

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

Caracterização das relações entre *Araucaria angustifolia* e
nitrogênio inorgânico

Mário Luís Garbin

Orientadora: Lúcia Rebello Dillenburg

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande Sul, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Porto Alegre, 2005

“As flores do campo e as paisagens, advertiu, têm um grave defeito: são gratuitas. O amor à natureza não estimula a atividade de nenhuma fábrica. Decidiu-se que era preciso aboli-lo, pelo menos nas classes mais baixas; abolir o amor à natureza, mas *não* a tendência a consumir transporte. Pois era essencial, evidentemente, que continuassem a ir ao campo, mesmo tendo-lhe horror. O problema era encontrar uma razão economicamente melhor para o consumo de transporte do que a simples afeição às flores silvestres e às paisagens. Ela fora devidamente descoberta.

- Nós condicionamos as massas a detestarem o campo [...], mas, simultaneamente, as condicionamos a adorarem todos os esportes ao ar livre. Ao mesmo tempo, providenciamos para que todos os esportes ao ar livre exijam o emprego de aparelhos complicados. De modo que elas consumam artigos manufaturados, assim como o transporte. [...]
- Compreendo – disse o estudante; e calou-se, admirado.”

Aldous Huxley, Admirável Mundo Novo, 1932

Agradecimentos

À professora Lúcia R. Dillenburg, pelos anos de orientação e, principalmente, pela liberdade de ação e confiança em mim depositadas.

Aos professores da Faculdade de Agronomia, Humberto Bohnen e Marino J. Tedesco, pela receptividade e auxílio indispensáveis para a realização de ambos os trabalhos, e ao Laboratório de Solos dessa casa, onde trabalhei durante, pelo menos, quatro meses. Aos professores do Departamento de Ecologia: Heinrich Hasenack, Valério D. Pillar e Luís Mauro G. Rosa. O primeiro, pelo indispensável auxílio com *software* Idrisi e os demais, pela proveitosa revisão do projeto. Ainda, aos professores Arthur G. F. Neto e João Ito Bergonci, do Dpto de Botânica, por sugestões bastante úteis; e à professora Jandyra M. G. Fachel, do Dpto de Estatística pela primeira orientação sobre como proceder nos aparentemente simples mas tortuosos caminhos da geoestatística.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, que foram muitos durante os cinco anos de casa! Em especial: Leandro S. Duarte, Luiz G. R. Silva, Gílson e Carolina Schlindwein pelo agradável convívio. Ainda, a Guilherme A. Roesler, Cláudia C. Clebsch e Luciana Ferla, pelo auxílio indispensável. Ainda, evidentemente, aos amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Diogo D. Porto e Ricardo J. Stein, por sempre me auxiliarem nas minhas dúvidas moleculares e bioquímicas e à Verônica A. Pardo, pelo auxílio na elaboração das soluções nutritivas.

Ao funcionário exemplar que é Darcy Lombardo; “daquele tipo de gente que não se nega a trocar uma lâmpada por não ser esta a sua função”. Ainda: Letícia, Japa, Boliviano e Karin, pelo auxílio nos momentos mais inesperados.

Ao IBAMA - FLONA de São Francisco de Paula, por todo o apoio.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela qualidade de seu ensino gratuito e, fundamentalmente, pela minha formação acadêmica.

Ao PPG Ecologia e à CAPES, pela bolsa. Ainda, ao CNPq e à FAPERGS, por financiarem a maior parte dos custos do projeto.

Especialmente, à Roberta B. Zandavalli, que, além de todo apoio emocional e compreensão, de tanto ajudar, tornou-se co-autora!

A Dave Mustaine, por prover a trilha sonora da minha vida.

Finalmente, à minha família (o que inclui muita gente e ainda alguns cães e plantas!), em especial à minha mãe, Ilda F. Sentena, por sempre acreditar na força da educação.

Resumo geral

A despeito da importância ecológica e econômica da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze e da importância do nitrogênio (N) para o crescimento vegetal, existem poucos estudos que caracterizam as relações desse nutriente com ela. Os presentes estudos visaram caracterizar a preferência de plantas da espécie a diferentes formas de N inorgânico e descrever a estrutura da variação espacial de N inorgânico em três sítios de ocorrência de *Araucaria angustifolia* no Brasil subtropical. No primeiro estudo, a abordagem experimental incluiu o uso de soluções nutritivas. No segundo, as ferramentas geoestatísticas, semivariogramas e krigagem, foram utilizadas para a descrição da variação espacial de NH_4^+ , NO_3^- e $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$, em dois períodos do ano, verão e inverno. Os sítios escolhidos foram uma área de mata nativa, uma de campo nativo e uma plantação de *Pinus elliottii*. Os resultados de crescimento do primeiro estudo demonstraram que a espécie prefere amônio como fonte de N. Nitrato, quando fornecido sozinho, induziu sintomas de deficiência de N, quando comparado a outras fontes de N: maiores razão raiz:parte aérea, ramificação radicular e massa foliar por área, engrossamento dos ápices caulinares e ainda, menores conteúdos de clorofilas e N por unidade de massa em folhas jovens. A nutrição à base de nitrato também afetou a distribuição de N no corpo da planta, com as folhas jovens acumulando menos N e maior razão C:N do que as folhas maduras (um padrão não observado nos outros tratamentos). Aparentemente, o nitrato é um importante fator a regular a partição de C e N entre diferentes partes da planta. A atividade nitrato redutase (ANR) seguiu um padrão de partição raiz:parte aérea esperado para coníferas de clima temperado. Entretanto, a ANR mesmo sob nutrição de NH_4^+ sozinho, indica que a planta pode apresentar níveis constitutivos de atividade da enzima, ou que quantidades baixas de NO_3^- (formado pela possível contaminação dos meios de cultivo) podem induzir a ANR foliar. Em reflorestamentos, deve ser assegurado que o amônio seja a forma de N predominante ou que esteja presente em quantidades suficientes para um adequado desenvolvimento das plantas. Ambientes que não satisfaçam estas necessidades podem limitar o desenvolvimento da espécie. Os resultados do segundo estudo mostraram que o NH_4^+

não foi a forma de N predominante na mata nativa, em ambos os períodos do ano. Nesse sítio o NO_3^- ocorreu em proporção similar à do NH_4^+ nos demais sítios (campo e plantação de *Pinus*). A heterogeneidade na disponibilidade de N é maior na mata nativa do que nos outros sítios no verão. Desta forma, é necessária uma maior plasticidade na habilidade de exploração radicular do N do solo por parte das plantas que se estabelecem neste sítio do que nos demais, durante esta estação. A plantação de *Pinus* e o campo, além de terem mais amônio que a mata nativa, são mais homogêneos na distribuição deste, e podem, então, constituir locais mais favoráveis, em termos de disponibilidade de N, para o estabelecimento do pinheiro brasileiro. O inverno impõe um cenário bastante diferente. O aumento significativo da disponibilidade de N inorgânico e a perda da estrutura espacial (à exceção da área de campo) tornam os sítios, teoricamente, menos hostis ao desenvolvimento vegetal.

Palavras chave: amônio, análise de semivariância, *Araucariaceae*, *Araucaria angustifolia*, geoestatística, heterogeneidade espacial, krigeagem, nitrato, nitrato redutase, pinheiro brasileiro, razão carbono:nitrogênio, semivariograma, solos subtropicais.

Abstract

Despite the ecological and economical importance of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Brazilian pine) and the major relevance nitrogen (N) has for plant growth, very few studies have characterized the species relationships with this nutrient. The present studies aimed to characterize the species preference for different forms of inorganic N and to describe the structure of the spatial variation of inorganic N in three sites of occurrence of *A. angustifolia* in the subtropical region of Brasil. In the first study, the experimental approach included the use of nutrient solutions. In the second, the geostatistical tools, semivariograms and kriging, were used for the description of the spatial variation of NH_4^+ , NO_3^- and $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$, in two periods of the year, summer and winter. The selected sites were a native forest, a native grassland and a slash pine (*Pinus elliottii*) plantation. The growth results from the first study demonstrated that the species prefers ammonium as a N source. When provided alone, nitrate led to symptoms of N deficiency, as compared to the other treatments: larger root:shoot ratio, root branching and leaf mass per area, thickening of the shoot apices and, yet, less mass-based chlorophyll and N contents of the young leaves. Nitrate-based nutrition also affected the N distribution in the plant, with young leaves accumulating less N and having a higher C:N ratio than the mature leaves (a pattern not observed in the other treatments). Apparently, nitrate is an important factor regulating the C and N partitioning among different parts of the plant. The nitrate reductase activity followed the pattern of partitioning between roots and leaves that is expected for temperate conifers. However, the presence of NRA activity under sole nutrition with NH_4^+ indicates that the plants had constitutive levels of enzyme activity or that small amounts of NO_3^- (due to contamination of the growth media) can induce leaf NRA activity. In reforestations, it must be ensured that ammonium is the prevalent form of N or is present in sufficient amount for adequate plant development. Environments that do not satisfy these requirements may limit the species development. The results from the second study showed that NH_4^+ was not the dominant form of N in the native forest in both periods of the year. In this site, NO_3^- is present in a proportion that is similar to that of NH_4^+ in the

other sites (grassland and pine plantation). Heterogeneity in the availability of N is greater in the native forest than in the other sites in the summer. Consequently, a greater plasticity in the ability of root exploration of soil N is required for those plants that establish themselves in the native forest than in the other sites during this season. The plantation and grassland sites, besides having more ammonium than the native forest, are also more homogeneous in its distribution and may then constitute more favorable places, in terms of N availability, for the establishment of Brazilian pine. Winter imposes a very different scenario. The major increase in inorganic N availability and the loss of the spatial patterns (except for the grassland site) make the three sites, theoretically, less hostile for plant development. As far as we know, this is the first study to describe the structural variation of inorganic N in Brazilian subtropical environments.

Key words: ammonium, Araucariaceae, *Araucaria angustifolia*, Brazilian pine, carbon:nitrogen ratio, geostatistics, heterogeneity, kriging, nitrate, nitrate reductase, semivariance analysis, semivariograms, subtropical soils.

Índice

1. Introdução Geral	13
1.1. O ciclo do nitrogênio.....	13
1.2. Nutrição sob nitrato ou amônio	16
1.2.1. Preferência das plantas por diferentes formas.....	16
1.2.2. A captação e a assimilação do nitrogênio inorgânico	19
1.2.3. Acessando a preferência por diferentes formas de nitrogênio inorgânico	22
1.3. Nitrogênio inorgânico em solos: formas predominantes e fatores associados	23
1.4. A importância de se acessar a variação a campo.....	27
1.5. A modelagem em geoestatística	29
1.5.1. Pressupostos do modelo geoestatístico.....	30
1.5.2. Estimção do variograma amostral	32
1.5.3. Propriedades do semivariograma e modelos de variogramas teóricos	34
1.5.4. O ajuste do modelo	36
1.5.5. Isotropia e anisotropia	39
1.5.6. Krigeagem Ordinária	40
1.5.7. Descrição espacial dos dados: a análise exploratória.....	43
1.6. Ligando os pontos: os objetivos	44
1.7. Por que <i>Araucaria angustifolia</i> ?	45
2. Respostas fisiológicas de <i>Araucaria angustifolia</i> a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico	47
RESUMO	48
INTRODUÇÃO.....	49
MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
Sistema de cultivo.....	52
Medidas de crescimento.....	54
Conteúdo de clorofilas.....	54
Atividade nitrato redutase.....	54
Medidas de carbono e nitrogênio.....	55
Análise estatística.....	55
RESULTADOS	55
DISCUSSÃO.....	57
3. Variação temporal da distribuição espacial de nitrogênio inorgânico em três sítios de ocorrência de <i>Araucaria angustifolia</i>, Brasil	71
SUMÁRIO.....	72
INTRODUÇÃO.....	73
MATERIAIS E MÉTODOS.....	77
Área de estudo	77
Amostragem e análises	78
Procedimento estatístico.....	79
RESULTADOS	81
Variação entre sítios	81
Variação dentro dos sítios.....	82
DISCUSSÃO.....	84

4. Discussão geral	100
4.1. Considerações adicionais.....	100
4.1.1. Solo: coleta, transporte e análise.....	100
4.1.2. Lidando com a geoestatística e sua aplicação no presente estudo	103
4.1.3. ANR e clorofilas.....	111
4.2. Considerações finais	113
5. Referências bibliográficas	115
6. Anexos.....	132

Índice de tabelas

Tabela 2.1. Composição e concentração (mM L^{-1}) dos nutrientes utilizados nas soluções nutritivas.	63
Tabela 2.2. Parâmetros de crescimento em plantas de <i>A. angustifolia</i> submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico.	66
Tabela 2.3. Conteúdo de clorofilas, carbono, nitrogênio e atividade nitrato redutase em plantas de <i>A. angustifolia</i> submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico.	67
Tabela 3.1. Características químicas dos solos nos três sítios estudados.	91
Tabela 3.2. Variação entre os sítios para amônio (NH_4^+ ; mg kg^{-1}), nitrato (NO_3^- ; mg kg^{-1}), umidade ($\text{g g solo seco}^{-1}$) e razão de amônio para nitrato no verão e inverno. Nas linhas, todas as comparações entre os sítios foram altamente diferentes significativamente ($P = 0,0001$). Diferenças entre contrastes para os sítios, indicadas por letras diferentes, foram significativas para $P \leq 0,0003$, à exceção de razão $\text{N-NH}_4^+/\text{N-NO}_3^-$ no verão, umidade no inverno e N-NH_4^+ no inverno, $P \leq 0,03$. Nas colunas, letras maiúsculas indicam diferenças entre as estações para um mesmo sítio ($P = 0,0001$).	92
Tabela 3.3. Parâmetros dos modelos de semivariogramas omnidirecionais ajustados para os diferentes sítios para verão e inverno. Todos os semivariogramas foram ajustados para um número de intervalos igual a 9 (equivalente a 9 m, 53% da amplitude da maior diagonal).	95
Tabela 3.4. Parâmetros dos modelos de semivariogramas direcionais (tolerância angular de $\pm 22,5^\circ$) ajustados no Campo para verão e inverno. O número de intervalos para o qual os modelos foram ajustados variam conforme indicado.	96

Índice de figuras

- Figura 1.1. O ciclo do nitrogênio. À direita da linha tracejada estão as etapas predominantemente presentes nas plantas; à esquerda, no ambiente fora delas. Modificado de Salsac *et al.* (1987)..... 15
- Figura 1.2. Exemplo ilustrativo de um semivariograma amostral 33
- Figura 1.3. Algumas propriedades de semivariogramas generalizados. Em (a), as diferentes propriedades de um semivariograma: C , variância estrutural; C_0 , variação pepita; a , amplitude. Em (b), dependência espacial em diferentes escalas, o chamado aninhamento. Em (c), efeito pepita puro, ou seja, ausência de dependência espacial e (d), dependência presente em escalas diferentes das escalas medidas... 35
- Figura 2.1. Comprimento total da parte aérea (caule + ramos) de plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. Valores são médias \pm erro padrão; $n = 15$ para tratamentos NH_4^+ e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$, $n = 14$ para tratamento NO_3^- . (*) diferenças significativas entre tratamentos a partir deste ponto ($P \leq 0,05$)..... 64
- Figura 2.2. Acúmulo de biomassa em plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico ao final do experimento. Barras verticais são médias acompanhadas do erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,001$ para biomassa da parte aérea; $P < 0,05$ para os demais parâmetros) 65
- Figura 2.3. Aspecto geral do ápice caulinar de plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. (a) nitrato, (b) amônio e (c) nitrato + amônio. Observa-se no tratamento nitrato o maior engrossamento do ápice caulinar e ainda a clorose das folhas jovens. Escala: 4 cm.... 68
- Figura 2.4. Aspecto geral de raízes de plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. (a) nitrato, (b) amônio e (c) nitrato + amônio. Observa-se nas plantas do tratamento nitrato a maior ramificação do sistema radicular. Escala: 20 cm 68
- Figura 2.5. Grau de “tumorização” em plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico, indicado pelas classes: 1- ausência total; 2- um ou dois; 3- três a dez; 4- mais de dez... 69
- Figura 2.6. Aspecto geral dos “tumores” observados nas raízes de plantas de *A. angustifolia* no tratamento amônio. (a) aspecto geral, (b) detalhe de uma região da raiz com tumores. Escala: 4 cm..... 70
- Figura 3.1. Histogramas com a frequência de ocorrência e intervalos de classe para os diferentes sítios no verão. Para cada um são fornecidos a média, o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de assimetria (CA). Umidade corresponde ao conteúdo gravimétrico de água. A escala para as frequências e os intervalos de classe variam em relação à variável considerada 93
- Figura 3.2. Histogramas com a frequência de ocorrência e intervalos de classe para os diferentes sítios no inverno. Para cada um são fornecidos a média, o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de assimetria (CA). Umidade corresponde ao conteúdo gravimétrico de água. A escala para as frequências e os intervalos de classe variam em relação à variável considerada 94
- Figura 3.3. Semivariogramas omnidirecionais para amônio no verão nos três sítios, (a) Campo, (b) Mata e (c) *Pinus*; (d) semivariograma omnidirecional para $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno; (e) e (f) semivariogramas direcionais para amônio no Campo para inverno e (g), (h) e (i) semivariogramas direcionais para nitrato no Campo para o verão. Ângulos entre parênteses correspondem aos eixos de maior (135° e 70°) e de menor continuidade (45° e 160°). Todos os semivariogramas foram calculados com número de intervalos igual a nove (equivalente à amplitude de 9 m, 53% da amplitude máxima), à exceção de (g) e (h) os quais foram calculados para 12 m, e de (i), calculado para 7 m. Ver tabelas 3.3 e 3.4 para detalhes destes variogramas e para parâmetros dos modelos que não são mostrados aqui...97
- Figura 3.4. Mapas de superfície gerados por krigeagem ordinária a partir dos semivariogramas omnidirecionais e direcionais, quando da presença de anisotropia. (a), (b) e (c), amônio para o verão

- no Campo, na Mata e no *Pinus* respectivamente. (d) nitrato para o verão no Campo, (e) NH_4^+ no Campo para o inverno, (f) $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno. Valores correspondem aos valores originais de nitrogênio inorgânico (mg kg^{-1}) transformados $[\ln(x+1)]$ e modelados por krigeagem ordinária em função dos semivariogramas ajustados para cada variável em cada sítio (ver texto para detalhes). Escala corresponde a 1 m..... 98
- Figura 3.5. Posição de plantas (15-85 cm de altura) de *A. angustifolia* no sítio Mata no verão em relação à espacialização de NH_4^+ por krigeagem ordinária. Cada ponto representa um indivíduo. Observa-se que os indivíduos da espécie podem experimentar ambientes bastante distintos de manchas de amônio..... 99
- Figura 4.1. Esquema de coleta das subamostras de solo nos pontos de amostragem..... 111
- Figura 6.1. Semivariogramas omnidirecionais para amônio (a, b, c), nitrato (c, d, e) e amônio + nitrato (f, g, h) nos diferentes sítios para o verão. Todos os semivariogramas foram calculados com número de intervalos igual a nove (equivalente à amplitude de 9 m, 53 % da amplitude máxima). Dados originais foram $\ln(x+1)$ transformados 132
- Figura 6.2. Semivariogramas omnidirecionais para amônio (a, b, c), nitrato (c, d, e) e amônio + nitrato (f, g, h) nos diferentes sítios para o inverno. Todos os semivariogramas foram calculados com número de intervalos igual a nove (equivalente à amplitude de 9 m, 53 % da amplitude máxima). Dados originais foram $\ln(x+1)$ transformados 133
- Figura 6.3. Mapas de superfície gerados por krigeagem ordinária a partir dos semivariogramas omnidirecionais e direcionais, quando da presença de anisotropia. (a), (b) e (c), amônio para o verão no Campo, na Mata e no *Pinus* respectivamente. (d) nitrato para o verão no Campo, (e) NH_4^+ no Campo para o inverno, (f) $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno. Valores correspondem aos valores originais de nitrogênio inorgânico (mg kg^{-1}) transformados $[\ln(x+1)]$ e modelados por krigeagem ordinária em função dos semivariogramas ajustados para cada variável em cada sítio. Escala corresponde a 1 m 134
- Figura 6.4. Mapas de superfície gerados por krigeagem ordinária a partir dos semivariogramas omnidirecionais e direcionais, quando da presença de anisotropia. (a), (b) e (c), amônio para o verão no Campo, na Mata e no *Pinus* respectivamente. (d) nitrato para o verão no Campo, (e) NH_4^+ no Campo para o inverno, (f) $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno. Valores correspondem aos valores originais de nitrogênio inorgânico (mg kg^{-1}) transformados $[\ln(x+1)]$ e modelados por krigeagem ordinária em função dos semivariogramas ajustados para cada variável em cada sítio. Escala corresponde a 1 m 135

1. Introdução geral

Esta dissertação contém dois artigos que tratam sobre o nitrogênio inorgânico e a *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. A primeira parte da dissertação aborda os principais aspectos da relação solo-planta e as diferentes formas de nitrogênio inorgânico: nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+). O primeiro capítulo é um estudo experimental onde a preferência por diferentes formas de nitrogênio (N) é acessada na espécie escolhida. O segundo é uma avaliação a campo da heterogeneidade espacial de N inorgânico em três sítios de ocorrência de *A. angustifolia* em dois períodos distintos do ano, verão e inverno. Finalmente, na última parte do trabalho, aspectos não abordados nos artigos são apresentados e discutidos.

1.1. O ciclo do nitrogênio

Na primeira metade do século XIX, von Liebig demonstrou que as plantas requerem nitrogênio inorgânico solúvel. De lá (passando pela descoberta de que alguns grupos de plantas são capazes de fixar nitrogênio atmosférico) até o presente momento, a fixação industrial de nitrogênio aumentou de forma substancial e hoje supera a fixação biológica (Rosswall, 1982; Vitousek, 1994; Vitousek *et al.*, 1997). Isto torna central a necessidade de compreensão das conseqüências que essas alterações podem ter sobre as plantas e o meio ambiente. E, num primeiro momento, torna necessário o entendimento das relações que as diferentes formas de nitrogênio inorgânico têm com as plantas e seu meio, o solo.

O nitrogênio pode ser considerado como o macronutriente mais estudado (Gutschick, 1981). Isto se deve, principalmente, a ser ele o constituinte de diversos componentes das células vegetais, como aminoácidos e ácidos nucleicos. Sua deficiência implica diretamente em diminuição no crescimento da planta, dada a conseqüente diminuição nas taxas fotossintéticas e o acúmulo de carboidratos, que não são utilizados na síntese de aminoácidos (Taiz & Zeiger, 2004). Assim, esta deficiência é um dos mais importantes fatores que limitam o rendimento de cultivos (Rosswall, 1982). Ainda, o

suprimento de N tem forte influência sobre a produtividade, o armazenamento de carbono e a composição de espécies de muitos ecossistemas (Vitousek *et al.*, 1997). Assim, é praticamente impossível abordar todos os aspectos relacionados à importância desse nutriente para as plantas e os ecossistemas que dele dependem e nele influenciam. Entretanto, é possível, e assim objetivou-se aqui, abordar os seus principais aspectos, com enfoque naquelas etapas julgadas mais importantes para o trabalho realizado nesta dissertação.

Antes de se considerar o papel que as diferentes formas de nitrogênio exercem no solo e nas plantas é necessário descrever, de forma breve, o seu ciclo. A Figura 1.1 mostra-o com ênfase nas suas etapas biológicas. O ciclo do nitrogênio é único em relação aos principais nutrientes requeridos para a vida. Isto se deve ao N ter uma vasta reserva atmosférica que precisa ser fixada por microrganismos para ser utilizada pelos demais seres vivos (Odum, 1988; Vitousek *et al.*, 1997). O nitrogênio atmosférico é fixado (atividade nitrogenase) por bactérias tanto simbióticas (formadoras ou não de nódulos) quanto de vida livre. O amônio resultante pode ser utilizado pelo sistema GS-GOGAT (glutamina sintetase – glutamato sintase) para montagem de aminoácidos. Quando é o nitrato a forma a entrar nas células (tanto vegetais quanto bacterianas) ele pode ser reduzido a amônio. As enzimas responsáveis por isso são a nitrato redutase (NR) e a nitrito redutase (NiR). Vias dissimilatórias de redução do nitrato em bactérias também têm um papel importante na formação de amônio (Gottschalk, 1985; Rosswall, 1982).

Fertilizantes e poluentes devem ser considerados em qualquer modelo do ciclo do nitrogênio (Figura 1.1). Como posto anteriormente, estima-se que a fixação de nitrogênio promovida pelas atividades humanas (fertilizantes, combustão interna de máquinas e ainda, fixação por cultivos de leguminosas) superou a fixação tanto de ecossistemas naturais terrestres quanto marinhos e ainda por raios (Vitousek, 1994; Vitousek *et al.*, 1997). A tendência é que a diferença entre ambos continue aumentando, tanto pelo incremento das atividades humanas quanto pela destruição de habitats.

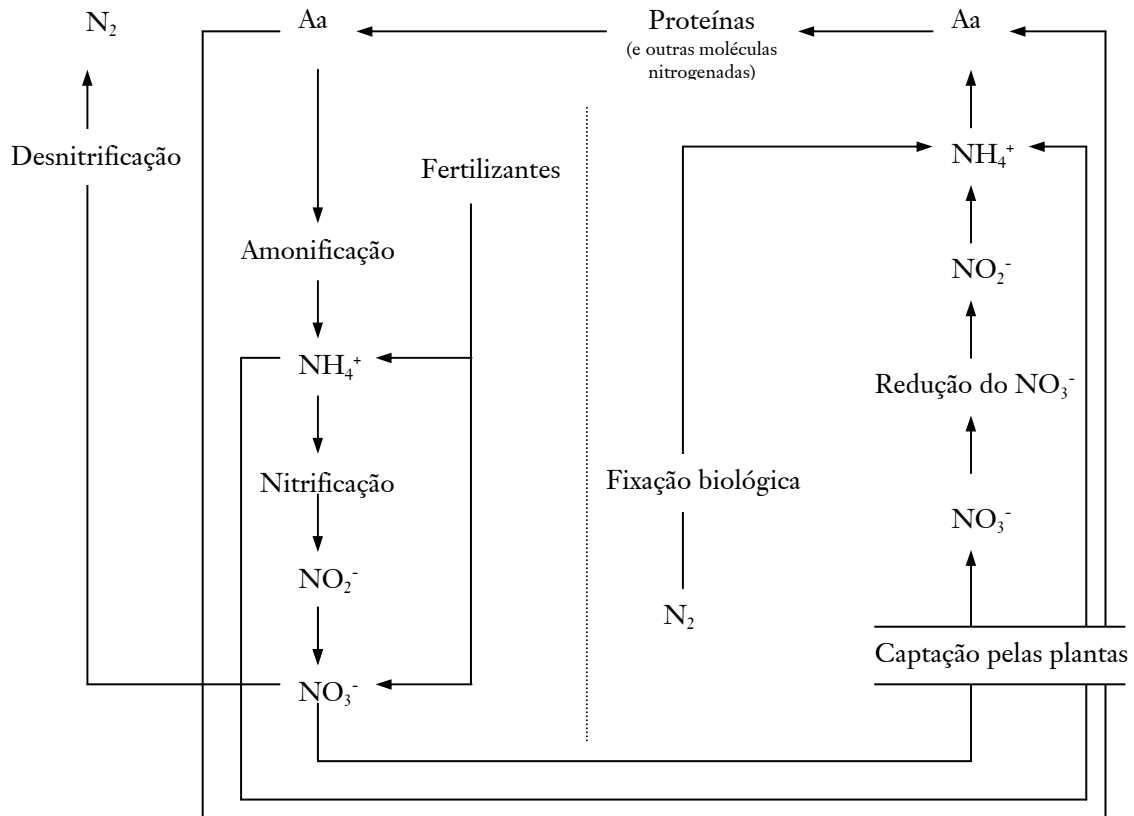


Figura 1.1. O ciclo do nitrogênio. À direita da linha tracejada estão as etapas predominantemente presentes nas plantas; à esquerda, no ambiente fora delas. Modificado de Salsac *et al.* (1987).

1.2. Nutrição sob nitrato ou amônio

1.2.1. Preferência das plantas por diferentes formas

As plantas podem apresentar variação na forma de nitrogênio preferencialmente absorvida. Preferência por uma forma de nitrogênio em relação à outra pode significar (1) crescer mais ou melhor; (2) assimilar mais N (relacionado à atividade de enzimas como a NR); (3) captar e translocar de forma eficiente o nutriente dentro do corpo da planta. Nem sempre o termo preferência é colocado de forma explícita. Assim, “sinônimos” como: “melhor uso”, “especialização”, “maior ou melhor eficiência” são comuns. Isto se deve a uma linha de pensamento que coloca que o termo deve ser evitado pois uma planta pode não demonstrar preferência por uma forma, mas apenas suprimir outra. Assim, mecanisticamente, o termo pode estar errado (Arnold, 1992). Aqui, o termo preferência é definido em função da forma de nitrogênio que proporciona melhor crescimento.

As principais formas de nitrogênio utilizadas pelas plantas são o nitrato e o amônio. Algumas também são capazes de absorver formas orgânicas de nitrogênio, principalmente aminoácidos. Neste caso, tratam-se de plantas de ambientes onde as temperaturas são extremamente baixas, com solos que podem congelar na maior parte do ano (Raab *et al.*, 1996; Näsholm *et al.*, 1998). Entretanto, a abrangência desse fenômeno ainda precisa ser avaliada, existindo a possibilidade de muitas espécies de interesse econômico utilizarem essas formas (Näsholm *et al.*, 2000).

Baseadas nas diferentes formas de preferência, surgiram diferentes classificações de grupos de plantas. De forma geral, admite-se que plantas calcícolas (solos alcalinos) têm preferência por nitrato, dado ser esta a forma mais disponível nestes solos; e plantas calcífugas (solos ácidos), por sua vez, crescem melhor quando o nitrogênio disponível encontra-se na forma de amônio (Gigon & Rorison, 1972; Rorison, 1985; Falkengren-Grerup & Lakkenborg-Kristensen, 1994; Marschner, 1995). Entretanto, uma vez que a acidificação observada na rizosfera deve-se à própria absorção preferencial das raízes por amônio, estes conceitos devem ser revistos (Marschner, 1991). Níveis constitutivos e

inducibilidade de atividade NR (ANR) podem ser utilizados como um indicador de adaptação diferentes fontes de nitrogênio (Smirnoff *et al.*, 1984). Estes autores identificaram como famílias especialistas em nitrato Chenopodiaceae e Rosaceae, entre outras; e como famílias especialistas em amônio Ericaceae e Proteaceae, além das Gimnospermas como um todo, entre outras. Índices de classificação baseados nas taxas de mineralização potencial de solos também são utilizados (Diekmann & Falkengren-Grerup, 1998; Olsson & Falkengren-Grerup, 2000). Bijlsma *et al.* (2000), baseados em diversos aspectos metabólicos, identificaram cinco categorias de respostas das plantas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico, sendo a com maior número de espécies aquela correspondente a plantas que respondem positivamente a nitrato, porém indiferentes ao amônio. Nenhuma espécie avaliada respondeu negativamente a nitrato. Britto & Kronzucker (2002), baseados nesses e em outros estudos, buscaram agrupar as famílias de acordo com a tolerância à toxidez por amônio. Eles classificam como tolerantes ao amônio famílias como Pinaceae, Cyperaceae e Myrtaceae, entre outras; e como sensíveis Asteraceae, Rosaceae, Euphorbiaceae, Urticaceae, Fabaceae e Solanaceae, entre outras.

Outra forma de classificação diz respeito à relação entre diferentes formas de preferência e o *status* sucessional da espécie. A hipótese proposta inicialmente por Rice & Pancholy (1972) é a de que em ambientes climáticos a atividade nitrificante está, pelo menos em grande parte, inibida. Assim, em etapas iniciais da sucessão seriam encontradas maiores concentrações de nitrato em relação a amônio, sendo o inverso verdadeiro para as etapas mais tardias. Para os autores, isto seria uma tendência natural bastante lógica: a priorização do amônio garante a limitação da lixiviação do nitrogênio presente no sistema, e a nutrição das plantas baseadas em amônio é mais barata que a do nitrato em termos de ATP por unidade de N assimilada. Subseqüentemente (Rice & Pancholy, 1973; Rice & Pancholy, 1974) os autores avançaram a discussão sobre o assunto e propuseram possíveis explicações para esta relação, fundamentadas principalmente na ação de compostos fenólicos. Em uma série de estudos recentes baseados na captação, metabolismo e armazenamento intracelular de amônio e nitrato em raízes (*e.g.* Kronzucker *et al.*, 1997, 2003; Min *et al.*, 1999) tem sido demonstrado que espécies

sucessionalmente iniciais, de climas temperados e boreais, são bastante diferentes de plantas tidas como tardias. A eficiência no uso de cada forma de nitrogênio guarda relação com a forma predominante nos solos onde cada espécie ocorre em maior frequência: amônio em sítios tardios e nitrato em iniciais. Esses achados são reforçados pela constatação de que o insucesso de plantações de coníferas tardias (com preferência por amônio) em climas temperados pode estar fortemente relacionado com distúrbios nos sítios de plantio que favorecem a presença de nitrato como forma predominante nos mesmos (Kronzucker *et al.*, 1997). Haveria, então, uma redução na capacidade competitiva das plantas em solos que diferem das características dos solos de ocorrência natural delas, uma vez assumido que as árvores se tornaram adaptadas às formas de nitrogênio presentes em seus ambientes nativos (Kronzucker *et al.*, 2003). Entretanto, a inibição da nitrificação em comunidades tidas como clímax não se mostrou de ocorrência universal (Robertson & Vitousek, 1981; Smirnov & Stewart, 1985), especialmente em florestas tropicais (Attwill & Adams, 1993; Aidar, *et al.*, 2003).

O quanto uma forma de N inorgânico ou outra é melhor para o crescimento de uma planta depende de muitos fatores, mas, como uma regra geral, o fornecimento combinado de ambos propicia as melhores taxas de crescimento (Marschner, 1995). A forma de N preferida por uma árvore não é, necessariamente, a forma mais facilmente absorvida (Arnold & van Diest, 1991). Em outras palavras, parâmetros de captação não revelam, *per se*, preferência por uma dada forma de nitrogênio. Para demonstrá-la, a eficiência metabólica deve estar associada a um maior crescimento da planta. De fato, plantas que crescem melhor com nitrato podem captar muito mais amônio que as plantas que preferem esta forma (Kronzucker *et al.*, 2003). Assim, diversos aspectos ajudam a explicar a preferência, mas não a caracterizam de forma tão enfática quanto o resultado final do maior acúmulo de massa. Assim, muitos trabalhos priorizam o acúmulo de biomassa como principal medida de preferência por diferentes formas de nitrogênio inorgânico (Gigon & Rorison, 1972; Rorison, 1985; Falkengren-Grerup & Lakenborg-Kristensen, 1994; Olsson & Falkengren-Grerup, 2000). Cabe ressaltar que uma planta não assimila, necessariamente, NO_3^- ou NH_4^+ exclusivamente, apenas mostra uma

preferência por uma forma ou outra (Olsson & Fakengren-Grerup, 2000). Isto é importante, pois o nitrato não é “apenas” um nutriente, é também um sinalizador não só para a sua própria assimilação, mas também para muitos outros processos celulares, como a regulação conjunta de processos associados com o metabolismo do carbono (Crawford, 1995).

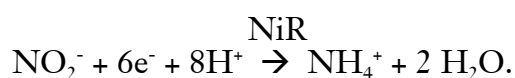
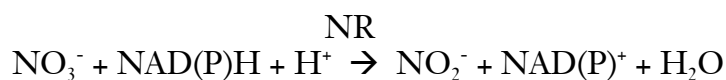
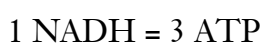
1.2.2. A captação e a assimilação do nitrogênio inorgânico

Em sistemas controlados de cultivo, a captação de NO_3^- usualmente leva a uma alcalinização do meio externo. Para vegetais superiores e inferiores, um sistema de co-transporte H^+/NO_3^- na base de 2:1 explica essa alcalinização (Crawford & Glass, 1998; Tischner, 2000). A captação de nitrato depende do *status* de nitrogênio da planta e da demanda por este recurso (Tischner, 2000). Já a captação de NH_4^+ acredita-se que se dê por um sistema de transporte do tipo uniporte. Essa captação envolve a liberação de prótons, e plantas nutridas com NH_4^+ geralmente acidificam o meio externo. Entretanto, cabe ressaltar que essa acidificação não deve ser atribuída à ação do amônio como um ácido fraco ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}^+$), tampouco da seqüência assimilatória catalisada por GS-GOGAT sozinha. Este próton produzido é utilizado pelo próprio sistema GS-GOGAT. Assim, a acidificação do meio externo sob nutrição com NH_4^+ sugere a existência de um sistema de efluxo de prótons para compensar o desbalanço de cargas (Britto & Kronzucker, 2002), uma vez que não se observa acidificação do citosol sob nutrição com amônio (Kosegarten *et al.*, 1997; Gerendás & Ratcliffe, 2000).

