

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

CAMPUS DIADEMA

RENATA MARQUES RIBEIRO

**PLÂNTULAS DE *Calophyllum brasiliense* SÃO
FACILITADAS POR ÁRVORES LEGUMINOSAS EM UMA
FLORESTA DE RESTINGA?**

DIADEMA

2015

RENATA MARQUES RIBEIRO

**PLÂNTULAS DE *Calophyllum brasiliense* SÃO
FACILITADAS POR ÁRVORES LEGUMINOSAS EM UMA
FLORESTA DE RESTINGA?**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, ao Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – *Campus* Diadema.

Orientadora: Camila de Toledo Castanho

DIADEMA

2015

Ribeiro, Renata

Plântulas de *Calophyllum brasiliense* são facilitadas por árvores leguminosas em uma floresta de restinga? / Renata Ribeiro. -- Diadema, 2015.

34 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, 2015.

Orientador: Camila Castanho

1. Nitrogênio. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. Leguminosa. I. Plântulas de *Calophyllum brasiliense* são facilitadas por árvores leguminosas em uma floresta de restinga.

CDD 583.74

RENATA MARQUES RIBEIRO

**PLÂNTULAS DE *Calophyllum brasiliense* SÃO
FACILITADAS POR ÁRVORES LEGUMINOSAS EM UMA
FLORESTA DE RESTINGA?**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, ao Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – *Campus* Diadema.

Área de concentração: Ecologia

Aprovação: __/__/__

Prof. Dr. Camila de Toledo Castanho

Universidade Federal de São Paulo

Prof. Dr. Décio Luis Semensatto Junior

Universidade Federal de São Paulo

Prof. Dr. Marcelo Nogueira Rossi

Universidade Federal de São Paulo

Dedico este trabalho à minha família
Valéria, Helder e Vinícius por todo o
apoio e suporte nesta etapa crucial
da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Prof. Dr. Camila Castanho, minha querida Orientadora, por me apoiar, me guiar e mesmo diante de dificuldades me deu suporte e nunca me desamparou durante a elaboração deste trabalho de conclusão de curso.

Agradeço ao Marcelo Pansonato por me acompanhar nas trilhas e pela hospitalidade em sua casa todas as vezes que precisei ir para campo.

Agradeço ao Murilo Takeshi, Vanessa Alberico e Francisco Bulhões pela ajuda e companhia nas trilhas. Agradeço também pela paciência que tiveram mediante a todas as dificuldades enfrentadas na área de estudo.

Agradeço a todos os meus professores da graduação pela paixão e dedicação em suas aulas. Agradeço pela paciência que tiveram ao longo dos semestres e pelas conversas que tivemos sobre ciência e sobre a vida.

Agradeço aos meus pais por todo o amor, carinho, suporte que me deram durante toda a vida e principalmente nesta reta final no trabalho de conclusão de curso. Agradeço por toda a paciência e dedicação que tiveram e pelo sacrifício que tiveram que fazer para que eu conseguisse chegar ao final deste ciclo da vida acadêmica.

Agradeço ao meu irmão, pela influência que teve no meu amor pela biologia. Agradeço pelos conselhos e sugestões ao longo de toda a vida e principalmente ao longo da minha graduação. Agradeço por todo o amor e carinho que temos um pelo outro.

Agradeço aos meus amigos pelo apoio, carinho, paciência que tiveram ao longo desta jornada. E agradeço a todos que indiretamente contribuíram para o fechamento de mais este ciclo em minha vida.

RESUMO

Florestas de restinga estão entre os ambientes mais ameaçados da Mata Atlântica, como reflexo da forte presença da população brasileira em cidades litorâneas. Adicionalmente, este ambiente apresenta solo com baixa fertilidade (incluindo baixa disponibilidade de nitrogênio) devido a grande parte de sua composição ser areia. O nitrogênio está presente na composição de biomoléculas essenciais para as plantas e sua limitação interfere negativamente no crescimento das plantas, na composição das comunidades e produtividade dos ecossistemas. Algumas espécies de árvores leguminosas têm a capacidade de fixar nitrogênio no solo, resultando no aumento da disponibilidade de nitrogênio assimilável para as plantas vizinhas. O objetivo desse trabalho foi avaliar se árvores leguminosas aumentam o desempenho de plântulas de uma espécie não fixadora de nitrogênio em uma floresta de restinga. Para tanto, em um fragmento de floresta de restinga em Caraguatatuba (SP), foi avaliada a sobrevivência e o crescimento de plântulas de *Calophyllum brasiliense* transplantadas sob dois tratamentos: sob árvores adultas leguminosas e sob árvores adultas não-leguminosas. Foram selecionados 10 pares de árvores leguminosa e não-leguminosa com tamanhos similares e sob condições abióticas semelhantes. Sob cada árvore foram transplantadas 10 plântulas de *C. brasiliense*, totalizando 200 plântulas em todo o experimento. Medidas de altura, diâmetro à altura do solo (DAS) e número de folhas foram feitas no início e final do experimento (após nove meses) para estimar o crescimento das plântulas. A fim de testar se as leguminosas aumentam a sobrevivência e crescimento, utilizamos o teste t pareado. Plântulas de *C. brasiliense* que cresceram sob leguminosas tiveram maior proporção de sobrevivência e maior crescimento quando comparadas às plântulas que cresceram sob árvores não leguminosas. Os resultados mostraram que a proporção de sobrevivência foi marginalmente significativa e o crescimento foi significativo em todas as variáveis resposta, o que sugere que as árvores leguminosas deste fragmento facilitam *Calophyllum brasiliense*. De maneira mais geral, esses resultados indicam que existe uma alta probabilidade de árvores leguminosas das subfamílias Mimosoideae e Papilionoideae facilitarem plântulas não leguminosas em florestas de restinga. Se este for o caso, a facilitação por leguminosas deve ser um processo chave para explicar a alta diversidade de

espécies encontradas nestes ambientes, apesar de possuírem elevado grau de estresse ambiental.

Palavras-chave: Facilitação. Leguminosas. Restinga. Nitrogênio. Fixação biológica de nitrogênio.

