

Limitação do método do $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ para estimativa da fixação biológica do nitrogênio em Matas Costeiras do Nordeste do Brasil ⁽¹⁾.

Ana Dolores Santiago de Freitas⁽²⁾; Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio⁽³⁾; Andresa Priscila de Souza Ramos⁽⁴⁾; Maria Regina V. Barbosa⁽⁵⁾, Rosângela P. Lyra⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do CNPq.

⁽²⁾ Engenheira agrônoma; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife, PE; ana.freitas@depa.ufrpe.br; ⁽³⁾ Professor; Universidade Federal de Pernambuco; ⁽⁴⁾ Engenheira Agrônoma, Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; ⁽⁵⁾ Professora, Universidade Federal da Paraíba; ⁽⁶⁾ Bióloga, IMA.

RESUMO: O conhecimento sobre a fixação biológica do nitrogênio (FBN) em florestas tropicais ainda é limitado devido a problemas metodológicos para quantificar o N fixado anualmente. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial de uso da metodologia do $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ para estimar a FBN em leguminosas em fragmentos de mata costeira em Alagoas, Pernambuco e Paraíba. Amostras foliares de árvores e arbustos de diferentes espécies, classificadas em espécies referência (não leguminosas e leguminosas não nodulantes) e espécies alvo (leguminosas possivelmente nodulantes), foram analisadas quanto aos teores de ^{15}N . Em cada local, foram feitas comparações entre os sinais médios das referências e os sinais médios de cada espécie alvo. A grande variabilidade de sinais de $\delta^{15}\text{N}$ de espécies não fixadoras e a ausência de diferença entre os sinais de espécies alvo e controle não permitem a utilização da metodologia da abundância natural do ^{15}N para estimativas quantitativas do N fixado em tais ecossistemas.

Termos de indexação: leguminosas, abundância natural do ^{15}N , isótopos.

INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre a importância da fixação biológica do nitrogênio (FBN) em florestas tropicais ainda é limitado devido a problemas metodológicos para quantificar o N fixado anualmente. Em alguns ecossistemas, o padrão isotópico da vegetação permite utilizar a técnica da abundância natural do ^{15}N para estimativa do N fixado (Freitas et al., 2010), mas em outros o padrão não é adequado a tais estimativas (Roggy et al., 1999; Gehring & Vlek, 2004). O método só é confiável em locais nos quais as espécies controle apresentam altas concentrações de ^{15}N e as leguminosas fixadoras são significativamente empobrecidas em várias unidades de $\delta(\text{‰})$ (Högberg, 1997).

A Região Nordeste do Brasil apresenta, no sentido leste-oeste, um forte gradiente de precipitação e tipos de vegetação. Na região

semiárida, a vegetação nativa (caatinga) apresenta um padrão isotópico apropriado ao uso do método da abundância natural do ^{15}N para estimativas da FBN associada a leguminosas (Freitas et al., 2010, Freitas et al., 2012). A metodologia ainda não foi testada em outros ecossistemas, como nos fragmentos de Mata Atlântica ainda encontrados na área costeira (precipitação >1800 mm).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial de uso da metodologia da abundância natural do ^{15}N para estimar a FBN em leguminosas em diferentes ecossistemas do Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Para esse estudo, foram amostradas árvores e arbustos com sistema fotossintético C3 em três áreas de Mata Costeira (Rio Largo, AL, Dois Irmãos, PE e João Pessoa, PB), que ainda apresentam vegetação nativa conservada (**Tabela 1**). Em cada fragmento foram demarcadas de cinco a seis parcelas circulares, de aproximadamente 20 m de raio e distanciadas de pelo menos 50 m. Em cada parcela foi amostrado um indivíduo de diferentes espécies, classificadas em não-leguminosas, leguminosas não nodulantes (sendo ambos os grupos considerados espécies referência), e leguminosas potencialmente nodulantes (de acordo com ampla revisão de relatos sobre capacidade de nodulação em leguminosas), consideradas como plantas alvo. Todas as espécies de leguminosas com capacidade de nodular ou sem informação quanto à capacidade de formar nódulo simbiótico ou, ainda, sem identificação botânica a nível de espécie foram consideradas como espécies potencialmente nodulantes. De cada planta foram coletadas amostras compostas por 10 a 20 folhas completamente expandidas, saudáveis e não senescentes. As amostras foram secas em estufa, moídas e homogêneas até pó fino para determinação dos teores de ^{15}N em espectrômetro de massa, no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP. Os teores de ^{15}N (abundância natural) foram expressos em unidades de δ em relação ao padrão isotópico internacional (N_2 atmosférico). Os



dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo Teste Tukey, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amostrados 104 indivíduos de espécies consideradas referência, pertencendo a diversas famílias, e 38 plantas alvo (**Tabela 2**). Os fragmentos de mata estudados apresentaram-se isotopicamente empobrecidos em relação às caatingas (Freitas et al., 2010). Os sinais médios das espécies não nodulantes foram 1,91‰ em Rio Largo, 3,46‰ em Dois Irmãos e 1,53‰ em João Pessoa. Esses valores se aproximam dos valores encontrados para outras matas úmidas (Roggy et al., 1999; Gehring & Vlek, 2004).

Sempre foram observadas diferenças significativas de valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre as espécies referência. Não foi possível observar diferença significativa que permitisse separar espécies fixadoras de espécies não fixadoras dentro de cada fragmento (as concentrações médias das referências não diferiram estatisticamente das concentrações das espécies alvo). Entre as espécies referência ocorreram sinais negativos.

A metodologia da abundância natural do ^{15}N para estimar a FBN baseia-se na comparação entre a abundância de ^{15}N de uma espécie fixadora de N, que obtém N do N_2 atmosférico em adição às fontes de N do solo, e a abundância de uma espécie referência não fixadora que conta apenas com o N derivado do solo (Shearer & Kohl, 1986). Como os solos são normalmente mais enriquecidos em ^{15}N que o ar, espera-se que plantas não fixadoras que retiram todo seu N do solo sejam mais abundantes em ^{15}N que plantas fixadoras que retiram parte de seu N do ar (Högberg, 1997). Além disso, o uso da metodologia assume que a concentração de ^{15}N da planta controle (ou referência) reflete o sinal de isotópico do N do solo disponível para as plantas (controle e fixadora). Na verdade, como as estratégias para absorção de N podem variar entre plantas de diferentes espécies, hábitos de crescimento, distribuição do sistema radical, associações com micorrizas, etc., os sinais de ^{15}N das espécies não fixadoras podem variar muito entre diferentes espécies, o que também restringe o uso da metodologia. A grande variabilidade de sinais das diversas espécies controle observada nesse trabalho pode ser consequência dessa diferença de estratégia de absorção de N ou ainda de diferenças espaciais de sinais de $\delta^{15}\text{N}$ do N do solo disponível para as plantas.

CONCLUSÕES

Nos fragmentos de Mata Costeira estudados, a grande variabilidade de sinais de $\delta^{15}\text{N}$ de espécies não fixadoras e a ausência de diferença entre os sinais de espécies alvo e espécies controle não permitem a utilização da metodologia da abundância natural do ^{15}N para estimativas quantitativas do N fixado em tais ecossistemas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à FACEPE pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- FREITAS, A.D.S.; SAMPAIO, E.V.S.B., FERNANDES, A.R.; SANTOS, C.E.R.S. Biological nitrogen fixation in legume trees of the Brazilian caatinga. *J. Arid Environ.*, 74: 344-349, 2010.
- 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*, 5: 567-580, 2004.
- HÖGBERG, P. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist* 137: 179-203, 1997.
- ROBINSON, D. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *TRENDS in Ecology & evolution*, 16(3): 153-162, 2001.
- ROGGY, J.C.; PRÉVOST, M.F.; GARBAYE, J.; DOMENACH, A.M. Nitrogen cycling in the tropical rain forest of French Guiana: comparison of two sites with contrasting soil types using $\delta^{15}\text{N}$. *Journal of Tropical Ecology* 15: 1-22, 1999.
- SHEARER, G. & KOHL, D.H. N_2 -fixation in field settings: estimations based on natural ^{15}N abundance. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13: 699-756, 1986.