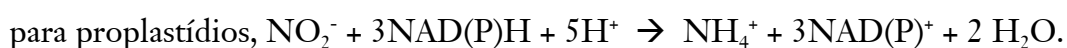
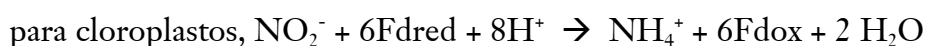
Concentrações externas altas de amônio podem levar a alguma toxidez da planta ao íon. Sintomas de toxidez por amônio incluem clorose foliar (seguida de queda na atividade fotossintética), supressão do crescimento, queda na razão raiz:parte aérea (embora algumas espécies mostrem padrão inverso), queda na razão raízes finas:grossas (este pode estar acompanhado pela estimulação da ramificação radicular), declínio nas associações micorrízicas e inibição da germinação de sementes e estabelecimento de plântulas (Britto & Kronzucker, 2002). Muitas das explicações tradicionais para esses sintomas têm sido revistas. Britto & Kronzucker (2002) apontam como insuficientes ou

mesmo incorretas explicações como efeitos da acidificação do meio externo (devido à absorção do NH_4^+), desbalanço celular de H^+ , acumulação *per se* de NH_4^+ no citosol, e ainda, maior demanda de carbono para as raízes para síntese de aminoácidos sob nutrição com NH_4^+ . Os autores sugerem o envolvimento do etileno (como resposta ao estresse por NH_4^+), fotoproteção, e deslocamento de cátions de compartimento subcelulares como explicações mais plausíveis.

A assimilação de NO_3^- é bastante diferente da assimilação de NH_4^+ com relação aos custos energéticos. Usar NH_4^+ é mais barato, pois a atividade GS-GOGAT requer em torno de 5 ATP, por molécula assimilada, enquanto que a assimilação de NO_3^- requer em torno de 15 moléculas de ATP (Salsac *et al.*, 1987). Isto é brevemente exemplificado a seguir (Salsac *et al.*, 1987; Marschner, 1995; Buchanan *et al.*, 2000; Taiz & Zeiger, 2004):

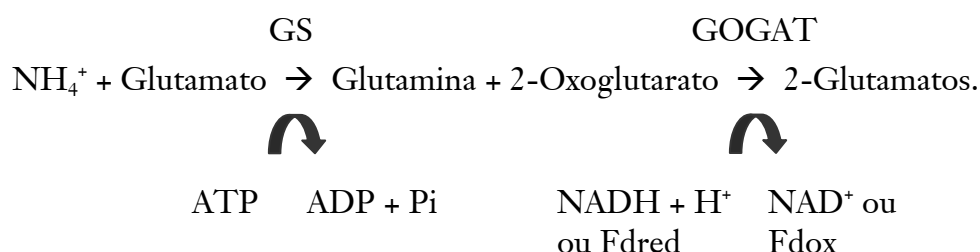


Assim como a ANR, a ANiR (atividade nitrito redutase) pode estar presente tanto na raiz quanto na parte aérea, dessa forma:



A energia para redução de nitrato e de nitrito em folhas verdes vem, essencialmente, das reações fotossintéticas, enquanto que nas raízes, redutores e ATP para assimilação de NO_3^- vêm da respiração mitocondrial (Smirnov & Stewart, 1985).

Do mesmo modo, existem duas classes de GS e duas de GOGAT, cada classe presente ou em plastídios (raízes, usando NADH) ou em cloroplastídios (tecidos verdes na parte aérea, usando Fd). Dessa forma,



Como evidenciado nas equações anteriormente descritas, os metabolismos do carbono e do nitrogênio são interligados. O uso de energia proveniente da fotossíntese (via Fdred) para assimilação de nitrogênio implica a existência de competição por energia entre os metabolismos de carbono e nitrogênio. Além disso, a fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcase) é considerada uma importante etapa nessas vias por prover oxaloacetato ao ciclo do ácido cítrico (CAC) ou à síntese de aspartato. O CAC pode ser limitado pela remoção de 2-Oxoglutarato para a assimilação de nitrogênio (via GOGAT). Dessa forma, o fluxo de carbono deve ser direcionado para a síntese de açúcares ou amido ou para formação de ácidos orgânicos para formação de aminoácidos (Tischner, 2000). Assimilar nitrato nas folhas pode ser mais barato energeticamente que nas raízes, se houver saturação de luz na fotossíntese (Smirnoff & Stewart, 1985). Ao passo que assimilar amônio nas raízes implica uma grande demanda por esqueletos de carbono, os quais são providos pelo CAC, os compostos intermediários removidos são repostos pela atividade da PEPcase (Marschner, 1995). Se o amônio é utilizado como fonte de N, ocorre uma imediata incorporação dele nas raízes, sendo que, comumente, não são encontradas quantidades significativas dessa molécula nos vasos do xilema (Tischner, 2000). Medidas relativas às quantidades presentes de N nos tecidos da planta podem ser bastante úteis na interpretação dos efeitos da nutrição diferenciada de nitrato e amônio. Especialmente, medidas foliares do conteúdo de clorofilas, as quais podem ser interpretadas como uma medida indireta da quantidade de nitrogênio orgânico não

estrutural (Bijlsma & Lambers, 2000), e a relação C:N permitem acessar o *status* nutricional da planta quanto à nutrição nitrogenada e quanto à alocação de recursos.

A ANR é induzível por nitrato, e a indução da atividade da enzima é usualmente inibida por compostos reduzidos, como o amônio. Entretanto, a presença de nitrato não é um pré-requisito absoluto para expressão gênica da NR apesar de pequenas quantidades de NO_3^- serem suficientes para haver indução (Tischner, 2000). A ANR por unidade de massa foliar é, freqüentemente, muito baixa em Gimnospermas sob condições naturais, porém aumenta quando nitrato é ofertado a 5 mM (Smirnoff *et al.*, 1984). Segundo Andrews (1986), a ANR deve ser avaliada tanto em folhas quanto em raízes, uma vez que a atividade pode estar particionada na planta em diferentes proporções, sendo a medida foliar pouco informativa sozinha. Este autor identifica alguns padrões de ANR entre os diferentes grupos de plantas. Dentre esses padrões pode-se salientar que: (1) espécies temperadas perenes priorizam a atividade nas raízes, sob baixas concentrações externas de nitrato, aumentando a participação da atividade na parte aérea à medida que a concentração externa de nitrato aumenta; (2) espécies tropicais e subtropicais, anuais e perenes, priorizam a atividade na parte aérea quando a concentração externa de nitrato é baixa; quando essa concentração aumenta, a partição se mantém constante.

1.2.3. Acessando a preferência por diferentes formas de nitrogênio inorgânico

Para que se possa interpretar o comportamento nutricional de uma planta com relação ao N disponível em condições naturais, onde a interação com outras espécies se encontra presente, é necessário conhecer as preferências fisiológicas da espécie com relação ao uso de N, o que só pode ser alcançado em experimentos controlados. Para obter a evidência de captação de nitrato ou amônio, estes íons devem ser fornecidos individualmente, o que pode ser facilmente feito em experimentos com soluções nutritivas (Arnold, 1992).

As principais abordagens metodológicas incluem o uso de soluções nutritivas tanto em cultivos hidropônicos (Gigon & Rorison, 1972; Falkengren-Grerup & Lakkenborg-Kristensen, 1994; Rorison, 1985; Keltjens & van Loenen, 1989; Bungard *et al.*, 1999)

quanto em cultivos com areia (Driessche, 1971; Adams & Attiwill, 1982; Motosugi *et al.*, 1995; Pereira *et al.*, 1996; Norton & Firestone, 1996). A adição de sais de fertilizantes ao solo (Arnold & van Diest, 1991; Arnold, 1992; George *et al.*, 1999) também pode ser utilizada, mas cultivos em areia oferecem algumas vantagens. Por exemplo, fatores complicantes como mineralização-imobilização de N e a adsorção de amônio aos colóides podem ser evitados. Paul & Lee (1976) *apud* Hershey (1990) ainda consideram que um solo arenoso, apesar de sua baixa fertilidade, pode produzir melhores condições de crescimento para a planta em vasos do que um solo contendo argila, que possui diâmetros de poros menores, resultando em menor aeração na capacidade do vaso. Contaminação por agentes nitrificantes pode ocorrer, em maior ou menor grau, em qualquer sistema de cultivo (Padgett & Leonard, 1993). Além desses aspectos, é importante ressaltar que nitrato e amônio podem interagir com outros cátions e ânions e competir por sítios de ligação na membrana plasmática de células das raízes. Por esse motivo, com relação ao NH_4^+ , os níveis de K^+ devem ser mantidos altos em soluções nutritivas (Britto & Kronzucker, 2002). Apesar de o NH_4^+ ser razoavelmente efetivo em competir por sítios de ligação em relação ao potássio, o inverso, inibição de captação de NH_4^+ não é observado (Marschner, 1995).

1.3. Nitrogênio inorgânico em solos: formas predominantes e fatores associados

Em todos os ecossistemas, os processos microbiológicos desempenham um papel fundamental no ciclo do nitrogênio e são responsáveis pelos principais processos vitais, como fixação, nitrificação, mineralização (ou amonificação) e desnitrificação. As atividades relativas dos microrganismos nas diferentes etapas do ciclo têm grande influência no acúmulo nos solos de produtos intermediários como NH_4^+ e NO_3^- , ou seja, na acumulação líquida desses compostos (Rosswall, 1982). A mineralização é definida como a liberação de nitrogênio na forma de amônio a partir da forma orgânica deste nutriente, sendo conduzida principalmente por microrganismos. Seu destino subsequente é dependente de um grande número de fatores bióticos e abióticos. O amônio pode tanto ser volatilizado, nitrificado, imobilizado em argilas ou tornar-se substrato para microrganismos heterotróficos e plantas. Esses diversos fatores competem entre si pelo

NH_4^+ disponível e concentrações muito baixas (menos de 5 mg kg^{-1}) são bastante comuns em solos com cobertura vegetal. Isto, no entanto não é indicativo de baixas taxas de mineralização, mas pode sim significar, por exemplo, rápidas taxas de nitrificação e de captação por plantas (Rosswall, 1982; Stark & Hart, 1997). Pela nitrificação o amônio é oxidado a nitrito e a nitrato, principalmente por bactérias autotróficas nitrificadoras dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, e é um evento chave na determinação do destino do nitrogênio em um ecossistema (Gottschalk, 1985; Rosswall, 1982).

Podem ser contabilizados em cinco os principais fatores que controlam as formas predominantes de nitrogênio inorgânico em solos: pH, temperatura, oxigenação, compostos alelopáticos (baseados em fenólicos), e relação C:N. Se um processo é controlado por um organismo, como são a nitrificação e a amonificação, a heterogeneidade pode ser causada por diferenças na quantidade de enzimas presentes, características cinéticas dos sistemas enzimáticos, disponibilidade de compostos reagentes (por exemplo, O_2 e ATP), variáveis ambientais que afetam o funcionamento das enzimas (Stark, 1994), além, é claro, disponibilidade de substrato.

Solos ácidos, em geral, têm a nitrificação inibida. A nitrificação autotrófica é um processo estritamente aeróbico que é freqüentemente inibido sob baixos valores de pH (Gottschalk, 1985), existindo assim muitos solos ácidos onde a nitrificação parece ser ausente (De Boer & Kowalchuck, 2001). Dessa forma tende a haver no solo o acúmulo de formas reduzidas de nitrogênio como o amônio (Rosswall, 1982; Salsac *et al.*, 1987). Entretanto pode ocorrer nitrificação sob valores de pH inferiores a quatro ou até mesmo três (De Boer & Kowalchuck, 2001). O quê indica que outros fatores podem influenciar a taxa de nitrificação de um solo. Juntos, nitrato e amônio correspondem a aproximadamente 70 % do total de cátions e ânions absorvidos pelas plantas (van Beusichem *et al.*, 1988). Como conseqüência, isto acaba interferindo na captação de outros cátions e ânions e no pH do meio externo (Arnold & van Diest, 1991; Marschner, 1995; Tischner, 2000). Para plantas que têm preferência por amônio, pode ocorrer acidificação da rizosfera nas camadas superiores do solo. Isto pode ser apontado como uma das causas de acidificação de solos florestais (Arnold & van Diest, 1991; Arnold,

1992), sendo o inverso (alcalinização da rizosfera devido à nutrição com NO_3^-) nem sempre verdadeiro (Rorison, 1985). Plantas (tanto gramíneas quanto dicotiledôneas) de ambientes com alta fertilidade podem aumentar as taxas de mineralização e a nitrificação de solos, por alterarem o pH do solo, e isto pode influenciar o ciclo do nitrogênio e as taxas de mudanças na composição de espécies durante a sucessão no ambiente natural dessas espécies (van der Krift & Berendse, 2001).

Temperatura e oxigenação têm forte influência nos processos bioquímicos em solos. Sob condições de baixas temperaturas, a nitrificação torna-se, em grande parte, inibida. Já a mineralização pode ocorrer a temperaturas baixas e em ambientes de pH bastante diversos (Salsac *et al.*, 1987). Variações sazonais nas taxas de nitrificação e mineralização em solos florestais são correlacionadas positivamente com a temperatura (Tietema & Verstraten, 1992). A oxigenação do solo também é um aspecto importante a ser considerado sendo um dos principais fatores que influenciam a taxa de mineralização de nitrogênio em solos (Rosswall, 1982). À medida que mais água é acumulada no solo, o oxigênio molecular, O_2 , sofre depleção, dada sua baixa solubilidade em água e o consumo pela atividade biológica, levando a um aumento das condições redutoras com conseqüente acúmulo de NH_4^+ (McBride, 1994).

Compostos fenólicos podem inibir a nitrificação (Rice & Pancholy, 1973). É possível que variações na concentração de tais compostos, como a composição de monoterpenóides, de um ponto a outro no solo possam causar diferenças na produção de nitrato, principalmente em florestas dominadas por coníferas (De Boer & Kester, 1996; Laverman *et al.*, 2002). Altas concentrações de polifenóis impedem a mineralização e alteram a via principal de ciclagem de nitrogênio para as formas orgânicas, as quais são menos suscetíveis a perdas por lixiviação ou desnitrificação (Northup *et al.*, 1995; Yu *et al.*, 1999).

A relação C:N e o acúmulo de matéria orgânica também afetam as quantidades relativas das formas de nitrogênio inorgânico disponíveis para as plantas (Berendse, 1998; Springob & Kirchmann, 2003). De forma geral, se a relação C:N do solo é baixa ($\sim < 12,5$), o nitrogênio está em excesso e amônio será liberado; o inverso ($\sim > 30,3$) implica

imobilização do NH_4^+ (Rosswall, 1982; Hodge *et al.*, 2000). Entretanto, deve-se ter em conta a relação C:N dos decompositores. Se a relação C:N do substrato que está sendo decomposto é menor que aquele dos decompositores (levando-se em conta o CO_2 respirado), então esses microrganismos vão liberar nitrogênio, freqüentemente na forma de amônio. Isto acaba influenciando na competição pelo nitrogênio disponível entre plantas e microrganismos (Hodge *et al.*, 2000). Já o acúmulo de matéria orgânica no solo pode levar a um aumento de dez vezes na mineralização do nitrogênio em poucas décadas (Berendse, 1998).

Muitos outros padrões, além desses até aqui listados, podem ser identificados. (1) A mineralização e a nitrificação ocorrem simultaneamente. Isto é assegurado pela natureza heterogênea da matéria orgânica e a presença de uma grande variedade de decompositores (Hodge *et al.*, 2000). (2) Umidade, pH e temperatura podem apresentar uma variação muito baixa para serem responsáveis por uma alta variação espacial de produção de nitrato dentro de uma floresta de coníferas (De Boer & Kester, 1996; Laverman *et al.*, 2002). (3) Solos saturados de nitrogênio têm o amônio presente em altas concentrações, sendo pouco provável que isso limite a nitrificação. (4) Uma baixa produção de nitrato, por sua vez, pode ser resultado de escassez de outros nutrientes como P, K, Na, Mg ou elementos traço (Laverman *et al.*, 2002). (5) O nitrato é mais móvel que o amônio e, portanto, mais sujeito à lixiviação que este último (Rosswall, 1982). A lixiviação de nitrato é um evento chave; ecossistemas que sofreram distúrbios podem ter perdas substanciais de nitrogênio por essa via (Vitousek *et al.*, 1979). Todo desflorestamento pode induzir alguma perda de nitrogênio por lixiviação, até ocorrer a revegetação da área danificada por plantas herbáceas ou árvores (Rasmussen, 1998). (6) O nitrato está sujeito também a perdas substanciais por desnitrificação (Rosswall, 1982; Pu *et al.*, 2001). (7) Sob valores altos de pH o amônio pode ser convertido a amônia (NH_3). Este é um composto volátil, portanto sujeito a perdas para atmosfera, afetando a eficiência na aplicação de fertilizantes (He *et al.*, 1999), o destino do amônio em ecossistemas (Stark, 1994) e, não menos importante, as quantidades atmosféricas dessa forma de nitrogênio (Galbally & Gillett, 1988). Em conjunto, todos esses aspectos

tornam impossível prever de forma acurada quão grandes serão as quantidades de nutrientes num dado local. Isto se deve a essas quantidades serem o resultado líquido de muitos processos que competem entre si (Stark, 1994).

1.4. A importância de se acessar a variação a campo

Um dos maiores desafios em estudos ecológicos é o entendimento da geração e erosão da variabilidade como uma função da escala espacial (Schneider, 1994). Essa variabilidade refere-se a mudanças, tanto no espaço quanto no tempo; quando essa variação tem uma estrutura pode-se chamá-la de heterogeneidade (Legendre & Legendre, 1998). A heterogeneidade espacial e temporal de recursos do solo pode ter influência determinante sobre a composição vegetal e o comportamento de plantas (*e.g.* Zedler & Zedler, 1969; Fitter, 1982; Eissenstat & Caldwell, 1988; Jackson & Caldwell, 1989). A variação em escalas pequenas (dez metros ou menos) pode afetar a distribuição e abundância local de organismos e o desempenho individual destes. Isto tem consequências ecofisiológicas importantes que podem ser amplificadas para a comunidade (Jackson & Caldwell, 1993a; Robertson & Gross, 1994). Variações mínimas na concentração externa de nitrogênio inorgânico podem ter influência significativa sobre a captação, assimilação, translocação e estocagem desse nitrogênio no corpo da planta (*e.g.* Smirnoff & Stewart, 1985; Andrews, 1986; Kronzucker *et al.*, 1997; Min *et al.*, 1999; Tischner, 2000), podendo a heterogeneidade na disponibilidade de nutrientes ser potencialmente considerada a mais importante causa de perturbação no *status* nutricional de uma planta (Glass *et al.*, 2002). A variação temporal e espacial de manchas de recursos entre habitats é central no entendimento do papel da plasticidade das plantas para ocupar esses habitats (Grime, 1994). Mesmo em escalas pequenas, o ambiente físico ao qual uma planta está sujeita não é uniforme, e pode-se esperar seleção por plasticidade (Bell & Lechowicz, 1994). Em um ambiente heterogêneo, os sistemas radiculares vão maximizar a aquisição de nutrientes e a alocação de recursos nas manchas mais ricas (Friend *et al.*, 1990; Fitter, 1994). Da mesma forma, variações temporais na distribuição dos recursos determinam a plasticidade necessária para que uma planta faça de forma eficiente o uso dos recursos disponíveis (Fitter, 1994).

Fitter (1994) destacou a existência de poucas informações disponíveis sobre variações temporais e espaciais de manchas de recursos. Esta carência existe até hoje, apesar de alguns estudos, principalmente na última década, caracterizarem a heterogeneidade espacial dos teores de N-NO_3^- e de N-NH_4^+ (e.g. Robertson *et al.*, 1988; Gross *et al.*, 1995; Farley & Fitter, 1999; Prasolova *et al.*, 2000; Laverman *et al.*, 2000; Laverman *et al.*, 2002). Embora se saiba que recursos do solo variam, a estrutura dessa variação, i.e., sua escala e magnitude, e como isso pode diferir entre comunidades ainda são aspectos pouco entendidos. A percepção da escala de variação de nutrientes ainda é, em muitos casos, limitada a um nível qualitativo, que não permite, por si só, generalizações sobre os controles ou conseqüências dos padrões medidos (Robertson & Gross, 1994). Muito da falta de entendimento sobre a variação de recursos do solo é dada pela carência de ferramentas apropriadas para quantificar e acuradamente descrever os padrões espaciais. A replicação de amostras pode ser implementada para acessar a variação em um determinado sítio, porém o quanto dessa variabilidade pode ser interpretado como espacialmente estruturada, depende da distribuição da variabilidade (Robertson & Gross, 1994). Mais comum, é o uso de análises de gradiente ou ordenação, que, em muitos casos, desconsideram a relação espacial entre as amostras (Lechowics & Bell, 1991). A mesma variável, para dois sítios diferentes, pode ter a mesma média, freqüência de distribuição, coeficiente de variação e de assimetria, dessa forma não diferindo “estatisticamente” de um local para o outro. Porém, se levarmos em conta a distribuição espacial da variável em ambos os sítios, podemos encontrar cenários completamente diferentes (Rossi *et al.*, 1992).

Acessar a heterogeneidade espacial passa pelas seguintes perguntas (Robertson & Gross, 1994): (1) quão variável é o recurso em questão e qual a significância biológica dessa variação? (2) Qual a proporção da variação total observada que pode ser atribuída a fatores espaciais? (3) Em que escala, ou escalas o padrão é expresso? A resposta para a primeira pergunta pode ser dada por procedimentos estatísticos paramétricos tradicionais. Já as demais pressupõem identificar a escala em que o padrão é expresso. Dados espaciais são, freqüentemente, vistos e sumarizados pelos modos clássicos, como

sendo o resultado de uma amostragem aleatória e não como uma coleção espacial de variáveis aleatórias dependentes, nas quais esta dependência é fortemente ligada às localizações espaciais (Cressie, 1993). Assim, pressuposições sobre a independência das amostras não podem ser assumidas pelo fato de estas estarem autocorrelacionadas, seja no espaço ou no tempo (Robertson, 1987). De fato, muitas das definições de ecologia pressupõem dependência espacial e temporal, seja quando são expressas como as “inter-relações dos organismos e seu entorno” (Ricklefs, 2003) ou ainda por Odum (1988), quando propõe a presença de níveis de organização (Rossi *et al.*, 1992). Assim, a estruturação espacial é um componente importante de comunidades e de ecossistemas, devendo as teorias e modelos ecológicos incluir este aspecto (Legendre, 1993). Para acessar a variabilidade de um recurso, são necessárias ferramentas quantitativas **espacialmente explícitas** e estatisticamente robustas de forma a permitirem identificar se há manchas de nutrientes e quão distintas elas são (Robertson & Gross, 1994). A geoestatística (com o uso de análises de semivariância e krigeagem) é uma ferramenta bastante poderosa e com resultados prontamente interpretáveis para quantificação de autocorrelação em um domínio espacial, sendo esta informação usada para identificação de padrões e escalas de heterogeneidade espacial (Robertson & Gross, 1994). Semivariogramas, tradicionalmente, servem para dois propósitos: quantificação da escala de variabilidade exibida por padrões naturais de distribuição de recursos e identificação da escala espacial ou temporal na qual a variável amostrada exibe variância máxima, sendo este último aspecto importante nos delineamentos amostrais (Meisel & Turner, 1998). Os resultados fornecem pistas quanto aos fatores associados à variação encontrada e possíveis conseqüências sobre o desempenho de indivíduos dentro dos sítios. Além disso, permitem uma melhor compreensão sobre como padrões de heterogeneidade espacial influenciam processos ecológicos (Robertson & Gross, 1994; Meisel & Turner, 1998).

1.5. A modelagem em geoestatística

Podem ser encontradas excelentes publicações (Henley, 1981; Robertson, 1987; Isaaks & Srivastava, 1989; Rossi *et al.*, 1992; Cressie, 1993; Robertson & Gross, 1994; Legendre & Legendre, 1998; Clark Labs, 2001; Ettema & Wardle, 2002) que tratam em

maior ou menor detalhe os métodos aqui utilizados e as muitas outras ferramentas oferecidas pela geoestatística, não cabendo a esta dissertação uma revisão profunda dessas possibilidades. Serão abordados aqui, de forma sucinta, os principais aspectos das ferramentas utilizadas neste trabalho, bem como possíveis pontos de divergência com outras abordagens utilizadas na literatura. Cabe ressaltar que é possível seguir diferentes caminhos na descrição da dependência espacial e que a escolha do procedimento mais adequado depende de uma série de fatores, como natureza dos dados, refinamento desejado no modelo, ferramentas disponíveis, pergunta a ser respondida e, não menos importante, experiência do pesquisador. Da mesma forma não existe o melhor caminho nem o melhor ajuste; existe sim, o caminho que permite uma boa descrição dos padrões encontrados. Não se deve seguir uma seqüência rígida de passos, mas ao contrário, seguir seus próprios instintos; imaginação e curiosidade são elementos chave nesse processo (Isaaks & Srivastava, 1989). As considerações a seguir podem ser encontradas em maiores detalhes em Henley (1981), em Isaaks & Srivastava (1989) e em Cressie (1993).

1.5.1. Pressupostos do modelo geoestatístico

Para variáveis que têm uma localização definida no espaço, desenvolveu-se uma estatística chamada de Teoria das Variáveis Regionalizadas. Uma variável regionalizada tem uma correlação não-zerada com ela mesma para uma dada localização espacial (Henley, 1981). Assim, para uma mesma variável, valores mais próximos no espaço serão mais semelhantes que valores mais distantes - um axioma citado em todos os livros sobre o assunto e colocado por Tobler (1970 *apud* Meisel & Turner, 1998) como a primeira lei da Geografia.

No início dos anos 50, Daniel G. Krige, um engenheiro de minas sul africano, desenvolveu um método empírico para determinação da distribuição espacial de ouro a partir de uma malha amostrada. Entretanto, cabe ao francês Georges Matheron, nos anos 60, o grande avanço teórico da área. Ele propôs o uso do termo geoestatística em um

contexto geológico para denotar uma teoria e métodos para inferir reservas de ouro a partir de dados espacialmente distribuídos pelo corpo da reserva (Cressie, 1993)¹.

Se uma superfície tem o mesmo valor médio em qualquer local, tem-se o que se chama de **estacionariedade de primeira ordem**. Considerando duas observações x_1 e x_2 obtidas nos locais i_1 e $i_2 = i_1 + h$, separadas pela distância h ; quando o valor médio (m) de $(x_1 - x_2) = 0$, satisfaz-se a pressuposição. Isto pode ser expresso assim:

$$E[x(i)] = m$$

$$E[x(i) - x(i + h)] = 0$$

onde E é o valor esperado da variável aleatória. Pode-se definir a covariância de x_1 e x_2 como o valor esperado do produto dos desvios da média das duas observações:

$$E[\{x(i) - m\} \{x(i + h) - m\}] = K(h)$$

onde $K(h)$ é a covariância. Se for assumido que, para cada h , a covariância espacial é independente das localizações de i_1 e i_2 , então se tem o que se chama de **estacionariedade de segunda ordem**. A confirmação desta suposição requer que a primeira também esteja feita.

A pressuposição de estacionariedade de segunda ordem é raramente justificável. O valor médio m é sempre desconhecido e pode não ser constante, assim a variância e a covariância não podem ser acessadas diretamente. Uma suposição mais fraca pode ser adotada, e Matheron a chamou de **hipótese intrínseca**:

$$E[x(i) - x(i + h)] = 0$$

$$E[\{x(i) - x(i + h)\}^2] = \text{var}[x(i) - x(i + h)] = 2\gamma(h)$$

¹ Cressie (1993) salienta que, ao mesmo tempo em que a geoestatística era desenvolvida na França por Matheron para a engenharia de minas, as *mesmas* idéias foram alcançadas em meteorologia por L. S. Gandin na então União Soviética. Antes de mesmo de Krige e Matheron, os biomatemáticos Matérn em 1947 e Jowett em 1955 utilizaram funções idênticas a semivariogramas (Rossi *et al.*, 1992). Entretanto, o mais antigo trabalho na área deve ser creditado ao pesquisador florestal sueco Langsaeter em 1926 (Matérn, 1960 *apud* Rossi *et al.*, 1992).

onde $\gamma(h)$ é a estatística conhecida como **semivariância**.

A geoestatística paramétrica tradicional requer também que a distribuição dos dados seja normal ou, que seja possível transformar os dados para tal (Henley, 1981). Isto implica dizer que é necessário um **processo Gaussiano** subjacente. Quando a distribuição é normal, os pressupostos de estacionariedade estão, em geral, satisfeitos, por que um processo Gaussiano é caracterizado pela média e pela variância (Isaaks & Srivastava, 1989; Cressie, 1993). A análise de semivariância é bastante sensível a distribuições assimétricas das freqüências; transformações como $\ln(x+1)$ ou $\log(x+1)$, minimizam os efeitos da presença de valores erráticos (Isaaks & Srivastava, 1989; Robertson & Gross, 1994).

Sumarizando, uma variável regionalizada é uma função aleatória com uma distribuição contínua definida a cada ponto no espaço, e com um grau de continuidade espacial a qual pode ser expressa pela variância da diferença em valores entre observações separadas pela distância h (Henley, 1981).

1.5.2. Estimação do variograma amostral

A semivariância é metade da média das diferenças entre os pares de dados elevadas ao quadrado:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum [x(i) - x(i+h)]^2$$

onde, $\gamma(h)$ é o valor de semivariância para todas as posições em um domínio espacial separados pela distância h , N é o número de pares de comparação, $x(i)$ representa o valor da propriedade no ponto i , e $x(i+h)$ o valor a um intervalo de distância h de i . A representação gráfica do cálculo de semivariância para todos os intervalos de distância possíveis é o semivariograma ou, por simplicidade, variograma (Figura 1.2).

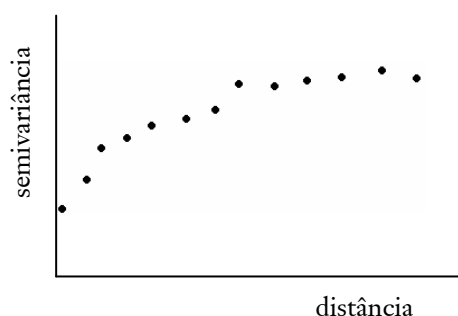


Figura 1.2. Exemplo ilustrativo de um semivariograma amostral.

Essa fórmula constitui o chamado **estimador clássico** ou **método de estimação dos momentos**. Por ser fortemente afetado por valores erráticos (*outliers*), Cressie & Hawkins (1980 *apud* Cressie, 1993) propuseram um método, chamado de **estimador robusto**, que pode ser encontrado descrito em Cressie (1993). Juntamente com o semivariograma, existem outros métodos de estimação da continuidade espacial. O covariograma (semelhante ao semivariograma, sendo considerada a covariância entre os intervalos) e o correlograma (essencialmente, o covariograma dividido pela variância) também descrevem o comportamento da variação à medida que se incrementa a distância h . Alguns autores afirmam que o correlograma deve ser preferido ao semivariograma devido àquele poder ter cada coeficiente testado com relação à significância (Legendre & Fortin, 1989). Entretanto, o uso da semivariância oferece vantagens diretas sobre esses métodos: além da estacionariedade intrínseca, ele pode ser diretamente aplicado para krigagem e ser estimado com um grau de confiabilidade muito superior do que o covariograma (Cressie, 1993; Robertson & Gross, 1994). Além disso, a análise de semivariância permanece como uma das técnicas mais utilizadas e, da família de variogramas, é a que permite um caminho matemático menos complicado e mais

facilmente compreensível e factível (Meisel & Turner, 1998). Também existem métodos disponíveis para testar a significância entre semivariogramas, se for necessário (Rossi *et al.*, 1992; Meisel & Turner, 1998). O semivariograma, sem um modelo ajustado, é chamado de semivariograma amostral.

1.5.3. Propriedades do semivariograma e modelos de variogramas teóricos

À medida que a distância de separação dos pares de comparação aumenta, o valor de semivariância, geralmente, aumenta. Eventualmente, um aumento da separação em distância não proporciona um aumento na semivariância (Isaaks & Srivastava, 1989). Isso tem muitas implicações e tornam necessárias, neste momento, algumas considerações a respeito das propriedades do variograma (Figura 1.3).

Variância estrutural (C): é a variação espacialmente dependente.

Efeito pepita (*nugget effect*, C_0): o salto vertical da semivariância de zero até o valor dado pela menor distância de separação de pares. É a variação presente no menor intervalo de medida ou é resultado de erro de medida, ou ambos.

Patamar (*sill*, $C + C_0$): o platô atingido no qual não há mais incremento na semivariância. Aproximadamente, deve equivaler à variância da população (σ^2). Assim,

$$[\sigma^2 / (C + C_0)] = 1,00$$

serve como parâmetro de adequação do modelo ajustado.

Amplitude (*range*, a): a distância na qual o variograma atingiu o patamar. Na prática, a distância correspondente a ~ 95% da semivariância do patamar.

Índice de dependência espacial = $[C / (C + C_0)]$. Quanto mais próximo de 1,00, uma maior proporção da variância amostral total é dependente espacialmente.

Efeito pepita relativo = $[C_0 / (C + C_0)]$. É o inverso do índice de dependência espacial.

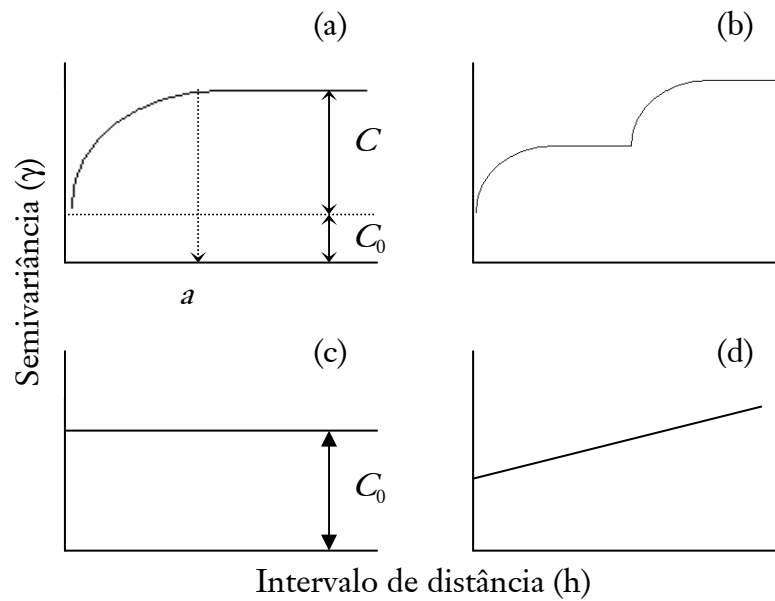


Figura 1.3. Algumas propriedades de semivariogramas generalizados. Em (a), as diferentes propriedades de um semivariograma: C , variância estrutural; C_0 , variação pepita; a , amplitude. Em (b), dependência espacial em diferentes escalas, o chamado aninhamento. Em (c), efeito pepita puro, ou seja, ausência de dependência espacial e (d), dependência presente em escalas diferentes das escalas medidas.

O semivariograma amostral pode conter muito ruído, dependendo da forma como ele se apresenta. Ajustá-lo a um ou mais modelos idealizados permite ao pesquisador **inferir** sobre pontos ou regiões não amostrados. Modelar o variograma amostral consiste em escolher um variograma teórico e depois ajustá-lo de forma a obter a melhor **predição** possível. Existem muitas possibilidades de variogramas teóricos que podem ser ajustados sobre o semivariograma amostral. São descritos aqui, aqueles que foram utilizados no presente estudo: o modelo esférico e o modelo linear.