ABSTRACT

Coastal dunes are among the most threatened environments of the Atlantic Forest, due to the high concentration of the population in coastal cities. Besides, this environment has low soil fertility (including low nitrogen availability) because much of this composition is sand. Nitrogen is present in the composition of biomolecules essential for plants and its limitation negatively affects plants growth, community composition and ecosystem productivity. Some legume trees species have the ability to fix nitrogen into the soil, resulting in increased availability of assimilable nitrogen to neighboring plants. The objective of this study was to evaluate whether legume trees increase the performance of seedling not fixing nitrogen species in a sand coastal forest. For this, in a sand coastal forest fragment in Caraguatatuba (SP), the survival and growth of *Calophyllum brasiliense* seedlings transplanted in two treatments was evaluated: under mature legume trees and under mature non-legume trees. We selected 10 pairs of legume and non-legume trees with similar size and in similar abiotic conditions. 10 seedlings were transplanted under each tree canopy, totaling 200 seedlings. Measurements of height, diameter at ground height and number of leaves were taken at the beginning and end of the experiment (after nine months) to estimate the growth of seedlings. In order to test whether legumes increase the survival and growth, we used the paired t test. *C. brasiliense* seedlings that have grown under legumes had a higher rate of survival and further growth when compared to seedlings that have grown under non-legume trees. The results showed that the proportion of survival was only marginally significant, and the increase was significant in all response variables, suggesting that legume trees of this fragment facilitate *Calophyllum brasiliense*. More generally, these results indicate that there is a high probability of legume trees of the Mimosoideae and Papilionoideae facilitate non-legume seedlings in sand coastal forests. If this really happens, the legume trees facilitation probably is a key process to explain the high diversity of species found in this environment, despite their high degree of environmental stress.

Key words: Facilitation. Legume. Sand coastal. Nitrogen. Biological nitrogen fixation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Foto da área de estudo em período chuvoso. A foto foi tirada à aproximadamente 5m da construção de uma rodovia e é o local de uma das entradas para as parcelas onde foram transplantadas as plântulas de *Calophyllum brasiliense*. A obra ocasionou alagamentos isolados, porém há regiões que apresentam solo extremamente seco.....17
- Figura 2 – Parcela contendo 10 plântulas de *Calophyllum brasiliense* transplantadas em solo úmido.....20
- Figura 3 – Proporção de sobrevivência das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa após 9 meses de experimento..... 22
- Figura 4 – Média da diferença do número de folhas das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa antes e após 9 meses de experimento..... 23
- Figura 5 – Média do crescimento em altura das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa após 9 meses de experimento..... 23
- Figura 6 – Média do crescimento em DAS das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa após 9 meses de experimento..... 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das espécies presentes na área total amostrada no fragmento e suas respectivas abundâncias.....18

Tabela 2 – Identificação botânica dos indivíduos de árvores leguminosas utilizadas no estudo, assim como seus respectivos tamanhos.....19

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVO.....	15
3. METODOLOGIA	16
3.1 Área de estudo.....	16
3.2 Espécie modelo.....	17
3.3 Desenho experimental.....	18
3.4 Análise de dados.....	21
4. RESULTADOS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

INTRODUÇÃO

O nitrogênio pode ser encontrado sob diversas formas. A forma molecular N_2 , nitrogênio atmosférico, representa quase sua totalidade, porém as plantas não conseguem assimilá-lo. Adicionalmente, a quantidade de nitrogênio assimilável presente no solo é baixa (GALLO & BASSO, 2012). A assimilação do nitrogênio compreende os processos de redução do nitrato a amônio e a incorporação do amônio em aminoácidos. Este processo é dependente da atividade das enzimas envolvidas no ciclo do nitrogênio e da energia disponível (BREDEMEIER & MUNDSTOCK, 2000).

O nitrogênio está presente na composição de biomoléculas essenciais para as plantas, como ATP, NADH, NADPH, clorofila, ácidos nucleicos, proteínas e enzimas (MIFLIN & LEA, 1976). Portanto, a baixa disponibilidade de nitrogênio pode limitar o crescimento das plantas, alterar a composição das comunidades e diminuir a produtividade dos ecossistemas (VITOUSEK & FIELD, 1999).

Em solos e sedimentos alagados e anaeróbicos, as moléculas nitrogenadas e disponíveis para as plantas, nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-), estão mais oxidadas que o ambiente circundante e elas próprias podem agir como oxidantes. Sob essas circunstâncias, o nitrogênio pode ser reduzido a óxido nítrico (NO). Esse processo é chamado de desnitrificação e o nitrogênio é perdido em forma de gás. A desnitrificação pode explicar a baixa disponibilidade de nitrogênio no solo em ambientes sazonalmente alagados (RICKLEFS, 2010), como é o caso de florestas de restinga.

No entanto, a perda de nitrogênio através do processo de desnitrificação pode ser compensada pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Ou seja, a conversão de N_2 em compostos assimiláveis como amônio (NH_4^+) e nitrato, através do complexo enzimático nitrogenase, que é desativado pelo oxigênio. Portanto, a nitrogenase trabalha eficientemente somente sob concentrações extremamente baixas de oxigênio (RICKLEFS, 2010). Nos ecossistemas tropicais, a forma mais importante de FBN é através da simbiose entre plantas da família Leguminosae e bactérias do gênero *Rhizobium*, denominadas rizóbios (VITOUSEK et al, 2002). Os rizóbios possuem a capacidade de se fixar ao núcleo dos nódulos radiculares de algumas

leguminosas (RAVEN; EVERT & EICHHORN, 1996) e as células das raízes infectadas formam estruturas membranosas chamadas de simbiossomas. Dentro dos simbiossomas, as concentrações de oxigênio são mantidas muito baixas, tais que não interfiram na atividade da nitrogenase. Nesta relação simbiótica a planta fornece fotossintatos para os rizóbios, e em contrapartida, as bactérias disponibilizam nitrogênio em formas assimiláveis para a planta (RICKLEFS, 2010).

O processo de FBN exige elevado gasto de energia, portanto, só é vantajoso em ambientes com baixa disponibilidade de nitrogênio assimilável no solo. Mesmo assim, esse processo possui grande importância no ciclo biogeoquímico, pois a contribuição das bactérias fixadoras representa aproximadamente 60% do nitrogênio fixado na Terra (KIM & REES, 1994).

