Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Dinâmica de crescimento e funcionamento nutricional das raízes finas de
Eucalyptus em função da fertilização e da associação com espécie fixadora de
nitrogênio

Bruno Bordron

Tese apresentada para obtenção do título Doutor em
Ciências, Programa: Recursos Florestais. Opção em:
Conservação de Ecossistemas Florestais

Piracicaba
2017

Bruno Bordron
Biólogo

Dinâmica de crescimento e funcionamento nutricional das raízes finas de *Eucalyptus* em
função da fertilização e da associação com espécie fixadora de nitrogênio

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. **JEAN-PIERRE DANIEL BOUILLET**

Tese apresentada para obtenção do título Doutor em
Ciências, Programa: Recursos Florestais. Opção em:
Conservação de Ecossistemas Florestais

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Bordron, Bruno

Dinâmica de crescimento e funcionamento das raízes finas de *Eucalyptus* em função da fertilização e da associação com espécie fixadora de nitrogênio / versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Bruno Bordron. - - Piracicaba, 2017.

155 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Raízes finas 2. Fertilização 3. Marcadores 4. Plantação mista 5. Facilitação 6. Competição I. Título

AGRADECIMENTOS

Se diz que o importante não é tanto a viagem, mas as pessoas que fazem parte dela...

Je voudrais donc commencer par remercier mes parents Isabelle et Patrice sans qui je n'aurais jamais rêvé un jour pouvoir faire un doctorat au Brésil. Je vous remercie pour votre soutien sans faille pour tous nos moments partagés en France et au Brésil et pour avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Je sais que même si vous ne pourrez pas être avec moi le jour où je défendrai ma thèse comme toujours vous penserez à moi et serez présent à mes cotés.

A Ivanka que vivenciou todos os momentos da tese comigo, sendo a minha parceira de vida. Obrigado por ter me ensinado o português repetindo as palavras um milhão de vezes até eu lembrar (não é chinelaaa é chineloooo), obrigado pelos momentos na chuva no campo, nas coletas de noite e de dia, nas horas passando separando raízes. Sem você essa tese não iria ter sido a mesma.

Ao pesquisador Jean-Pierre Bouillet por ter aceitado me orientar, pelo apoio constante, as viagens à Itatinga (sempre na velocidade certa!!!), pelos ensinamentos que irão me servir pelo resto da minha vida. Obrigado por todos os bons momentos tomando uma cerveja gelada e pedindo um desconto gigante na hora de pagar a conta. Além de ser um grande pesquisador, você é uma pessoa muito humana e por tudo isso merci.

A pesquisadora Agnès Robin que foi minha co-orientadora não no papel, mas na prática. Obrigado pela inesquecível coleta de solo rizosférico (Attention attention l'eau ne doit pas rentrer dans la tranchée), separando raízes de noite na lanterna e comendo um sanduiche com chips. Obrigado pelo apoio, os conselhos, por todos os bons momentos.

Aos pesquisadores do CIRAD, Jean-Paul Laclau, Yann Nouvellon, Joannès Guillemot, Christophe Jourdan, pela convivência, ajuda e parceria nesses anos de tese.

À Estação Experimental de Ciências Florestais de Itatinga (ESALQ/USP), e a todos os funcionários, em especial ao Lourival por suas piadas, as quais eu demorei a entender sendo a prova final para dizer que falo português, à Elaine que sempre providenciou tudo o que eu precisava, ao Toninho que me ajudou em todos os meus inventários, o perito do vertex! Queria agradecer ao diretor da estação, Rildo Moreira e Moreira, pelo apoio (louco de bom). E por fim, gostaria de agradecer as “tias da cozinha”.

Ao Éder Araújo da Silva que sempre conseguiu realizar o impossível no campo, obrigado pela amizade, no final das contas “não é uma questão de sorte mas de escolha”.

Queria agradecer também toda sua equipe de trabalho, que possibilitou coletar tanto solo e cavar muitas trincheiras! Meu agradeco especial ao Dirlei, Adriano, Ronaldo e Fernanda.

À Elisa pela amizade, todos os bons momentos, boas comidas, pelos momentos no laboratório de solo.

À Amandine, pela paciência e ajuda com os resultados de minirrhizotron. Obrigado pelos bons momentos em Itatinga tomando uma cerveja, fazendo os videos do nosso cotidiano no campo para a França. Alemanhã estamos chegando, time root!

Aos estagiários que compartilharam comigo o prazer de separar raízes, João, Aurelio, Jiovan, Luam, Gui e Isabel.

Ao professor José Leonardo de Moraes Gonçalves pelo ensino e apoio.

à Giovana Oliveira, pessoa maravilhosa que foi presente do início até o final da minha tese sempre disponível para me ajudar.

Ao professor Cassio Hamilton Abreu Junior pelo apoio, aprendizagem e análises dos marcadores.

Ao professor Trivelin pelas análises de ¹⁵ N.