O modelo esférico (Figura 1.3a e Figura 1.3b) consiste de duas equações separadas:

$$Y(h) = C \left(\frac{3h}{2a} - \frac{3h^3}{2a^3} \right) + C_0 \quad \text{para } h \leq a$$

$$Y(h) = C + C_0 \quad \text{para } h > a$$

$$Y(0) = 0$$

Assim, quando $h > a$, não há mais incremento no semivariograma; a covariância espacial é nula e o valor de semivariância do modelo ajustado é idêntico à variância do conjunto de dados.

O modelo linear (Figura 1.3c e Figura 1.3d) é mais simples, não atingindo um patamar, mas aumentando linearmente com h :

$$\gamma(h) = |h|.$$

1.5.4. O ajuste do modelo

O próximo passo é a escolha de um método de ajuste do semivariograma estimado ao semivariograma teórico. Apesar do método a ser escolhido, o procedimento é indispensável e altamente recomendável (Cressie, 1993). Métodos baseados nos

quadrados mínimos buscam medir o ajuste pela soma de quadrados das diferenças entre um estimador de semivariograma genérico $2\hat{\gamma}(\mathbf{h};\mathbf{e})$ e um modelo teórico $2\gamma(\mathbf{h};\theta)$, sendo “ \mathbf{e} ” uma dada direção e θ o conjunto (C, C_0, a) . Existem, basicamente, três métodos baseados nos quadrados mínimos: o ordinário (OLS, *ordinary-least-squares*), o generalizado (GLS, *generalized-least-squares*) e o ponderado (WLS, *weighted-least-squares*). Uma vez que o método optado para este trabalho foi o de WLS, somente ele será descrito em maiores detalhes. Uma descrição mais aprofundada desses métodos pode ser encontrada em Cressie (1993).

O Idrisi32 (Clark Labs, 2001) oferece dois métodos baseados em WLS para o ajuste do semivariograma amostral: o WLS1 e o WLS2. Assim, considerando $2\hat{\gamma} \equiv (2\hat{\gamma}(\mathbf{h}(1)), \dots, 2\hat{\gamma}(\mathbf{h}(K)))$, e $2\hat{\gamma}$ um semivariograma amostral obtido pelo estimador clássico (momentos), WLS1 busca minimizar

$$\sum_{j=1}^K |N(\mathbf{h}(j))| \left\{ \frac{\hat{\gamma}(\mathbf{h}(j))}{\gamma(\mathbf{h}(j); \theta)} - 1 \right\}^2$$

para K intervalos separados pela distância \mathbf{h} . O denominador constitui-se do semivariograma teórico cuja forma é conhecida à exceção dos parâmetros θ . Já WLS2 busca minimizar

$$\sum_{j=1}^K \frac{|N(\mathbf{h}(j))|}{\{\gamma(\mathbf{h}(j); \theta)\}^2} \{\hat{\gamma}(\mathbf{h}(j)) - \gamma(\mathbf{h}(j); \theta)\}^2.$$

WLS torna os pesos diretamente proporcionais ao número de amostras de cada intervalo. Ele não faz suposições sobre a distribuição dos dados sendo eficiente tanto com distribuições Gaussianas como não-Gaussianas (Cressie, 1993). WLS1 dá um peso para cada intervalo proporcional ao número de pares que contribuem para cada intervalo. Ele assume que a confiabilidade do variograma amostral aumenta com o aumento do número de pares. Já WLS2 dá mais peso para os intervalos menores. Embora seja mais provável que esses intervalos tenham menos pares, a separação menos distante deles é considerada mais importante na criação de um modelo final. No Idrisi32, o denominador na equação de WLS2 constitui-se do variograma amostral (Clark Labs, 2001).

O ajuste de um modelo no ambiente Idrisi32 é uma combinação de métodos visuais e automáticos. Algoritmos que permitem um ajuste automático são bastante úteis para refinar o ajuste visual e para detectar problemas (Clark Labs, 2001). Parâmetros dados por θ são ajustados e os cálculos estatísticos repetidos até que uma solução convirja. O usuário deve apenas inserir os valores iniciais de θ . Os algoritmos finalizam o cálculo quando uma solução, dentro de limites especificados (número de iterações e limite de ajuste, este, dado pela diferença de erro de soma de quadrados entre um ajuste e outro), é encontrada, ou quando as iterações do ajuste resultam em saídas muito diferentes daquelas propostas pelo ajuste visual (Clark Labs, 2001).

Deve-se ter bastante cuidado para não “superajustar” (*overfit*) o variograma amostral. O objetivo, não importando o método escolhido, é criar um variograma que mais se aproxime do padrão de dependência espacial medido, e não, necessariamente, obter um modelo que tenha o melhor ajuste entre os dois (o amostral e o teórico) (Clark Labs, 2001). Três modelos teóricos podem ser combinados para capturar cada dobra ou alteração do variograma amostral. Entretanto, esses modelos complicados, geralmente, não levam a estimativas mais acuradas que aquelas providas pelos modelos mais simples. O princípio da parcimônia é um bom guia para se modelar variogramas. Além disso, no momento de decidir se uma determinada característica do variograma amostral deve ou não ser modelada, é adequado considerar se há uma explicação para essa característica. Se

não existe uma explicação, a característica pode ser espúria, não sendo necessário modelá-la (Isaaks & Srivastava, 1989).

1.5.5. Isotropia e anisotropia

Semivariogramas omnidirecionais são aqueles calculados para todas as direções possíveis no espaço amostral, sendo que o mesmo par não é repetido no seu sentido inverso. Semivariogramas direcionais são definidos considerando-se um determinado intervalo angular (tolerância angular) que, quanto menor, menor número de pares de comparação conterà. Quando os semivariogramas direcionais produzem resultados aproximadamente semelhantes, tem-se o que se chama de isotropia (Isaaks & Srivastava, 1989). Um conjunto de dados que é isotrópico é, por conseqüência, estacionário de segunda ordem (Cressie, 1993). Entretanto, a dependência espacial em uma direção pode diferir da dependência em outra direção. Quando isto ocorre tem-se a chamada anisotropia. Semivariogramas omnidirecionais podem ser vistos como uma média dos semivariogramas direcionais devendo ser preferidos, uma vez que são, geralmente, mais “bem comportados” e, assim, mais fáceis de modelar. Porém, se a amostragem não for distribuída uniformemente, o semivariograma omnidirecional deixa de ser uma média uma vez que algumas direções podem estar representadas com um peso muito maior (Isaaks & Srivastava, 1989).

A anisotropia pode ser avaliada comparando-se diferentes semivariogramas calculados para diferentes direções (Isaaks & Srivastava, 1989; Robertson & Gross, 1994). A melhor abordagem é testar diferentes direções e tolerâncias angulares e, para estas últimas, usar a menor que ainda produza bons resultados (Isaaks & Srivastava, 1989). Geralmente definem-se os eixos de maior e menor continuidade e esses são avaliados em separado. A anisotropia não deve ser vista como uma falha na escolha da área amostrada nem na abordagem amostral escolhida. Quando ela está presente, pode revelar pistas importantes sobre os padrões e controles exercidos sobre os recursos do solo (Robertson & Gross, 1994). Existem dois tipos de anisotropia: a geométrica e a zonal. A primeira diz respeito a variogramas que possuem o mesmo patamar, mas amplitudes diferentes. A

segunda ocorre quando o patamar muda com a direção, enquanto a amplitude se mantém constante. É comum, em dados provenientes de variáveis ambientais, uma combinação de ambas (Isaaks & Srivastava, 1989).

Para se integrar a anisotropia ao modelo, primeiro deve-se modelar os eixos de maior e menor continuidade. No cálculo de separação de distância entre pares, a distância entre eles é modificada. Tanto para a anisotropia geométrica quanto para a anisotropia zonal, a distância de separação no eixo de maior continuidade x e menor continuidade y são combinadas na equação (Isaaks & Srivastava, 1989; Clark Labs, 2001):

$$\gamma(h) = \gamma(h_x, h_y) = \gamma(h_r) \quad h_r^2 = \left(\frac{h_x}{a_x} \right)^2 + \left(\frac{h_y}{a_y} \right)^2$$

onde, a_x , a_y são as amplitudes e h_x , h_y são os intervalos h nas direções x , y .

1.5.6. Krigeagem Ordinária

Dos métodos disponíveis para gerar mapas de distribuição de recursos em domínios espaciais, nenhum supera a krigeagem (Robertson & Gross, 1994). A krigeagem (ou krigagem, do inglês *kriging*) difere de outras técnicas por que suas estimativas dos pontos interpolados buscam minimizar o erro associado. Existem diversas formas de krigeagem. Por exemplo: a simples, a *punctual*, a em blocos (*block kriging*), e a ordinária. A escolha do melhor método pode ser um tanto arbitrária, porém alguns métodos funcionam melhor para alguns tipos de dados e não para outros. A melhor abordagem é, novamente, testar diferentes métodos e utilizar aquele que produza os melhores resultados, ou seja, aquele que produza uma superfície de descrição espacial que seja claramente definida e ainda permita uma interpretação adequada de sua estrutura.

Na krigeagem ordinária, para cada ponto para o qual não se tem uma amostra, é estimado um valor usando uma combinação linear ponderada das amostras disponíveis numa dada área de vizinhança determinada:

$$z = \sum_{j=1}^n w_j v$$

onde, z é o valor estimado e w_j é o peso associado ao valor da amostra v . Para o cálculo de w_j , deve-se definir o padrão de continuidade espacial desejado que pode tanto ser dada por uma matriz de covariâncias

$$\hat{C}(h) = \begin{cases} C_0 + C & \text{se } |h| = 0 \\ C \exp((-3|h|/a)) & \text{se } |h| > 0 \end{cases}$$

ou por uma matriz de semivariâncias

$$\gamma(h) = \begin{cases} 0 & \text{se } |h| = 0 \\ C_0 + C(1 - \exp((-3|h|/a)) & \text{se } |h| > 0 \end{cases}$$

entre os pontos delimitados como vizinhos. C , C_0 e a foram definidos quando do ajuste dos modelos aos semivariogramas amostrais. Apesar de se trabalhar com semivariogramas, pode-se utilizar a covariância para estimação dos pontos na krigeagem ordinária (Isaaks & Srivastava, 1989) como faz o Idrisi32 (Clark Labs, 2001). Assim, se obtém uma matriz C de funções de covariâncias entre os pares de pontos, se for o caso. A esta matriz é incluído o chamado “parâmetro de Lagrange” (μ). Matheron demonstrou (Cressie, 1993) que, para se obter melhores estimativas, deve-se,

$$z^* = w_1 v_1 + w_2 v_2, \dots, + w_m v_m$$

onde

$$w_1 + w_2 + \dots + w_m = 1, \text{ ou melhor, } \sum_{i=1}^n w_i = 1$$

sendo z^* a predição local.

O erro médio e a verdadeira variância dos erros das estimativas são sempre desconhecidos. É possível, no entanto, trabalhar com o erro médio e minimizar a variância do erro modelado (Cressie, 1993; Clark Labs, 2001). Assim, o conjunto de pesos que irão prover estimativas não-viesadas com uma variância mínima é dado por

$$w = C^{-1} \times D$$

onde, C é a covariância entre as amostras e D é a matriz obtida pelo cálculo das covariâncias nos pontos amostrados.

O processo, como um todo, não é tão simples de se entender como colocado aqui. Existe uma série de equações associadas que permitem o cálculo dos valores para os pontos interpolados. Na prática, os erros associados são também calculados e diferentes tentativas com diferentes modelos preditos são testados para diferentes áreas de vizinhança definidas. Deve-se ter cuidado para que a área estipulada de vizinhança não exceda a distância dada pela amplitude a (Cressie, 1993), apesar de isto poder ser relaxado em alguns casos (Isaaks & Srivastava, 1989). Além disso, deve-se estar atento à presença de anisotropia (que exige que o mapa de krigeagem seja construído em função dos eixos anisotrópicos), e aos efeitos que alterações nos parâmetros C , C_0 e a têm sobre as estimativas dos pontos interpolados. A krigeagem assume que os modelos ajustados aos semivariogramas são ótimos, i.e., com o menor erro associado. A krigeagem ordinária é conhecida como a melhor estimativa linear não-viesada (B.L.U.E., *best linear unbiased estimator*) por que tenta criar um erro que é igual a zero e minimiza a variância dos erros (Clark Labs, 2001).

Resumindo, uma série de equações lineares é utilizada para minimizar a variância usando todos os pontos amostrados na vizinhança local do ponto a ser estimado levando em conta os modelos ajustados nos semivariogramas, as quantidades medidas nos pontos amostrados e a distância entre estes e entre o ponto a ser estimado. O método é, dessa

forma, computacionalmente intensivo, porque um novo conjunto de equações deve ser resolvido para cada novo ponto interpolado. A técnica é especialmente útil àquelas propriedades das comunidades que exibem um alto grau de dependência espacial na escala de comunidade ou em escalas menores. Isto inclui muitos, se não todos, os recursos dos solos importantes para as plantas (Robertson & Gross, 1994).

1.5.7. Descrição espacial dos dados: a análise exploratória

É adequado, e extremamente vantajoso proceder a uma atenciosa descrição do conjunto de dados antes de executar a modelagem geoestatística propriamente dita. Nesta etapa não se deve dar o mesmo crédito a todas observações; ao contrário, devem-se isolar aquelas que parecem atípicas (Cressie, 1993). Assim, são necessárias ferramentas que propiciem identificar possíveis erros na obtenção dos dados assim como a presença de valores atípicos (*outliers*).

O uso de histogramas permite visualizar a distribuição dos dados. Como a semivariância é sensível a distribuições assimétricas, eles auxiliam em muito a tarefa de verificar a assimetria da distribuição dos dados (Isaaks & Srivastava, 1989). Medidas de forma da distribuição, como os coeficientes de assimetria (CA ou *coefficient of skewness*) e de variação (CV) auxiliam na identificação de valores erráticos. O CA é dado por

$$CA = \left\{ \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - m)^3 \right\} / \sigma^3$$

Este coeficiente é muito mais sensível a valores erráticos do que a média e a variância, uma vez que a diferença entre cada valor e a média é elevada ao cubo. O sinal dado pelo CA é importante na descrição da distribuição: quando positivo, indica que o histograma tem uma cauda de valores altos para a direita tornando a mediana menor que a média; quando negativo, há uma cauda de valores pequenos para a esquerda e a mediana é maior que a média. Para conjuntos de dados geoquímicos, é comum uma assimetria positiva para a concentração de elementos que ocorrem em quantidades baixas. Já para o

CV (dado por: σ/m), valores acima de 1,00 devem chamar novamente a atenção para a presença de valores atípicos (Isaaks & Srivastava, 1989).

A construção de mapas de símbolos, onde se apresentam todos os valores medidos em seus respectivos pontos de coleta permite visualizar a distribuição dos dados; a presença de valores extremamente altos cercados por valores baixos, assim como o inverso, deve aumentar as suspeitas com relação à integridade na obtenção desses valores. Os chamados *h-scatterplots*, onde se tem num diagrama de dispersão, os valores de $x(i)$ em um eixo contra os de $x(i + h)$ em outro para cada intervalo de distância, também são uma opção interessante na identificação de pares de comparação atípicos (Isaaks & Srivastava, 1989).

1.6. Ligando os pontos: os objetivos

A ecofisiologia é uma ciência experimental (Lambers *et al.*, 1998). Entretanto, descrever adequadamente o ambiente que as plantas ocupam é de grande valia para a ecofisiologia. Muitas das características individuais das plantas são determinantes nos ciclos biogeoquímicos de nutrientes. Assim, a ecofisiologia é, de certa forma, pré-adaptada a problemas de larga escala (Field & Ehleringer, 1993). Associar características individuais das plantas com o seu habitat e buscar compreender as conseqüências das variações da estruturação dos recursos desse habitat tornam-se de grande importância na compreensão dos efeitos que possíveis alterações nesses padrões podem ter sobre esses indivíduos. Predições sobre o crescimento de indivíduos de espécies vegetais devem ter em consideração o padrão de manchas de recursos do ambiente em que a planta vive (Farley & Fitter, 1999). Saber quais são as **preferências nutricionais** de uma espécie e que **tipo de ambiente** seus indivíduos encontram são centrais para o entendimento do comportamento dessa espécie.

Assim, os objetivos do presente estudo são:

-
- (1) *comparar as respostas fisiológicas de plantas do pinheiro brasileiro ao fornecimento individual e combinado destas duas diferentes fontes de nitrogênio inorgânico: $N\text{-NO}_3^-$ e $N\text{-NH}_4^+$;*
 - (2) *caracterizar a variabilidade espacial dos solos de três sítios (mata nativa, campo nativo e plantação de *Pinus*) onde o pinheiro brasileiro (*Araucaria angustifolia*), ocorre, quanto aos teores líquidos de nitrato e amônio.*

Para isso é postulado que:

- (1) o amônio é a forma de nitrogênio que propicia o desenvolvimento mais adequado de plantas de *Araucaria angustifolia*;
- (2) o amônio é a forma de nitrogênio predominantemente presente nos três sítios, a despeito de ser verão ou inverno;
- (3) a magnitude da variação é maior e a escala da variação é mais grosseira (manchas maiores, mais discretas) nos sítios mais antigos (mata nativa e campo nativo) do que na plantação de *Pinus*.

1.7. Por que *Araucaria angustifolia*?

O foco na descrição dos ambientes de ocorrência da *A. angustifolia* (conhecida também como pinheiro brasileiro ou, simplesmente, araucária), deve-se à importância ecológica e econômica que ela tem nas regiões onde ocorre, principalmente no sul do Brasil (Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). A espécie tipicamente ocorre na floresta ombrófila mista (IBGE, 1986) em altas altitudes sendo um componente dominante do dossel. Suas sementes são uma importante fonte de alimento para fauna e a sua madeira, de alto valor comercial, levou a uma exploração intensiva da espécie que reduziu drasticamente suas populações (Mattos, 1972; Reitz *et al.*, 1988). Atualmente, a espécie é classificada como vulnerável pela IUCN (2004). Existe um verdadeiro “vazio bibliográfico” com relação à nutrição nitrogenada da espécie. Simões *et al.* (1979) realizaram experimento testando as respostas da planta a teores crescentes de alumínio em solução nutritiva. Somente Simões (1973) realizou um experimento de nutrição

mineral com a espécie, com o objetivo específico de avaliar o desempenho dela frente à ausência de nutrientes. Seus resultados colocam a deficiência de nitrogênio como a mais limitante para o crescimento da planta. Em estudo recente, Duarte & Dillenburg (2000) sugeriram que a taxa de assimilação de nitrogênio pela espécie, sob altas irradiâncias, não seria alta o suficiente para igualar o alto grau de assimilação de carbono nestas condições. A atividade nitrato redutase em plantas de *A. angustifolia* mostrou-se presente nas raízes e muito baixa, ou mesmo não mensurável, nas folhas. Estes dados, segundo os autores, sugerem que haja preferência da espécie por amônio. O uso de *A. angustifolia*, seja para fins de conservação ou reflorestamento, exige que sejamos capazes de compreender não só os requerimentos fisiológicos da espécie, como também que ambiente seus indivíduos podem encontrar no estado natural.

2. Respostas fisiológicas de *Araucaria angustifolia* a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico ²

² Artigo a ser submetido para *Trees - Structure and Function*.

Respostas fisiológicas de *Araucaria angustifolia* a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico

Mário Luís Garbin¹ & Lúcia Rebello Dillenburg^{2*}

(1) Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

(2) Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

* Autora para correspondência. E-mail: lucia.dillenburg@ufrgs.br, tel.: 55-51-3316-7644, fax: 55-51-3316-7670.

RESUMO

A despeito da importância ecológica e econômica da *A. angustifolia* e da reconhecida importância do nitrogênio, existem poucos estudos que caracterizam as relações desse nutriente com a espécie. O presente trabalho visou caracterizar a preferência de plantas da espécie a diferentes formas de nitrogênio inorgânico. Os resultados encontrados (principalmente, maior crescimento) demonstram que a espécie tem preferência por amônio como fonte de nitrogênio. Nitrato, quando fornecido sozinho, induziu sintomas de deficiência de nitrogênio: maior razão raiz:parte aérea, maior ramificação radicular, maior massa foliar por área e engrossamento dos ápices caulinares e, ainda, menor quantidade de clorofilas por massa em folhas jovens. A nutrição à base de nitrato também afetou a distribuição de nitrogênio no corpo da planta: folhas jovens acumularam menos nitrogênio e apresentaram uma maior razão C:N. Aparentemente, o nitrato é um importante fator a regular a partição de C e N entre diferentes partes da planta. A atividade nitrato redutase (ANR) segue um padrão de

partição raiz:parte aérea esperado para coníferas de clima temperado. Entretanto, a presença de ANR mesmo sob nutrição de NH_4^+ sozinho indica que a planta pode apresentar níveis constitutivos de atividade da enzima, ou que quantidades baixas de NO_3^- (formado pela possível contaminação dos meios de cultivo) podem induzir a ANR foliar. Ambientes que diferem da forma preferencialmente absorvida podem limitar o desenvolvimento da espécie, e em reflorestamentos deve ser assegurado o amônio como forma de N predominante.

Palavras-chave: amônio, nitrato, razão carbono:nitrogênio, Araucariaceae, nitrato redutase.

INTRODUÇÃO

A *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, ou pinheiro brasileiro ou ainda, por simplicidade, araucária, é uma gimnosperma da família Araucariaceae e tem sua distribuição restrita ao sudeste da América do Sul (Kershaw & Wagstaff 2001; Reitz *et al.*, 1988). A espécie tipicamente ocorre na floresta ombrófila mista (IBGE, 1986) em altas altitudes sendo um componente dominante do dossel e tendo grande importância ecológica e econômica para os principais estados brasileiros onde ocorre: Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Suas sementes, ricas em amido, são muito utilizadas pela fauna e sua madeira, de qualidade superior, foi explorada quase ao limite, principalmente na primeira metade do século XX, o que praticamente esgotou as reservas da espécie do país (Mattos 1972; Reitz *et al.*, 1988). Atualmente, a espécie é classificada como vulnerável pela IUCN (2004). Como alternativas de reflorestamento, foram introduzidas espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* de crescimento mais rápido, porém com madeira de qualidade inferior. Visando projetos de reflorestamento e uma melhor compreensão do desempenho da espécie em solos onde ela tem a sua distribuição atual torna-se central a compreensão da nutrição nitrogenada da espécie.

Sabe-se muito pouco sobre a nutrição nitrogenada e o metabolismo do N em espécies arbóreas tropicais e subtropicais. Apesar da importância do nitrogênio para a *A. angustifolia* (Simões 1973), existem poucos estudos que caracterizam as relações desse nutriente com ela. Duarte e Dillenburg (2000) quantificaram a atividade nitrato redutase em plantas de *A. angustifolia* a qual se mostrou presente nas raízes e muito baixa, ou mesmo não mensurável, nas folhas. Estes dados, segundo os autores, sugerem que haja preferência da espécie por amônio. Mais recentemente, Franco *et al.* (2005) quantificaram carbono (C) e nitrogênio (N) em folhas, raízes e caules de indivíduos adultos e jovens da espécie. Entre outras conclusões, ficou evidente que as raízes desempenham um papel importante em armazenar C e N, principalmente nos indivíduos jovens.

Nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) são as principais formas de nitrogênio inorgânico captadas pelas plantas, compreendendo cerca de 70% do total de cátions e ânions absorvidos (van Beusichem *et al.*, 1988). As plantas podem apresentar variação na forma de nitrogênio preferencialmente utilizada. A forma de N preferida por uma árvore não é, necessariamente, a forma mais facilmente absorvida (Arnold & van Diest, 1991), sendo que muitos trabalhos priorizam o acúmulo de biomassa como principal medida de preferência por diferentes formas de nitrogênio inorgânico (Gigon & Rorison, 1972; Rorison, 1985; Falkengren-Grerup & Lakenborg-Kristensen, 1994; Olsson & Falkengren-Grerup, 2000). De fato, plantas que crescem melhor com nitrato, podem captar muito mais amônio que as plantas que preferem esta forma (Kronzucker *et al.*, 2003). Sucessionalmente, a eficiência no uso de cada forma de nitrogênio pode guardar relação com a forma predominante nos solos onde uma espécie ocorre em maior frequência: amônio em ambientes tardios e nitrato em iniciais. Também, o insucesso de plantações de coníferas sucessionalmente tardias (com preferência por amônio) em climas temperados pode estar fortemente relacionado com distúrbios nos sítios de plantio que favorecem a presença de nitrato como forma predominante nesses sítios (Kronzucker *et al.*, 1997). Isto se deve à redução na capacidade competitiva das plantas em solos

desfavoráveis às mesmas, uma vez assumido que as árvores se tornaram adaptadas às formas de nitrogênio presentes em seus ambientes nativos (Kronzucker *et al.*, 2003).

Os metabolismos de carbono e nitrogênio são interligados. O fluxo de carbono deve ser direcionado para a síntese de açúcares ou amido ou para formação de ácidos orgânicos para formação de aminoácidos (Tischner, 2000). O crescimento de uma planta está correlacionado fortemente com o seu *status* de nitrogênio (*e.g.* Ingestad, 1979). O *status* nutricional de uma planta pode afetar fortemente o padrão de alocação de recursos na mesma (Friend *et al.*, 1990; Ingestad & Ågren, 1991; Marschner, 1995; Lambers *et al.*, 1998). Assim, a disponibilidade de N afeta a razão raiz:parte aérea, assim como a alocação de carbono e nitrogênio entre esses dois componentes da planta (Pregtzer *et al.*, 1990; Hilbert, 1990; Lambers *et al.*, 1998). Medidas relativas às quantidades presentes de N nos tecidos da planta podem ser bastante úteis na interpretação dos efeitos da nutrição diferenciada de nitrato e amônio. Também, a interação entre os metabolismos de carbono e de nitrogênio e diversos fatores ambientais (como temperatura, água e poluentes) têm influência sobre a ANR (Tischner, 2000). A ANR por unidade de massa foliar é, freqüentemente, muito baixa em Gimnospermas sob condições naturais, porém aumenta quando nitrato é ofertado a 5 mM (Smirnoff *et al.*, 1984). Segundo Andrews (1986), a ANR deve ser avaliada tanto em folhas quanto em raízes, uma vez que a atividade pode estar particionada na planta em diferentes proporções, sendo a medida foliar pouco informativa sozinha.

Saber quais são as preferências nutricionais de uma espécie é fundamental para o entendimento do comportamento da mesma. O uso de *A. angustifolia*, seja para fins de conservação ou de reflorestamento, exige que sejamos capazes de compreender os requerimentos fisiológicos da espécie. Assim, o objetivo do presente estudo é comparar as respostas fisiológicas de plantas do pinheiro brasileiro ao fornecimento individual e combinado destas duas diferentes fontes de nitrogênio inorgânico: N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺. Para tal é postulado que o amônio é a forma de nitrogênio que propicia o desenvolvimento mais adequado de plantas de *A. angustifolia*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sistema de cultivo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sem controle de umidade e temperatura, no Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande Sul, Porto Alegre, Brasil. Diásporos (pinhões), adquiridos comercialmente na cidade de São Francisco de Paula (RS, Brasil), foram desinfestados com hipoclorito de sódio (NaClO) 2,5 % por 30 min e lavados com água destilada. O terço superior da semente teve seu tegumento removido para acelerar o processo de germinação (Áquila e Ferreira, 1984). Este se procedeu em bandeja contendo vermiculita autoclavada (120 °C por 1 h). Após 10 dias, as sementes germinadas (comprimento de radícula: 6 cm \pm 0,58 cm; média \pm DP) foram transplantadas para potes plásticos de PVC (*polyvinyl chloride*) de 45 cm de altura e 10 cm de diâmetro (aproximadamente 3,5 L) com drenos. Como substrato de cultivo, foi utilizada areia comercial (constituída de areia fina 36 %, areia média 64%, outros \leq 1%; análise realizada pelo Laboratório de Análises de Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul) lavada em água destilada e em solução ácida (solução de HCl, pH 2,8) e em água destilada novamente. Cada pote continha 3,8 kg desta areia. Culturas em areia e em solos têm sido utilizadas com sucesso para o tipo de estudo em questão (Driessche, 1971; Motosugi *et al.*, 1995; Pereira *et al.*, 1996; Norton & Firestone, 1996). Um solo arenoso, apesar de sua baixa fertilidade, pode produzir melhores condições de crescimento para a planta em vasos do que um solo contendo argila, que possui diâmetros de poros menores e menor aeração na capacidade do vaso (Paul & Lee 1976 *apud* Hershey 1990). Além disso, no uso de cultivos em areia, a adsorção de NH_4^+ em colóides do solo pode ser evitada (Arnold & van Diest 1991). Da mesma forma, contaminação por agentes nitrificantes pode ocorrer, em maior ou menor grau, em qualquer sistema de cultivo (Padgett & Leonard, 1993).

Foram estabelecidos três tratamentos com quinze repetições cada: solução contendo ambas as formas de nitrogênio, N- NO_3^- e N- NH_4^+ (tratamento nitrato + amônio); solução contendo somente N- NO_3^- (tratamento nitrato); e solução contendo

somente N-NH₄⁺ (tratamento amônio). Uma unidade experimental do tratamento nitrato foi perdida, do que resultou na condução do experimento com número desigual de replicações. Foram utilizadas três diferentes soluções nutritivas, modificadas a partir da solução de Hoagland & Arnon (Epstein, 1975; Taiz & Zeiger, 2004) para atender aos objetivos do trabalho (tabela 2.1). A solução nutritiva de Hoagland mostrou-se eficiente para o crescimento de *A. angustifolia* nos trabalhos de Simões *et al.* (1979) e Simões (1973), apesar de no primeiro não ter sido administrado o íon amônio. No presente estudo, em função da alteração das fontes de nitrogênio, houve um desbalanço de potássio e cloro entre os três tratamentos. Variações destes elementos são tidas como bastante toleráveis (Humberto Bohnen, comunicação pessoal). O cloro, apesar de estar na lista dos micronutrientes, é encontrado em altas concentrações nos tecidos vegetais, o que demonstra que ele não é tóxico nestas concentrações (Malavolta, 1997). O potássio deve ser mantido em concentrações altas para evitar quaisquer efeitos por competição com NH₄⁺ (Britto & Kronzucker, 2002).

No período entre o transplante e a primeira aplicação das soluções foram realizadas regas semanais com 400 mL de água destilada por vaso. As soluções nutritivas foram administradas semanalmente, sendo a primeira aplicação realizada 54 dias após o transplante. Todas as aplicações foram realizadas na superfície do substrato e permitidas a escorrer pelos drenos dos potes. Foram aplicados 750 mL (capacidade de vaso estimada) de solução nutritiva a cada 15 dias, sendo o pH das soluções ajustado para 5,1. Antes de cada uma destas aplicações, o substrato de cultivo nos vasos foi lavado adicionando-se à sua superfície 400 mL de água destilada. Isto objetivou minimizar a acumulação de sais bem como possíveis efeitos de nitrificação nos tratamentos que receberam amônio. As demais aplicações foram de 100 mL de solução no inverno e de 250 mL no verão, sendo suficientes para completar o volume residual nos potes à capacidade de vaso estimada. O período de cultivo foi de 290 dias a partir da data de transplante. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados (cinco).

Medidas de crescimento

A partir da primeira aplicação das soluções nutritivas, foram realizadas medidas semanais das alturas das plantas e do comprimento total da parte aérea (altura somada às ramificações laterais). Ao final do experimento, foram avaliados o acúmulo de biomassa (total, parte aérea e raiz principal e lateral), diâmetros caulinares apicais e basais e comprimento da raiz principal. Foram quantificados os números de raízes de primeira e segunda ordens por unidade de comprimento de raiz principal, o número de raízes de segunda ordem pelo comprimento das de primeira ordem e, ainda, o comprimento das raízes de primeira ordem pelo comprimento da raiz principal. As estruturas de raízes e partes aéreas foram secas em estufa a 50 °C. Foram medidas as áreas foliares de 20 folhas maduras de cada tratamento para determinação da massa foliar por área (MFA), usando um medidor de área foliar portátil (LI-3000, LI-COR, Inc., Lincoln, Nebraska).

Conteúdo de clorofilas

O conteúdo de clorofilas (*a*, *b* e total) foi determinado ao final do experimento, somente em folhas presentes nos ápices caulinares. Foi utilizada uma amostra de 20 folhas para o tratamento nitrato e de nove folhas para os demais tratamentos. A diferença se deve ao fato de que as folhas das plantas do tratamento nitrato eram menores e estavam visualmente mais cloróticas que as dos demais tratamentos. As folhas foram submetidas à extração em etanol 100% (Knudson *et al.*, 1977) e as leituras de absorbâncias dos extratos feitas em espectrofotômetro (Cintra 5 GBC UV-VIS, Victoria, Austrália) a 649 e 665 nm. A concentração foi obtida através das equações fornecidas em Winternans & DeMots (1965) e o conteúdo expresso por massa foliar.

Atividade nitrato redutase

A atividade nitrato redutase *in vivo* foi quantificada ao final do experimento (dois dias após a última aplicação de solução nutritiva) seguindo o método descrito em Klumpp *et al.* (1989) pela quantidade de nitrito produzido pela redução de nitrato. De cada planta foi retirada uma amostra de 0,4 g de extremidades de raízes e outra amostra de 0,4 g de folhas maduras. O material foi picado (até 1 mm de comprimento) e colocado em tubos

de ensaio com 5 mL de solução tampão fosfato de Sörensen (pH 7,5, KNO₃ 0,1 M, Isopropanol 1%). Em seguida os tubos foram colocados em uma câmara de vácuo (VT 5042 EK, Heraeus, Co., Hanau, Hessen, Germany) por 2 horas a temperatura de 27 °C. Após este período foi retirada uma alíquota de 1 mL da solução sendo o restante colocado novamente na câmara de vácuo para mais 1 hora de incubação, após a qual outra alíquota de 1 mL foi retirada. A cada alíquota foram adicionados 1 mL de sulfonilamida (1% em HCl 1N) e 1 mL de *N*-(1-naphtyl)etilenodiamina dihidroclorida 0,01%. As absorbâncias foram lidas após 30 minutos em espectrofotômetro (SQ300, Merck) a 540 nm.

Medidas de carbono e nitrogênio

Os teores de carbono e nitrogênio foliares foram quantificados em folhas maduras (5), presentes na parte mediana de ramos do segundo verticilo (de cima para baixo), e em folhas presentes nos ápices caulinares de ramos jovens (50 g). Também quantificaram-se carbono e nitrogênio nas raízes laterais utilizando-se todo o volume de raízes laterais presentes. As amostras foram secas em estufa, moídas e homogeneizadas. As análises foram realizadas pelo Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em um analisador CHN Perkin-Elmer 2400.

Análise estatística

A análise estatística dos dados baseou-se em análise de variância via testes de aleatorização (Pillar & Orlóci, 1996; Pillar, 1999), utilizando o programa estatístico MultivMinor v.2.3.17 (Pillar, 2004). Para todos os dados, foi utilizada a distância euclidiana como medida de dissimilaridade.