As leguminosas pertencem à família Leguminosae, uma das maiores famílias de angiospermas. Contém cerca de 18000 espécies e pode ser dividida em três subfamílias: Mimosoideae, Papilionoideae e Caesalpinioideae (RAVEN; EVERT & EICHHORN, 1996). Apesar de serem conhecidas por fixar nitrogênio, algumas espécies não são capazes de nodular e realizar este processo, a proporção de espécies fixadoras varia entre as subfamílias. 97% das espécies de Papilionoideae estudadas fixam nitrogênio, 90% da subfamília Mimosoideae e apenas 23% de Caesalpinioideae (SPRENT, 1995).

Leguminosas fixadoras de nitrogênio podem exercer fortes efeitos em seus microhabitats e em plantas associadas a elas (CALLAWAY, 2007). Por terem maior acesso ao nitrogênio geralmente escasso, as leguminosas geralmente apresentam maior teor de nitrogênio em seus tecidos (SANTOS, 2008). Após a morte da planta ou abscisão foliar, o nitrogênio retido nos tecidos da mesma é incorporado à matéria orgânica do solo. Bactérias decompositoras possuem enzimas como aminoácido-oxidases, transaminases e desidrogenase que hidrolisam proteínas e degradam aminoácidos. Consequentemente aumentam a disponibilidade de nitrogênio em sua forma utilizável, no solo, para plantas do entorno (GALLO & BASSO, 2012). Miranda, Vieira e Cadischl (2003) verificaram uma correlação positiva entre fixação biológica de nitrogênio e aumento da presença de nitrogênio no solo. Leguminosas em simbiose com bactérias apresentaram maior concentração de nitrogênio quando

comparadas a leguminosas que não realizaram fixação biológica de nitrogênio, indicado pela ausência de bactérias simbióticas.

A facilitação ou interação positiva entre plantas inclui todos os processos nos quais uma planta afeta positivamente o crescimento, sobrevivência ou reprodução das plantas do entorno. E o aumento na disponibilidade de nitrogênio sob espécies fixadoras de nitrogênio é um dos mecanismos de facilitação mais conhecidos em ambientes terrestres (CALLAWAY, 1995).

Muitos estudos têm mostrado que a intensidade de facilitação é diretamente proporcional ao estresse do ambiente, ou seja, em locais onde as condições ambientais tornam-se severas, há um aumento na intensidade e ocorrência da facilitação, conceito conhecido como Hipótese do Gradiente de Estresse (HGE) (CALLAWAY, 2007). Portanto espera-se que a facilitação seja importante na estruturação e composição de comunidades de ambientes onde há limitação severa de algum recurso (BERTNESS & CALLAWAY, 1994) como, por exemplo, o nitrogênio.

A vegetação de restinga é formada pelo conjunto das comunidades vegetais do domínio da Mata Atlântica sob influência marinha e fluvio-marinha (CONAMA, 1996). Essas comunidades, distribuídas em mosaico, ocorrem em áreas de grande diversidade ecológica, sendo consideradas comunidades edáficas por dependerem mais da natureza do solo que do clima. Na restinga os estágios sucessionais ocorrem de forma lenta, em função do substrato que não favorece o estabelecimento inicial da vegetação, principalmente por dessecação e ausência de nutrientes (CONAMA, 1996). O solo apresenta baixa fertilidade (incluindo baixa disponibilidade de nitrogênio), sua composição é em grande parte areia (devido à recente sedimentação do mar) e pouca quantidade de argila (ARAÚJO, 1992). Além disso, por estar situada no litoral onde vive grande parte da população brasileira, a vegetação de restinga está entre os ambientes mais ameaçados da Mata Atlântica (QUEIROZ; CARDOSO & FERREIRA, 2012).

Pelo fato de fixarem nitrogênio e serem uma das principais famílias presentes na restinga, as leguminosas tornam-se potenciais facilitadoras de outras espécies não leguminosas ao aumentarem a disponibilidade deste nutriente essencial e naturalmente escasso no solo, funcionando como ilhas de fertilidade. Embora a

facilitação por leguminosas tenha sido identificada em diversos ambientes (Pugnaire 1996; Bellingham 2001, Goergen 2012), há pouquíssimos estudos que testaram facilitação por leguminosas em restinga (Ver tese da Julia Stuart).

2. OBJETIVO

O presente estudo tem o objetivo de testar se árvores leguminosas afetam o desempenho de plântulas de uma espécie não fixadora de nitrogênio em uma floresta de restinga. Dado que em ambientes com baixa fertilidade, leguminosas aumentam a disponibilidade de nitrogênio ao seu redor, nossa hipótese é que plantas leguminosas aumentam o desempenho de plântulas não fixadoras. Assim, esperamos que plântulas não fixadoras tenham maior crescimento e maior sobrevivência sob árvores leguminosas do que sob árvores não-leguminosas.

3. METODOLOGIA

3.1 Área de estudo

Este estudo foi realizado em uma propriedade particular no município de Caraguatatuba, estado de São Paulo (23° 37' 31" S e 45° 24' 44" O), como parte do projeto "Ecologia e Restauração de Ecossistemas da Planície Costeira do Litoral Norte de São Paulo" do Laboratório de Ecologia de Florestas Tropicais da USP (LABTROP USP) em parceria com o Centro de Pesquisas e Desenvolvimento (CENPES - Petrobras).

A área total da Floresta de Restinga ou Floresta de Transição Restinga-Encosta (Figura 1) é de 715.329 m². O clima da região é do tipo Af (classificação Köppen-Geiger), com precipitação média anual de 1758 mm e temperatura média anual de 24,9°C (CEPAGRI, 2014). Os solos são constituídos de sedimentos continentais provenientes da encosta da Serra do Mar e marinhos, e, por isso, contém alta concentração de areia. Essa característica lhes confere rápida infiltração e percolação, além de baixa produtividade e baixa concentração de nutrientes.



Figura 1. Foto da área de estudo.

