UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

LUCIANA RUGGIERO BACHEGA

A CAMADA SERAPILHEIRA-SOLO EM ÁREAS DE REFLORESTAMENTO DE MATAS CILIARES

LUCIANA RUGGIERO BACHEGA

A CAMADA SERAPILHEIRA-SOLO EM ÁREAS DE REFLORESTAMENTO DE MATAS CILIARES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências Ambientais¹.

Orientador: Prof. Dr. Marcel Okamoto Tanaka

Coorientadora: Profa. Dra. Andréa Lucia

Teixeira de Souza

São Carlos-SP 2019

¹ Apoio: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Bachega, Luciana Ruggeiro

A camada serapilheira-solo em áreas de reflorestamento de matas ciliares / Luciana Ruggeiro Bachega. -- 2019.

94 f.: 30 cm.

Tese (doutorado)-Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador: Marcel Okamoto Tanaka

Banca examinadora: Raquel Stucchi Boschi, Paulo Teixeira Lacava, Alberto Carlos de Campos Bernardi, José Ricardo Macedo Pezzopane Bibliografia

1. Restauração ecológica. 2. fertilidade do solo. 3. decomposição. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Luciana Ruggiero Bachega, realizada em 13/12/2019.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Marcel Okamoto Tanaka (UFSCar)

Profa. Dra. Andrea Lucia Teixeira de Souza (UFSCar)

Profa. Dra. Raquel Stucchi Boschi (UFSCar)

Prof. Dr. Paulo Teixeira Lacava (UFSCar)

Prof. Dr. Alberto Carlos de Campos Bernardi (EMBRAPA)

Prof. Dr. José Ricardo Macedo Pezzopane (EMBRAPA)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais.



AGRADECIMENTOS

Agradeço o pleno apoio financeiro referente aos processos nos 2015/14785-5 e 2017/26019-0, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que tornou possível a execução desta tese de doutorado. Sendo importante ressaltar que as opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcel Okamoto Tanaka e coorientadora Prof^a. Dr^a Andréa Lúcia Teixeira de Souza por toda a orientação, confiança e compreensão para que eu pudesse desenvolver esse trabalho.

Aos meus pais, Sonia e José Bachega, que sempre estavam disponíveis para montar *litterbags* ou moer solo no laboratório de final de semana.

Ao meu orientador do estágio de pesquisa no exterior, Prof. Dr. Lars Vesterdal e toda equipe da Universidade de Copenhagen pela recepção e oportunidade de compartilhar meu projeto de pesquisa.

Ao Flávio Marchesin do Sítio São João, que foi um dos responsáveis pelos restauros e sempre manteve sua propriedade disponível para visitas. Aos demais proprietários das áreas que permitiram as coletas deste trabalho, incluindo Fazenda do Pinhal, Fazenda Yolanda, Camará Mudas Florestais e Fazenda Santa Francisca do Lobo.

À Prof^a. Dr^a. Silvana Perissatto Meneghin do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental – UFSCar Araras que permitiu que eu utilizasse esse espaço e me ensinou as análises de biomassa do solo.

Aos técnicos da UFSCar Alexandre Kannebley de Oliveira e Luiz Aparecido Joaquim, o "seu Luizinho", pela ajuda no laboratório e nos trabalhos de campo.

Aos amigos do Departamento de Ciências Ambientais, por sempre garantirem uma boa conversa, um bom café e uma boa risada.

Aos professores do Departamento de Ciências Ambientais que sempre estiveram de portas abertas.

Se as coisas são inatingíveis...ora!

Não é motivo para não querê-las...

Que triste os caminhos, se não fora

A mágica presença das estrelas!

(Das Utopias, Mário Quintana)

RESUMO

Bachega, L. R. – A camada serapilheira-solo em áreas de reflorestamento de matas ciliares. 2019 – 94p: Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, São Carlos – 2019.

O desmatamento da cobertura vegetal nativa altera as funções ecológicas dos ecossistemas terrestres, entre as quais a ciclagem de nutrientes. As matas ciliares atuam como ligação entre o ambiente terrestre e o aquático e, assim, possuem importante papel no funcionamento dos ciclos biogeoguímicos. A camada serapilheira-solo é a principal responsável pela ciclagem de nutrientes e retorno destes para o sistema através da decomposição, que é a mineralização da matéria orgânica com a quebra dos compostos orgânicos em inorgânicos. Este processo é realizado por microrganismos, sendo dependente da composição química do substrato vegetal, das condições ambientais de temperatura e umidade, e das condições do solo, incluindo atributos físicos e químicos. Assim, pode-se utilizar como parâmetros de recuperação de um ecossistema a decomposição da serapilheira e os atributos do solo de fertilidade e a comunidade microbiana. O presente projeto teve como objetivo avaliar a camada serapilheira-solo em áreas de reflorestamento de matas ciliares como parâmetro de avaliação de sucessão ecológica em microbacias com trechos de riachos reflorestados na região do município de São Carlos. Para tanto, foram selecionadas seis áreas reflorestadas e duas áreas controle para o monitoramento da deposição, decomposição e composição química da serapilheira, sendo também avaliadas e caracterizadas a estrutura da vegetação e os atributos do solo nestas áreas. A estrutura da vegetação foi considerada um bom critério para avaliação da restauração das propriedades da camada serapilheira solo. Assim, o serviço ecossistêmico de ciclagem de nutrientes em florestas ripárias é restaurado à medida que a vegetação é estruturada. Esses resultados deste estudo permitem indicar parâmetros para a implementação dos futuros projetos de restauração e para o melhor manejo das áreas restauradas.

Palavras-chave: Restauração ecológica; fertilidade do solo; microbiologia do solo; decomposição; serapilheira

ABSTRACT

Deforestation of native forests results in changes in the ecological functions of terrestrial ecosystems such nutrient cycling. Riparian forests link terrestrial and aquatic environments and thus play an important role in the functioning biogeochemical cycles. The litter-soil layer is the main driver of the nutrient cycling and its return to the system through decomposition, which is the mineralization of organic matter. This process is performed by microorganisms and is affected by litter chemical composition, the environmental conditions of temperature and humidity, and soil attributes, including physical and chemical attributes. Thus, parameters such as litter decomposition and soil properties like fertility and microbial community can be used to indicate ecosystem recovery. This study aimed to evaluate the litter-soil layer in riparian forest reforestation areas as a parameter to evaluate ecological succession in watersheds in reforested streams in the region of São Carlos. Six reforested areas and two control areas were selected for monitoring litter deposition, decomposition and chemical composition. The vegetation structure and soil attributes in these areas were also evaluated and characterized. The vegetation structure presented a good fit with soil properties in the soil litter layer. Thus, the ecosystem service of nutrient cycling in riparian forests is restored as vegetation develops. The results of this study can contribute to indicate parameters for the implementation of future restoration projects and for the better management of restored areas

Keywords: Ecological restoration; soil fertility; soil microbial community; litter decomposition

TABELA DE ABREVIATURAS E SIGNIFICADOS

ACP – Análise de componentes principais

AEQ – Árvore-Equivalente

AOA amoA – Ammonia-oxidizing archaea

AOB amoA - Ammonia-oxidizing bactéria

APP – Área de Preservação Permanente

BA - Basal area

BD – Bulk density

C/N – Relação carbono nitrogênio

Ca - Cálcio

CEC - Cation exchange capacity

CFI - Comparative fit index

CTC - Capacidade de troca catiônica

DAP – Diâmetro na altura do peito

DAP CV - Coeficiente de variação do DAP

- Diâmetro a altura do peito

DBH – Diameter at breast height

F: B – Total fungal and bacterial ratio

FS – Forest stratification

K - Potássio

MBC - Microbial biomass carbono

Mg - Magnésio

MO – Matéria orgânica

N – Nitrogênio

NF - Florestas nativas

nirK – Cu-containing nitrite reductase

nirS - Cytochrome nitrite reductase

P - Fósforo

PERMANOVA – Permutational multivariate analysis of variance

*q*CO₂ – Soil metabolic quotient

qPCR – quantitative PCR

RFI – Florestas em processo de recuperação tardio

RFII – Florestas em processo de recuperação inicial

RM-ANOVA – Repeated measure ANOVA

RMSEA – Root mean square error of approximation

SB - Soma de bases

SBR – Soil basal respiration

SEM – Structural equation modelling

SMA – Secretaria do Meio Ambiente

SOM – Organic matter

TD – Tree density

V% – Saturação por bases

SUMÁRIO

| Introdução Geral | 12 |
|---|----|
| Capítulo 1. Alterações na fertilidade do solo em áreas de reflorestamento de mata ciliar: efeitos da profundidade, estação e estrutura da floresta | |
| 1.1 Introdução | 17 |
| 1.2 Materiais e Métodos | 20 |
| 1.3 Resultados | 24 |
| 1.4 Discussão | 31 |
| 1.5 Conclusão | 36 |
| Capítulo 2 - Tropical riparian forest restoration: the drivers for broad and specific soil microbial composition | 37 |
| 2.1 Introduction | 37 |
| 2.2 Methods | 39 |
| 2.3 Results | 45 |
| 2.4 Discussion | 53 |
| 2.5 Conclusion | 57 |
| Capítulo 3 - Decomposição da serapilheira em florestas ripárias tropicais: efeitos da vegetação, fertilidade do solo e qualidade da serapilheira | 58 |
| 3.1 Introdução | 58 |
| 3.2 Materiais e métodos | 61 |
| 3.3 Resultados | 68 |
| 3.4 Discussão | 72 |
| 2.5 Conclusão | 77 |
| 4 Conclusão | 78 |
| REFERÊNCIAS | 80 |

Introdução Geral

As florestas encontradas ao longo dos cursos hídricos recebem o nome geral de matas ciliares, entretanto apresentam variação nos padrões de vegetação, cujas características dependem das condições ambientais (SANCHEZ et al., 1999; NAIMAN; DÉCAMPS; MCCLAIN, 2005). Essas matas representam no Estado de São Paulo um terço da cobertura remanescente de florestas (FERREIRA; ALVES; SHIMABUKURO, 2015).

As matas ciliares são consideradas, para efeito legal, como Áreas de Preservação Permanente (APP) e descritas como "área protegida, coberta ou não por vegetação nativa, com a função ambiental de preservar os recursos hídricos, (...) proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas"; assim, o Código Florestal não impõe o plantio de floresta ciliar, apenas obriga o isolamento e a ausência de atividade na zona ripária (BRASIL, 2012). Entretanto, a presença de uma vegetação estabelecida é importante nestas áreas, pois é onde ocorre a conexão entre os ambientes terrestre e aquático, exercendo diversas funções ecológicas, como o amortecimento de impactos ambientais e a conservação dos ciclos biogeoquímicos (GREGORY et al., 1991; PETER et al., 2012). As matas ciliares apresentam maiores estoques de carbono que áreas de várzea com pastagem (WANTZEN et al., 2012) e os riachos em áreas naturais possuem menores concentração de soluções dissolvidas na água quando comparados àqueles em zonas agrícolas (SILVA et al., 2011). Porém, não apenas a presença da vegetação é importante, mas também a dimensão e a estrutura da floresta ripária têm influência significativa na função ecossistêmica de remoção de nutrientes (SOUZA et al., 2013; AGUIAR et al., 2015). Assim, diversas alterações dos fluxos biogeoquímicos podem ocorrer pela mudança do uso e ocupação do solo decorrente de atividades antrópicas.

A ciclagem de nutrientes nas florestas depende principalmente da decomposição dos resíduos orgânicos, onde é garantido o retorno de nutrientes ao solo e conferida uma maior estabilidade ao sistema (JORDAN; KLINE, 1972; FAYLE et al., 2015). Todo o material decíduo da floresta que se depõe sobre o solo como folhas, caules, ramos, frutos, flores e outras partes da planta, bem como restos de animais e material fecal formam uma camada sobre o solo, chamada de serapilheira.

A produção de serapilheira pode variar devido a diversos fatores bióticos quanto abióticos: tipo de vegetação, precipitação, temperatura (LIU et al., 2004; ZHANG et al., 2014), estágio sucessional, altitude (ZHOU et al., 2007), fertilidade do solo (VITOUSEK, 1984) e diversidade de espécies vegetais (SCHERER-LORENZEN; BONILLA; POTVIN,

2007). A deposição de serapilheira em florestas tropicais, incluindo a Mata Atlântica, é positivamente correlacionada com a precipitação (FERREIRA et al., 2014). Porém, em florestas estacionais semidecíduas a maior produção de serapilheira ocorre no período seco (GODINHO et al., 2014), pois a abscisão foliar está negativamente correlacionada com a precipitação e o fotoperíodo (PIRANI; SANCHEZ; PEDRONI, 2009; RUBIM; NASCIMENTO; MORELLATO, 2010). O estágio sucessional do ecossistema também exerce grande influência na produção e deposição de serapilheira. Por exemplo, Nunes e Pinto (2007) encontraram maior produção em áreas de florestas nativas, mata mesófila semidecídua, em comparação com as áreas de recuperação, ambos localizados em áreas de mata ciliar. Esses autores também observaram diferença temporal de deposição, pois as áreas nativas apresentaram maiores valores ao final do período seco, enquanto áreas restauradas não apresentaram sazonalidade. Outro fator que pode influenciar a produção da serapilheira é a fertilidade do solo, pois a limitação de nutrientes está relacionada ao menor crescimento das plantas (WRIGHT et al., 2011).

Na camada da serapilheira ocorre o processo de decomposição da matéria orgânica, onde esta é quebrada a pequenas partículas e a formas solúveis de nutrientes. os quais se tornam disponíveis aos vegetais (WARING; SCHLESINGER, 1985a). Além das condições ambientais de temperatura e umidade, a decomposição do material vegetal está diretamente relacionada com sua qualidade química. Por exemplo, a concentração de nitrogênio (N), de fósforo (P), a relação carbono e nitrogênio (C/N), os teores de C solúvel, celulose, lignina e a relação lignina/N no material vegetal podem influenciar as taxas de decomposição (HÄTTENSCHWILER; JØRGENSEN, 2010). Entretanto, seus efeitos sobre a decomposição não ocorrem da mesma maneira: os teores de C solúveis influenciam positivamente a decomposição, enquanto que os de celulose e a lignina influenciam negativamente a perda de massa (VIVANCO; AUSTIN, 2008; TALBOLT; TRESEDER, 2012). A decomposição também está relacionada com os traços funcionais das espécies, que diferem com relação às estratégias econômicas de alocação de recursos dos vegetais. As espécies vegetais classificadas como de sucessão pioneiras investem em rápido crescimento, necessitam de maiores quantidades de nutrientes e são decompostas rapidamente, enquanto espécies de sucessão secundárias têm crescimento lento, com maior custo estrutural para manter folhas de vida longa que, por sua vez, são decompostas mais lentamente (BAKKER; CARREÑO-ROCABADO; POORTER, 2011).

Além das condições químicas da camada serapilheira-solo, a fauna desempenha papel fundamental no processo de decomposição (GONZÁLEZ; SEASTEDT, 2001). Há nesta camada uma grande quantidade de organismos, como anelídeos e nematoides, que

realizam o processo inicial de fragmentação e mistura dos resíduos orgânicos, o que permite aumentar a superfície de contato para incremento da próxima fase da decomposição (BRADFORD et al., 2002). Em seguida, a mineralização da matéria orgânica é realizada por fungos e bactérias, sendo este processo positivamente relacionado com a diversidade destes organismos (HÄTTENSCHWILER; TIUNOV; SCHEU, 2005). Durante a atividade de decomposição pelos microrganismos, uma parcela dos nutrientes é retida na comunidade microbiana e outra é mineralizada, disponibilizando íons nos solos (WARING; SCHLESINGER, 1985a).

As taxas de decomposição podem variar com o estágio sucessional da vegetação, pois as condições ambientais, como a temperatura e umidade do solo, e disponibilidade de recursos como o aporte de carbono, tendem a ser diferentes nesses estágios, o que altera a atividade microbiana (CURIEL YUSTE et al., 2007). As alterações ambientais podem ocorrer devido à retirada da cobertura de detritos sobre o solo, afetando negativamente a decomposição em áreas ripárias quando comparadas com áreas de solo coberto protegido (RUAN; LI; ZOU, 2005). Por exemplo, Vasconcellos et al. (2013) observaram que a resposta da biomassa microbiana é muito sensível em parcelas de reflorestamento de matas ciliares, apresentando-se com maiores valores nas parcelas mais antigas, onde ocorrem maiores valores de carbono total do solo e acúmulo de matéria orgânica. Além disso, Nunes e Pinto (2012) encontraram maiores taxas de decomposição em áreas nativas de matas ciliares quando comparadas com áreas recuperadas, conferindo este resultado às melhores condições microclimáticas criadas pelo estágio sucessional secundário.

A retirada da cobertura vegetal e o revolvimento da camada serapilheira-solo alteram os estoques de C no solo. Por exemplo, Bôas et al. (2014) encontraram menores valores de C na camada de 0-10 cm em áreas consideradas degradadas quando comparadas com áreas nativas, porém na camada de 10-20 cm maiores valores de C foram encontrados nas áreas degradadas . Zelarayán et al. (2015) observaram que os estoques de C foram inversamente proporcionais ao nível de degradação de florestas ripárias na Amazônia.

Desta maneira, a formação e decomposição da camada vegetal sobre o solo é um processo complexo que envolve o ambiente físico-químico, a qualidade do substrato e a comunidade de organismos decompositores.

Em 2014 a Secretaria do Meio Ambiente (SMA) do Estado de são Paulo estabeleceu diretrizes para a restauração ecológica com a Resolução nº. 32. Neste documento é ressaltada a importância da estrutura da cobertura vegetal como indicador ecológico para os projetos de recuperação ecológica, que deve ser avaliada periodicamente até considerar-se que a recomposição tenha sido atingida. Ainda no mesmo ano, foi instituído

pelo Governo do Estado de São Paulo o Programa de Incentivos à Recuperação de Matas Ciliares e à Recomposição de Vegetação nas Bacias Formadoras de Mananciais de Água com o Decreto 60.521, no qual foi instituída a unidade padrão Árvore-Equivalente (AEQ) para áreas de reflorestamento. A metodologia para o cálculo da AEQ foi definida pela resolução da SMA no. 70 que avalia a característica da vegetação, o bioma em que o local está inserido e a importância da área para a conservação da biodiversidade. Desta maneira, considera-se que a estrutura da vegetação é de grande importância no processo de recuperação das matas ciliares e devem ser analisadas as características locais do ecossistema para a aplicação dos projetos de recuperação. Entretanto, esta resolução considera o caráter inovador da metodologia, e que é conveniente testá-la em escala piloto antes de sua adoção em todos os casos previstos no Decreto 60.521.

Portanto, o processo de restauração de matas ciliares e seu monitoramento deve ser entendido como um investimento a longo prazo à manutenção dos recursos hídricos e à disponibilidade de água para consumo. É de fundamental importância compreender o processo de recuperação de uma área degradada em todos seus aspectos, pois o entendimento dos processos de ciclagem de nutrientes via decomposição e suas relações com o funcionamento do solo durante este período pode fornecer dados sobre o estágio de recuperação do solo e a necessidade de monitoramento da área. Além disso, as áreas de matas ciliares apresentam grande variação em um mesmo local e entre áreas; quando se considera que os processos de recuperação são realizados de maneiras diferentes a variabilidade é ainda maior, intensificando a necessidade de estudos destas áreas para avaliar se estes processos ecossistêmicos também são restaurados.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a dinâmica de nutrientes e decomposição da serapilheira, como também a atividade microbiana do solo em relação à estrutura da vegetação das matas ciliares em recuperação numa região central do Estado de São Paulo. Essas florestas foram categorizadas em três tipos: florestas nativas (NF); florestas em processo de recuperação tardio (RFI); e florestas em processo de recuperação inicial (RFII). Em vista disso, esta tese é constituída por três capítulos:

(1) Alterações na fertilidade do solo em áreas de reflorestamento de mata ciliar: efeitos da profundidade, estação e tipo da floresta. Este capítulo apresenta a fertilidade do solo entre áreas de floresta conservada e áreas em processo de reflorestamento em duas profundidades, 0-10 e 10 e 20 cm e em duas estações, seca e chuvosa. Foram testadas as hipóteses que: (i) Os atributos do solo e a influência da estrutura da vegetação sobre o solo apresentam sazonalidade; (ii) Os atributos do solo são

- influenciados pela estrutura da vegetação, sendo que a camada superficial do solo é mais afetada pela estrutura da vegetação que camadas mais profundas;
- (2) Recuperação de florestas ripárias tropicais: os principais fatores que influenciam a composição microbiana geral e específica. Neste capítulo, a comunidade microbiana foi avaliada em diferentes níveis (funções gerais, composição geral e composição específica) nas estações seca e chuvosa. Foram testadas as hipóteses (i) que a comunidade microbiana difere entre os tipos de floresta e entre as estações dependendo do tipo de floresta; (ii) e que a comunidade microbiana é afetada pela estrutura da floresta, sendo que as características gerais e específicas da comunidade são influenciadas por fatores diferentes em relação ao solo e vegetação.
- (3) Decomposição da serapilheira em florestas ripárias tropicais: efeitos da vegetação, fertilidade do solo e qualidade da serapilheira. Neste capítulo a decomposição da serapilheira foi estimada com uso de *litterbags* por 12 meses, sendo também monitoradas as propriedades ambientais das áreas como atributos do solo, deposição da serapilheira e comunidade microbiana. Foram testadas as hipóteses de que (i) o material em decomposição apresenta uma fração estável, que é importante para os estoques de C nos solos tropicais, e que esta fração pode ser prevista através de modelo matemático adequado; (ii) que a estrutura da floresta, as características do solo, e a qualidade da serapilheira devem influenciar diretamente o processo de decomposição, e indiretamente através da comunidade microbiana do solo.

Capítulo 1. Alterações na fertilidade do solo em áreas de reflorestamento de mata ciliar: efeitos da profundidade, estação e estrutura da floresta.

1.1 Introdução

A conversão de ecossistemas florestais para agrícolas pode levar a diversas alterações no solo, tanto em relação a seus atributos físicos (REICHERT et al., 2016), químicas (FRAZÃO et al., 2010), e biológicas (TSIAFOULI et al., 2015). Essas mudanças podem afetar os servicos ecossistêmicos como a regulação hídrica, ao reduzir a capacidade de infiltração da água pela compactação do solo (ALAOUI et al., 2018); a ciclagem de nutrientes, devido ao declínio nos estoques de nutrientes do solo (MUÑOZ-ROJAS et al., 2015); a regulação da emissão de gases do efeito estufa pelo aumento da emissão do carbono (C) para a atmosfera (PEARSON et al., 2017). Entretanto, diferentes ecossistemas podem variar em suas respostas às mudanças no uso, ocupação e manejo do solo (MURTY et al., 2002), pois os atributos do solo resultam da interação entre o material mineral do solo, as condições ambientais e a comunidade biótica (BURKE et al., 1989; SHANMUGAM; KINGERY, 2018).

As regiões tropicais enfrentam intensa conversão da sua cobertura florestal em paisagens agrícolas (SONG et al., 2018). Essas regiões podem ser mais fortemente influenciadas pela mudança do uso e ocupação do solo que ecossistemas temperados (OGLE; BREIDT; PAUSTIAN, 2005), devido às diferentes características do solo. Os solos tropicais são altamente intemperizados e constituídos por argilas com baixa capacidade de troca catiônica (CTC) (VITOUSEK; SANFORD, 1986), além de apresentarem altas taxas de decomposição e ciclagem de nutrientes (ZHANG et al., 2008). Tais características acarretam em um ecossistema com ciclos abertos de nutrientes, o que pode resultar em altas perdas de nutrientes do sistema (MARTINELLI et al., 1999). Diversos trabalhos já reportaram como os solos tropicais são alterados com a mudança do uso do solo de florestal para agrícola, tais como perdas nos estoques de C (CARVALHO et al., 2010) e N (ASSEFA et al., 2017). Entretanto, também é fundamental compreender como o solo das áreas tropicais respondem aos projetos de restauração ecológica, onde ocorre a conversão de cobertura agrícola e/ou degradadas para áreas reflorestadas.

Esses impactos, devido a mudanças do uso e ocupação do solo, têm desencadeado esforços mundiais para reverter a degradação do solo. O processo de recuperação de ecossistemas impactados e degradados visando restabelecer as funções ecossistêmicas é descrito como restauração ecológica (HOBBS; CRAMER, 2008). Nas ultimas décadas

observou-se muito progresso na área de restauração ecológica (RUIZ-JAEN; AIDE, 2005a), principalmente em ambientes temperados, no hemisfério Norte, e em ambientes subtropicais, na Austrália (WORTLEY; HERO; HOWES, 2013). Dessa maneira, é necessário avançar os estudos sobre restauração nos ambientes tropicais, pois a restauração nesses ecossistemas tem grande potencial para a mitigação dos impactos ambientais globais (BRANCALION et al., 2019).

A restauração ecológica em ambientes tropicais é um complexo desafio considerando a vasta biodiversidade presente nessas áreas. O Brasil é um dos países com maior biodiversidade, e apresenta uma robusta legislação sobre restauração ecológica. Um exemplo é a Resolução nº 32 da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, que foi desenvolvida sob amplo debate durante mais de uma década entre a comunidade científica e outras partes interessadas (CHAVES et al., 2015). Entre suas diretrizes, essa resolução estabelece o mínimo de 30 espécies arbóreas nativas para considerar restabelecida a comunidade biológica (SMA, 2014). Embora a alta diversidade de árvores seja um relevante aspecto a ser considerado nos projetos de restauração em ambientes tropicais, isso não garante o desenvolvimento sucessional e funcional do ecossistema (ARONSON et al., 2011). Como alternativa, os projetos de restauração poderiam priorizar o reestabelecimento das funções ecossistêmicas, tais como a ciclagem de nutrientes, decomposição da serapilheira e recuperação dos atributos do solo (RODRIGUES et al., 2009), visando a sustentabilidade em diversas escalas (STANTURF; PALIK; DUMROESE, 2014).