RESULTADOS

As plantas submetidas aos tratamentos que receberam amônio apresentaram maior crescimento, tanto em termos de comprimento da parte aérea (Figura 2.1) quanto em acúmulo de biomassa total e de parte aérea (Figura 2.2). As plantas que receberam nitrato tiveram maior acúmulo de massa radicular total, ao passo que não houve diferença entre biomassa de raízes laterais entre os três tratamentos (Figura 2.2). As plantas do

tratamento nitrato apresentaram uma maior razão raiz:parte aérea e uma maior ramificação do sistema radicular (Tabela 2.2). O maior investimento em raiz principal das plantas do tratamento nitrato forçou a menor razão raiz lateral:raiz principal neste tratamento (Tabela 2.2). Este tratamento também apresentou um significativo engrossamento do ápice caulinar, assim como uma maior MFA tanto em folhas maduras quanto em jovens (Tabela 2.2). Embora este efeito tenha ocorrido para folhas jovens e maduras, foi mais pronunciado nas jovens, a ponto destas atingirem maior MFA que as folhas maduras ($P = 0,001$) no tratamento nitrato (Tabela 2.2). Também, as plantas do tratamento nitrato, apresentaram sinais de clorose nas folhas apicais dos ramos (Tabela 2.3). Elas também acumularam menos C e N nas folhas jovens que as plantas dos demais tratamentos, mas a diferença na concentração de N foi maior, resultando em maior razão C:N das plantas sob cultivo em nitrato. O acúmulo de C e N, assim como a razão C:N nas folhas maduras não diferiram entre os tratamentos. O acúmulo de C nas raízes laterais (Tabela 2.3) não diferiu entre os tratamentos. Porém plantas nutridas somente com amônio apresentaram maiores conteúdos de N e uma menor razão C:N em folhas jovens e raízes laterais em relação às que receberam somente nitrato. Ao contrário das plantas que receberam nitrato (isolado ou combinadamente), as que receberam amônio tiveram concentrações de C e N e razão C:N semelhantes para as diferentes frações medidas (folhas e raízes). Em todos os tratamentos, a ANR foi maior nas raízes do que nas folhas. A ANR radicular foi muito maior nas plantas que receberam apenas nitrato. Nas folhas, as plantas dos tratamentos que receberam amônio apresentaram os maiores níveis de atividade da enzima. Os tratamentos aplicados influenciaram o aspecto geral das plantas de *A. angustifolia*. Plantas do tratamento nitrato apresentaram um acentuado escleromorfismo, com ramos mais eretos e folhas mais rígidas que as plantas dos demais tratamentos (Figura 2.3). As raízes, por sua vez, também apresentaram aspectos bem distintos (Figura 2.4). Uma resposta totalmente inesperada foi a presença de “tumores” nas raízes das plantas (Figuras 2.5 e 2.6). Estes “tumores”, que parecem resultar de expansões do córtex, mostraram-se presentes em maior quantidade no tratamento amônio e tiveram localização restrita aos pontos de inserção das raízes laterais.

DISCUSSÃO

Os resultados indicam que a espécie compartilha, com muitas outras coníferas de clima temperado, a preferência por amônio. A nutrição de *A. angustifolia* somente com nitrato como fonte de N levou ao surgimento de sintomas de deficiência nutricional. Estes sintomas incluem redução geral no crescimento (tanto em comprimento quanto em massa), maior razão raiz:parte aérea, maior ramificação do sistema radicular, clorose, maior razão C:N (em folhas jovens) e maior MFA (efeito muito mais pronunciado nas folhas jovens). As folhas jovens sofreram mais que as folhas maduras com a deficiência de N imposta pela nutrição com NO_3^- . Aparentemente, isto indica que a planta deve ter alguma limitação na translocação de nitrogênio de folhas maduras para as folhas jovens. Muitos desses aspectos sustentam a aparência visual escleromórfica encontrada nas plantas do tratamento nitrato.

As causas da “tumorização” encontrada são desconhecidas. Entretanto, sua maior frequência no tratamento amônio e sua limitação aos pontos de inserção das raízes laterais na principal, sugerem que esteja relacionada com aspectos decorrentes da ausência de nitrato. É possível que esses “tumores” estejam relacionados com a sustentação das raízes laterais, prejudicadas pela falta de estruturas de sustentação lignificadas no tratamento amônio. As causas desse fenômeno devem ser avaliadas em maior detalhe.

As folhas jovens sofreram mais que as folhas maduras com a deficiência de N imposta pela nutrição com NO_3^- . Aparentemente, isto pode significar que a planta deve ter alguma limitação na translocação de nitrogênio de folhas maduras para as folhas jovens. Além disso, pode ser resultado de uma alcalinização do apoplasto devido à possibilidade de o nitrato ser co-transportado para o citoplasma foliar com um próton (Kosegarten *et al.*, 1999). Isto, segundo os autores, levaria a uma depressão na redução de Fe^{3+} com a conseqüente clorose foliar. As folhas jovens estariam mais sujeitas a esta situação por serem sítios importantes na redução de N. Plantas submetidas à nutrição com amônio não estariam sujeitas ao mesmo efeito, pois os aminoácidos produzidos sob nutrição com amônio são neutros, já estando protonados sob as condições de pH

apoplásticas (Wilkinson & Davies, 2002). O quanto a clorose observada em plantas *A. angustifolia* pode se dever a problemas na translocação de N para as folhas jovens ou alterações no pH apoplástico das folhas necessita de estudos mais aprofundados uma vez que, sob condições de campo, a sol pleno, é comum encontrar plantas da espécie com as folhas do apicais visivelmente mais pálidas que as demais.

As doses de nitrogênio aplicadas neste estudo podem ser consideradas altas. O crescimento semelhante das plantas dos dois tratamentos que receberam amônio indica que havia NH_4^+ suficiente no tratamento misto para que as plantas se desenvolvessem adequadamente. Entretanto, o nitrato também é requerido, pois pode estar influenciando o padrão de alocação de C e N entre as diferentes partes da planta avaliadas. Plantas que receberam somente amônio acumularam C e N igualmente entre as partes (folhas jovens, maduras e raízes laterais) das plantas avaliadas. Já as que receberam nitrato tenderam a alocar menos C e N para as raízes, comparada às folhas. O nitrato, além de nutriente, é um importante sinalizador, não só para a própria assimilação, mas também para muitos outros processos celulares como a regulação conjunta de processos associados com o metabolismo do carbono (Crawford, 1995). Os resultados obtidos no tratamento misto indicam que o nitrato tem um papel regulador no crescimento de plantas de *A. angustifolia*. A ausência de diferença de massa de raiz lateral entre os tratamentos e a maior ramificação dos tratamentos que receberam NO_3^- demonstram que a arquitetura da raiz foi muito mais afetada do que a massa fresca total acumulada nesse órgão. Isto é importante, pois a arquitetura radicular desempenha um papel fundamental no acesso da planta a recursos do solo (Fitter, 1994).

Bijlsma *et al.* (2000), baseados em diversos aspectos metabólicos de 276 “espécies” de diversos grupos de plantas, identificaram cinco categorias de respostas destas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. A categoria com maior número de espécies foi aquela correspondente a plantas que respondem positivamente a nitrato, sendo, porém indiferentes ao amônio. Nenhuma espécie avaliada respondeu negativamente a nitrato, com base nos parâmetros metabólicos utilizados no modelo. Aqui, ficou evidente que a *A. angustifolia*, quando sujeita a um longo período (pelo menos em torno de 180 dias) de

nutrição à base de nitrato como única fonte de N inorgânico, pode apresentar sintomas de deficiência nutricional, deficiência esta atestada, principalmente, pelo menor crescimento das plantas. Além disso, não foram constatadas diferenças para os diferentes parâmetros de crescimento (comprimento total de parte aérea e biomassa total e de parte aérea), entre plantas nutridas somente com amônio e plantas nutridas com ambas as formas de nitrogênio. Seria esperado que as plantas do tratamento misto apresentassem maior crescimento, uma vez que, de forma geral, o fornecimento combinado de ambas as formas fornecem as melhores taxas de crescimento (Marschner, 1995). Isto reforça a observação de que o nitrato pode desempenhar um papel mais fortemente regulador do que promotor de crescimento em *A. angustifolia*. Entretanto, a nutrição com amônio pode ter induzido alguma toxidez pelo íon. O tratamento amônio apresentou engrossamento das raízes laterais, evidenciado pela ausência de diferença de biomassa de raízes laterais entre os tratamentos, a despeito da maior ramificação das raízes laterais do tratamento nitrato. O engrossamento de raízes laterais é um sintoma de toxidez por amônio (Britto & Kronzucker, 2002).

O padrão de partição da ANR entre raízes e parte aérea também seguiu o que seria esperado para espécies de clima temperado (Andrews, 1986); entretanto, a relativamente alta atividade foliar nos tratamentos que receberam amônio exige algumas considerações. A presença de atividade nitrato redutase no tratamento amônio demonstra que pode ter havido contaminação do meio cultivo por agentes nitrificantes. Cultivos em areia, utilizando soluções à base de amônio, podem apresentar quantidades substanciais de atividade nitrificadora (Padgett & Leonard, 1993) e mesmo níveis baixos de NO_3^- podem induzir alguma ANR (Tischner, 2000). Apesar da possibilidade de ocorrência de nitrificação não poder ser excluída neste experimento, e ela não foi quantificada, as grandes quantidades de amônio aplicadas (2 e 4 mM L⁻¹) devem ter superado em muitas vezes àquelas de nitrato formadas pela atividade nitrificadora. Além disso, procurou-se evitar o acúmulo de nitrato nos potes pela lavagem quinzenal do meio de cultivo. Mesmo com uma possível contaminação dos meios que receberam amônio (principalmente, devido à possibilidade de presença de agentes nitrificantes no substrato utilizado), seria

esperado que o tratamento nitrato apresentasse os maiores níveis de atividade dessa enzima, uma vez que as plantas desse tratamento estiveram expostas a maiores concentrações de nitrato (4 mM L^{-1}) utilizada na solução nutritiva. Isto de fato ocorreu com as raízes de *A. angustifolia*, sendo que para as folhas um padrão inverso foi observado. Ensaio *in vivo* com adição de nitrato (como as realizadas neste estudo) utilizam apenas NAD(P)H endógeno como fonte de energia para a atividade enzimática (Andrews 1986; Li & Gresshoff, 1990). Provavelmente, a menor atividade nitrato redutase nas folhas das plantas do tratamento nitrato seja explicada pela falta de energia resultante da deficiência nutricional imposta pela forma de nitrogênio oferecida. Sendo o amônio a forma predominante de nitrogênio utilizada pela planta, a falta deste pode ter resultado em uma carência de proteínas e de clorofilas, gerando menor atividade fotossintética e respiratória e carência de compostos redutores como o NAD(P)H. Inversamente, as plantas saudáveis (submetidas à nutrição com amônio), dispoem de compostos redutores, apresentaram maiores valores de ANR nas folhas em relação ao tratamento nitrato. Os níveis similares de ANR nas folhas nos tratamentos amônio e nitrato + amônio podem indicar níveis constitutivos de atividade da enzima. Entretanto, o método de ensaio utilizado (*in vivo* + nitrato), somado à possibilidade de contaminação dos meios de cultivo, não propicia diferenciar, de forma clara, a atividade induzida pela presença de nitrato na planta daquela que provavelmente ocorre em níveis basais.

As plantas do tratamento nitrato priorizaram a redução do nitrato nas raízes de forma mais acentuada que a dos demais tratamentos. Isto pode se dever à maior disponibilidade de substrato neste tratamento e, como já mencionado, à falta de redutores nas folhas. Induções da atividade nitrato redutase podem ser obtidas com concentrações externas de nitrato em torno de 5 mM (Oaks & Stevens, 1972; Stewart *et al.*, 1992). A partição da ANR entre raízes e folhas é condizente com aquilo que seria esperado de coníferas de ambientes temperados (Andrews 1986), apesar da espécie ocorrer, tipicamente, em ambientes tropicais e subtropicais. Na única avaliação anterior a este trabalho da ANR da espécie (Duarte & Dillenburg, 2000), os níveis medidos foram extremamente baixos nas folhas, sendo estes detectáveis somente nas raízes, sob as

condições de cultivo utilizadas. No mesmo trabalho, o material fresco, folhas e raízes, não foram picados para a mensuração da ANR, o que pôde ter subestimado a ANR uma vez que as folhas da espécie possuem uma cutícula bastante espessa. De toda forma, gimnospermas apresentam, geralmente, níveis de ANR por unidade de peso muito baixos nas folhas sob condições naturais. À medida que nitrato é adicionado em quantidades mais elevadas (próximos de 5 mM L^{-1}), a ANR aumenta nas folhas, aumentando também a importância da participação da parte aérea neste processo (Andrews 1986; Stewart *et al.*, 1992). Assim, as raízes de *A. angustifolia* devem ser os principais sítios de redução do nitrato sob condições naturais, onde ocorrem concentrações muito baixas do íon ($3\text{-}8 \text{ mg kg}^{-1}$ em uma mata nativa; ver capítulo 3). Aqui é apresentada a primeira evidência, embora sob condições experimentais e com concentrações bastante altas de nitrogênio, de ANR em folhas de *A. angustifolia*. Tornam-se necessários estudos mais aprofundados que permitam compreender a variação da atividade nitrato redutase na espécie, seus níveis constitutivos e sob quais condições haveria alterações na partição raiz - parte aérea da ANR. A redução de uma maior proporção de nitrato nas raízes seria uma vantagem em baixas temperaturas (Andrews 1986), assim a presença da espécie estaria limitada em climas mais quentes e alterações climáticas que levassem ao aumento da temperatura favoreceriam plantas tipicamente tropicais, que tendem a assimilar mais nitrogênio na parte aérea (Stewart *et al.*, 1992). Da mesma forma, deve-se dar atenção para as condições de luz no ambiente das plantas. O sombreamento severo (10% da luz total do sol) pode reduzir significativamente a ANR radicular da espécie (Duarte & Dillenburg, 2000). Estudos sobre a anatomia foliar da planta têm demonstrado que a presença de canais ligando a epiderme e a hipoderme ao meio exterior podem estar associados à captação foliar de nutrientes (Carlos F. N. Wildholzer, comunicação pessoal). Isto, associado à presença de atividade NR constitutiva nas folhas, pode indicar que a espécie pode captar e assimilar NO_3^- pelas folhas. Este é um aspecto importante a ser considerado futuramente devido à alta pluviosidade da região de ocorrência da espécie (em torno de 2000 mm anuais, Mota *et al.*, 1970). Franco *et al.* (2005) encontraram níveis baixos de NO_3^- em folhas de *A. angustifolia*, tanto em indivíduos adultos quanto jovens em

condições de campo. Entretanto, sob quais condições esse sistema, aparentemente constitutivo, pode, de fato, reduzir NO_3^- , ainda precisa ser avaliado em detalhe.

Em reflorestamentos com a espécie deve ser dada a devida atenção à necessidade de se manter o amônio como forma predominante de N, ou que se assegure níveis suficientes dessa forma de N para o desenvolvimento adequado da planta. Apesar de ter sido realizada uma quantidade razoável de estudos sobre a relação entre preferência das árvores por determinadas formas de N e a forma predominante em solos de ocorrência dessas árvores em ambientes de clima temperado (*e.g.* Kronzucker *et al.*, 1997; Min *et al.*, 1999; Kronzucker *et al.*, 2003), esse é ainda um aspecto, em grande parte, em aberto para florestas tropicais e subtropicais, e que precisa ser avaliado em maior detalhe futuramente. No capítulo 3, é explorada a predominância de diferentes formas de N e a variação espacial dessas formas em diferentes ambientes de ocorrência da espécie.

Tabela 2.1. Composição e concentração (mM L^{-1}) dos nutrientes utilizados nas soluções nutritivas.

Nutrientes	Tratamentos		
	NO_3^-	NH_4^+	$\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$
N- NO_3^-	4	-	2
N- NH_4^+	-	4	2
P	4	4	4
K	8	4	4
Ca	2	2	2
Mg	1	1	1
S	1	1	1
Cl	4	8	4

Micronutrientes (mg L^{-1}): B (H_3BO_3) 0,541; Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0,032; FeEDTA ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{NaEDTA}$) 65; Mn ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0,11; Mo ($\text{H}_2\text{Mo}_4\text{O}_4$ [85% MoO_3]) 0,048; Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0,131. Demais sais utilizados nas soluções: KNO_3 , CaCl_2 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , KCl e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.

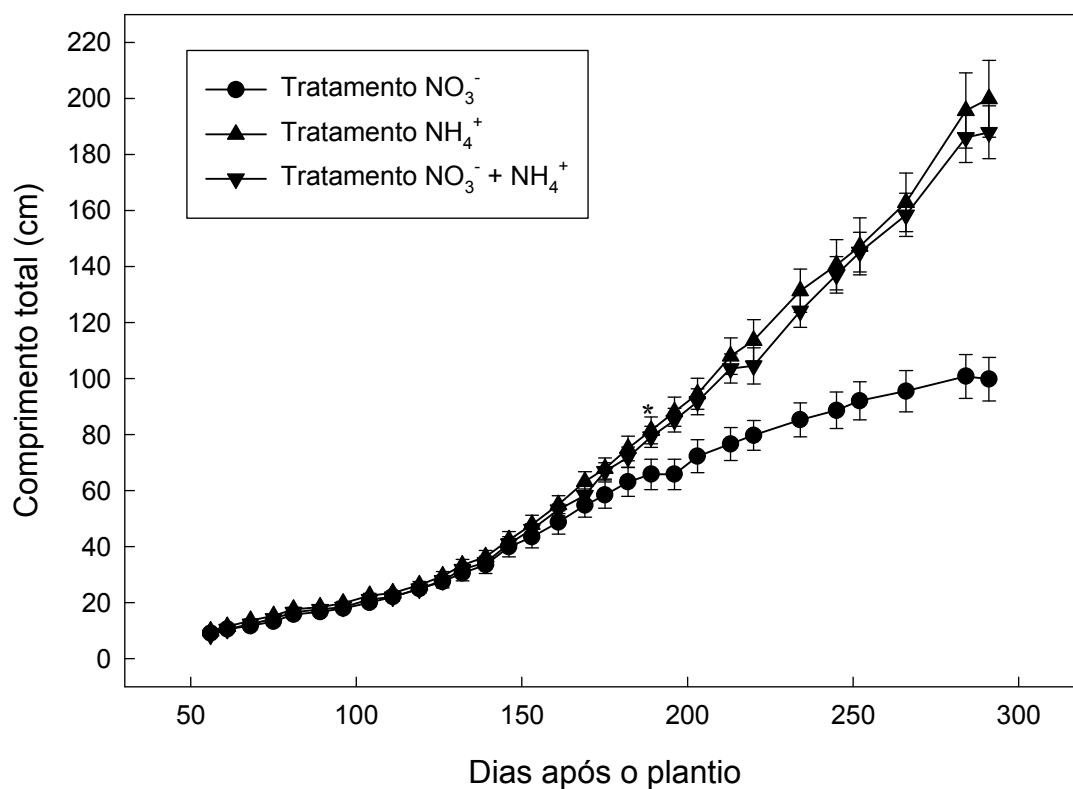


Figura 2.1. Comprimento total da parte aérea (caule + ramos) de plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. Valores são médias \pm erro padrão; $n = 15$ para tratamentos NH_4^+ e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$, $n = 14$ para tratamento NO_3^- . (*) diferenças significativas entre tratamentos a partir deste ponto ($P \leq 0,05$).

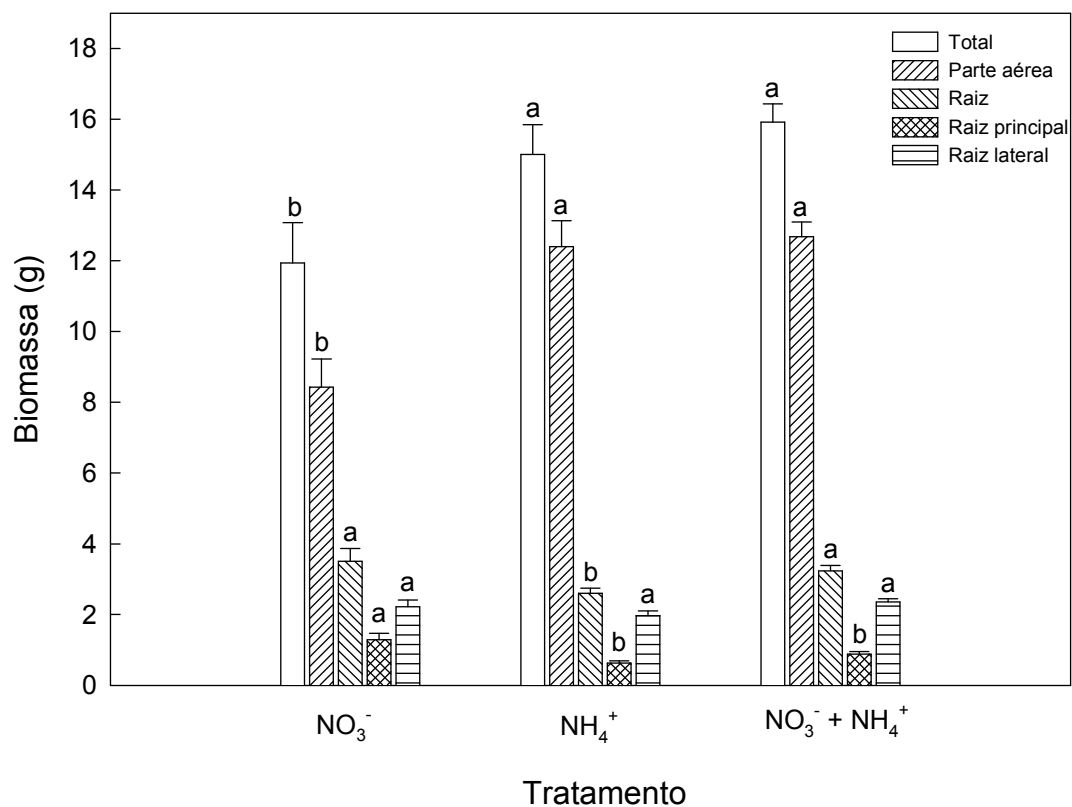


Figura 2.2. Acúmulo de biomassa em plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico ao final do experimento. Barras verticais são médias acompanhadas do erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,001$ para biomassa da parte aérea; $P \leq 0,05$ para os demais parâmetros).

Tabela 2.2. Parâmetros de crescimento em plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico.

Parâmetro	Tratamentos		
	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺
Raiz:Parte aérea (g g ⁻¹)	0,46±0,02 a	0,21±0,01 b	0,26±0,01 b
Raiz lateral:Raiz principal (g g ⁻¹)	1,99±0,19 b	3,64±0,51 a	2,91±0,24 ab
N1:CRP (n° cm ⁻¹)	1,51±0,11 a	1,18±0,07 b	1,26±0,06 ab
N2:C1 (n° cm ⁻¹)	0,33±0,06 a	0,10±0,03 b	0,17±0,03 b
C1:CRP (cm cm ⁻¹)	9,36±0,86 a	6,69±0,66 b	7,45±0,39 ab
Diâmetro caulinar apical (mm)	6,90±0,35 a	4,49±0,15 b	5,24±0,23 b
Diâmetro caulinar basal (mm)	6,31±0,22 a	6,47±0,13 a	6,48±0,13 a
MFA folhas maduras (g m ⁻²)	102,60±2,68 aB	90,78±1,88 bA	92,12±1,45 bA
MFA folhas jovens (g m ⁻²)	120,90±4,48 aA	63,30±4,84 cB	82,63±2,74 bB

N1, número total de raízes de primeira ordem; CRP, comprimento de raiz principal; N2, número total de raízes de segunda ordem; C1, comprimento total de raízes de primeira ordem; MFA, massa foliar por área. Valores são médias seguidas do erro padrão ($n = 14$ para tratamento NO₃⁻, 15 para NH₄⁺ e NO₃⁻ + NH₄⁺; para N1, N2, CRP e C1 $n = 10$ para NO₃⁻, 11 para NH₄⁺ e NO₃⁻ + NH₄⁺; para MFA folhas jovens, $n = 11$ para NO₃⁻, 13 para NH₄⁺ e 15 para NO₃⁻ + NH₄⁺). Médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas não diferem significativamente $P \leq 0,05$ ($P < 0,001$ para razão raiz:parte aérea). Para MFA, médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem significativamente ($P \leq 0,003$).

Tabela 2.3. Conteúdo de clorofilas, carbono, nitrogênio e atividade nitrato redutase em plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico.

Parâmetro	Tratamentos		
	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺
Clorofilas (mg g⁻¹) folhas jovens			
a	1,78±0,11 b	3,29±0,18 a	2,34±0,26 b
b	0,76±0,11 b	1,17±0,07 a	0,91±0,12 ab
total	2,54±0,20 b	4,46±0,22 a	3,25±0,37 ab
Razão a:b	2,75±0,31 a	2,88±0,18 a	2,65±0,18 a
Carbono (%)			
Folhas maduras	45,15±0,17 aA	45,92±0,34 aA	45,28±0,39 aA
Folhas jovens	43,77±0,26 bAB	45,70±0,18 aA	45,22±0,20 aA
Raízes laterais	40,67±1,65 aB	42,84±1,82 aA	40,71±1,35 aB
Nitrogênio (%)			
Folhas maduras	2,46±0,09 aA	2,47±0,23 aA	2,32±0,10 aA
Folhas jovens	1,79±0,08 bB	2,52±0,07 aA	2,21±0,15 abA
Raízes laterais	1,48±0,11 bB	2,60±0,21 aA	1,52±0,09 bB
Razão C:N (%)			
Folhas maduras	18,48±0,78 aB	19,04±1,67 aA	19,67±1,01 aB
Folhas jovens	24,69±1,25 aAB	18,16±0,56 bA	20,78±1,39 bB
Raízes laterais	28,26±3,65 aA	16,68±0,87 bA	27,05±1,43 aA
ANR (nmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹)			
Folhas	6,41±1,52 bB	22,29±5,61 aB	18,06±3,17 aB
Raízes	169,36±26,39 aA	91,82±13,82 bA	117,18±27,48 bA

ANR, atividade nitrato redutase. Valores são médias seguidas do erro padrão. $n = 14$ para tratamento NO₃⁻, 15 para NH₄⁺ e NO₃⁻ + NH₄⁺; para conteúdo de clorofilas e ANR; $n = 4$, para C, N e C:N em folhas jovens e raízes laterais nos três tratamentos; nas folhas maduras, $n = 5$ para tratamentos NH₄⁺ e NO₃⁻ + NH₄⁺, $n = 4$, para tratamento NO₃⁻. Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente ($P \leq 0,05$). Razão C:N nas folhas jovens, grupos diferem para $P = 0,015$. ANR, grupos diferem $P = 0,08$. Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas colunas dentro de cada variável não diferem significativamente ($P \leq 0,05$).

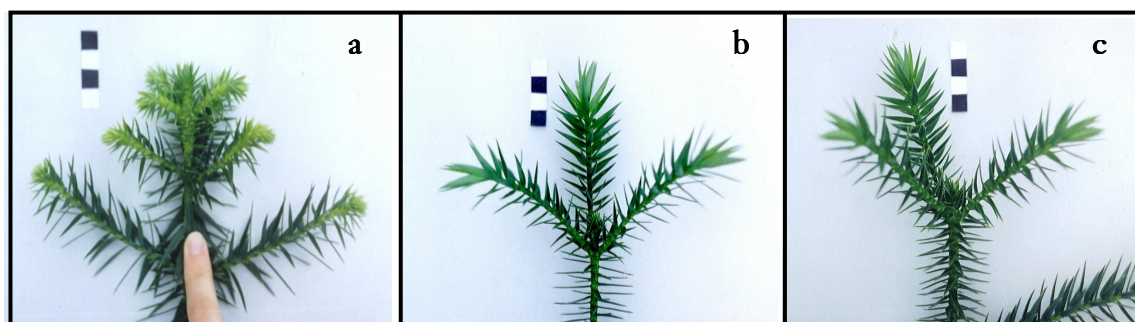


Figura 2.3. Aspecto geral do ápice caulinar de plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. (a) nitrato, (b) amônio e (c) nitrato + amônio. Observa-se no tratamento nitrato o maior engrossamento do ápice caulinar e ainda a clorose das folhas jovens. Escala: 4 cm.

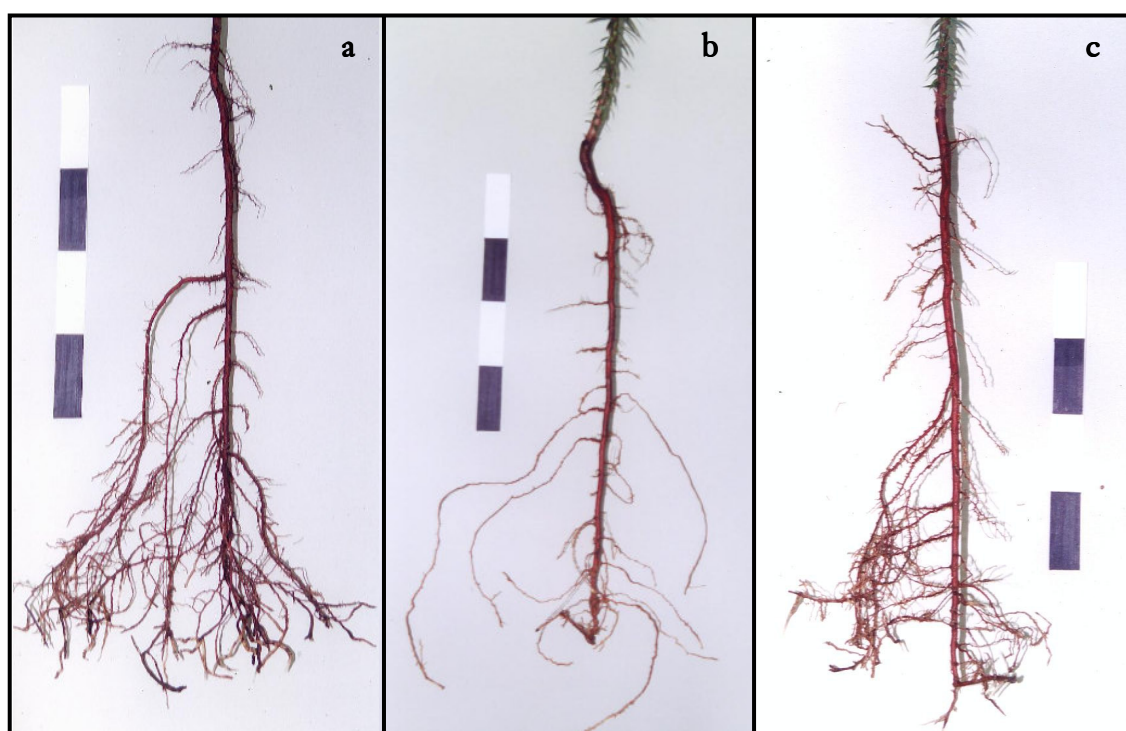


Figura 2.4. Aspecto geral de raízes de plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico. (a) nitrato, (b) amônio e (c) nitrato + amônio. Observa-se nas plantas do tratamento nitrato a maior ramificação do sistema radicular. Escala: 20 cm.

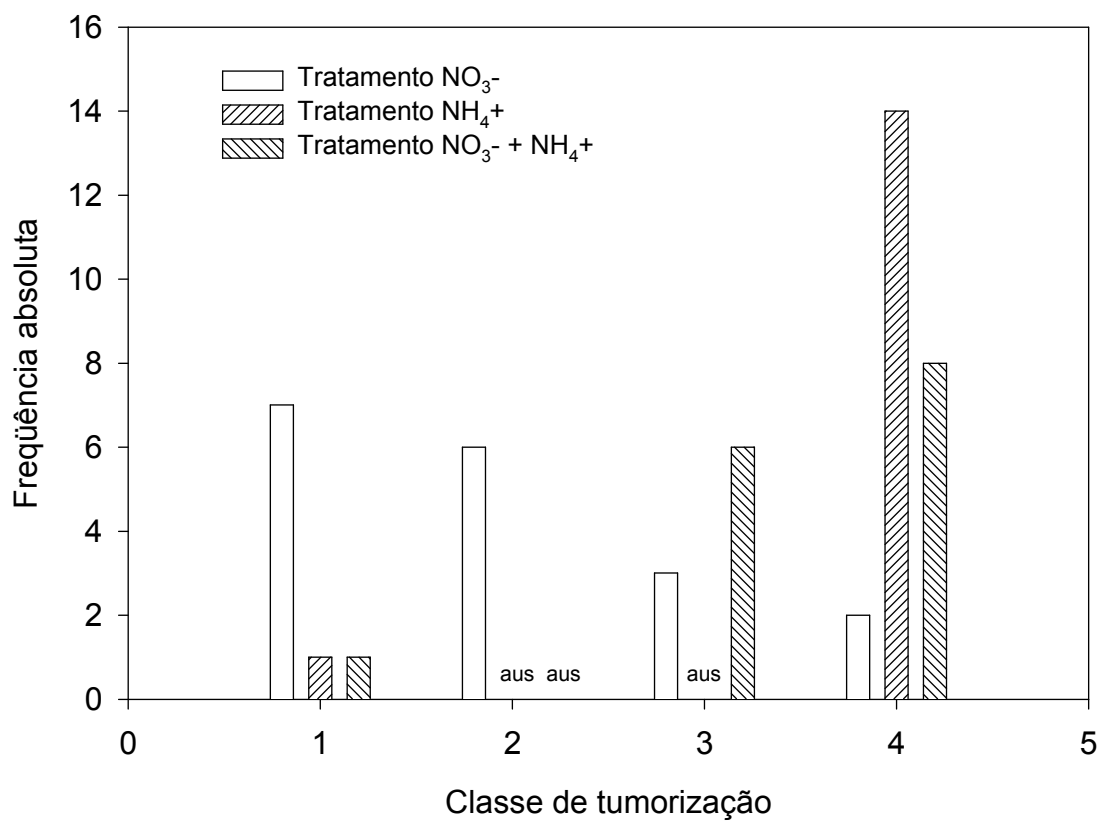


Figura 2.5. Grau de “tumorização” em plantas de *A. angustifolia* submetidas a diferentes fontes de nitrogênio inorgânico, indicado pelas classes: 1- ausência total; 2- um ou dois; 3- três a dez; 4- mais de dez.

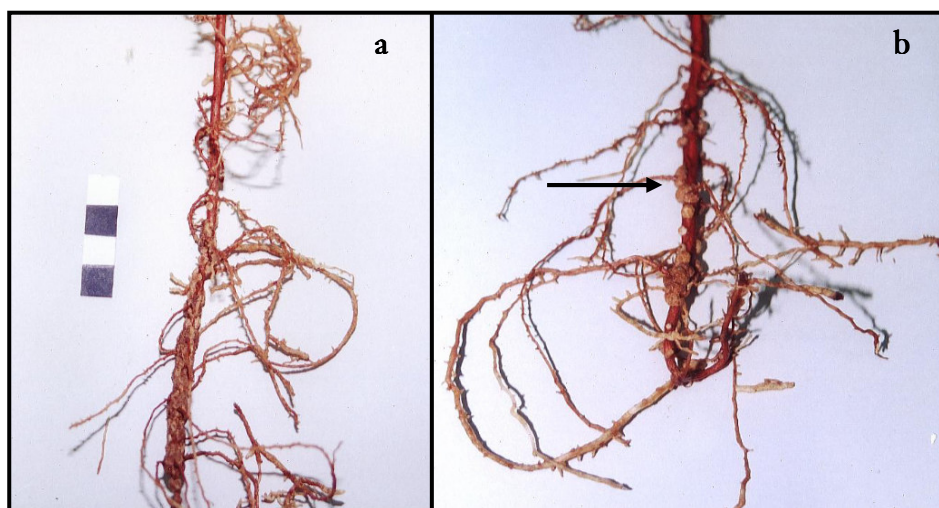


Figura 2.6. Aspecto geral dos “tumores” observados nas raízes de plantas de *A. angustifolia* no tratamento amônio. (a) aspecto geral, (b) detalhe de uma região da raiz com tumores. Escala: 4 cm.

3. Variação temporal da distribuição espacial de nitrogênio inorgânico em três sítios de ocorrência de *Araucaria angustifolia*, Brasil ³

³ Artigo a ser submetido para *Journal of Ecology*.

Varição temporal da distribuição espacial de nitrogênio inorgânico em três sítios de ocorrência de *Araucaria angustifolia*, Brasil

Mário Luís Garbin¹, Roberta Boscaini Zandavalli² & Lúcia Rebello Dillenburg^{3*}

(1) Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

(2) e (3) Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio grande do Sul.
Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

* Autora para correspondência. E-mail: lucia.dillenburg@ufrgs.br, tel.: 55-51-3316-7644, fax: 55-51-3316-7670.

Headline: Variação espacial de N em solos com *A. angustifolia*

SUMÁRIO

1 Descrever o ambiente de manchas ao qual uma planta está sujeita é central para a compreensão de seu comportamento. Aqui, é descrita a estrutura da variação espacial de nitrogênio inorgânico em três sítios de ocorrência de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no Brasil subtropical: uma área de mata nativa (Mata), um campo nativo (Campo) e uma plantação de *Pinus elliottii* Elgem. (*Pinus*).

2 Foram utilizadas ferramentas geoestatísticas, semivariogramas e krigeagem, para descrição da variação espacial de NH_4^+ , NO_3^- e $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$, em dois períodos do ano, verão e inverno.