3.2 Espécie modelo

A espécie escolhida como modelo para testar nossa hipótese foi *Calophyllum brasiliense* Cambess, também conhecida como guanandi, pertencente à família Clusiaceae (LORENZI, 1992). *C. brasiliense* ocorre desde o México ao Paraguai e em território brasileiro desde a Amazônia ao Litoral norte Catarinense (CARVALHO, 2003), abrangendo os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. A espécie é encontrada principalmente em planícies inundadas (MARQUES & JOLY 2000), sendo assim, sua ocorrência está geralmente associada

a solos úmidos ou brejosos, como os encontrados em restinga, ambiente na qual *C. brasiliense* é espécie típica.

Calophyllum brasiliense é perenifólia (OLIVEIRA-FILHO & RATTER, 1995), possui porte arbóreo, seu comprimento pode chegar a 20 metros de altura e seu diâmetro a 50 cm quando adulta. Possui folhas simples, opostas, coriáceas, com muitas nervuras secundárias próximas e paralelas (FLORES, 2002). Devido ao padrão de venação foliar característico, é fácil reconhecer a espécie mesmo nos estádios iniciais de desenvolvimento. Seus frutos fazem parte da dieta de vários animais e, por isso, possuem um enorme potencial na recuperação de áreas degradadas, pois favorecem o desenvolvimento da fauna local (BOTREL et al, 2006). Além disso, *C. brasiliense* é facilmente produzido e encontrado em viveiros, o que justifica a escolha da espécie modelo.

Utilizamos quatro das nove espécies de leguminosas presentes no fragmento, sendo três as mais abundantes da família (Tabela 1). Estas espécies pertencem a duas subfamílias: Papilionoideae e Mimosoideae (Tabela 2). Respectivamente 97% e 90% das espécies pertencentes a essas duas subfamílias realizam o processo de nodulação e fixação de nitrogênio (SPRENT, 1995).

Tabela 1. Descrição das espécies presentes na área total amostrada no fragmento e suas respectivas abundâncias.

Espécie	Abundância
<i>Albizia pedicellaris</i>	1
<i>Andira fraxinifolia</i>	50
<i>Hymenolobium janeirense</i>	1
<i>Inga edulis</i>	2
<i>Inga sessilis</i>	5
<i>Inga striata</i>	3
<i>Machaerium nyctitans</i>	1
<i>Ormosia arborea</i>	8
<i>Pterocarpus rohrii</i>	7

3.3 Desenho experimental

Plântulas de *Calophyllum brasiliense* produzidas em um viveiro local e com aproximadamente 40 cm de altura foram submetidas a dois tratamentos distintos: transplantadas sob árvores de espécies leguminosas e sob árvores de espécies não leguminosas. As árvores leguminosas estavam devidamente identificadas, assim como registrados seus dados de altura e diâmetro. A partir dessas informações foram selecionadas as leguminosas cujo diâmetro à altura do peito (DAP) fosse superior à 9 cm. Esse critério foi adotado para selecionar as maiores leguminosas do fragmento, uma vez que quanto maior a árvore, maior a probabilidade de que ela esteja fixando nitrogênio. A partir destes dados, foram então selecionados pares de árvores (compostos por uma não leguminosa e outra leguminosa) com altura, DAP e copa semelhantes e também próximas o suficiente para que as condições ambientais fossem similares. Ao todo foram selecionados 10 pares de árvores leguminosas e não leguminosas. Entre as leguminosas, foram incluídas 4 espécies (Tabela 1). Apesar das árvores leguminosas serem abundantes na área de estudo, não foi possível padronizar o experimento utilizando apenas uma espécie ou uma subfamília, pois o número de indivíduos disponíveis que atendessem aos critérios acima descritos era muito baixo. Ou seja, não possuíam DAP maior do que 9 cm e/ou não apresentavam árvores não leguminosas próximas e com medidas de DAP, copa e altura semelhantes.

TABELA 2 – Identificação botânica dos indivíduos de árvores leguminosas utilizadas no estudo, assim como seus respectivos tamanhos.

Subfamília	Espécie	DAP (cm)	Altura (m)
Papilionoideae	<i>Andira fraxinifolia</i>	21,50	14
Papilionoideae	<i>Andira fraxinifolia</i>	11,60	7
Papilionoideae	<i>Andira fraxinifolia</i>	9,50	5
Papilionoideae	<i>Andira fraxinifolia</i>	14,50	12

Papilionoideae	<i>Andira fraxinifolia</i>	11,80	8
Papilionoideae	<i>Pterocarpus rohrii</i>	34,50	13
Papilionoideae	<i>Pterocarpus rohrii</i>	58,40	13
Papilionoideae	<i>Ormosia arborea</i>	25,40	17
Mimosoideae	<i>Inga striata</i>	13,75	20
Mimosoideae	<i>Inga striata</i>	31,30	15

Em uma área de aproximadamente 120 x 40 cm, delimitada sob cada uma das 20 árvores selecionadas, removemos a vegetação presente e transplantamos 10 plântulas de *C. brasiliense*, com distância de 20 cm entre as mudas (Figura 2). A remoção da vegetação foi feita para evitar competição das plantas que ocorrem naturalmente com as plântulas transplantadas.



Figura 2. Parcela contendo plântulas de *Calophyllum brasiliense* transplantadas.

Após o transplante, a altura de cada plântula foi medida com uma fita métrica, desde o solo até a gema apical, além de contado o número de folhas e medido o diâmetro à altura do solo (DAS) com o auxílio de um paquímetro.

O desempenho das plântulas de *C. brasiliense* ao longo do experimento foi medido através da sobrevivência e crescimento. A sobrevivência foi avaliada após nove meses do transplante, em agosto de 2015, contando-se o número de plantas vivas daquelas 10 transplantadas em cada parcela. Para estimar o crescimento, neste mesmo período, foi removida a serrapilheira das parcelas onde houve os transplantes e então foram novamente tomadas as medidas de altura, número de folhas e diâmetro na altura do solo (DAS) das plântulas sobreviventes. A remoção da serrapilheira foi feita para evitar interferências nas medidas de altura e DAS. As diferenças entre os valores obtidos no começo do experimento e após nove meses foram utilizadas como estimativa de crescimento das mudas.

