ítalo e Mariana que foram meus parceiros nos projetos de pesquisa.

Ao Gabriel, Paulo e William que contribuíram na realização deste trabalho.

A equipe da Floema Jr., pelos momentos únicos que colaboraram com minha qualificação profissional.

A todos que fizeram parte deste caminho, mesmo não estando aqui presente.

Muito obrigado!

RESUMO

Árvores leguminosas capazes de associar simbioticamente com bactérias fixadoras de nitrogênio (N) têm um importante papel nas florestas tropicais e nos agrossistemas por introduzir N derivado do ar nesses ambientes, onde a produtividade é geralmente limitada pelo N. O objetivo do estudo foi estimar a proporção do N derivado da fixação simbiótica (%Ndfa) e a quantidade de N fixado em povoamento de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *peregrina* com 70 meses de idade estabelecidos em área de pastagem. O povoamento se localiza no Campus do IFES, em Alegre, ES e tem área total de 6,75 hectares dividida em 45 parcelas de 1500 m², sendo nove parcelas por espaçamento de plantio. As parcelas foram distribuídas em diferentes pontos da paisagem para representar a declividade natural da região de estudo, caracterizada como montanhosa. Mudas de origem seminal e não inoculadas foram plantadas em covas e adubadas no momento do plantio com 220 g de NPK 06-30-06 mais 0,2% de micronutrientes (B, Cu, Zn) e 5% de calcário, em junho de 2011. Aos 70 meses de idade das árvores foi realizado o inventário florestal em nove parcelas com árvores de angico espaçadas 3 x 3 m (16x árvores parcela^{-1}). Nesse mesmo espaçamento, foram amostradas folhas de galhos distribuídos em quatro posições geográficas nos terços inferior, médio e superior da copa de três árvores de angico de tamanho pequeno, médio e grande, localizadas na região central das parcelas. Folhas de plantas não leguminosas ocupando o sub-bosque do angico foram coletadas e usadas como planta referência nos cálculos do %Ndfa. As folhas foram secas em estufa, moídas e o $\delta^{15}N$ foi determinado em espectrômetro de massas. O %Ndfa foi calculado usando valores de β iguais a 0 e -2‰. Valores de %Ndfa foram usados para estimar as quantidades de N derivadas da fixação e acumuladas na biomassa aérea (i.e. folha, galho, casca e madeira) de árvores de angico crescendo no espaçamento 3 x 3 m. Foram utilizados dados do inventário florestal nas equações ajustadas de biomassa aérea realizadas aos 56 meses de idade, e o teor médio de nitrogênio determinado na biomassa aérea de nove árvores crescendo no espaçamento 3 x 3 m. Árvores de angico tiveram altura média de 7,21 m e DAP médio de 8,84 cm. Valores de $\delta^{15}N$ foram mais baixos no angico (1,63±1,88‰) do que nas plantas do sub-bosque (2,54±1,90‰). %Ndfa foi estimado em 49,2% e 22,1% usando valores de β iguais a 0 e -2, respectivamente, com valor médio de 35,65%. A quantidade média de N derivado da fixação na

biomassa aérea foi de 89,36 kg ha^{-1} de N, com uma taxa anual de fixação na biomassa aérea de 15,32 kg ha^{-1} ano^{-1}. Valores de %Ndfa relativamente baixos podem ser explicados pela ausência de inoculação com estirpes específicas, bem como a idade das plantas e a disponibilidade de N no solo. Conclui-se com o presente estudo que estudo *A. peregrina* mostrou ter potencial de fixação de N_2 em condições de campo. Estudos como este são importantes para ampliar o conhecimento sobre a fixação por leguminosas nativas que podem ajudar a minimizar os custos com fertilizantes nitrogenados no reflorestamento.

Palavras chaves: *Leguminosas arbóreas; Fixação biológica de Nitrogênio; Abundância natural do* ^{15}N.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS viii
LISTA DE FIGURAS ix
1. INTRODUÇÃO 1
Objetivos 3
Objetivo geral 3
Objetivos específicos 4
2. REVISÃO DE LITERATURA 5
2.1. A importância dos plantios florestais 5
2.2. *Anadenanthera peregrina* 6
2.3. Fixação de N_2 atmosférico 7
3. MATERIAL E MÉTODOS 10
3.1. Caracterização da área de estudo 10
3.2. Crescimento das árvores 12
3.2.1. Inventário Florestal 12
3.2.2. Biomassa e conteúdo de N 13
3.2.3. Fixação biológica de N 15
3.2.4. Cálculo da fixação biológica do nitrogênio 16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 18
4.1. Crescimento e acumulação de biomassa aérea 18
4.2. N na biomassa aérea 21
4.3. Fixação de N 24
5. CONCLUSÕES 29
REFERÊNCIAS 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios (± desvio padrão, n=3) dos atributos químicos e físicos do solo na profundidade de 0-20 cm aos 68 meses após o plantio de *A. peregrina* em parcelas com espaçamento em 3 x 3 m. 12

Tabela 2 - Equações ajustadas para biomassa dos compartimentos aéreos de árvores de *A*. *peregrina* aos 56 meses de idade, em Rive, Alegre, ES.....14

Tabela 3 - Valores médios (± desvio padrão) de altura (Ht), diâmetro a 1,30m do solo (DAP), área basal (AB) e a taxa de sobrevivência do plantio de *A. peregrina* aos 70 meses, no Instituto Federal do Espírito Santo, em Rive, Alegre, ES.....20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização da área de estudo no Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, ES e indicação dos blocos do experimento com plantios *Anadenanthera peregrina* em diferentes espaçamentos de plantio. 10

Figura 2 - Relação entre diâmetro a 1,30 m do solo (DAP, cm) e altura total (m) entre 270 árvores de *A. peregrina* aos 70 meses de idade. 18

Figura 3 - Valores médios (± desvio padrão, n=9) de biomassa por unidade de área (Mg ha^{-1}) de *A. peregrina* aos 70 meses estimados aplicando as equações da Tabela 2. 21

Figura 4 - Valores médios (± desvio padrão) de teor de N (g kg^{-1}) (n=9) aos 56 meses (a) e conteúdo de N em (kg ha^{-1}) (n=9) (b) com dados estimados de biomassa aérea aos 70 meses, do plantio de *A. peregrina*, em Rive, Alegre, ES.....23

Figura 5 - Variação do $\delta^{15}N$ (‰) nas folhas de *A. peregrina* e plantas do sub-bosque (a); e correlação do $\delta^{15}N$ (‰) nas folhas de *A. peregrina* e plantas do sub-bosque, coletadas em povoamento de *A. peregrina* com 70 meses de idade, em Rive, Alegre, ES. 25

Figura 6 - Valores de %Ndfa em *A. peregrina* estabelecidas em área de pastagem usando valores de β igual a 0 e -2‰. 27

1. INTRODUÇÃO

O restabelecimento das florestas tropicais no Brasil é a mais ambiciosa meta assumida pelo governo no Plano Nacional de Recuperação da Vegetação Nativa (Planaveg), lançado pelo Ministério do Meio Ambiente, no ano de 2015. Como atividades imediatas, estão à recuperação de aproximadamente 12,5 milhões de hectares de áreas degradadas com baixa produtividade até 2030. Estudos tem mostrado o sucesso da resiliência dessas áreas suficiente para promover a recuperação via regeneração natural (ROCHA et al., 2016; BOANARES et al., 2014). A outra metade seria recuperada via plantios florestais, sistemas agroflorestais e florestas mistas, entre outras.

As plantações florestais assumem um importante papel para além da geração de produtos florestais, ao prover diversos serviços ecossistêmicos, tais como, o sequestro de carbono, redução da perda de solos, manutenção dos recursos hídricos, decomposição e a ciclagem de nutrientes, melhorando a qualidade nutricional do solo e aumentando as demandas de nutrientes no local (PAQUETTE e MESSIER, 2010; BOUILLET et al., 2008; DIAS et al., 2006). O plantio de espécies florestais em áreas degradadas exige maiores investimentos em fertilizantes (HUNTER e SMITH, 1996), e a utilização de espécies nativas em plantios para fins comerciais, torna-se um desafio perante o pouco conhecimento do comportamento silvicultural dessas espécies e as suas exigências nutricionais (SOUZA et al., 2006). Além disso, reservas mundiais economicamente viáveis vêm diminuindo e serão mais limitadas no futuro, comprometendo a disponibilidade de adubos fosfatados com valores baixos de exploração (GILBERT, 2009). Assim, alternativas voltadas a melhores condições de manejo, como a utilização de rotações de culturas com leguminosas fixadoras de nitrogênio, se tornam eficazes na melhoria da manutenção da matéria orgânica e nutrição do solo (GRIFFON, 2006), diminuindo os custos com fertilizantes e reduzindo os riscos fitossanitários causados pelo seu uso (CREWS e PEOPLE, 2004).

Espécies fixadoras de nitrogênio (N) têm sido indicadas para o reflorestamento de áreas degradadas com o objetivo de aumentar o N disponível no solo pelas entradas de N extra derivado da fixação biológica de N_2 (FREITAS et al., 2010; BALIEIRO et al., 2015). Leguminosas fixadoras de N são frequentemente as espécies mais encontradas na sucessão secundária de florestas tropicais úmidas e

principalmente sujeitas às secas periódicas (ROGGY et al., 1999; GEHRING et al., 2005). Estudos mostraram que leguminosas fixadoras de N são responsáveis pelo fornecimento de aproximadamente metade do N necessário para o recrescimento da vegetação nos primeiros 12 anos de sucessão secundária em florestas tropicais no Panamá (BATTERMAN et al., 2013). Entretanto, a fixação biológica é geralmente menor com o passar do tempo da sucessão florestal (GEHRING et al., 2005; BATTERMAN et al., 2013) e em plantios florestais tropicais (PARROTTA et al., 1996) devido as maiores quantidades de N disponível no solo fazendo com que as plantas usem mais o N do solo ao invés de investir na fixação biológica de N, que é mais custosa para as plantas (RICHARDS et al., 2010). O N pode ser transferido a partir das espécies fixadoras de N para as espécies não fixadoras de N por diferentes vias, tais como a decomposição da serapilheira e mineralização do N orgânico (FORRESTER et al., 2006; MUNROE e ISAAC, 2014) e a transferência direta de N a partir das raízes finas (PAULA et al., 2015).

O angico (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg) é uma leguminosa arbórea presente desde os estágios iniciais da sucessão florestal em florestas sazonalmente secas no Brasil (OLIVEIRA-FILHO et al., 2013; LORENZI, 2014). Existem duas variações da espécie, que são *A. peregrina* (L.) Speg. var. *peregrina e A. peregrina* var. *falcata* (Benthan) Altschul (SILVA, 2010). A espécie é indicada para plantio em áreas degradadas, se desenvolvendo em vários ambientes, com solos secos ou úmidos, tendo tolerância a solos encharcados, rasos ou compactados, com textura média a argilosa. A espécie apresenta alta regeneração natural em florestas sazonalmente secas e pastagens (ARAÚJO et al., 2006; LORENZI, 2014). As espécies do gênero *Anadenanthera* são capazes de se associar simbioticamente com bactérias fixadoras de N (CORDEIRO e BELTRATI, 1989; SPRENT e PARSONS, 2000). Os agentes mais importantes que atuam na fixação biológica de N_2 na espécie *A. peregrina* são as associações com bactérias do gênero *Rhizobium* (GROSS et al. 2004; HERRIDGE et al., 2008) e com fungos micorrízicos arbusculares (GROSS et al., 2004) presentes no solo onde as árvores crescem (SPRENT e PARSONS, 2000) ou inoculados previamente durante a produção de mudas.