Ao pesquisador Laurent Saint-André pelas análises na França.

À ESALQ/USP e ao Departamento de Ciências Florestais pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) e ao CIRAD UMR Eco&Sols pelo auxílio financeiro.

À minha familia brasileira, Lene, Mario e Bianca, pelo apoio, carinho, por acreditarem em mim durante essa jornada e por todos os momentos que passamos juntos.

Aos amigos da república e de Piracicaba, obrigado por serem a minha segunda familia aqui no Brasil, em particular Ranieri, Juju, Mathias, Ariane, Toninho, Roger, Dinei, Danilo, Bairo, Nino, George pelas conversas, churrascos, viagens e apoio ao longo desses 4 anos e para o melhor de todos, o Belcs, pelos passeios e companheirismo na reta final.

EPÍGRAFE

“O lar é onde o coração do homem cria raízes”

Henrik Ibsen

“Pour chaque fin il y a toujours un nouveau depart”

Saint Exupéry

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
RESUMÉ	12
LISTA DE FIGURAS	15
1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Plantações florestais e o gênero <i>Eucalyptus</i>	23
2.2 Técnicas silviculturais para compensar as limitações nutricionais das plantações florestais	24
2.2.1 Fertilização mineral	24
2.2.2 Consórcio com espécie fixadora de nitrogênio (EFN)	26
2.2.2.1 As leguminosas fixadoras de nitrogênio	26
2.2.2.2 O gênero <i>Acacia</i>	27
2.2.2.3 <i>Acacia mangium</i>	27
2.2.3 Processo de mineralização	28
2.3 Processo ecológico em plantações mistas	29
2.3.1 Hipótese do Gradiente de Estresse (HGE)	29
2.4 Raízes finas	31
2.4.1 Métodos para estudos das raízes finas	32
2.4.1.1 Métodos destrutivos diretos	33
2.4.1.2 Métodos não destrutivos diretos	33
2.4.1.3 Métodos indiretos: marcadores	34
2.4.1.4 Análise das características radiculares	35
2.4.2 Raízes finas em função da profundidade	37
2.4.2.1 Influência da profundidade sobre as características radiculares	38
2.4.3 Raízes finas em função da fertilização	39
2.4.4 Raízes finas em plantações mistas	40
2.4.4.1 Em função das características radiculares	41
2.4.4.2 Em função da profundidade do solo	41
2.4.4.3 Em função da fertilidade do povoamento	42
2.4.4.4 Em função da idade	42
3. OBJETIVOS E HIPÓTESES	45

3.1. Objetivo geral	45
3.2. Objetivos específicos e hipóteses	45
REFERÊNCIAS	47
4. POTENCIAL DE ABSORÇÃO RELATIVO CONTRASTANTE PARA O NITROGÊNIO, POTÁSSIO E CÁLCIO EM FUNÇÃO DA PROFUNDIDADE E DA FERTILIZAÇÃO PARA ÁRVORES JOVENS DE <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i> (CAPÍTULO 1)	61
Resumo	61
Abstract.....	61
4.1. Introdução	62
4.2. Material e métodos	64
4.2.1 Local de estudo	64
4.2.2 Design experimental	67
4.2.3 Aplicação dos marcadores	68
4.2.4 Amostragem e análises	69
4.2.4.1 Amostragem foliar	69
4.2.4.2 Amostragem radicular	69
4.2.4.3 Cálculo do PAR e PARE	70
4.2.4.4 Análise estatística	71
4.3. Resultados	72
4.3.1 Distribuição das raízes finas	72
4.3.2 Características radiculares	73
4.3.3 Potencial de absorção relativo (PAR) dos marcadores	75
4.3.4 Potencial de absorção relativo específico (PARE) dos marcadores	78
4.4. Discussão	79
4.4.1 Especialização funcional das raízes finas	79
4.4.2 Fertilização melhora a especialização funcional das raízes finas ao longo das camadas de solo	82
REFERÊNCIAS	84
5. O DESENVOLVIMENTO DAS RAÍZES FINAS DE <i>EUCALYPTUS</i> EM PLANTAÇÕES MISTAS MOSTRA UMA MAIOR FACILITAÇÃO DA ACÁCIA EM N SOB A HIPÓTESE DE GRADIENTE DE ESTRESSE (CAPÍTULO 2)	89
Resumo	89
Abstract.....	90