3.4 Análise de dados

Para analisar o efeito das leguminosas sobre a sobrevivência de *Calophyllum brasiliense*, estimamos a proporção de plântulas sobreviventes em relação ao início do experimento em cada um dos tratamentos. A análise dos dados de crescimento foi avaliada através da média da diferença de altura, do número de folhas e DAS do início e final do experimento das plântulas de uma mesma parcela. Em todas as análises utilizamos o teste t pareado, no qual o tipo de árvore vizinha (leguminosa e não leguminosa) é a variável preditora e proporção de plântulas sobreviventes, média do crescimento em número de folhas, DAS e altura são as variáveis resposta. Para as análises estatísticas usamos o programa Excel (versão 2010).

4. RESULTADOS

As plântulas de *Calophyllum brasiliense* apresentaram elevada proporção de sobrevivência em ambos os tratamentos (maior do que 70%), mas um pouco maior sob árvores leguminosas (Figura 3). Porém, a maior sobrevivência de plântulas transplantadas sob árvores leguminosas em comparação às plântulas transplantadas sob não leguminosas é apenas marginalmente significativa ($p=0,07$; $t=1,62$) (Figura 3).

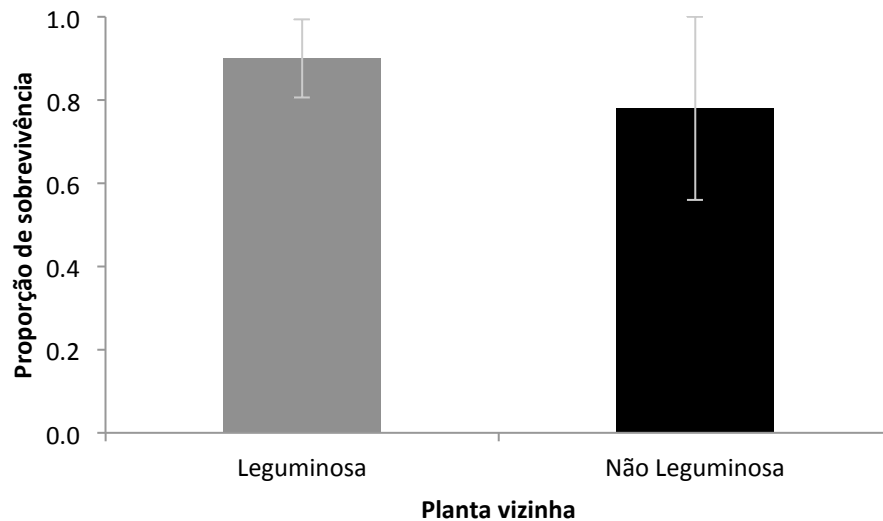


Figura 3. Média da proporção de sobrevivência das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa após 9 meses de experimento ($p=0,07$; $t=1,62$). As barras representam o desvio padrão.

A média da diferença do número de folhas foi negativa, ou seja, a média de abscisão foliar foi superior à média de nascimento de folhas em ambos os tratamentos (Figura 4). No entanto, apesar das médias do número de folhas serem negativas nos dois casos, a redução no número de folhas foi maior em plântulas sob árvores não leguminosas do que sob leguminosas ($p=0,03$; $t=1,99$; Figura 4).

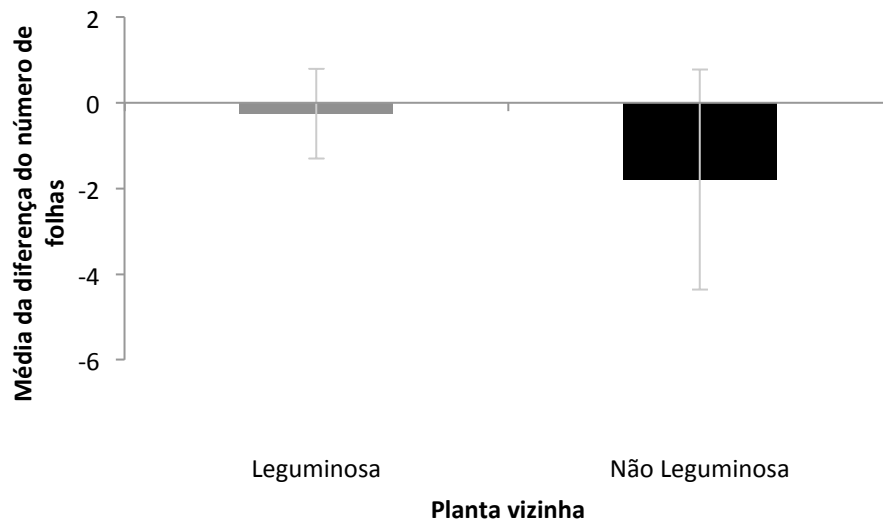


Figura 4. Média da diferença do número de folhas das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa antes e após 9 meses de experimento ($p=0,03$; $t=1,99$). As barras representam o desvio padrão.

Quanto à altura, as plântulas que cresceram sob árvores leguminosas apresentaram crescimento 36,7% maior quando comparadas às plântulas que cresceram sob árvores não leguminosas ($p=0,01$; $t=2,67$; Figura 5).

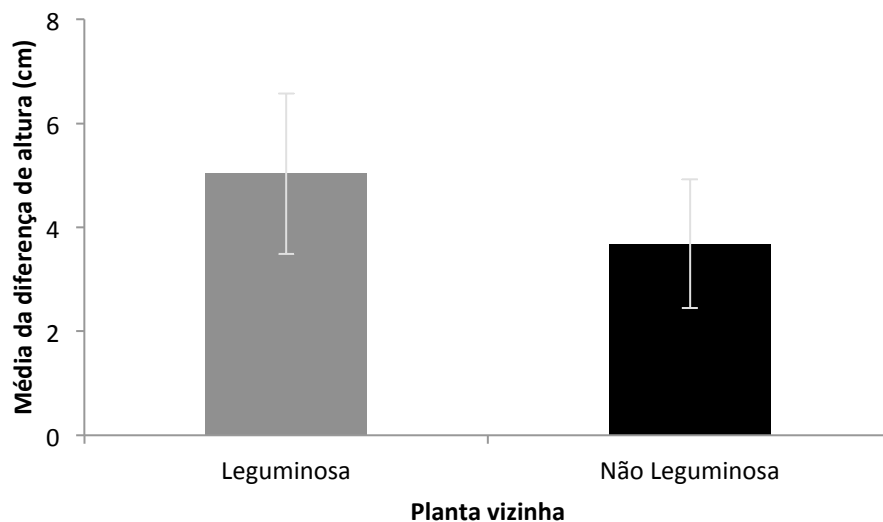


Figura 5. Média do crescimento em altura das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa após 9 meses de experimento ($p=0,01$; $t=2,67$). As barras representam o desvio padrão.