Estimativas da fixação biológica de N (FBN) em plantios e florestas naturais podem ser feitas usando a técnica da abundância natural do isótopo ^{15}N (SHEARER e KOHL, 1986; BODDEY et al. 2000; BOUILLET et al., 2008). Essa técnica

pressupõe-se que as espécies capazes de fixar N da atmosfera possuem valores de $\delta^{15}N$ próximos ao do ar ($\delta^{15}N= 0$), enquanto as espécies não fixadoras de N possuem valores de $\delta^{15}N$ mais próximos dos valores de $\delta^{15}N$ do solo ($\delta^{15}N > 0$) em que estão plantadas (SHEARER e KOHL, 1986). Na aplicação da técnica usa-se o valor β referente ao valor de $\delta^{15}N$ encontrado nos tecidos da espécie fixadora de N quando a única fonte de N é através da fixação biológica (SOUZA et al., 2012a). Shearer e Kohl (1986) atribuem como vantagem desse método o fato de não se ter necessidade de adição de N enriquecido com ^{15}N que funciona como um marcador isotópico, evitando problemas em relação à estabilidade da marcação ao longo do tempo. Segundo Peoples et al. (1991) a principal vantagem dessa técnica sobre outros métodos está no fato de não ocorrer perturbação do sistema, tornando o método praticável em ecossistemas naturais. Uma exigência dessa técnica é que as plantas possam acessar as mesmas fontes de N do solo (SHEARER e KOHL, 1986; BODDEY et al., 2000). E apesar de suas muitas limitações, a abundância natural de ^{15}N continua a ser a melhor opção, conforme Högberg (1997).

Estudos sobre a FBN em *A. peregrina* são incipientes (GROSS et al. 2004) apesar do potencial da espécie para ambas florestas em sucessão primaria e secundária e plantios (LORENZI, 2014). O presente estudo propôs estimar as taxas de N fixado (%Ndfa) pelo método da abundância natural de ^{15}N em árvores de *A. peregrina* (L.) Speg. var. *peregrina* aos 70 meses de idade crescendo em monocultivos em áreas anteriormente ocupadas por pastagem. O conhecimento das taxas de fixação de N em leguminosas nativas não inoculadas com bactérias específicas para promover a FBN (FARIA et al., 1984) podem fornecer importantes indicativos sobre as entradas de N via fixação biológica em florestas secundárias e plantios em idades jovens.

Objetivos

Objetivo geral

Estimar a proporção do N derivado da fixação simbiótica (%Ndfa) e a quantidade de N fixado em povoamento de *Anadenanthera peregrina* com 70 meses de idade, estabelecidos em área de pastagem.

Objetivos específicos

a) Analisar a variação do N e ^{15}N nas folhas de árvores fixadoras de N, espécie *A. peregrina,* e em folhas de plantas não fixadoras de N crescendo no sub-bosque, e estimar o %Ndfa e as quantidades de N fixado no povoamento aos 70 meses de idade;
b) Mensurar a altura e diâmetro de árvores de *A. peregrina* crescendo em parcelas experimentais no espaçamento 3 x 3 m para determinar a quantidade de N presente na biomassa acima do solo (folhas, galhos, casca e madeira) de indivíduos de *A. peregrina*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A importância dos plantios florestais

O aumento de áreas degradadas afeta negativamente os serviços ecossistêmicos de valor público, o desenvolvimento econômico e a produção agrícola (CHAZDON et al., 2015). Muitos solos tropicais apresentam baixa fertilidade natural e necessitam da ciclagem de nutrientes para sustentar a produção primária da vegetação. O desmatamento de florestas tropicais altera o funcionamento do solo, pois ocorre a redução da matéria orgânica existente no solo, afetando diretamente na ciclagem dos nutrientes (TIESSEN et al., 1994). Para reestabelecimento dessas áreas, os plantios florestais trazem a promessa de deter e reverter os impactos negativos gerados pela perda florestal, propiciando serviços ecossistêmicos e mitigando as emissões de gases de efeito estufa (CHAZDON et al., 2015).

Na elaboração e implantação de um plantio florestal, é necessário que se avalie todos os procedimentos, como o preparo do solo, a fertilização e o controle de plantas invasoras, objetivando reduzir ao máximo os estresses ambientais gerados (STAPE et al., 2006). E pensando nos agricultores e proprietários rurais, em áreas degradadas com alto valor potencial para conservação e plantio de espécies nativas, há necessidade de se desenvolver técnicas que tenham baixo custo e que possa fornecer algum nível de retorno financeiro econômico direto (ENGEL e PARROTTA, 2001). Para isso, é necessário que politicas sejam desenvolvidas para encorajar os proprietários de terras a realizar a restauração, que consequentemente irão gerar benefícios para si e para comunidade em geral (CHAZDON et al., 2015).

Visto que, a silvicultura tropical moderna ainda é dominada por plantios monoespecíficos, principalmente com espécies de *Eucalyptus*, *Pinus*, *Acacia* e *Tectona* (KELTY, 2006), a adoção de novos sistemas silviculturais é uma alternativa para à crescente demanda por florestas de usos múltiplos (LAMB, 2005). Um exemplo são os plantios mistos de *Eucalyptus* com espécies arbóreas nativas, representando uma alternativa potencial para o estabelecimento de plantios multiuso e favorecimento da restauração ambiental e paisagística do local (AMAZONAS, 2018; PAQUETTE e MESSIER, 2010).

De acordo com Bouillet et al. (2013), a combinação de espécies arbóreas fixadoras de N, como as leguminosas, com as espécies para produção de madeira que não fixam N, como o *Eucalyptus*, fazem com que as espécies não fixadoras se beneficiem do aumento dos nutrientes fornecidos no sistema, melhorando a produção do plantio em solos que são pobres em nutrientes em regiões tropicais com o clima quente, úmido e de baixas limitações hídricas. Espécies leguminosas estão presentes em diferentes estágios sucessionais (LORENZI, 2014) e pode ser utilizadas para proteger o solo contra as erosões, produzindo matéria orgânica, que através da sua incorporação, melhora a fertilidade do solo (BERTONI e LOMBARDI NETO, 2008); ajudando a restabelecer os estoques de C e N e a ciclagem de nutrientes (TRANNIN et al., 2001; MACEDO et al., 2008).

2.2. *Anadenanthera peregrina*

Anadenanthera peregrina, conhecida popularmente como angico, angico-do-morro, angico-branco e angico-vermelho é uma leguminosa arbórea, pioneira a secundária, pertencente à família Fabaceae. É uma espécie com porte de 14 a 22 metros de altura, possuindo uma copa frondosa e ampla, tendo um diâmetro do toco entre 40 a 80 cm (LORENZI, 2014). Com uma expressiva regeneração natural, *A. peregrina* possui um crescimento moderado a rápido, que sem nenhum melhoramento, pode ter uma produtividade de até 25 m^3 ha^{-1} ano^{-1} aos 8 anos de idade no espaçamento de 4 m^2 $planta^{-1}$ (CARVALHO, 2003). Naturalmente, são encontradas na transição para o cerrado em matas semidecíduas, tendo ocorrência nos estados de Tocantins, Goiás, Minas Gerais, Bahia, São Paulo, Rio de Janeiro, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2014).

A espécie *A. peregrina* possui elevado potencial para produtos florestais madeireiros e não-madereiros (CARVALHO, 2003) e, segundo Mori *et al.* (2003), tem boa aceitação na indústria moveleira, possuindo boa trabalhabilidade ao ser processada e na utilização de acabamentos, como o verniz. Além disso, seu alto teor de lignina é ideal para a produção de lenha e carvão de qualidade. A casca é rica em tanino, obtendo-o para uso comercial na extração de taninos na produção de adesivos (CARNEIRO, 2012; CARNEIRO, 2009). Na construção civil, a madeira é empregada em batentes de portas, esteios, vigas, ripas, caibros, obras externas,

como moirões e estruturas de pontes. Além disso, *A. peregrina* é tido como medicinal, através do uso das flores que são apícolas (LORENZI, 2014) e da casca rica em tanino para o tratamento de asma e bronquite (MORS, 2000).

Até 100% da demanda de nitrogênio de leguminosas pode ser supridos pela associação simbiótica com as bactérias como as do gênero *Rhizobium* (BINKLEY e GIARDINA, 1997). Eles estão entre os microrganismos mais bem estudados, sendo muito utilizados na inoculação de plantas e, quando em simbiose com leguminosas, mostram capacidade de fixar quantidades expressivas de nitrogênio (HAHN, 2013). Essa característica foi observada por Souza (2010) em seu estudo, onde *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan foi uma das espécies que fixou simbioticamente grandes proporções de conteúdos de N derivado de N_2 atmosférico. Além disso, os fungos micorrízicos arbusculares, também fazem associação mutualística com leguminosas, podendo aumentar a solubilização e a absorção de fosfóro do solo através do seu micélio extra-radicular, translocando-o para a planta (GROSS et al., 2004).

É uma espécie que tem vantagens para se estabelecer em diferentes sítios, permitindo gerar grande representatividade nos diversos fragmentos florestais (GARCIA et al., 2011). O sucesso em seu estabelecimento pode estar relacionado com seu efeito alelopático (SILVA et al. 2010), onde em um plantio monoespecífico, Souza et al. (2012b) constatou que devido a efeitos alelopáticos, *A. peregrina* pode inibir a germinação, a sobrevivência e o crescimento de espécies arbustivo-arbóreas autóctones, dificultando o desenvolvimento da regeneração natural e mostrando um efeito seletivo sobre o banco de sementes.

2.3. Fixação de N_2 atmosférico

Existem plantas que realizam associações simbióticas e mutualistas com seres procariontes a fim de receber N reduzido para uso em proteínas, aminoácidos, entre outros compostos (BINKLEY e GIARDINA, 1997). Os agentes mais importantes de fixação de N_2 são as associações simbióticas entre leguminosas e bactérias do grupo *Rhizobium* (HERRIDGE et al., 2008). As leguminosas formam uma das famílias mais importantes na produção agrícola, seja como fonte de alimento para uso humano e animal, como adubo para outras culturas no uso de

adubação verde ou em consórcio com outras espécies (UDVARDI et al., 1992). Na associação simbiótica com bactérias, as espécies realizem a fixação biológica de nitrogênio (FBN), onde toda a dinâmica se baseia na reciclagem do N atmosférico para a terra, através do uso de energia solar. Esse processo faz com que o N molecular presente no ar se reduza, transformando-se em amônia, que é a forma a qual as plantas podem utiliza-lo, no processo chamado de fixação de N_2 (DÖBEREINER, 1984).

Essas associações foram observadas em regiões semi-áridas do nordeste brasileiro e na África, e foi constatado que os isolados nativos são bem resistentes às temperaturas elevadas e a estresses hídricos, conseguindo obter boa produtividade e fixar N_2 em condições desfavoráveis, não necessitando do uso de fertilizantes nitrogenados (STAMFORD et al., 1999). Além disso, o fornecimento de N derivado da FBN para outras plantas crescendo em companhia das plantas fixadoras de N pode ocorrer através da transferência de N por processos acima e abaixo do solo (PAULA et al., 2015). É sabido que o %Ndfa varia de acordo com a idade e a espécie (PARROTTA et al., 1996; BARRON et al., 2011; ISAAC et al., 2011) e a quantidade de N fixado pode mudar em função das variações sazonais no ambiente (PAULA et al. 2015) e pela competição entre as plantas na busca de água, luz e nutrientes (RICHARDS et al., 2010). Contudo, a queda da fixação de N_2 ao longo do tempo tem sido associada à habilidade que as leguminosas têm de regular a fixação de acordo com sua necessidade, que pode ser suprida com a ciclagem de nutrientes e com as mudanças ocorridas na disponibilidade de N do solo (MENGE e HEDIN, 2009).