A estrutura da vegetação é geralmente utilizada para avaliar os processos de restauração ecológica por ser um melhor indicador do estágio sucessional que a idade da floresta (REINERS et al., 1994; BATISTELI; TANAKA; SOUZA, 2018; HALE et al., 2018; VAN BREUGEL et al., 2019), sendo frequentemente correlacionada com funções ecossistêmicas (RUIZ-JAEN; AIDE, 2005b). O desenvolvimento da vegetação pode influenciar os atributos do solo através da absorção e deposição de nutrientes, pois durante o crescimento das árvores há alta demanda de nutrientes, o que pode reduzir suas concentrações no solo. Em contrapartida, nos estágio sucessionais mais avançados, a deposição de nutrientes via serapilheira pode acarretar no aumento da fertilidade do solo (LOVETT et al., 2018). Alguns estudos apontam que, apesar do desenvolvimento da vegetação em áreas de restauração, os atributos do solo podem não acompanhar o mesmo processo de mudança depois de oito anos de restauração (HALE et al., 2018) ou mesmo depois de 35 anos de restauração (AYALA-OROZCO et al., 2018).

A avaliação da influencia da estrutura da vegetação nos atributos do solo envolve alterações em escala espacial e temporal. Os atributos do solo em áreas em recuperação variam com a profundidade do solo, pois é um reflexo do material parental do solo e também da sua cobertura vegetal. As primeiras camadas são as mais afetadas pelo uso e ocupação do solo (MARIN-SPIOTTA et al., 2009), pois nestas há o acumulo do material depositado na serapilheira e também a maior concentração de raízes. O solo pode também apresentar variação sazonal de nutrientes e fertilidade, principalmente em ambientes com estações climáticas distintas, tais como períodos de seca e períodos chuvosos (VOURLITIS et al., 2017). Desta maneira, é necessário considerar essas variações espaciais e temporais do solo no planejamento e na avaliação dos projetos de restauração.

A restauração ecológica em zonas ripárias é relevante considerando o papel que o solo dessas florestas exercem no amortecimento de impactos ambientais, como por exemplo a remoção do excesso de sedimentos e nutrientes lixiviados que podem impactar os corpos hídricos (PETER et al., 2012; SCHILLING; JACOBSON; WOLTER, 2018). Além disso, o solo dessas florestas encontra-se em condições ambientais específicas de aporte de nutrientes provenientes da bacia hidrográfica e também com possíveis inundações (PINAY et al., 2018). Assim, é importante compreender como os solos das florestas ripárias respondem ao desenvolvimento da vegetação nos projetos de restauração ecológica.

Neste trabalho, nós analizamos a estrutura da vegetação e os atributos do solo em uma cronossequencia de florestas ripárias em processo de restauração ecológica no Estado de São Paulo para avaliar a influência da restauração na variação dos atributos do solo. Foram avaliadas seis áreas em diferentes idades de reflorestamento e duas áreas com remanescentes florestais para avaliar as seguintes hipóteses: (1) Os atributos do solo e a influência da estrutura da vegetação sobre o solo apresentam sazonalidade; (2) Os atributos do solo são influenciados pela estrutura da vegetação, sendo que a camada superficial do solo é mais afetada pela estrutura da vegetação que as camadas mais profundas.

1.2 Materiais e Métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em florestas ripárias de riachos de baixa ordem, na microbacia do Ribeirão Feijão. Esta área ocupa 240 km² na região central do estado de São Paulo, sendo parte da bacia hidrográfica do Rio Tietê (47°93'06"- 47°76'95" O e 22°16'63"-22°07'19"S). O clima na região é tropical de altitude, Cwa na classificação Koeppen, com altas temperaturas no verão e invernos secos (ROLIM et al., 2007). A temperatura média é de 21,5°C e a precipitação média de 1.500mm, concentrada entre os meses de Outubro e Março (verão austral). Esta região está localizada entre 670 a 1300 m acima do nível do mar e apresenta um relevo montanhoso. Embora nesta região encontram-se diferentes formações geológicas, as áreas de amostragem foram localizadas sobre a formação Serra Geral com a predominância de Latossolos (ANA CLARA CERMINARO, 2015). Esse tipo de solo é caracterizado por ter predomínio na porção argila, serem profundos e homogêneos, com pequena diferenciação entre os horizontes, sendo bem drenados e com baixa CTC. A cobertura nativa da região é de floresta tropical semidecidual, variando entre Mata Atlântica e Cerrado; entretanto, essa paisagem foi convertida a pequenos fragmentos de remanescentes de florestas (16,4%) dando lugar a pastagens (38,7%) e paisagens agrícolas (16,9%) (MACHADO et al., 2016).

Entre 2006 e 2014, foi desenvolvido um projeto de restauração ecológica em áreas ripárias da microbacia do Ribeirão Feijão com o objetivo de atendar às legislações ambientais nos âmbitos estadual e federal. O projeto de restauração foi desenvolvido por uma Organização Não Governamental, Iniciativa Verde, com o plantio de mudas de espécies nativas pioneiras e de sucessão secundária, baseadas em trabalho de levantamento florístico da região (SILVA; SOARES, 2003). As áreas restauradas eram previamente utilizadas como pastagens; portanto, antes do plantio, as áreas foram cercadas, o solo foi preparado com o corte das gramíneas, descompactado com subsolador, e fertilizado para receber as mudas. Para este estudo, foram selecionadas oito áreas, incluindo duas áreas com florestas nativa (NF): C1 e C2; quatro áreas com florestas em processo de recuperação tardio (RFI): R1, restaurada em 2006; R2, R3 e R4, restauradas em 2008; e duas áreas com florestas em processo de recuperação inicial (RFII): R5 e R6, restauradas em 2012 e 2013, respectivamente. A restauração dessas áreas escolhidas seguiu a mesma técnica descrita acima, com excessão da área R6, a qual por

iniciativa do proprietário teve seu plantio adensado nas entrelinhas. Em cada área, foi traçado um transecto paralelo ao curso hídrico, a cerca de 15m da margem, onde quatro parcelas permanentes de 10 x 10m foram sistematicamente estabelecidas, com o espaçamento de 10m entre elas, totalizando inicialmente 32 parcelas amostradas. Entretanto, uma das parcelas da área R3 foi invadida pelo gado devido ao rompimento da cerca, sendo descartada das análises.

Estrutura da vegetação

A estrutura da vegetação foi determinada em cada parcela em março de 2018. Foram contabilizados e medidos todos os indivíduos com diâmetro à altura do peito (DAP) ≥ 5.0 cm. Assim foram obtidas as seguintes variáveis da estrutura da vegetação para cada parcela: densidade de indivíduos, DAP médio, área basal total e coeficiente de variação do DAP (DAP CV) (SOUZA et al., 2013).

Amostragem do solo

O solo foi coletado em duas datas: em agosto de 2017 e março de 2018, nas estações Seca/inverno e Chuvosa/verão, respectivamente. As amostras foram coletadas com um trado na região central de cada parcela em duas profunidades: 0-10 e 10-20 cm.

Análise do solo

As análises de C, nutrientes, acidez potencial, pH e matéria orgânica (MO) foram realizadas em quatro réplicas por área. As concentrações totais de C e nitrogênio (N) foram determinadas por combustão a seco em um Shimadzu® TOC-L, com modelo sólido acoplado, no Laboratório de Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de São Carlos, *campus* Araras (UFSCar Araras). O fósforo (P) disponível foi determinado por resina de troca aniônica (OLSEN, 1954) e o potássio (K), o cálcio (Ca) e magnésio (Mg) por resina de troca de íons (VAN RAIJ; QUAGGIO; DA SILVA, 1986). A acidez potencial foi determinada com solução de Ca(CH₃COO)₂.H₂O, 0,5 mol L⁻¹ a pH 7,0 e titulada com NaOH 0,025 mol L⁻¹. O pH foi medido com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. As concentrações de

Ca, K, Mg, Ca e acidez potencial foram usadas nos cálculos para a CTC, soma de bases (SB) e saturação por bases (V%). A MO foi determinada por método de oxidação com dicromato de K e titulação com FeSO₄ (WALKLEY; BLACK, 1934). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Fertilidade de Solos, UFSCar Araras.

Análise de dados

Para avaliar se os atributos do solo variavam entre as estações, profundidade e tipos de vegetação (Hipótese 1) foi utilizado um modelo misto de análise de variância hierárquica com medidas repetidas. O modelo incluiu os efeitos de Tipo (fixo) (tipo de floresta: NF, RFII e RFII), o de Área aninhado em tipo (aleatório) e Profundidade (fixo) entre objetos, e o efeito da Estação (fixo) e as interações com os demais efeitos na fonte de variação dentro de objetos; o efeito de parcelas aninhado em áreas e suas interações fez parte dos resíduos (Tabela 1). Quando a ANOVA indicou que a análise de um dado componente de variância não rejeitava a hipótese nula (ou seja, que uma dada linha da tabela ANOVA não indicava variação entre tratamentos), então as duas fontes de variação foram combinadas para compor o denominador da fonte de variação hierarquicamente superior. Por exemplo, para testar o efeito de Área (Tipo), o denominador é o Resíduo 1 (Tabela 1). Se o efeito de Área (Tipo) não era significativo, então este componente de variância foi agrupado com o Resíduo 1, que tem 46 graus de liberdade. Para se testar o efeito de Tipo, o denominador seria Área (Tipo), que tem 5 graus de liberdade, mas com o agrupamento o denominador seria o Resíduo 1, agora com 56 graus de liberdade devido ao agrupamento. O objetivo deste método é aumentar o poder dos testes de forma a estimar corretamente o erro de amostragem dentro de cada fonte de variação da ANOVA, reduzindo o erro tipo II (Underwood, 1997). Para controlar o erro tipo I, as fontes de variação foram agrupadas apenas quando P > 0.25 (Winer 1971). Para se avaliar diferenças entre médias, foi usado o teste de comparações múltiplas HSD de Tukey.

Tabela 1. Construção dos testes F do modelo ANOVA de medidas repetidas, considerandose os componentes de variância e o quadrado médio esperado [E(QM)]de cada fonte de variação. Não são apresentados os coeficientes de E(QM) devido a diferenças de balanceamento entre os níveis de Tipo, para maior clareza. Componentes entre chaves indicam efeitos fixos

| Linha | Fonte de variação | gl | E(QM) | Denominador |
|-------|--|----|--|-------------|
| | Entre objetos | | | |
| 1 | Tipo: T _i | 2 | $\sigma''_{\Pi((A(T)))} + \sigma''_{A(T)} + [T]$ | Linha 2 |
| 2 | Área(Tipo): <i>A_{j(i)}</i> | 5 | $\sigma''_{\Pi((A(T)))} + \sigma''_{A(T)}$ | Linha 6 |
| 3 | Profundidade: L _k | 1 | $\sigma''_{\Lambda\Pi((A(T)))} + \sigma''_{\Lambda A(T)} + [\Lambda]$ | Linha 5 |
| 4 | Tipo × Prof: $T_i \times L_k$ | 2 | $\sigma''_{\Lambda\Pi((A(T)))} + \sigma''_{\Lambda A(T)} + [\Lambda T]$ | Linha 5 |
| 5 | Área(Tipo) × Prof: $A_{j(i)} \times L_k$ | 5 | $\sigma''_{\Lambda\Pi((A(T)))} + \sigma''_{\Lambda A(T)}$ | Linha 6 |
| 6 | Resíduo 1 | 46 | $\sigma''_{A\Pi((A(T)))} = \sigma''_{\Pi(A(T)))}$ | |
| | Dentro de objetos | | | |
| 7 | Estação: E _l | 1 | $\sigma''_{E\Pi((A(T)))} + \sigma''_{EA(T)} + [E]$ | Linha 9 |
| 8 | Est. \times Tipo: $E_l \times T_i$ | 2 | $\sigma''_{E\Pi((A(T)))} + \sigma''_{EA(T)} + [ET]$ | Linha 9 |
| 9 | Est. × Área(Tipo): $E_i \times A_{j(i)}$ | 5 | $\sigma''_{E\Pi((A(T)))} + \sigma''_{EA(T)}$ | Linha 13 |
| 10 | Est. \times Prof.: $E_i \times L_k$ | 1 | $\sigma''_{EA\Pi((A(T)))} + \sigma''_{EAA(T)} + [EA]$ | Linha 12 |
| 11 | Est. \times Tipo \times Prof.: $E_l \times T_i \times L_k$ | 2 | $\sigma''_{E\Lambda\Pi((A(T)))} + \sigma''_{E\Lambda A(T)} + [E\Lambda T]$ | Linha 12 |
| 12 | Est. × Área(Tipo) × Prof.: $E_i \times A_{j(i)} \times L_k$ | 5 | $\sigma''_{EA\Pi((A(T)))} + \sigma''_{EAA(T)}$ | Linha 13 |
| 13 | Resíduo 2 | 46 | $\sigma''_{E\Pi((A(T)))} = \sigma''_{E\Lambda\Pi((A(T)))}$ | |

A estrutura da vegetação foi analisada através de Análise de Componentes Principais (ACP). As variáveis foram previamente transformadas para logaritmo neperiano para se obter normalidade, e posteriormente normalizadas para média = 0 e desvio padrão = 1. Foram considerados apenas os eixos com autovalores maiores que um (LEGENDRE; LEGENDRE, 2012), resultando em três eixos (Veg1, Veg2 e Veg3, ver Resultados).

Para avaliar o efeito da estrutura da vegetação e da profundidade nos atributos do solo (Hipótese 2) foi utilizado um processo de seleção de modelos. Para cada atributo do solo foram considerando os efeitos da profundidade e os três eixos do ACP da estrutura da vegetação, assim como suas interações. Os modelos selecionados foram aqueles com menor AIC (BURNHAM; ANDERSON, 2002). Os modelos mistos de análise de variância foram analisados com o software Systat 13.0. As demais análises foram realizadas no ambiente R 3.2.3 (R Core Team, 2015); o ACP no pacote Vegan (OKSANEN et al., 2019) e a seleção de modelos no pacote MuMin (BARTÓN, 2019)

1.3 Resultados

Atributos do solo entre os tipos de vegetação, profundidades e estações

Os efeitos de Tipo, Profundidade, Área(tipo) e Estação diferiram entre os atributos do solo (Tabela 2). A maioria dos atributos do solo analisados não diferiram em relação ao Tipo de vegetação, florestas nativas ou restauros, e apenas C, N, relação carbono e fósforo (C/P) e relação nitrogênio e fósforo (N/P) apresentaram diferença (Tabela 2). De acordo com o teste de Tukey, as diferenças entre NF, RFI e RFII foram significativas para C, N e N/P, enquanto para C/P os valores foram significativamente menores para RFII em relação a NF e RFI, que por sua vez não diferiram entre si. Já em relação à Profundidade, a maioria dos atributos (com exceção de C/N, P, N/P e pH) apresentaram diferenças significativas, com maiores valores encontrados na Profundidade de 0-10cm. Não houve interação entre Profundidade e Tipo ou Profundidade e Área. Por outro lado, o efeito de Área(Tipo) foi significativo para MO, pH e concentrações de cátions, incluindo algumas interações com a Estação (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados da ANOVA fatorial com medidas repetidas avaliando os efeitos de tipo de vegetação, área aninhada em tipo, profundidade no solo e estação do ano em diferentes atributos do solo. Os números entre parênteses indicam os graus de liberdade para cada fator. Os símbolos representam a probabilidade de a hipótese nula ser verdadeira: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 e ns= não significativo

| · · · · · · · · · · · · · · · · · · · | - | | - | | | | | _ | | | | | | |
|---|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Fonte de Variação (gl) | С | N | CN | Р | СР | NP | МО | K | Ca | Mg | SB | СТС | ٧ | рН |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| Tipo (2) | *** | *** | ns | ns | * | *** | ns |
| Profundidade (1) | *** | ** | ns | ns | ** | ns | *** | ** | *** | *** | *** | ** | *** | ns |
| Tipo x Profundidade (2) | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Área (Tipo) (5) | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ** | ** | *** | *** | *** | ** | *** | *** |
| Área (Tipo) x Profundidade (5) | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| Estação (1) | ns | ns | ns | *** | *** | *** | ns | *** | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Estação x Tipo (2) | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | * | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Estação x Profundidade (1) | ns | ** | * | ns | ns | ns | ** | ns |
| Estação x Profundidade x Tipo (2) | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Estação x Área (Tipo) (5) | ns | ** | ns | ns | ns | * | *** | ns | ** | ns | ** | ** | ** | ** |
| Estação x Profundidade x Área (Tipo) (5) | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |

C: carbono; N: nitrogênio; CN: relação carbono/nitrogênio; P: fósforo; CP: relação carbono/fósforo; NP: relação nitrogênio/fósforo; MO: matéria orgânica do solo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; SB: soma de bases; CTC: capacidade de troca catiônica; V%: saturação por bases.

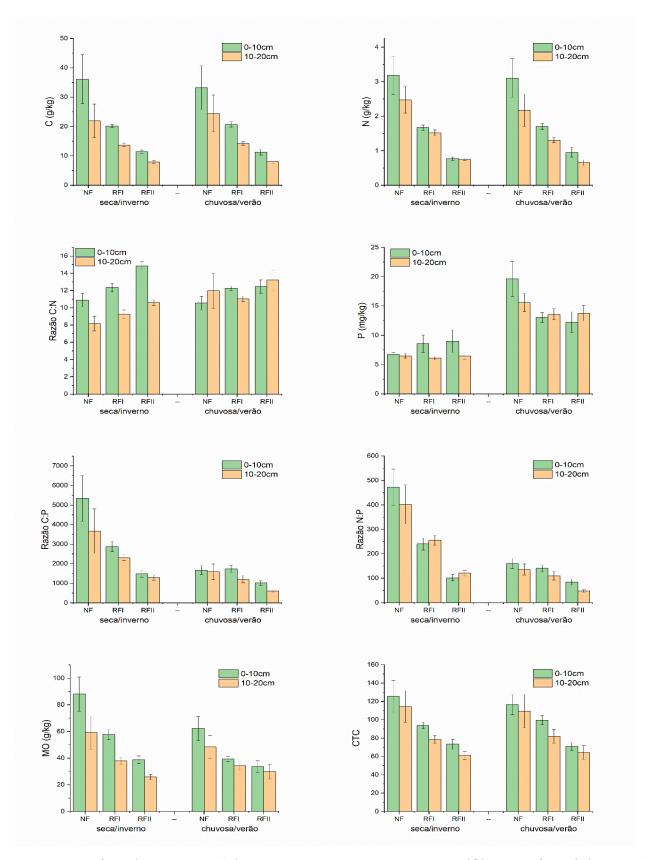


Figura 1- Média (± erro padrão) dos atributos do solo carbono (C), nitrogênio (N), relação carbono/nitrogênio (C/N), fósforo disponível (P), relação carbono/fósforo (C/P), relação nitrogênio/fósforo (N/P), matéria orgânica (MO) e capacidade de troca catiônica (CTC) nas estações Seca/inverno e Chuvosa/verão, nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm entre as áreas de floresta nativa (NF, n=8), florestas em processo de recuperação tardio (RFI, n=16) e florestas em processo de recuperação inicial (RFII, n=8)

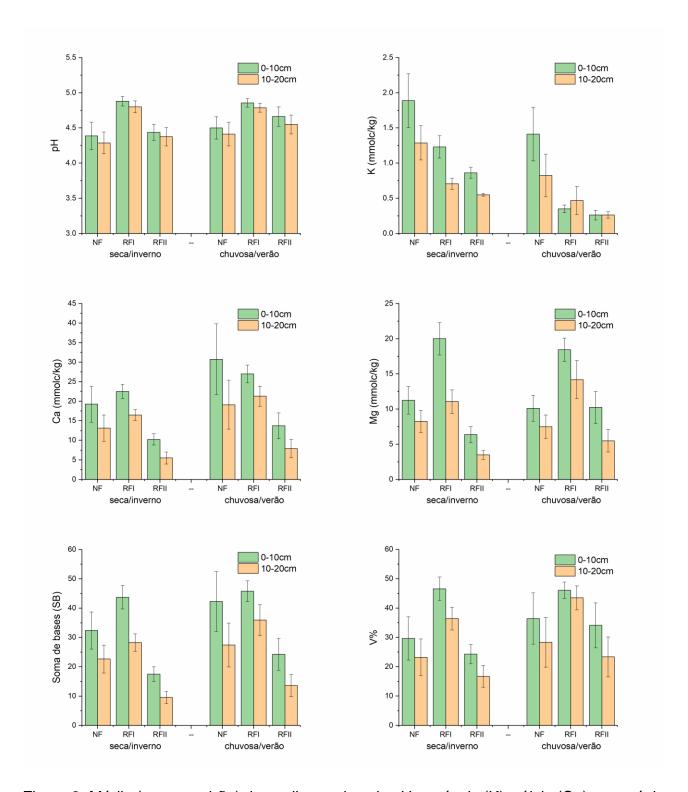


Figura 2- Média (± erro padrão) dos atributos do solo pH, potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), soma de bases (SB) e saturação por bases (V%) nas estações Seca/inverno e Chuvosa/verão, nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm entre as áreas de floresta nativa (NF, n=8), florestas em processo de recuperação tardio (RFI, n=16) e florestas em processo de recuperação inicial (RFII, n=8)

Em relação à variação temporal entre estações do ano, P, C/P, N/P e K foram os atributos que apresentaram diferenças entre estações (Tabela 2). E, entre esses, houve interação Estação x Tipo em K (Tabela 2). As concentrações de P apresentaram maiores valores na estação chuvosa/verão e consequentemente menores valores de C/P e N/P nesta estação (Figura 1). As concentrações de K foram maiores na estação seca/inverno, com maiores diferenças entre os tipos, enquanto na estação chuvosa/verão menores concentrações de K foram observadas, principalmente nos restauros RFI e RFII (Figura 2). A interação Profundidade x Estação foi observada em N, C/N e MO (Tabela 2); as concentrações de N na seca/inverno não apresentaram diferença entre as profundidades, entretanto na chuvosa/verão houve diferença entre as camadas com os maiores valores na camada 0-10cm (Figura 1). A relação C/N e MO apresentaram o padrão inverso de N, com diferenças entre as camadas na estação seca/inverno e sem diferença significativa na chuvosa/verão. Em diversos atributos foram observados os efeitos de área ou da interação de área x estação (Tabela 2) o que indica uma grande variação espacial e temporal entre as áreas dentro de um mesmo tipo de vegetação.

Estrutura da vegetação

A estrutura da vegetação (Tabela 3) foi relacionada com o tipo de floresta, nativa (NF) e restaurado (RF), especialmente em relação aos dois primeiros eixos, sendo as nativas mais densas e com maiores árvores (Figura 3). Os três primeiros eixos da ACP explicaram 99,6% da variação da estrutura da vegetação (autovalores: eixo 1 = 1,69, eixo 2= 1,27 e eixo 3= 1,02). O primeiro eixo da ACP (o qual foi denominado Veg1) explicou 42,3% da variação, e representa um gradiente de tamanhos de árvores, com maiores área basal (autovetor = 0,74) e DAP médio (autovetor = 0,64). O segundo eixo (Veg2) explicou 31,8% da variação, que corresponde a um gradiente de crescimento da densidade (autovetor = 0,84) e diminuição do DAP médio (autovetor = -0,39) e DPA CV (autovetor = -0,34). O terceiro eixo da ACP (Veg3) explicou 25,5% da variação, representando maiores valores de DAP CV (autovetor = 0,91).

Tabela 3- Valores médios das características da estrutura da vegetação (os valores mínimos e máximos estão em parênteses) para as áreas de remanescente (C1 e C2) e restauradas (R1 a R6) em março de 2018 (n=4)

| | Densidade de indivíduos (ha-1) | Área basal (m² ha-1) | DAP (cm) | CV_DAP |
|----|--------------------------------|----------------------|--------------------|------------------|
| C1 | 1575 (1100-1900) | 23,53 (13,17-40,47) | 10,96 (3,45-37,56) | 0,28 (0,24-0,32) |
| C2 | 3225 (1300-5000 | 42,83 (27,91-59,85) | 11,95 (3,61-34,22) | 0,23 (0,20-0,25) |
| R1 | 1100 (700-1300) | 20,98 (11,96-36,51) | 12,09 (3,45-45,87) | 0,31 (0,27-0,34) |
| R2 | 825 (600-1100) | 15,23 (8,15-26,60) | 13,08 (4,71-41,98) | 0,21 (0,16-0,25) |
| R3 | 666 (500-800) | 19,58 (14,85-28,83) | 15,20 (4,77-51,79) | 0,30 (0,25-0,34) |
| R4 | 1100 (900-1600) | 15,77 (11,31-23,92) | 11,29 (3,28-43,34) | 0,23 (0,17-0,28) |
| R5 | 750 (600-900) | 8,81 (6,88-13,71) | 10,40 (2,04-29,26) | 0,28 (0,19-0,44) |
| R6 | 11525 (5500-21000) | 4,04 (3,11-5,27) | 5,55 (2,63-13,95) | 0,22 (0,12-0,27) |

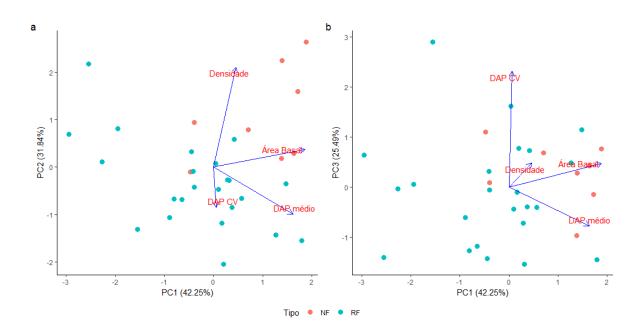


Figura 3 – Ordenação das áreas estudadas através de Análise de Componentes Principais em relação à estrutura da vegetação: a) eixo 1 e eixo 2; b) eixo 1 e eixo 3. NF= remanescentes de floresta nativa; RF= áreas restauradas.

Efeitos da estrutura da vegetação, da profundidade do solo e das estações nos atributos do solo

Os efeitos da estrutura da vegetação nos atributos do solo variaram entre estações, mas de forma diversa para os diferentes atributos do solo (Tabela 4). As concentrações de C, N, P e MO, assim como a relação C/N, foram principalmente relacionadas positivamente com Veg1 (Figura 3), isto é, com o tamanho das árvores, nas duas estações. A relação C/N, ao contrário, diminuiu com o aumento da área basal apenas na estação Seca/inverno, mas na estação Chuvosa/verão não foi relacionada com nenhum fator (Tabela 4). Por outro lado, apenas P não foi relacionado a Veg1, com maiores valores na profundidade 10-20cm na estação Seca/inverno, enquanto na estação Chuvosa/verão foi relacionado com Veg2, áreas com maior densidade de árvores; entretanto, em ambos os casos a relação foi fraca (Tabela 4).