A média do crescimento em diâmetro à altura do solo (DAS) de plântulas transplantadas sob árvores leguminosas também foi significativamente maior quando comparada à média em plântulas transplantadas sob árvores não leguminosas (Figura 6; $p=0,01$; $t=4,34$).

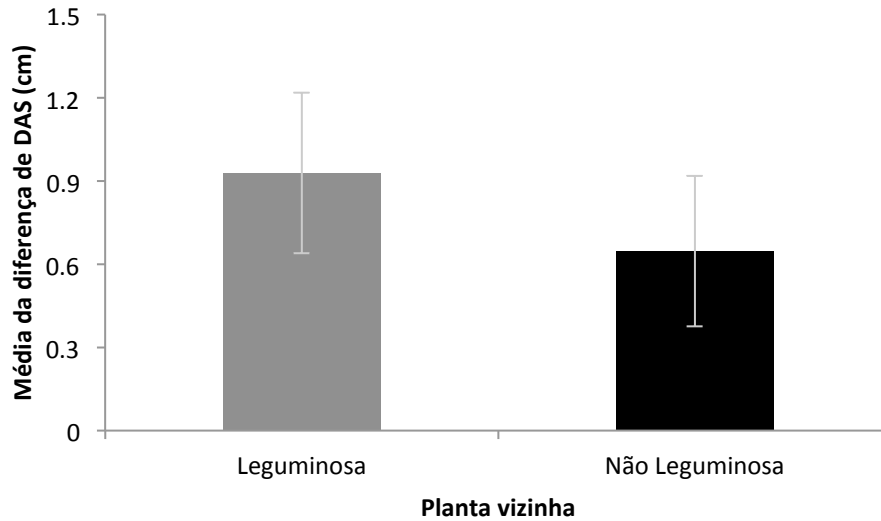


Figura 6. Média do crescimento em DAS das plântulas de *Calophyllum brasiliense* sob árvore leguminosa e não-leguminosa após 9 meses de experimento ($p=0,01$; $t=4,34$). As barras representam o desvio padrão.

5. DISCUSSÃO

Como esperado, os resultados obtidos corroboraram a hipótese proposta na qual árvores leguminosas facilitam *Calophyllum brasiliense* em florestas de restinga, aumentando o crescimento e sobrevivência das mesmas. De maneira semelhante, estudos feitos em diferentes ecossistemas têm encontrado efeito positivo de plantas leguminosas sobre o crescimento de plantas não fixadoras de N (BROWNSTEIN 1984; PUGNAIRE et al 1996; BELLINGHAM et al, 2001 & GOERGEN et al 2012). No entanto, até onde sabemos, não há estudos que encontraram maior sobrevivência em plântulas sob árvores leguminosas fixadoras de nitrogênio quando comparado às plântulas distantes das leguminosas.

Possivelmente, as plântulas transplantadas sob árvores leguminosas apresentaram melhor desempenho devido ao maior acesso ao nitrogênio assimilável disponível no solo (PUGNAIRE et al 1996 ; BELLINGHAM, 2001). Goergen (2012), ao estudar facilitação por leguminosa, encontrou um aumento de nitrogênio no solo em ambientes onde havia leguminosas adultas.

Como o nitrogênio está relacionado à formação de proteínas, aminoácidos e outros compostos do metabolismo, é um elemento essencial para o crescimento da planta. De fato, Howeler (1982) encontrou que a maior disponibilidade de nitrogênio para a planta resulta em maior produção da parte aérea e altura da mesma. Júnior et al (2005) avaliaram o efeito do nitrogênio na mandioca (*Manihot esculenta*) e verificaram que houve uma relação linear entre a dose de nitrogênio aplicado e a altura da planta, bem como em sua produção de matéria seca. Em outro trabalho, Carvalho et al (2012) analisaram o crescimento de milho em níveis contrastantes de nitrogênio e encontraram aumento de 34% da massa seca da parte aérea, 25% no diâmetro de colmo e 24% na altura da planta comparado com a baixa disponibilidade do elemento. Estudos em ambientes naturais apresentaram resultados semelhantes. Pugnaire e Haase (1996), por exemplo, demonstraram que plantas que cresceram sob árvores leguminosas apresentaram maior concentração de N nas folhas e maior massa seca quando comparadas às plantas que cresceram isoladas.

De maneira consistente, porém apenas marginalmente significativa, encontramos efeito positivo das leguminosas sobre a sobrevivência de *C.*

brasiliense. O nitrogênio é um elemento essencial não só para o crescimento, mas também para a sobrevivência da planta e a carência deste elemento na composição no solo pode levar à morte vegetal (RAVEN, 1995). No entanto, não foram encontrados estudos que testaram o aumento da sobrevivência de plântulas, devido à presença de nitrogênio, em ambiente natural. Para um resultado mais conclusivo no presente estudo, é necessária a continuidade do experimento por um período mais prolongado, a fim de confirmar se, de fato, as árvores leguminosas aumentam a proporção de sobrevivência de *C. brasiliense*.

Embora não tenhamos certeza sobre a existência de nodulação nas leguminosas deste estudo, o fato de pertencerem às subfamílias Papilionoideae e Mimosoideae indica que existe alta probabilidade destes indivíduos fixarem nitrogênio. Além disso, o desenho experimental em blocos permite que possamos assumir que o solo das plântulas transplantadas sob leguminosas e sob não leguminosas possui condições bióticas e abióticas semelhantes, tais como condições hídricas, de incidências solares e demais nutrientes não nitrogenados. Portanto reduz as possibilidades de outros mecanismos de facilitação. Isto sugere que a diferença entre os solos onde houveram os transplantes se restringe aos compostos nitrogenados. Desta forma, apesar de não termos certeza de que as leguminosas do fragmento de restinga estão de fato fixando nitrogênio, o fato das leguminosas pertencerem a subfamílias cuja grande maioria das espécies são fixadoras, juntamente com os resultados do nosso experimento nos leva a crer que o mecanismo por trás da facilitação de *C. brasiliense* sob árvores leguminosas é o aumento na disponibilidade de nitrogênio através da fixação biológica.