3 NH_4^+ não foi a forma de N predominante no ambiente tido como climácico (mata nativa) em ambos os períodos do ano. O tamanho de mancha foi maior no Campo tanto no verão (4,35-4,68 m ou 9,76 m se for considerada a anisotropia) quanto no

inverno (5,89 m) em relação à Mata (2,75-3,95 m no verão) e ao *Pinus* (2,30 m no verão), quando considerados os modelos esféricos. No inverno, a exceção foi NO_3^- no *Pinus*, que apresentou uma amplitude de 6,69 m. No verão, NO_3^- e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ no *Pinus* exibiram um padrão de “pepita pura”. No inverno, na Mata, somente foi possível o ajuste de modelos lineares, sendo verificado um padrão de “pepita pura” para nitrato neste sítio e amônio no *Pinus*. Para as demais variáveis nos sítios foi possível somente o ajuste de modelos lineares. O contraste das manchas foi maior no Campo ($C/C_0 \geq 0,42$), tanto no verão quanto no inverno. Este índice foi comparativamente alto também para NH_4^+ na Mata no verão (0,38). O Campo exibiu dependência em múltiplas escalas e direcionamento da variação (anisotropia).

4 A heterogeneidade identificada poderá influenciar de forma diferenciada sobre a vegetação presente nos três sítios. No verão, para uma planta de pinheiro brasileiro (que tem preferência por NH_4^+), a Mata exige uma maior plasticidade para acessar recursos que estão distribuídos de forma mais heterogênea. O *Pinus* e o Campo, além de terem mais amônio que a Mata são mais homogêneos que ela e podem dessa forma ser um local mais favorável, do ponto de vista da nutrição com NH_4^+ , para o estabelecimento de plantas. O inverno impõe um cenário bastante diferente. O aumento significativo das quantidades totais de N inorgânico e a perda do padrão de espacialização (à exceção do Campo) tornam os sítios, teoricamente, menos hostis ao desenvolvimento de plantas.

Palavras-chave: amônio, análise de semivariância, *Araucaria angustifolia*, geoestatística, heterogeneidade espacial, krigeagem, nitrato, pinheiro brasileiro, semivariograma, solos subtropicais.

INTRODUÇÃO

Difícilmente, a compreensão das preferências nutricionais de uma espécie, por si só, pode ser suficiente na descrição do comportamento dela. Em muitos casos, é

necessária uma boa descrição do ambiente natural ao qual as suas plantas estão sujeitas. O crescimento de uma planta deve estar associado ao ambiente de manchas no qual a espécie vive (Farley & Fitter, 1999). Em outras palavras, saber quais são as preferências nutricionais de uma espécie e que tipo de ambiente suas plantas encontram é central para o entendimento do comportamento dessa espécie.

Em se tratando de nutrição de plantas, o nitrogênio pode ser considerado como o macronutriente mais estudado (Gutschick, 1981). Isto se deve a ser ele um dos mais importantes fatores que limitam o rendimento de cultivos (Rosswall, 1982) e ter forte influência sobre a produtividade, o armazenamento de carbono e a composição de espécies de muitos ecossistemas (Vitousek *et al.*, 1997). Soma-se a isto, a constatação de que a fixação industrial de nitrogênio dada pelas atividades humanas tem aumentado de forma substancial, e hoje supera a fixação de ambientes naturais (Rosswall, 1982; Vitousek, 1994; Vitousek *et al.*, 1997). Isto torna central a necessidade de compreensão das conseqüências que essas alterações podem ter sobre as plantas e, num primeiro momento, torna necessário o entendimento das relações que as diferentes formas de nitrogênio têm com as plantas e seu meio, o solo. As principais formas de nitrogênio utilizadas pelas plantas são o nitrato e o amônio. Apesar de algumas serem capazes de absorver formas orgânicas de nitrogênio, a abrangência desse fenômeno ainda precisa ser avaliada em maior detalhe (Näsholm *et al.*, 2000). Podem ser contabilizados em cinco os principais fatores que controlam as formas predominantes de nitrogênio inorgânico em solos: pH, temperatura, oxigenação, compostos alelopáticos (baseados em fenólicos), e relação C:N (Rice & Pancholy, 1973; Rosswall, 1982; Salsac *et al.*, 1987; Arnold & van Diest, 1991; McBride, 1994; Yu *et al.*, 1999; Hodge *et al.*, 2000; De Boer & Kowalchuck, 2001; Laverman *et al.*, 2002). Entretanto, as quantidades de nutrientes num dado local são o resultado líquido de muitos processos que competem entre si, o que torna impossível uma predição acurada dessas quantidades (Stark, 1994).

Dessa forma, nutrientes no solo podem não estar distribuídos de forma homogênea (*e.g.* Robertson *et al.*, 1988; Gross *et al.*, 1995; Jackson & Caldwell, 1993a; Jackson & Caldwell, 1993b; Farley & Fitter, 1999). As interações entre as plantas podem

variar, dependendo se as condições são homogêneas ou heterogêneas (*e.g.* Eissenstat & Caldwell, 1988; Jackson & Caldwell, 1989; Miller *et al.*, 1995). Tanto tamanho quanto qualidade da mancha podem influenciar as respostas das plantas (Hutchings *et al.*, 2003). Assim, a variação espacial de recursos do solo em escalas pequenas (dez metros ou menos) pode afetar a distribuição e abundância local de organismos e o desempenho individual destes (Jackson & Caldwell, 1993a; Robertson & Gross, 1994). Isto tem conseqüências ecofisiológicas importantes uma vez que variações na concentração externa e na forma predominante de nitrogênio inorgânico podem ter influência significativa sobre a captação, assimilação, translocação e estocagem desse nutriente no corpo da planta (*e.g.* Smirnoff & Stewart, 1985; Andrews, 1986; Kronzucker *et al.*, 1997; Min *et al.*, 1999; Tischner, 2000; Glass *et al.*, 2002). Isso se reflete na possibilidade de uma maior proliferação de raízes e no acúmulo diferencial de massa pelas plantas em manchas mais ricas em nutrientes (Drew, 1975; Friend *et al.*, 1990; Fitter, 1994; Hutchings *et al.*, 2003). Assim, existindo variação temporal e espacial de manchas de recursos, torna-se central o entendimento do papel da plasticidade das plantas para ocupar diferentes habitats (Grime, 1994).

Entretanto, inferências sobre o efeito da heterogeneidade sobre os organismos pressupõem que esta tenha sido identificada, ou que sejamos capazes de tal (Robertson *et al.*, 1988). Muito da falta de entendimento sobre a variação de recursos do solo é dada pela carência de ferramentas apropriadas para quantificar e acuradamente descrever os padrões espaciais. A replicação de amostras, sozinha, pode ser insuficiente para acessar a variação em um determinado sítio; é necessário saber a distribuição da variabilidade (Rossi *et al.*, 1992; Robertson & Gross, 1994).

Aqui, foi utilizada a geoestatística, semivariogramas e krigeagem, para descrição da distribuição espacial de nitrogênio inorgânico em duas épocas distintas do ano em três diferentes comunidades vegetais onde ocorre o pinheiro brasileiro, *Araucaria angustifolia* (Bertol. Kuntze): uma área de campo nativo, uma mata nativa e um reflorestamento de *Pinus*. Nas três áreas se observa a presença de plantas da espécie. O foco na descrição dos ambientes de ocorrência do pinheiro brasileiro deve-se à importância ecológica e

econômica que ele tem nas regiões onde ocorre, principalmente no sul do Brasil (Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). A espécie tipicamente ocorre na floresta ombrófila mista (IBGE, 1986) em altas altitudes sendo um componente dominante do dossel. Suas sementes são uma importante fonte de alimento para fauna, e a sua madeira, de alto valor comercial, levou a uma exploração intensiva da espécie, que teve suas populações drasticamente reduzidas (Mattos, 1972; Reitz *et al.*, 1988). Atualmente, a espécie é classificada como vulnerável pela IUCN (2004). O nitrogênio é o nutriente mais limitante ao crescimento da espécie (Simões, 1973), e o NH_4^+ parece ser a principal forma de nitrogênio utilizada por ela (Garbin & Dillenburg, dados não publicados, ver capítulo 2). O uso de *A. angustifolia*, seja para fins de conservação ou reflorestamento, exige que sejamos capazes de compreender não só os requerimentos fisiológicos da espécie, como também que ambiente seus indivíduos podem encontrar no estado natural.

Já foi realizada uma quantidade razoável de estudos sobre a variação espacial e temporal de nitrogênio inorgânico em ambientes de clima temperado (*e.g.* Robertson *et al.*, 1988; Gross *et al.*, 1995; Farley & Fitter, 1999; Ste-Marie & Paré, 1999; Laverman *et al.*, 2000; Laverman *et al.*, 2002). Prasolova *et al.* (2000) avaliaram a variação de algumas propriedades químicas de solos de plantações da *Araucaria cunninghamii* na Austrália subtropical. Até onde sabemos, este é o primeiro esforço no sentido de descrever a estrutura da variação espacial de nitrogênio inorgânico em ambientes subtropicais brasileiros. Assim, o objetivo do presente estudo é caracterizar a variação temporal da distribuição espacial dos teores líquidos de nitrato e amônio dos solos de três sítios (mata nativa, campo nativo e plantação de *Pinus*) onde ocorre a *A. angustifolia*. Para isso é postulado que: (1) em virtude da acentuada acidez desses solos, o amônio é a forma de nitrogênio predominantemente presente nos três sítios, a despeito de ser verão ou inverno; (2) o tamanho de mancha é menor, a granulação é mais fina, e a magnitude da variação é maior na mata e no campo nativo (sítios mais antigos) em relação à plantação de *Pinus*, ou seja, as manchas têm maior contraste nesses sítios; e (3) a sazonalidade tem influência sobre as quantidades de cada forma de nitrogênio, porém a distribuição espacial não sofre alteração.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

A área escolhida para o estudo foi a Floresta Nacional de São Francisco de Paula (FLONA), localizada na porção leste do planalto sulbrasileiro, no município de São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul (29°24'S e 50°22'O; cota 912m). A precipitação anual na região é de 2.469 mm (Mota *et al.*, 1970), com temperatura média anual de 14,5°C (DNMMA-INMET/8° Distrito). Segundo Köeppen, o clima é do tipo “Cfbgl” (subtropical, úmido e sem estiagem) (Mota, 1951). O solo é classificado como Cambissolo Húmico Alumínico, com altos teores de matéria orgânica, favorecidos pela alta pluviosidade e as baixas temperaturas. São solos fortemente ácidos (pH < 5) com teores altos de alumínio trocável (saturação por Al \geq 50%) (Streck *et al.*, 2002). Foram escolhidos três sítios onde é observada a presença de *A. angustifolia*: uma área de campo nativo (Campo), uma plantação de *Pinus elliottii* Elgem. (*Pinus*), e uma área de mata nativa (Mata). Os sítios Mata e Campo distam em torno de 300 m entre si e ambos distam em torno de 1 km do sítio *Pinus*. Os sítios são topograficamente semelhantes (a maior variação estimada é de 2 m entre os pontos amostrais mais distais) e correspondem a topos de elevações (coxilhas). A tabela 3.1 mostra as características químicas dos solos dos três sítios, tanto no verão quanto no inverno.

Os sítios possuem composição e estrutura diferentes. A área de *Pinus* corresponde a uma plantação, com vistas à exploração madeireira, de aproximadamente 10 anos, realizada sobre o que era anteriormente uma área de campo nativo. Observa-se nesta área a presença de plântulas e indivíduos jovens de espécies como a *A. angustifolia*, *Podocarpus lambertii* (Podocarpaceae) e algumas Myrtaceae, todas não ultrapassando 20 cm de altura, sendo que a altura do dossel é de aproximadamente 15 m. A Mata é um fragmento de mata nativa, com um mínimo grau de perturbação sendo composta por *A. angustifolia*, diversas Myrtaceae, *Ilex* spp, *Sapindaceae* entre outros, sendo o estrato herbáceo composto por samambaias, gramíneas, Piperaceae, Melastomataceae, *Mollinedia elegans* (Monimiaceae), além de regenerantes das espécies arbóreas. A altura

do dossel é de cerca de 20 m. A área de campo caracteriza-se pela presença diversas de gramíneas, gravatás (*Apiaceae*), *Senecio* spp, *Bacharis* spp, entre outros, sendo que a altura da vegetação varia em torno de 0,5 a 0,8 m. A espécie predominante é o capim caninha, *Andropogon lateralis*. Na área de campo também se encontram algumas plântulas, bastante isoladas, de *A. angustifolia*, sendo que a área não está sujeita à queimada nem pastejo por gado ou outro animal doméstico.

Amostragem e análises

As coletas de verão foram realizadas de 5 a 10 de março de 2004 e as de inverno de 3 a 5 de agosto do mesmo ano. O horário das coletas foi padronizado, iniciando-se às 8 h e finalizando-se às 18 h. Em cada sítio foi estabelecida uma malha amostral de 12 m x 12 m, com pontos de coleta espaçados 1 m entre si. A área amostrada no inverno não pôde ser a mesma do verão, uma vez que a primeira coleta de solo pode ter gerado algum impacto dentro do sítio. Assim, uma segunda malha amostral foi estabelecida para o inverno adjacientemente (distância de 1 a 2 m) àquela do verão. Os critérios para a escolha da área da segunda malha amostral foram os mesmos da primeira. Para cada ponto de coleta foram tomadas três subamostras com o uso de trado meia-lua com 2 cm de diâmetro, sendo o espaçamento de coleta de cada subamostra de 3 cm e a profundidade de 10 cm. Assim, o procedimento totalizou 1.014 pontos de amostragem e 3.042 subamostras de solo. Imediatamente após a coleta, as amostras foram colocadas em sacos plásticos impermeáveis e estes em caixas térmicas de poliestireno contendo gelo. A cada 2 horas de coleta, as amostras eram transportadas para o alojamento da FLONA e colocadas em congeladores (< 18 °C). Todas as amostras foram transportadas congeladas para o laboratório e assim mantidas até o momento das análises. O congelamento permite guardar amostras para análise de nitrogênio inorgânico por tempo indeterminado (Tedesco *et al.*, 1995).

As amostras foram analisadas quanto aos teores líquidos de NH_4^+ e $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ seguindo o método descrito em Tedesco *et al.* (1995). As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente sobre bancada, homogeneizadas ainda dentro dos sacos plásticos e, de cada uma, retirada 5 g as quais foram submetidas à extração em KCl 1 M e o conteúdo

de nitrogênio determinado após destilação por arraste a vapor usando-se MgO e liga Devarda para alcalinização dos extratos e solução indicadora de H_3BO_3 . Usou-se H_2SO_4 0,0025 M para titulação dos destilados. A precisão do método é de $0,35 \text{ mg kg}^{-1}$ no solo. Os valores de nitrogênio inorgânico total foram obtidos somando-se os valores de NH_4^+ e $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$. Após as análises, as amostras foram secas em estufa ($50 \text{ }^\circ\text{C}$) por cinco dias para determinação do conteúdo gravimétrico de água. Os valores de nitrogênio foram expressos com base no peso seco médio do solo de cada amostra.

Procedimento estatístico

Para a comparação entre os sítios, foi realizada análise de variância via testes de aleatorização (Pillar & Orlóci, 1996; Pillar 2004), usando distância euclidiana como medida de semelhança, através do programa MultivMinor v.2.3.17 (Pillar, 2004). Para esta comparação foi utilizada como unidade experimental cada ponto de coleta (169 unidades para cada malha). Os testes de hipóteses foram utilizados somente para enfatizar as diferenças entre as malhas amostradas, uma vez que as comparações foram feitas com base em pseudo-replicações (Hurlbert, 1984). Foram calculadas também correlações entre a umidade e as concentrações de nitrogênio inorgânico nos diferentes sítios. Para as análises geoestatísticas, os dados foram transformados ($\ln [x+1]$) e valores extremamente atípicos removidos, visando obter uma distribuição normal (P [Kolmogorov-Smirnov] $\geq 0,03$). Além disso, a transformação permitiu comparar todas as variáveis entre os sítios. O uso da geoestatística, para interpretação de padrões espaciais de variáveis ambientais, encontra-se descrito em publicações anteriores (*e.g.* Robertson, 1987; Rossi *et al.* 1992; Robertson & Gross, 1994; Ettema & Wardle, 2002). Assim, será feita uma breve descrição dos procedimentos adotados. Foi utilizado o programa Idrisi32, versão I32.2 (Clark Labs, 2001) para construção de semivariogramas amostrais, ajuste dos modelos teóricos e construção de mapas de krigeagem. O número de amostras (169) utilizado em cada malha é satisfatório para a construção de semivariogramas isotrópicos (*sensu* Webster & Oliver, 1992). Gerados com base no estimador de momentos, os semivariogramas amostrais foram ajustados para um modelo esférico ou linear seguindo um método de quadrados ponderados que dá um maior peso para os pares menos

distantes, chamado no Idrisi32 de WLS2 (Cressie, 1993; Clark Labs, 2001). Este ajuste é, inicialmente, visual e posteriormente refinado pelo programa, que retorna o erro da soma de quadrados gerado no ajuste (Clark Labs, 2001). Com isso foi possível calcular os parâmetros: variância estrutural (C), efeito pepita (C_0), patamar ($C+C_0$), amplitude (a) e o índice de dependência espacial [$C/(C+C_0)$]. Este índice, quando próximo a 1, indica que uma grande proporção da variância amostral é espacialmente dependente. Uma amplitude pequena indica que a distribuição da variável é de granulação mais fina (Gross *et al.*, 1995). A variação pepita é a variação presente no menor intervalo de medida ou é resultado de erro de medida, ou ambos (Isaaks & Srivastava, 1989). A adequação do modelo ajustado é dada por $[\sigma^2/(C + C_0)] = 1$. A assíntota do variograma deve equivar, aproximadamente, à variância total das amostras (Isaaks & Srivastava, 1989). O intervalo utilizado foi de 1 m (que correspondeu ao menor intervalo de amostragem), sendo o número mínimo de pares de comparação 312, e o máximo 1.596. Todos os semivariogramas foram calculados para um número de intervalos igual a nove, o que equivale a 53% da amplitude máxima. Semivariogramas omnidirecionais podem ser vistos como uma média dos semivariogramas direcionais (quando a amostragem é regular), devendo ser preferidos, uma vez que são, geralmente, mais “bem comportados” e assim mais fáceis de modelar (Isaaks & Srivastava, 1989). Mesmo assim, todos os sítios foram verificados quanto à presença de eixos de anisotropia. Nos semivariogramas direcionais, a tolerância angular utilizada foi de $\pm 22,5^\circ$, da qual resultou um número mínimo de pares de comparação de 143, e o máximo de 401. Foram testados diferentes números de intervalos e calculados variogramas com número de intervalos diferentes quando houve suspeita de existência de estruturas aninhadas. Foram gerados mapas de distribuição do nitrogênio inorgânico utilizando krigeagem ordinária (Isaaks & Srivastava, 1989; Cressie, 1993), para a qual foi definida como área de vizinhança dos pontos um raio máximo de 2,25 m (máximo de 20 pontos amostrais vizinhos). Este raio foi o mínimo que propiciou bons resultados e ainda possibilitou a comparação das variáveis nos sítios. Na presença de anisotropia, os mapas foram construídos com referência aos eixos de maior e menor continuidade (Isaaks & Srivastava, 1989; Clark Labs, 2001).

RESULTADOS

Variação entre sítios

Todas as diferenças entre sítios foram altamente significativas no verão, à exceção de NO_3^- entre o Campo e o *Pinus* (Tabela 3.2). Houve diferença na forma predominante de nitrogênio em cada sítio. O amônio correspondeu a 71,13% do conteúdo total de nitrogênio inorgânico presente no Campo. Já na Mata, o nitrato correspondeu a 74,48% desse total. A partição foi mais equilibrada no *Pinus*, sendo o amônio responsável por 66,85% do nitrogênio inorgânico total. O maior nível médio de NO_3^- foi obtido na Mata e este sítio apresentou a maior concentração média de nitrogênio inorgânico total. O conteúdo gravimétrico de água foi maior no Campo. Houve uma boa correlação entre o conteúdo gravimétrico médio de água e o conteúdo médio amônio dos três sítios ($r = 0,72$).

No inverno, as diferenças também foram altamente significativas, à exceção, novamente, de NO_3^- entre o Campo e o *Pinus*. Os sítios que apresentaram as maiores concentrações, tanto de nitrogênio quanto de umidade, foram os mesmos do verão. *Pinus* apresentou as menores concentrações tanto de amônio como de nitrogênio inorgânico total. A participação do amônio em relação ao nitrogênio inorgânico total se manteve constante (71,33%) no Campo. Na Mata diminuiu a participação do nitrato (61,66%) e no *Pinus* baixou a participação do amônio (60,82%) no nitrogênio inorgânico total. Novamente, a umidade média mostrou-se correlacionada com a concentração média de amônio dos sítios ($r = 0,82$).

Observa-se que, para todos os parâmetros, houve um aumento altamente significativo das quantidades médias do verão para o inverno (Tabela 3.2). Entretanto este aumento não se deu nas mesmas proporções para as diferentes variáveis nos sítios. No Campo, tanto NO_3^- como NH_4^+ , aumentaram na mesma proporção, em torno de 64%. Na Mata, o NH_4^+ teve um incremento substancial de 175%, o qual não foi acompanhado pelo NO_3^- (48%). No *Pinus*, o maior aumento foi de NO_3^- (92%). O conteúdo gravimétrico de água mais que dobrou no inverno; valores que no verão

variaram entre 0,36-0,45 passaram a 0,68-0,96. Houve uma boa correlação entre amônio e umidade ($r = 0,87$) e entre nitrogênio inorgânico total e umidade ($r = 0,87$), quando tomadas juntas as médias do verão e inverno dos três sítios.

Variação dentro dos sítios

A distribuição dos valores de nitrogênio inorgânico e conteúdo gravimétrico de água é mostrada nas Figuras 3.1 (verão) e 3.2 (inverno), juntamente com os coeficientes de variação (CVs) e coeficientes de assimetria (CAs). No verão, a maior (CV=74,05% para NH_4^+) e a menor (CV=35,91% para NO_3^-) variação foram encontradas na Mata. Os coeficientes assimetria de acompanharam este padrão (0,90 para NH_4^+ , e 0,22 para NO_3^-). Os outros sítios apresentaram valores intermediários e mais constantes que estes. Já no inverno, a maior variação foi observada no *Pinus*, tanto para NH_4^+ (CV=73,25%) como para NO_3^- (CV=80,77%). Quando se compara as duas estações, observa-se que, diferentemente do *Pinus*, os CVs sofrem pouca alteração no Campo. Na Mata, cai a variação do NH_4^+ (CV=55,43%) no inverno. Os CAs também são maiores no inverno, à exceção de NH_4^+ na Mata que diminui nesta estação. As correlações entre umidade e amônio dentro dos sítios resultaram valores baixos ($r \leq 0,13$) no verão e maiores ($r = 0,42$ para o Campo; $r = 0,38$ para a Mata) no inverno à exceção do *Pinus* ($r = 0,02$).

Os resultados dos modelos ajustados podem ser vistos nas Tabelas 3.3 e 3.4 e na Figura 3.3. Todos os semivariogramas amostrais puderam ser ajustados a um modelo esférico ou linear. Considerando-se os semivariogramas omnidirecionais, a variância total das amostras equívaleu, aproximadamente, ao patamar (Tabela 3.3) nos três sítios, em ambas as estações do ano. Isto significa que foi alcançada uma boa adequação dos modelos ajustados. O erro na soma de quadrados no ajuste nos modelos foi maior para $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ no *Pinus* no verão (30,15) e menor para NH_4^+ na Mata no inverno (7,91). O índice de dependência espacial $[(C/C+C_0)]$ foi maior no Campo ($\geq 0,42$), tanto no verão quanto no inverno. Este índice foi comparativamente alto também para NH_4^+ na Mata no verão (0,38) que também exibiu o maior valor de variância espacialmente estruturada ($C=0,13$) para esta estação. O inverno apresentou os maiores valores de pepita (C_0), que

variaram de 0,13 a 0,40, em relação ao verão, quando variaram de 0,09 a 0,22. A amplitude sempre foi maior no Campo, tanto no verão (4,35-4,68 m ou 9,76 m se for considerada a anisotropia) quanto no inverno (5,89 m) em relação à Mata (2,75-3,95 m no verão), e ao *Pinus* (2,30 m no verão), quando considerados os modelos esféricos. No inverno, a exceção foi NO_3^- no *Pinus*, que apresentou uma amplitude de 6,69 m. No verão, NO_3^- e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ no *Pinus* exibiram um padrão de “pepita pura”. No inverno, na Mata somente foi possível o ajuste de modelos lineares, sendo verificado um padrão de “pepita pura” para nitrato neste sítio e amônio no *Pinus*. Para as demais variáveis nos sítios foi possível somente o ajuste de modelos lineares.

A dependência espacial das variáveis avaliadas nos sítios mostrou-se, na maioria dos casos, aproximadamente, isotrópica. As exceções foram todas no Campo: NO_3^- e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ no verão, e NH_4^+ e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ no inverno (Tabela 3.4 e Figura 3.3). Nos semivariogramas direcionais, a adequação dos modelos ajustados mostrou-se mais fraca (0,82-1,24), devido ao menor número de pares de comparação, porém ainda aceitável para nossos propósitos. Ajustando-se um modelo para um intervalo de 12 m para NO_3^- no Campo no verão, no eixo de menor continuidade (160°) ficou evidente a presença de aninhamento; a primeira estrutura estabilizando-se a 4,68 m e indo até ~7 m, e a segunda estabilizando-se a partir de 9,76 m (Tabela 3.4 e Figura 3.3). Os mapas gerados por krigeagem ordinária mostram os padrões substancialmente diferentes observados entre os sítios (Figura 3.4). No Campo ficam evidentes, o maior tamanho de mancha (Figura 3.4a), a anisotropia (Figuras 3.4d e 3.4e) e o aninhamento para NO_3^- no verão (Figura 3.4d). Nesta figura observa-se uma mancha de valores mais baixos no centro do mapa e uma mancha com valores mais altos na porção sul. Na mata (Figura 3.4b), as manchas, apesar de serem aproximadamente semelhantes em amplitude em relação ao *Pinus* (Figura 3.4c), têm um contraste maior em relação a este último. A Figura 3.4f mostra a homogeneidade presente na Mata no inverno. A Figura 3.5 mostra a posição de indivíduos jovens de *A. angustifolia* na Mata no verão.

DISCUSSÃO

Muitos fatores podem estar associados às diferenças encontradas, tornando quase impossível, e não foi este o objetivo deste estudo, determinar as causas das variações encontradas. Entretanto alguns aspectos devem ser observados. Solos ácidos, em geral, têm a nitrificação em grande parte inibida (De Boer & Kowalchuck, 2001). A nitrificação autotrófica é um processo estritamente aeróbico que é freqüentemente inibido sob baixos valores de pH (Gottsschalk, 1985; Rosswall, 1982; Salsac *et al.*, 1987). Apesar da acentuada acidez dos solos dos três sítios (pH < 4,7, que tenderia a inibir a nitrificação) e do alto volume de precipitação de chuvas ao longo do ano que facilitaria a lixiviação do NO_3^- e inibiria a nitrificação pelo aumento das condições redutoras (McBride, 1994), o amônio não foi a forma de nitrogênio predominante na Mata, mas apenas no *Pinus* e no Campo. De fato, naquele sítio, o nitrato ocorre quase na mesma proporção em que o amônio ocorre no Campo. Essas proporções sofreram poucas alterações de uma estação do ano para a outra. A Mata é uma floresta madura, com muitas espécies sucessionalmente tardias. Este resultado contrasta com solos de climas temperados onde, tipicamente, o amônio tende a ser forma predominante nessas etapas (Rice & Pancholy, 1972; Vitousek, 1982; Gross *et al.*, 1995), para os quais é esperado que as espécies sucessionalmente tardias sejam capazes de melhor utilizar essa forma de nitrogênio (Kronzucker *et al.*, 1997; Min *et al.*, 1999; Kronzucker *et al.*, 2003). Apesar de não ser a primeira vez que se relatam resultados que não dão suporte a esta tendência (*e.g.*, Robertson & Vitousek, 1981; Smirnov & Stewart, 1985), o presente estudo soma-se a constatações anteriores (Attwill & Adams, 1993; Aida *et al.*, 2003), que demonstram que a nitrificação não está inibida em solos de ambientes tropicais tidos como climáticos e que solos ácidos podem apresentar níveis mais altos de nitrato em relação ao amônio (Rasmussen, 1998). É interessante notar que a área de Campo, praticamente adjacente, demonstra um padrão totalmente inverso de predominância de formas em relação à Mata, tanto no verão quanto no inverno, sendo que a proporção de amônio para nitrato foi praticamente igual entre verão e inverno no Campo. Os campos, como formações, são mais antigos que as matas com araucaria (Mata Ombrófila Mista) (Behling *et al.*, 2004),

observando-se uma tendência geral de avanço destas sobre os campos (Oliveira & Pillar, 2004). Assim, tem-se uma situação bastante peculiar, onde as espécies presentes na mata com araucária encontram um ambiente completamente diferente na forma de nitrogênio predominantemente disponível, ao avançarem sobre o campo. Isto tem implicações importantes, pois, no caso específico da *A. angustifolia*, que tem preferência por NH_4^+ (Garbin & Dillenburg, dados não publicados, ver capítulo 2), ocupar o campo pode ser vantajoso do ponto vista da nutrição nitrogenada. Entretanto, isto implica ocupar ambientes bastante diferentes, onde a competição por recursos pode ser bastante diferente também (Tilman, 1990). Este aspecto precisa ser avaliado em maior detalhe futuramente, assim como a interação das preferências nutricionais do pinheiro brasileiro com o sombreamento. Já no *Pinus*, a situação encontrada mostra que neste sítio se acumula tanto NH_4^+ quanto na Mata, apesar das diferenças estatisticamente significativas entre esses sítios. *Pinus* e Campo têm quantidades muito semelhantes de NO_3^- , tanto no verão quanto no inverno. As menores quantidades de nitrogênio encontradas no verão podem se dever à maior demanda das plantas por este recurso.

Esse cenário torna-se mais complexo quando se toma em conta a estrutura espacial da variação, principalmente no verão, período de maior crescimento da vegetação onde, se espera, a demanda por nitrogênio seja também maior. NH_4^+ , na Mata, teve um tamanho de mancha similar ao do *Pinus*, e ambos, aproximadamente, similares a outras formações florestais (Lechowicz & Bell, 1991; Gross *et al.*, 1995). Entretanto existe um contraste na Mata ($C=0,13$) muito maior que no *Pinus* ($C=0,035$), que se torna evidente nos mapas de krigeagem. Nesse sítio, fica clara a formação de zonas de depleção de NH_4^+ , provavelmente devido à demanda localizada por este recurso. No inverno, o aumento significativo das quantidades líquidas de nitrogênio impõe uma estrutura espacial completamente diferente para a Mata. A estrutura de mancha, que já era frágil para NO_3^- e $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ($C=0,03$), desaparece, e o sítio se torna mais homogêneo. O mesmo não acontece para o Campo. Apesar do aumento significativo das quantidades médias de nitrogênio, o tamanho de mancha sofre pouca alteração ($a = 4,35-5,89$), com um pequeno aumento de ~1,5 m. Já a magnitude de variação aumenta substancialmente, de valores de

$C = 0,09-0,13$ no verão para $0,18$ no inverno. Soma-se a isto a constatação de que a proporção de variação espacialmente estruturada [$C/(C+C_0)$] também foi maior no inverno ($0,76$). Isto demonstra que o aumento das quantidades no inverno tem pouco efeito sobre a amplitude da variação, porém tem um grande efeito sobre C e a proporção da variação espacialmente estruturada, ou seja, as manchas tiveram um incremento no seu contraste sem praticamente mudarem de tamanho. Além disso, é necessário ressaltar que este aumento se dá com a manutenção de uma forte anisotropia no inverno. Em outras palavras, a estrutura da variação no Campo está direcionada. Isto vale para o nitrogênio inorgânico total nas duas estações, para o amônio no inverno e para o nitrato no verão. Esta variável, nesta estação, apresentou um aninhamento na estruturação dentro da escala medida. Isto sugere que existam diferentes fatores agindo em diferentes escalas: a primeira escala indo até $4,68$ m, e a segunda até $9,76$ m. É necessário salientar que se ajustarmos o semivariograma a até 9 m somente, o modelo torna-se linear. Isto fica um pouco mais claro observando-se a superfície de krigeagem referente a esta variável, onde se percebem duas manchas distintas, uma ao centro, dada por valores baixos, e outra ao sul, com valores mais altos. A relativamente baixa variação temporal no tamanho de mancha no Campo demonstra que este tamanho pode ter uma maior longevidade em relação ao da Mata. O tamanho de mancha encontrado no Campo, tanto no verão quanto no inverno, foi maior que aquele na Mata e no *Pinus*. Isto, associado ao contraste semelhante ao da Mata, e às quantidades sempre maiores de NH_4^+ nesse sítio, podem significar que o Campo, assim como o *Pinus*, podem oferecer um ambiente propício para o desenvolvimento do pinheiro brasileiro.

Já a plantação de *Pinus* mostra um padrão de espacialização de manchas esperado para formações florestais temperadas (*e.g.* Gross *et al.*, 1995). É notável a maior homogeneidade desse sítio em relação aos demais. *Pinus* e Campo possuem as mesmas quantidades de NO_3^- , tanto no verão quanto no inverno, porém com estruturas espaciais bastante diferentes no verão. No verão, comparado à Mata, há mais NH_4^+ no *Pinus*. Além disso, a diferença na variação espacialmente estruturada e os mapas de krigeagem mostram que ele está distribuído de forma mais homogênea no *Pinus* do que na Mata.

Assim, o *Pinus* possui mais NH_4^+ , distribuído de forma mais homogênea que a Mata. Os níveis relativamente baixos de nitrato encontrados no *Pinus* podem ser resultado de escassez de outros nutrientes, como K ou Mg, para os organismos nitrificadores, assim como uma possível ação de compostos alelopáticos sobre estes (Laverman *et al.*, 2002). Pode ocorrer a depleção de nutrientes em solos florestais ocupados por plantações de *Pinus* (Richter *et al.*, 1994). O nitrato é mais móvel que o amônio e, portanto, mais sujeito à lixiviação que este último (Rosswall, 1982). A lixiviação de nitrato é um evento chave; ecossistemas que sofreram distúrbios podem ter perdas substanciais de nitrogênio por essa via (Vitousek *et al.*, 1979). Além disso, todo desflorestamento (neste caso como resultado de ciclos de desbaste e replantio) pode induzir alguma perda de nitrogênio por lixiviação, até ocorrer a revegetação da área danificada por plantas herbáceas ou árvores (Rasmussen, 1998). Entretanto, as conseqüências dessa transformação do campo nativo em plantações de *Pinus* precisam ser avaliadas em maior detalhe.

A avaliação da heterogeneidade de um recurso em um dado local deve ser feita comparativamente a outras áreas e em relação ao organismo sob consideração. Especificamente, deve-se ter em conta características do sistema radicular da planta sob consideração, em relação às características da mancha do recurso (Fitter, 1994; Hutchings *et al.*, 2003). Embora não se tenha avaliação das características radiculares de plântulas de *A. angustifolia* a campo, os resultados obtidos nos permitem traçar algumas sugestões. Primeiro, a partir da amplitude e do contraste das manchas de NH_4^+ observados na Mata, é esperado que, no verão, seja exigido das plantas maior plasticidade para acessar este recurso, pois, neste período, ele está distribuído de forma mais heterogênea que no inverno. É esperado, portanto, que as plantas devam ser capazes de ter algum crescimento preferencial em direção ao recurso; os sistemas radiculares maximizam a alocação de recursos por alocação preferencial de raízes em manchas mais ricas (Fitter, 1994). Da mesma forma, espera-se que as plantas sejam capazes de produzir raízes de pequeno diâmetro e de vida mais curta (Fitter, 1994), uma vez que ficou demonstrado que este recurso pode variar temporalmente também. A análise preliminar da localização espacial dos indivíduos jovens de pinheiro brasileiro dentro da Mata no verão, mostrou

estes podem estar sujeitos a qualquer localização em relação às manchas de NH_4^+ . Isto pode ter conseqüências importantes, pois se deve considerar não só a dimensão do sistema radicular em relação ao tamanho e contraste da mancha, como também a posição do indivíduo, se no centro ou nos limites da mancha (Hutchings *et al.*, 2003).