As concentrações de C aumentaram com Veg1 na camada superficial em ambas as estações, porém na estação Seca/inverno houve também relação positiva com Veg2. Da mesma maneira, a concentração de N no solo tem a mesma resposta que C em relação à estrutura da vegetação entre as estações, entretanto foram registradas maiores concentrações na camada superior apenas na estação Chuvosa/verão. Apenas para MO a Veg3 foi significativa, além de Veg1, Veg2 e profundidade no Seca/inverno, o que representa maior concentração de MO na camada de 0-10 cm, na presença de árvores maiores, maior densidade de indivíduos e com a maior estratificação das árvores. Diferentemente, a concentração de MO na estação Chuvosa/verão foi explicada apenas pela profundidade e Veg1.

Os atributos do solo como pH e concentrações de K, Ca e Mg, SB, CTC e V% foram todas significativas para Veg2. De maneira geral, estas apresentaram menores valores com maior densidade de árvores, porém K e CTC apresentaram relações positivas com a densidade. Na estação Seca/inverno, exceto para pH, a profundidade foi significativa para todas essas variáveis, com maiores valores na camada de 0-10cm. O tamanho das árvores, Veg1, também foi significativo para todas as variáveis exceto pH. A diferença observada entre as estações foi que na estação Chuvosa/verão a profundidade não teve efeito na variação de K e V% (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados da análise de seleção de modelos para os efeitos Profundidade, Veg1, Veg2, Veg3, Profundidade*Veg1, Profundidade*Veg2, Profundidade*Veg3 entre as estações Seca/inverno e Chuvosa/verão nos atributos do solo (n=4). O modelo inclui o intercepto, mas foi omitido da tabela. – p>0,05, * p<0,05, **p<0,01 e ***p<0,001

| | Profundidade | | didade Veg1 | | | | Veg3 | | | |
|--------------|--------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------|--------|
| | Coeficiente | Erro | Coeficiente | Erro | Coeficiente | Erro | Coeficiente | Erro | R^2 | р |
| Seca/inverno | | | | | | | | | | |
| С | -0,236*** | 0,044 | 0,129*** | 0,017 | 0,047* | 0,020 | - | - | 0,59 | <0,001 |
| Ν | - | - | 0,299*** | 0,036 | 0,137** | 0,041 | - | - | 0,55 | <0,001 |
| C/N | -0,441*** | 0,073 | -0,065* | 0,028 | - | - | - | - | 0,39 | <0,001 |
| Р | -0,087* | 0,034 | - | - | - | - | - | - | 0,08 | 0,015 |
| MO | -0,317*** | 0,057 | 0,158*** | 0,022 | 0,060* | 0,026 | 0,067* | 0,028 | 0,59 | <0,001 |
| рΗ | - | - | - | - | -0,238*** | 0,039 | - | - | 0,36 | <0,001 |
| K | -0,460*** | 0,080 | 0,172*** | 0,031 | 0,249*** | 0,036 | - | - | 0,64 | <0,001 |
| Ca | -1,357** | 0,445 | 0,676*** | 0,174 | -0,710*** | 0,200 | - | - | 0,36 | <0,001 |
| Mg | -1,130*** | 0,309 | 0,552*** | 0,121 | -0,351* | 0,139 | - | - | 0,38 | <0,001 |
| SB | -2,270*** | 0,626 | 1,086*** | 0,245 | -0,802** | 0,282 | - | - | 0,38 | <0,001 |
| CTC | -0,208** | 0,073 | 0,171*** | 0,028 | 0,155*** | 0,033 | - | - | 0,51 | <0,001 |
| V(%) | -3,165* | 1,385 | 1,273* | 0,541 | -2,708*** | 0,624 | - | - | 0,30 | <0,001 |
| | | | | Chu | ıvosa/verão | | | | | |
| С | -0,213*** | 0,059 | 0,128*** | 0,023 | - | - | - | - | 0,41 | <0,001 |
| Ν | -0,364** | 0,127 | 0,282*** | 0,049 | - | - | - | - | 0,39 | <0,001 |
| C/N | | - | - | - | - | - | - | | - | - |
| Р | - | - | - | - | 0,043* | 0,016 | - | - | 0,09 | <0,001 |
| MO | -0,168* | 0,069 | 0,133*** | 0,027 | - | - | - | - | 0,32 | <0,001 |
| рΗ | - | - | - | - | -0,203*** | 0,034 | - | - | 0,36 | <0,001 |
| K | - | - | 0,294*** | 0,069 | 0,325*** | 0,079 | - | - | 0,35 | <0,001 |
| Ca | -1,544* | 0,628 | 0,784** | 0,246 | -1,038*** | 0,283 | - | - | 0,30 | <0,001 |
| Mg | -0,885* | 0,341 | 0,403** | 0,133 | -0,564*** | 0,153 | - | - | 0,30 | <0,001 |
| SB | -2,128** | 0,793 | 1,062** | 0,310 | -1,261*** | 0,357 | - | - | 0,32 | <0,001 |
| CTC | -0,241* | 0,108 | 0,131** | 0,042 | 0,131** | 0,048 | - | - | 0,24 | <0,001 |
| V(%) | - | - | 1,455* | 0,549 | -3,746*** | 0,632 | - | - | 0,40 | <0,001 |

1.4 Discussão

Variação sazonal nos atributos do solo

Os atributos dos solos florestais podem variar sazonalmente, em resposta à variação nas condições ambientais, como temperatura, pluviosidade e períodos de inundação, devido a alterações na quantidade de nutrientes que é mineralizada (VOURLITIS et al., 2017). O presente estudo avaliou as diferenças do solo entre a estação seca e com temperaturas amenas em relação à estação chuvosa com maiores temperaturas. Os resultados mostraram que os atributos do solo apresentaram diferenças sazonais (Hipótese 1), mas estas diferenças variaram em relação à profundidade das camadas analisadas e das características específicas da vegetação das áreas estudadas.

A variação entre as profundidades, com maiores valores na camada superficial, está fortemente correlacionada com o aporte de material orgânico sobre o solo, cuja influência diminui com a profundidade (MARTINS, 2010; CARVALHO et al., 2017). A variação dos atributos do solo encontrada entre as áreas reflete a grande complexidade dos ecossistemas tropicais com grande quantidade de biomassa em solos com limitação nutricional e alta ciclagem de nutrientes (GRAU et al., 2017).

Os valores de C encontrados foram maiores nas florestas nativas, intermediários nos restauros antigos e menores nos restauros mais novos. Altos valores de C foram encontrados por Wantzen et al. (2012) em áreas ripárias conservadas de Cerrado. Esses autores também observaram grande redução nos estoques de C nessas áreas com a retirada da cobertura florestal nativa. No presente trabalho, as concentrações de C não variaram sazonalmente, o que infere uma estabilidade nos estoques de C no solo. Porém, a diminuição dos teores de MO para algumas áreas na estação Chuvosa/verão prevê que nesta estação há condições ambientais, temperatura e umidade do solo, que proporcionam maior quebra da matéria orgânica e mineralização dos nutrientes como N e P (VOURLITIS et al., 2017). As concentrações de N no solo também corroboram dados obtidos em áreas de vegetação semidecíduas (CALAZANS et al., 2018). Entre as relações estequiométricas, a relação C/N apresentou valores entre 12 e 16, que são valores encontrados na literatura para solos de cerrado (ZINN; LAL; RESCK, 2005) e também são os padrões globais (CLEVELAND; LIPTZIN, 2007).

O P e K foram os elementos que apresentaram diferenças entre as estações. Esses elementos possuem características em comum pois são provenientes do intemperismo das rochas, portanto em solos altamente intemperizados a ciclagem desses se caracteriza por

haver pouco incremento externo ao sistema. Entretanto os ciclos de P e K se diferem principalmente pela mobilidade desses no solo. O P possui pouca mobilidade no solo, se ligando fortemente às partículas do solo. Essas características do P no solo somada às características dos solos tropicais, especialmente o alto intemperismo e acidez, conferem normalmente a baixa disponibilidade de P nesses solos (SILVEIRA SARTORI SILVA et al., 2019). No presente trabalho, os menores valores de P foram observados na estação seca, influenciando assim as relações N/P e C/P, uma vez que as concentrações de C e N não variaram sazonalmente. A principal fonte de P no solo é devida à mineralização do material orgânico depositado (VITOUSEK; SANFORD, 1986; ZHOU et al., 2018), o que corrobora com o aumento de P encontrado concomitantemente com a diminuição da MO.

O K, ao contrário, é um elemento móvel no solo. Os menores valores de K encontrados na estação Chuvosa/verão estão de acordo com o comportamento deste elemento com a maior quantidade de água no solo. A mobilidade de K aumenta com a disponibilidade de água no solo; assim, nessas condições, este elemento está mais disponível para ser absorvido pelas plantas e também pode ser lixiviado (SARDANS et al., 2012).

A variação dos outros cátions e atributos como MO, SB, CTC e V% foi fortemente relacionada à variação entre áreas dentro de cada tipo de vegetação, resultando em interação deste fator com a estação do ano. Desta forma, características locais da vegetação podem determinar como estes atributos variam em resposta à variação sazonal das condições climáticas, o que resulta em maior variância dentro de cada tipo de vegetação, reduzindo, portanto, as diferenças entre tipos de vegetação. Alguns estudos encontraram variação nos atributos do solo em pequenas escalas espaciais devido a diferenças entre espécies de árvores (BOETTCHER; KALISZ, 1990; PRESCOTT; GRAYSTON, 2013) ou de microclima (REMY et al., 2016; SCHMIDT et al., 2017), sendo que em florestas naturais a heterogeneidade na distribuição de elementos no solo pode ser maior que em florestas manejadas (SALAZAR et al., 2011). Entretanto, poucos estudos avaliaram se esta heterogeneidade estava relacionada à estrutura das florestas.

Atributos do solo em relação à estrutura da vegetação e o efeito de profundidade com a estrutura

De maneira geral os atributos do solo puderam ser explicados com a estrutura da vegetação, pois apresentaram variações significativas em relação aos eixos do ACP,

principalmente à Veg1 e à Veg2, ao tamanho e à densidade de árvores respectivamente. Os atributos químicos do solo também variaram com a camada, sendo maiores valores encontrados na camada mais superficial. Porém não foi observada interação entre a estrutura da vegetação e a profundidade do solo. A vegetação é o principal fator para a ciclagem de nutrientes, o que justifica as maiores concentrações na camada mais superficial (JOBBÁGY; JACKSON, 2001).

A maioria dos parâmetros apresentou relação positiva com Veg1, isto é, com áreas de maior área basal. Este parâmetro é considerado o maior determinante da produção de biomassa acima do solo (JUCKER et al., 2016) e, com maior produção de biomassa, espera-se um maior aporte de C e nutrientes para o solo via serapilheira, principalmente quando associado também com maior densidade de árvores. Em florestas tropicais há grande retorno de N via deposição de serapilheira (VITOUSEK; SANFORD, 1986). Assim, em áreas em estágio sucessional mais avançado, com mais árvores e de maior porte, há incremento na fertilidade do solo e nos estoques de C (ZELARAYÁN et al., 2015).

A relação C/N não foi explicada pela estrutura da vegetação durante a estação Chuvosa/verão, apesar das concentrações de C e N variarem em relação à área basal. A mudança da cobertura do solo acarreta alterações nas concentrações de C e N, entretanto a relação entre estes se mantém constante. Essa estabilidade da relação C/N sugere que as mudanças de C e N em relação a cobertura do solo são proporcionais (ZINN; MARRENJO; SILVA, 2018). Entretanto, podem ocorrer alterações na relação C/N em relação à estrutura da vegetação, como observado na estação Seca/inverno. Essa diferença nas respostas observadas entre as estações reflete mais as alterações de N entre as estações (ZINN; MARRENJO; SILVA, 2018).

Os maiores valores de P foram encontrados na camada de 0-10 cm em áreas com maior densidade de árvores e foi o único atributo do solo que respondeu fracamente à estrutura da vegetação (ou seja, apresentou baixo valor de R²). Este macronutriente é de grande importância biológica pois está presente em diversos processos nos sistemas vegetais. Porém, em solos tropicais ocorre frequentemente limitação de P. Além disso, o P se liga fortemente às partículas do solo, assim se encontra frequentemente indisponível para os vegetais (FUJII et al., 2018). Devido a estas características, mesmo áreas de florestas podem apresentar limitação de P, e assim a sua concentração no solo não responde à estrutura da vegetação (MCGRODDY; DAUFRESNE; HEDIN, 2004).

A MO foi o único parâmetro relacionado com os três eixos, Veg1, Veg2 e Veg3, portanto há maiores concentrações de MO em áreas com maior área basal, maior densidade e mais estratificadas. Essas características refletem florestas em estágios

sucessionais mais avançados que, além de apresentarem árvores maiores e maior densidade, também apresentam uma variação no tamanho das árvores devido a contínua sucessão que ocorre nessas áreas. A MO é formada pela decomposição do material depositado sobre o solo

A maior densidade de árvores, Veg2, correspondeu às áreas de florestas nativas (NF), entretanto também à área R6 que, apesar de ser o restauro mais recente, também apresentou maior densidade pois nesta, por interesse do proprietário da área, ocorreu o plantio de árvores nas entrelinhas. A densidade se relacionou negativamente com pH, com áreas mais ácidas com maior número de árvores (GRAU et al., 2017). Os solos florestais apresentam maior acidez pois há maior liberação de ácidos orgânicos via decomposição (ADELEKE; NWANGBURUKA; OBOIRIEN, 2017) e, subsequentemente, os solos tropicais também são mais ácidos em consequência da perda de bases por lixiviação (FUJII et al., 2018). Com a maior densidade houve menor concentração das bases Ca e Mg, como também a SB e V%. O presente trabalho corrobora a dinâmica entre bases no solo: correlação positiva de Ca e Mg com pH (RUSSELL et al., 2017), maiores valores para Ca, seguido de Mg e estas contribuem diretamente para os valores de SB e V%. Portanto as áreas mais adensadas apresentaram menores valores de SB e V% devido as menores concentrações de Ca e Mg. A SB diminui com a profundidade, pois as concentrações destas bases diminuem, porém a contribuição de K+ na SB aumenta.

O K, assim como as demais bases e P, também é resultado do intemperismo das rochas. Porém é um elemento de alta mobilidade no solo, podendo ser facilmente lixiviado. Essa característica do K também é observada na sua lixiviação das plantas para o solo, o que confere importante papel da vegetação no ciclo deste elemento (JOBBÁGY; JACKSON, 2001). K foi fortemente relacionado com a estrutura da vegetação em áreas de Cerrado (RUGGIERO et al., 2002)

Os solos tropicais, devido aos processos de intemperismo, apresentam predomínio de argilas com baixa CTC (FUJII et al., 2018). Nesses solos a MO tem maior participação na CTC (SOARES; ALLEONI, 2008). Neste trabalho, foram observados maiores valores de CTC em áreas com árvores maiores e mais adensadas, assim como também encontrado para MO.

A estrutura da vegetação pode explicar grande parte da variação dos atributos do solo tanto na estação Seca/inverno e Chuvosa/verão. Desta maneira é possível confirmar a Hipótese 2, de que os atributos do solo variam com a estrutura da vegetação em áreas em processo de reflorestamento. Além disso, de maneira geral, não houve alterações nos efeitos da estrutura da vegetação sob o solo entre as estações. É possível concluir que a

estrutura da vegetação pode ser utilizada nos projetos de avaliação de áreas restauradas pois esta está relacionada com as alterações nos atributos do solo.

Parâmetros do solo para avaliação de projetos de restauração ecológica

São recorrentes os trabalhos que analisam as alterações nos atributos do solo em diferentes coberturas vegetais (MARIN-SPIOTTA et al., 2009; WANG et al., 2011; ARAÚJO FILHO et al., 2018). Os atributos que respondem às alterações da cobertura do solo podem ser utilizados como indicadores da qualidade do solo. Os indicadores devem seguir alguns critérios que envolvem processos ocorrentes no ecossistema, integrar atributos e processos físicos, químicos e biológicos, serem acessíveis e aplicáveis no campo e serem sensível a variações de manejo, de clima e na escala temporal (DORAN; PARKIN, 1994). Considerando que alguns atributos do solo apresentaram variação sazonal neste trabalho e que a maioria dos atributos analisados responde à estrutura da vegetação, é possível elencar indicadores do solo que representem o processo de restauração.

Os parâmetros do solo que foram mais bem explicados pela estrutura da vegetação, considerando o R²>40, foram C, N, MO, K e CTC. Estes poderiam ser considerados como indicadores do processo de restauração ecológica no solo. Entretanto apenas C não apresentou efeito da estação ou interação entre estação e área ou profundidade. Desse modo o C pode ser apontado como indicador do efeito da vegetação.

A concentração e estoques de C em solos tropicais respondem a cobertura vegetal (RODRIGUES NOGUEIRA JR. et al., 2011; WANTZEN et al., 2012). A dinâmica de C no solo é o equilíbrio entre perdas e ganhos do ecossistema que envolve fatores ambientais e ecológicos (CARUSO et al., 2018). Além disso, a quantidade de C no solo também a outros atributos do solo, como N (CALAZANS et al., 2018), indicadores da comunidade microbiana (MACKAY; CUNNINGHAM; CAVAGNARO, 2016). Considerar o C do solo como indicador do processo de restauração apresenta também informações sobre processos ecossistêmicos decorrentes da estrutura da vegetação.

Portanto, a avaliação da fertilidade do solo deve considerar este sistema como um compartimento dinâmico, passível de alterações em diferentes escalas temporais. Diferentes elementos podem apresentar variação em diferentes escalas temporais, que por sua vez podem ser moduladas pela estrutura da vegetação presente. Portanto, são necessários mais estudos temporais que considerem como a variação na composição e estrutura da vegetação pode influenciar a variação nos atributos do solo.

1.5 Conclusão

No presente trabalho foi observado que a estrutura da vegetação afetou os atributos do solo de florestas ripárias e que este processo é dinâmico sendo também afetado pelas estações climáticas.

Os atributos do solo apresentaram diferenças sazonais, mas essas diferenças variaram em relação à profundidade do solo e das características específicas da vegetação. O efeito da vegetação foi maior nas camadas superficiais e se observou grande variação dos atributos entre as áreas, refletindo a grande complexidade dos ecossistemas tropicais.

A estrutura da vegetação pode ser utilizada na avaliação das áreas restauradas, pois esta reflete os processos que alteram os atributos do solo.

O carbono do solo foi o atributo que apresentou boa relação com a estrutura da vegetação e não variou sazonalmente, sendo considerado um bom indicador de restauração ecológica.

Capítulo 2 - Tropical riparian forest restoration: the drivers for broad and specific soil microbial composition

2.1 Introduction

Land use and cover changes in developing countries are mainly driven by deforestation for intensive agricultural development (LAURANCE; SAYER; CASSMAN, 2014). These changes increase global greenhouse gases emissions (PEARSON et al., 2017), biodiversity loss (NEWBOLD et al., 2015) and soil degradation. Modifications in land cover impact soil microbial communities by influencing their diversity, composition, and abundance (PAULA et al., 2014). However, losses in biodiversity not only decrease the number of species but may also result in lower ecosystem resilience, which is the ability of an ecosystem to maintain functions after large disturbances. Likewise, the decline in biodiversity affects ecosystem functions including biogeochemical cycling (HOOPER et al., 2012).

Ecological processes, such as nutrient cycling and biological interactions, can provide information on ecosystem functioning and resilience, and, therefore, can be used to evaluate responses of degraded ecosystems to restoration (RUIZ-JAEN; AIDE, 2005a). Soil microbial communities provide information on soil ecological processes and can thus be used to determine restoration success (HARRIS, 2003). Furthermore, microbiological properties are sensitive and rapid indicators of disturbances and land-use changes (LOPES et al., 2011; SALAZAR-VILLEGAS; BLAGODATSKAYA; DUKES, 2016).

Microorganisms have a central role in soil nutrient fluxes and mineralization of organic compounds (HÄTTENSCHWILER; TIUNOV; SCHEU, 2005). During decomposition, microorganisms use organic carbon (C) compounds as an energy source whereas a portion of the nutrients is released and becomes available to be used by plant roots, and a part is temporarily immobilized during microbial growth (WARING and SCHLESINGER, 1985). These are considered as microbial ecosystem broad functions (DELGADO-BAQUERIZO et al., 2016) can be assessed by microbial biomass carbon (MBC), soil basal respiration (SBR) and the soil metabolic quotient (qCO $_2$) which is the MBC:SBR ratio. Since these functions and are widely distributed across living organisms thus they do not depend on specializing properties and therefore they would vary according to the main ecosystem properties. For example, MBC varied consistently along a gradient of riparian forest recovery (VASCONCELLOS et al. 2013) and SBR increased in an afforestation chronosequence

because of higher soil organic matter (SOM) accumulation and thus the availability of substrate (RAHMAN; BÁRCENA; VESTERDAL, 2017).

Microbial community composition also provides information across land-use change and ecosystem functions (NURULITA et al., 2016) and can be assessed through in several degrees of complexity (LAUBER et al., 2008; DE CARVALHO et al., 2016). For example, the abundance of soil fungal, bacteria and the fungal:bacteria ratio (F:B ratio) are indicators of the microbial broad composition (DE GANNES et al., 2016). These groups have different responses to C and nutrients inputs (ZHOU; WANG; LUO, 2018) and their prevalence shifts during SOM formation (VERMEIRE et al., 2018). Thus, fungal and bacteria can follow different patterns with land recovering (SUN et al., 2017).

The abundances of a soil microbial species or soil microbial functional groups, i.e., soil microbial specific composition, enhance knowledge of specific microbial conditions and biogeochemical functions. Thereby, functional genes related to nitrogen (N) cycling can be used to investigate the effect of tree species or land cover on forest floor nutrient cycling (RACHID et al., 2013; RIBBONS et al., 2016). N mineralization in soil involves several steps from organic forms to release of nitrous oxide to atmosphere. One of this reaction is the ammonia-oxidation to nitrite, catalyzed by the enzyme ammonia monooxygenase (*amo*) and carried out by Ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and archaea (AOA). The abundance of AOA and AOB can be quantified using the ammonia-monooxygenase (amoA) genes: AOA *amoA* and AOB *amoA* (FRANCIS et al., 2005). The next step is the denitrification of nitrite to gaseous NO by denitrifiers by the enzymes nitrite reductases. There are two types of nitrite reductase a cytochrome *cd*₁ encoded by the *nir*S gene (*nir*S denitrifiers) or a Cucontaining enzyme encoded by the *nir*K gene (*nir*K denitrifiers) (BONILLA-ROSSO et al., 2016).

Riparian forests support important ecological functions as they avoid the nutrients excess enter into waterways. The N excess on riparian soils are removed by denitrification pathway and this process is affected by riparian vegetation (DANDIE et al., 2011; PETER et al., 2012). Therefore, riparian zones are increasingly afforded protection and are targeted for restoration.

In this study, we aimed to evaluate the effects of forest type, soil properties, and vegetation structure on soil microbial community, assessing soil microbial biomass, activity, composition and important functional genes in a chronosequence of riparian forests under restoration in São Paulo State, SE Brazil. We hypothesized that (1) soil microbial communities differ among forest types and differences between seasons depend on the specific forest type so that we expected no seasonal differences in riparian forest remnants,

considering that forest remnants could act as a better buffer environment than forests under restoration, where seasonal differences would thus appear; (2) Soil microbial community is affected by soil properties and vegetation structure, and broad microbial functions, broad microbial composition, and specific microbial functional genes properties have different drivers regarding soil and vegetation. Much progress has been made in temperate and boreal forests, but there is still a gap on the functioning of tropical ecosystems. Understanding the influence of forest structure development along succession on soils can provide important information on the restoration effects on C and nutrient cycling and climate change mitigation in terms of C sequestration in soil (PRESCOTT; VESTERDAL, 2013).

2.2 Methods

Site description

This study was carried out in riparian forests bordering low-order streams draining the watershed of Ribeirão do Feijão, located in the central region of São Paulo State, Brazil (47°93′06"- 47°76′95" W and 22°16′63"- 22°07′19"S), within the Tietê River basin. The watershed extends through an area of 240 km², and the main river is used as a source of drinking water by São Carlos city. The climate type is tropical altitude, Cwa in Koeppen classification, with wet summers and dry winters, with annual average temperatures of 21.5°C and annual mean precipitation of 1,500mm, concentrated between December and March (Austral summer). The studied region is located 670 to 1300 m above the sea level with hilly terrain. Although the area integrates different geological formations, the sampling sites were located within the Serra Geral formation with Oxisoil soil type (ANA CLARA CERMINARO, 2015). This soil type is characterized as clayey, deep and homogeneous mineral soils, with little differentiation between the horizons or layers, well-drained, with low cation exchange capacity (CEC) and low fertility. Previous forest cover was semideciduous tropical forest, ranging between Atlantic Tropical Forest and Cerrado (Brazilian Savanna); however, it has been replaced by agriculture, starting with the coffee frontier in the nineteenth century (WAIBEL, 1955); nowadays, 75% of the watershed is used for sugarcane, forestry, citrus production or pasture (COSTA, 2010).

Between 2006 and 2014 an ecological restoration project was carried out in riparian areas within the Ribeirão do Feijão watershed, to attend the Brazilian Forest Resolution

which targets riparian forests as priority conservation areas (BRAZIL, 2012). The project was carried out by a Non-Governmental Organization, Green Initiative, planting a mixture of pioneering and late succession trees, as well as nitrogen-fixing and non-nitrogen fixing trees of native Brazilian species, based on a previous floristic survey study nearby (SILVA; SOARES, 2003). In this case, nursery-grown seedlings were planted, characterizing an active restoration project. Since the recent land use was pasture, the restoration areas were fenced and their soil preparation included cut of grassy cover, use of subsoiler, fertilization and other necessary inputs to receive the seedlings. Eight sites of riparian forests were selected, including two reference areas (forest remnants) with native cover that we considered as undisturbed (C1 and C2) and, six areas under restoration process: R1 restored in 2006; R2, R3 and R4 were restored in 2008; R5 were established in 2012 nearby a man-made dam; R6 was restored in 2013, with the seedlings planted more densely than in the other sites. Within each site, four permanent experimental plots of 100m² (10 x 10 m) were established with a distance of 10m from each other. These sites were later categorized as remnant native forest (NF: C1 and C2), old restoration forest (RFI: R1, R2, R3 and R4), and young restoration forest (RFII: R5, and R6).