5.1	Introdução.....	90
5.2	Material e métodos	93
5.2.1	Caracterização da área de estudo	93
5.2.2	Delineamento experimental.....	96
5.2.3	Inventário e amostragem foliar	96
5.2.4	Amostragem de solo com sonda para biomassa de raízes finas	96
5.2.5	Identificação das raízes	98
5.2.5.1	Separação das raízes finas.....	98
5.2.5.2	Processamento das imagens de raízes	98
5.2.5.3	Cálculo das características radiculares.....	98
5.2.6	Instalação dos minirhizotrons e monitoramento das raízes finas	99
5.2.7	Análise das imagens.....	99
5.2.8	Cálculos da produção e mortalidade por comprimento de raiz	100
5.2.9	Análises estatísticas.....	101
5.3	Resultados	101
5.3.1	Crescimento aéreo e concentração de nutrientes nas folhas.....	101
5.3.2	Densidade de raízes finas	104
5.3.3	Características radiculares.....	111
5.3.3.1	Comprimento de raiz específico (CRE)	111
5.3.3.2	Densidade dos tecidos das raízes finas (DTR).....	115
5.3.3.3	Diâmetro das raízes finas	115
5.3.4	Dinâmica de crescimento das raízes finas	116
5.4	Discussão.....	120
	REFERÊNCIAS.....	127
6.	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	135
6.1	Conclusão geral.....	135
6.1.1	Avaliação crítica das metodologias utilizadas para quantificação de raiz fina .	135
6.1.2	Principais resultados do Capítulo 1	137
6.1.3	Principais resultados do Capítulo 2.....	138
6.1.4	Impacto da fertilização	141
6.2	Perspectivas.....	141
6.2.1	Perspectiva 1: A fertilização aumenta o tempo de vida das raízes finas?	141
6.2.2	Perspectiva 2: Especialização das raízes finas sem a utilização de marcadores ...	142

6.2.3 Perspectiva 3: Aplicação de marcadores em floresta nativa.....	142
6.2.4 Perspectiva 4: Função dos fungos micorrízicos na transferência de N em plantações mistas	142
REFERÊNCIAS	143
APÊNDICES.....	145

RESUMO

Dinâmica de crescimento e funcionamento nutricional das raízes finas de *Eucalyptus* em função da fertilização e da associação com espécie fixadora de nitrogênio

O objetivo geral dessa tese foi compreender melhor o funcionamento das raízes finas (diâmetro <2 mm) de *Eucalyptus*. Mais especificamente, nosso trabalho teve como objetivo obter informações sobre as mudanças no padrão de absorção de nutriente pelas raízes finas em função da fertilização e profundidade do solo. Foi também, avaliar a dinâmica de crescimento das raízes finas em plantações mistas com uma espécie fixadora de nitrogênio para testar a hipótese do gradiente de estresse. O capítulo 1 teve como objetivo estudar o efeito da fertilização mineral na especialização funcional das raízes finas de *Eucalyptus grandis* jovens em camadas profundas do solo (Itatinga-SP). Foram injetados macadores de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ (K^+) e Sr^{2+} (Ca^{2+}) simultaneamente em uma solução a 10, 50, 150 e 300 cm de profundidade. A determinação das concentrações foliares de Rb^+ , Sr^{2+} e a porcentagem de átomos de ^{15}N permitiu estimar o potencial de absorção relativo (PAR) e o PAR específico, definido como PARE, obtido pela razão entre o PAR e a unidade de densidade do comprimento de raízes finas por camada de solo correspondente. O PAR de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ diminuiu rapidamente com a profundidade e os valores mais altos do PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ foram encontrados a uma profundidade de 50 cm. O PARE de Rb^+ e Sr^{2+} foi maior a 300 cm de profundidade em relação à camada superficial do solo, com um aumento do diâmetro da raiz e uma diminuição da densidade do tecido radicular com a profundidade. O PARE de Rb^+ e Sr^{2+} a 300 cm de profundidade foi, em média, 88% maior para árvores fertilizadas quando comparado com as árvores não fertilizadas. Os resultados sugerem que a especialização funcional das raízes finas para a absorção de nutrientes é uma característica estável do eucalipto e que pode ser reforçada pela aplicação de fertilizantes. O capítulo 2 focou nos processos ecológicos entre *Acacia mangium* e *Eucalyptus* em um gradiente de estresse nutricional. Raízes finas foram amostradas aos 16 e 34 meses após o plantio em blocos casualizados com dois tratamentos: uma mistura com 50% de cada espécie (50A:50E) com e sem fertilização. Durante este período, dois tubos de minirrhizotron, perto de eucalipto e acacia, em cada tratamento e bloco, foram utilizados para monitorar o crescimento e o tempo de vida das raízes finas. Aos 16 e 34 meses após o plantio, a DRF de *Eucalyptus* foi maior em relação à *Acacia* e maior em F+ do que em F- na camada superior do solo. Este resultado mostrou que, provavelmente, há uma maior competição das raízes de eucalipto nas raízes de acacia em F+ do que em F-. Na camada superficial, a DRF de *Eucalyptus* em F- foi maior aos 34 meses e perto de árvores de *Acacia* comparado aos eucaliptos, o que seria consistente com uma maior facilitação de N da *Acacia* para os *Eucalyptus* em ambiente com maior deficiência de N (hipótese de gradiente de estresse). A mesma concentração de N nas folhas de *Eucalyptus* em F+ e F- também está de acordo com essa hipótese. A produção de raízes finas de eucalipto entre as duas datas de amostragem foi maior em F- que em F+ em paralelo ao aumento de DRF de eucaliptos perto das acacias. Não foi possível estimar o tempo de vida da raiz, pois não houve mortalidade radicular durante o período de estudo para ambas as espécies. Futuros estudos poderiam ser realizados para uma melhor compreensão dos mecanismos de captação de nutrientes pelas árvores visando um manejo mais sustentável das plantações florestais.