O estudo do ciclo do N e da fixação simbiótica do N no sistema solo-planta-atmosfera tem sido amplificado com o uso das técnicas isotópicas. A técnica da abundância natural do ^{15}N é baseada no uso de isótopos estáveis de nitrogênio (^{15}N), onde na natureza, o N atmosférico possui uma proporção de 0,366% de átomos de ^{15}N e 99,634% de átomos de ^{14}N (MIRANDA et al., 2003) e ocorre naturalmente numa razão quase constante de 1:273 (ALVES et al., 2005). A técnica da abundância natural do ^{15}N permite que a mensuração das concentrações relativas desses isótopos avaliem vários fenômenos ligados à nutrição nitrogenada das plantas (OLIVEIRA, 2012), pois no solo, devido às transformações ocorridas no sistema solo-planta, existe uma maior quantidade de ^{15}N do que em plantas que absorvem diretamente o N atmosférico (SHEARER et al., 1978; MARIOTTI et al.,

1982). Uma vantagem desse método consiste no fato de que não se tem necessidade de adição de N marcado, evitando problemas de inibição da fixação de N e de estabilidade da marcação (SHEARER e KOHL, 1986). Portanto, a interpretação isotópica se dá a partir do fato que de a planta não fixadora apresentará um enriquecimento de ^{15}N semelhante ao solo, sendo maior do que a da planta fixadora (ALVES et al., 2005). Nessa técnica, é utilizado um valor β nos cálculos de %Ndfa, que é referente ao valor conhecido de ^{15}N do processo de fixação em plantas crescidas em meio sem suprimento de N mineral, exceto a FBN. Os valores extremos foram testados por Högberg (1997), avaliando o efeito nos cálculos, sendo de 0% e -2%, respectivamente.

Outra técnica bastante utilizada é a diluição isotópica através da marcação isotópica de ^{15}N. Na aplicação dessa técnica, o solo recebe uma quantidade de fertilizante marcado com ^{15}N, artificialmente enriquecidos (át.% ^{15}N > 0,3663), que é suficiente para elevar o seu enriquecimento, mas que possui mínima interferência no processo de FBN (XAVIER, 2006; PAULA, 2015). O enriquecimento de ^{15}N no N disponível do solo é avaliado através de uma testemunha, que é uma planta não fixadora de N_2 (ALVES et al., 2005), onde essa técnica serve como alternativa quando não é possível fornecer estimativas de %Ndfa pelo método de abundância natural (BOUILLET et al., 2008). O que se recomenda, é que a escolha da testemunha, em casos onde não se tem certeza da uniformidade de marcação do solo com ^{15}N, seja de três espécies que não fixem nitrogênio e que possuam o comportamento de crescimento e de enraizamento bem diferentes entre si (BODDEY et al., 1995). A escolha das plantas testemunhas, visando reduzir possíveis erros, deve ser feita com plantas não fixadoras que possuem um sistema radicular semelhante ao da planta fixadora, explorando o mesmo volume de solo (XAVIER, 2006). Caso o enriquecimento de ^{15}N seja similar entre as espécies, conclui-se que a marcação do solo apresenta certa uniformidade. Nessa técnica, as plantas que utilizam 100% do N atmosférico irão apresentar porcentagem semelhante ao ^{15}N atmosférico em seus tecidos, enquanto que as plantas que não fazem FBN irão ter um enriquecimento de ^{15}N igual ao do N disponível do solo, que será igual da planta testemunha (ALVES et al., 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado em povoamentos de *Anadenanthera Peregrina* (angico) que pertencem ao projeto “Floresta Piloto” localizado na área do Instituto Federal do Espirito Santo (IFES), no município de Alegre, ES (20º46’15,46’’ de latitude sul e 41º27’13,04’’ de longitude oeste (Figura 1)). O clima da região enquadra-se no tipo Aw, segundo Köppen, apresentando a estação chuvosa no verão e estação seca no inverno, com a temperatura média anual de 23ºC e precipitação anual em torno de 1.200 mm (PEZZOPANE et al., 2004; PEEL et al., 2007). O relevo da área é típico montanhoso, com presença de cadeias de montanhas e pontões, com altitude média de 150 m.

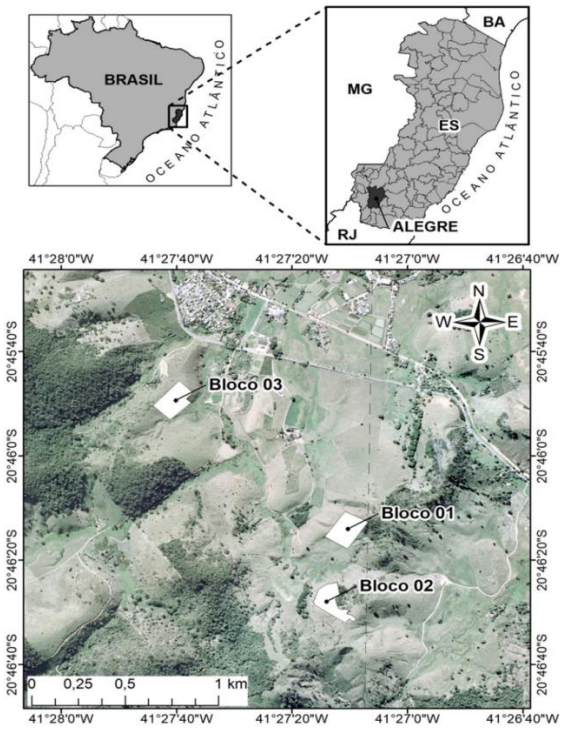

Figura 1 - Localização da área de estudo no Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, ES e indicação dos blocos do experimento com plantios *Anadenanthera peregrina* em diferentes espaçamentos de plantio.

Fonte: SOUZA (2018).

A área total do plantio de *A peregrina* é de 6,75 hectares, distribuídas em 3 blocos, com 15 parcelas de 1500 m^2 de área em cada bloco e 3 parcelas por espaçamento de plantio (veja Souza (2018), para mais detalhes). O presente estudo foi conduzido em 9 parcelas com árvores espaçadas em 3 x 3 m e 160 árvores por parcela, sendo as parcelas distribuídas igualmente em três blocos de plantio (Figura 1).

O plantio de *A. peregrina* foi realizado em junho de 2011 numa área anteriormente ocupada por pastagem de *Brachiaria* sp. destinada a criação de gado por pelo menos 40 anos sem recebimento de adubações e calagem. As mudas foram produzidas na Reserva Natural Vale de Linhares-ES (Instituto Ambiental Vale) e são de origem seminal e não foram previamente inoculadas com bactérias específicas para promover a fixação de N. Para a preparação do terreno, o gado existente na área foi retirado e em seguida foi realizado o dessecamento da pastagem aplicando-se glifosato. Em seguida, foi realizada a distribuição e marcação das covas em dimensões (30 x 30 x 30 cm). Foi aplicada uma adubação no momento do plantio com 220 g por cova de NPK 06-30-06 mais micronutrientes (0,2% B; 0,2% Cu; 0,2% Zn) e 5% de calcário, sem realização de calagem na implantação e na manutenção do plantio. A manutenção se deu aproximadamente até um ano após o plantio, sendo realizadas roçadas, coroamento das mudas e o controle de formigas cortadeiras.

O solo da área, de acordo com o antigo mapeamento (IFES, 1984, dados não publicados) e atualizado conforme classificação dada pela Embrapa (2006) foi classificado em três classes: Bloco 1 – Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico; Bloco 2 – Cambissolo háplico eutrófico e Bloco 3 – Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (SOUZA, 2018). Aos 68 meses após a implantação do plantio de *A. peregrina*, foram realizadas coletas e análises químicas de solo em toda área de estudo para fins de avaliação da fertilidade do solo (veja Campanharo, 2017 para mais detalhes). Além disso, análises de C e N total foram feitas até a profundidade de 0-20 cm de solo, bem como análises densidade e % de argila, site e areia (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores médios (± desvio padrão, n=3) dos atributos químicos e físicos do solo na profundidade de 0-20 cm aos 68 meses após o plantio de *A. peregrina* em parcelas com espaçamento em 3 x 3 m.

Atributo	Unidade	Bloco		
		1	2	3
pH	H_2O	5,44±0,10	5,36±0,09	5,2±0,27
P	mg dm^{-3}	2,02±0,36	2,06±0,27	1,84±0,61
C	g kg^{-1}	10,45±3,87	14,8±1,42	11,94±1,05
N total		2,18±0,40	2,29±0,38	1,69±0,39
CTC	cmol dm^{-3}	4,49±0,37	8±1,31	3,31±0,83
Densidade	g cm^{-3}	1,25±0,06	1,21±0,12	1,21±0,09
Argila	%	41,89±5,73	32,53±3,01	31,03±3,68
Silte		5,79±3,08	10,13±1,51	9,26±2,62
Areia		52,32±3,58	57,34±1,98	59,71±4,44

pH em água - Relação 1:2,5; P - Extrator Mehlich-1; C - Carbono orgânico - Oxidação por via úmida; CTC - Capacidade de troca catiônica a pH 7; Densidade - Método do anel volumétrico; Argila, Silte e Areia - método da pipeta; N total - método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997).

Fonte: O autor.

3.2. Crescimento das árvores

3.2.1. Inventário Florestal

Foi mensurada a altura (Ht) e a circunferência a 1,3 m do solo (CAP), na idade de 70 meses. A mensuração do diâmetro foi realizada com fita métrica em todas as árvores pertencentes à área útil da parcela, excluindo duas linhas de bordadura.

A altura total (Ht) das árvores do povoamento foi mensurada com clinômetro (Haglöf). A seleção foi feita de forma aleatória e sequencial nas linhas presentes na área útil, sendo medidas 30 árvores por parcela e 270 árvores nas nove parcelas. Para a estimação dos demais valores de Ht foi gerada um equação hipsométricas (Figura 2, no item resultados).

3.2.2. Biomassa e conteúdo de N

A quantificação da biomassa foi feita por Souza (2018) entre fevereiro e março de 2016 (≈ 56 meses de idade) após a derrubada de 45 árvores no total sendo 9 árvores por espaçamento. A seleção das árvores foi feita em função do diâmetro médio ± desvio padrão, sendo derrubada 1 árvore por parcela. Após a derrubada, as árvores foram pesadas individualmente, separando as folhas, galhos e madeira, obtendo-se para cada um deles, o peso úmido no campo, em kg. Para a obtenção da massa seca em laboratório, foram retiradas amostragens de acordo com Dallagnol et al. (2011) e Rondon (2002). As amostras em campo foram armazenadas em sacos de papel pardo, devidamente identificados, e transferidos para o NUPEMASE (Núcleo de Pesquisa Científica e Tecnológica em Meio Ambiente, Silvicultura e Ecologia) na Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, em Jerônimo Monteiro, ES, sendo previamente pesadas para a determinação do peso fresco em balança portátil com precisão de 0,01 kg.

Posteriormente, foram colocadas para secagem em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65ºC, até peso constante, para obter o teor de umidade e, em seguida, a massa seca. Para a realização do cálculo da biomassa seca individual de cada árvore, foi utilizada a equação proposta por Soares et al. (2011). A biomassa de casca foi estimada utilizando a porcentagem média de casca nos discos retirados ao longo do fuste de cada árvore (SOUZA, 2018).

A biomassa das árvores foi estimada aplicando os valores de DAP e Ht mensurados aos 70 meses em modelos de regressão ajustados por Souza (2018) para o povoamento de *A. peregrina*. As equações foram geradas utilizando os valores individuais de 45 árvores abatidas após comparações estatísticas prévias mostrarem a ausência do efeito do espaçamento sobre a biomassa individual das árvores (SOUZA, 2018). O modelo de Spurr (1952) foi o que melhor se ajustou aos dados com base nos valores de R^2aj e no Syx (Tabela 2).