Gross *et al.* (1995), comparando campos e florestas em diferentes estádios sucessionais no sudoeste de Michigan (EUA), encontraram tamanhos de mancha maiores em uma área de campo e menores em uma de floresta. Esta tendência se repetiu em nosso estudo. Entretanto, eles concluíram que a área de floresta é mais homogênea em relação ao campo. A floresta estudada por eles tende a ser estruturalmente semelhante à plantação de *Pinus* aqui avaliada. A Mata, apesar de ter, praticamente, o mesmo tamanho de mancha que o *Pinus*, tem, como colocado anteriormente, um contraste bem maior. Assim, concluímos que a Mata é mais heterogênea que o *Pinus*. Neste sítio, as maiores quantidades de NH_4^+ e a maior homogeneidade deste recurso no verão em relação à Mata, podem significar um ambiente mais favorável ao crescimento de espécies que preferem NH_4^+ e que exibam pouca plasticidade em resposta à manchas bem definidas, com alto contraste. Entretanto, essas conjecturas precisam de confirmação experimental.

A baixa proporção de variância estrutural em relação à total encontrada neste estudo força que se tenha cautela sobre o grau autocorrelação encontrado. Como um todo, a variação pepita encontrada mostra que ~60-85 % da variação encontrada pode estar presente em menos de 1 m. Considerando-se o direcionamento da variação no Campo, esta proporção cai um pouco (~25-60 %). Entretanto, deve-se considerar o significado dessa variação para o sistema radicular de plântulas, uma vez que manchas muito pequenas em relação ao sistema radicular podem ou não ser relevantes, o que depende do contraste dessas manchas (Hutchings *et al.*, 2003).

Semivariogramas oferecem uma descrição da variabilidade espacial, i.e., de granulação. A medida dada pela amplitude não diz se esta é dada por maiores quantidades de nutrientes. Em outras palavras, o tamanho médio de mancha, dado pela amplitude, pode ser um tamanho médio de regiões de depleção de nutrientes, de maiores quantidades de nutrientes, ou de ambos. A Mata, no verão, apresentou zonas de depleção

de nutrientes com uma estrutura claramente definida. É possível que, durante a estação de crescimento (verão), a demanda por nitrogênio aumente, diminuindo as quantidades totais no solo e tendendo a aumentar a variabilidade devido à formação de zonas de depleção. Isto foi verificado na Mata com o NH_4^+ , mas não foram encontradas diferenças substanciais na variabilidade no Campo entre verão e inverno, o que pode indicar um maior controle da vegetação sobre a estrutura da variação das formas de N. Deve-se dar atenção também à possibilidade de variações microtopográficas estarem atuando (via umidade) na estruturação da formação das formas inorgânicas de N (Zedler & Zedler, 1969). O aumento nas quantidades totais de nitrogênio do verão para o inverno teve diferentes efeitos sobre a variabilidade interna dos sítios. No Campo os CVs são praticamente iguais entre verão e inverno. Na Mata, o NH_4^+ se mostrou mais variável no verão, apesar de NO_3^- ter aumentado sua variação no inverno e $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ permanecer praticamente inalterado. Já no *Pinus*, o aumento nas quantidades totais no inverno foi acompanhado por aumento substancial da variação interna (~30% maior).

A araucária é altamente dependente de associações endomicorrízicas (Zandavalli *et al.*, 2000). A micorrização das plantas pode aumentar substancialmente a área de forrageamento de recursos, incrementando a área de ação das raízes (Sieverding, 1991). Assim, as micorrizas podem ser mais importantes para plântulas de araucaria na Mata do que no Campo, pois a maior heterogeneidade daquele sítio, associada à maior variação temporal dos recursos, impõe a necessidade de a planta responder rapidamente às manchas.

A estrutura da variação encontrada neste estudo pode não corresponder à estrutura presente na maior parte do ano, ou mesmo nas estações do ano nos sítios. Outros fatores, presentes em escalas de tempo menores podem influenciar e podem ter influenciado os padrões detectados. Deve-se destacar que a variação sazonal medida pode estar fortemente relacionada com períodos de maior ou menor precipitação de chuvas. Sabe-se que parâmetros químicos do solo podem variar em função de chuvas (*e.g.* Frankland *et al.*, 1963). Assim, eventos presentes em escalas temporais menores que as medidas podem modificar o padrão detectado. Da mesma forma, eventos presentes em

localizações espaciais diferentes, também podem levar a conclusões diferentes das aqui encontradas. A área de campo utilizada neste estudo corresponde a um pequeno fragmento dentro de uma área de preservação; não corresponde à realidade da vasta maioria dos campos presentes na região, chamada de Campos de Cima da Serra. Esses campos estão sujeitos a um intenso pastejo por gado e a queimadas periódicas que, provavelmente, devem levar a padrões de espacialização e de quantidades diferentes das aqui descritas. O fogo é um forte agente mineralizador e, como altera o pH do solo, pode alterar substancialmente as quantidades de N e, portanto pode, também, alterar o padrão de espacialização (Sotck & Lewis, 1986; Grogan *et al.*, 2000).

Foram verificadas diferenças substanciais nas quantidades e na estrutura da variação de nitrogênio inorgânico entre os sítios. As amostragens realizadas tanto no inverno quanto no verão mostraram que as quantidades e a distribuição espacial das formas de nitrogênio não são as mesmas em diferentes períodos do ano. Embora não se possa, num primeiro momento, inferir diretamente sobre as causas da heterogeneidade encontrada, a escala e a magnitude de variação espacial nos diferentes sítios sugerem que os fatores predominantes que estão agindo não são os mesmos ou, em sendo os mesmos, têm diferentes efeitos sobre esta variação. Além disso, a heterogeneidade identificada poderá influenciar de forma diferenciada a vegetação presente nos três sítios. Levando em conta os mapas de krigeagem, os variogramas ajustados e as quantidades de nitrogênio em cada sítio ficam evidentes que: (1) o tamanho de mancha é substancialmente maior no Campo; (2) *Pinus* é o sítio mais homogêneo, e, apesar de algumas manchas ocorrerem, o contraste é bastante baixo; (3) no verão, as manchas na Mata são menores do que no Campo e são mais distintas que as do *Pinus*; (4) no inverno, o aumento substancial nas quantidades líquidas de nitrogênio “borra” o padrão espacial detectado na Mata e no *Pinus* no verão, mas o faz parcialmente no Campo; (5) o Campo pode exibir múltiplas escalas de variação, dentro da escala medida, e isto torna necessário identificar os fatores que agem nessas diferentes escalas; e (6) tanto no verão quanto no inverno, o acúmulo das formas de nitrogênio difere dentro de cada sítio e entre sítios, à exceção de NO_3^- para Campo e *Pinus*.

Tabela 3.1. Características químicas dos solos nos três sítios estudados.

Variável	Unidade	Campo		Mata		Pinus	
		Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno
Argila	%	28	22	22	21	30	26
pH (H ₂ O)		4,5	4,7	3,7	3,9	4,2	4,2
P	mg dm ⁻³	6,2	6,9	7,2	10	6,9	8,2
K	mg dm ⁻³	150	252	141	142	76	75
S	mg dm ⁻³	9,8	7,2	6,8	8,1	8,4	7,1
M.O.	%	>10	>10	>10	>10	8,5	8,5
Al _{troc}	cmol _c dm ⁻³	7,1	4,9	11,2	10,7	9,1	9,3
Ca _{troc}	cmol _c dm ⁻³	1,8	3,2	0,8	1,0	1,0	0,8
Mg _{troc}	cmol _c dm ⁻³	0,9	1,5	0,4	0,5	0,5	0,4
Al+H	cmol _c dm ⁻³	30,7	24,4	54,5	54,5	34,4	38,6
CTC	cmol _c dm ⁻³	33,9	29,9	56,2	56,5	36,2	40,1
Sat. Bases	%	9	18	3	3	5	3
Sat. Al	%	68,9	47,1	87,1	84,4	83,7	86,2
C org	%	6,9	8,9	7,8	9,3	6,1	5,9
N	%	0,43	0,57	0,49	0,60	0,34	0,36
C/N		16,0	15,6	15,92	15,5	17,94	16,4

Conteúdo de argila determinado por análise de densidade. pH medido em água (1:1, v/v). Matéria orgânica obtida por oxidação em solução sulfocrômica com calor externo. P e K, determinados via Melich I. Ca, Mg e Al trocáveis determinados através de extração em KCl 1 mol L⁻¹. S-SO₄⁻², extraído em Ca(H₂PO₄).H₂O 500mg L⁻¹ de P. Nitrogênio total determinado via uma modificação de Kjeldahl. Carbono orgânico medido via oxidação por dicromato (K₂Cr₂O₇ 1,25mol_c L⁻¹) em meio ácido com aquecimento externo. Todos os procedimentos são descritos em detalhe em Tedesco *et al.* (1995). Sat., saturação da CTC com bases ou com alumínio. Análises realizadas pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Tabela 3.2. Variação entre os sítios para amônio (NH_4^+ ; mg kg^{-1}), nitrato (NO_3^- ; mg kg^{-1}), umidade ($\text{g g solo seco}^{-1}$) e razão de amônio para nitrato no verão e inverno. Nas linhas, todas as comparações entre os sítios foram altamente diferentes significativamente ($P = 0,0001$). Diferenças entre contrastes para os sítios, indicadas por letras diferentes, foram significativas para $P \leq 0,0003$, à exceção de razão $\text{N-NH}_4^+/\text{N-NO}_3^-$ no verão, umidade no inverno e N-NH_4^+ no inverno, $P \leq 0,03$. Nas colunas, letras maiúsculas indicam diferenças entre as estações para um mesmo sítio ($P = 0,0001$).

Variável	Campo	Mata	<i>Pinus</i>
VERÃO			
N- NH_4^+	7,22 ± 3,30 aB	3,06 ± 2,26 cB	4,80 ± 1,99 bB
N- NO_3^-	2,93 ± 1,91 bB	8,90 ± 3,20 aB	2,38 ± 1,32 bB
N- NH_4^+ + N- NO_3^-	10,15 ± 4,41 bB	11,95 ± 4,44 aB	7,18 ± 2,60 cB
Umidade	0,45 ± 0,08 aB	0,39 ± 0,09 bB	0,36 ± 0,05 cB
Razão N- $\text{NH}_4^+/\text{N-NO}_3^-$	3,74 ± 4,00 a	0,35 ± 0,25 c	2,92 ± 3,48 b
INVERNO			
N- NH_4^+	11,84 ± 5,42 aA	8,41 ± 4,66 bA	7,14 ± 5,23 cA
N- NO_3^-	4,76 ± 3,31 bA	13,19 ± 5,89 aA	4,56 ± 3,68 bA
N- NH_4^+ + N- NO_3^-	16,60 ± 7,17 bA	21,39 ± 8,78 aA	11,74 ± 8,19 cA
Umidade	0,96 ± 0,09 aA	0,91 ± 0,08 bA	0,68 ± 0,05 cA
Razão N- $\text{NH}_4^+/\text{N-NO}_3^-$	4,10 ± 4,38 a	0,76 ± 0,59 c	2,61 ± 3,98 b

Valores são médias ± DP. $n = 168$ para: NH_4^+ no Campo e no *Pinus*; NO_3^- , umidade e $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ no *Pinus* para verão; e para NO_3^- no *Pinus*, e $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ para Mata e *Pinus*, no inverno. $n = 167$ para NH_4^+ e umidade na mata no verão. $n = 166$ para $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na mata no verão. $n = 169$ para todas as demais variáveis nos sítios.

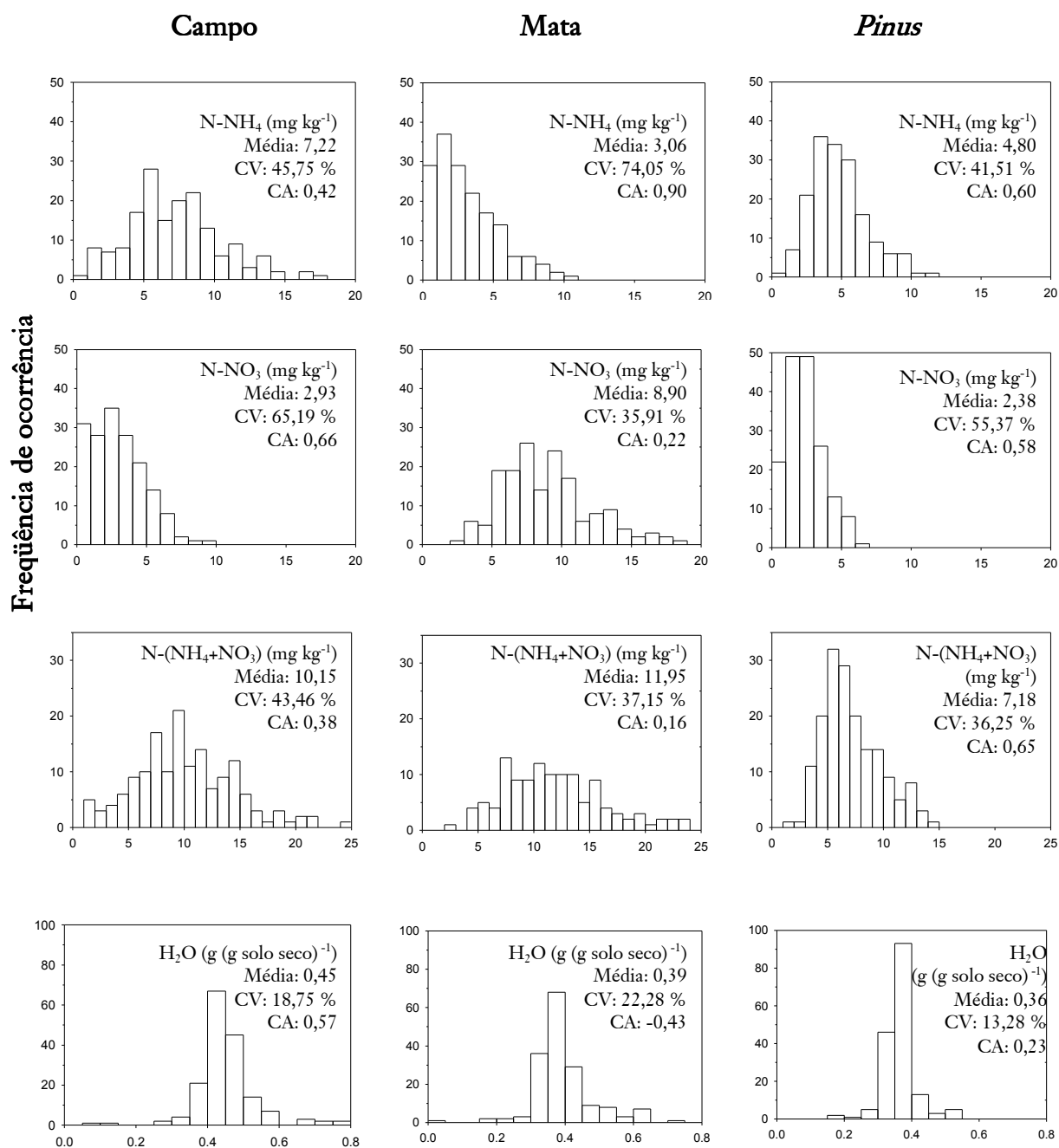


Figura 3.1. Histogramas com a freqüência de ocorrência e intervalos de classe para os diferentes sítios no verão. Para cada um são fornecidos a média, o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de assimetria (CA). Unidade corresponde ao conteúdo gravimétrico de água. A escala para as freqüências e os intervalos de classe varia em relação à variável considerada.

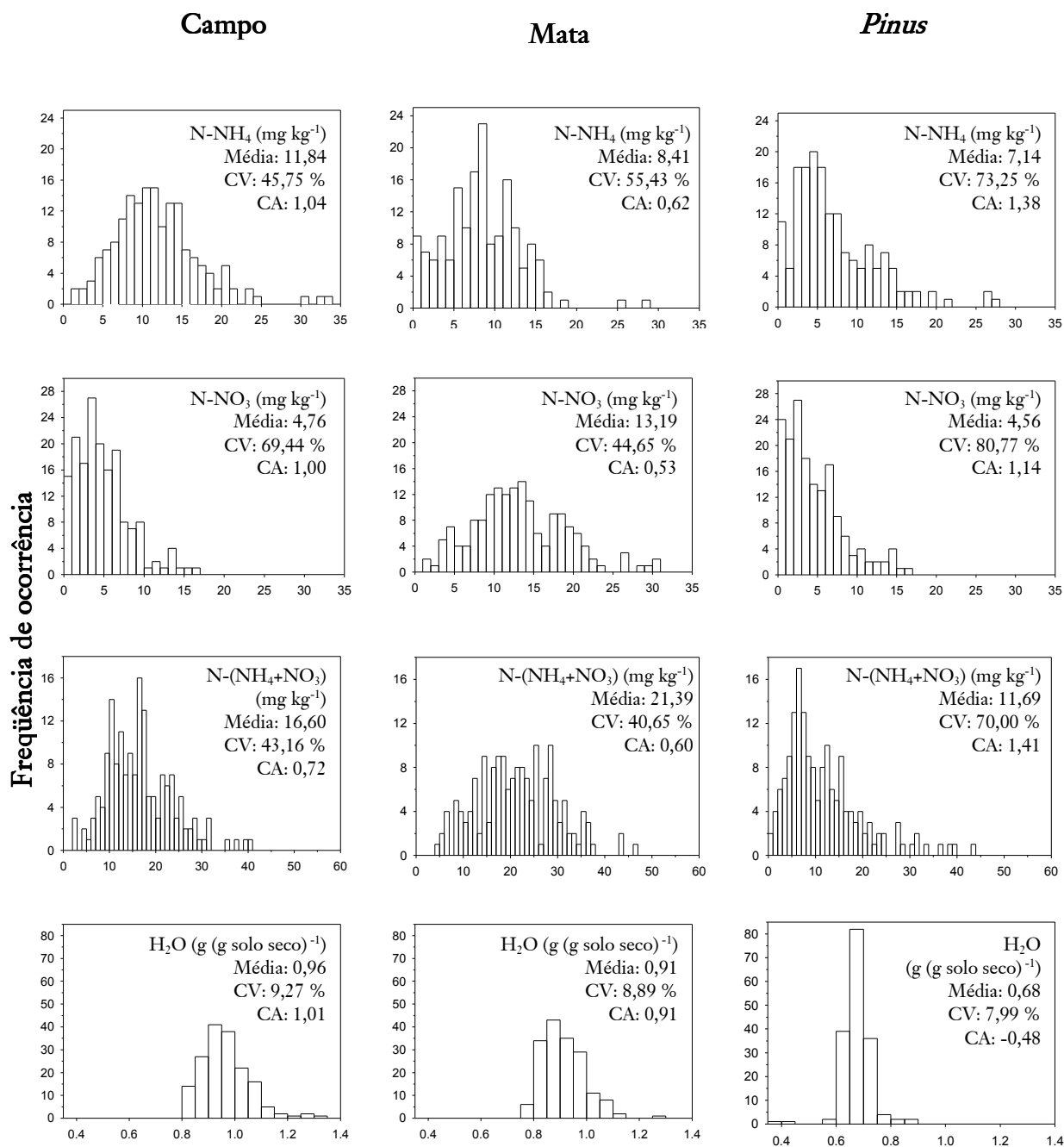


Figura 3.2. Histogramas com a frequência de ocorrência e intervalos de classe para os diferentes sítios no inverno. Para cada um são fornecidos a média, o coeficiente de variação (CV) e o coeficiente de assimetria (CA). Unidade corresponde ao conteúdo gravimétrico de água. A escala para as frequências e os intervalos de classe varia em relação à variável considerada.

Tabela 3.3. Parâmetros dos modelos de semivariogramas omnidirecionais ajustados para os diferentes sítios para verão e inverno. Todos os semivariogramas foram ajustados para um número de intervalos igual a 9 (equivalente a 9 m, 53% da amplitude da maior diagonal).

	Modelo	e.s.q.	C_0	C	$C+C_0$	a (m)	$\frac{C}{C+C_0}$	$\frac{\sigma^2}{C+C_0}$
VERÃO								
Campo								
NH_4^+	E	26,73	0,13	0,09	0,22	5,21	0,42	0,94
Mata								
NH_4^+	E	15,74	0,21	0,13	0,34	2,75	0,38	0,97
NO_3^-	E	16,57	0,08	0,03	0,11	3,95	0,26	0,97
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$	E	12,16	0,10	0,03	0,13	3,34	0,22	0,97
Pinus								
NH_4^+	E	15,92	0,09	0,035	0,13	2,30	0,28	0,99
NO_3^-	L	17,23	0,17	-	-	-	-	-
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$	L	30,15	0,10	-	-	-	-	-
INVERNO								
Campo								
NO_3^-	L	23,26	0,40	-	-	≥ 9	-	-
Mata								
NH_4^+	L	7,91	0,38	-	-	≥ 9	-	-
NO_3^-	L	8,91	0,20	-	-	-	-	-
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$	L	11,55	0,16	-	-	≥ 9	-	-
Pinus								
NH_4^+	L	14,14	0,46	-	-	-	-	-
NO_3^-	E	6,71	0,44	0,076	0,52	6,69	0,15	0,97
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$	L	21,19	0,39	-	-	≥ 9	-	-

Onde: e.s.q., erro da soma de quadrados; C , variância estrutural; C_0 , variação pepita; a , amplitude; E, esférico; L, linear. Na presença de anisotropia, os modelos omnidirecionais não são considerados (ver Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Parâmetros dos modelos de semivariogramas direcionais (tolerância angular de $\pm 22,5^\circ$) ajustados no Campo para verão e inverno. O número de intervalos para o qual os modelos foram ajustados variam conforme indicado.

	Ni	M	e.s.q.	C_0	C	$C+C_0$	a (m)	$\frac{C}{C+C_0}$	$\frac{\sigma^2}{C+C_0}$
VERÃO									
Campo									
NO_3^- (70°) +	9	L	11,74	0,23	-	-	≥ 9	-	-
NO_3^- (160°) -	9	L	10,61	0,22	-	-	≥ 9	-	-
NO_3^- (70°) +	12	L	12,63	0,22	-	-	≥ 12	-	-
NO_3^- (160°) -	12	E	11,11	0,20	0,15	0,35	9,76	0,42	0,82
NO_3^- (160°) -	7	E	3,27	0,17	0,13	0,30	4,68	0,43	0,95
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ (95°) +	9	L	13,40	0,15	-	-	≥ 9	-	-
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ (5°) -	9	E	32,34	0,10	0,13	0,23	4,35	0,58	1,24
INVERNO									
Campo									
NH_4^+ (135°) +	9	L	3,74	0,13	-	-	≥ 9	-	-
NH_4^+ (45°) -	9	E	4,78	0,06	0,18	0,24	5,89	0,76	0,82
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ (135°) +	9	L	3,74	0,13	-	-	≥ 9	-	-
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ (45°) -	9	E	4,78	0,06	0,18	0,24	5,89	0,76	0,82

Ni, número de intervalos; M, modelo ajustado; e.s.q., erro da soma de quadrados; C , variância estrutural; C_0 , variação pepita; a , amplitude; E, esférico; L, linear. Ângulos referem-se aos eixos anisotrópicos ($N = 0^\circ$), (+) corresponde ao eixo de maior continuidade, (-) ao de menor continuidade.

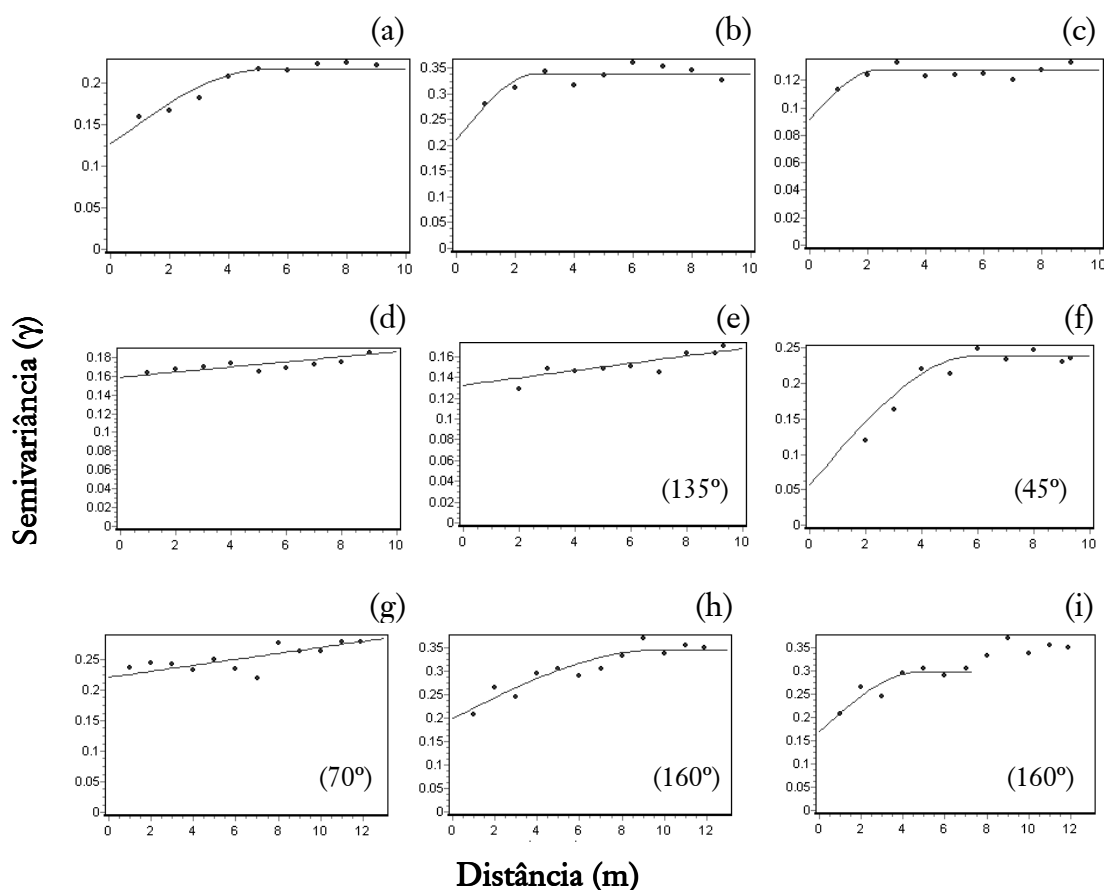


Figura 3.3. Semivariogramas omnidirecionais para amônio no verão nos três sítios, (a) Campo, (b) Mata e (c) *Pinus*; (d) semivariograma omnidirecional para $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno; (e) e (f) semivariogramas direcionais para amônio no Campo para inverno e (g), (h) e (i) semivariogramas direcionais para nitrato no Campo para o verão. Ângulos entre parênteses correspondem aos eixos de maior (135° e 70°) e de menor continuidade (45° e 160°). Todos os semivariogramas foram calculados com número de intervalos igual a nove (equivalente à amplitude de 9 m, 53% da amplitude máxima), à exceção de (g) e (h) os quais foram calculados para 12 m, e de (i), calculado para 7 m. Ver Tabelas 3.3 e 3.4 para detalhes destes variogramas e para parâmetros dos modelos que não são mostrados aqui.

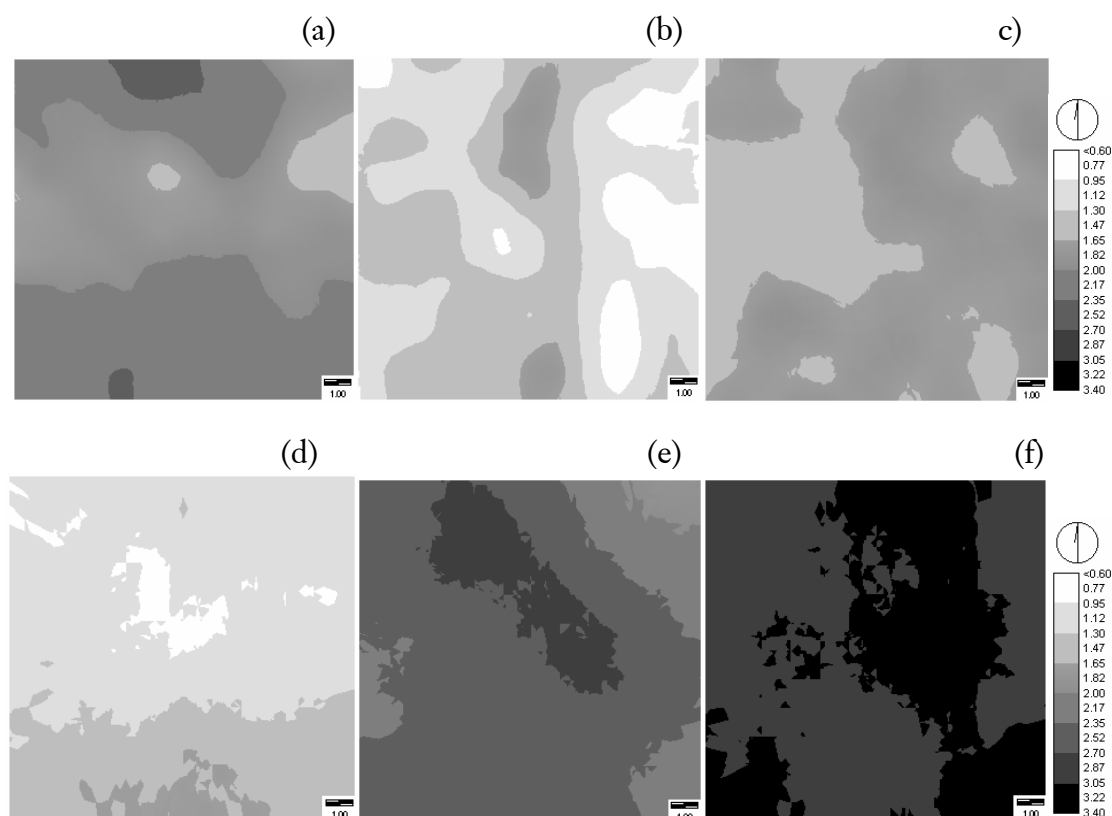


Figura 3.4. Mapas de superfície gerados por krigeagem ordinária a partir dos semivariogramas omnidirecionais e, quando da presença de anisotropia, direcionais. (a), (b) e (c), amônio para o verão no Campo, na Mata e no *Pinus* respectivamente. (d) nitrato para o verão no Campo, (e) NH_4^+ no Campo para o inverno, (f) $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno. Valores correspondem aos valores originais de nitrogênio inorgânico (mg kg^{-1}) transformados $[\ln(x+1)]$ e modelados por krigeagem ordinária em função dos semivariogramas ajustados para cada variável em cada sítio (ver texto para detalhes). Escala corresponde a 1 m.

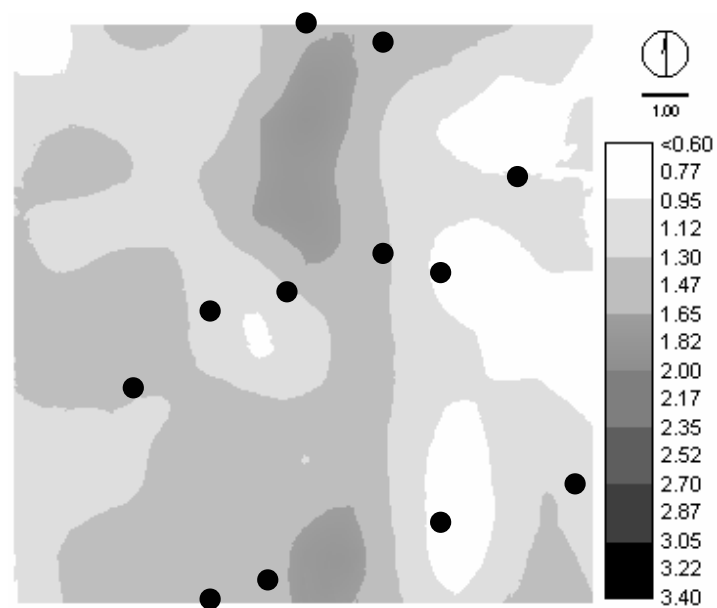


Figura 3.5. Posição de plantas (15-85 cm de altura) de *A. angustifolia* no sítio Mata no verão em relação à espacialização de NH_4^+ por krigeagem ordinária. Cada ponto representa um indivíduo. Observa-se que os indivíduos da espécie podem experimentar ambientes bastante distintos de manchas de amônio.

4. Discussão geral

Aqui serão discutidos em maior detalhe alguns aspectos quanto aos procedimentos adotados em ambos os trabalhos. Ao final, discute-se de forma breve a relação entre os dois trabalhos. Resultados adicionais, não apresentados nos artigos, são expostos nos anexos.

4.1. Considerações adicionais

4.1.1. Solo: coleta, transporte e análise

A nitrificação e a amonificação em solos são realizadas, em grande parte, por bactérias aeróbias sujeitas a alterações no ritmo de atividade quando expostas a mudanças de temperatura e níveis de oxigenação (Rosswall, 1982). Assim, deve-se estar atento quanto aos procedimentos adequados de coleta, transporte e armazenamento das amostras. Esses cuidados com as amostras incluem rápido acondicionamento em embalagens impermeáveis, resfriamento imediato e congelamento dentro do menor tempo possível, armazenamento em congeladores ou câmaras refrigeradas que não estejam sujeitos a longos períodos de ausência de energia.

O procedimento adotado de análise química pode estar sujeito a vários problemas. Para tornar claro alguns aspectos relativos à obtenção de medidas confiáveis de nitrogênio inorgânico, cabem alguns esclarecimentos. As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, homogeneizadas, e delas retirada uma alíquota de 5 g, a qual foi submetida à extração em 50 mL de KCl 1M. Deste extrato, foi retirada uma alíquota de 20 mL, a qual foi submetida à destilação. Segundo Tedesco *et al.* (1995), os métodos de destilação a vapor têm sensibilidade adequada para a maioria dos solos e são livres de interferências por outros compostos orgânicos nitrogenados. Basicamente, o processo pode ser descrito da seguinte forma:

- (1) Alcalinização do meio com MgO para liberação de N-NH₃;
-

- (2) Redução dos compostos remanescentes, N-NO₃⁻ + N- NO₂⁻ a N-NH₃, na presença de liga Devarda (50% Cu, 45% Al e 5% Zn);
- (3) Destilação com solução indicadora e titulação respectiva dos destilados em solução ácida (H₂SO₄ 0,0025M).

Nitrogênio inorgânico total foi obtido pela soma do valor de N-NH₄⁺ encontrado com N- NO₃⁻ + N- NO₂⁻. A quantidade de N inorgânico (N-NH₄⁺ ou N- NO₃⁻ + N- NO₂⁻) foi determinada pela fórmula:

$$\text{N inorgânico (mg kg}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{mL H}^{\text{+am}} - \text{mL H}^{\text{+br}}) \times \mu\text{gN} \times \text{FD}}{\text{PSA}}$$

Onde: H^{+am} = solução ácida necessária para titulação da amostra;

H^{+br} = solução ácida necessária para titulação do branco;

N = quantidade de nitrogênio para 1 mL de ácido (70 µg);

FD = fator de diluição, no caso 2,5;

PSA = peso seco do solo para análise de nitrogênio.

No ponto de viragem da titulação, a cor do destilado com solução indicadora passa de verde claro para rosa claro permanente.

O percentual de água presente na média das subamostras foi calculado da seguinte forma:

$$\% \text{ água} = [(\text{peso úmido} - \text{peso seco}) \times 100] / \text{peso úmido}.$$

Multiplicando-se este percentual por 5 (peso em gramas da alíquota utilizada para obtenção dos extratos) tem-se o peso de água para essas 5 g. Subtraindo-se este valor de 5 tem-se o valor de PSA.