Embora tenhamos razões para supor que o aumento na disponibilidade de nitrogênio foi o propulsor da diferença no crescimento e sobrevivência das plântulas, são necessários mais estudos para testar essa premissa. Neste sentido seria indicado análises de solo para verificar se há maior teor de nitrogênio assimilável sob leguminosas em comparação às árvores não leguminosas, bem como análises do tecido da planta para checar se há aumento na concentração de N nas folhas. Desta forma, poderemos ter certeza se de fato o nitrogênio é o responsável pela facilitação por leguminosas demonstrado neste estudo.

Utilizamos as três espécies mais abundantes na área (Tabela 1). Isso torna os resultados obtidos muito mais generalizáveis em relação ao efeito positivo de leguminosas neste fragmento de restinga do que se tivéssemos considerado apenas uma espécie de leguminosa. Embora estudos futuros sejam necessários, é possível afirmar que leguminosas presentes em restinga apresentam alto potencial de facilitar o estabelecimento de plântulas de *Calophyllum brasiliense* e possivelmente de outras espécies de plântulas não-fixadoras de N.

Situada no litoral, onde vive grande parte da população brasileira, a vegetação de restinga está entre os ambientes mais ameaçados da Mata Atlântica (QUEIROZ; CARDOSO & FERREIRA, 2012). Adicionalmente, ecossistemas de planície costeira degradados são extremamente difíceis de recuperar, pois apresentam substrato pouco fértil e de fácil percolação devido à elevada quantidade de areia em sua composição (ARAÚJO, 1992). Esses dois fatos citados indicam o desafio que pesquisadores têm para desenvolver técnicas a fim de recuperar áreas degradadas de restinga. Uma vez que sabemos que plantas leguminosas fixadoras de nitrogênio provavelmente facilitam o crescimento e sobrevivência de outras plantas em florestas de restinga, essa informação poderia ser incorporada às metodologias para restauração com o objetivo de torná-las mais eficientes. Por exemplo, o transplante de plântulas não fixadoras sob árvores leguminosas pré-existent na área degradada ou o plantio de novas plantas leguminosas em áreas degradadas para servir de facilitadoras quando atingirem tamanho suficiente para nodular. Ou seja, as informações geradas neste estudo podem subsidiar a melhoria das atuais técnicas utilizadas para a restauração de ecossistemas degradados de planície costeira. O resultado encontrado nos induz a acreditar que a facilitação de árvores leguminosas sobre outras plantas através da fixação biológica de nitrogênio pode ser um dos processos responsáveis pela grande diversidade de plantas que ocorrem nas florestas de restinga, apesar de ser um ambiente com elevado grau de estresse abiótico.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho, nós corroboramos a hipótese de que plântulas de *Calophyllum brasiliense* transplantadas sob árvores leguminosas apresentam maior desempenho quando comparadas às plântulas sob não leguminosas. De uma forma mais ampla, esses resultados indicam que existe um alto potencial de árvores leguminosas das subfamílias Mimosoideae e Papilionoideae facilitarem plântulas não leguminosas em florestas de restinga. Como consequência, plantas que inicialmente não teriam condições de se estabelecer no ambiente, podem fazer através da associação com a leguminosa devido a maior disponibilidade de nitrogênio no solo do entorno. Possivelmente este seja um processo chave para explicar a alta diversidade de espécies de árvores neste ambiente que apresenta elevado grau de estresse abiótico.

De acordo com os resultados encontrados no nosso estudo e em outros, leguminosas fixadoras de nitrogênio podem ser usadas em planos de restauração de áreas degradadas de ecossistemas costeiros. Dado que florestas de restinga são ambientes com muitos fatores limitantes, é difícil o estabelecimento de plântulas nestas regiões, por isso, as leguminosas fixadoras de nitrogênio podem ser fundamentais neste processo.

Em relação a trabalhos futuros, seria interessante que o experimento realizado neste estudo fosse estendido por um período de tempo maior para verificar se a diferença na sobrevivência entre as plântulas sob leguminosas e não leguminosas é de fato significativa. Além disso, poderia ser realizada a análise do tecido foliar das plântulas transplantadas e a quantificação de compostos nitrogenados no solo, onde foram feitos os transplantes, ou seja, sob as árvores leguminosas e sob as árvores não leguminosas a fim de aumentar a certeza de que as plântulas aumentaram a sobrevivência e crescimento devido às leguminosas fixarem nitrogênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, D. S. D. 1992. **Vegetation types of sandy coastal plains of tropical Brazil: a first approximation.** In **Coastal plant communities of Latin America** (U. Seeliger, ed.). Academic Press, San Diego, p.337-347.
- BEDUSCHI, T. & CASTELLANI, T. T. **Friends or Foes? Interplay of facilitation and competition depends on the interaction between abiotic stress and ontogenetic stage.** *Plant Ecol* (2013) 214: 1485- 1492.
- BELLINGHAM, P. J. ; WALKER, L. R. & WARDLE D. A. **Differential facilitation by a nitrogen-fixing shrub during primary succession influences relative performance of canopy tree species.** *Ecology*. 89. p. 861-875. 2001
- BERTNESS, M. D. & CALLAWAY, R. 1994. **Positive interactions in communities.** *Trends in Ecology and Evolution* 9: 191-193.
- BERKOWITZ, A. R.; CANHAM, C. D. & KELLY, V. R. **Competition vs. facilitation of tree seedling growth and survival in early successional communities.** *Ecology*. v. 76. n. 4. p. 1156-1168. 1995.
- BOTREL, M. C. G. et al. **Caracterização genética de *Calophyllum brasiliense* Camb. Em duas populações de mata ciliar.** *Revista Árvore*. Viçosa, v.30, p. 821-827. 2006.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. **Regulation of nitrogen absorption and assimilation in plants.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.30, n.2, p. 365-372. 2000.
- BRONSTEIN, G. E. **Producción comparada de una pastura de *Cynodon plectostachyus* asociada con árboles de *Cordia alliodora*, con árboles de *Erythrina poeppigiana* y sin árboles.** Universidad de Costa Rica. 1984.
- CALLAWAY, R. M. **Positive Interactions among plants.** *The botanical review*. v. 61. n. 4. p. 306-349. 1995.
- CALLAWAY, R. M. **Positive interactions and interdependence in plant communities.** Springer, Dordrecht, NL, 2007.