Tabela 2 - Equações ajustadas para biomassa dos compartimentos aéreos de árvores de *A*. *peregrina* aos 56 meses de idade, em Rive, Alegre, ES

Compartimento	**Equação ajustada[1]**	**R^2aj.**	**Syx (%)**
Folhas	$Bio = 1{,}5169484 + 0{,}0039595*(DAP^2Ht)$	46,96	47,70
Galhos	$Bio = 0{,}676983 + 0{,}022195*(DAP^2Ht)$	74,92	42,04
Madeira	$Bio = 1{,}3085724 + 0{,}0185399*(DAP^2Ht)$	92,80	18,99
Casca	$Bio = 0{,}4311420 + 0{,}0016197*(DAP^2Ht)$	82,52	23,85

(1) – 45 árvores foram usadas para o ajuste; DAP, em cm e Ht, em m.

Fonte: SOUZA (2018), adaptado pelo autor.

As amostras de folhas, galhos, casca e madeira das 9 árvores derrubadas no espaçamento 3 x 3m (72 amostras no total) foram usadas nas análises de N total. As análises foram feitas no laboratório de Ecologia Aplicada (LEA-LCF) da ESALQ-USP usando digestão da amostra para converter N_{org}. a íon amônio ($N\text{-}NH_4^+$) e destilação com álcali para determinação do $N\text{-}NH_4^+$ no digerido (método Kjeldahl).

Os teores médios de N foram utilizados para estimar o conteúdo de N por compartimento, ao nível de planta e unidade de área, conforme equações 3 e 4:

$$CNC = Biomassa * tN \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Em que:

CNC= Conteúdo de N no compartimento, em g árvore^{-1};

Biomassa é a massa seca do compartimento, em kg;

tN é o teor de nitrogênio no compartimento, em g kg^{-1}.

$$CNha = \sum(CNC) * 10000 / A \qquad \text{(Eq. 4)}$$

Em que:

CNha = Conteúdo total de N por compartimento, em Kg ha^{-1};

A= área ocupada em m² das árvores amostradas.

Para os cálculos das quantidades de N acumulado pelas árvores foi desconsiderado mudanças no teor de N nos compartimentos da biomassa entre 56 e 70 meses de idade das árvores.

3.2.3. Fixação biológica de N

Todas as folhas presentes em 4 galhos, sendo um por ponto cardeal, foram retirados em cada terço da copa (superior, médio e inferior) de três árvores de *A. peregrina* (planta fixadora) por parcela em abril de 2017 (70 meses após o plantio). Árvores foram selecionadas em função do tamanho (uma árvore pequena, uma média e uma grande por parcela) e das condições fitossanitárias. Folhas de plantas não fixadoras de N arbustivas e herbáceas crescendo no sub-bosque (plantas usadas como referência para a fixação) do angico foram coletadas. A coleta das folhas das plantas presentes no sub-bosque foi de forma aleatória, sendo as espécies identificadas: *Lantana camara* L.; *Solanum asperum* L. C. Rich.; *Commelina erecta.* L.; *Baccharis* sp.; *Bidens* sp.; *Centrosema pubescens* Benth.; *Vernonanthura phosphorica* (Vell.) H. Rob.; *Gomphrena* sp.; *Chromolaena* sp. e espécies não identificadas pertencentes as famílias Amaranthaceae, Asteraceae e Malvaceae. As espécies presentes no sub-bosque variaram entre as parcelas do angico.

Todas as folhas das três árvores de angico amostradas em cada parcela foram misturadas, assim como as folhas das espécies presentes no sub-bosque, para formar uma amostra composta por parcela (18 amostras no total). As amostras de folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 72 horas, sendo posteriormente moídas em moinho de facas do tipo Willey e armazenadas em frascos de acrílico. Todo o processo de moagem foi feito preservando a limpeza entre as amostras, utilizando-se aspirador de pó, jato de ar e álcool etílico. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA-USP, localizado no Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, em Piracicaba (SP), para realização das análises em espectrômetro de massas para análise de razão isotópica de elementos leves (modelo Hydra 20-20), acoplado a um analisador automático de N (modelo ANCA-GSL, Sercon Co., Krewe, UK). Se utilizou nas amostragens, aproximadamente, 8 mg de folhas, com análises com precisões de 0,001 átomos % de ^{15}N.

3.2.4. Cálculo da fixação biológica do nitrogênio

De posse dos resultados das análises isotópicas no espetrômetro, os valores de ^{15}N (atom%) encontrados foram convertidos para δ‰ de acordo com a equação (5), abaixo:

$$\delta\,^{15}N_{amostra}\,‰ = \frac{(^{15}N/^{14}N)amostra - (^{15}N/^{14}N)ar}{(^{15}N/^{14}N)ar}\,x\,1000 \qquad \text{(Eq. 5)}$$

Em que:

^{15}N = o valor em átomos % observados na amostra e no ar (0,3663);

^{14}N = 100 - ^{15}N (atom%).

O percentual do N derivado da fixação do N_2 (%Ndfa) foi calculado usando a equação proposta por Shearer e Kohl (1986) (Equação 6):

$$\%Ndfa = 100\left(\frac{AE_{REFx} - AE_{Fx}}{AE_{REFx} - \beta}\right) \qquad \text{(Eq. 6)}$$

Em que:

%Ndfa= percentual do N derivado da fixação do N_2;

AE_{REFx} = valor de $\delta^{15}N$ (‰) determinado nas folhas do conjunto de plantas do sub-bosque;

AE_{Fx} = valor de $\delta\,^{15}N$ (‰) determinado nas folhas de *A. peregrina*;

β = fator de correção de $\delta\,^{15}N$ (‰) em plantas acessando N exclusivamente via FBN.

Somente as folhas foram usadas para as estimativas do %Ndfa para a planta inteira, como foi indicado nos estudos de Bouillet et al. (2008) e Parrotta et al. (1996). O %Ndfa foi calculado usando valor β iguais a 0 e -2‰ e um valor de %Ndfa médio foi calculado. Esses dois valores extremos para o β foram recomendados por Högberg (1997). Esses extremos são próximos a valores de β encontrados em leguminosas nativas como *Mimosa caesalpiniifolia* Benth. (-1,24‰) (REIS JR et al.,

2010), *Arachis pintoi* Krapov. & W. C. Greg. (0,07‰) (MORA, 2001) e da *Acacia mangium* Wild (-0,3‰) (GALIANA et al., 2002). Os valores médios de %Ndfa encontrados nas plantas crescendo nas 9 parcelas foram usados para estimar as quantidades de N fixado na biomassa aérea desde o plantio.

3.3. Análise dos dados

Para os resultados, foram usadas tendências nos valores médios e respectivos desvios padrões. O crescimento em DAP e Ht foi estudado usando análise de regressão para verificar como se comportam os valores da variável Ht em função da variação de DAP, bem como para valores da variação do $\delta^{15}N$ (‰) nas folhas de *A. peregrina* em função das plantas do sub-bosque. As equações de regressão foram estabelecidas no software SigmaPlot 11.0 (SYSTAT SOFTWARE, 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Crescimento e acumulação de biomassa aérea

Árvores de *A. peregrina* apresentaram altura média de 7,21 m, variando entre 3,24 e 12,41 m e DAP médio de 8,84 cm, variando entre 0,95 e 19,2 cm (Figura 2; Tabela 3). A área basal (G) do plantio foi de 8,50 m^2 ha^{-1}. A taxa média de sobrevivência das árvores aos 70 meses foi de 86,94%. A alta taxa de sobrevivência de *A. peregrina* pode estar relacionada com a sua capacidade de adaptação em diversos ambientes, apresentando alta regeneração natural em florestas sazonalmente secas e pastagens (ARAÚJO et al., 2006; LORENZI, 2014), bem como a sua capacidade de associar simbioticamente com bactérias fixadoras de N atmosférico (CORDEIRO e BELTRATI, 1989; SPRENT e PARSONS, 2000). As alturas acima da média correspondem a 46,45% dos indivíduos, e abaixo da média 41,05%. O crescimento está relacionado com a competição nos povoamentos florestais, e árvores de pequeno porte são aquelas que geralmente tiveram alguma desvantagem competitiva em relação às árvores maiores vizinhas (DAVIS e JOHNSON, 1987).

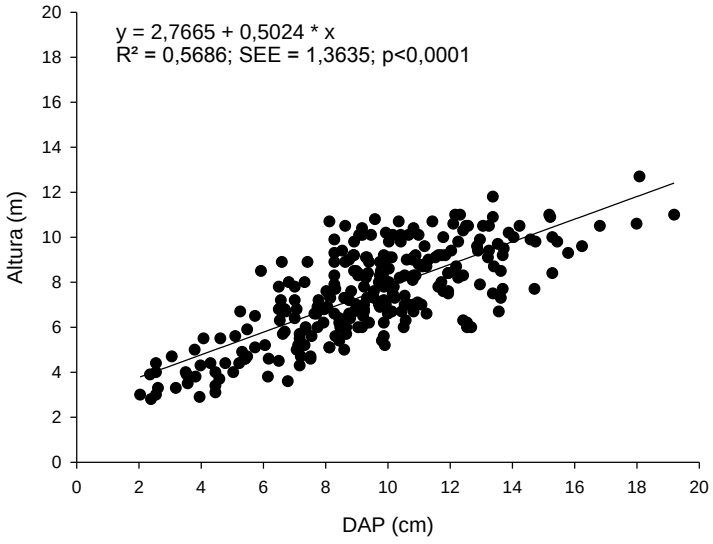

Figura 2 - Relação entre diâmetro a 1,30 m do solo (DAP, cm) e altura total (m) entre 270 árvores de *A. peregrina* aos 70 meses de idade.

FONTE: O autor.

Os valores médios mensurados por Souza (2018) foram de 6,28 m em altura e 7,14 cm em DAP (aos 44 meses). A diferença entre esses valores com os deste estudo (70 meses de idade) indica que as árvores cresceram em média 0,93 m em altura e 1,70 cm em DAP. Lima et al. (2009) estudando o crescimento inicial de várias espécies florestais indicadas para revegetação observou que *A. peregrina* foi uma das espécies que obteve maior crescimento, sendo maior que *A. colubrina*, espécie pertencente ao mesmo gênero da espécie objeto deste estudo e que ocorre naturalmente nas florestas estacionais do estado do Espírito Santo (NEVES, 2018). O crescimento em diâmetro é mais influenciado pela competição entre plantas do que o crescimento em altura em povoamentos florestais (STAGE, 1975).

As nove parcelas de estudos apresentaram pequenas diferenças nas propriedades químicas e físicas do solo (Tabela 1) (veja também CAMPANHARO, 2017). Diante disso, a variação da taxa de sobrevivência dos indivíduos entre as parcelas (Tabela 3) possivelmente não tem relação com a falta de fertilidade. Logo, é comum essa condição em plantações florestais homogêneas, pois à medida que as árvores crescem, ocorre um aumento da competição em busca de melhores condições, até que se tem um autodesbaste na população, que é caracterizado como uma mortalidade natural de indivíduos (SCHNEIDER et al., 2015).

Tabela 3 - Valores médios (± desvio padrão) de altura (Ht), diâmetro a 1,30m do solo (DAP), área basal (AB) e a taxa de sobrevivência do plantio de *A. peregrina* aos 70 meses, no Instituto Federal do Espírito Santo, em Rive, Alegre, ES.

Bloco	Parcela	Ht (m)	DAP (cm)	AB (m²)	Sobrevivência (%)
	1	6,24±1,31	6,91±2,61	0,0043±0,0030	80,62
1	2	7,88±1,44	10,17±2,86	0,0088±0,0045	98,12
	3	7,78±1,44	9,98±2,87	0,0085±0,0046	90,62
	4	6,53±1,30	7,49±2,58	0,0049±0,0032	74,37
2	5	6,18±1,45	6,80±2,88	0,0043±0,0029	68,75
	6	7,32±1,58	9,06±3,14	0,0072±0,0046	81,87
	7	7,16±1,37	8,75±2,73	0,0066±0,0038	98,12
3	8	7,83±1,47	10,07±2,93	0,0086±0,0046	96,87
	9	7,40±2,09	9,23±4,16	0,0080±0,0059	93,12
Média		7,21±1,63	8,84±3,24	0,0070±0,0046	86,94%

Fonte: O autor.