Palavras-chave: Raízes finas; Fertilização; Marcadores; Plantação mista; Facilitação; Competição

ABSTRACT

Dynamics of growth and nutritional functioning of *Eucalyptus* fine roots in function of fertilization and association with nitrogen fixing species

The main objective of this thesis was to better understand the functioning of *Eucalyptus* fine roots (diameter < 2 mm). More specifically, our work aimed at getting insights into the changes in fine roots nutrient uptake changes depending on soil depth and fertilization. Root growth dynamics was also evaluated in mixed plantations with a nitrogen fixing species to test the stress gradient hypothesis. The first chapter aimed at studying the effect of fertilization on the functional specialization of young *Eucalyptus* fine roots in deep soil layers (Itatinga-SP). We injected NO_3^- ^{15}N , Rb^+ (K^+) and Sr^{2+} (Ca^{2+}) tracers simultaneously in a solution at 10, 50, 150 and 300 cm in depth. Determination of foliar Rb^+ , Sr^{2+} concentrations and ^{15}N atom % made it possible to estimate the relative uptake potential (RUP), and the Specific RUP, defined as SRUP, per unit of fine root length density in the corresponding soil layer. The RUPs of NO_3^- ^{15}N decreased sharply with depth and the highest values of the SRUPs of NO_3^- ^{15}N were found at a depth of 50 cm. The SRUP of Rb^+ and Sr^{2+} were higher at 300 cm in depth than in the topsoil with an increase in root diameter and a decrease in root tissue density with depth. The SRUP of Rb^+ and Sr^{2+} at a depth of 300 cm was on average 88% higher for fertilized trees than for unfertilized trees. The results suggest that functional specialization of fine roots for nutrient uptake is a stable characteristic of *Eucalyptus* that can be enhanced by fertilization application. Chapter 2 focused on the ecological processes between *Acacia mangium* and *Eucalyptus* under a gradient of nutrient stress. Fine roots were sampled at 16 and 34 months after planting in a randomized block design with two treatments: a mixture with 50% of each species (50A:50E), with and without fertilization. For each treatment, soil samples were collected in 3 blocks at 0-15; 15-30; 30-50 and 50-100 cm at various distances of *Eucalyptus* and *Acacia* trees. During this period, two tubes of minirhizotron near eucalypt and acacia trees in each treatment and block were used to monitoring fine roots growth and turnover. At 16 and 34 months after planting, fine root mass density (RMD) of *Eucalyptus* was 30% higher than of *Acacia* and higher in F+ than in F- in the top soil layer (0-15 cm). This result likely showed higher competition of eucalypt roots on acacia roots in F+ than in F-. In the superficial layer, RMD of *Eucalyptus* in F- were higher at 34 months near *Acacia* trees than *Eucalyptus* trees, that would be consistent with greater N facilitation of *Acacia* on *Eucalyptus* in higher N-deficient environment (stress gradient hypothesis). The same N concentration in *Eucalyptus* leaves in both F+ and F- was also consistent with this hypothesis. Production of *Eucalyptus* fine roots between the two sampling dates was higher in F- than in F+ in parallel to the increase of RMD of *Eucalyptus* near acacia trees. It was not possible to estimate root life span as no root mortality occurred during the study period for both species. Further studies should be conducted to better understand the mechanisms of tree nutrient uptake promoting a better sustainable management of forest plantations.

Keywords: Fine roots; Fertilization; Tracers; Mixed plantation; Competition; Facilitation

RESUMÉ

Dynamique de croissance et fonctionnement nutritionnel des racines fines d'*Eucalyptus* en fonction de la fertilisation et en association avec une espèce fixatrice de nitrogène