Já a obtenção do conteúdo gravimétrico de água (ca) seguiu a seguinte fórmula:

$$ca = (\text{peso úmido} - \text{peso seco}) / \text{peso seco}.$$

A obtenção de medidas confiáveis, representativas dos reais valores presentes no solo, depende de um método de medida preciso. O método de destilação proposto por Tedesco *et al.* (1995) oferece muitas vantagens: robustez, baixo custo de operação e de manutenção, obtenção de nitrato e amônio na mesma amostra, além de permitir a estocagem dos extratos em geladeira por até 24 h. Por outro lado, uma série de dificuldades práticas é encontrada pelo iniciante: a obtenção de uma solução indicadora de ácido bórico padronizada; na titulação, a definição de um padrão de “rosa claro permanente”, o que implica, no jargão, “calibrar o olho”; a obtenção de gotas de ácido (H_2SO_4 0,0025 M) para a titulação com volume de 0,01 mL e, conseqüentemente, uma bureta com tal precisão de leitura; problemas com a operação do destilador, como a perda de nitrogênio devido ao mal resfriamento do condensador e um possível efeito de “memória” após destilar uma amostra com muito nitrogênio; ainda, o uso simultâneo de dois destiladores o que implica que ambos devem estar ajustados para fornecerem as mesmas leituras para os mesmos extratos. Assim, deve-se estar atento à possibilidade de algumas amostras estarem sujeitas a erros analíticos. No presente estudo, algumas leituras de subamostras foram excluídas para efeitos de cálculo, devido à potencial possibilidade de estas estarem sujeitas a erros analíticos, tanto devido à perda de nitrogênio quanto a um possível efeito de memória. Tais leituras totalizaram 67 de 3042 subamostras submetidas à análise. O critério de exclusão foi subjetivo, seguindo o princípio de que se houvesse duas leituras próximas e a terceira muito alta ou muito baixa (em torno de 10 vezes ou mais, para mais ou para menos em relação à média das outras duas) esta seria excluída. Tal critério não se mostrou adequado na presença de leituras muito baixas (menos de 2 mg kg^{-1}), uma vez que a variação obtida pode ser devido a uma variação real das subamostras. Ainda, a presença de leituras negativas (quando descontado o branco) constitui um bom indicativo de erro analítico, sendo este também usado como critério de exclusão.

Outro problema a ser considerado quando do uso do método de destilação é o tempo requerido para as análises. Com bastante treino, e com o auxílio de pelo menos

uma pessoa, é possível rodar, no máximo, de 10 a 13 extratos de solo por hora. Em um dia, o pesquisador bem treinado consegue rodar em torno de 100 amostras. Isto pode parecer bastante, porém quando se percebe que os procedimentos geoestatísticos demandam uma amostragem intensiva para se obter um retorno confiável, esta etapa torna-se longa e repetitiva, podendo tornar-se desestimulante (Robertson e Gross, 1994). O uso de equipamentos de precisão que propiciem rodar um maior número de amostras em menor tempo pode agilizar a obtenção de respostas e assim otimizar o planejamento sobre a melhor forma de abordar a questão a ser respondida no estudo.

4.1.2. Lidando com a geoestatística e sua aplicação no presente estudo

A geoestatística oferece um conjunto de ferramentas para descrição do conjunto de dados e predição em um domínio espacial que supera, em muitos aspectos, a estatística tradicional. Talvez, a principal vantagem seja a sua abordagem espacialmente explícita, que leva em consideração a dependência entre as amostras. Se os pressupostos ao modelo são satisfeitos e os dados permitem um ajuste acurado do modelo, as técnicas de krigeagem provêm uma elegante solução ao problema e são, assim, como já evidenciado, de grande valia para áreas de mineração e outras afins (Henley, 1981), além de para a própria ecologia (Rossi *et al.*, 1992).

Entretanto, as dificuldades surgem quando os dados parecem não satisfazer aos critérios requeridos. Em alguns casos, é assumido que a técnica é suficientemente robusta a ponto de se ignorar a violação das premissas (Henley, 1981). Em essência, a solução aplicada aos conjuntos de dados que violam os pressupostos é transformá-los em novos conjuntos que não os violam, e trabalhar com eles de uma forma padronizada. A validade desses métodos depende inteiramente de quão próximos e confiáveis esses novos conjuntos de dados se ajustam ao que é encontrado na população presente no mundo real, do qual eles foram retirados. Devem-se avaliar os custos e a estabilidade dessas soluções (Henley, 1981).

A não adoção de pressuposições sobre a normalidade dos dados tem seu impacto maximizado quando da presença de *outliers* na estimação. Uma vez se optando pela não

transformação dos dados, a estimação se torna particularmente sensível a distribuições fortemente assimétricas. Porém, boas estimativas podem ser obtidas em dados que não seguem uma distribuição normal, assim como dados normalizados podem não oferecer boas estimativas. Algumas ferramentas de estimação, construídas sobre a premissa de normalidade, podem ser úteis mesmo quando os dados não estão distribuídos de forma normal (Isaaks & Srivastava, 1989). O uso de dados normalizados ($\ln[x+1]$) pode alterar substancialmente a forma dos semivariogramas. Isto se deve, fundamentalmente, ao fato de que este procedimento tem influência mais forte sobre pares de comparação que possuam maior diferença (a diferença entre 1 e 10 será a mesma de entre 10 e 100). Quando mesmo a transformação não possibilitou a obtenção de uma distribuição normalizada, foi necessária a remoção de valores extremamente erráticos (*outliers*).

Uma vez que a semivariância calcula a média das diferenças entre os pontos elevados ao quadrado, a presença de *outliers* pode ter forte influência na estimação e predição do comportamento espacial da variável avaliada. Por esse motivo, tais valores são simplesmente descartados do conjunto de dados ou arbitrariamente ajustados para reduzir sua influência (Sokal & Rohlf, 1981; Isaaks & Srivastava, 1989; Rossi *et al.*, 1992). Porém, quando tais valores provêm de um procedimento analítico exaustivo, não contendo erros dessa natureza, não há justificativa para a aplicação desses métodos, devendo esses pontos ser incorporados na análise estatística. Além disso, remover amostras do conjunto de dados pode mostrar-se pouco satisfatório, uma vez que tal procedimento implica a remoção de todos os pares de comparação que tais amostras envolviam; enquanto algumas dessas comparações podiam ser erráticas, outras podiam estar verdadeiramente representando a continuidade espacial (Isaaks & Srivastava, 1989). Embora alguns métodos de identificação de *outliers* possam ser aplicados (Sokal & Rohlf, 1981; Isaaks & Srivastava, 1989; Rossi *et al.* 1992), sendo o coeficiente de assimetria (CA ou *skewness*) e os histogramas bastante úteis, não há regras que especifiquem quais amostras devam ser removidas, e o procedimento pode ser um tanto arbitrário. Por outro lado, a remoção de *outliers* (mesmo advindos de procedimentos amostrais e analíticos extremamente confiáveis) pode, efetivamente, revelar a presença de dependência espacial.

Caso não se atente para os possíveis efeitos de valores erráticos na análise, a presença de dependência espacial pode ser negligenciada (Isaaks & Srivastava, 1989). Em geral, variáveis ecológicas tendem a grandes variações e espera-se que ocorram *outliers* (Rossi *et al.*, 1992). A presença de dados “mal comportados” (com altos CVs e *outliers*, por exemplo) pode enfraquecer a estimativa fornecida pelo semivariograma, mas não pode ser considerada condição para não aplicação de um dado método de estimação (Isaaks & Srivastava, 1989).

Pode-se argumentar que a transformação de dados para análise geoestatística deveria ter sido realizada na medida do necessário, somente para aqueles conjuntos que demonstrassem distribuição não-normal. Entretanto, para se comparar diferentes variáveis entre os sítios, é necessário que a escala de comparação seja mantida, pois precisamos comparar os sítios na mesma “moeda”. Por exemplo, não há como comparar a variação pepita (C_0) entre sítios e/ou variáveis tratadas em diferentes magnitudes se há transformação de alguns conjuntos de dados e não de outros. A decisão, que pode parecer simples, implica transformar todo o conjunto de dados (todas as variáveis para todos os sítios, mesmo que não seja necessário para algumas variáveis) ou, não transformar os dados, trabalhando com todos eles em seu estado bruto. De fato, Gross *et al.* (1995) utilizaram semivariogramas para descrição do comportamento espacial de nitrogênio inorgânico, sem levar em consideração a necessidade de distribuição normal de todo o conjunto de dados. Assim, seus dados não foram transformados. Entretanto muitas de suas variáveis brutas tinham uma distribuição normal. Muitas variáveis do solo têm distribuições nem próximas da normalidade (Isaaks & Srivastava, 1989). Desse modo, é possível, como foi observado neste estudo, que nem todas as variáveis para todos os sítios atinjam uma distribuição normal, mesmo depois da transformação: caso da umidade e, do nitrogênio inorgânico, quando da presença de valores atípicos (*outliers*).

No presente estudo, três valores erráticos foram removidos. No verão, para as variáveis amônio no Campo (24,85 mg kg⁻¹) e nitrato na Mata (28,87 mg kg⁻¹), e no inverno para amônio + nitrato na Mata (58,58 mg kg⁻¹). Embora esses valores tenham se mostrado consistentes em sua obtenção, a análise de dependência espacial nos sítios de

onde eles são provenientes mostrou-se bastante comprometida em relação àquela sem tais *outliers*. Em outras palavras, ou não foi possível identificar dependência espacial na escala medida, ou não foi possível o ajuste de um modelo razoável. Além disso, o método de estimação utilizado (momentos) é mais sensível à presença de *outliers* (Cressie, 1993). Assim, optou-se pela remoção desses valores e, conseqüentemente, pela descrição de um padrão espacial mais claramente definido e representativo da área amostrada. Além disso, obedeceu-se à pressuposição de distribuição normal dos dados. Porém, isso não exclui a necessidade de se buscar entender os processos subjacentes que dão origem à presença desses valores erráticos. Infelizmente, a origem desses *outliers* na área de estudo pode ter muitas razões, muitas delas extremamente aleatórias, tanto espacial quanto temporalmente. Estas vão desde a deposição de dejetos de animais até a atividade local da mesofauna do solo. Contudo, mesmo que haja explicação para a presença desses valores, pode-se considerar que eles não sejam representativos da maior parte da dependência espacial medida, não contribuindo para a explicação dos processos espaciais nas áreas de estudo. Meisel & Turner (1998), em uma excelente avaliação do potencial de uso de semivariogramas em escalas de paisagem, demonstraram que a exclusão de até 50 % dos dados (metade da área total) pode não influenciar o variograma.

Pode-se argumentar que o semivariograma pode produzir resultados incompletos e confusos do padrão espacial quando as médias locais e a variância mudam, sendo necessárias outras ferramentas de estimação que incorporem estes aspectos (Rossi *et al.* 1992). O jargão estatístico para quando os valores dos dados variam mais em algumas regiões do que em outras é a heterocedasticidade. De fato, a constatação de uniformidade nas médias locais indica a presença de valores “bem comportados”, sendo que uma das características de valores distribuídos de forma normal é que, usualmente, não existe efeito proporcional (incremento na média local com concomitante aumento na variância) e, a grosso modo, o desvio padrão local é constante (Isaaks & Srivastava, 1989). A teoria de variáveis regionalizadas permite que a suposição de uma distribuição homogênea da variância e da covariância na região amostral seja relaxada (Robertson & Gross, 1994). Entretanto, isso não guarda relação com o método de estimação que se escolhe utilizar.

As estimativas advindas de qualquer método vão se beneficiar de baixa variabilidade e sofrer com alta variabilidade. Em outras palavras, o semivariograma (ou qualquer outro método de estimação) apenas funciona melhor para um conjunto de dados onde não há efeito proporcional (Isaaks & Srivastava, 1989). Apenas lembrando, quando a variável sob consideração tem o mesmo valor médio onde quer que a locação do ponto seja considerada, temos definido o que se chama estacionariedade de primeira ordem (Henley, 1981). A pressuposição de estacionariedade diz respeito ao modelo e não guarda relação com a realidade de cada situação. Isto também vale no momento de se definir o número de pontos amostrais que definirão a área de vizinhança na krigagem, ou seja, esta área, não necessariamente deve ter uma variância dentro de certos limites (Isaaks & Srivastava, 1989). Apesar de ser adequado que esta área (definida pelo número máximo de pontos ou pelo raio, i.e., da vizinhança de cada ponto amostral) não exceda a amplitude definida pelos modelos ajustados (Cressie, 1993), isto não é uma regra e pode ser relaxado em muitos casos (Isaaks & Srivastava, 1989).

Outro aspecto importante a ser observado no uso de semivariogramas para a identificação de manchas de nutrientes em solos é definir o que é, “geoestatisticamente”, uma mancha. A grande maioria das publicações que lidam com o termo, não o define, ou o fazem de forma vaga. Operacionalmente poderíamos definir manchas como unidades da paisagem com certo tamanho, forma e limite claros. Isto implica uma distribuição não uniforme ou aleatória, mas agregada (Guo, 2001). Quando os limites não são claros, ou seja, quando se lida com variáveis contínuas onde o que se tem são gradientes, determinar o ponto onde começa ou termina uma mancha pode tornar-se uma tarefa bastante arbitrária. O uso de semivariogramas para identificação de manchas de nutrientes em solos assume um valor médio para o tamanho dessas manchas. São esses valores médios que são usados para comparar diferentes habitats. Assim, a confiabilidade no modelo final está atrelada ao alcance de uma estabilização do variograma e de uma resolução mínima que capte o incremento na variação até esse patamar. Isto define uma mancha em geoestatística. Porém, ainda não existe uma compreensão completa sobre a aplicação da geoestatística na ecologia (Guo, 2001). Para isto, são necessários muito mais estudos,

porém as perspectivas são bastante promissoras (Rossi *et al.*, 1992; Robertson & Gross, 1994).

A estratégia de amostragem adotada para verificação da variação temporal pode ser alvo de crítica. Quando se toma uma área adjacente para comparação temporal dos sítios, é assumido que a variação espacial devido a essas adjacências é mínima. Outras estratégias podem ser adotadas para medir a variação espacial e temporal do nitrogênio inorgânico em solos. Duas linhas de abordagem podem ser distinguidas aqui: (1) o uso de metodologias de amostragem que permitam avaliar a variação temporal de forma não-destrutiva e (2) amostragens destrutivas em que o procedimento amostral e estatístico adotado permite avaliar a variação temporal.

Com relação ao primeiro ponto, é possível a detecção de variações temporais em espaços curtos de tempo. Cain *et al.* (1999) propuseram um método baseado em estacas com membranas de troca iônica (*ion exchange membrane spikes*) e Farley & Fitter (1999) utilizaram RSSS (*rhizon soil solution samplers*): basicamente, tubos de vidro poroso que coletam a solução do solo. Esses métodos são minimamente destrutivos, porém são relativamente recentes e de acesso restrito. Isto torna inviável, num primeiro momento, considerar o seu uso. Portanto elas foram descartadas no momento de concepção do projeto do presente estudo. Já com relação ao segundo ponto, uma estratégia que pode ser adotada é o de amostragem aninhada (Frankland *et al.*, 1963; Prasolova *et al.*, 2000; Farley & Fitter, 1999). Nesta abordagem, quadrantes maiores são subdivididos em quadrantes menores e assim por diante, e a comparação é feita considerando a variância dentro de cada quadrante e entre estes. Não há garantias de que os furos feitos para coleta de amostras em um dado período não influenciarão as coletas subseqüentes. A principal conseqüência é a possibilidade de uma maior percolação de água dentro do quadrante de estudo; quanto mais água, menos oxigênio, menor atividade microbiana etc. Essas conseqüências são indesejáveis, tanto que Farley & Fitter (1999) procederam ao preenchimento desses buracos logo após as coletas para minimizar este efeito. Frankland *et al.* (1963), fazendo uso dessa abordagem amostral, porém sem o preenchimento dos furos, encontraram uma variabilidade temporal menor que a espacial e concluíram que a

variação espacial interna obscureceu a variação mensal. O quanto dessa variação espacial foi devido ao procedimento de coleta permaneceu não respondido.

A estratégia adotada no presente estudo foi aquela que se adequou ao método de procedimento estatístico escolhido, que tem muitas vantagens, já descritas anteriormente. Até onde sabemos, este é o primeiro trabalho utilizando geoestatística, que fez uso de uma área adjacente para comparação temporal de nitrogênio inorgânico. Pode parecer óbvio, mas o método destrutivo de análise química utilizado impõe uma limitação severa: o ponto amostrado num período não pode mais ser utilizado em outro porque, simplesmente, ele não existe mais. A forte variação temporal encontrada garante que a variação dada por causas espaciais (adjacências) pouco influenciou na comparação temporal.

Outra consequência da estratégia de amostragem escolhida é de que as comparações (utilizando testes de hipóteses) entre os sítios foram feitas com base em pseudo-replicações (Hurlbert, 1984), o que exige que se tenha cautela quanto às inferências estatísticas aqui realizadas. A pseudo-replicação limita o espaço de inferência implícito no teste de hipóteses (Hurlbert, 1984). Assim, no presente estudo, é adequado dizer que as diferenças encontradas entre os sítios dizem respeito somente às malhas amostradas ou locações (Mata, Campo e *Pinus*) e não entre as formações vegetais correspondentes, mata nativa, campo e plantação de *Pinus*. Entretanto, mesmo que fosse possível (tendo em vista as dificuldades logísticas e de volume de trabalho) replicar os sítios, a obtenção de replicações genuínas nesses casos é quase impossível (Oksanen, 2001). Por exemplo, poderiam ser delimitadas outras malhas amostrais em outros topos de coxilha. Apesar das dificuldades de execução dessa tarefa em tempo hábil, a altitude seria apenas um dos fatores a influenciar as diferenças entre as replicações. Nesse caso a segregação horizontal seria um problema tão grave quanto a segregação vertical (Oksanen, 2001). Para o autor, na ausência de soluções melhores, o pesquisador pode usar estatística inferencial ligando o raciocínio ecológico posteriormente para uma interpretação adequada dos resultados. A solução seria o uso de um número adequado de replicações que permitissem avaliar, dada a variabilidade esperada ou observada, a

hipótese de diferenças estatísticas entre os tratamentos (Hurlbert, 1984). Isto, a despeito de se considerar a impossibilidade, no presente estudo, de entremeamento dos tratamentos. Gross *et al.* (1995) utilizaram estatística inferencial no contexto de pseudo-replicações na comparação de suas áreas amostradas. Já Guo *et al.* (2002; 2004), fazendo uso de replicações verdadeiras, utilizaram ANOVA para comparações entre seus sítios. Entretanto, o grande volume de amostras necessário para se obter tais replicações forçou o uso de um menor número de pontos de coleta (41) para cada malha, o que certamente influenciou a análise geoestatística, uma vez que Webster & Oliver (1992) afirmam que o uso de semivariogramas isotrópicos baseados em menos de 50 valores são de pouco valor analítico. Claramente, o problema, nesses casos (incluindo o do presente estudo), é que a amostragem é feita no contexto da análise geoestatística; não tem o objetivo direto de testar uma hipótese específica sobre diferenças entre as formações vegetais analisadas. Os testes de hipóteses são utilizados apenas para clarificar e/ou salientar diferenças entre os sítios.

A coleta de três pontos (três subamostras) por ponto base (amostra) é mostrada, de forma mais detalhada, na Figura 4.1. As subamostras foram coletadas e analisadas independentemente durante todo o processo. Este procedimento pode aumentar consideravelmente a variabilidade interna entre os três pontos. Uma alternativa seria a coleta de uma única amostra composta de três pontos (composta das três subamostras). Isto reduziria o número de amostras submetidas à análise química permitindo ainda manejar um número bem menor de amostras sem perda de precisão na obtenção da média das estimativas (Prasolova *et al.*, 2000). Entretanto, isto não permite replicar a análise do ponto, a não ser que se submetam três alíquotas da amostra composta para análise. De qualquer forma, não haveria redução do número total de análises a serem realizadas. A única vantagem de se coletar uma amostra composta de três pontos é, como já colocado, tornar a medida mais próxima da média. Ainda assim, alíquotas não constituem repetições do ponto: são repetições da análise química. Para se obterem repetições do ponto, devem-se coletar subamostras do ponto a ser estimado.

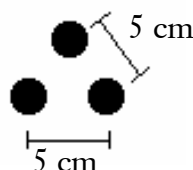


Figura 4.1. Esquema de coleta das subamostras de solo nos pontos de amostragem.

Os semivariogramas omnidirecionais e os mapas de krigeagem para todos os sítios no verão e no inverno, respectivamente, são apresentados nos anexos (Figuras 6.1 a 6.4). É importante salientar que, na presença de anisotropia, o semivariograma omnidirecional não deve ser considerado. A interpolação dos pontos na krigeagem com o uso de variogramas omnidirecionais considera que o incremento na variação é o mesmo em todas as direções, o que não é real na presença de anisotropia. Entretanto, aqui eles são mostrados para demonstrar que, de fato, eles são uma média dos variogramas direcionais, por que a amostragem foi regular. A presença de anisotropia foi considerada na confecção desses mapas.

4.1.3. ANR e clorofilas

A determinação da atividade enzimática se dá pela quantificação de nitrito formado pela reação de redução de nitrato. Realizada segundo o método de Klumpp *et al.*, (1989), a determinação lança mão da seguinte fórmula:

$$AT \text{ (nmol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}) = (\text{FCM A540}'' 4 / \text{PA}) - (\text{FCM A540}' 5 / \text{PA}) T^{-1}$$

onde,

AT = atividade, em folhas ou raízes;

FCM = fator de calibração médio, obtido através da razão entre a concentração de nitrito formado em soluções padrão e a absorbância em 540 nm. No presente estudo FCM = 40,943;

A540'' e A540' = absorbâncias na segunda e primeira leituras, respectivamente;

PA = peso da amostra;

T = tempo entre a primeira e a segunda leitura, 1 h.

A ANR pode ser medida tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Para o primeiro método, nitrato e NAD(P)H são fornecidos em níveis saturantes, considerando-se assim, que ele indique a capacidade do tecido em reduzir nitrato quando não há limitação de substrato algum. Para o segundo, utilizado no presente estudo, usualmente adiciona-se nitrato, porém não são adicionados redutores, restando somente os níveis endógenos de NAD(P)H. Dessa forma, considera-se que ele indique a capacidade do tecido em reduzir nitrato quando este não é limitante (Andrews 1986). Ambos estão diretamente relacionados, porém nenhum desses métodos pode fornecer valores indicativos da atividade *in situ*. Este problema torna-se de maior importância quando a planta apresenta níveis elevados de ANR constitutiva. Assim os ensaios podem fornecer valores de ANR elevados para plantas que crescem na ausência de nitrato. Alternativamente, poderia ser utilizado um ensaio *in vivo* sem nitrato como indicativo da atividade *in situ*, o que acarretaria em outros problemas como o fim do fluxo de NO_3^- para os tecidos e a diluição dos níveis internos do mesmo. Entretanto, é amplamente aceito que tanto quantificações *in vitro* quanto *in vivo* refletem o que está ocorrendo com a planta *in situ* (Smirnoff & Stewart 1985; Andrews 1986).

A determinação do conteúdo de clorofilas seguiu as equações de Wintermans & DeMots (1965). Dessa forma,

$$\text{Cla } (\mu\text{g mL}^{-1} \text{ solução}) = 13,7 \text{ A665} - 5,76 \text{ A649}$$

$$\text{Clb } (\mu\text{g mL}^{-1} \text{ solução}) = 25,8 \text{ A649} - 7,6 \text{ A665}$$

$$\text{Cltot } (\mu\text{g mL}^{-1} \text{ solução}) = 6,1 \text{ A665} - 20,04 \text{ A649},$$

onde, Cla, Clb e Cltot são, respectivamente, as concentrações de clorofilas a, b e total. A649 e A665 são as absorvâncias em 649 e 665 nm, respectivamente. A concentração de clorofilas (mg g^{-1}) foi calculada pela equação

$$\text{conteúdo de clorofilas (mg g}^{-1}\text{)} = \text{Cl(a, b ou tot)} V_{\text{ext}} 10^{-3} / \text{PS}$$

onde,

$$V_{\text{ext}} \text{ (mL)} = \text{volume do extrato e}$$

$$\text{PS (g)} = \text{peso seco.}$$

Knudson *et al.* (1977) não encontraram diferenças entre o conteúdo de clorofilas determinado a partir da extração em etanol 96 % (para o qual as fórmulas foram desenvolvidas) para aquele determinado em etanol 100 % (concentração utilizada pelos autores).

4.2. Considerações finais

O amônio foi a forma de nitrogênio que propiciou o desenvolvimento mais adequado em plantas de *A. angustifolia*. Entretanto, o nitrato também é requerido, pois parece ser um importante regulador da ramificação radicular, crescimento, e distribuição de C e N no corpo da planta. O amônio não foi a forma de N predominante no ambiente tido como climácico, mata nativa, em ambos os períodos do ano avaliados. Apesar disso, esta forma de N é a predominantemente presente no campo nativo e na plantação de *Pinus*. A variação de N inorgânico se mostrou mais estruturada nos sítios mais antigos, mata nativa e campo nativo, em relação à plantação de *Pinus*. Entretanto, o comportamento do ambiente de manchas é diferente nos sítios nos dois períodos do ano avaliados.

Assim, fica evidente que a forma de nitrogênio inorgânico desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de plantas de *A. angustifolia*. Somado a isso, os solos que a espécie encontra podem variar muito quanto às quantidades e quanto à estrutura da variação, tanto entre diferentes sítios quanto entre diferentes épocas. O quanto essa

variação pode interferir no desenvolvimento de plantas precisa ser avaliado. Isto permitiria prever mais precisamente os efeitos das variações encontradas a campo. Reflorestamentos e asserções sobre os ambientes de ocorrência da espécie precisam ser reavaliados. Para o primeiro, um cuidado que antes era desconsiderado, agora deve ser levado em conta: o amônio deve ser a forma predominantemente disponível ou, deve estar presente em quantidades mínimas que garantam um desenvolvimento adequado da planta. Entretanto, isto precisa de validação a campo. Para o segundo, a constatação de que o nitrato é a forma predominante na mata nativa, pelo menos em dois períodos do ano, diferentemente do campo nativo e da plantação de *Pinus*, o maior contraste das manchas de amônio na mata nativa aliado à formação evidente de zonas de depleção de amônio, chamam a atenção para aspectos de competitividade e de plasticidade radicular da planta em diferentes ambientes em relação às espécies latifoliadas. Estas podem apresentar diferentes padrões de preferência de N inorgânico, podendo estar mais aptas que o pinheiro brasileiro a um melhor uso de N principalmente na mata. Estes aspectos também precisam de estudos mais detalhados.

5. Referências bibliográficas

- ADAMS, M. A. & ATTWILL, P. M. (1982) Nitrate reductase activity and growth response of forest species to ammonium and nitrate sources of nitrogen. *Plant and Soil*, v.66, pp.373-381.
- AIDAR, M. P. M.; SCHMIDT, S.; MOSS, G.; STEWART, G. R. & JOLY, C. A. (2003) Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell and Environment*, v.26, pp.389-399.
- ANDREWS, M. (1986) The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant, Cell and Environment*, v.9, pp.511-519.
- ÁQUILA, M. E. A. & FERREIRA, A. G. (1984) Germinação de sementes escarificadas de *Araucaria angustifolia* em solo. *Ciência e Cultura*, v.36, n.9, pp.1583-1589.
- ARNOLD, G. & VAN DIEST, A. (1991). Nitrogen supply, tree growth and soil acidification. *Fertilizer Research*, v.27, pp.29-38.
- ARNOLD, G. (1992). Soil acidification as caused by the nitrogen uptake pattern of Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Plant and Soil*, v.142, pp.41-51.
- ATTWILL, P. M. & ADAMS M. A. (1993) Tansley Review, 50. Nutrient cycling in forests. *New Phytologist*, v.124, pp.561-582.
- BEHLING, H.; PILLAR, V. D.; ORLÓCI, L. & BAUERMANN S. G. (2004) Late Quaternary *Araucaria* forest, grassland (Campos), fire and climate dynamics, studied by high-resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the Cambará do Sul core in southern Brazil. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, v.203, pp.277-297.
- BELL, G. & LECHOWICZ, M. J. (1994) Spatial heterogeneity at small scales and how plants respond to it. In: *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above- and Belowground* (eds M. M. Caldwell & R. W. Pearcy). San Diego: Academic Press, pp.391-414.
-

-
- BERENDSE, F. (1998) Effects of dominant plant species on soils during succession in nutrient-poor ecosystems. *Biogeochemistry*, v.42, pp.73-78.
- BIJLSMA, R. J. & LAMBERS, H. (2000) A dynamic whole-plant model of integrated metabolism of nitrogen and carbon. 2. Balanced growth driven by C fluxes and regulated by signals from C and N substrate. *Plant and Soil*, v.220, pp.71-87.
- BIJLSMA, R. J.; LAMBERS, H. & KOOIJMAN, S. A. L. M. (2000) A dynamic whole-plant model of integrated metabolism of nitrogen and carbon. 1. Comparative ecological implications of ammonium-nitrate interactions. *Plant and Soil*, v.220, pp.49-69.
- BRITTO, D. T. & KRONZUCKER, H. J. (2002) NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology*, v.159, pp.567-584.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSSEN, W. & RUSSEL, L. J. (2000) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1367 p.
- BUNGARD, R. A.; WINGLER, A.; MORTON, J. D.; ANDREWS, M.; PRESS, M. C. & SCHOLLES, J. D. (1999) Ammonium can stimulate nitrate and nitrite reductase in the absence of nitrate in *Clematis vitalba*. *Plant Cell and Environment*, v.22, pp.859-866.
- CAIN, M. L.; SUBLER, S.; EVANS, J. P. & FORTIN, M.-J. (1999) Sampling spatial and temporal variation in soil nitrogen availability. *Oecologia*, v.118, pp.397-404.
- CLARK LABS (2001) *Idrisi32 v.32.2*. Worcester, USA: Clark University, CD ROM.
- CRAWFORD, N. M. & GLASS, A. D. M. (1998) Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in Plant Science*, v.3, n.10, pp.389-395.
- CRAWFORD, N. M. (1995) Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *The Plant Cell*, v.7, pp.859-868.
-

-
- CRESSIE, N. A. C. (1993). *Statistics for spatial data*, Revised Edition, New York: John Wiley & Sons, Inc., 900p.
- DE BOER, W & KOWALCHUCK, G. A. (2001) Nitrification in acid soils: microorganisms and mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*, v.33, pp.853-866.
- DE BOER, W. & KESTER, R. A. (1996) Variability of nitrification potentials in patches of undergrowth vegetation in primary Scots pine stands. *Forest Ecology and Management*, v.86, pp. 97-103.
- DIEKMANN, M. & FALKENGREN-GRERUP, U. (1998) A new species index for forest vascular plants: development of functional indices based on mineralization rates of various forms of soil nitrogen. *Journal of Ecology*, v.86, pp.269-283.
- DREW, M. C. (1975) Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth of the seminal root system, and the shoot, in barley. *New Phytologist*, v.75, pp.479-490.
- DRIESSCHE, R. van den, (1971) Response of conifer seedlings to nitrate and ammonium sources of nitrogen. *Plant and Soil*, v.34, pp.421-439.
- DUARTE, L. S. & DILLENBURG, L. R. (2000) Ecophysiological responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) seedlings to different irradiance levels. *Australian Journal of Botany*, v.48, n.4, pp.531-537.
- EISSENSTAT, D. M. & CALDWELL, M. M. (1988) Seasonal timing of root growth in favorable microsites. *Ecology*, v.69, n.3, pp.870-873.
- EPSTEIN, E., (1975) *Nutrição Mineral das Plantas, Princípios e Perspectivas*. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos; São Paulo, Ed. da Universidade de São Paulo, 344p.
- ETTEMA, C. H. & WARDLE, D. A. (2002) Spatial soil ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, v.17, n.4, pp.177-183.
-

-
- FALKENGREN-GRERUP, U. & LAKKENBORG-KRISTENSEN, H. (1994). Importance of ammonium and nitrate to the performance of herb-layer species from deciduous forest in southern Sweden. *Environmental and Experimental Botany*, v.34, pp.31-38.
- FARLEY, R. A. & FITTER, A. H. (1999) Temporal and spatial variation in soil resources in a deciduous woodland. *Journal of Ecology*, v.87, pp.688-696.
- FIELD, C. B. & EHLERINGER, J. R. (1993) Introduction: Questions of Scale. In: *Scaling Physiological Processes: Leaf to Globe* (eds C. B. Field & J. R. Ehleringer). San Diego, Academic Press, pp.1-4.
- FITTER, A. H. (1982) Influence of soil heterogeneity on the coexistence of grassland species. *Journal of Ecology*, v.70, pp.139-148.
- FITTER, A. H. (1994) Architecture and biomass allocation as components of the plastic response of root systems to soil heterogeneity. In: *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above- and Belowground* (eds M. M. Caldwell & R. W. Pearcy). San Diego: Academic Press, pp.305-323.
- FRANCO, A. C.; DUARTE, H. M.; GEßLER, A.; MATTOS, E. A. de; NAHM, M.; RENNEMBERG, H.; RIBEIRO, K. T.; SCARANO, F. R. & LÜTTGE, U. (2005) In situ measurements of carbon and nitrogen distribution and composition, photochemical efficiency and stable isotope ratios in *Araucaria angustifolia*. *Trees*, v.19, pp.422-430.
- FRANKLAND, J. C.; OVINGTON, J. D. & MACRAE, C. (1963) Spatial and seasonal variations in soil litter and ground vegetation in some lake district woodlands. *Journal of Ecology*, v.51, n.1, pp.97-112.
- FRIEND, A. L.; EIDE, M. R. & HINCKLEY, T. M. (1990) Nitrogen stress alters root proliferation in Douglas-fir seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, v.20, pp.1524-1529.
-

-
- GALBALLY, I. E. & GILLET, R., W. (1988) Processes Regulating Nitrogen Compounds in the Tropical Atmosphere. In: *Acidification in Tropical Countries* (eds. H. Rodhe & R. Herrera). John Wiley & Sons Ltd, pp.73-116.
- GEORGE, E. & STOBER, B. S. & SEITH, B. (1999) The use of different nitrogen sources by young Norway spruce plants. *Trees*, v.13, pp.199-205.
- GERENDÁS, J. & RATCLIFFE, R. G. (2000) Intracellular pH regulation in maize tips exposed to ammonium at high external pH. *Journal of Experimental Botany*, v.51, pp.207-219.
- GIGON, A. & RORISON, I.H. (1972) The response of some ecologically distinct plant species to nitrate- and to ammonium-nitrogen. *Journal of Ecology*, v.60, pp.93-102.
- GLASS, A. D. M.; BRITTO, D. T.; KAISER, B. N.; KINGHORN, J. R.; KRONZUCKER, H. J.; KUMAR, A.; OKAMOTO, M.; RAWAT, S.; SIDDIQI, M. Y.; UNKLES, S. E. & VIDMAR, J. J. (2002) The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants. *Journal of Experimental Botany*, v.53, n. 370, pp.855-864.
- GOTTSCHALK, G. (1985) *Bacterial Metabolism*. 6.ed. New York: Springer-Verlag, 281p.
- GRIME, J. P. (1994) The role of plasticity in exploiting environmental heterogeneity. In: *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above- and Belowground* (eds M. M. Caldwell & R. W. Pearcy). San Diego: Academic Press, pp.1-19.
- GROGAN, P.; BRUNS, T. D. & CHAPIN III, F. S. (2000) Fire effects on ecosystem nitrogen cycling in a Californian bishop pine forest. *Oecologia*, v.122, pp.537-544.
-

-
- GROSS, K.L., PREGITZER, K.S. & BURTON, A.J. (1995) Spatial variation in nitrogen availability in three successional plant communities. *Journal of Ecology*, v.83, pp. 357-367.
- GUO, D. (2001) Spatio-temporal patterns of soil resources following disturbance in a 40-year-old slash pine (*Pinus Elliottii* engelm.) forest in the coastal plain of South Carolina. Dissertação de Doutorado em Filosofia, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, EUA, 140p.
- GUO, D.; MOU, P.; JONES, R. H. & MITCHELL, R. J. (2002) Temporal changes in spatial patterns of soil moisture following disturbance: an experimental approach. *Journal of Ecology*, v.90, pp.338-347.
- GUO, D.; MOU, P.; JONES, R. H. & MITCHELL, R. J. (2004) Spatio-temporal patterns of soil available nutrients following experimental disturbance in a pine forest. *Oecologia*, v.138, pp.613-621.
- GUTSCHICK, V. P. (1981) Evolved strategies in nitrogen acquisition by plants. *The American Naturalist*, v.118, n.5, pp.607-637.
- HE, Z. L.; ALVA, A. K.; CALVERT, D. V. & BANKS, D. J. (1999) Ammonia volatilization from different fertilizer sources and effects of temperature and soil pH. *Soil Science*, v.164, n.10, pp.750-758.
- HENLEY, S. (1981) *Nonparametric Geostatistics*. London: Elsevier Applied Sciences Publishers, 145p.
- HERSHEY, D. R. (1990) Container-soil physics and plant growth. *Bioscience*, v.40, n.9, pp.685-686.
- HILBERT, D. W. (1990) Optimization of plant root:shoot ratios and internal nitrogen concentration. *Annals of Botany*, v.66, pp.91-99.
-