A biomassa da parte aérea das árvores foi maior nos galhos (44,72%), seguida da madeira (39,33%), folhas (11,67%) e casca (4,27%). O somatório da biomassa aérea foi de 41,93 Mg ha^{-1}. Souza (2018), quando realizou a biomassa de 45 indivíduos de *A. peregrina* aos 56 meses de idade, verificou que os espaçamentos mais adensados (3 x 2 e 3 x 3 m) apresentaram os maiores valores para a biomassa total, indicando que em espaçamentos menores ocorre maior produção de biomassa por unidade de área, devido a maior concentração de indivíduos, sendo essa tendência também verificada por Oliveira Neto et al. (2003), em seu estudo com *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

A biomassa média (kg $árvore^{-1}$) acima do solo variou conforme os compartimentos, isso se evidencia comparando a biomassa presente na copa (soma dos compartimentos folhas e galhos) com a biomassa do fuste (madeira e casca). A proporção de copa correspondeu a 56,41% da biomassa estocada na parte aérea (Figura 3). Vale ressaltar que, como observado em Caldeira et al. (2000) no estudo com *Acacia mearnsii* De Wild., a copa detém de um maior número de nutrientes do

que o fuste, onde essa ocorrência se dá, pois em um povoamento florestal, uma grande parte da alocação de carboidratos, é resultante da fotossíntese, que atua diretamente na produção de biomassa da copa.

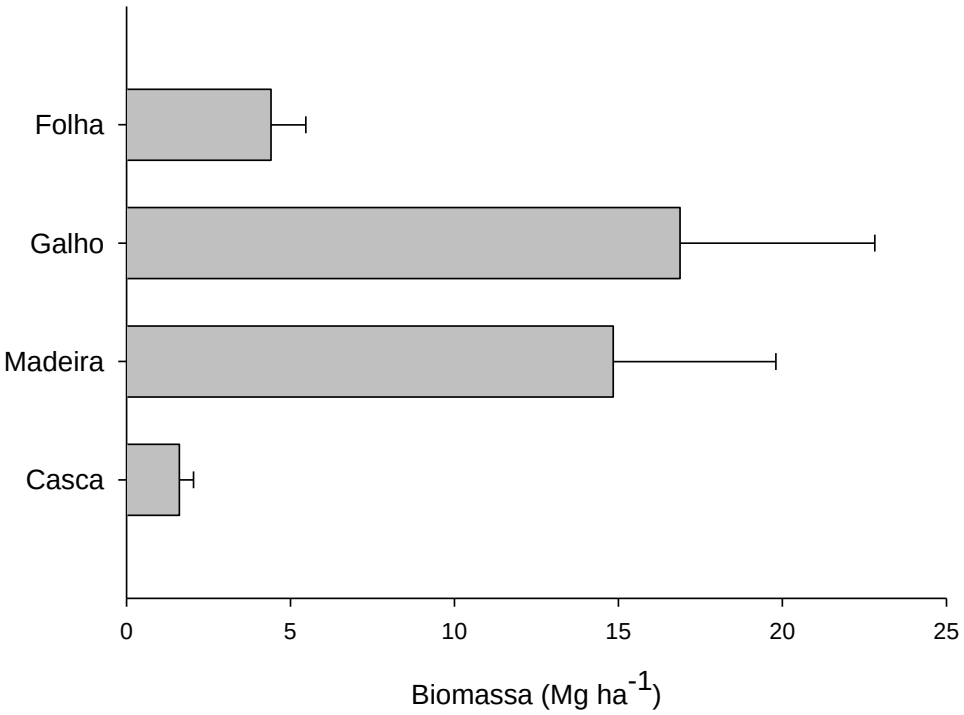

Figura 3 - Valores médios (± desvio padrão, n=9) de biomassa por unidade de área (Mg ha^{-1}) de *A. peregrina* aos 70 meses estimados aplicando as equações da Tabela 2.

Fonte: O autor.

4.2. N na biomassa aérea

Teores de N foram maiores nos tecidos foliares em relação aos demais (Figura 4a), sendo 3,34, 10,65 e 2,07 vezes mais altos nas folhas do que nos galhos, madeira e casca, respectivamente. Como o conteúdo de N (g $árvore^{-1}$) na biomassa acima do solo é o resultado dos teores de N multiplicados pela biomassa, observou-se que, apesar das folhas não possuírem grande biomassa, altas concentrações de N nas folhas levaram a conteúdos de N mais altos em relação à madeira e casca (Figura 4b). O conteúdo de N por unidade de área foi mais alto nos galhos (111,91 g $árvore^{-1}$) e folha (97,84 g $árvore^{-1}$); e menores na madeira (30,87 g $árvore^{-1}$) e casca (17,30 g $árvore^{-1}$). O somatório do conteúdo de N nas folhas e galhos corresponde

quase à totalidade de N presente na biomassa aérea (81,32%) em relação ao fuste (madeira e casca), que apesar de ter uma grande biomassa, possui menor conteúdo de N estocado (18,68%). Em nível de hectare (Figura 4c), o conteúdo de N correspondeu à quantidade de 108,84 kg ha^{-1} nos galhos, 94,97 kg ha^{-1} nas folhas, 30,03 kg ha^{-1} na madeira e 16,82 kg ha^{-1} na casca.

Maiores concentrações de N, como de outros nutrientes nas folhas podem ser explicados porque a maioria das células vivas se encontra neste órgão, devido aos processos de transpiração e fotossíntese (ALVES et al., 2017). Além disso, em espécies leguminosas, o incremento e absorção de N foliar são beneficiados com a relação simbiótica de bactérias fixadoras de N atmosférico (FRANCO et al., 1992). Em um estudo com plantações mistas de *Eucalyptus* sp. e *Acacia* sp. foi verificado que a maior acumulação de N em função da entrada adicional via fixação biológica em leguminosas, melhora a decomposição da serapilheira e a liberação de nutrientes para o solo (SANTOS et al., 2017). Portanto, a serapilheira pode ser um meio efetivo para a ciclagem dos nutrientes e reposição de N no solo, pois através da queda das folhas, ela é capaz de liberar elementos minerais para o solo que poderão ser reabsorvidos pelas raízes das plantas (SCHUMACHER et al., 2003). Logo, a melhoria geral dos atributos químicos nos blocos de *A. peregrina* analisado por Campanharo (2017) sugere que as folhas tenham contribuído para a ciclagem de nutrientes nesses locais, onde foi constatado melhorias na elevação da CTC potencial e efetiva, na soma de bases, e nos teores de Mg, além de uma tendência de aumento nos teores de P, K e Ca.

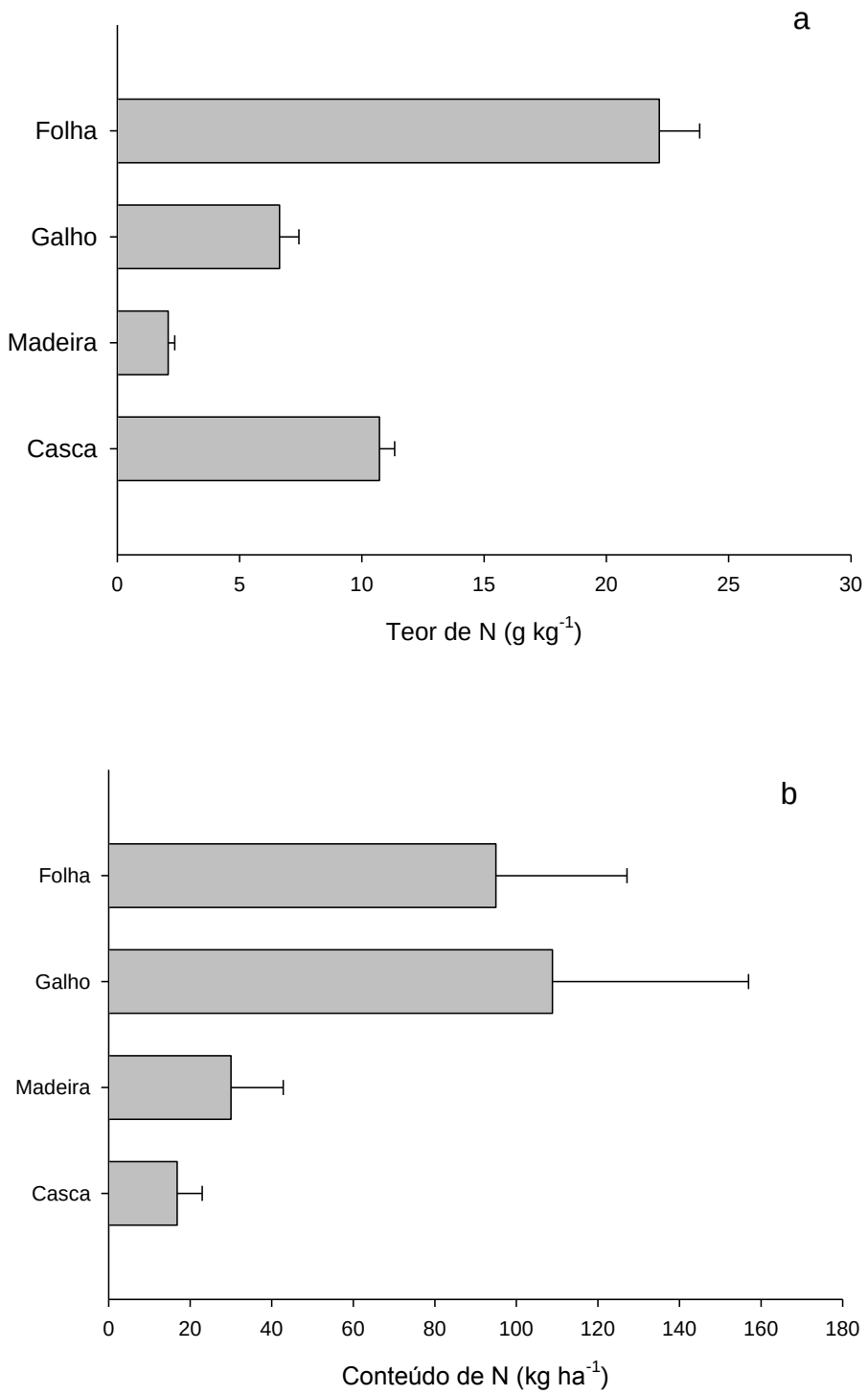

Figura 4 - Valores médios (± desvio padrão) de teor de N (g kg^{-1}) (n=9) aos 56 meses (a) e conteúdo de N em (kg ha^{-1}) (n=9) (b) com dados estimados de biomassa aérea aos 70 meses, do plantio de *A. peregrina*, em Rive, Alegre, ES.

Fonte: O autor.

4.3. Fixação de N

Plantas do sub-bosque tiveram maiores valores de $\delta^{15}N$ com média de 2,54±1,90‰, enquanto que as folhas de *A. peregrina* tiveram valores mais baixos com média de 1,63±1,88‰ (Figura 5a). A utilização de várias espécies referências foi proposta por Boddey et al. (1995), sendo utilizada em vários estudos para determinação da FBN, como visto em Alves et al., 2005; Andrews et al., 2011; Vincent et al., 2018.