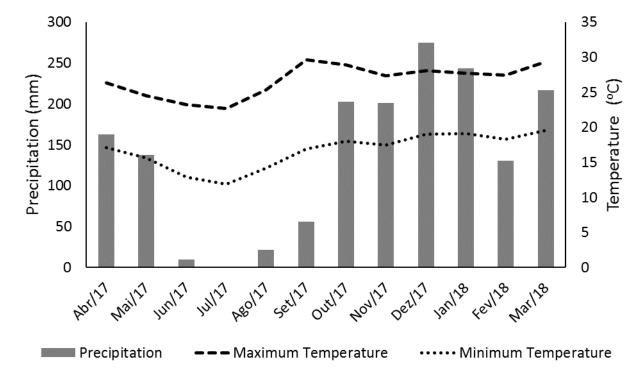


Figure 1 – Temperature mean values (lines) and precipitation (columns) during the study period

Forest structure

Forest structure was determined in each plot of each site, totaling 3,200 m², in March 2018. Within each plot, all trees with a diameter at breast height (DBH) ≥ 5.0 cm were marked and measured in relation to DBH. Thus, the following variables were obtained from each plot: tree density, mean DBH, coefficient of variation of DHB, a measure of forest stratification (FS) and total basal area (BA) (SOUZA et al., 2013).

Soil sampling

Composite samples were collected from three randomly selected samples from O-horizons in each plot. The soil survey was performed twice: in August 2017 and March 2018, representing the dry/winter and wet/summer seasons, respectively. Each composite soil sample was sieved through a 2-mm mesh sieve and one subsample was stored at 4°C to determine microbial biomass and respiration. The remaining bulk sample was freeze-dried to carry out molecular, C, and N analyses. Additionally, soil samples were collected in each plot from the 0-10cm layer for chemical analyses and soil bulk density was evaluated by sampling soil using a soil corer of 0-5cm.

Determination of soil chemical and physical analyses

The concentration of total organic C and N were determined by dry combustion using a FLASH 2000 EA NC Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Phosphorus (P) available was quantified by the anion-exchange resin (OLSEN, 1954) and potassium (K), calcium (Ca) and magnesium (Mg) by the ion-exchange resin (RAIJ; QUAGGIO; SILVA, 1986). Potential acidity potential (H + Al), was determined with a solution of Ca(CH₃COO)₂.H₂O, 0.5 mol L⁻¹ at pH 7.0 and titration with NaOH 0.025 mol L⁻¹, pH was measured with a solution of CaCl₂ 0.01 mol L⁻¹. K, Mg, Ca concentrations and potential acidity were used to calculate CEC and base saturation (BS). Soil organic matter was determined by the Walkley-Black method, oxidizing the samples with a potassium dichromate-titration of FeSO₄ (Walkley and Black, 1934). The bulk density (BD) of the soils was determined by weighing the samples after an oven-drying overnight at 105°C.

Soil microbial carbon biomass and soil basal respiration

Microbial biomass carbon (MBC) was determined using the fumigation-extraction method (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987) and soil basal respiration (SBR) was monitored for 28 days through measurement of CO₂ evolution under aerobic incubation at 25°C for every 7 days (ANDERSON; DOMSCH, 1978). The metabolic quotient (*q*CO₂) was obtained by the SBR:MBC ratio (ANDERSON; DOMSCH, 1985).

DNA extraction, amplification, and quantification

DNA was extracted from 0.25 g of freeze-dried mineral soil using the DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Hilden, Germany). DNA quality and concentration were measured using a nanodrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, DE). All samples were diluted to standardize the DNA concentration of 5ng/µl and then stored at -20°C prior to amplification.

To generate the standard curve, specific PCR products were used for each primer pair from four PCR runs each using 25µl reactions consisting of 12.5 µl of Dream Taq Green PCR Master Mix (2x) (Thermo, USA), 0.5 µl of each forward and reverse primer, 2 µl of DNA template, and 9.5 µl of nuclease-free water. All reactions were run on a Bio-Rad T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA). PCR conditions were of 3 min at 95°C and 35 cycles of 95°C for 30 sec, the annealing temperature for 30 sec, 72°C for 30 sec, following 5 min at 72°C and then kept at 4°C. The primers, annealing temperature, specific strains used, and the DNA fragment length generated are listed in Table 1. Successful DNA amplification and fragment size were confirmed on a 1% agarose gel. PCR products were purified using the NucleoSpin ® gel and PCR clean-up kit (Macherey–Nagel, Düren, Germany) and after measuring the DNA concentration a standard curve was constructed with 10-fold serial dilutions of 10² to 107 gene copies.

Table 1 - Group-specific primers, primers' annealing temperature, specific strains and fragment length for qPCR gene quantification assays.

| Primer target | Primers | Primer sequence (5'-3') | Annealing temperature | Strain | Fragment Length | References |
|----------------------|-------------------------------|--|-----------------------|-----------------|--------------------|--------------------------------------|
| All bacteria | 519F | CAGCMGCCGCGGTAANWC | 52°C | E. coli | 408 pb | Baker; Smith; Cowan (2003) |
| (16S rRNA) | 907R | CCGTCAATTCMTTTRAGTT | 02 0 | L. 0011 | 400 рь | Muyzer; Teske; Wirsen (1995) |
| All fungi | BITS | ACCTGCGGARGGATCA | 54 °C | H. fraxineus | 198 pb | Bokulich; Mills (2013) |
| (ITS) | B58S3 | GAGATCCRTTGYTRAAAGTTATG | 54 °C | | | DUKUIICH, MIIIS (2013) |
| AOA (amoA) | amoA- 23F amoA- 616R | ATGGTCTGGCTWAGACGGCCATC CATCTGTATGTCCAGGG | 60 °C | N. europaea* | 629 pb | Francis et al. (2005) |
| AOB (amoA) | amoA-1F amoA-2R | GGGGTTTCTACTGGTGGTCCCCTC KGSAAAGCCTTCTTC | 60 °C | N. europaea* | 491 pb | Rotthauwe; Witzel; Liesack (1997) |
| Cd-nitrite reductase | Cd3aF | GTSAACGTSAAGGARACSGG | 52 °C | P. | 410 pb | Michotey; Méjean; Bonin (2000) |
| (nirS) | R3cd | GASTTCGGRTGSGTCTTGA | | aerugenosa | | Throbäck et al. (2004) |
| Cu-nitrite reductase | nirK876 | ATYGGCGGVAYGGCGA | 58 °C | R. meliloti | 165 pb | Henry et al. (2004) |
| (nirK) | nirk 1040 | GCCTCGATCAGRTTRTGGTT | | | • | , , , |

^{*} fosmid clone 54d9 and the PCR 2.1-TOPO plasmid carrying AOB amoA from *Nitrosomonas europaea* ATCC19718 (FELD et al., 2015)

Quantitative PCR (qPCR) was used to quantify gene copy numbers. Reactions were carried out with a Stratagene Mx3005P Real-Time PCR system (Stratagene, La Jolla CA, USA), with fluorescence measured during extension. All reactions run in duplicate contained 10 μ l of SybrGreen (2X) PCR Master Mix (Life Technologies Corp., Carlsbad, CA, USA), 0.5 μ l of each primer, 5 μ l of DNA template; for reactions with fragment lengths over 400 pb we added 250 ng ml⁻¹ bovine serum albumin, and nuclease-free water until complete 20 μ l reaction. qPCR conditions were of 95 °C for 10 min followed by 40 cycles of 95 °C for 30 s, the primer annealing temperature for 30 s, and 72 °C for 30 s.

Statistical analyses

To evaluate whether soil microbial community differs in relation to forest type, and variation between seasons depends on the forest type considered (Hypothesis 1) we used a repeated measure ANOVA (RM-ANOVA), where Forest type (NF, RFI, RFII) was considered fixed factor; Sites nested within forest type [site(type)] was considered random factor and Season (wet, dry) was interpreted as temporal repeated measurement. RM-ANOVA was tested for each soil microbial variable. To test if soil microbial community levels, i. e. Broad functions, Broad composition and Specific composition differs among type

and season we used mixed models using Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA), based on Euclidian distances. We considered Forest type (NF, RFI, RFII) and Season (wet, dry) as fixed factors; Sites nested within forest type [site(type)] and plots nested in sites [plot(site(type))] as random factors. For Broad functions we combined MBC, SBR and *q*CO2; for Broad composition we combined Fungal ITS, Bacteria 16S and F:B ratio; and to Specific composition were AOA *amoA*, AOB *amoA*, *nirS* and *nirK* genes abundance. The analyses were carried out using the Primer/Permanova software v. 6 (ANDERSON; GORLEY; CLARKE, 2008).

To evaluate the effects of forest structure and soil attributes on the soil microbial communities (Hypothesis 2), we used a Structural Equation Modelling (SEM) approach, following Grace (2006). To reduce the dimensionality of soil attributes data, we first carried out Principal Components Analysis (PCA). Each variable was tested for normality using Shapiro-Wilk tests; when necessary, variables were transformed using logarithmic or Box-Cox transformations: N, C:N, K, P, pH, CEC, BD, MBC, SBR, qCO₂ and F:B ratio. All variables were then standardized for zero means and unity variances. We considered the axes with eigenvalues larger than one, resulting in three axes for the soil attributes (Soil 1, Soil 2, Soil 3); see Results.

We carried out separate SEM models for each level of microbial community data, i. e. Broad functions, Broad composition and Specific composition, although the SEM models were similar. Since the development of vegetation (forest structure) following restoration depends on the soil attributes, but the O layer also responds strongly to vegetation (DE ALCÂNTARA et al., 2004; ROA-FUENTES et al., 2015), we considered that forest structure and soil attributes would covary, without a directional path from each other. The five axes could influence the microbial variables. The SEM models were estimated using maximum likelihood estimation, and model fit was evaluated using the model chi-square and associated *P* values, the root mean square error of approximation (RMSEA), where values smaller than 0.07 suggest an adequate model fit, and the comparative fit index (CFI), where higher values suggest a better fit (HOOPER; COUGHLAN; MULLEN, 2008). Analyses were carried out using the package Lavaan (ROSSEEL, 2012) in R 3.5.3 (http://r-project.org).

2.3 Results

Soil microbial community among forest types and seasons

The effects of forest type and season on microbial functions and community composition differed depending on the type of variable analysed. For the variables related to broad functions, significant differences were found among types and between seasons (Table 2). MBC and qCO₂ presented a significant effect of type and a trend interaction between site(type) and season. No significant effects of type × season or forest type were observed. MBC was higher in Dry/winter season and at YRF (Fig. 1a). SBR and qCO₂ showed higher values in Wet/summer and YRF had the lowest values of qCO₂ (Fig. 1c).

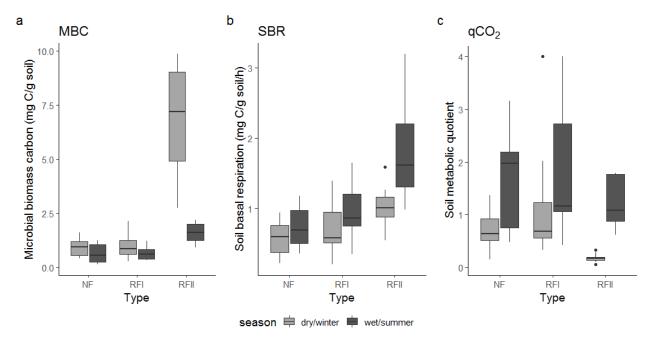


Figure 2- Box-plot of Microbial Broad Functions: (A) MBC- Microbial biomass carbon, (B) SBR- Soil basal respiration, (C) qCO₂ Soil metabolic quotient, in native forest (NF), old restored forests (RFI) and young restored forests (RFII) in the dry/winter and wet/summer seasons (n=8 for NF, n=16 for RFI and n=8 for RFII).

The effects of forest type and the type × season interaction were not significant to microbial community composition (Table 2). Effects at smaller spatial scales were more important to determine microbial community composition, possibly reflecting local conditions and resource availability. Fungal abundance did not vary at any spatial scale or between seasons, whereas bacterial abundance (i.e. *q*PCR) showed a trend effect among sites within forest types (Fig. 2a, b; Table 2). Nevertheless, F:B ratios had a trend effect of site(type), the interaction of site(type) with season and tended to be lower in the wet summer (Fig. 2c). The same pattern was found for the combined variables (Table 3)

When considering the specific composition of the microbial communities, related to the ammonification and denitrification genes, again the large scale effects of forest type were not significant, whereas the effects of sites within forest type, season, and their interaction were significant, depending on the variable considered (Table 2, Fig. 3). Season effect was only found in *nirK*, with higher values on Dry/winter season in all forest types (Fig. 3d) and for the combined variables (Table 3), the interaction site x season was significant to AOA *amoA*, *nirS* and a trend for the combined variables. Variation among sites were significant for most genes and for the combined variables, suggesting that environmental factors at this spatial scale possibly influence the occurrence of these specific genes.

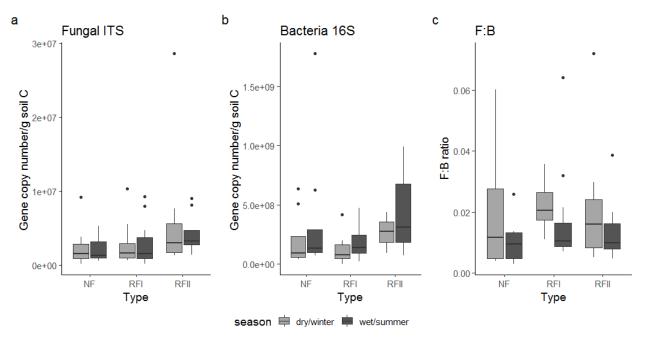


Figure 3 – Gene copy number of broad composition (A) All Fungal ITS, (B) All Bacteria 16S, (C) F:B ratios, in native forest (NF), late restored forests (RFI) and young restored forests (RFII) in the dry/winter and wet/summer seasons. The bars indicate the standard error, n=8 for NF, n=16 for RFI and n=8 for NFII.

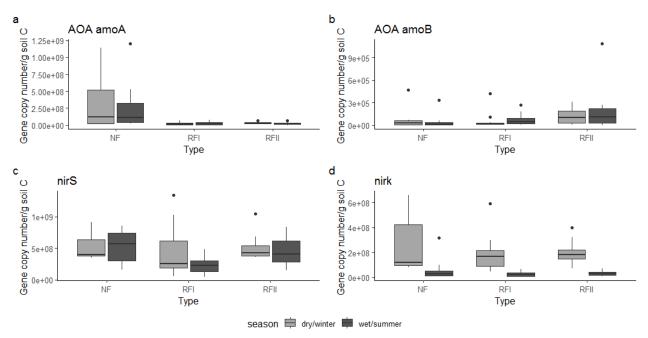


Figure 4 – Gene copy number of specific composition (A) AOB *amoA*, (B) AOB *amoA* (C) *nirS* and (D) *nirK*, in native forest (NF), late restored forests (RFI) and young restored forests (RFII) in the dry/winter and wet/summer seasons. The bars indicate the standard error, n=8 for NF, n=16 for RFI and n=8 for NFII.

Table 2- Repeated measures ANOVA table of F-values on the effect of Type, Site (Type), Season and the interaction of Type with Season and Site(Type) with Season on Microbial biomass carbon (MBC), Soil basal respiration (SBR), Soil metabolic quotient (*q*CO₂), total fungi (Fungal ITS), Total bacteria (16S), fungal: bacteria ratio (F:B ratio), Ammonia-oxidizing archaea (AOA *amoA*), Ammonia-oxidizing bacteria (AOB *amoA*), Cd-nitrite reductase (*nirS*) and Cu- nitrite reductase (*nirK*)

| | Туре | Site(Type) | Season | Type x Season | Site(Type) x Season | | |
|--------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|---------------------|--|--|
| | F _{2,23} | F _{5,23} | F _{1,5} | F _{2,5} | F _{5,23} | | |
| MBC | 6.74** | 2.401 | 7.12* | 1.97 | 2.461 | | |
| SBR | 1.24 | 5.60** | 16.0* | 0.005 | 1.82 | | |
| qCO2 | 5.23* | 4.15** | 15.4* | 1.29 | 2.251 | | |
| Fungal ITS | 2.2 | 1.78 | <0.001 | 0.11 | 0.977 | | |
| Bacteria 16S | 2.85 | 2.571 | 1.99 | 0.022 | 1.75 | | |
| F:B ratio | 0.941 | 2.241 | 5.491 | 0.07 | 2.38 ² | | |
| AOA amoA | 2.01 | 12.6*** | 0.029 | 0.543 | 3.67* | | |
| AOB amoA | 0.918 | 4.81** | 0.026 | 0.212 | 1.09 | | |
| nirS | 2.12 | 4.95** | 1.14 | 0.415 | 3.56* | | |
| nirK | 1.14 | 1.87 | 52.4*** | 0.194 | 1.45 | | |

 $^{^{1}}$ 0.05 < P < 0.10

Table 3- Results of mixed model analyses on PERMANOVA: pseudo F-statistics following permutation for the effects of forest Types, Sites(Type), Season, Plot(Site(Type)) and the interaction of Type with Season and Site(Type) with Season on Broad Functions (MBC, SBR, qCO₂), Broad Composition (Fungal ITS, Bacteria 16S, F:B ratio) and Specific Composition (AOA *amoA*, AOB *amoA*, *nirS*, *nirK*). The values in bold represent P < 0.05

| | Туре | Site(Type) | Season | Type x Season | Site(Type) x Season | Plot(Site (Type)) | |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--|
| | Pseudo F ₂ | Pseudo F ₅ | Pseudo F ₁ | Pseudo F ₂ | Pseudo F ₅ | Pseudo F ₂₄ | |
| Broad Functions | 5.9521 | 4.129*** | 13.80* | 1.318 | 2.4311 | 0.65 | |
| Broad Composition | 1.789 | 1.6541 | 1.728 | 0.148 | 1.197 | 2.256** | |
| Specific Composition | 1.697 | 5.651*** | 10.67** | 0.344 | 1.8511 | 1.338 | |

¹ 0.05 < P < 0.10

Soil microbial community in relation to vegetation structure and soil attributes

Vegetation structure within riparian forests was related to the forest type classification (Table 4). The first three axes in the PCA explained 99.6% of the variation in forest structure vegetation. The first axis explained 42.2% of the variation, representing a gradient of increasing basal area (BA) and mean DHB. The second axis explained 31.8% of the variation, which is a gradient of increasing tree density (TD) and decreasing mean DBH and forest stratification (FS). The third axis explained 25.5% of the variation and was related to increasing FS. Based on these three PCA axes, we chose three variables to represent the vegetation structure: basal area, tree density, and FS.

Table 4. Results of Principal Components Analysis on vegetation structure of the studied forest plots, indicating variable loadings on the principal components and eigenvalues.

| | 9 1 | | | |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|--|
| | PC1 | PC2 | PC3 | |
| Eigenvectors | | | | |
| Mean DBH | 0.645 | 0.395 | 0.302 | |
| CV DBH | 0.024 | 0.337 | 0.915 | |
| Basal area | 0.742 | 0.147 | 0.187 | |
| Tree density | 0.182 | 0.842 | 0.192 | |
| Eigenvalues Variance explained | 1.69 | 1.27 | 1.02 | |
| (%) | 42.2 | 31.8 | 25.5 | |

Soil attributes presented large variation, and the first three PCA axes explained 79.9% of the variation (Fig. 4b,c). The first axis (hereafter referred to as Soil 1) explained 45.1% of the variation (eigenvalue = 4.51) and represented a gradient of increasing concentrations of N, C, CEC and SOM, but decreasing C:N ratios and BD values. The second axis (Soil 2) explained 20.2% of the variation (eigenvalue = 2.02) and mainly covers a negative pH and SB gradient, as well as a positive C:N gradient. The third axis (Soil 3) explained 14.5% of the variation in soil attributes (eigenvalue = 1.45) and was positively related to K concentrations and negatively related to P concentrations.

According to the structural equation models, Soil 1 was positively correlated strongly with BA and more weakly with TD, so that forests with more basal area and tree density were related with soils with more C, N, and organic matter (Fig 5). Also, Soil 2 correlated positively with tree density, with plots that presented lower tree density are associated with

soils that presented lower pH and SB values and higher C:N ratios. Since all three models were saturated, the same fit was obtained (χ^2 = 0; P=1; d.f.=6 and RMSEA = 0.00; P = 1)

For Broad functions, we had to include covariances between MBC and qCO₂, and between SBR and qCO₂ to obtain an adequate model fit. We found that broad functions are mostly affected by soil properties than vegetation structure. SBR had the highest loading on Broad functions (R² = 0.50) and was positively affected by Soil 1 and negatively by Soil2, Soil 3, BA and FS. MBC was positively affected by Soil3 (R² = 0.24). Therefore, higher respiration rates were correlated with soils containing more C, N, and organic matter (Soil 1) and higher P but lower K concentrations (Soil 3), while higher microbial biomass is only affected by K concentrations.

In relation to the model evaluating Broad composition, the indication of a positive covariance between fungi and bacteria was necessary to obtain a model fit (Fig. 5B). Broad composition was more related to the vegetation structure than to soil properties. Fungal ITS presented the highest loading ($R^2 = 0.27$) and was negatively affected by BA and FS. The number of bacteria in soil was positively related to TD and negatively to Soil 2, which represents low pH sites. The proportion between fungi and bacteria, F:B ratios, were higher with Soil 2 (higher pH) and regarding vegetation structure, it was higher in lower TD and FS sites. The specific composition was positively related to Soil 3, i.e. positively to K concentrations (Fig. 5C) and with Tree density. Soil 2 showed negative effects only in ammonia-monooxygenase genes, which reflects that forest with higher pH. The highest loadings on Specific composition were the denitrifying genes nirK ($R^2 = 0.52$), following by AOB amoA ($R^2 = 0.35$).

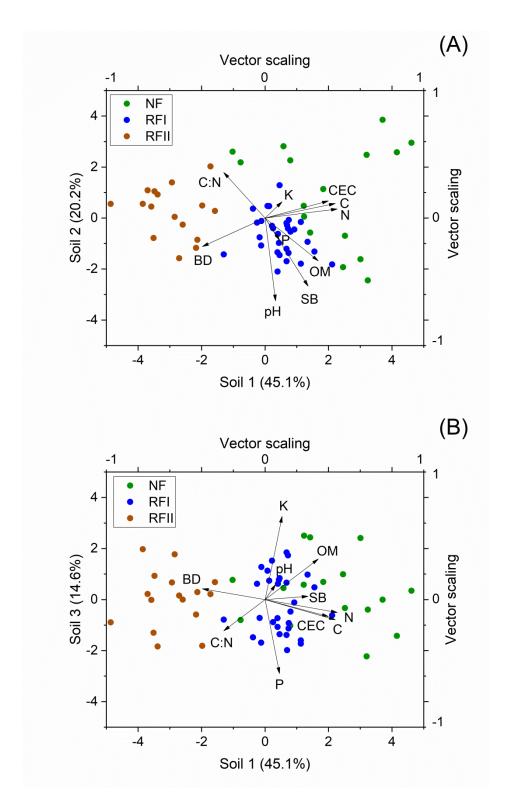


Figure 5 - Ordination of forest types by Principal Component Analysis in relation to soil attributes. NF= Native forest; RFI= Old restored forest; RFII = Young restored forest.

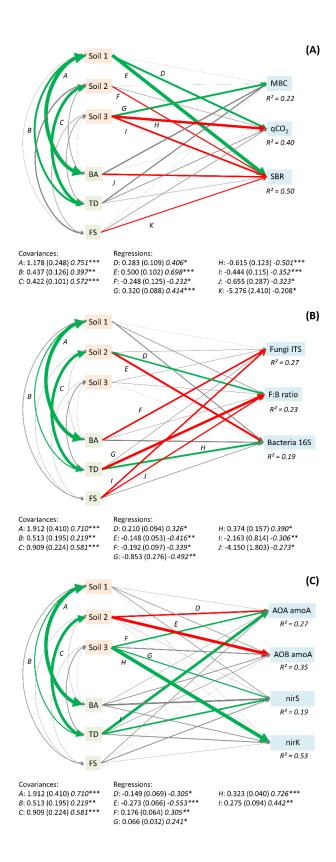


Figure 6 – Structural equation model describing the effects of vegetation structure and soil properties on soil microbial community: a) Broad functions, b) Broad composition and c) Specific composition. Numbers adjacent to arrows indicate the effect size of the relationship. R^2 express the proportion of variance explained. Significance levels of each predictor variable are * P < 0.05, ** P< 0.01 and ***P<0.001. Green arrows indicate positive effects and red arrows negative effects

2.4 Discussion

The structure and composition of soil microbial communities respond in a complex way to drivers that have influence at different spatial and temporal scales. In the present study, we found that these drivers can operate at different levels of microbial community structure, with potential influences on the monitoring of forests undergoing restoration.

Broad functions of the microbial community, including respiration and biomass, are independent of the community composition, and may vary according to larger scale drivers such as forest types and seasonal differences (PAJARES et al., 2018). Therefore, differences in mean temperature and precipitation largely influenced patterns of microbial metabolism found in riparian forest soils, with higher respiration but lower biomass in the wet/summer season.

Therefore, this event may have influenced this result, with increasing microbial biomass in response to this discrete increase in water availability. On the other hand, the inverse pattern found for SBR indicates that in the wet/summer season, higher temperatures and water availability favour microbial respiration, and decaying dead microorganisms can be used as resource for living microbial metabolism, since they are a high quality source of carbon for the microbial communities and other soil organisms.

The largest values of MBC in the winter and SBR in the summer were recorded in the younger restored forests. Although these parameters are commonly related to the availability of organic matter (JUNIOR et al., 2018) and soil quality (i.e., lower C:N ratios), we did not find this pattern. In our study, MBC was high correlated with higher bulk density (Pearson r = 0.603, p-value <0.001) since these patterns reflect the characteristics of young restored forests. Areas degraded or in young stages of restoration development may present lower resilience to disturbance events. The RFII areas have lower litter cover, which maintains the soil temperatures and humidity, and are largely covered by grasses, that also have large amounts of roots (L. R. Bachega, unpublished data). The sum of these conditions, i.e., low resilience, high temperatures, high microbial activity in the rhizosphere may have contributed to increased microbial biomass.