Tabela 1 – Características gerais dos fragmentos florestais em Rio Largo (AL), Dois Irmãos (PE) e João Pessoa (PB), Nordeste do Brasil.

Município	Coordenadas	Altitude (m)	$\delta^{15}\text{N}$ do solo (‰)	N total do solo (%)	Precipitação (mm)	C total do solo (%)	C/N
Rio Largo	09°29'S 35°50'W	62	5.60±0.77	0.07 ± 0.01	1932	1.26 ± 0.38	18.55 ± 2.15
Dois Irmãos	8°05'S 34°92'W	4	4.85±0.52	0.05±0.02	1774	0.91 ± 0.25	17.27 ± 2.26
João Pessoa	07°07'S 34°53'W	5	3.25± 0.29	0.09±0.03	1852	1.53 ± 0.55	17.43 ± 0.86

Tabela 2 – Abundância natural do ^{15}N no tecido foliar de árvores e arbustos com sistema fotossintético C3 em diferentes ecossistemas nos estados da Paraíba (PB), Pernambuco (PE) e Alagoas (AL), Nordeste do Brasil.

Local/Espécie	Família	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) foliar	Família	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) foliar
Rio Largo				
Referências (25)		1.91 ± 1.38	Espécies alvo (7)	
<i>Byrsonima sericea</i> DC. (1) ¹	Malpighiaceae	3.13	<i>Albizia pedicellaris</i> (DC.) L. Rico (1)	Mimosoideae 1.87
<i>Cupania</i> sp. (2)	Sapindaceae	-0.32 ± 0.25 d	<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth (1)	Papilionoideae 3.58
<i>Eschweilera ovata</i> (Cambess.) Miers (2)	Lecythidaceae	3.98 ± 0.26 ab	<i>Chamaecrista ensiformis</i> (Vell.) H.S. Irwin & Barneby (2)	Caesalpinoideae 0.69 ± 1.89 ns
<i>Pogonophora schomburgkiana</i> Miers ex Benth. (2)	Euphorbiaceae	1.17 ± 0.82 bcd	<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd (1)	Mimosoideae 2.47
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand (2)	Burseraceae	3.76 ± 0.34 ab	<i>Inga</i> sp (2)	Mimosoideae 0.17 ± 0.68 ns
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (4)	Anacardiaceae	1.27 ± 0.75 bcd		
<i>Thyrsodium spruceanum</i> Benth. (1)	Anacardiaceae	1.02		
<i>Vismia guianensis</i> (Aubl.) Pers. (3)	Hypericaceae	2.57 ± 0.26 ab		
<i>Parkia pendula</i> (Willd.) Benth ex. Walp. (3)	Mimosoideae	2.64 ± 1.01 abc		
<i>Stryphnodendron pulcherrimum</i> (Willd.) Hochr. (5)	Mimosoideae	1.14 ± 1.09 cd		
Dois Irmãos				
Referências (62)		3.46 ± 2.30	Espécies alvo (20)	
<i>Brosimum guianense</i> (Aubl.) Huber (5)	Moraceae	3.26 ± 0.92 bc	<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth (5)	3.15 ± 2.06 ns
<i>Buchenavia tetraphylla</i> (Aubl.) R.A.Howard (3)	Combretaceae	7.45 ± 2.06 a	<i>Dialium guianense</i> (Aubl.) Sandwith (1)	3.95
<i>Cordia nodosa</i> Lam. (5)	Boraginaceae	2.34 ± 1.09 c	<i>Inga</i> sp 1 (5)	5.55 ± 1.57 ns
<i>Didymopanax morototoni</i> (Aubl.) Dcne. et Planch (3)	Araliaceae	3.82 ± 2.47 abc	<i>Inga</i> sp 2 (5)	2.37 ± 0.76 ns
<i>Eschweilera ovata</i> (Cambess.) Miers (4)	Lecythidaceae	5.11 ± 0.97 abc	Leguminosae 1 (2)	8.75 ± 3.55 ns
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. (5)	Sterculiaceae	5.55 ± 1.65 ab	Leguminosae 2 (2)	7.37 ± 3.37 ns
<i>Hymenolobium janeirensense</i> Kuhlmann (5)	Papilionoideae	4.13 ± 0.66 abc	<i>Machaerium hirtum</i> (Vell.) (1) Stellfeld	1.25
<i>Pogonophora schomburgkiana</i> Miers ex Benth. (5)	Euphorbiaceae	2.16 ± 0.44 c		
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.)	Burseraceae	1.55 ± 0.07 c		