Vincent et al. (2018) usou a abundância natural de $\delta^{15}N$ para determinar a contribuição da FBN em árvores de *Acacia spirorbis* var. *spirorbis* Labill., adotando como plantas referência para FBN as plantas espontâneas presentes na área experimental; sendo encontrado valores mais altos de $\delta^{15}N$ nessas plantas em relação a leguminosa fixadora estudada. Bustamante et al. (2004) em seu levantamento com 45 espécies de plantas nativas do Cerrado, também obteve menores valores de $\delta^{15}N$ nas plantas leguminosas em comparação com as não leguminosas. A confiabilidade da utilização da técnica de abundância natural aumenta quando, em locais que se tem maior N mineral do solo, os valores de $\delta^{15}N$ se encontram em quantidades mais elevadas nas plantas que não fixam o N_2 atmosférico (MIRANDA et al., 2003). Mas em florestas secundárias antigas, os padrões espaciais das leguminosas fixadoras e sua abundância em relação ao ^{15}N pode reduzir o $\delta^{15}N$ presente no solo do plantio, dificultando as analises de abundancia natural nesse tipo de floresta (GEHRING e VLEK, 2004).

Os resultados apresentaram valores que variaram de -0,15 e 5,68‰ em *A. peregrina* e 1,17 e 7,0‰ nas plantas do sub-bosque do isótopo $\delta^{15}N$ (Figura 5b). A relação positiva e significativa entre os valores de $\delta^{15}N$ nas folhas de angico e das plantas do sub-bosque indica que houve uma variação espacial na abundância de $\delta^{15}N$ do solo e que ambas a plantas dependem do N disponível no solo.

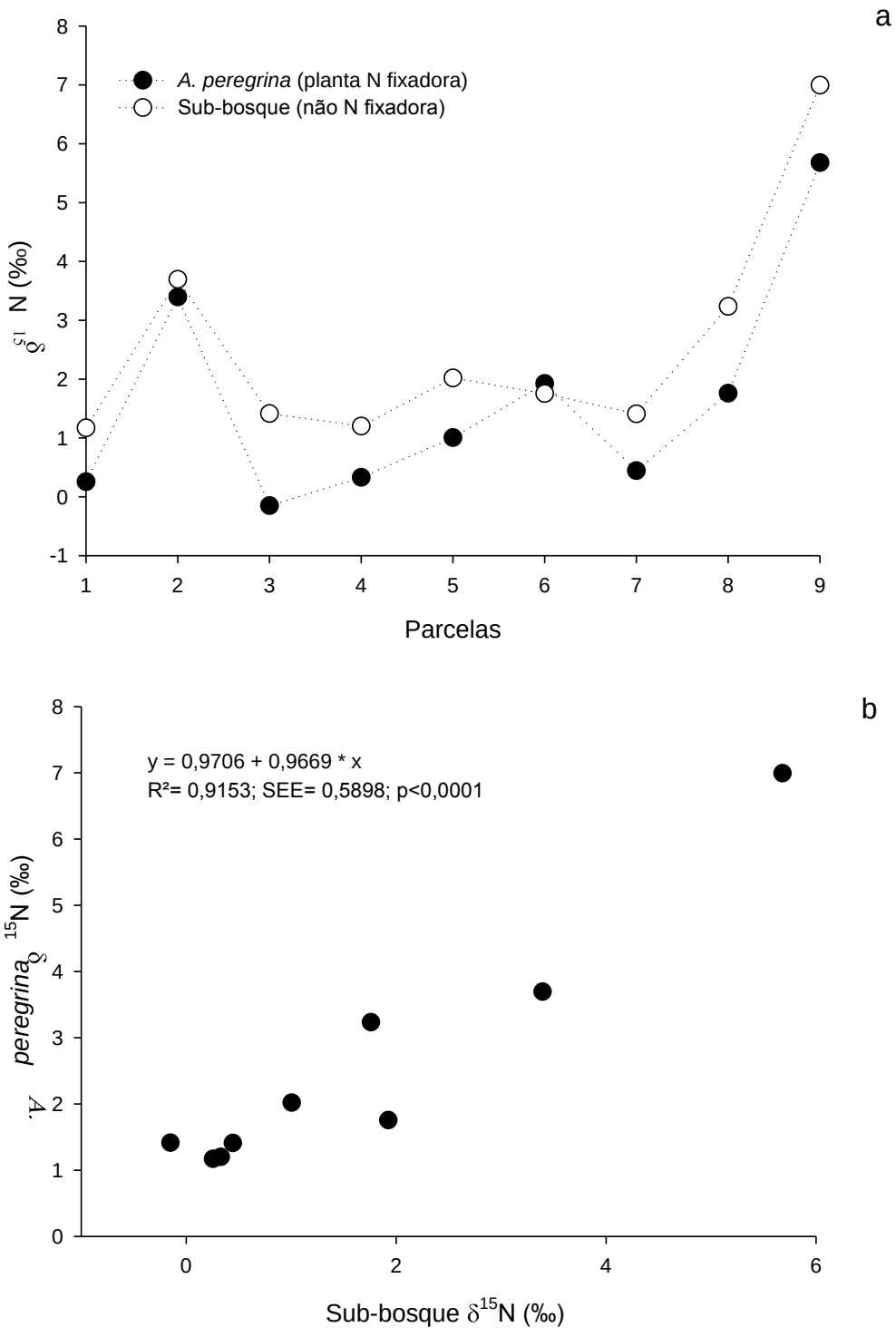

Figura 5 - Variação do $\delta^{15}N$ (‰) nas folhas de *A. peregrina* e plantas do sub-bosque (a); e correlação do $\delta^{15}N$ (‰) nas folhas de *A. peregrina* e plantas do sub-bosque, coletadas em povoamento de *A. peregrina* com 70 meses de idade, em Rive, Alegre, ES.

Fonte: O autor.

%Ndfa foi estimado pelas diferenças nos valores de $\delta^{15}N$ nas folhas de *A. peregrina* e nas folhas das plantas do sub-bosque (Figura 6). Considerando que foram utilizados dois valores de β (com $\delta^{15}N$= 0 e -2‰), os valores médios encontrados para %Ndfa foram 49,2 e 22,1%, respectivamente. Um valor médio de %Ndfa igual a 35,65% foi estimado para o plantio (Figura 6). O valor β, quando as leguminosas possuem níveis baixos a médio (<50 %Ndfa) na FBN, causa impacto razoavelmente pequeno na %Ndfa (DOUGHTON et al., 1992).

Vários fatores podem contribuir para a quantidade de N fixado e suas eventuais variações, onde a planta pode fixar N_2 conforme a sua necessidade de acordo com os períodos do ano, como na diminuição na disponibilidade de N no solo em períodos mais frios ou o seu aumento nas épocas mais quentes e úmidas (VOIGTLAENDER, 2012). Paula et al. (2018), em seu estudo com *Acacia mangium*, verificaram que um dos fatores que contribuem para variação sazonal de %Ndfa durante o ano, são as mudanças na mineralização de N do solo. Essa condição também foi verificado por Pons et al. (2007), que sugeriram que o %Ndfa em leguminosas está diretamente relacionada a variáveis ambientais, onde a baixa disponibilidade de P e alta de N no solo limitaram a fixação de N_2. Outro fator que pode estar relacionado é a biomassa individual da planta, que correlaciona significativamente com a FBN, em que o tamanho da planta pode afetar as estimativas de %Ndfa em árvores potencialmente fixadoras de N_2 (GEHRING e VLEK, 2004).

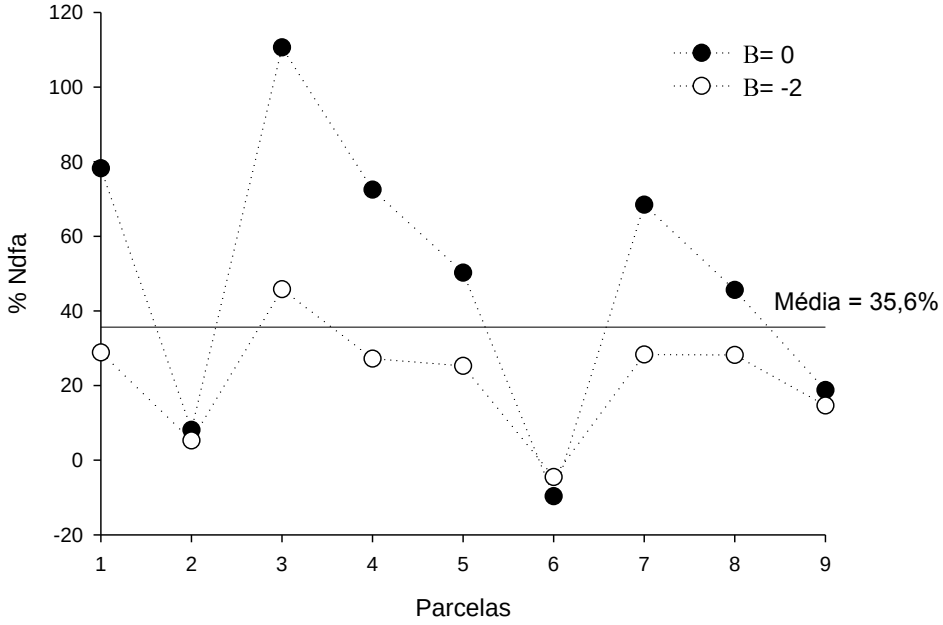

Figura 6 - Valores de %Ndfa em *A. peregrina* estabelecidas em área de pastagem usando valores de β igual a 0 e -2‰.

Fonte: O autor.

Assumindo o valor médio encontrado de %Ndfa igual a 35,65% para *A. peregrina*, a quantidade média de N derivado da fixação acumulado na biomassa aérea foi de 89,36 kg ha^{-1} de N aos 70 meses de idade, com uma taxa anual de fixação na biomassa aérea de 15,32 kg ha^{-1} ano^{-1}. Sabe-se que o %Ndfa está abaixo do que já foi encontrado em relação a algumas leguminosas, como no caso de espécies de *Acacia* sp, que pode chegar a uma quantidade FBN de até 100% (VINCENT et al., 2018). Porém, em estudos revisados por Andrews et al. (2011), em leguminosas arbóreas presentes em ecossistemas naturais, o valor médio encontrado foi de 42 ± 5,4%, conferindo com a realidade proposta por este trabalho, onde não se teve inoculação com estirpes específicas para promover máxima FBN, como no caso de *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium elkanii* que tiveram eficiência quando inoculadas nas sementes de *A. peregrina* (BELINI et al., 2014).

Outro caso semelhante está no %Ndfa estimado para *Pseudosamanea guachapele* (Kunth) Harms, onde em plantio puro variou entre 17 a 36%, mas em consórcio com eucalipto obteve uma quantidade mais elevada, sendo de 35 a 60% (BALIEIRO et al., 2015). Essa condição também foi verificada em plantio

consorciado de *A. mangium* com eucalipto, sendo o %Ndfa três vezes maior no consórcio do que em monocultivo (PAULA et al., 2018). Logo, deve-se considerar que as taxas de %Ndfa foram obtidas com as plantas crescendo somente em competição intraespecífica, por serem implantadas em monocultivo. A competição maior pode ter ocorrido no inicio do plantio devido a mato-competição com as mudas, porém *A. peregrina* demonstrou ter capacitação de adaptação e condições de estabelecimento. Diante disso, as estratégias dos indivíduos em fixar o N atmosférico são facultativas, sendo que varia conforme as necessidades impostas pela necessidade nutricional em uma ampla variedade de ambientes (ANDREWS et al., 2011) e de acordo com a idade do plantio (PAULA et al., 2018).

5. CONCLUSÕES

Valores de %Ndfa relativamente baixos (35,65%) podem ser explicados pelos seguintes fatores: ausência de inoculação com estirpes específicas; variação sazonal de %Ndfa durante o ano; idade do plantio e demanda de N das árvores.

A espécie pode acumular 41,93 Mg ha^{-1} de biomassa aérea, com quantidade média de N derivado da fixação acumulado na biomassa aérea de 89,36 kg ha^{-1} de N aos 70 meses de idade, com uma taxa anual de fixação na biomassa aérea de 15,32 kg ha^{-1} ano^{-1}.