The other broad function studied, the metabolic quotient (qCO_2), is commonly used as a parameter to evaluate successional stages and land-use effects on soil microbiology (FRAZÃO et al., 2010; JUNIOR et al., 2018). Low qCO_2 values are related to environments with high biomass production and low respiration rates, resulting in low turnover rates, which are characteristics of energetic conservative environments, in more advanced successional stages (ODUM, 1969), and an increase of qCO_2 with forest degradation (ZHOU; WANG;

LUO, 2018). In our study, the areas in early stages of recovery presented lower *q*CO₂ than the native forests and was negatively correlated with N concentrations. Although *q*CO₂ represents microbial metabolism, it has been reviewed as a parameter of ecosystem succession (WARDLE; GHANI, 1995) since low *q*CO₂ values are also found in early successional stages (MORALES-LONDOÑO et al., 2019) and in N limited conditions (SPOHN, 2015).

Microbial broad composition is expected to have the same drivers as the microbial functions, but our study was restricted to fungi and bacteria, excluding other soil organisms that also contribute to general soil functions. These groups did not respond to large environmental drivers such as temperature and humidity since we only found a trend for a season effect for the F:B ratio (P = 0.097). Although a higher ratio of F:B in the dry season is expected because fungi are more resistant to hydric stress than bacteria, we found no significant difference between seasons, maybe because the rain event three days before sampling may have triggered an increase in bacteria, reducing the difference from the dry season sampling.

Fungi were found to be more generalists than bacteria since their abundance did not vary significantly across spatial scales or between seasons, whereas bacterial abundance varied among plots within forest types but not between seasons. These results indicate that bacteria are more sensible to environmental variations that occur at the site scale, including microclimatic variations due to forest structure, differences in local resource availability and quality of the deposited litter. The same scale of variation was found for ammonification and denitrification gene abundances, where mainly effects at the site scale were significant. Therefore, they also responded to more local conditions found at the site scale, so that the influence of vegetation and local soil attributes can be important for the abundance of these genes. Understanding the variation found both at the site and plot scales can contribute to a better understanding of ammonification and denitrification processes in these ecosystems, and which specific conditions influence the abundance of the genes related to these processes.

Therefore, hypothesis (1) was not corroborated, since the variation among sites within forest types was larger than differences among forest types. Also, differences between seasons did not depend on the forest type considered, so the NF sites did not function as buffer environments when compared to restored sites. In fact, environmental variables that describe forest structure and soil attributes at the site and plot scales possibly have more influence on soil microbial communities, and SEM analyses helped uncover these relationships.

Microbial communities are commonly related to vegetation structure (MARTUCCI DO COUTO et al., 2016) and soil attributes (CASTLE et al., 2017). We grouped the soil microbial parameters in three levels that represent Broad functions, Broad composition and Specific composition in a SEM approach to test how forest properties, i.e., soil and vegetation, affect soil microbial communities at different levels. In general, we found the same common path since these microbial levels were influenced by soil and vegetation properties. Nevertheless, the soil and vegetation influence each of these levels in a different way.

Broad functions were explained directly by soil variables, and indirectly by vegetation structure through soil variables. Although broad functions were influenced by parameters such as P concentrations and pH, the most important factors were those related to carbon quality. Broad functions are related to low C:N ratios and low OM concentrations. These soil attributes are commonly related to microbial activity and growth since soil microorganisms use carbon as a source of energy for their activities and immobilize N during biomass accrual, while they break down the organic matter. Therefore, general functions represent high functional redundancy.

At a smaller spatial scale, the microbial broad composition was also explained by environmental factors. The drivers were also the C: N ratio and pH, as they reflect the non-specificity of the general microbial composition. However, differently from the broad functions, microbial composition was also directly related to forest structure. Since the main indicator of the broad composition was the F:B ratio, the effects of soil and vegetation agree with the prevalence of fungi in relation to bacteria, as well as with higher C:N ratios (FIERER et al., 2009) and areas in early stages of succession/restoration, with smaller basal area and higher variation in DBH.

The main drivers for specific composition were K concentrations, as well as higher tree density. Higher amounts of ammonia-oxidizing and denitrifying genes can be found in forests at old successional stages, normally related to organic matter concentrations in the soil. In these forests, N uptake by the vegetation is lower when compared to forests at earlier stages of succession that, by presenting higher rates of biomass increase than late succession forests, demand more N. Therefore, the amount of exceeding N in natural forests can be larger than in forests undergoing restoration, resulting in higher concentrations of denitrifying genes in natural forests. The conversion of N excess is an important role of riparian forests, that also act as buffer zones. Therefore, in these areas it is expected higher activity of ammonia-oxidizing and denitrifying organisms.

Therefore, we confirmed our hypothesis that soil microbial community is affected by soil properties and vegetation structure and that broad and specific properties of microbial

communities respond to different drivers represented by different attributes of soil and vegetation. However, the variance explained by the models suggest that the addition of other local ecosystem parameters such as litter quality and litter decomposition rates could explain additional variation in the models of broad and specific microbial composition.

Regarding the analysis approach

Tropical environments are known for their high variability, and although the restoration projects of the forests under restoration studied here followed the same methodology, their development did not necessarily follow the same trajectory due to factors such as local management and historical events, resulting in areas with high spatial variability, as also verified by Batisteli et al. (2019). This variation in forest structure, on the other hand, results in variation in other ecosystem parameters, such as the soil microbial community.

We were unable to detect differences among forest types by using a mixed models approach because the variation among sites within forest types was larger than variation among types. In this approach, when variables were separately analysed, it was not possible to highlight parameters that could be used as indicators of successional stages due to the large variation in environmental variables and also due to specific correlations found. For example, qCO₂ is commonly used as an indicator of the successional stage, but it was negatively related to N and OM concentrations, characteristics of young successional stages. However, when grouping qCO₂ with MBC and SBR in a SEM model (Broad functions), and evaluating correlations with soil and vegetation, Broad functions were related to low C:N ratios and higher organic matter concentrations in the soil, corroborating other studies (COTRUFO et al., 2015). Therefore, these broad levels variables could be used as indicators to monitor restoration projects.

F:B ratio is another parameter used to evaluate the effects of in soil land use on the microbial community. Mixed models were also unable to relate F:B ratios to forest type, and thus to the successional stage. However, when using broad composition variables in relation to continuous variables that describe forest structure, F:B ratios were higher in forests with lower basal area and lower DBH, and higher variation in DBH, which are characteristics of areas in earlier stages of ecological succession. The same relationship between soil and vegetation attributes was found for the specific composition of functional genes. These results suggest that evaluation and monitoring of both degraded and restored areas can be

carried out by a combination of soil and vegetation attributes that provide a mechanistic link for the development of soil microbial communities, and ecosystem quality.

2.5 Conclusion

We found that the environmental drivers operate at different levels of microbial community structure.

Soil microbial communities were influenced by soil and vegetation properties.

Broad functions were explained directly by soil variables and indirectly by vegetation structure through soil variables.

Microbial broad composition was influenced by C:N ratio and pH., and microbial specific composition by K concentration.

The grouping approach, microbial broad functions, broad composition and specific composition, can be used as indicators to monitor restoration projects.

Capítulo 3 - Decomposição da serapilheira em florestas ripárias tropicais: efeitos da vegetação, fertilidade do solo e qualidade da serapilheira

3.1 Introdução

A decomposição da serapilheira é um importante processo para o funcionamento dos ecossistemas, pois afeta o balanço da produção primária (RICHTER et al., 1999; AHLSTRÖM et al., 2015), os fluxos de carbono (C) e a ciclagem de nutrientes (VITOUSEK, 1984). A decomposição é um processo influenciado pelas condições ambientais numa escala macroclimática, como temperatura e precipitação, mas também por fatores em menores escalas espaciais, em que fatores locais ou regionais têm mais peso, como a qualidade da serapilheira, as características da cobertura do solo e os atributos físicos, químicos e biológicos do solo (ZHANG et al., 2008; BERG, 2014; ARAUJO; AUSTIN, 2015; BRADFORD et al., 2017; OCHOA-HUESO et al., 2019). Considerando que a decomposição tem aspecto fundamental no gerenciamento dos estoques de carbono, é fundamental compreender como esse processo é afetado nas escalas macro e micro climáticas, e assim aprimorar as tomadas de decisão sobre os impactos da mudança do uso do solo e das mudanças climáticas.

Os microrganimos têm um papel fundamental na decomposição da serapilheira (BHATNAGAR; PEAY; TRESEDER, 2018). À medida que o material vegetal se deposita no solo, os microrganismos utilizam os compostos orgânicos de C como fonte de energia e, durante este processo, nutrientes como nitrogênio (N) e fósforo (P) são mineralizados e se tornam disponíveis para serem absorvidos pelas raízes, ou são temporariamente imobilizados pela biomassa microbiana (WARING; SCHLESINGER, 1985b; PEI et al., 2019). Entretanto, este processo é complexo porque os compostos de C não são homogêneos, e podem variar em relação à sua decomponibilidade. Assim, ao menos dois reservatórios de C podem formar a serapilheira, sendo um mais facilmente decomponível, formado por compostos solúveis e extratos não-polares (fração lábil), e outro formado por compostos mais difíceis de decompor, incluindo-se celulose, lignina, taninos e outros (fração recalcitrante) (WIEDER; LANG, 1982).

O processo de decomposição é normalmente estudado através de ajustes de modelos matemáticos à perda de massa de determinado material em um dado período de tempo, consdeirando uma perda de massa mais rápida no início do processo devido à decomposição da fração lábil, e uma perda mais lenta de massa devido ao material recalcitrante, caracterizando um decaimento exponencial da matéria orgânica (WIEDER;

LANG, 1982). Há diversos modelos matemáticos e cada um deles tem premissas biológicas específicas, particularmente no que diz respeito a diferenças na qualidade e quantidade de C disponível para ser utilizada pelos microrganismos (WIEDER; LANG, 1982; MANZONI et al., 2012; CORNWELL; WEEDON, 2014).

As principais diferenças entre os modelos referem-se à taxa de decomposição de cada compartimento de C, como o modelo exponencial simples, em que a taxa de decomposição decai linearmente com a redução da massa remanescente, assumindo-se um único reservatório de C (OLSON, 1963). Por outro lado, o modelo exponencial duplo considera que as frações lábil e recalcitrante decompõem em diferentes taxas, resultando em decomposição total da serapilheira e retorno de todo o C à atmosfera, enquanto o modelo assintótico considera que a decomposição da fração recalcitrante pode atingir um estágio de lentidão ou mesmo ser incompleta, de forma que o material em decomposição pode ser incorporado no solo no processo de humificação, aumentando o potencial de sequestro de C do ecossistema (WIEDER; LANG, 1982; MANZONI et al., 2012; CORNWELL; WEEDON, 2014; BERG, 2018). Assim, o ajuste aos modelos de decomposição é uma importante ferramenta para se compreender a dinâmica do material em decomposição e da formação dos estoques de C.

A decomposição da serapilheira é influenciada por uma combinação de fatores que regulam a capacidade das comunidades biológicas presentes na camada serapilheira-solo de quebrar o material que é depositado. Em uma análise global, Zhang et al. (2008) apontaram que as taxas de decomposição em ecossistemas terrestres são influenciadas principalmente pela relação carbono/nitrogênio (C/N) e quantidade de nutrientes da serapilheira e, em menor grau, por fatores climáticos como temperatura e precipitação. Estes são também os principais fatores que influenciam a respiração microbiana (CURIEL YUSTE et al., 2007). Além disso, García-Palacios et al. (2013) mostraram em outra análise global que efeitos interativos entre fatores climáticos e a qualidade da serapilheira podem determinar a atividade da fauna de solo, influenciando as taxas de decomposição entre diferentes biomas.

Em menores escalas espaciais, outros fatores também podem contribuir para as taxas de decomposição da serapilheira, como diferenças na estrutura da vegetação e/ou na fertilidade do solo em um mesmo ecossistema. As diferenças entre e dentro de tipos de vegetação podem influenciar as condições microclimáticas, a qualidade da serapilheira produzida, as características do solo e a das comunidades biológicas, que por sua vez influenciam a estrutura das comunidades microbianas e os processos de decomposição (BERG et al., 2010; BERG, 2014; BACHEGA et al., 2016; JOLY et al., 2017; BROUSSEAU;

GRAVEL; HANDA, 2019; OLIVEIRA; FRAGA; HICKIE, 2019). Por exemplo, florestas com maior densidade de copas de árvores podem favorecer a decomposição ao atenuar as flutuações na temperatura e aumentar a umidade do solo ao reduzir a evaporação devido ao sombreamento, resultados opostos ao efeito de clareiras na decomposição (NI et al., 2018). Diferenças na composição das florestas podem também resultar em diferenças na qualidade da serapilheira e nas comunidades microbianas associadas (VIVANCO; AUSTIN, 2019), mesmo entre florestas em diferentes estágios sucessionais (VEEN et al., 2018). Por outro lado, diferenças na fertilidade do solo podem ser mais importantes que a estrutura da vegetação na decomposição da serapilheira (CARVALHO et al., 2014).

A fertilidade do solo pode ter efeitos complexos na decomposição, com diferentes efeitos sobre as fases iniciais, relacionadas à decomposição da fração lábil da serapilheira, e as fases tardias, relacionadas à decomposição da fração recalcitrante (BERG, 2014). Por exemplo, maiores níveis de N podem favorecer a atividade microbiana na fase inicial, mas ter efeito inibitório nas fases mais avançadas, ao inibir a decomposição da lignina, resultando em acúmulo de material recalcitrante (BERG, 2014). A adição de nutrientes como P, K e outros podem ter efeitos positivos nas taxas de decomposição (KASPARI et al., 2008; OCHOA-HUESO et al., 2019), mas a relação estequimétrica entre nutrientes e também com o carbono pode influenciar a atividade microbiana (ZECHMEISTER-BOLTENSTERN et al., 2015; ZHENG et al., 2017).

As mudanças no uso e ocupação do solo podem levar a alterações na estrutura da vegetação, no aporte de serapilheira e na fertilidade do solo, influenciando os padrões de decomposição da serapilheira (LAMMEL et al., 2015; YIN et al., 2019). Por exemplo, Paudel et al. (2015) notaram que as taxas de decomposição diminuem em um gradiente de degradação de florestas com maiores valores para florestas maduras e menores em áreas abetas, enquanto o uso do solo foi o principal efeito da decomposição encontrado por Both et al. (2017), com maiores valores de perda de massa em florestas nativas. Por outro lado, processos de restauração florestal podem também influenciar as taxas de decomposição devido a alterações na estrutura da vegetação e na fertilidade do solo (FUJII et al., 2017).

De fato, maiores relações C/N (FUJII et al., 2017) e maiores concentrações de carbono orgânico do solo (MACKAY; CUNNINGHAM; CAVAGNARO, 2016) resultantes do desenvolvimento de florestas restauradas propiciaram maiores taxas de decomposição e maior atividade biológica, respectivamente. Da mesma forma, diferenças na composição de espécies e comcomitantes alterações na qualidade da serapilheira possibilitaram um aumento nas taxas de decomposição em florestas restauradas mais antigas em relação a florestas mais novas na Amazônia (Silva et al. 2018). Por outro lado, a estrutura de florestas

restauradas pode ter efeitos indiretos nas taxas de decomposição, seja porque copas mais abertas resultam em maior cobertura e diversidade de plantas herbáceas, resultando em maior diversidade de recursos para os decompositores, enquanto copas mais fechadas resultam em maior umidade do solo, favorecendo a decomposição (Fujii et al. 2017, Wallace et al. 2018).

Portanto, as características do solo e da estrutura da vegetação em florestas em restauração pode ter efeitos diretos e indiretos nas taxas de decomposição. O objetivo deste trabalho foi avaliar os padrões de decomposição da serapilheira em uma cronosequência de florestas ripárias em processo de restauração ecológica, para analisar os principais fatores que influenciam este processo ecossistêmico. Foram avaliadas as hipóteses (1) que o material em decomposição apresenta uma fração estável, que é importante para os estoques de C nos solos tropicais, e que pode esta pode ser prevista através de modelo matemático adequado; (2) que a estrutura da floresta, as características do solo, e a qualidade da serapilheira devem influenciar diretamente o processo de decomposição, e indiretamente através da comunidade microbiana do solo.

3.2 Materiais e métodos

Área de estudo

Este trabalho foi desenvolvido em florestas ripárias na microbacia do Ribeirão Feijão, na região central do estado de São Paulo (47°93′06"- 47°76′95" O e 22°16′63"-22°07′19"S). O clima na região é tropical de altitude com verões quentes de chuvosos e invernos secos com temperaturas amenas (ROLIM et al., 2007). A temperatura média é de 21.50C e a precipitação média de 1.500mm. Esta região está localizada sobre a formação Serra Geral com a predominância de Latossolos (ANA CLARA CERMINARO, 2015), que é caracterizado por ter predomínio na porção argila, são profundos e homogêneos, são bem drenados e possuem baixa CTC. A cobertura nativa da região é de floresta tropical semidecidual, variando entre Mata Atlântica e Cerrado; entretanto, essa paisagem foi convertida a pequenos fragmentos de remanescentes de florestas (16.4%) dando lugar para pastagens (38.7%) e paisagens agrícolas (16.9%) (MACHADO et al., 2016).

Um projeto restauração ecológica foi desenvolvido em áreas ripárias da microbacia do Ribeirão Feijão entre 2006 e 2014. O projeto teve o objetivo de atendar as legislações ambientais nos âmbitos estadual e federal, com o plantio de mudas de espécies nativas

pioneiras e de sucessão secundária, baseadas em trabalho de levantamento florístico da região (SILVA; SOARES, 2003). As áreas restauradas eram previamente utilizadas como pastagens; portanto, antes do plantio, as áreas foram cercadas, o solo foi preparado com o corte das gramíneas e descompactado com subsolador, e fertilizado para receber as mudas. Para este estudo, foram selecionadas oito áreas, incluindo duas áreas com cobertura nativa (C1 e C2) e seis áreas em processo de restauração: R1, restaurada em 2006; R2, R3 e R4, restauradas em 2008; R5 e R6, restauradas em 2012 e 2013, respectivamente. Em cada área, foi traçado um transecto paralelo ao curso hídrico, a cerca de 15m da margem, onde quatro parcelas de 10 x 10m foram sistematicamente estabelecidas, com o espaçamento de 10m entre elas, totalizando inicialmente 32 parcelas amostradas. Entretanto, uma das parcelas da área R3 foi invadida pelo gado devido ao rompimento da cerca, sendo descartada das análises.

Decomposição da serapilheira

Para estimar a decomposição da serapilheira foi utilizado o método direto no campo (in situ), com uso de bolsas de decomposição ou litterbags. Neste método, a perda de massa é determinada através da quantidade conhecida de material vegetal, exposta em campo por determinado período e retirado, posteriormente, para análise direta da decomposição (COLEMAN; CROSSLEY; HENDRIX, 2004). A coleta do material foliar utilizado nas bolsas ocorreu nas áreas escolhidas para o experimento, em outubro de 2016. Foram coletadas folhas senescentes, levadas para o laboratório e secas ao ar livre até atingirem massa constante. As bolsas de decomposição foram confeccionadas nas dimensões de 0,20 x 0,20 m usando-se malha de nylon de 2,0 mm, o que permite o acesso da mesofauna ao interior das bolsas (SWIFT; HEAL; ANDERSON, 1979) . Cada bolsa foi preenchida com 8,0 g de folhas senescentes. Dois tipos de bolsas de decomposição, contendo diferentes materiais, foram alocadas nas áreas experimentais: tratamento e controle. As bolsas consideradas como tratamento continham folhas senescentes provenientes de cada área experimental e alocadas na própria área. As bolsas consideradas como controle compreenderam folhas senescentes provenientes da área C1 e alocadas nas demais áreas experimentais. A instalação das bolsas de decomposição ocorreu em 8 de novembro de 2016 e as coletas ocorreram após 15, 30, 60, 120, 210 e 360 dias. Em cada área foram instalados os dois conjuntos de bolsas, tratamento e controle; portanto, o total de bolsas instaladas no campo foi de 192 bolsas de tratamento (8 áreas x

4 parcelas x 6 datas) e 168 (7 áreas x 4 parcelas x 6 datas) de bolsas controle. Após coletadas, as bolsas foram armazenadas em sacos plásticos e transportadas ao laboratório, onde foram ligeiramente limpas com pincel para retirar o excesso de contaminação de solo. Estas amostras foram colocadas em estufa a 65°C por 72h, pesadas e posteriormente trituradas em moinho de facas tipo Willey. O peso final de cada amostra foi corrigido considerando a contaminação do solo como a porcentagem de cinzas do material, determinada como o material remanescente após ser queimado em mufla a 450°C por quatro horas.

Coleta de serapilheira

Para a coleta da serapilheira, foram instalados 32 coletores (4 parcelas x 8 áreas) de 0,70 x 0,70 m e área de 0,5 m² com malha de nylon 2 mm. Foram realizadas coletas mensais entre outubro de 2016 e outubro de 2017. Todo o material coletado foi seco a 65°C em estufa por quatro dias. As amostras provenientes dos coletores foram triadas e pesadas nas frações: folhas, ramos (até 2cm), material reprodutivo (flores, frutos e sementes) e miscelânea. As amostras de folhas foram agrupadas a cada três meses de coleta, pois em algumas parcelas não houve deposição de material suficiente para realizar as análises. Assim, o material proveniente das 12 coletas foi agrupado a cada três meses de coletas e passaram por moinho de facas tipo Willey para a determinação de C e macronutrientes.

Análise da serapilheira

O material utilizado na confecção das bolsas de decomposição é considerado como o material inicial. Foram realizadas as seguinte análises: lignina, C, N, K e manganês (Mn). No material proveniente dos coletores foram analisadas as análises de C, N, P e K.

Os teores de lignina foram determinados por método de digestação ácida (VAN SOEST, 1963), no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear Aplicada à Agricultura da Universidade de São Paulo. As concentrações totais de C e nitrogênio (N) foram determinadas por combustão a seco com um Shimadzu® TOC-L, com modelo sólido acoplado, no Laboratório de Microbiologia Aplicada do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (CCA-UFSCar). As análises de P, K e Mn foram realizadas no Laboratório de Ecologia Aplicada, Escola Superior de Agricultura Luiz de

Queiroz da Universidade de São Paulo. Inicialmente o material passou por digestão nítrico-perclórica (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989). O teor total de P foi determinado pelo método de metavanadato de amônio e teor de K foi determinado por espectrometria de chama de emissão.

Coleta e análise de fertilidade do solo

O solo foi coletado em duas datas: em agosto de 2017 e março de 2018, nas estações Seca/inverno e Chuvosa/verão, respectivamente. As amostras foram coletadas com um trado na região central de cada parcela na profundidade de 0-10 cm.

As análises de C, nutrientes, acidez potencial, pH e matéria orgânica (MO) foram realizadas em quatro réplicas por área. As concentrações totais de C e N foram determinadas por Shimadzu® TOC-L, com modelo sólido acoplado, no Laboratório de Microbiologia Aplicada do CCA-UFSCar. O fósforo (P) disponível foi determinado por resina de troca aniônica (OLSEN, 1954) e o potássio (K), o cálcio (Ca) e magnésio (Mg) por resina de troca de íons (VAN RAIJ; QUAGGIO; DA SILVA, 1986) . A acidez potencial foi determinada com solução de Ca(CH₃COO)₂.H₂O, 0,5 mol L⁻¹ a pH 7,0 e titulada com NaOH 0,025 mol L⁻¹. O pH foi medido com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. As concentrações de Ca, K, Mg, Ca e acidez potencial foram usadas nos cálculos para a CTC, soma de bases (SB) e saturação por bases (V%). A MO foi determinada por método de oxidação com dicromato de K e titulação com FeSO₄ (WALKLEY; BLACK, 1934). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Fertilidade de Solos do CCA-UFSCar.

Coleta e análise de microbiologia do solo

Amostras compostas foram agrupadas de três pontos do horizonte O em cada parcela. As coletas ocorreram na mesma data que a amostragem para a fertilidade do solo. As amostras compostas passaram por peneira de 2-mm mesh, uma subamostra foi amarzenada a 4°C por três dias para determinação de biomassa e respiração microbiana e outra subamostra foi liofilizada para análise de fungo e bactérias.

O carbono da biomassa microbiana (MBC) foi determinado através do método de fumigação-extração (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987) e a respiração basal do solo (SBR) foi monitorada por 28 dias através do método de CO2 evoluido sob incubação

aeróbica a 25°C a cada 7 dias (ANDERSON; DOMSCH, 1978), no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental do CCA-UFSCar. O coeficiente metabólico (qCO2) foi obtido pela razão SBR:MBC (ANDERSON; DOMSCH, 1985).

Para análise de fungo e bactéria totais foi utilizada a técnica de PCR em tempo real (qPCR) no Departamento de Geociências e Manejo de Recursos Naturais da Universidade de Copenhage- Dinamarca. O DNA foi extraído de 0,25 g das amostras de solo liofilizadas através de DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Hilden). A qualidade e concentração do DNA foi determinada utilizando espectrofotometro Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington). Todas as amostras foram diluídas e padronizadas para concentração de 5ng/μl de DNA e mantidas em freezer a -20°C. As reações de qPCR para bactérias totais foram baseadas em estudos de Muyzer et al. (1995) e Baker et al. (2003); e fungos totais em estudos de Bokulich e Mills (2013). Todas as reações ocorreram em duplicatas contendo 10 μl de SybrGreen (2X) PCR Master Mix (Life Technologies Corp.), 0,5 μl de cada primer, 5 μl de DNA e água até completar 20 μl de reação. As condições do qPCR foram: 95 °C por 10 min seguidos de 40 ciclos de 95 °C por 30 s, a temperatura específica de cada *primer* por 30 s, e 72 °C por 30 s.

Estrutura da vegetação

A estrutura da vegetação foi determinada em cada parcela em março de 2018. Foram contabilizados e medidos todos os indivíduos com diâmetro na altura do peito (DAP) ≥ 5.0 cm. Assim foram obtidas as seguintes variáveis da estrutura da vegetação para cada parcela: densidade de indivíduos, DAP médio, área basal total e coeficiente de variação do DAP (DAP CV) (SOUZA et al., 2013).