Marchand (5)		
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (5)	Anacardiaceae	4.90 ± 3.09 abc
<i>Thyrsodium spruceanum</i> Salzm. ex Benth. (5)	Anacardiaceae	2.63 ± 0.75 c
<i>Vismia guianensis</i> (Aubl.) Choisy (5)	Clusiaceae	- 1.16 ± 0.52 d
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart. ex Tul. (1)	Caesalpiniaceae	6.77
<i>Parkia pendula</i> (Willd.) Benth ex. Walp. (5)	Mimosoideae	3.53 ± 0.58 bc

João Pessoa

Referências (17)		1.53 ± 1.66	Espécies alvo (11)		
<i>Alibertia myrciifolia</i> K.Schum. (1)	Rubiaceae	2.65	<i>Apuleia leiocarpa</i> (Vogel) J.F.Macbr. (1)	Caesalpinoidea	2.68
<i>Allophylus laevigatus</i> (Turcz.) Radlk. (1)	Sapindaceae	2.98	<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth (1)	Papilionoideae	3.22
<i>Amaioua corymbosa</i> Kunth (1)	Rubiaceae	1.74	<i>Inga</i> sp. (1)	Mimosoidea	4.30
<i>Brosimum guianense</i> (Aubl.) Huber (1)	Moraceae	2.90	<i>Macrosamanea pedicellaris</i> (DC.) Kleinh. (2)	Mimosoidea	4.13 ± 0.28
<i>Casearia commersoniana</i> Cambess. (1)	Flacourtiaceae	2.28	<i>Pterocarpus rohrii</i> Vahl (3)	Papilionoidea	2.69 ± 0.73
<i>Coccoloba alnifolia</i> Casar. (1)	Polygonaceae	4.67 a	<i>Sclerolobium densiflorum</i> Benth.	Caesalpinoidea	2.38 ± 1.23
<i>Eriotheca crenulicalyx</i> A.Robyns (2)	Bombacaceae	-0.60 ± 1.51 c			
<i>Erythroxylum</i> sp. (1)	Erythroxylaceae	3.38			
<i>Eschweilera ovata</i> (Cambess.) Miers (1)	Lecythidaceae	2.47			
<i>Ocotea duckei</i> Vattimo-Gil (1)	Lauraceae	2.34			
<i>Ocotea gardneri</i> (1)	Lauraceae	2.73			
<i>Pogonophora schomburgkiana</i> Miers ex Benth. (4)	Euphorbiaceae	1.90 ± 0.65 b			
<i>Pouteria</i> sp. (4)	Sapotaceae	1.80 ± 0.63 b			
<i>Protium giganteum</i> Engl. (3)	Burseraceae	-1.66 ± 0.19 c			
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand (3)	Burseraceae	0.94 ± 2.09 bc			
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (2)	Anacardiaceae	0.89 ± 0.66 b			
<i>Thyrsodium spruceanum</i> Salzm. ex Benth. sprucearum (3)	Anacardiaceae	1.99 ± 1.36 b			

Letras minúsculas comparam médias das plantas referência, dentro de cada fragmento florestal, pelo teste de Tukey (P<0,05). *Estatisticamente diferente do sinal médio das espécies referência, dentro do mesmo fragmento florestal, pelo teste de Tukey (P<0,05); ⁽¹⁾ Número de indivíduos amostrados; ⁽²⁾ Médias não diferem significativamente (ns) do sinal médio das referências do mesmo fragmento florestal, pelo teste de Tukey (P<0,05).