Estudos como este são importantes para ampliar o conhecimento sobre a fixação por leguminosas nativas que podem ajudar a minimizar os custos com fertilizantes nitrogenados no reflorestamento.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. R.; FERREIRA, R. L. C.; SILVA, J. A. A.; JÚNIOR, J. C. B. D.; SALAMI, G. Nutrientes na biomassa aérea e na serapilheira em áreas de caatinga em Floresta, PE. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 92, p. 413-420, 2017.

ALVES, B. J. R.; ZOTARELLI, L.; JANTALIA, C. P.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. **Processos biológicos no sistema solo-planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável.** Brasília, Embrapa-SCT, p. 343-350, 2005.

AMAZONAS, N. T.; FORRESTER, D. I.; SILVA, C. C.; ALMEIDA, D. R. A.; RODRIGUES, R. R.; BRANCALION, P. H. High diversity mixed plantations of *Eucalyptus* and native trees: An interface between production and restoration for the tropics. **Forest Ecology and Management**, v. 417, p. 247-256, 2018.

ANDREWS, M.; JAMES, E. K.; SPRENT, J. I.; BODDEY, R. M.; GROSS, E.; DOS REIS JR, F. B. Nitrogen fixation in legumes and actinorhizal plants in natural ecosystems: values obtained using ^{15}N natural abundance. **Plant Ecology & Diversity**, v. 4, n. 2-3, p. 131-140, 2011.

ARAÚJO, F. S.; LANI, J. L.; MARTINS, S. V.; NETO, M., ALVES, J. A.; PIRES, I. E. Estrutura da Vegetação Arbustivo-Arbórea Colonizadora de Uma Área Degradada por Mineração de Caulim, Brás Pires, MG. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.1, p.107-116, 2006.

BALIEIRO, F. C.; ALVES, B. J. R.; PEREIRA, M. G.; FARIA, S. M.; FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. Biological nitrogen fixation and nutrient release from litter of the *Guachapele* leguminous tree under pure and mixed plantation with *Eucalyptus*. **Cerne**, v. 14, n. 3, p. 185-193, 2015.

BARRON, A. R.; PURVES, D. W.; HEDIN, L. O. Facultative nitrogen fixation by canopy legumes in a lowland tropical forest. **Oecologia**, London, v.165, p.511-520, 2011.

BATTERMAN, S.A; HEDIN, L.O.; VAN BREUGEL, M.; RANSIJN, J.; CRAVEN, D.J.; HALL, J.S. Key role of symbiotic dinitrogen fixation in tropical forest secondary succession. **Nature**, London, v. 502, p. 224–227, 2013.

BELINI, C.M.; RIBEIRO, L.; CARAMELO, A.D; GALDIANO JR, R.F.; MOREIRA, W.M.Q. Crescimento de leguminosas arbóreas inoculadas com rizóbios em casa de vegetação. **Revista Fafibe On-Line**, Bebedouro SP, v. 7, p. 35-47, 2014.

BERTONI, J; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**, 7ª Edição, Editora Ícone. São Paulo, SP. 355p, 2008.

BINKLEY, D.; GIARDINA, C. Nitrogen fixation in tropical forest plantations. In: NAMBIAR, E.K.S., BROWN, A.G. (Ed.), **Management of Soil, Nutrients and Water**

in Tropical Plantation Forests. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, v. 43, p. 297-338, 1997.

BOANARES, D.; AZEVEDO, C. S. The use of nucleation techniques to restore the environment: a bibliometric analysis. **Natureza & Conservação**, v. 12, n. 2, p. 93-98, 2014.

BODDEY, R. M.; OLIVEIRA, O. C.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Field application of the ^{15}N isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. **Fertilizer Research**, Dordrecht, v. 42, p. 77-87, 1995.

BODDEY, R. M.; PEOPLES, M. B.; PALMER, B.; DART, P. J. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 57, n. 3, p. 235-270, 2000.

BOUILLET, J. P.; LACLAU, J. P.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; VOIGTLAENDER, M.; GAVA, J. L.; LEITE, F. P.; HAKAMADA, R.; MARESCHAL, L.; MABIALA, A.; TARDY, F.; LEVILLAIN, J.; DELEPORTE, P.; EPRON, D.; NOUVELLON, Y. *Eucalyptus* and *Acacia* tree growth over entire rotation in single- and mixed-species plantations across five sites in Brazil and Congo. **Forest Ecology and Management**, v. 301, p. 89-101, 2013.

BOUILLET, J. P.; LACLAU, J. P.; GONÇALVES, J. D. M.; MOREIRA, M. Z.; TRIVELIN, P. C. O.; JOURDAN, C.; SILVA, E. V.; PICCOLO, M. C.; TSAI, S. M.; GALIANA, A. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil: 2: Nitrogen accumulation in the stands and biological N_2 fixation. **Forest Ecology and Management**, v. 255, n. 12, p. 3918-3930, 2008.

BUSTAMANTE, M.M.C.; MARTINELLI, L.A.; SILVA, D.A.; CAMARGO, P.B.; KLINK, C.A.; DOMINGUES, T.F.; SANTOS, R.V. N^{-15} natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas (Cerrado). **Ecological Applications**, Washington, v.14, n.1, p.200-213, 2004.

CALDEIRA, M. V. W.; SCHUMACHER M. V.; TEDESCO, N.; SANTOS, E. M. et al. Ciclagem de nutrientes em *Acacia mearnsii* DE WILD. Quantificação do conteúdo de nutrientes na biomassa aérea de *Acacia mearnsii* DE WILD. procedência australiana. **Ciência Rural**, v. 30, n. 6, p. 977–982, 2000.

CAMPANHARO, I. F. **Mudanças edáficas após plantio de leguminosas arbóreas em pastagem no sul do Espírito Santo.** Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 51p. 2017.

CARNEIRO, A. D. C. O.; ROCHA VITAL, B.; NEVES MENDES CASTRO, A. F.; CAVALCANTE DOS SANTOS, R.; OLIVEIRA CASTRO, R. V.; PINHEIRO, M. A. Parâmetros cinéticos de adesivos produzidos a partir de taninos de *Anadenanthera peregrina* e *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 36, n. 4, 2012.

CARNEIRO, A. D. C. O.; VITAL, B. R.; FREDERICO, P. G. U.; CARVALHO, A. M. M. L.; VIDAURRE, G. B. Propriedades de chapas de aglomerado fabricadas com adesivo tânico de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e uréia-formaldeído. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 521-531, 2009.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. v.2. 1036p.

CHAZDON, R. L.; BRANCALION, P. H.; LAMB, D.; LAESTADIUS, L.; CALMON, M.; KUMAR, C. A Policy-Driven Knowledge Agenda for Global Forest and Landscape Restoration. **Conservation Letters**, v. 10, n. 1, p. 125-132, 2015.

CORDEIRO, L.; BELTRATI, C. M. Estrutura e desenvolvimento de nódulos radiculares de *Anadenanthera falcata* Speg. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 12, p. 61-70, 1989.

CREWS, T. E.; PEOPLES, M. B. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 102, n. 3, p. 279-297, 2004.

DALLAGNOL, F. S.; MOGNON, F.; SANQUETTA, C. R.; CORTE, A. P. D. Teores de carbono de cinco espécies florestais e seus compartimentos. **Floresta e Ambiente**, v. 18, n. 4, p. 410–416, 2011.

DAVIS, L. S.; JOHNSON, K. N. **Forest Management.** New York: Mc GrawHill, 790 p, 1987.

DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; CORREIA, M. E. F.; ROCHA, G. P.; MOREIRA, J. F.; DE MENEZES RODRIGUES, K.; FRANCO, A. A. Árvores fixadoras de nitrogênio e macrofauna do solo em pastagem de híbrido de Digitaria. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 6, p. 1015-1021, 2006.

DÖBEREINER, J. Nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 13, p. 83-90, 1984.

DOUGHTON, J. A.; VALLIS, I.; SAFFIGNA, P. G. An indirect method for estimating ^{15}N isotope fractionation during nitrogen fixation by a legume under field conditions. **Plant and Soil**, v. 144, n. 1, p. 23-29, 1992.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA — EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212p.

ENGEL, V. L.; PARROTTA, J. A. An evaluation of direct seeding for reforestation of degraded lands in central São Paulo state, Brazil**. Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 152, p. 169-181, 2001.

FARIA, S. M.; FRANCO, A. A.; MENANDRO, M. S.; JESUS, R. M.; BAITELLO, J. B.; AGUIAR, O. T.; DOBEREINER, J. Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na região sudeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 13, p. 143-153, 1984.

FORRESTER, D. I.; COWIE, A. L.; BAUHUS, J.; WOOD, J. T.; FORRESTER, R. I. Effects of changing the supply of nitrogen and phosphorus on growth and interactions between *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii* in a pot trial. **Plant and Soil**, v. 280, p. 267–277, 2006.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. M. R.; FARIA, S. M. de. **Revegetação de solos degradados**. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1992. 11 p. (Comunicado Técnico, 9).

FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SANTOS, C. E. R. S.; FERNANDES, A. R. Biological nitrogen fixation in tree legumes of the Brazilian semi-arid caatinga. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n. 3, p. 344-349, 2010.

GALIANA, A., BALLE; P., KANGA; A. G.; DOMENACH, A. M. Nitrogen fixation estimated by the 15N natural abundance method in *Acacia mangium* Willd. inoculated with *Bradyrhizobium* sp. and grown in silvicultural conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 2, p. 251-262, 2002.

GARCIA, C. C.; REIS, M. D. G. F.; DOS REIS, G. G.; PEZZOPANE, J. E. M.; LOPES, H. N. S.; RAMOS, D. C. Regeneração natural de espécies arbóreas em fragmento de Floresta Estacional Semidecidual Montana, no domínio da Mata Atlântica, em Viçosa, MG. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 4, p. 677-688, 2011.

GEHRING, C.; VLEK, P. L. G. Limitations of the ^{15}N natural abundance method for estimating biological nitrogen fixation in Amazonian forest legumes. **Basic and Applied Ecology**, v. 5, n. 6, p. 567-580, 2004.

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

GILBERT, Natasha. Environment: the disappearing nutrient. **Nature News**, v. 461, n. 7265, p. 716-718, 2009.

GRIFFON, M. **Nourrir la planète, pour une revolution doublement verte**. Paris: Odile Jacob, 2006. 456p.

GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 95-101, 2004.

HAHN, L. **Promoção de crescimento de plantas gramíneas e leguminosas inoculadas com rizóbios e bactérias associativas.** Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 171p. 2013.

HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M.. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1-2, p.1-18, 2008.

HÖGBERG, Peter. Tansley Review No. 95: ^{15}N natural abundance in soil–plant systems. **New Phytologist**, v. 137, p. 179-203, 1997.

HUNTER, I. R.; SMITH, W. Principles of forest fertilisation—illustrated by New Zealand experience. **Fertilizers and Environment**. Springer, Dordrecht, v. 43, n. 1-3, p. 21-29, 1996.

ISAAC, M. E.; HARMAND, J. M.; LESUEUR, D.; LELON, J. Tree age and soil phosphorus conditions influence N_2-fixation rates and soil N dynamics in natural populations of *Acacia senegal*. **Forest Ecology and Management**, v. 261, n. 3, p. 582-588, 2011.

KELTY, M. J. The role of species mixtures in plantation forestry. **Forest Ecology and Management**, v. 233, n. 2-3, p. 195-204, 2006.

LAMB, D.; ERSKINE, P. D.; PARROTTA, J. A. Restoration of degraded tropical forest landscapes. **Science**, v. 310, n. 5754, p. 1628-1632, 2005.

LIMA, J. A.; SANTANA, D. G.; NAPPO, M. E. Comportamento inicial de espécies na revegetação da mata de galeria na Fazenda Mandaguari, em Indianópolis, MG. **Revista Árvore**, v. 33, n. 4, 2009.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. **Instituto Plantarium**, São Paulo: Nova Odessa, v. 4., 384p., 2014.