L'objectif général de cette thèse a été de mieux comprendre le fonctionnement des racines fines (diamètre < 2 mm) d'*Eucalyptus*. Plus précisément, notre travail a pour objectif d'appréhender les changements d'absorption des nutriments par les racines fines en fonction de la fertilisation et de la profondeur du sol. La dynamique de croissance des racines fines en plantations mixtes avec une espèce fixatrice de nitrogène (N) a également été évaluée pour tester l'hypothèse du gradient de stress. Le chapitre 1, a pour objectif d'étudier l'impact de la fertilisation minérale sur la spécialisation fonctionnelle des racines fines de jeunes *Eucalyptus grandis* dans les couches profondes du sol (Itatinga SP). Des marqueurs de NO_3^- ^{15}N , Rb^+ (K^+) and Sr^{2+} (Ca^{2+}) ont été injectés simultanément à 10, 50, 150 et 300 cm de profondeur. La détermination des concentrations foliaires de Rb^+ , Sr^{2+} et le pourcentage d'atomes de ^{15}N ont permis d'estimer le potentiel d'absorption relatif (PAR). Le PAR spécifique (PARS), a été obtenu en divisant le PAR par la densité de longueur de racines fines de la couche de sol correspondante. Le PAR NO_3^- ^{15}N diminue rapidement avec la profondeur et les valeurs les plus élevées de PARS de NO_3^- ^{15}N ont été trouvées à 50 cm de profondeur. Le PARS de Rb^+ et Sr^{2+} a été supérieur à 300 cm de profondeur par rapport à la surface du sol, avec une augmentation du diamètre des racines fines et une diminution de la densité des tissus racinaires avec la profondeur. Le PARS de Rb^+ et Sr^{2+} à 300 cm de profondeur était en moyenne 88% plus important pour les arbres fertilisés en comparaison des arbres non fertilisés. Ces résultats suggèrent que la spécialisation fonctionnelle des racines fines pour l'absorption des nutriments est une caractéristique stable d'*Eucalyptus* et qui peut être améliorée par la fertilisation. Le chapitre 2 a été axé sur les processus écologiques entre *Acacia mangium* et *Eucalyptus* dans entre deux fertilisations contrastantes. Les racines fines ont été collectées à 16 et 34 mois après la plantation dans des blocs aléatoires possédant chacun deux traitements: un mélange de 50% de chaque espèce (50A: 50E) avec et sans fertilisation. Au cours de cette même période, deux tubes de minirhizotron proche d'arbre d'*Eucalyptus* et d'*Acacia*, dans chaque bloc et traitement, ont été utilisés pour accompagner la croissance et le temps de vie des racines fines. A 16 et 34 mois, la densité de racine fine (DRF) d'*Eucalyptus* a été plus élevée par rapport à celle d'*Acacia* et supérieure en F+ par rapport à F- dans la couche supérieure du sol. Ce résultat a montré qu'il y a sans doute une plus grande compétition des racines d'*Eucalyptus* sur celles d'*Acacia* dans F+ qu'en F-. Dans la couche supérieure du sol en F-, la DRF d'*Eucalyptus* est supérieur au bout de 34 mois à proximité des arbres d'acacia par rapport aux arbres d'*Eucalyptus*, ce résultat serait compatible avec une plus forte facilitation en N des acacias pour l'*Eucalyptus* dans un environnement avec une plus grande déficience de N (hypothèse du gradient de stress). La même concentration de N dans les feuilles d'*Eucalyptus* a été observée en F+ et F- ce qui est également compatible avec cette hypothèse. La production de racines fines d'*Eucalyptus* entre les deux dates d'échantillonnage était supérieure en F- par rapport à celle de F+ en parallèle avec l'augmentation des DRF d'*Eucalyptus* à proximité des acacias. Il n'a pas été possible d'estimer le temps de vie des racines fines, en raison de l'absence de mortalité pendant la période d'étude pour les deux espèces. Des études futures sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'absorption de nutriments des arbres avec pour objectif une gestion plus durable des plantations forestières.

Mots clé: Racines fines; Fertilisation; Marqueurs; Plantation mixtes; Facilitation; Compétition

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARE	Área de raiz específica
CMN	Common mycorrhizal network
CARE	Características radiculares específicos
CRE	Comprimento de raiz específico
CTA	Comprimento total acumulado
CTC	Capacidade de troca cationica
DCR	Densidade de comprimento de raiz
DRF	Densidade de raiz fina
DTR	Densidade dos tecidos radiculares
EFN	Espécie fixadora de nitrogênio
HGE	Hipótese do gradiente de estresse
IAR	Índice de área radicular
MR	Minirhizotron
Não-EFN	Espécie não fixadora de nitrôgenio
PAR	Potencial de absorção relativa
PARE	Potencial de absorção relativa específico
PDRF	Produção diária de raiz fina
PE	Plantação de eucalipto
PF	Plantação florestal
SB	Soma das bases