Modelos de decomposição

Para selecionar o modelo que melhor se ajustava aos dados, nós comparamos três modelos matemáticos frequentemente utilizados para estimar a taxa de decomposição: (1) Exponencial simples (OLSON, 1963); (2) Exponencial duplo (LOUSIER; PARKINSON, 1976; BUNNELL et al., 1977); (3) Assintótico (HOWARD; HOWARD, 1974; BERG; EKBOHM, 1991):

exponencial simples:
$$\frac{X_t}{X_0} = e^{-kt}$$
 (1)

exponencial duplo:
$$\frac{X_t}{X_0} = Ae^{-k_{id}^t} + (1-A)e^{-k_{2d}^t}$$
 (2)

assintótico:
$$\frac{X_t}{X_0} = C_a + (1 - C_a)e^{-k_{at}}$$
 (3)

onde Xt é o peso seco do material remanescente após determinado tempo t, X_0 é o peso seco inicial do material, e é a base dos logaritmos naturais, k é constante de decomposição, A é a fração lábil para o modelo exponencial duplo e 1-A é a fração recalcitrante, C é a fração recalcitrante para o modelo assintótico e 1-C a fração lábil. No modelo exponencial duplo, k_1 e k_2 referem-se às taxas de decomposição da fração lábil e recalcitrante, respectivamente. Note que o modelo assintótico é equivalente ao modelo exponencial duplo, considerando-se k_2 = 0 (WIEDER; LANG, 1982).

Análise dos dados

Para avaliar o ajuste da perda de massa aos modelos de decomposição (Hipótese 1), os três modelos foram ajustados para os dois conjuntos de dados separadamente, tratamento e controle, para cada área. O melhor ajuste ao modelo de decomposição foi considerado através do menor valor do critério de Akaike - AIC (BÄRLOCHER, 2005) entre cada área para tratamento e para controle. O melhor modelo foi escolhido como o que com mais frequência apresentou o menor AIC. O melhor modelo foi então ajustado para cada parcela, também considerando os conjunto de dados de tratamento e controle para análise da Hipótese 2. As análises foram desenvolvidas no Systat 13.0.

Para avaliar os efeitos ambientais no processo de decomposição da serapilheira (Hipótese 2) foi proposto um modelo de equações estruturais. As variáveis resposta foram a taxa de decomposição e a fração recalcitrante (C), pois o melhor modelo ajustado foi o assintótico (ver Resultados). Foram consideradas como variáveis ambientais exógenas a fertilidade do solo, a estrutura da floresta, a qualidade da serapilheira depositada ao longo do ano e a qualidade inicial do material em decomposição. Estes fatores poderiam inflienciar diretamente as variáveis relacionadas à decomposição, ou então apresentarem efeitos indiretos mediadas por indicadores da comunidade microbiana. Para determinar as variáveis representativas de cada fator ambiental, foram realizadas inicialmente análises de componentes principais (ACP) com as variáveis dentro de cada fator, sendo selecionadas as variáveis que mais se relacionaram com o eixo 1 (Figura 1). As variáveis foram

previamente transformadas para se obter normalidade dos dados, e posteriormente normalizadas para média = zero e uma unidade de desvio padrão. Desta forma, as seguintes variáveis ambientais foram selecionadas para o modelo de equações estruturais: relação C/N e soma de bases (representando a fertilidade do solo) área basal (estrutura da floresta), relação C/N (qualidade da serapilheira depositada ao longo do ano), relação N/P e lignina/N (qualidade inicial do material em decomposição), respiração microbiana e relação fungo:bactéria (comunidade microbiana). Consideramos que as variavéis ambientais apresentam covariância, pois os compartimentos acima do solo e abaixo do solo interagem entre si (FUJII et al., 2018; MARIOTTE et al., 2018). O modelo de equações estruturais foi estimado através dos critérios de Máxima Verossimilhança, e o ajuste do modelo foi avaliado usando o qui-quadrado associado com o valor de P, o erro dos quadrados médios (RMSEA em inglês), onde valores menores que 0,07 sugerem um bom ajuste dos modelos e o índice comparativo de ajuste (CFI em inglês), onde valores maiores suggerem o melhore ajuste (HOOPER et al., 2008). As análises foram realizadas através dos pacotes vegan (OKSANEN et al., 2019) e lavaan (ROSSEEL, 2012) no ambiente R 3.5.3 (http://r-project.org).

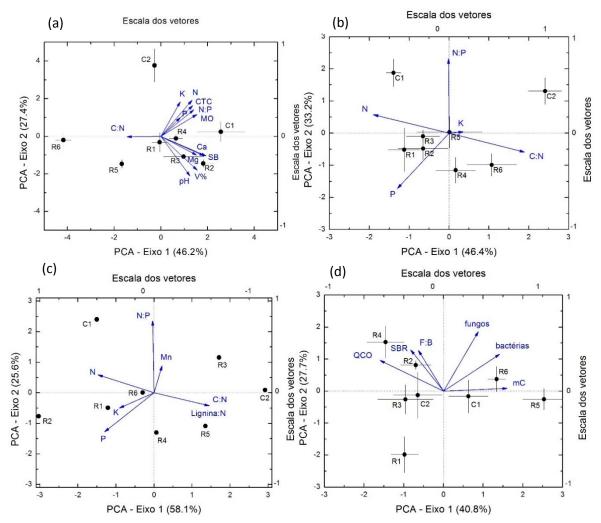


Figura 1 – Resultado da Análise de Componentes Principais para os compartimentos ambientais: (a) solo, (b) serapilheira depositada ao longo do ano, (c) composição inicial das bolsas de decomposição e (d) características da comunidade microbiana. Com exceção de (c), os demais gráficos indicam os centróides (± erro padrão) de cada área (n = 4 parcelas, com exceção de R3, em que n = 3).

3.3 Resultados

Modelos de decomposição

A proporção de massa remanescente média após 360 dias foi de 45,2% no tratamento e 41,8% para controle. A maior perda de massa ocorreu nos primeiros 15 dias, com perda de aproximadamente 15,5% da massa inicial.

De maneira geral o modelo assintótico foi o que apresentou o melhor ajuste, seguido do modelo exponencial duplo. Por outro lado, o modelo exponencial simples apresentou o pior ajuste para todos os conjuntos de dados analisados (Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados do ajuste dos três modelos de decomposição, onde k é a constante para os modelos exponencial simples e assintóticos, k_1 e k_2 são as constantes do modelo exponencial duplo, C é a fração recalcitrante do modelo assintótico. Os valores em negrito representam o melhor ajuste do modelo em cada material

| Áreas | k | R ² | AIC | <i>k</i> ₁ | <i>k</i> ₂ | R ² | AIC | k | С | R ² | AIC |
|-------|---------------------|----------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------|-------|-------|----------------|----------|
| | Exponencial Simples | | Exponencial Duplo | | | Assintótico | | | | | |
| | | | | Tratamento | | | | | | | |
| C1 | 0.002 | 0.643 | -129.551 | 0 | 0.016 | 0.89 | -159.405 | 0.012 | 0.564 | 0.893 | -161.987 |
| C2 | 0.005 | 0.608 | -110.956 | 0.001 | 0.034 | 0.967 | -176.782 | 0.02 | 0.421 | 0.953 | -169.082 |
| R1 | 0.005 | 0.774 | -117.714 | 0.001 | 0.018 | 0.917 | -142.649 | 0.014 | 0.347 | 0.918 | -144.518 |
| R2 | 0.004 | 0.681 | -116.803 | 0.001 | 0.024 | 0.954 | -168.059 | 0.016 | 0.43 | 0.949 | -166.741 |
| R3 | 0.002 | 0.5 | -127.932 | 0 | 0.018 | 0.847 | -140.482 | 0.015 | 0.63 | 0.854 | -145.058 |
| R4 | 0.003 | 0.865 | -143.755 | 0.003 | 0.003 | 0.854 | -138.496 | 0.007 | 0.371 | 0.903 | -151.543 |
| R5 | 0.004 | 0.772 | -126.905 | 0.002 | 0.031 | 0.956 | -170.152 | 0.013 | 0.422 | 0.941 | -163.403 |
| R6 | 0.003 | 0.591 | -116.118 | 0 | 0.017 | 0.856 | -142.138 | 0.015 | 0.537 | 0.86 | -144.728 |
| | | | | | | Controle |) | | | | |
| C2 | 0.003 | 0.461 | -105.433 | 0.001 | 0.064 | 0.916 | -132.459 | 0.021 | 0.495 | 0.777 | -128.758 |
| R1 | 0.003 | 0.543 | -111.89 | 0.001 | 0.027 | 0.952 | -171.715 | 0.02 | 0.488 | 0.946 | -170.406 |
| R2 | 0.003 | 0.464 | -106.994 | 0 | 0.021 | 0.845 | -137.379 | 0.021 | 0.53 | 0.852 | -140.154 |
| R3 | 0.004 | 0.84 | -100.553 | 0.004 | 0.004 | 0.822 | -94.719 | 0.011 | 0.402 | 0.011 | -131.704 |
| R4 | 0.004 | 0.64 | -115.629 | 0 | 0.017 | 0.961 | -175.036 | 0.017 | 0.446 | 0.963 | -177.775 |
| R5 | 0.004 | 0.886 | -139.723 | 1621.288 | 0.003 | 0.966 | -170.903 | 0.01 | 0.329 | 0.962 | -168.902 |
| R6 | 0.004 | 0.667 | -117.721 | 0.001 | 0.001 | 0.932 | -159.281 | 0.016 | 0.462 | 0.926 | -158.328 |

De acordo com o modelo assintótico (Figura 2), em média a fração recalcitrante compreende a 45,0% ($\pm\,6,7$, desvio padrão) do material controle e 46,3% ($\pm\,8,5$) do material tratamento, sem diferenças significativas de acordo com teste t pareado (t=-0,049, P=0,961), enquanto a fração lábil decompõe a uma taxa k de 16,5 mg por dia ($\pm\,4,5$) no controle e 15,2 mg por dia ($\pm\,3,6$) no tratamento, sem diferenças significativas, apesar dos outliers (t=-1,892, P=0,071).

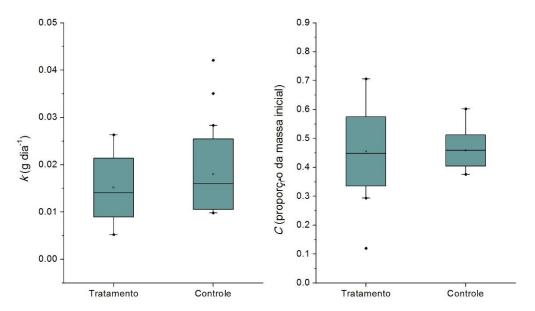


Figura 2 - Box-plot da taxa de decomposição k e da proporção recalcitrante C estimados pelo modelo assintótico para as bolsas tratamento (n= 31) e controle (n=27)

Efeito dos fatores ambientais na decomposição

Como não verificamos diferenças significativas na decomposição entre tratamento e controle, juntamos todas as amostras para as análises dos modelos de equações estruturais. As taxas de decomposição e a fração recalcitrante estimadas pelo modelo assintótico puderam ser explicadas pelas variáveis ambientais utilizando o modelo de equação estrutural proposto (Figura 3) (χ^2 = 10,56; P=0,06; g.l.=5 e RMSEA = 0,14; P = 0,1). Além disso, k e C foram positivamente correlacionados (r = 0,754).

O modelo explicou 43% da variação nas taxas de decomposição (*k*), que foram diretamente influenciadas positivamente pela área basal das florestas, pela soma de bases no solo e pela relação fungo:bactéria, e negativamente pela respiração microbiana (Figura 3). Por outro lado, estes indicadores da comunidade microbiana foram relacionados com a relação C:N da serapilheira depositada ao longo do ano (respiração microbiana e relação F:B) e pela soma de bases do solo (apenas respiração microbiana). Portanto, o efeito padronizado de cada fator ambiental nas taxas de decomposição, considerando efeitos diretos e indiretos, foi de 0,334 (área basal), -0,054 (relação C:N da serapilheira depositada), 0,140 (soma de bases do solo), -0,436 (respiração microbiana) e 0,282 (relação fungo:bactéria).

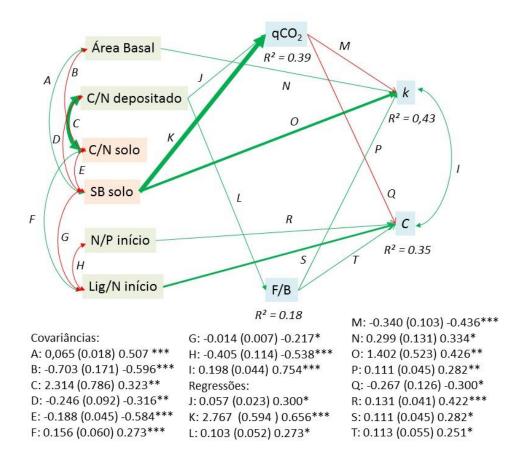


Figura 3 – Modelo de equações estruturais descrevendo os efeitos ambientais na taxa de decomposição (k) e na proporção recalcitrante (C) do modelo assintótico. A estrutura da vegetação (Área Basal), a qualidade da serapilheira depositada ao longo do ano (C/N depositada), a fertilidade do solo (C/N solo e SB solo), a qualidade inicial do material em decomposição (N/P início e Lig/N início) e a comunidade microbiana (respiração microbiana q CO_2 e relação fungo:bactéria F:B). R^2 expressa a proporção explicada da variação dos dados para cada variável resposta. As letras próximas às setas indicam o coeficiente estimado, o desvio padrão e o coeficiente geral. O nível de significância de cada variável preditora é * P < 0.05, ** P < 0.01 e ***P < 0.001. As setas verdes indicam efeitos positivos e as setas vermelhas os efeitos negativos. São mostradas apenas as relações com P < 0.05.

A fração recalcitrante da serapilheira, conforme estimada pelo modelo assintótico, foi relacionada apenas com características da serapilheira, da comunidade microbiana e da química do solo, sendo que o modelo explicou 35% da variação (Figura 3). Novamente, os efeitos da relação C:N da serapilheira depositada foram mediados pela comunidade microbiana. Desta forma, os efeitos padronizados dos fatores ambientais na fração recalcitrante da serapilheira foram: -0,021 (relação C:N da serapilheira depositada), -0,197 (soma de bases do solo), -0,300 (respiração microbiana), 0,251 (relação fungo:bactéria), 0,422 (relação N:P inicial do material decomposto) e 0,282 (relação lignina:N inicial do material decomposto).

3.4 Discussão

Modelos da decomposição

O ajuste dos dados de perda de massa da serapilheira em experimentos de decomposição a diferentes modelos permite a identificação dos diferentes processos envolvidos (MANZONI et al., 2012). Estudos comparativos de decomposição da serapilheira em diferentes biomas apontam que modelos com um ou dois (um lábil e um recalcitrante) reservatórios de C podem ser adequados para se descrever os processos de decomposição da matéria orgânica (HARMON et al., 2009), apesar de modelos com até três reservatórios poderem apresentar melhor ajuste, sendo um composto por material lábil, um composto por celulose e terceiro composto por material recalcitrante (ADAIR et al., 2008).

Entretanto, grande parte dos estudos realiza o ajuste dos dados ao modelo exponencial simples (OLSON, 1963), que implica em uma perda de massa constante e que o material em decomposição é homogêneo. Este modelo tem a vantagem de ser facilmente ajustado, sendo muitas vezes ajustado com apenas uma coleta, obtendo-se a massa remanescente após um período de tempo t (WU et al., 2019). A facilidade em se ajustar o modelo e possibilitar a comparação de sistemas diferentes permitiu a Zhang et al. (2008) realizar uma comparação global da decomposição em ecossistemas terrestres; além disso, este modelo é sugerido também por Pérez-Hanguindeguy et al. (2016) em seu manual para a medição de atributos funcionais de plantas globalmente, facilitando comparações entre ecossistemas. Outra forma de análise é ajustando-se o modelo após diferentes períodos de tempo e obtendo-se um valor de k para cada intervalo de tempo decorrido (OLIVEIRA; MARQUES; MARQUES, 2019; YU et al., 2019), o que na prática indica a obtenção de diferentes taxas de decomposição para diferentes reservatórios de C.

Apesar do modelo exponencial simples facilitar a comparação entre sistemas e permitir análises dos efeitos de fatores que atuam em diferentes escalas espaciais na decomposição (ZHANG et al., 2008; GARCÍA-PALACIOS et al., 2013), sua premissa é de decomposição total da serapilheira, influenciando as estimativas de formação da matéria orgânica do solo e do sequestro de C (HARMON et al., 2009; COTRUFO et al., 2015). Além disso, alguns estudos mostram que o ajuste ao modelo exponencial simples para avaliar a decomposição da serapilheira em florestas tropicais pode não ser adequado (SPAIN; LE FEUVRE, 1987; DIDHAM, 1998; HARMON et al., 2009), sendo os modelos assintótico ou exponencial duplo mais adequados. De fato, Harmon et al. (2009) sugerem o ajuste ao

modelo exponencial duplo, que facilmente pode ser convertido em exponencial simples ou assintótico, dependendo dos valores estimados, o que foi feito no presente estudo.

Os modelos de decomposição que consideram o processo de decomposição em duas fases, neste estudo o exponencial duplo e o assintótico, frequentemente apresentam semelhanças de ajustes (BERG, 2014). Porém o melhor ajuste ocorreu no modelo assintótico, sugerindo que a composição da serapilheira das florestas estudadas tem maior fração recalcitrante, contribuindo para a formação da matéria orgânica (e.g., Cotrufo et al. 2015), apesar da proporção de fração recalcitrante encontrada ser considerada média para valores de referência em ecossistemas temperados (BERG et al., 1996). A seleção de um modelo que represente melhor a dinâmica de degradação da serapilheira é importante para a comparação desses processos entre ecossistemas e entre diferentes usos da terra.

Os ambientes tropicais são conhecidos por alta taxa de decomposição (ZHANG et al., 2008) e por grandes perdas de C no solo durante alterações na cobertura do solo (STRAATEN et al., 2015). Além disso, esses ecossistemas têm grande capacidade de estocar C no solo (SHIMAMOTO; BOTOSSO; MARQUES, 2014) em um curto período (DE ALCÂNTARA et al., 2004). O padrão de decomposição assintótico observado neste estudo implica que, em condições tropicais, com altas temperaturas e precipitação, além de ocorrer uma rápida perda de massa inicial, também é formada uma fração estável da serapilheira importante para o estoque de matéria orgânica no solo (BERG, 2014). Além disso, o processo de perda inicial de massa também pode estar relacionado com a formação de matéria orgânica, através da incorporação do C lábil na biomassa microbiana (COTRUFO et al., 2015).

Efeitos das características ambientais na decomposição

Os fatores ambientais das florestas ripárias influenciaram tanto a taxa de decomposição como a formação de fração recalcitrante da serapilhera. Os efeitos sobre cada uma da dessas respostas é uma combinação diferente dos fatores ambientais: a taxa de decomposição é a soma dos efeitos diretos da atividade e composição da comunidade microbiana, da estrutura da vegetação, da fertilidade do solo e dos efeitos indieretos da composição da serapilheira depositada através da comunidade microbiana. A fração estável da serapilheira é explicada pela atividade e composição microbiana e pela composição inicial do material, como também dos efeitos indiretos via comunidade microbiana.

A decomposição é um processo majoritariamente determinado pela ação da microfauna edáfica (BANI et al., 2018). Devido ao fato da decomposição ser um processo dinâmico com mudanças na composição do material decomposto, do mais facilmente decomponível ao mais recalcitrante, é observado que a importância da comunidade microbiana aumente no decorrer do processo de decomposição (SHERMAN; STEINBERGER, 2012) e ocorram alterações na composição da comunidade. Neste estudo, o efeito da comunidade microbiana nas taxas de decomposição e no acúmulo de material recalcitrante foi similar. Apesar das alterações dinâmicas da comunidade microbiana, algumas funções são gerais, tais como a decomposição e armazenagem de C, e são realizadas por uma grande variedade de microrganismos de dinâmica de alterações (SCHIMEL; SCHAEFFER, 2012).

A atividade microbiana, representada pelo *q*CO₂, e composição microbiana, representada pela relação F/B tem efeitos opostos em *k* e *C*. A relação *q*CO₂, que é a respiração microbiana padronizada pela biomassa microbiana, apresentou efeito negativo na decomposição. Essa relação é utilizada como um parâmetro da eficiência da comunidade microbiana, onde menores valores se referem a comunidades mais eficientes, pois respiram menos e acumulam mais biomassa (SPOHN, 2015). Durante o processo de decomposição, o C primeiramente é transferido da serapilheira para a biomassa microbiana e posteriormente retorna à atmosfera via CO₂ (SCHIMEL; SCHAEFFER, 2012) Assim, quanto mais eficiente a comunidade microbiana, maior a decomposição da serapilheira. Já a relação F/B tem efeito positivo na decomposição, demonstrando a maior importância dos fungos na ciclagem de nutrientes (BALDRIAN, 2016).

A comunidade microbiana é altamente dependente do aporte de energia e nutrientes (MACKAY; CUNNINGHAM; CAVAGNARO, 2016), o que explica a correlação com a composição da serapilhera depositada. Maiores valores de C/N da serapilheira depositada favorecem a presença de fungos em relação a bactérias (EILAND et al., 2001; GROSSO; BÅÅTH; DE NICOLA, 2016), pois os fungos têm capacidade de realocação de compostos para ambientes com limitação de nutrientes (BOBERG et al., 2010). Spohn (2015) também encontrou que *q*CO₂ respondeu positivamente à relação C/N da serapilheira, sugerindo que os microrganismos respiram mais C em condições limitantes de N.

Diversos estudos reportam que a composição do material em decomposição tem o maior efeito no processo de decomposição (SUZUKI; GRAYSTON; PRESCOTT, 2013; BHATNAGAR; PEAY; TRESEDER, 2018), mas as condições ambientais podem também determinar os padrões de perda de massa (JOLY et al., 2017; BURESOVA et al., 2019). Entretanto, esses estudos se baseiam no modelo exponencial simples de decomposição,

que considera que o material sendo decomposto é homogêneo, com taxas de decomposição constantes e em que a matéria orgânica é totalmente decomposta. O presente estudo foi baseado no modelo assintótico de decomposição, com duas variáveis k e C. Foi possível observar que o ambiente e a composição da serapilheira afetam a decomposição, porém não da mesma maneira entre k e C.

A taxa de decomposição *k* reflete o efeito do ambiente: estrutura da vegetação e fertilidade do solo. Em contrapartida, a fração recalcitrante C tem o efeito da composição inicial da serapilheira em decomposição. As características do solo foram mais importantes na determinação da decomposição que as características do material em um experimento em microcosmos conduzido por Delgado-Baquerizo et al. (2015) utilizando solo de pastagem de clima semi-árido. Oliveira, Marques e Marques (2019) estudaram os efeitos da estrutura da floresta e do solo em Floresta Atlântica e observaram que os cátions do solo têm efeitos mais fortes na fase inicial, enquanto a estrutura de copas apresenta efeito na fase tardia. Esses resultados sugerem que os fatores que determinam a decomposição não são estáticos.

A primeira fase da decomposição compreende principalmente a degradação dos compostos não estruturais e hemicelulose (COTRUFO et al., 2015; BACHEGA et al., 2016). Essa fase foi afetada principalmente pelo microclima das áreas, estrutura da vegetação e solo, que fornece condições gerais para a atividade microbiana. Neste estudo, a segunda fase da decomposição foi determinada principalmente pela concentração da lignina, mais que a proporção de nutrientes, devido ao potencial acumulo de lignina com o decorrer da decomposição.

Alterações na estrutura da vegetação podem levar a mudanças diretas ou indiretas na comunidade decompositora, o que pode acarretar em alterações na atividade dos decompositores (KATAYAMA et al., 2009; LUCAS-BORJA et al., 2016). O efeito positivo da área basal em k pode ser devido às melhores condições de temperatura e umidade para a comunidade microbiana encontradas em remanescentes e florestas em restauração mais antigas (e.g.,Ottermanns et al., 2011). Além disso, a área basal foi negativamente correlacionada com pH (ver capítulo 2) que é um fator intrínsico determinando a atividade microbiana.

A SB solo, que corresponde a soma dos cátions K, Ca e Mg, tem o maior efeito no qCO₂ e em k. A concentração desses elementos no solo já foi anteriormente correlacionada com a decomposição (OLIVEIRA; MARQUES; MARQUES, 2019) como também suas concentrações na serapilheira influenciam a degradação do material (SANTIAGO, 2010; JOLY et al., 2017), sugeindo que, além de N, esses elementos também podem ser

limitantes para a decomposição. Os efeitos de K, Ca e Mg na decomposição podem ser diversos. K tem um efeito positivo na degradação da celulose (KASPARI et al., 2008) e é um importante constituinte de biomassa microbiana (YAMASHITA et al., 2014). Em condições onde K é limitante para a ação dos microrganismos, devido à sua alta mobilidade no solo, é um elemento que pode ser facilmente acessado nas reservas da matéria orgânica do solo (TOBÓN; SEVINK; VERSTRATEN, 2004). A adição de Ca e Mg através de calagem aumentou a respiração microbiana como também a biomassa de bactérias e fungos em ambientes temperados (IVARSON, 1977; FOREY; TRAP; AUBERT, 2015) e tropicais (MURAYAMA; ZAHARI, 1996; BERKELMANN et al., 2018) . Entretanto, o Ca também possa ter efeito negativo na decomposição da MO através da formação de agregados estáveis (ROWLEY; GRAND; VERRECCHIA, 2018)

A fase tardia da decomposição é relacionada com predomínio dos compostos recalcitrantes, como a lignina, e com a concentração de N. Embora esta fase seja considerada como o limite da decomposição, o material neste estágio não está inerte e sim sendo modificado e incorporado ao humus do solo no processo de humificação. Normalmente os trabalhos enfatizam a concentração inicial de N na serapilheira com o aumento da taxa inicial de decomposição. A concentração de N inicial também é importante na fase refratária, pois o N que não foi consumido pelos microrganismos na primeira fase da decomposição pode-se ligar às frações de lignina, contribuindo para a formação do humus (BERG; LASKOWSKI; SANTO, 1999). Deste modo altas concentrações iniciais de N favorecem a estabilização da fração recalcitrante da serapilheira. Esta fase também foi relacionada à maior relação N/P e possível limitação de P, sendo que os fungos são os principais microrganismos capazes de degradar a lignina, sendo favorecidos nesta etapa (GÜSEWELL; GESSNER, 2009).