- CARVALHO, E. V. et al. **Crescimento de milho em níveis contrastantes de nitrogênio e sua correlação com produtividade de grãos**. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. v.8. n. 3. p. 351-357. 2012
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. V. 1, Brasília: Embrapa florestas. p. 1039. 2003.
- CASTANHO, C. T. **Facilitação entre plantas e suas implicações para a dinâmica e restauração de restingas**. IB – USP, São Paulo, 2012. p. 5-74.
- CENTRO DE PESQUISAS METEOROLÓGICAS E CLIMÁTICAS APLICADAS À AGRICULTURA (CEPAGRI). **Clima dos municípios paulistas**. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_121.html>. Acesso em 20 de novembro de 2014.
- CIRIELLO, V.; GUERRINI, I. A. & BACKES, B. **Nitrogen doses on the initial growth and nutrition of guanandi plants**. Cerne. v. 20. n. 4. p. 653-660. 2014.
- CHAPIN, F. S.; MATSON P. A. & VITOUSEK P.M. **Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology**. 2ª ed., Springer, 2011, p. 244-281.
- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil). 1996. **Anexo da Resolução CONAMA 07/96, de 23 de julho de 1996**. Diário Oficial da União. Brasília. Publicado em 26.08.1996
- CRAWFORD, N. M. **Nitrate: nutrient and signal for plant growth**. The plant cell, Rockville. v. 7. p. 859-868. 1995.
- FARIA, S. M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I. & SUTHERLAND, J. M. **Ocurrence of nodulation in the Leguminosae**. New Phytologist, 111; 607-619, 1989.
- FAGAN, E. B. et al. **Fisiology of biologic fixation nitrogen in soybean – a review**. Revista da FZVA. Uruguaiana. v. 14. n. 1. p. 89-106. 2007.
- FLORES, E. M. **Calophyllum brasiliense Cambess**. Tropical tree seed manual. Washington, USDA Forest Service. p. 353-356. 2002.

GALLO, L. A. & BASSO L. C. **Fundamentos de bioquímica para ciências biológicas, ciência dos alimentos, agrônômicas e florestais**. ESALQ. Piracicaba, 2012.

GOERGEN, E. ; CHAMBERS, J. C. **Facilitation and interference of seedling establishment by a native legume before and after wildfire**. *Oecologia*. 168. p. 199-211. 2012.

HOWELER R. H. **Nutricion mineral e fertilizacion de la yuca**. In: Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. p. 317-357. 1982.

JUNIOR, N. S. C. et al. **Efeito do nitrogênio em características agrônômicas da mandioca**. *Bragantia*, Campinas, v.64, n.4, p. 651-649. 2005.

KIM, J. & REES, D. C. **Nitrogenase and biological nitrogen fixation**. *Biochemistry* v. 33. p. 389-397. 1994.

KNOPS, J. M. H.; BRADLEY, K. L. & WEDIN, D. A. **Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling**. *Ecology Letters*, v. 5, n. 3, p. 454-466, 2002.

KREBS C. J. **Ecology – The Experimental Analyses of Distribution and Abundance**. 6ª Ed. Benjamin Cummings, 2009. p. 353-368.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. p. 352. 1992.

MAESTRE, F. T. & CORTINA, J. **Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe**. *The Royal Society*. s 331-333. 2004

MARQUES, M. C. M. & JOLY, C. A. **Germinação e crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de florestas inundadas**. *Acta Botânica Brasilica*, São Paulo, v.14, n.1, p. 113-120, 2000.

MIFLIN B. J. & LEA P. J. **The Pathway of nitrogen assimilation in plants**. *Phytochemistry* 152 (1): 873 – 885. 1976.

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

MOUTINHO, M. F. **Facilitação ou competição? Relação interespecífica entre duas espécies de plantas de dunas.** Curso de pós graduação em Ecologia. USP.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. & RATTER, J. A. **A study of the origin of central brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns.** Edinburg Journal of Botany. Edinburgh, v.52, p.141-194. 1995.

PUGNAIRE, F. I. & HAASE, P. **Facilitation between higher plant species in a semiarid enviroment.** Ecology, 77 (5). p. 1420-1426. 1996.

QUEIROZ, E. P.; CARDOSO D. B. O. S. & FERREIRA, M. H. S. **Composição florística da vegetação de restinga da APA Rio Capivara, Litoral Norte da Bahia, Brasil.** Sitientibus série Ciências Biológicas 12 (1): 119-141. 2012.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. & EICHHORN. **Biologia vegetal.** 5ª Ed. Cap 4 e 23. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 1996.

RICKLEFS, R.E. **A Economia da Natureza.** 6a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, p. 436-441.

SANTOS, L.C.S. **Crescimento inicial de leguminosas forrageiras tropicais inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio.** 2008. 52 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)– Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC, Ilhéus, 2008.

SOARES, P. G. **Efeito da inoculação com rizóbio no estabelecimento, crescimento inicial e abundância natural de ¹⁵N em leguminosas (Fabaceae) arbóreas nativas plantadas por semeadura direta.** Tese de mestrado. USP. Piracicaba. 2007.

SPRENT, J.I. **Legume trees and shrubs in the tropics: N₂ fixation in perspective.** Soil Biology and Biochemistry. Oxford. v. 27. n. 4/5. p. 401-407. 1995

STUART, J. **Leguminosas fixadoras de nitrogênio facilitam outras espécies arbóreas em uma floresta de restinga?** Tese de mestrado. USP. São Paulo. 2010.

VITOUSEK, P. M. & FIELD C. B. **Ecosystem constraints to symbiotic nitrogen fixers: a simple model and its implications.** Biogeochemistry 46: 179-202. 1999

VITOUSEK, P. M. et al. **Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation.** *Biogeochemistry* 57/58: 1-45. 2002.