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das características radiculares.	36
Tabela 2 – Variação do comprimento de raiz específico (CRE) e da densidade de raiz fina (DRF) em função da fertilidade do solo.....	40
Tabela 3 - Principais atributos físicos e químicos do solo no local do experimento..	66
Tabela 4 - Principais atributos físicos e químicos do solo do local do experimento antes da plantação. Desvio padrão (n =3).	95
Tabela 5 - Concentrações foliares em macronutrientes aos 17 meses (15/10/2014) e 21 meses após o plantio (03/02/2015). Desvio padrão n=3.	103
Tabela 6 - ANOVA no modelo GLM para densidade de raiz fina (DRF), comprimento de raiz específico (CRE) , densidade dos tecidos de raiz (DTR) e diâmetro das raízes em função do tipo de raiz, tratamento, profundidade do solo, idade e interação entre tratamento e tipo de raiz para as árvores de eucalipto e acácia.	105
Tabela 7 - Densidade de raiz fina (DRF), comprimento de raiz específico (CRE), densidade dos tecidos de raiz (DTR) e diâmetro até 1m de profundidade nos tratamentos com e sem fertilização em função da posição de coleta e do tipo de raiz aos 16 e 34 meses de idade. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as idades ($p < 0,05$). Para verificar cada profundidade vide Apêndice I.	106
Tabela 8 - ANOVA no modelo GLM para o comprimento total acumulado (CTA, cm m^{-2}) e produção diária de raiz fina (PDRF, cm dia^{-1}), em função do tipo de raiz, tratamento, posição de coleta, sazonalidade, e das interações entre os fatores para as árvores de eucalipto e acácia.	118
Tabela 9 - Comprimento total acumulado (CTA, m m^{-2}), comprimento acumulado de raiz morta (CAM, m m^{-2}), produção diária de raiz fina média e máxima (PDRF, cm dia^{-1}) calculados no período de um ano para cada posição de coleta, tratamento e tipo de raiz. CTA, CAM e PDRF e desvio padrão foram calculados para toda a profundidade em conjunto (0-100 cm).	118

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema dos processos de competição e facilitação em função da produção de biomassa e da severidade do ambiente (adaptado de Michalet et al., 2006). 30
- Figura 2 – Esquema conceitual do projeto de pesquisa indicando os capítulos abordados ao longo da tese. 46
- Figura 3 - Layout das posições em que os marcadores foram injetados para cada profundidade e cada par de árvores amostradas. As amostras de folhas foram coletadas do mesmo par de árvores (adaptado de da Silva et al., 2011). 68
- Figura 4 - Mudança com a profundidade do solo na densidade de raiz fina (a), comprimento de raiz específico (b), densidades de comprimento radicular (c), área de raiz específica (d), índice de área radicular (e) e diâmetro da raiz fina (F) para árvores fertilizadas (F +) e não fertilizadas (F-). Para cada tratamento em uma camada de solo individual, os asteriscos * denotam diferença significativa ($p < 0,05$) entre F + e F- nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm. Os erros padrão são indicados ($n = 12$). 74
- Figura 5 - Mudança com a profundidade na densidade de tecido radicular para árvores fertilizadas (F +) e não fertilizadas (F-) Os erros padrão são indicados ($n = 3$). 75
- Figura 6 - Potencial de absorção relativo (PAR) (a, c, e) e potencial de absorção relativo específico (PARE) (b, d, f) de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm para as árvores fertilizadas e não fertilizadas. Os PAR e PAREs foram calculados 70 dias após a injeção dos marcadores. Os erros padrão são indicados ($n = 3$). 77
- Figura 7 - Potencial de absorção relativo específico (PARE) de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm para árvores as fertilizadas (direita) e não fertilizadas (esquerda). As PAREs foram calculadas 70 dias após a injeção dos marcadores. Os erros padrão são indicados ($n = 3$). 79
- Figura 8 - Esquema das posições de amostragem de solo no 50E:50A e de instalação dos minirrhizotrons. Em cada parcela interna (excluindo duas linhas de bordas) 6 posições foram amostradas aleatoriamente perto das árvores de *Acacia* (círculos brancos) e 6 posições perto das árvores de *Eucalyptus* (círculos pretos). Retângulo vermelho representa os minirrhizotrons instalados. 97
- Figura 9 - Densidade de raiz fina de eucalipto aos 16 (a) e 34 meses (b) de idade e de acacia aos 16 (c) e 34 meses (d) em árvores fertilizadas e não fertilizadas. Para cada camada do solo letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acacia (barras abertas) e letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para aos coleta de 32 meses $n = 6$). 108
- Figura 10 – Proporção das raízes finas de eucalipto aos 16 (a) e 34 meses (b) de idade e de acacia aos 16 (c) e 34 meses (d) em árvores fertilizadas e não fertilizadas. Para cada camada do solo letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de

coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas) e letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para a coleta de 32 meses $n = 6$). 110

Figura 11 - Mudanças no comprimento de raiz específico das raízes de eucalipto aos 16 (a) e 34 meses (b) de idade, densidade dos tecidos das raízes de eucalipto aos 16 anos (c) e 34 meses (d) e diâmetro das raízes de eucalipto aos 16 (e) e 34 meses de idade (f) em 50A:50E. Para cada camada do solo letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas), letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para a coleta de 32 meses $n = 6$). 113