Portanto, a decomposição da serapilheira em florestas ripárias em restauração depende de diversos fatores, incluindo efeitos diretos do solo e da vegetação, e indiretos via comunidades microbianas. Em relação à vegetação, tanto a estrutura física das florestas quanto a composição química da serapilheira produzida influenciam os processos de decomposição. De qualquer forma, este processo é complexo, e os resultados do presente estudo indicam a necessidade de se avaliar simultaneamente as características da vegetação e do solo para se avaliar a recuperação deste processo ecossistêmico em estudos de monitoramento de restauração ecológica.

2.5 Conclusão

O modelo de decomposição que melhor se ajustou foi o assintótico, sugerindo que a decomposição da serapilheira em florestas ripárias tropicais tem maior fração recalcitrante, o que contribui para a formação da matéria orgânica.

Os fatores ambientais influenciaram tanto a taxa de decomposição como a formação da fração recalcitrante da serapilheira.

A taxa de decomposição é a soma dos efeitos diretos da atividade e composição microbiana, da estrutura da vegetação, da fertilidade do solo e dos efeitos indiretos da composição da serapilheira depositada através da comunidade microbiana.

A fração estável tem efeitos diretos da atividade e composição microbiana e da composição inicial do material, como também dos efeitos indiretos via comunidade microbiana.

4 Conclusão

A camada serapilheira-solo de florestas ripárias apresenta forte variação espacial e temporal, possivelmente por estarem sob forte influência do regime hídrico, com inundações periódicas, e grande fluxo de nutrientes provenientes do escoamento superficial e da lixiviação. Devido à grande importância ambiental dessas áreas, esforços têm sido feitos na tentativa de recuperação dos serviços ecossistêmicos dessas florestas através da restauração ecológica. A avaliação do sucesso dos projetos de restauração das florestas ripárias deve considerar a variação inerente a essas áreas, como também a variação sucessional que ocorre durante o processo de restauração. Muitos avanços têm ocorrido tanto na área de restauração ecológica como na avaliação da restauração, e tem-se como indicativo correlacionar a restauração da cobertura vegetal com um ou mais processos ecossistêmicos.

No presente estudo, a cobertura vegetal das áreas de floresta ripária foi relacionada com atributos da camada serapilheira-solo em duas abordagens: (1) categórica considerando o tipo de floresta e (2) contínua, considerando a estrutura da vegetação. A estrutura da vegetação foi capaz de explicar as variações dos atributos de processos ecossistêmicos presentes na camada serapilheira-solo. Esse tipo de abordagem foi capaz de modelar melhor a variação dessas áreas que a abordagem categórica. Devido à grande variação dentro das áreas e entre áreas, pode ter ocorrido o erro tipo II na abordagem categórica, onde não foi possível observar diferenças entre os tipos de florestas.

Foi possível observar padrões entre o efeito da estrutura da vegetação e os atributos de fertilidade do solo, com a maioria dos atributos sendo positivamente relacionados com a área basal e/ou densidade, com exceção de pH e relação C/N. Entre os parâmetros da comunidade microbiana não foi possível padronizar o efeito da estrutura. A cada nível de abordagem da comunidade microbiana, a estrutura variou entre efeitos negativos e positivos. Também não foi possível prever a intensidade dos efeitos da área basal, densidade e estratificação entre os níveis da comunidade microbiana. Esses resultados são relevantes na interpretação de parâmetros do solo utilizados para avaliação das áreas em recuperação e da cobertura vegetal.

A camada serapilheira-solo também apresentou variação sazonal entre as estações Seca/inverno e Verão/chuvosa. Entre os atributos de fertilidade do solo que apresentaram sazonalidade incluem-se os macronutrientes, N, P e K, que geralmente são limitantes para a síntese de biomassa. Houve variação sazonal também nas propriedades microbianas consideradas como "funções gerais". Esses parâmetros do solo são altamente

correlacionados com a decomposição da biomassa e ciclagem de nutrientes. A diferenças entras as estações para esses parâmetros expõem a influência do macro clima, temperatura e umidade, na ciclagem de nutrientes nas florestas ripárias em regiões de estações distintas, constituídas por invernos secos e verões chuvosos. Assim, a compreensão da variação sazonal no solo é importante, tanto para estudos de monitoramento, quanto para se avaliar a qualidade do solo em resposta a diferentes tipos de uso e manejo.

A estrutura da vegetação também foi capaz de explicar a decomposição da serapilheira. Entretanto, como a decomposição é um processo complexo que envolve diversos compartimentos do ecossistema, outros parâmetros foram necessários para modelar adequadamente a resposta da decomposição. A decomposição não é um processo estático e pode ser dividido em duas etapas, considerando o bom ajuste do modelo assintótico. Desta forma, os resultados sugerem contribuição da serapilheira para a formação de matéria orgânica do solo, contribuindo para o sequestro de C por florestas ripárias tropicais.

Finalmente, o serviço ecossistêmico de ciclagem de nutrientes, que envolve o aporte de nutrientes na serapilheira, a comunidade microbiana e a decomposição da matéria orgânica são recuperadas com o processo de restauração ecológica. Entretanto, esta recuperação é proporcional ao desenvolvimento da estrutura da floresta.

REFERÊNCIAS

ADAIR, E. C. et al. Simple three-pool model accurately describes patterns of long-term litter decomposition in diverse climates. **Global Change Biology**, v. 14, p. 2636–2660, 2008.

ADELEKE, R.; NWANGBURUKA, C.; OBOIRIEN, B. Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 393–406, 2017.

AGUIAR, T. R. et al. Nutrient removal effectiveness by riparian buffer zones in rural temperate watersheds: The impact of no-till crops practices. **Agricultural Water Management**, v. 149, p. 74–80, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2014.10.031.

AHLSTRÖM, A. et al. Importance of vegetation dynamics for future terrestrial carbon cycling. **Environmental Research Letters**, v. 10, 2015.

ALAOUI, A. et al. Does soil compaction increase floods? A review Does soil compaction increase floods? A review. **Journal of Hydrology**, v. 557, n. January, p. 631–642, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2017.12.052.

ANA CLARA CERMINARO, D. As Relações Solo-Relevo Através da Compartimentação Geomorfológica da Bacia Hidrográfica do Ribeirão Feijão, nos Municípios de São Carlos, Analândia e Itirapina no Estado de São Paulo-BR: Ordenações de Unidades para Uso e Ocupação Adequados. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, n. 2, p. 352-364–364, 2015.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 10, n. 3, p. 215–221, 1978.

ANDERSON, M. J.; GORLEY, R. N.; CLARKE, K. R. **PERMANOVA + for PRIMER : Guide to Software and Statistical Methods**. [s.l: s.n.]

ANDERSON, T.; DOMSCH, K. H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils**, v. 1, p. 81–89, 1985.

ARAÚJO FILHO, R. N. de et al. Recovery of carbon stocks in deforested caatinga dry forest soils requires at least 60 years. **Forest Ecology and Management**, v. 407, n. October 2017, p. 210–220, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.10.002.

ARAUJO, P. I.; AUSTIN, A. T. A shady business: pine afforestation alters the primary controls on litter decomposition along a precipitation gradient in Patagonia, Argentina. **Journal of Ecology**, v. 103, n. 6, p. 1408–1420, nov. 2015. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/1365-2745.12433.

ARONSON, J. et al. What Role Should Government Regulation Play in Ecological Restoration? Ongoing Debate in São Paulo State, Brazil. **Restoration Ecology**, v. 19, n. 6, p. 690–695, 2011.

ASSEFA, D. et al. Deforestation and land use strongly effect soil organic carbon and nitrogen stock in Northwest Ethiopia. **Catena**, v. 153, p. 89–99, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2017.02.003.

AYALA-OROZCO, B. et al. Resilience of soil properties to land-use change in a tropical dry forest ecosystem. **Land Degradation & Development**, v. 325, n. March 2017, p. 315–325, 2018.

BACHEGA, L. R. et al. Decomposition of Eucalyptus grandis and Acacia mangium leaves and fine roots in tropical conditions did not meet the Home Field Advantage hypothesis. **Forest Ecology and Management**, v. 359, p. 33–43, 2016.

BAKER, G. C.; SMITH, J. J.; COWAN, D. A. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. **Journal of Microbiological Methods**, v. 55, p. 541–555, 2003.

BAKKER, M. A.; CARREÑO-ROCABADO, G.; POORTER, L. Leaf economics traits predict litter

- decomposition of tropical plants and differ among land use types. **Functional Ecology**, v. 25, n. 3, p. 473–483, jun. 2011. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2435.2010.01802.x.
- BALDRIAN, P. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 2, p. fuw040, 16 nov. 2016. Disponível em:
- https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1093/femsre/fuw040>.
- BANI, A. et al. The role of microbial community in the decomposition of leaf litter and deadwood. **Applied Soil Ecology**, v. 126, n. February, p. 75–84, maio 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.02.017.
- BÄRLOCHER, F. Leaf mass loss estimated by litter bag technique. In: GRAÇA, M. A. S.; BÄRLOCHER, F.; GESSNER, M. O. (Ed.). **Methods to Study Litter Decomposition: a practical guide**. Dordrecht: Springer, 2005. p. 37–42.
- BARTÓN, K. **Package ' MuMIn '**. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://cran.r-project.org/web/packages/MuMIn/MuMIn.pdf.
- BATISTELI, A. F.; TANAKA, M. O.; SOUZA, A. L. T. Bird functional traits respond to forest structure in riparian areas undergoing active restoration. **Diversity**, v. 10, n. 3, p. 8–11, 2018.
- BERG, B. et al. Maximum decomposition limits of forest litter types: a synthesis. **Canadian Journal of Botany**, v. 74, n. 5, p. 659–672, maio 1996. Disponível em: http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/b96-084>.
- BERG, B. et al. Factors influencing limit values for pine needle litter decomposition: a synthesis for boreal and temperate pine forest systems. **Biogeochemistry**, v. 100, n. 1–3, p. 57–73, 10 set. 2010. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s10533-009-9404-y.
- BERG, B. Decomposition patterns for foliar litter A theory for influencing factors. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 78, p. 222–232, nov. 2014. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071714002831.
- BERG, B. Decomposing litter; limit values; humus accumulation, locally and regionally. **Applied Soil Ecology**, v. 123, n. August 2017, p. 494–508, fev. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.026.
- BERG, B.; EKBOHM, G. Litter mass-loss rates and decomposition patterns in some needle and leaf litter types. Long-term decomposition in a Scots pine forest. VII. **canadian journal of botanical**, v. 69, 1991.
- BERG, B.; LASKOWSKI, R.; SANTO, A. V. Estimated nitrogen concentrations in humus based on initial nitrogen concentrations in foliar litter: a synthesis. XII. Long-term decomposition in a Scots pine forest. **Canadian Journal of Botany**, v. 77, n. 12, p. 1712–1722, 20 fev. 1999. Disponível em: http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/b99-141.
- BERKELMANN, D. et al. How Rainforest Conversion to Agricultural Systems in Sumatra (Indonesia) Affects Active Soil Bacterial Communities. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. OCT, p. 1–13, 10 out. 2018. Disponível em:
- https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02381/full.
- BHATNAGAR, J. M.; PEAY, K. G.; TRESEDER, K. K. Litter chemistry influences decomposition through activity of specific microbial functional guilds. **Ecological Monographs**, v. 0, n. 0, p. 1–16, 2018.
- BÔAS, R. V. et al. Spatial analysis and quantification of carbon stock in the forest ecosystems in restoration process (Minas Gerais State, Brazil). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 8, n. 13, p. 454–461, 2014.
- BOBERG, J. B. et al. Fungal C translocation restricts N-mineralization in heterogeneous

environments. Functional Ecology, v. 24, n. 2, p. 454-459, 2010.

BOETTCHER, S. E.; KALISZ, P. J. Single-Tree Influence on Soil Properties in the Mountains of Eastern Kentucky. **Ecology**, v. 71, n. 4, p. 1365–1372, ago. 1990. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.2307/1938273.

BOKULICH, N. A.; MILLS, D. A. Improved selection of internal transcribed spacer-specific primers enables quantitative, ultra-high-throughput profiling of fungal communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2519–2526, 2013.

BONILLA-ROSSO, G. et al. Design and evaluation of primers targeting genes encoding NO-forming nitrite reductases: implications for ecological inference of denitrifying communities. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 39208, 14 dez. 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/srep39208>.

BOTH, S. et al. Land use not litter quality is a stronger driver of decomposition in hyperdiverse tropical forest. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 22, p. 9307–9318, nov. 2017. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1002/ece3.3460>.

BRADFORD, M. A. et al. Microbiota, fauna, and mesh size interactions in litter decomposition. **Oikos**, v. 99, n. 2, p. 317–323, 2002. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.990212.x.

BRADFORD, M. A. et al. A test of the hierarchical model of litter decomposition. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 12, p. 1836–1845, 13 dez. 2017. Disponível em: http://www.nature.com/articles/s41559-017-0367-4.

BRANCALION, P. H. S. et al. Global restoration opportunities in tropical rainforest landscapes. **Science Advances**, v. 5, n. 7, p. eaav3223, 3 jul. 2019. Disponível em: http://advances.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/sciadv.aav3223.

BROUSSEAU, P.; GRAVEL, D.; HANDA, I. T. Traits of litter-dwelling forest arthropod predators and detritivores covary spatially with traits of their resources. **Ecology**, v. 100, n. 10, p. 1–13, 14 out. 2019. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ecy.2815.

BUNNELL, F. L. et al. Microbial respiration and substrate weight loss—I. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 9, n. 1, p. 33–40, jan. 1977. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/003807177790058X.

BURESOVA, A. et al. Succession of microbial decomposers is designated by litter type, but site conditions drive decomposition rates. **Applied and Environmental Microbiology**, n. October, 11 out. 2019. Disponível em: http://aem.asm.org/lookup/doi/10.1128/AEM.01760-19.

BURKE, I. C. et al. Texture, Climate, and Cultivation Effects on Soil Organic Matter Content in U.S. Grassland Soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 53, 1989.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. . **Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach**. 2. ed. New York: Springer, 2002.

CALAZANS, S. O. L. et al. Soil organic carbon as a key predictor of N in forest soils of Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 18, n. 4, p. 1242–1251, 27 abr. 2018. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s11368-016-1557-4.

CARUSO, T. et al. Soil organic carbon dynamics matching ecological equilibrium theory. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 22, p. 11169–11178, 2018.

CARVALHO, D. C. De et al. Carbono , Nitrogênio e Abundância Natural de δ 13 C do Solo em Coberturas Florestais. v. 8087, 2017.

CARVALHO, G. H. et al. Are fire, soil fertility and toxicity, water availability, plant functional diversity, and litter decomposition related in a Neotropical savanna? **Oecologia**, v. 175, n. 3, p.

923–935, 19 jul. 2014. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s00442-014-2937-3.

CARVALHO, J. L. N. et al. Impact of pasture, agriculture and crop-livestock systems on soil C stocks in Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 110, p. 175–186, 2010.

CASTLE, S. C. et al. Nutrient limitation of soil microbial activity during the earliest stages of ecosystem development. **Oecologia**, v. 185, n. 3, p. 513–524, 2017.

CHAVES, R. B. et al. On the need of legal frameworks for assessing restoration projects success: New perspectives from São Paulo state (Brazil). **Restoration Ecology**, v. 23, n. 6, p. 754–759, 2015.

CLEVELAND, C. C.; LIPTZIN, D. C:N:P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? **Biogeochemistry**, v. 85, n. 3, p. 235–252, 8 ago. 2007. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s10533-007-9132-0.

CORNWELL, W. K.; WEEDON, J. T. Decomposition trajectories of diverse litter types: a model selection analysis. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 5, n. 2, p. 173–182, fev. 2014. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/2041-210X.12138>.

COSTA, carlos wilmer. **EXPANSÃO DA MANCHA URBANA E SUAS CONSEQUÊNCIAS SOBRE OS MANANCIAIS DO RIO DO MONJOLINHO E DO RIBEIRÃO DO FEIJÃO DA CIDADE DE SÃO CARLOS, SP**. 2010. Universidade Federal de Itajubá, MG, 2010. Disponível em: https://saturno.unifei.edu.br/bim/0037757.pdf>.

COTRUFO, M. F. et al. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. **Nature Geoscience**, v. 8, n. 10, p. 776–779, 2015.

CURIEL YUSTE, J. et al. Microbial soil respiration and its dependency on carbon inputs, soil temperature and moisture. **Global Change Biology**, v. 13, n. 9, p. 2018–2035, set. 2007. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2486.2007.01415.x.

DANDIE, C. E. et al. Abundance, diversity and functional gene expression of denitrifier communities in adjacent riparian and agricultural zones. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 77, n. 1, p. 69–82, jul. 2011. Disponível em: https://academic.oup.com/femsec/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6941.2011.01084.x.

DE ALCÂNTARA, F. a. et al. Conversion of grassy cerrado into riparian forest and its impact on soil organic matter dynamics in an Oxisol from southeast Brazil. **Geoderma**, v. 123, p. 305–317, 2004.

DE CARVALHO, T. S. et al. Land use intensification in the humid tropics increased both alpha and beta diversity of soil bacteria. **Ecology**, v. 97, n. 10, p. 2760–2771, 2016. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1002/ecy.1513.

DE GANNES, V. et al. Microbial Community Structure and Function of Soil Following Ecosystem Conversion from Native Forests to Teak Plantation Forests. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. DEC, 9 dez. 2016. Disponível em:

http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01976/full.

DELGADO-BAQUERIZO, M. et al. Soil characteristics determine soil carbon and nitrogen availability during leaf litter decomposition regardless of litter quality. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 81, p. 134–142, fev. 2015. Disponível em:

https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071714003873>.

DELGADO-BAQUERIZO, M. et al. Lack of functional redundancy in the relationship between microbial diversity and ecosystem functioning. **Journal of Ecology**, v. 104, n. 4, p. 936–946, jul. 2016. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/1365-2745.12585>.

DIDHAM, R. K. Altered Leaf-Litter Decomposition Rates in Tropical Forest Fragments. Oecologia,

- v. 116, n. 3, p. 397–406, 1998.
- EILAND, F. et al. Influence of Initial C/N Ratio on Chemical and Microbial Composition during Long Term Composting of Straw. **Microbial Ecology**, v. 41, n. 3, p. 272–280, 9 abr. 2001. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s002480000071.
- FAYLE, T. M. et al. Whole-ecosystem experimental manipulations of tropical forests. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 30, n. 6, p. 334–346, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2015.03.010>.
- FELD, L. et al. Pesticide Side Effects in an Agricultural Soil Ecosystem as Measured by amoA Expression Quantification and Bacterial Diversity Changes. **PLoS ONE**, v. May, p. 1–20, 2015.
- FERREIRA, M. L. et al. Litter fall production and decomposition in a fragment of secondary Atlantic forest of São Paulo, SP, Southeastern Brazil. **Revista Árvore**, v. 38, n. 4, p. 591–600, ago. 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622014000400002&Ing=en&tlng=en>. Acesso em: 7 ago. 2019.
- FERREIRA, M. P.; ALVES, D. S.; SHIMABUKURO, Y. E. Forest dynamics and land-use transitions in the Brazilian Atlantic Forest: the case of sugarcane expansion. **Regional Environmental Change**, v. 15, n. 2, p. 365–377, fev. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10113-014-0652-6.
- FIERER, N. et al. Global patterns in belowground communities Ecology Letters, 2009. .
- FOREY, E.; TRAP, J.; AUBERT, M. Liming impacts Fagus sylvatica leaf traits and litter decomposition 25 years after amendment. **Forest Ecology and Management**, v. 353, p. 67–76, out. 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.03.050>.
- FRANCIS, C. A. et al. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 41, p. 14683–14688, 2005.
- FRAZÃO, L. A. et al. Inorganic nitrogen, microbial biomass and microbial activity of a sandy Brazilian Cerrado soil under different land uses. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 135, n. 3, p. 161–167, 2010.
- FUJII, K. et al. Plant–soil interactions maintain biodiversity and functions of tropical forest ecosystems. **Ecological Research**, v. 33, n. 1, p. 149–160, 16 jan. 2018. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1007/s11284-017-1511-y.
- FUJII, S. et al. Disentangling relationships between plant diversity and decomposition processes under forest restoration. **Journal of Applied Ecology**, v. 54, n. 1, p. 80–90, 2017.
- GARCÍA-PALACIOS, P. et al. Climate and litter quality differently modulate the effects of soil fauna on litter decomposition across biomes. **Ecology Letters**, v. 16, p. 1045–1053, 2013.
- GODINHO, T. de O. et al. Quantifição de biomassa e nutrientes na serapilheira acumulada em trecho de Floresta Estacional Semidecidual Submontana, ES. **Cerne**, v. 20, n. 1, p. 11–20, 2014.
- GONZÁLEZ, G.; SEASTEDT, T. R. Soil fauna and plant litter decomposition in tropical and subalpine forests. **Ecology**, v. 82, n. 4, p. 955–964, 2001.
- GRACE, J. B. Structural equation modeling and natural systems. Cambridge ed. [s.l: s.n.]
- GRAU, O. et al. Nutrient-cycling mechanisms other than the direct absorption from soil may control forest structure and dynamics in poor Amazonian soils. **Scientific Reports**, v. 7, n. September 2016, p. 1–11, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/srep45017>.
- GREGORY, S. V. et al. An Ecosystem Perspective of Riparian Zones. **BioScience**, v. 41, n. 8, p. 540–551, 1991.

- GROSSO, F.; BÅÅTH, E.; DE NICOLA, F. Bacterial and fungal growth on different plant litter in Mediterranean soils: Effects of C/N ratio and soil pH. **Applied Soil Ecology**, v. 108, p. 1–7, dez. 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.07.020.
- GÜSEWELL, S.; GESSNER, M. O. N:P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. **Functional Ecology**, v. 23, n. 1, p. 211–219, 2009.
- HALE, R. et al. Agriculture, Ecosystems and Environment Assessing changes in structural vegetation and soil properties following riparian restoration. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 252, n. May 2017, p. 22–29, 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.036>.
- HARMON, M. E. et al. Long-term patterns of mass loss during the decomposition of leaf and fine root litter: an intersite comparison. **Global Change Biology**, v. 15, p. 1320–1338, 2009.
- HARRIS, J. A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. **European Journal of Soil Science**, v. 54, n. December, p. 801–808, 2003.
- HÄTTENSCHWILER, S.; JØRGENSEN, H. B. Carbon quality rather than stoichiometry controls litter decomposition in a tropical rain forest. **Journal of Ecology**, v. 98, n. 4, p. 754–763, 2010. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2745.2010.01671.x.
- HÄTTENSCHWILER, S.; TIUNOV, A. V.; SCHEU, S. Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 36, n. 1, p. 191–218, 2005. Disponível em:
- http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.ecolsys.36.112904.151932.
- HOBBS, R. J.; CRAMER, V. a. Restoration Ecology: Interventionist Approaches for Restoring and Maintaining Ecosystem Function in the Face of Rapid Environmental Change. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 33, n. 1, p. 39–61, 2008.
- HOOPER, D.; COUGHLAN, J.; MULLEN, M. Structural Equation Modelling: Guidelines for Determining Model Fit Structural equation modelling: guidelines for determining model fit. **The Electronic Journal of Business Research Methods Volume**, v. 6, n. 1, p. 53–60, 2008.
- HOOPER, D. U. et al. Aglobal synthesis reveals biodiversity loss as amajor driver of ecosystem change. **Nature**, v. 486, n. 7401, p. 105–108, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/nature11118>.
- HOWARD, P. J. A.; HOWARD, D. M. Microbial Decomposition of Tree and Shrub Leaf Litter. 1. Weight Loss and Chemical Composition of Decomposing Litter. **Oikos**, v. 25, n. 3, p. 341, 1974. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3543954?origin=crossref.
- IVARSON, K. C. Changes in decomposition rate, microbial population and carbohydrate content of an acid peat bog after liming and reclamation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 737, 1977.
- JOBBÁGY, E. G.; JACKSON, R. B. The Distribution of Soil Nutrients with Depth: Global Patterns and the Imprint of Plants. **Biogeochemistry**, v. 53, n. 1, p. 51–77, 2001. Disponível em: https://link-springer-
- com.libraryproxy.griffith.edu.au/content/pdf/10.1023%2FA%3A1010760720215.pdf>.
- JOLY, F.-X. et al. Tree species diversity affects decomposition through modified micro-environmental conditions across European forests. **New Phytologist**, v. 214, n. 3, p. 1281–1293, maio 2017. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/nph.14452.
- JORDAN, C. F.; KLINE, J. R. Mineral Cycling: Some Basic Concepts and Their Application in a Tropical Rain Forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 3, p. 33–50, 1972.
- JUCKER, T. et al. Drivers of aboveground wood production in a lowland tropical forest of West Africa: teasing apart the roles of tree density, tree diversity, soil phosphorus, and historical logging.

Ecology and Evolution, v. 6, n. 12, p. 4004–4017, 2016.

JUNIOR, F. M. C. et al. The impact of pasture systems on soil microbial biomass and community-level physiological profiles. **Land Degradation & Development**, v. 291, n. June 2016, p. 284–291, 2018.

KASPARI, M. et al. Multiple nutrients limit litterfall and decomposition in a tropical forest. **Ecology Letters**, v. 11, p. 35–43, 2008.

KATAYAMA, A. et al. Effect of forest structure on the spatial variation in soil respiration in a Bornean tropical rainforest. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 149, n. 10, p. 1666–1673, out. 2009. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168192309001221.

LAMMEL, D. R. et al. Land use, soil and litter chemistry drive bacterial community structures in samples of the rainforest and Cerrado (Brazilian Savannah) biomes in Southern Amazonia. **European Journal of Soil Biology**, v. 66, p. 32–39, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.11.001.

LAUBER, C. L. et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2407–2415, 2008. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071708001764>.

LAURANCE, W. F.; SAYER, J.; CASSMAN, K. G. **Agricultural expansion and its impacts on tropical natureTrends in Ecology and Evolution**Elsevier Ltd, , 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2013.12.001>.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. F. Numerical ecology. 3rd ed. ed. [s.l.] Elsevier, 2012.