MACEDO, M. O.; RESENDE, A. S.; GARCIA, P. C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; URQUIAGA, S.; CAMPELLO E. F. C.; FRANCO, A. A. Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing trees. **Forest Ecology and Management**, v. 255, n. 5-6, p. 1516-1524, 2008.

MARIOTTI, A.; MARIOTTI, F.; CHAMPIGNY, M. L.; AMARGER, N.; MOYSE, A. Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of NO3- by pearl millet. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, p. 880-884, 1982.

MENGE, D. N. L.; HEDIN, L. O. Nitrogen fixation in different biogeochemical niches along a 120 000-year chronosequence in New Zealand. **Ecology**, v. 90, n. 8, p. 2190-2201, 2009.

MIRANDA, C. H. B.; VIEIRA, A.; CADISCH, G.. Determinação da fixação biológica de nitrogênio no amendoim forrageiro (Arachis spp.) por intermédio da abundância natural de ^{15}N. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1859-1865, 2003.

MORA, B.V.L. **Contribution of the forage legume *Arachis pintoi* to soil fertility in a tropical pasture system in Vera Cruz, Mexico**. Tese (Doutorado em Agricultural Sciences) - University of London, Londres. 210p. 2001.

MORI, C. L. S. O.; MORI, F. A.; MENDES, L. M.; SILVA, J. R. M. Caracterização da madeira de Angico Vermelho (*Anadenanthera peregrina* (Benth) Speng) para confecção de móveis. **Revista Brasil Florestal**, Brasília, n. 77, p. 29-36, 2003.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brasil.** Reference Publications, Inc. Algonac, Michigan, 2000. 501p.

MUNROE, J. W.; ISAAC, M. E. N 2-fixing trees and the transfer of fixed-N for sustainable agroforestry: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 2, p. 417-427, 2014.

NEVES, N. M. **Regeneração natural e ciclagem de nutrientes em fragmento de floresta estacional dominado por Fabaceae em Alegre, ES**. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 110p. 2018.

OLIVEIRA NETO, S. N.; REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; NEVES, C. L. N. Produção e distribuição de biomassa em *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, em resposta à adubação e ao espaçamento. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 27, n. 1, p. 15-23, 2003.

OLIVEIRA, C. A. **Estimativas de fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar por δ ^{15}N**. Dissertação (Mestrado em Agricultura tropical e subtropical) - Instituto Agronômico, Campinas. 80p. 2012.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; CARDOSO, D.; SCHRIRE, B. D.; LEWIS, G. P.; PENNINGTON, R. T.; BRUMMER, T. J.; ROTELLA, J.; LAVIN, M. Stability structures tropical woody plant diversity more than seasonality: Insights into the ecology of high legume-succulent-plant biodiversity. **South African Journal of Botany**, v. 89, p. 42-57, 2013.

PAQUETTE, A.; MESSIER, C. The role of plantations in managing the world's forests in the Anthropocene. **Frontiers in Ecology and the Environment**, Washington, v. 8, n. 1, p. 27–34, 2010.

PARROTTA, J. A.; BAKER, D. D.; FRIED, M. Changes in dinitrogen fixation in maturing stands of *Casuarina equisetifolia* and Leucaena leucocephala. **Canadian journal of forest research**, v. 26, n. 9, p. 1684-1691, 1996.

PAULA, R. R. **Processos de transferência de N em curto e longo prazo em plantios mistos de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium***. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba. 144p. 2015.

PAULA, R. R.; BOUILLET, J. P.; GONÇALVES, J. L. D. M.; TRIVELIN, P. C.; BALIEIRO, F. D. C.; NOUVELLON, Y.; NOUVELLON, Y.; OLIVEIRA, J. C.; JÚNIOR, J. C. D.; BORDRON, B.; LACLAU, J. P. Nitrogen fixation rate of *Acacia mangium* Wild at mid rotation in Brazil is higher in mixed plantations with *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden than in monocultures. **Annals of Forest Science**, v. 75, n. 1, p. 14, 2018.

PAULA, R. R.; BOUILLET, J. P.; TRIVELIN, P. C. O.; ZELLER, B.; GONÇALVES, J. L. M.; NOUVELLON, Y.; BOUVET, J. M.; PLASSARD, C., LACLAU, J. P.; Evidence of short-term belowground transfer of nitrogen from *Acacia mangium* to *Eucalyptus grandis* trees in a tropical planted forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 91, p. 99-108, 2015.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; McMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, European Union, v.11, n.4, p.1633-1644, 2007.

PEOPLES, M. B.; BERGERSEN, F. J.; TURNER, G. L.; SAMPET, C.; RERKASEM, B.; BHROMSIRI, A.; NURHAYATI D.P.; FAIZAH A.W.; SUDIN M.N.; NORHAYATI M.; HERRIDGE, D. F. Use of the natural enrichment of ^{15}N in plant available soil N for the measurement of symbiotic N_2 fixation. **Stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies**, Vienna, p. 117-129, 1991.

PEZZOPANE, J. E. M. et al. Espacialização da temperatura do ar no Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 151-158, 2004.

REIS JR, F. B.; SIMON, M. F.; GROSS, E.; BODDEY, R. M.; ELLIOTT, G. N.; NETO, N. E.; LOUREIRO, F.; QUEIROZ, L. P.; SCOTTI, M. R.; CHEN, W.; NORÉN, A. RUBIO, M. C.; FARIA, S. M.; BONTEMPS, C.; GOI, S. R. YOUNG, J. P. W.; SPRENT, J. I.; JAMES, E. K. Nodulation and nitrogen fixation by *Mimosa* spp. in the Cerrado and Caatinga biomes of Brazil. **New Phytologist**, v. 186, n. 4, p. 934-946, 2010.

RICHARDS, A. E.; FORRESTER, D. I.; BAUHUS, J.; SCHERER-LORENZEN, M. The influence of mixed tree plantations on the nutrition of individual species: a review. **Tree Physiology**, v. 30, n. 9, p. 1192-1208, 2010.

ROCHA, G. P. E.; VIEIRA, D. L. M; SIMON, M. F. Fast natural regeneration in abandoned pastures in southern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 370, p. 93-101, 2016.

ROGGY, J. C.; PRÉVOST, M. F.; GOURBIERE, F.; CASABIANCA, H.; GARBAYE, J.; DOMENACH, A. M. 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**, v. 120, n. 2, p. 171-182, 1999.

RONDON, E. V. Produção de biomassa e crescimento de árvores de *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke sob diferentes espaçamentos na região de Mata. **Revista Árvore**, v. 26 n. 5, p. 573–576, 2002.

SANTOS, F. M., CHAER, G. M., DINIZ, A. R., CARVALHO BALIEIRO, F. (Nutrient cycling over five years of mixed-species plantations of Eucalyptus and Acacia on a sandy tropical soil. **Forest Ecology and Management**, v. 384, p. 110-121, 2017.

SCHNEIDER, P.R.; FINGER, C.A.G.; SCHNEIDER, P.S.P.; FLEIG, F.D.; CUNHA, T.A. Influência do espaçamento no autodesbaste de povoamento monoclonal de *Eucalyptus saligna* Smith. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 1, p. 119–126, 2015.

SCHUMACHER, M. V.; BRUN, E. J.; RODRIGUES, L. M.; SANTOS, E. D. Retorno de nutrientes via deposição de serapilheira em um povoamento de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) no estado do Rio Grande do Sul - RS. **Revista Árvore**, v. 27, n. 6, p. 791-798, 2003.

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

SHEARER, G.; KOHL, D. H.; CHIEN, S. H. The nitrogen-^{15} abundance in a wide variety of soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 42, p. 899-905, 1978.

SILVA, R. M. G.; SARAIVA, T. S.; SILVA, R. B.; GONÇALVES, L. A.; SILVA, L. P. Potencial alelopático de extrato etanólico de *Anadenanthera macrocarpa* e *Astronium graveolens*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 632-637, 2010.

SILVA, R. S. **Filogenia e Filogeografia Molecular de *Anadenanthera* Speg. Leguminosae (Mimosoideae)**. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 64p. 2010.

SOARES, C. P. B.; PAULA NETO, F.; SOUZA, A. L. **Dendrometria e inventário florestal**. 2. ed. Viçosa-MG: UFV, 2011. 272p.

SOUZA, C. A.; OLIVEIRA, R.B. DE; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J.S.S. Crescimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubações. **Ciência Florestal**, v.16, n.3, p.243-249, 2006.

SOUZA, L. Q. **Fitossociologia em áreas com diferentes históricos de uso e fixação biológica de nitrogênio em caatinga madura na Paraíba**. Dissertação

(Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 53p. 2010.

SOUZA, L. Q.; FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. D. S. B.; MOURA, P. M.; MENEZES, R. S. C. How much nitrogen is fixed by biological symbiosis in tropical dry forests? 1. Trees and shrubs. **Nutrient cycling in agroecosystems**, v. 94, n. 2-3, p. 171-179, 2012a.

SOUZA, P. B.; SOUZA, A. L.; COSTA, W. S; PELLOSO, R.; LANA, J. M. Florística e diversidade das espécies arbustivo-arbóreas regeneradas no sub-bosque de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. **CERNE**, v. 18, p. 413-421, 2012b.

SOUZA, P. H**. Biomassa e estoque de carbono em povoamento de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg sob diferentes espaçamentos**. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 94p. 2018.

SPRENT, J. I.; PARSONS, R.. Nitrogen fixation in legume and non-legume trees. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2-3, p.183-196, 2000.

SPURR, S.H. **Forest Inventory**. New York, The Ronald Press Company, 1952. 476p.

STAGE, A. R. Prediction of Height Increment for Models of Forest Growth. **USDA Forest Service Research Paper**, INT-164, Ogden, Utah, 32p, 1975.

STAMFORD, N. P.; DE ROSÁLIA, C. E.; SANTOS, S.; MEDEIROS, R.; DE FREITAS, A. D. S. Efeito da fertilização com fósforo, potássio e magnésio em jacatupé infectado com rizóbio em um Latossolo Álico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1831-1838, 1999.

STAPE, J. L.; GANDARA, F. B. **Modelos de recuperação de áreas degradadas com espécies nativas em duas regiões do Brasil visando seqüesto de carbono**. Piracicaba: IPEF; ESALQ, Depto. Ciências Florestais, 2006. 164p. Relatório Final do Projeto Petrobrás - IPEF.

TIESSEN, H.; CUEVAS, E.; CHACON, Pedro. The role of soil organic matter in sustaining soil fertility. **Nature**, v. 371, n. 6500, p. 783-785, 1994.

TRANNIN, I. C. B.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; LIMA, A. Tolerância de estirpes e isolados de *Bradyrhizobium* e de *Azorhizobium* a zinco, cádmio e cobre "in vitro". **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.305-316, 2001.

UDVARDI, M. K.; LISTER, D. L.; DAY, D. A. Biological nitrogen fixation-investiments, expectations and actual contributions of agriculture. **Plant and Soil**, v.141, p. 13-39, 1992.

VINCENT, B.; JOURAND, P.; JUILLOT, F.; DUCOUSSO, M.; GALIANA, A. Biological in situ nitrogen fixation by an *Acacia* species reaches optimal rates on extremely contrasted soils. **European Journal of Soil Biology**, v. 86, p. 52-62, 2018.

VOIGTLAENDER, M.; LACLAU, J. P.; GONÇALVES, J. L. M.; PICCOLO, M. C.; MOREIRA, M. Z.; NOUVELLON, Y.; RANGER, J.; BOUILLET, J. P. Introducing *Acacia mangium* trees in *Eucalyptus grandis* plantations: consequences for soil organic matter stocks and nitrogen mineralization. **Plant and Soil**, v. 352, n. 1-2, p. 99-111, 2012.

XAVIER, R. P. **Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produção sustentável da cultura de cana-de-açúcar**. Tese. (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 71p. 2006.