-
- HODGE, A.; ROBINSON, D. & FITTER, A. (2000) Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trends in Plant Science*, v.5, n.7, pp.304-308.
- HULBERT, S. H. (1984) Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, v.54, n.2, pp.187-211.
- HUTCHINGS, M. J.; JOHN, E. A. & WIJESINGHE, K. (2003) Toward understanding the consequences of soil heterogeneity for plant populations and communities. *Ecology*, v.84, n.9, pp.2322-2334.
- IBGE (1986) *Levantamento de recursos naturais*. IBGE, Rio de Janeiro, 791p.
- INGESTAD, T. & ÅGREN, G. I. (1991) The influence of plant nutrition on biomass allocation. *Ecological Applications*, v.1, n.2, pp.168-174.
- INGESTAD, T. (1979) Nitrogen stress in birch seedlings II. N, K, P, Ca and Mg nutrition. *Physiologia Plantarum*, v.45, pp.149-157.
- ISAAKS, E. H. & SRIVASTAVA, R. M. (1989) *Applied Geostatistics*. New York: Oxford University Press, 561p.
- IUCN (2004) 2004 *IUCN Red List of Threatened Species*. <www.redlist.org>. Downloaded on 22 July 2005.
- JACKSON, R. B. & CALDWELL, M. M. (1989) The timing and degree of root proliferation in fertile-soil microsites for three cold-desert perennials. *Oecologia*, v.81, pp.149-153.
- JACKSON, R. B. & CALDWELL, M. M. (1993a) Geostatistical patterns of soil heterogeneity around individual perennial plants. *Journal of Ecology*, v.81, pp.683-692.
- JACKSON, R. B. & CALDWELL, M. M. (1993b) The scale of nutrient heterogeneity around individual plants and its quantification with geostatistics. *Ecology*, v.74, n.2, pp.612-614.
-

-
- KELTJENS W. G. & VAN LOENEN, E. (1989) Effects of aluminium and mineral nutrition on growth and chemical composition of hydroponically grown seedlings of five different forest tree species. *Plant and Soil*, v.119, pp.39-50.
- KERSHAW, P & WAGSTAFF, B. (2001) The southern conifer family Araucariaceae: history, status, and value for paleoenvironmental reconstruction. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.32, pp.397-414.
- KLUMPP, A., KUPPERS, K. & GUDERIAM, R. (1989) Nitrate reductase activity of needles of Norway spruce fumigated with different mixture of ozone, sulfur dioxide, and nitrogen dioxide. *Environmental Pollution*, v.58, pp. 268-271.
- KNUDSON, L. L.; TIBBILIS, T. W. & EDWARDS, G. E. (1977) Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. *Plant Physiology*, v.60, pp.606-608.
- KOSEGARTEN, H.; GROLIG, F.; WIENECKE, J.; WILSON, G. & HOFFMANN B. (1997) Differential ammonia-elicited changes of cytosolic pH in root hair cells of rice and maize as monitored by 2', 7' -bis-fluorescence ratio. *Plant Physiology*, v.113, pp.451-461.
- KOSEGARTEN, H.; HOFFMANN B. & MENGEL, K. (1999) Apoplastic pH and Fe³⁺ reduction in intact sunflower leaves. *Plant Physiology*, v.121, pp.1069-1079.
- KRONZUCKER, H. J.; SIDDIQI, M. Y. & GLASS, A. D. M. (1997) Conifer root discrimination against soil nitrate and the ecology of forest succession. *Nature*, v.385, n.2, pp.59-64.
- KRONZUCKER, H. J.; SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. & BRITTO, D. T. (2003) Root ammonium transport efficiency as a determinant in forest colonization patterns: an hypothesis, *Physiologia Plantarum*, v.117, pp.164-170.
- LAMBERS, H.; CHAPIN III, F. S. & PONS, T. L. (1998) *Plant Physiological Ecology*. New York: Springer, 540p.
-

-
- LAVERMAN, A. M.; ZOOMER, H. R.; van VERSEVELD, H. W. & VERHOEF, H. A. (2000) Temporal and spatial variation of nitrogen transformations in a coniferous forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v.32, pp.1661-1670.
- LAVERMAN, A.M.; BORGERS, P. & VERHOEF, H. A. (2002) Spatial variation in net nitrate production in a N-saturated coniferous forest soil. *Forest Ecology and Management*, v.161, pp.123-132.
- LECHOWICZ, M. J. & BELL, G. (1991) The ecology and genetics of fitness in forest plants. II. Microspatial heterogeneity of the edaphic environment. *Journal of Ecology*, v.79, pp.687-696.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. (1998) *Numerical Ecology*. 2nd ed, Amsterdam: Elsevier Science BV, 853p.
- LEGENDRE, P. & FORTIN, M. J. (1989) Spatial pattern and ecological analysis. *Vegetatio*, v.80, pp.107-138.
- LEGENDRE, P. (1993) Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm. *Ecology*, v.74, n.6, pp.1659-1673.
- LI, Z. Z. & GRESSHOFF, P. M. (1990) Developmental and biochemical regulation of 'constitutive' nitrate reductase activity in leaves of nodulating soybean. *Journal of Experimental Botany*, v.41, n.231., pp.1231-1238.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G. C. & OLIVEIRA, S. A. (1997) *Avaliação do estado nutricional das plantas, princípios e aplicações*. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 2ed., 319p.
- MARSCHNER, H. (1991) Mechanisms of adaptations of plants to acid soils. *Plant and Soil*, v.134, pp.1-20.
- MARSCHNER, H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed, London: Academic Press, 889p.
- MATTOS, J.R. de (1972) *O Pinheiro Brasileiro*. Lages, 2 ed., 228 p.
-

-
- McBRIDE, M. B. (1994) *Environmental Chemistry of Soils*. New York: Oxford University Press, 406p.
- MEISEL, J. E. & TURNER, M. G. (1998) Scale detection in real and artificial landscapes using semivariance analysis. *Landscape Ecology*, v.13, pp.347-362.
- MILLER, R. E.; VER HOEF, J. M. & FOWLER, N. L. (1995) Spatial heterogeneity in eight central Texas grasslands. *Journal of Ecology*, v.83, pp.919-928.
- MIN, X.; SIDDIQI, M. Y.; GUY, R. D.; GLASS, A. D. M. & KRONZUCKER, H. J. (1999) A comparative study of fluxes and compartmentation of nitrate and ammonium in early-successional tree species. *Plant, cell and Environment*, v.22, pp.821-830.
- MOTA, F. S., GOEDERT, C. O., LOPES, N. F., GARDEZ, J. R. B. & GOMES, A. S.; (1970) Balanço hídrico do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.5, pp.1-27.
- MOTA, F. S. (1951) Estudos do clima do estado do Rio Grande do Sul segundo o sistema de W. Köeppen. *Revista Brasileira de Geografia*, v.Abril-Junho, pp. 107-116.
- MOTOSUGI, H.; GAO, Y-P. & SUGIURA, A. (1995) Rootstock effects on fruit quality of 'Fuji' apples grown with ammonium or nitrate nitrogen in sand culture. *Scientia Horticulturae*, v.61, pp.205-214.
- NÄSHOLM, T.; EKBLAD, A.; NORDIM, A.; GIESLER, R.; HÖGBERG, M. & HÖGBERG, P. (1998) Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature*, v.392, pp.914-916.
- NÄSHOLM, T.; HUSS-DANEL, K. & HÖGBERG, P. (2000) Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species. *Ecology*, v.81, n.4, pp.1155-1161.
-

-
- NORTHUP, R. R.; YU, Z.; DAHLGREN, R. A. & VOGT, K. A. (1995) Polyphenol control of nitrogen release from pine litter. *Nature*, v.377, pp.227-229.
- NORTON, J. M. & FIRESTONE, M. K. (1996) N dynamics in the rhizosphere of *Pinus ponderosa* seedlings. *Soil Biology and Biochemistry*, v.28, n.3, pp.351-362.
- OAKS, A.; WALLACE, W. & STEVENS, D. (1972) Synthesis and turnover of nitrate reductase in corn roots. *Plant Physiology*, v.50, pp.649-654.
- ODUM, E. P. (1988). *Ecologia*. Rio de Janeiro: Guanabara, 434p.
- OKSANEN, L. (2001) Logic of experiments in ecology: is pseudoreplication a pseudoissue? *Oikos*, v.94, pp.27-38.
- OLIVEIRA, J. M. & PILLAR, V. D. (2004) Vegetation dynamics on mosaics of Campos and Araucaria forest between 1974 and 1999 in Southern Brazil. *Community Ecology*, v.5, n.2, pp.97-202.
- OLSSON, M. O. & FALKENGREN-GRERUP, U. (2000) Potential nitrification as an indicator of preferential uptake of ammonium or nitrate by plants in an oak woodland understorey. *Annals of Botany*, v.85, pp.299-305.
- PADGETT, P. E. & LEONARD, R. T. (1993) Contamination of ammonium-based nutrient solutions by nitrifying organisms and conversion of ammonium to nitrate. *Plant Physiology*, v.101, pp.141-146.
- PEREIRA, E. G.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F. R. do & MOREIRA, F. M. S. (1996) Influência do nitrogênio mineral no crescimento e colonização micorrízica de mudas de árvores. *Pesq. Agropc. Bras.*, v.31, n.9, pp.653-662.
- PILLAR, V. P. & ORLÓCI, L. (1996) On randomization testing in vegetation science: multifactor comparison of relevé groups. *Journal of Vegetation Science*, v.7, pp.585-592.
- PILLAR, V. P. (2004) MULTIV – Multivariate exploratory analysis, randomization testing and bootstrap resampling v.2.3.10 – user's guide. Porto Alegre.
-

-
- PRASOLOVA, N. V., XU, Z. H., SAFFIGNA, P. G. & DIETERS, M. J. (2000). Spatial-temporal variability of soil mixture, nitrogen availability indices and other chemical properties in hoop pine (*Araucaria cunninghamii*) plantations of subtropical Australia. *Forest Ecology and Management*, v.136, pp.1-10.
- PREGITZER, K. S.; DICKMANN, D. I.; HENDRICK, R. & NGUYEN, P. V. (1990) Whole-tree carbon and nitrogen partitioning in young hybrid poplars. *Tree Physiology*, v.7, pp.79-93.
- PU, G.; SAFFIGNA, P. G. & XU, Z. (2001) Denitrification, leaching and immobilisation of ¹⁵N-labelled nitrate in winter under windrowed harvesting residues in hoop pine plantations of 1-3 years old in subtropical Australia. *Forest Ecology and Management*, v.152, pp.183-194.
- RAAB, T. K.; LIPSON, D. A. & MONSON, R. K. (1996) Non-mycorrhizal uptake of amino acids by roots of the alpine sedge *Kobresia myosuroides*: implications for the alpine nitrogen cycle. *Oecologia*, v.108, pp.488-494.
- RASMUSSEN, L. (1998) Effects of afforestation and deforestation on the deposition, cycling and leaching of elements. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.67, pp.153-159.
- REITZ, R.; KLEIN, R. M. & REIS, A. (1988) *Projeto Madeira do Rio Grande do Sul*. SUDESUL. Gov. Est, RS, Herbário Brabosa Rodrigues, 525p.
- RICE, E. L. & PANCHOLY, S. K. (1972) Inhibition of nitrification by climax ecosystems. *American Journal of Botany*, v.59, n.10, pp.1033-1040.
- RICE, E. L. & PANCHOLY, S. K. (1973) Inhibition of nitrification by climax ecosystems. II. Additional evidence and possible role of tannins. *American Journal of Botany*, v.60, n.7, pp.691-702.
- RICE, E. L. & PANCHOLY, S. K. (1974) Inhibition of nitrification by climax ecosystems. III. Inhibitors other than tanins. *American Journal of Botany*, v.61, n.10, pp.1095-1103.
-

-
- RICHTER, D. D.; MARKEWITZ, D.; WELLS, C. G.; ALLEN, H. L.; APRIL, R.; HEINE, P. R. & URREGO, B. (1994) Soil chemical change during three decades in an old-field loblolly pine (*Pinus taeda* L.) ecosystem. *Ecology*, v.75, n.5, pp.1463-1473.
- RICKLEFS, R. E. (2003) *A economia da natureza*. 5.ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 503p.
- ROBERTSON, G. P. & GROSS, K. L. (1994) Assessing the heterogeneity of belowground resources: quantifying pattern and scale. In: *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above- and Belowground* (eds M. M. Caldwell & R. W. Pearcy). San Diego: Academic Press, pp.237-253.
- ROBERTSON, G. P. & VITOUSEK, P. M. (1981) Nitrification potentials in primary and secondary succession. *Ecology*, v.62, n.2, pp.376-386.
- ROBERTSON, G. P. (1987) Geostatistics in Ecology: interpolating with known variance. *Ecology*, v.68, n.3, pp.744-748.
- ROBERTSON, G. P.; HUSTON, M. A.; EVANS, F. C. & TIEDJE, J. M. (1988) Spatial variation in a successional plant community: patterns of nitrogen availability. *Ecology*, v.69, n.5, pp.1517-1524.
- RORISON, I. H. (1985) Nitrogen source and the tolerance of *Deschampsia flexuosa*, *Holcus lanatus* and *Bromus erectus* to aluminium during seedling growth. *Journal of Ecology*, v.73, .pp.83-90.
- ROSSI, R. E.; MULLA, D. J.; JOURNEL, A. G. & FRANZ, E. H. (1992) Geostatistical tools for interpreting ecological spatial dependence. *Ecological Monographs*, v.62, n.2, pp.277-314.
- ROSSWALL, T. (1982) Microbiological regulation of the biogeochemical nitrogen cycle. *Plant and Soil*, v.67, pp.15-34.
-

-
- SALSAC, L.; CHAILLOU, S.; MOROT-GAUDRY, J.-F.; LESAIN, C. & JOLIVET, E. (1987) Nitrate and ammonium nutrition of plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.25, n.6, pp.805-812.
- SCHNEIDER, D. (1994) *Quantitative Ecology: spatial and temporal scaling*. San Diego: Academic Press, 395p.
- SIEVERDING, E. (1991) *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management*. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn.
- SIMÕES, J. W. (1973) Efeitos da omissão de nutrientes na alimentação mineral do pinheiro do paraná *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze cultivada em vaso. In: *Congresso Florestal Brasileiro*, 2, Curitiba, FIEP. Anais p.112-121.
- SIMÕES, J. W., DO COUTO, H. T. Z. & KAJIYA, S. (1979) Tolerância do pinheiro do paraná (*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze) a teores crescentes de alumínio. *IPEF*, Piracicaba, v.6, pp.93-102.
- SMIRNOFF, N. & STEWART, G.R. (1985) Nitrate assimilation and translocation by higher plants: Comparative physiology and ecological consequences. *Physiologia Plantarum*, v.64, pp.133-140.
- SMIRNOFF, N.; TODD, P. & STEWART, G.R. (1984) The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annals of Botany*, v.54, pp.363-374.
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. (1981) *Biometry*. 2.ed. New York: W.H. Freeman and Company, 859p.
- SPRINGOB, G. & KIRCHMANN, H. (2003) Bulk soil C to N ratio as a simple measure of net N mineralization from stabilized organic matter in sandy arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v.35, pp.629-632.
- STARK, J. M. & HART, S. C. (1997). High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests. *Nature*, v.385, pp.61-64.
-

-
- STARK, J. M. (1994) Causes of Soil Nutrient Heterogeneity at Different Scales. In: *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above- and Belowground* (eds M. M. Caldwell & R. W. Pearcy). San Diego: Academic Press, p.255-284.
- STE-MARIE, C. & PARÉ, D. (1999) Soil, pH and N availability effects on net nitrification in the forest floor of a range of boreal forest stands. *Soil Biology and Biochemistry*, v.31, pp.1579-1589.
- STEWART, G. R.; JOLY, C. A. & SMIRNOFF, N. (1992) Partitioning of inorganic nitrogen assimilation between the roots and shoots of cerrado and forest trees of contrasting plant communities of South East Brasil. *Oecologia*, v.91, pp.511-517.
- STOCK, W. D. & LEWIS, O. A. M. (1986) Soil nitrogen and role of fire as a mineralizing agent in a south african coastal fynbos ecosystem. *Journal of Ecology*, v.74, pp.317-328.
- STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C. do & SCHNEIDER, P. (2002) *Solos do Rio Grande do Sul*. 1.ed. Porto Alegre: UFRGS Editora.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. (2004) *Fisiologia Vegetal*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed., 719p.
- TEDESCO, M. J., GIANELLO, C., BISSANI, C. A., BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S. J. (1995) *Análise de solo, plantas e outros materiais*. Porto Alegre: Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS, 174p.
- TIETEMA, A. & VERSTRATEN, J. M. (1992) Nitrogen cycling in an acid forest ecosystem in the Netherlands under increased atmospheric nitrogen input. *Biogeochemistry*, v.15, pp.21-46.
- TILMAN, D. (1990) Constraints and tradeoffs: toward a predictive theory of competition and succession. *Oikos*, v.58, pp.3-15.
-

-
- TISCHNER, R. (2000) Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant, Cell and Environment*, v.23, pp.1005-1024.
- VAN BEUSICHEM, M. L.; KIRKBY, E. A. & BAAS, R. (1988) Influence of nitrate and ammonium nutrition on the uptake, assimilation, and distribution of nutrients in *Ricinus communis*. *Plant Physiology*, v.86, pp.914-921.
- VAN DER KRIFT, T. A. J. & BERENDSE, F. (2001) The effect of plant species on soil nitrogen mineralization. *Journal of Ecology*, v.89, pp.555-561.
- VITOUSEK, P. M. (1994) Beyond global warming: ecology and global change. *Ecology*, v.75, n.7, pp.1861-1876.
- VITOUSEK, P. M.; GOSZ, J. R.; GRIER, C. C.; MELILLO, J. R.; & REINERS, W. A. (1982) A comparative analysis of potential nitrification and nitrate mobility in forest ecosystems. *Ecological Monographs*, v.52, n.2, pp.155-177.
- VITOUSEK, P. M.; GOSZ, J. R.; GRIER, C. C.; MELILLO, J. R.; REINERS, W. A. & TODD, R. L. (1979) Nitrate losses from disturbed ecosystems. *Science*, v.204, pp.469-474.
- VITOUSEK, P. M.; MOONEY, H. A.; LUBCHENCO, J. & MELILLO, J. M. (1997) Human domination of earth's ecosystems. *Science*, v.277, pp.494-499.
- WEBSTER, R. & OLIVER, M. A. (1992) Sample adequately to estimate variograms of soil properties. *Journal of Soil Science*, v.43, pp.177-192.
- WILKINSON S. & DAVIES, W. J. (2002) ABA-based chemical signaling: the coordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment*, v.25, pp.195-210.
- WINTERMANS, J. F. G. M. & DeMOTS, A. (1965) Spectrophotometric characteristics of chlorophylls *a* and *b* and their pheophytins in ethanol. *Biochim. Biophys. Acta*, v.109, pp.448-453.
-

- YU, Z.; DAHLGREN, R. A. & NORTHUP, R. R. (1999) Evolution of soil properties and plant communities along an extreme edaphic gradient. *European Journal of Soil Biology*, v.35, n.1, pp.31-38.
- ZANDAVALLI, R. B.; DILLENBURG, L. R. & SOUZA, P. V. de (2004) Growth responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. *Applied Soil Ecology*, v.25, pp.245-255.
- ZEDLER, J. B. & ZEDLER, P. H. (1969) Association of species and their relationship to microtopography within old fields. *Ecology*, v.50, n.3, pp.432-442.
-

6. Anexos

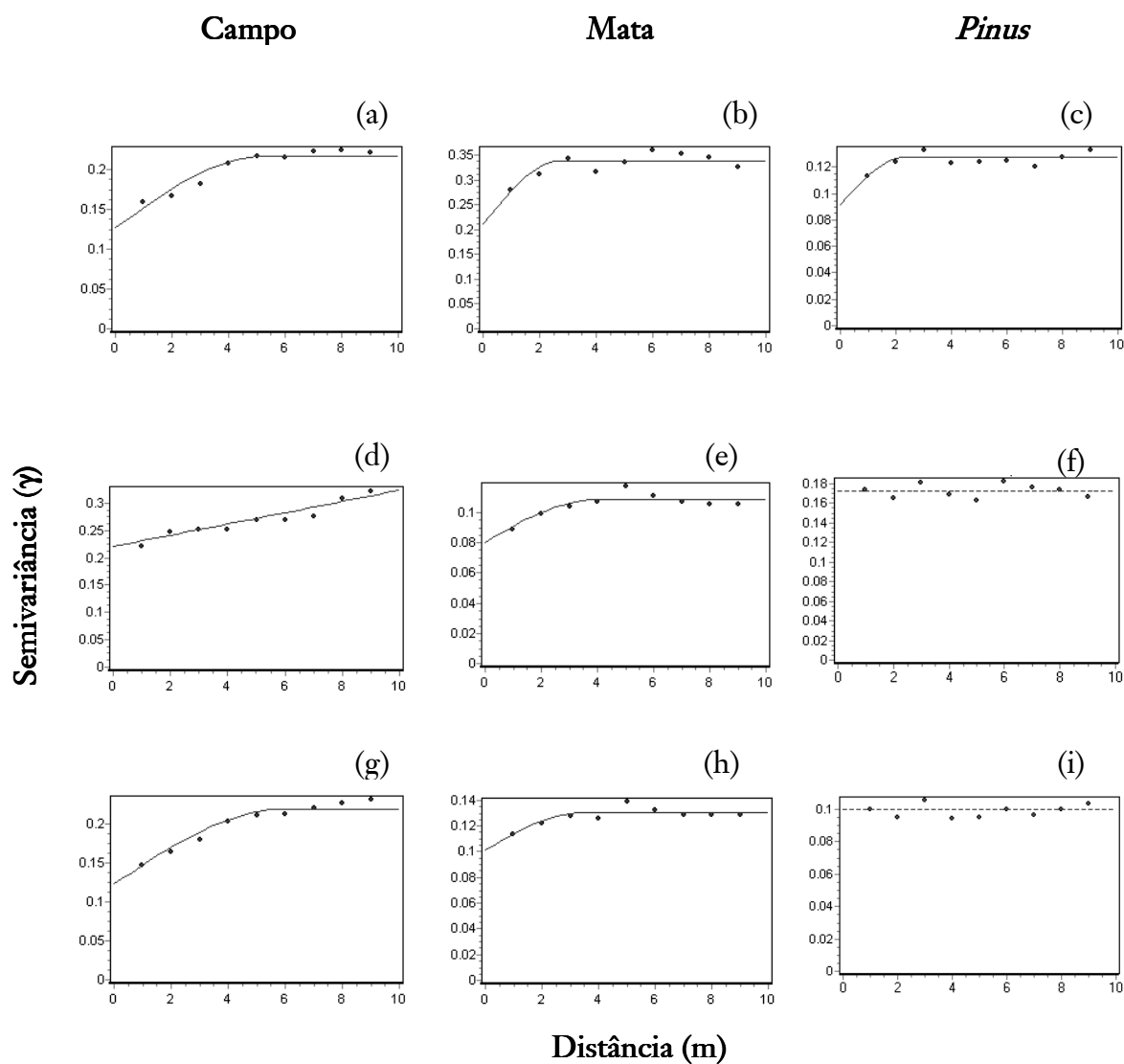


Figura 6.1. Semivariogramas omnidirecionais para amônio (a, b, c), nitrato (c, d, e) e amônio + nitrato (f, g, h) nos diferentes sítios para o verão. Todos os semivariogramas foram calculados com número de intervalos igual a nove (equivalente à amplitude de 9 m, 53 % da amplitude máxima). Dados originais foram $\ln(x+1)$ transformados.

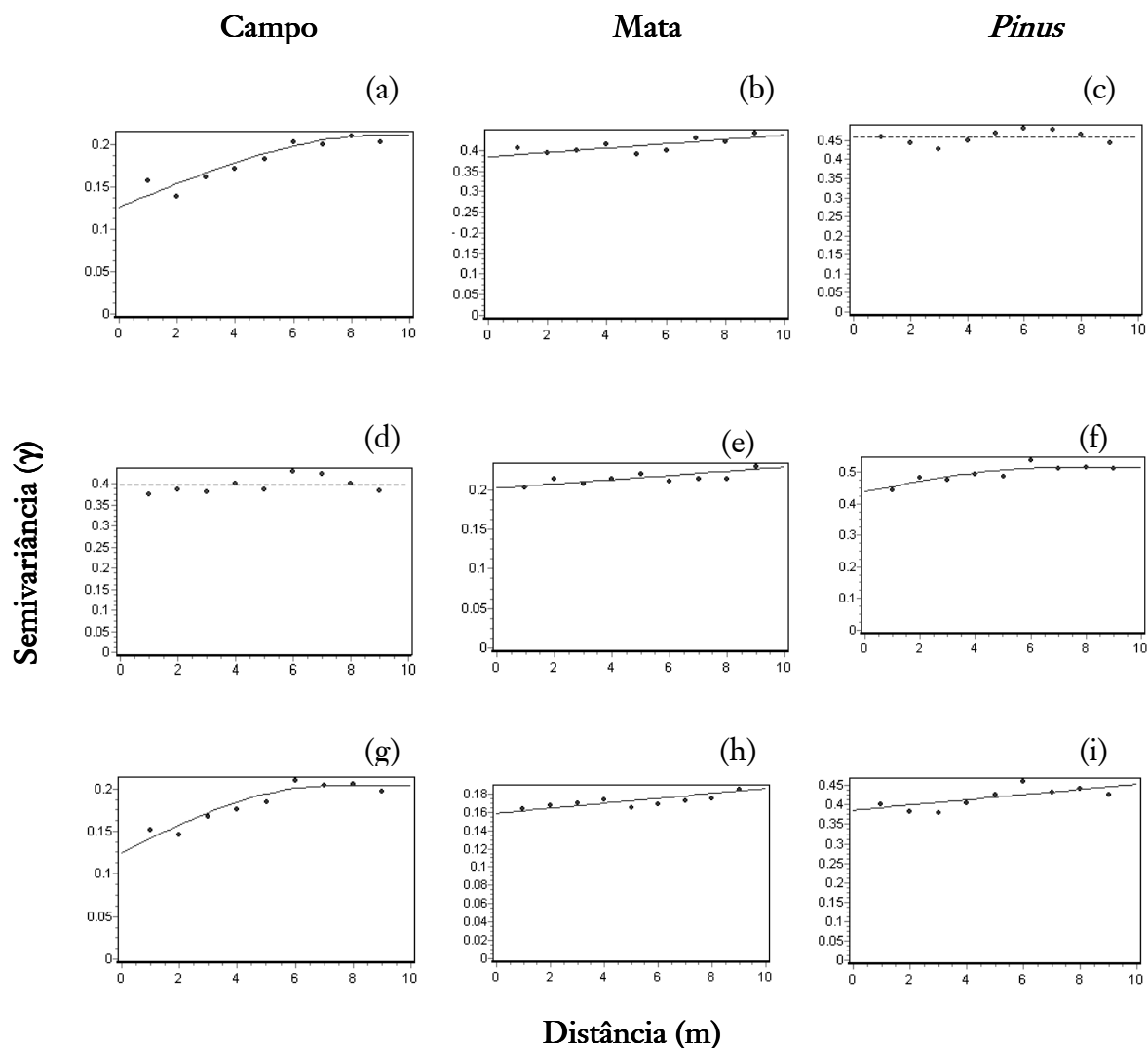


Figura 6.2. Semivariogramas omnidirecionais para amônio (a, b, c), nitrato (c, d, e) e amônio + nitrato (f, g, h) nos diferentes sítios para o inverno. Todos os semivariogramas foram calculados com número de intervalos igual a nove (equivalente à amplitude de 9 m, 53 % da amplitude máxima). Dados originais foram $\ln(x+1)$ transformados.

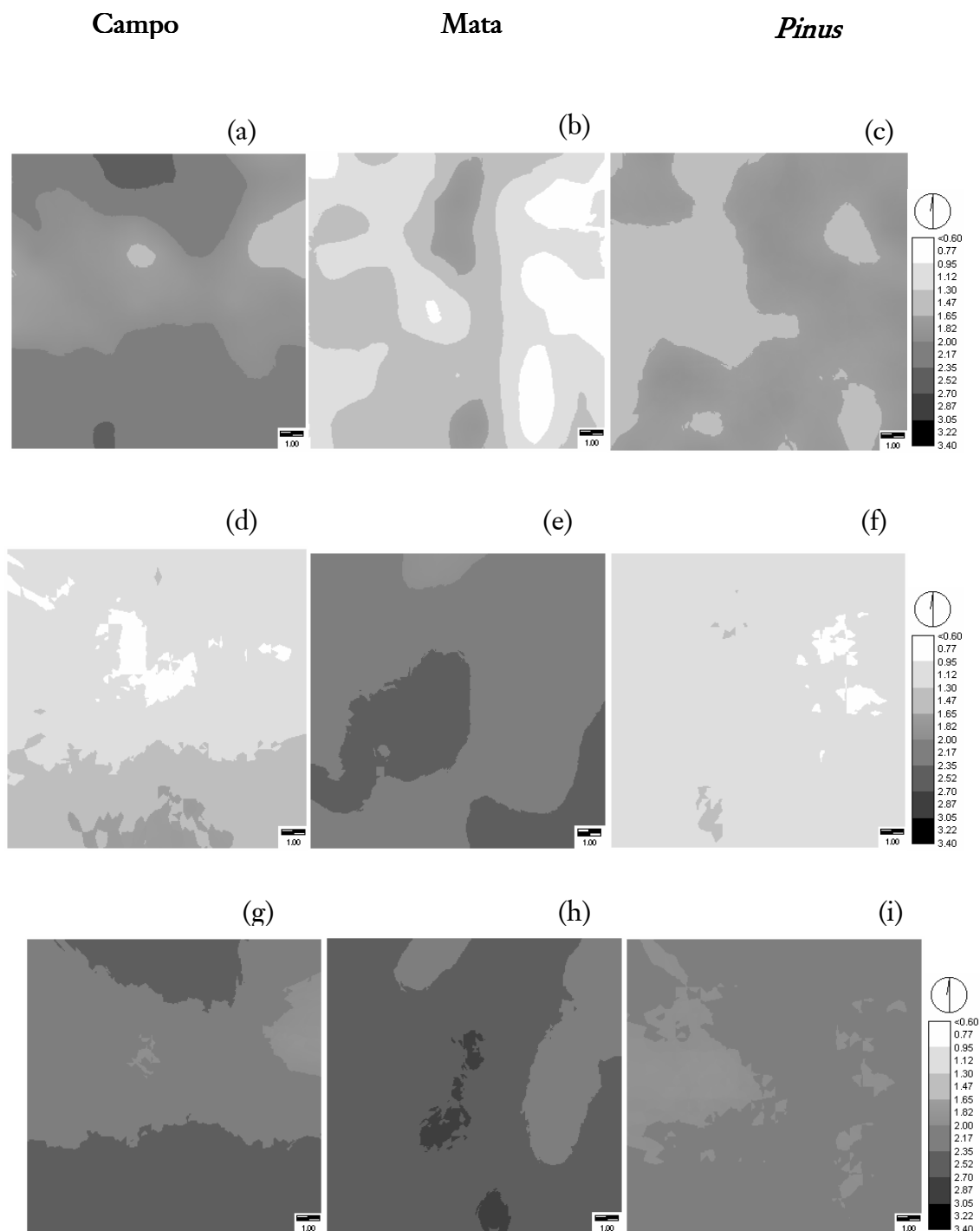


Figura 6.3. Mapas de superfície gerados por krigeagem ordinária a partir dos semivariogramas omnidirecionais e direcionais, quando da presença de anisotropia. (a), (b) e (c), amônio para o verão no Campo, na Mata e no *Pinus* respectivamente. (d) nitrato para o verão no Campo, (e) NH_4^+ no Campo para o inverno, (f) $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno. Valores correspondem aos valores originais de nitrogênio inorgânico (mg kg^{-1}) transformados $[\ln(x+1)]$ e modelados por krigeagem ordinária em função dos semivariogramas ajustados para cada variável em cada sítio. Escala corresponde a 1 m.

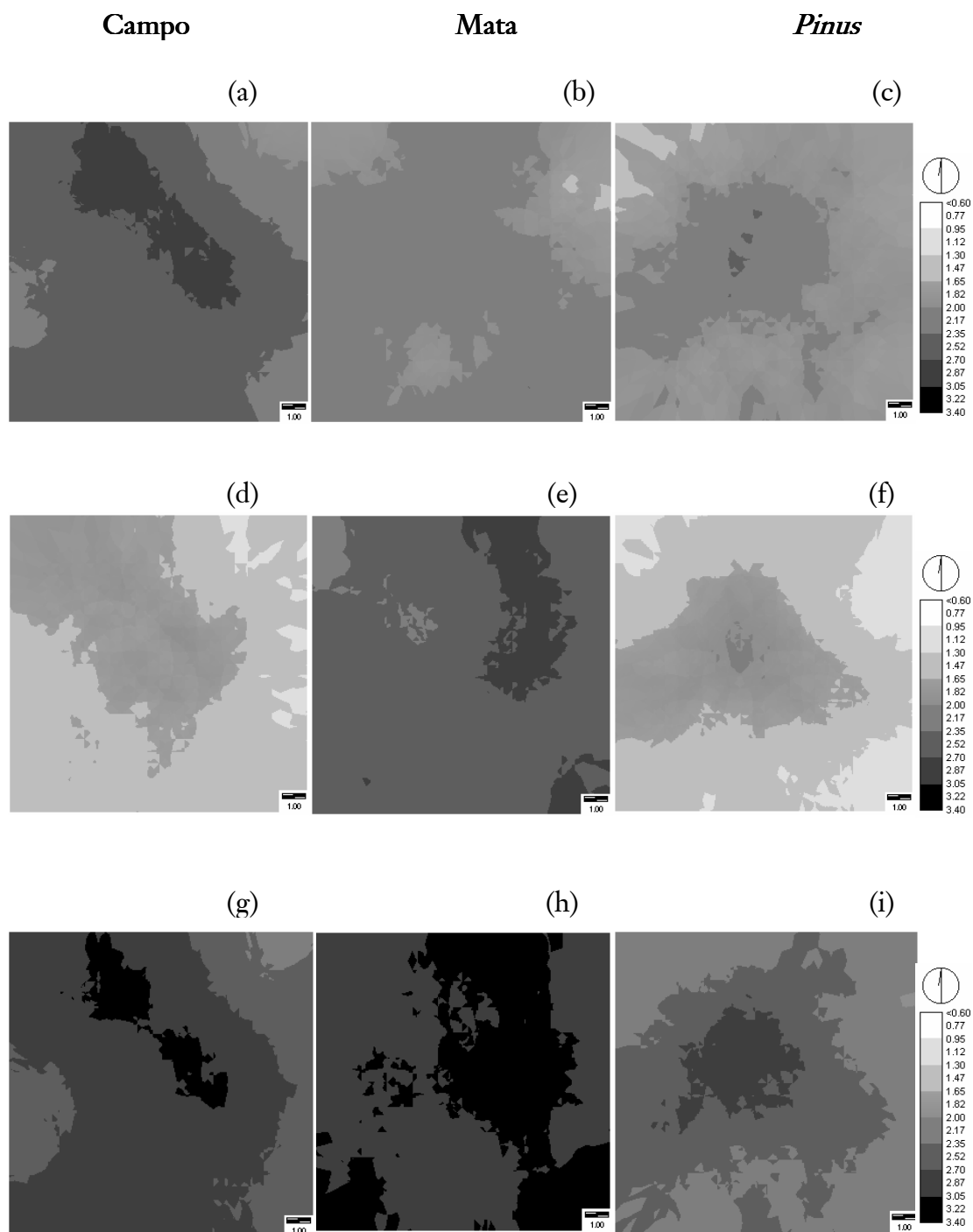


Figura 6.4. Mapas de superfície gerados por krigagem ordinária a partir dos semivariogramas omnidirecionais e direcionais, quando da presença de anisotropia. (a), (b) e (c), amônio para o verão no Campo, na Mata e no *Pinus* respectivamente. (d) nitrato para o verão no Campo, (e) NH_4^+ no Campo para o inverno, (f) $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ na Mata para inverno. Valores correspondem aos valores originais de nitrogênio inorgânico (mg kg^{-1}) transformados $[\ln(x+1)]$ e modelados por krigagem ordinária em função dos semivariogramas ajustados para cada variável em cada sítio. Escala corresponde a 1 m.