LIU, C. et al. Variation in litterfall-climate relationships between coniferous and broadleaf forests in Eurasia. **Global Ecology and Biogeography**, v. 13, n. 2, p. 105–114, 2004.

LOPES, E. L. N. et al. Microbial biomass and soil chemical properties under different land use systems in northeastern Pará. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 4, p. 1127–1139, 2011. Disponível em: ">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000400006&lng=en&nrm=iso&t

LOUSIER, J. D.; PARKINSON, D. Litter decomposition in a cool temperate deciduous forest. **Canadian Journal of Botany**, v. 54, n. 5–6, p. 419–436, mar. 1976. Disponível em: http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/b76-041>.

LOVETT, G. M. et al. Nutrient retention during ecosystem succession: a revised conceptual model. **Frontiers in Ecology and the Environment**, n. Vitousek 1977, p. 1–7, 2018. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1002/fee.1949>.

LUCAS-BORJA, M. E. et al. Unravelling the importance of forest age stand and forest structure driving microbiological soil properties, enzymatic activities and soil nutrients content in Mediterranean Spanish black pine(Pinus nigra Ar. ssp. salzmannii) Forest. **Science of The Total Environment**, v. 562, p. 145–154, ago. 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.160.

MACHADO, F. H. et al. Estimating the opportunity costs of environmental conservation in the Feijão River watershed (São Carlos-SP, Brazil). **Brazilian journal of biology**, v. 76, n. 1, p. 28–35, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.08614>.

MACKAY, J. E.; CUNNINGHAM, S. C.; CAVAGNARO, T. R. Riparian reforestation: Are there changes in soil carbon and soil microbial communities? **Science of the Total Environment**, v. 566–567, p. 960–967, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.045>.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do

Fósfato, 1989.

MANZONI, S. et al. Analytical models of soil and litter decomposition: Solutions for mass loss and time-dependent decay rates. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 50, p. 66–76, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.02.029.

MARIN-SPIOTTA, E. et al. Soil organic matter dynamics during 80 years of reforestation of tropical pastures. **Global Change Biology**, v. 15, n. 6, p. 1584–1597, jun. 2009. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2486.2008.01805.x.

MARIOTTE, P. et al. Plant–Soil Feedback: Bridging Natural and Agricultural Sciences. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 33, n. 2, p. 129–142, fev. 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2017.11.005.

MARTINELLI, L. A. et al. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**, v. 46, p. 45–65, 1999.

MARTINS, S. C. Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo. **Tese de Doutorado em Ciências**, p. 155, 2010.

MARTUCCI DO COUTO, G. et al. Response of soil microbial biomass and activity in early restored lands in the northeastern Brazilian Atlantic Forest. **Restoration Ecology**, v. 24, n. 5, p. 609–616, 2016.

MCGRODDY, M. E.; DAUFRESNE, T.; HEDIN, L. O. Scaling of C:N:P stoichiometry in forests worldwide: Implications of terrestrial redfield-type ratios. **Ecology**, v. 85, n. 9, p. 2390–2401, 2004.

MORALES-LONDOÑO, D. M. et al. Are microbial activity and arbuscular mycorrhizal fungal community in fl uenced by regeneration stages? A case study in Southern Brazil coastal Atlantic Rain Forest. **Applied Soil Ecology**, v. 138, n. March, p. 94–98, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.028.

MUÑOZ-ROJAS, M. et al. Impact of land use and land cover changes on organic carbon stocks in mediterranean soils (1956 – 2007). **Land Degradation & Development**, v. 179, n. December 2012, p. 168–179, 2015.

MURAYAMA, S.; ZAHARI, A. B. Decomposition of Tropical Peat Soils. **Japan International Research Center for Agricultural Sciences**, v. 151, n. 30, p. 145–151, 1996. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.03.050>.

MURTY, D. et al. Does conversion of forest to agricultural land change soil carbon and nitrogen? a review of the literature. **Global Change Biology**, v. 8, p. 105–123, 2002.

MUYZER, G.; TESKE, A.; WIRSEN, C. O. Phylogenetic relationships of Thiomicrospira species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. **Arch Microbiol**, v. 164, p. 165–172, 1995.

NAIMAN, R. J.; DÉCAMPS, H.; MCCLAIN, M. E. Riparia: ecology, conservation, and management of streamside communities. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.

NEWBOLD, T. et al. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. **Nature**, v. 520, n. 7545, p. 45–50, 2015. Disponível em: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature14324>.

NI, X. et al. Formation of forest gaps accelerates C, N and P release from foliar litter during 4 years of decomposition in an alpine forest. **Biogeochemistry**, v. 6, p. 321–335, 2018.

NUNES, F. P.; PINTO, M. T. C. Produção de serapilheira em mata ciliar nativa e reflorestada no alto São Francisco, Minas Gerais. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 3, p. 97–102, 2007.

NUNES, F. P.; PINTO, M. T. C. Decomposição do folhedo em reflorestamento ciliar na bacia Hidrográfica do rio São Francisco, Minas Gerais. **Cerne**, v. 18, n. 3, p. 423–431, 2012.

- NURULITA, Y. et al. Restoration of tropical peat soils: The application of soil microbiology for monitoring the success of the restoration process. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 293–303, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2015.09.031>.
- OCHOA-HUESO, R. et al. Ecosystem type and resource quality are more important than global change drivers in regulating early stages of litter decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 129, n. October 2018, p. 144–152, fev. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.009>.
- ODUM, E. P. The strategy of ecosystem development. **Science**, v. 164, n. 3877, p. 262–270, 1969.
- OGLE, S. M.; BREIDT, F. J. A. Y.; PAUSTIAN, K. Agricultural management impacts on soil organic carbon storage under moist and dry climatic conditions of temperate and tropical regions. **Biogeochemistry**, v. 2, p. 87–121, 2005.
- OKSANEN, A. J. et al. Package 'vegan'. 2019. Disponível em: https://cran.ism.ac.jp/web/packages/vegan/vegan.pdf.
- OLIVEIRA, R. A. C.; MARQUES, R.; MARQUES, M. C. M. Plant diversity and local environmental conditions indirectly affect litter decomposition in a tropical forest. **Applied Soil Ecology**, v. 134, n. November 2017, p. 45–53, fev. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.016>.
- OLIVEIRA, R.; FRAGA, J.; HICKIE, M. Environmental History, Forests, and Landscape Uses in Rio de Janeiro State. In: [s.l: s.n.]p. 11–22.
- OLSEN, S. R. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. [s.l.] US Dept. of Agriculture, 1954.
- OLSON, J. S. Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems. **Ecology**, v. 44, n. 2, p. 322–331, abr. 1963. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.2307/1932179.
- OTTERMANNS, R. et al. Causal relationship between leaf litter beetle communities and regeneration patterns of vegetation in the Atlantic rainforest of Southern Brazil (Mata Atlântica). **Ecological Complexity**, v. 8, n. 4, p. 299–309, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ecocom.2011.06.001.
- PAJARES, S. et al. Environmental controls on soil microbial communities in a seasonally dry tropical forest. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 17, p. 1–19, 2018.
- PAUDEL, E. et al. Quantifying the factors affecting leaf litter decomposition across a tropical forest disturbance gradient. **Ecosphere**, v. 6, n. 12, p. art267, dez. 2015. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1890/ES15-00112.1.
- PAULA, F. S. et al. Land use change alters functional gene diversity, composition and abundance in Amazon forest soil microbial communities. **Molecular Ecology**, v. 23, p. 2988–2999, 2014.
- PEARSON, T. R. H. et al. Greenhouse gas emissions from tropical forest degradation: An underestimated source. **Carbon Balance and Management**, v. 12, n. 1, 2017.
- PEI, G. et al. Nitrogen, lignin, C/N as important regulators of gross nitrogen release and immobilization during litter decomposition in a temperate forest ecosystem. **Forest Ecology and Management**, v. 440, p. 61–69, maio 2019. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378112718321741.
- PÉREZ HARGUINDEGUY, N. et al. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. **Australian Journal of Botany**, v. 64, p. 715–716, 2016.
- PETER, S. et al. Nitrate removal in a restored riparian groundwater system: functioning and

importance of individual riparian zones. **Biogeosciences Discussions**, v. 9, n. 6, p. 6715–6750, 2012. Disponível em: http://www.biogeosciences-discuss.net/9/6715/2012/.

PINAY, G. et al. Riparian Corridors: A New Conceptual Framework for Assessing Nitrogen Buffering Across Biomes. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, n. JUN, p. 1–11, 19 jun. 2018. Disponível em: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fenvs.2018.00047/full.

PIRANI, F. R.; SANCHEZ, M.; PEDRONI, F. Fenologia de uma comunidade arbórea em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 4, p. 1096–1110, 2009.

PRESCOTT, C. E.; GRAYSTON, S. J. Tree species influence on microbial communities in litter and soil: Current knowledge and research needs. **Forest Ecology and Management**, v. 309, p. 19–27, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2013.02.034.

PRESCOTT, C. E.; VESTERDAL, L. Tree species effects on soils in temperate and boreal forests: Emerging themes and research needs. **Forest Ecology and Management**, v. 309, p. 1–3, 2013.

QUINTANA, M. Antologia poética. Porto Alegre: L&PM, 1997.

RACHID, C. T. C. C. et al. Mixed plantations can promote microbial integration and soil nitrate increases with changes in the N cycling genes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 66, p. 146–153, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.07.005.

RAHMAN, M. M.; BÁRCENA, T. G.; VESTERDAL, L. Tree species and time since a ff orestation drive soil C and N mineralization on former cropland. **Geoderma**, v. 305, n. March 2016, p. 153–161, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.06.002.

REICHERT, J. M. et al. Land use effects on subtropical, sandy soil under sandyzation/desertification processes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 233, p. 370–380, out. 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.09.039>.

REINERS, W. A. et al. Tropical rain forest conversion to pasture: Changes in vegetation and soil properties. **Ecological Applications**, v. 4, n. 2, p. 363–377, 1994.

REMY, E. et al. Strong gradients in nitrogen and carbon stocks at temperate forest edges. **Forest Ecology and Management**, v. 376, p. 45–58, set. 2016. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378112716302870.

RIBBONS, R. R. et al. Linking microbial communities, functional genes and nitrogen-cycling processes in forest floors under four tree species. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, n. 3, p. 181–191, dez. 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.07.024.

RICHTER, D. D. et al. Rapid accumulation and turnover of soil carbon in a re-establishing forest. **Nature**, v. 400, n. July, p. 14–16, 1999.

ROA-FUENTES, L. L. et al. Recovery of soil C and N in a tropical pasture: passive and active restoration. **Land Degradation & Development**, v. 210, n. January 2013, p. 201–210, 2015.

RODRIGUES NOGUEIRA JR., L. et al. Soil dynamics and carbon stocks 10 years after restoration of degraded land using Atlantic Forest tree species. **Forest Systems**, v. 20, n. 3, p. 536, 2011. Disponível em: http://revistas.inia.es/index.php/fs/article/view/2530.

RODRIGUES, R. R. et al. On the restoration of high diversity forests: 30 years of experience in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1242–1251, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2008.12.008>.

ROLIM, G. D. S. et al. Classificação climática de koppen e de thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 66, n. 4, p. 711–720, 2007.

ROSSEEL, Y. lavaan: An R Package for Structural Equation. **Journal of Statistical Software**, v.

- 48, n. 2, 2012.
- ROVEDDER, A. P. M. et al. Compreensão e aplicabilidade do conceito de solo florestal. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 3, p. 519–530, 30 ago. 2013. Disponível em:
- http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/cienciaflorestal/article/view/10563>.
- ROWLEY, M. C.; GRAND, S.; VERRECCHIA, É. P. Calcium-mediated stabilisation of soil organic carbon. **Biogeochemistry**, v. 137, p. 27–49, 2018.
- RUAN, H.; LI, Y.; ZOU, X. Soil communities and plant litter decomposition as influenced by forest debris: Variation across tropical riparian and upland sites. **Pedobiologia**, v. 49, p. 529–538, 2005.
- RUBIM, P.; NASCIMENTO, H. E. M.; MORELLATO, P. C. Variações interanuais na fenologia de uma comunidade arbórea de floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 756–764, 2010.
- RUGGIERO, P. G. C. et al. Soil-vegetation relationships in cerrado (Brazilian savanna) and semideciduous forest, Southeastern Brazil. **Plant Ecology**, v. 160, n. 1, p. 1–16, 2002.
- RUIZ-JAEN, M. C.; AIDE, T. M. Restoration success: How is it being measured? **Restoration Ecology**, v. 13, n. 3, p. 569–577, 2005a.
- RUIZ-JAEN, M. C.; AIDE, T. M. Vegetation structure, species diversity, and ecosystem processes as measures of restoration success. **Forest Ecology and Management**, v. 218, n. 1–3, p. 159–173, 2005b.
- RUSSELL, A. E.; HALL, S. J.; RAICH, J. W. Tropical tree species traits drive soil cation dynamics via effects on pH: a proposed conceptual framework. **Ecological Monographs**, v. 87, n. 4, p. 685–701, 2017.
- SALAZAR-VILLEGAS, A.; BLAGODATSKAYA, E.; DUKES, J. S. Changes in the size of the active microbial pool explain short-term soil respiratory responses to temperature and moisture. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. APR, p. 1–10, 2016.
- SALAZAR, S. et al. Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 8, p. 1123–1131, ago. 2011. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925857411000723.
- SANCHEZ, M. et al. Composição florística de um trecho de floresta ripária na Mata Atlântica em Picinguaba, Ubatuba, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 1, p. 31–42, abr. 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84041999000100006&Ing=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 7 ago. 2019.
- SANTIAGO, L. S. Can growth form classification predict litter nutrient dynamics and decomposition rates in lowland wet forest? **Biotropica**, v. 42, n. 1, p. 72–79, 2010.
- SARDANS, J. et al. Stoichiometry of potassium is largely determined by water availability and growth in Catalonian forests. **Functional Ecology**, v. 26, n. 5, p. 1077–1089, 2012.
- SCHERER-LORENZEN, M.; BONILLA, J. L.; POTVIN, C. Tree species richness affects litter production and decomposition rates in a tropical biodiversity experiment. **Oikos**, v. 116, n. 12, p. 2108–2124, 2007.
- SCHILLING, K. E.; JACOBSON, P. J.; WOLTER, C. F. Using riparian Zone scaling to optimize buffer placement and effectiveness. **Landscape Ecology**, v. 33, n. 1, p. 141–156, 30 jan. 2018. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s10980-017-0589-5.
- SCHIMEL, J. P.; SCHAEFFER, S. M. Microbial control over carbon cycling in soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. SEP, p. 1–11, 2012. Disponível em: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00348/abstract.
- SCHMIDT, M. et al. Gradients of microclimate, carbon and nitrogen in transition zones of

- fragmented landscapes a review. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 232, p. 659–671, jan. 2017. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168192316304233.
- SHANMUGAM, S. G.; KINGERY, W. L. European Journal of Soil Biology Changes in soil microbial community structure in relation to plant succession and soil properties during 4000 years of pedogenesis. **European Journal of Soil Biology**, v. 88, n. June, p. 80–88, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2018.07.003.
- SHERMAN, C.; STEINBERGER, Y. Microbial Functional Diversity Associated with Plant Litter Decomposition Along a Climatic Gradient. **Microbial Ecology**, v. 64, n. 2, p. 399–415, 21 ago. 2012. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s00248-012-0037-7.
- SHIMAMOTO, C. Y.; BOTOSSO, P. C.; MARQUES, M. C. M. How much carbon is sequestered during the restoration of tropical forests? Estimates from tree species in the Brazilian Atlantic forest. **Forest Ecology and Management**, v. 329, p. 1–9, out. 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2014.06.002.
- SILVA, L. A. Da; SOARES, J. J. Composição florística de um fragmento de floresta estacional semidecídua no município de São Carlos SP. **Revista Árvore**, v. 27, p. 647–656, 2003.
- SILVA, J. S. O. et al. Effects of land cover on chemical characteristics of streams in the Cerrado region of Brazil. **Biogeochemistry**, v. 105, n. 1, p. 75–88, 2011.
- SILVEIRA SARTORI SILVA, M. R. et al. Soil bacterial communities in the Brazilian Cerrado: Response to vegetation type and management. **Acta Oecologica**, v. 100, n. May 2018, p. 103463, out. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.103463.
- SMA. Resolução SMA n.32 Estabelece as orientações, diretrizes e critérios sobre restauração ecológica no Estado de São Paulo, e dá providências correlatas.
- http://arquivo.ambiente.sp.gov.br/legislacao/2016/12/Resolu%C3%A7%C3%A3o-SMA-032-2014-a.pdf, 2014.
- SOARES, M. R.; ALLEONI, L. R. F. Contribution of Soil Organic Carbon to the Ion Exchange Capacity of Tropical Soils. **Journal of Sustainable Agriculture**, v. 32, n. 3, p. 439–462, 18 ago. 2008. Disponível em: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10440040802257348>.
- SONG, X. et al. Global land change from 1982 to 2016. **Nature**, 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/s41586-018-0411-9.
- SOUZA, A. L. T. D. et al. Influence of riparian vegetation and forest structure on the water quality of rural low-order streams in SE brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 298, p. 12–18, 2013.
- SPAIN, A. V; LE FEUVRE, R. P. Breakdown of Four Litters of Contrasting Quality in a Tropical Australian Rainforest. **Journal of Applied Ecology**, v. 24, n. 1, p. 279–288, 1987.
- SPOHN, M. Microbial respiration per unit microbial biomass depends on litter layer carbon-tonitrogen ratio. **Biogeosciences**, v. 12, n. 3, p. 817–823, 10 fev. 2015. Disponível em: https://www.biogeosciences.net/12/817/2015/>.
- STANTURF, J. A.; PALIK, B. J.; DUMROESE, R. K. Contemporary forest restoration: A review emphasizing function. **Forest Ecology and Management**, v. 331, p. 292–323, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2014.07.029.
- STRAATEN, O. Van et al. Conversion of lowland tropical forests to tree cash crop plantations loses up to one-half of stored soil organic carbon. v. 112, n. 32, p. 9956–9960, 2015.
- SUN, S. et al. Soil bacterial and fungal communities show distinct recovery patterns during forest ecosystem restoration. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 14, p. 1–14, 2017.
- SUZUKI, Y.; GRAYSTON, S. J.; PRESCOTT, C. E. Effects of leaf litter consumption by millipedes

- (Harpaphe haydeniana) on subsequent decomposition depends on litter type. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 116–123, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/i.soilbio.2012.07.020.
- SWIFT, M. J.; HEAL, O. W.; ANDERSON, M. J. **Decomposition in terrestrial ecosystems.** [s.l.] Univ of California Press, 1979.
- TALBOLT, J. M.; TRESEDER, K. K. Interactions among lignin, cellulose, and nitrogen drive litter chemistry decay relationships. **Ecology**, v. 93, n. 2, p. 345–354, 2012.
- TOBÓN, C.; SEVINK, J. A. N.; VERSTRATEN, J. M. Litterflow Chemistry and Nutrient Uptake from the Forest Floor in Northwest Amazonian Forest Ecosystems. **Biogeochemistry**, v. 69, n. 3, p. 315–339, 2004.
- TSIAFOULI, M. A. . et al. Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. **Global Change Biology**, v. 21, n. May 2014, p. 973–985, 2015.
- VAN BREUGEL, M. et al. Soil nutrients and dispersal limitation shape compositional variation in secondary tropical forests across multiple scales. **Journal of Ecology**, v. 107, n. 2, p. 566–581, mar. 2019. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/1365-2745.13126>.
- VAN RAIJ, B.; QUAGGIO, J. A.; DA SILVA, N. M. Extraction of phosphorus, potassium, calcium, and magnesium from soils by an ion-exchange resin procedure. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 17, n. 5, p. 547–566, 11 maio 1986. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00103628609367733.
- VAN SOEST, P. J. Use of detergents in analysis of fibrous feeds II: a rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, v. 46, p. 829–835, 1963.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 703–707, 1987.
- VASCONCELLOS, R. L. de F. et al. Microbiological indicators of soil quality in a riparian forest recovery gradient. **Ecological Engineering**, v. 53, p. 313–320, 2013. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925857412004223.
- VEEN, G. F. C. et al. Variation in home- field advantage and ability in leaf litter decomposition across successional gradients. **Functional Ecology**, v. 32, n. October 2017, p. 1563–1574, 2018.
- VERMEIRE, M.-L. et al. Soil Microbial Populations Shift as Processes Protecting Organic Matter Change During Podzolization. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, n. JUL, p. 1–16, 13 jul. 2018. Disponível em: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fenvs.2018.00070/full.
- VITOUSEK, P. M. Litterfall, Nutrient Cycling, and Nutrient Limitation in Tropical Forests. **Ecology**, v. 65, n. 1, p. 285–298, 1984.
- VITOUSEK, P. M.; SANFORD, R. L. Nutrient cycling in moist tropical forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 17, p. 137–167, 1986.
- VIVANCO, L.; AUSTIN, A. T. Tree species identity alters forest litter decomposition through long-term plant and soil interactions in Patagonia, Argentina. **Journal of Ecology**, v. 96, n. 4, p. 727–736, 2008.
- VIVANCO, L.; AUSTIN, A. T. The importance of macro- and micro-nutrients over climate for leaf litter decomposition and nutrient release in Patagonian temperate forests. **Forest Ecology and Management**, v. 441, n. March, p. 144–154, jun. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.03.019>.
- VOURLITIS, G. L. et al. Soil N, P, and C dynamics of upland and seasonally flooded forests of the Brazilian Pantanal. **Global Ecology and Conservation**, v. 12, p. 227–240, 2017. Disponível em:

- https://doi.org/10.1016/j.gecco.2017.11.004>.
- WAIBEL, L. H. As zonas pioneiras do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia**, v. XVII, n. 4, p. 389–422, 1955.
- WALKLEY, A.; BLACK, A. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil science**, v. 37, n. 1, p. 29–38, 1934.
- WANG, Y. et al. Effects of vegetation restoration on soil organic carbon sequestration at multiple scales in semi-arid Loess Plateau, China. **Catena**, v. 85, n. 1, p. 58–66, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2010.12.003>.
- WANTZEN, K. M. et al. Soil carbon stocks in stream-valley-ecosystems in the Brazilian Cerrado agroscape. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 151, p. 70–79, abr. 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2012.01.030>.
- WARDLE, D. A.; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic quotient (qCO2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 12, p. 1601–1610. 1995.
- WARING, R. H.; SCHLESINGER, W. H. Forest ecosystems. Concepts and management. [s.l.] Academic press, 1985a.
- WARING, R. H.; SCHLESINGER, W. H. Forest Ecosystems: Concepts and Management. Orlando, San Diego: Academic Press Inc., 1985b.
- WIEDER, R. K.; LANG, G. E. A Critique of the Analytical Methods Used in Examining Decomposition Data Obtained. **Ecology**, v. 63, n. 6, p. 1636–1642, 1982.
- WORTLEY, L.; HERO, J. M.; HOWES, M. Evaluating ecological restoration success: A review of the literature. **Restoration Ecology**, v. 21, n. 5, p. 537–543, 2013.
- WRIGHT, S. J. et al. Potassium, phosphorus, or nitrogen limit root allocation, tree growth, or litter production in a lowland tropical forest. **Ecology**, v. 92, n. 8, p. 1616–1625, 2011.
- WU, J. et al. Long-term nitrogen addition changes soil microbial community and litter decomposition rate in a subtropical forest. **Applied Soil Ecology**, v. 142, n. June, p. 43–51, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.014>.
- YAMASHITA, K. et al. Soil Science and Plant Nutrition Estimation of microbial biomass potassium in paddy field soil. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 512–519, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1080/00380768.2014.919237>.
- YIN, R. et al. Additive effects of experimental climate change and land use on faunal contribution to litter decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 131, n. January, p. 141–148, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.01.009>.
- YU, S. et al. Changes in seasonal precipitation distribution but not annual amount affect litter decomposition in a secondary tropical forest. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. November 2018, p. 11344–11352, 2019.
- ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S. et al. The application of ecological stoichiometry to plant—microbial—soil organic matter transformations. **Ecological Monographs**, v. 85, n. 2, p. 133–155, 2015.
- ZELARAYÁN, M. L. C. et al. Impacto da degradação sobre o estoque total de carbono de florestas ripárias na Amazônia Oriental, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 3, p. 271–282, 2015. Disponível em: ">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672015000300271&Ing=pt&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php
- ZHANG, D. et al. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and

- controlling factors. **Journal of Plant Ecology**, v. 1, n. 2, p. 85–93, 1 jun. 2008. Disponível em: http://academic.oup.com/jpe/article/1/2/85/989869>.
- ZHANG, H. et al. Seasonal patterns of litterfall in forest ecosystem worldwide. **Ecological Complexity**, v. 20, p. 240–247, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ecocom.2014.01.003>.
- ZHENG, Z. et al. Effects of nutrient additions on litter decomposition regulated by phosphorus-induced changes in litter chemistry in a subtropical forest, China. **Forest Ecology and Management**, v. 400, p. 123–128, set. 2017. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378112716312270.
- ZHOU, G. et al. Litterfall Production Along Successional and Altitudinal Gradients of Subtropical Monsoon Evergreen Broadleaved Forests in Guangdong, China. **Plant Ecology**, v. 188, n. 1, p. 77–89, 2007. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s11258-006-9149-9.
- ZHOU, K. et al. Effects of long-term nitrogen deposition on phosphorus leaching dynamics in a mature tropical forest. **Biogeochemistry**, v. 138, n. 2, p. 215–224, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10533-018-0442-1.
- ZHOU, Z.; WANG, C.; LUO, Y. Effects of forest degradation on microbial communities and soil carbon cycling: A global meta-analysis. **Global Ecology and Biogeography**, n. August 2017, p. 110–124, 2018.
- ZINN, Y. L.; LAL, R.; RESCK, D. V. S. Changes in soil organic carbon stocks under agriculture in Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 84, n. 1, p. 28–40, 2005.
- ZINN, Y. L.; MARRENJO, G. J.; SILVA, C. A. Soil C:N ratios are unresponsive to land use change in Brazil: A comparative analysis. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 255, n. January, p. 62–72, mar. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.12.019.