Figura 12 - Mudanças no comprimento de raiz específico das raízes de acácia aos 16 (a) e aos 34 meses (b) de idade, densidade dos tecidos radiculares das raízes de acácia aos 16 anos (c) e 34 meses (d) de idade e diâmetro das raízes de acácia aos 16 meses (e) e 34 meses de idade (f) em 50A:50E. Para cada camada do solo, letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas), letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para a coleta de 32 meses $n = 6$). 114

Figura 13 - Comprimento total acumulado de raiz fina ($m\ m^{-2}$) durante um ano para as árvores de *Eucalyptus* e *Acacia* em cada tratamento, fertilizado (F+) e não fertilizado (F-), e em cada posição, perto de acácia e perto de eucaliptos para todas as profundidades. A média e o desvio padrão foram calculados pelo número de tubos observados em cada tratamento, bloco e posição ($n = 3$). 117

Figura 14 - Produção diária de raiz fina ($cm\ m^{-2}\ dia^{-1}$) a cada 15 dias, de 26 de março de 2015 a 21 de março de 2016, em cada tratamento, fertilizado (F+) e não fertilizado (F-), e em cada posição, perto de acácia e perto de eucalipto para todas as profundidades e espécie. A média e o desvio padrão foram calculados pelo número de tubos observados em cada tratamento, bloco e posição ($n = 3$). 120

Figura 15 - Esquema mostrando os principais resultados do capítulo 1 em função da fertilização e da profundidade. Triângulos representam o aumento/diminuição dos parâmetros: potencial de absorção relativo específico (PARE) do Sr^{2+} e Rb^{+} em vermelho, lado esquerdo árvores fertilizadas e lado direito não fertilizadas, maior a quantidade de + maior a absorção; potencial de absorção relativo (PAR) do $NO_3^{-15}N$ em azul; e o diâmetro, densidade de raiz fina (DRF), densidade de comprimento de raiz (DCR) e a densidade de tecido radicular (DTR) em cinza. 138

Figura 16 - Esquema mostrando os principais resultados obtidos por meio da coleta com sonda, densidade de raiz fina (DRF), e da técnica de minirrhizotron, comprimento total acumulado (CTA) em função da fertilização (F+ com fertilização e F- sem fertilização), posição de coleta (perto de eucalipto e perto de acácia) e tipo de raiz (raiz de eucalipto e raiz

de acacia). Sinal de mais de + e – grande representa diferenças entre tratamentos, sinal de + e – pequeno representa diferenças entre posição de coleta, sinal de = representa quando não há diferença significativa entre os tratamentos (sinal grande) e posições de coleta (sinal pequeno). 140

1. INTRODUÇÃO

As plantações florestais (PF) representavam em 2015 cerca de 291 milhões hectares (7% das áreas florestais no mundo) e estão se expandido rapidamente para atender o aumento da demanda em produtos madeireiros (FAO, 2015; Keenan et al., 2015). Entre as espécies florestais mais plantadas destaca-se o eucalipto, cobrindo cerca de 20 milhões de hectares (Booth, 2013). Devido ao aumento da população e a necessidade de terras cultiváveis as PF são inseridas em solos frágeis e/ou pobres nutricionalmente (Cossalter e Pye-Smith, 2003).

Um **dos principais fatores limitantes ao crescimento das árvores** em regiões tropicais **é a deficiência nutricional em nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K)** (Vitousek et al., 2010). A maioria dos nutrientes disponíveis está localizada na camada superior do solo nas plantações florestais, com solos altamente intemperizados e profundos (Laclau et al., 2010). Apesar disso, verifica-se que há nos horizontes profundos uma quantidade de nutrientes (K e Ca notadamente) que não pode ser desprezada (da Silva et al., 2011; Laclau et al., 2010).

Ao longo das rotações as plantações de eucalipto podem reduzir drasticamente os níveis de N, P e K presentes no solo (Gonçalves et al., 2013). Nas últimas décadas **dois principais métodos tem sido utilizados para suprir a falta de nutrientes**, o cultivo mínimo (Gonçalves et al., 2013) e a adição de fertilizantes minerais (Laclau et al., 2005; Stape et al., 2010). Os principais problemas relacionados aos fertilizantes são as altas taxas exigidas pelas plantas e o seu elevado custo. Devido aos mercados de fósforo e às tensões sobre a energia fóssil o aumento dos preços dos fertilizantes (+ 9% ao ano em média) observado nas últimas décadas poderá persistir no futuro (Brunelle et al., 2015). **Como alternativa ao uso de fertilizantes uma terceira opção tem surgido por meio do consórcio entre espécies fixadoras de nitrogênio (EFN) e não-EFN**, entre as EFN destaca-se a *Acacia mangium* por ser uma espécie nitrificadora e de rápido crescimento (Bouillet et al., 2013; Santos et al., 2016).

O estudo das raízes finas, para analisar o efeito da adubação e da introdução de EFN, é uma maneira inovadora para compreendermos os processos desenvolvidos pelas árvores na busca de recursos. As raízes finas são responsáveis pela absorção, transporte e armazenamento de nutrientes do solo (McCormack et al., 2015), são fundamentais na captação de água, (Eissenstat et al., 2000), e desempenham um papel fundamental na ciclagem de água, carbono e nutrientes (McCormack et al., 2015; Pregitzer et al., 2002).

Estudos mostraram recentemente que **60% das raízes finas das plantações de**

eucalipto no Brasil estão localizadas abaixo de um metro de profundidade (Laclau et al., 2013a), por isso pouco se sabe sobre a importância das raízes profundas no funcionamento e crescimento das plantas (da Silva et al., 2011; Radvile et al., 2016). **Uma forma de verificar a capacidade de absorção das raízes finas em diferentes profundidades do solo é por meio da técnica de marcadores**, aplicando isótopos estáveis ou elementos análogos em diferentes profundidades. Após um período é recolhido folhas jovens recentemente expandidas das árvores para verificar como ocorreu a absorção em cada profundidade marcada (da Silva et al., 2011). **Estudos recentes apontam que a especialização das raízes finas de *Eucalyptus grandis* na captação de nutrientes pode ocorrer em camadas superficiais e profundas.** Da Silva et al. (2011) utilizando $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ (análogo ao K^+) e Sr^{2+} (análogo ao Ca^{2+}) verificaram, que até três metros de profundidade do solo há uma diminuição na absorção de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ e um aumento na absorção de Rb^+ e Sr^{2+} por unidade de comprimento de raiz, o que poderia estar relacionado a fatores genéticos, estágios de crescimento da planta, presença e ausência de micorrizas, fertilidade, umidade e temperatura do solo.

Os estudos sobre a densidade de raízes finas em ecossistemas florestais de espécies mistas são raros e principalmente limitados à superfície do solo (0-30 cm) e às regiões boreais e temperadas (Bardgett et al., 2014). A capacidade de diferentes espécies para melhorar a captação de recursos subterrâneos ainda não é bem documentada (Leuschner et al., 2004; Meinen et al., 2009). As interações subterrâneas em plantações mistas são influenciadas por diversos fatores como idade, profundidade e fertilidade do solo e pode alterar a biomassa das raízes finas, levando a um aumento de sua produtividade quando comparado às monoculturas (Sun et al., 2017).

As relações de funcionamento da biodiversidade e do ecossistema nas plantações mistas podem ser explicadas pela interação entre as espécies (Jucker et al., 2016). **Estudos mostraram que a frequência dos processos de interação entre as espécies irão variar conforme o gradiente ambiental** (Bertness and Callaway, 1994; Maestre et al., 2009). A maioria dos estudos sugere que **as interações interespecíficas tendem a aumentar a produção total de biomassa em comparação com monoculturas** através de uma maior disponibilidade e utilização dos recursos, e/ou devido à eficiência do uso de recursos (Cardinale et al., 2011; Richards and Schmidt, 2010). **Estudos também mostraram interações negativas entre EFN e não-EFN em locais onde o N não era limitante o suficiente**, ou quando as EFN foram dominadas para as não-EFN devido a uma forte competição pela água (Bouillet et al., 2013; Forrester, 2014; Pretzsch et al., 2017). Laclau et

al. (2013) destacaram que em um ambiente com uma alta produção de biomassa, a competição interespecífica prevalece sobre a facilitação.

A dinâmica das raízes finas é um componente importante como fonte de carbono. O método atual para estudar a dinâmica de raízes finas é baseado em observações frequentes das raízes por meio do uso de minirrhizotrons (MR) (Hendricks et al., 2006; Hertel and Leuschner, 2002), o qual permite observar o crescimento e mortalidade de raízes, minimizando a perturbação do solo e das condições ambientais nos ecossistemas florestais. Estudos mostraram que a produção de raízes finas é maior em florestas com solos pobres em nutrientes do que em solos mais férteis (Graefe et al., 2008; Moser et al., 2010), enquanto outros mostraram que a biomassa de raízes finas é maior quando a fertilidade do solo é melhorada pela adubação (Coyle and Coleman, 2005; Fabião et al., 1995).

De um modo geral, temos pouco conhecimento sobre o funcionamento das raízes finas nas camadas profundas do solo e suas interações com EFN. **Assim, esse estudo visa entender melhor como as diferentes formas de fertilização (mineral ou via introdução de EFN) agem sobre o desenvolvimento e funcionamento radicular dos eucaliptos.** Este estudo contribuirá para um melhor entendimento da eficiência radicular na captação dos recursos afim de um manejo mais sustentável.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantações florestais e o gênero *Eucalyptus*

A área de plantações florestais aumentou 27 milhões de hectares entre 2010 e 2015 cobrindo cerca de 291 milhões de hectares (7% das áreas florestais no mundo) (FAO, 2015) e está se expandindo rapidamente para atender o aumento da demanda dos produtos madeiros (Keenan et al., 2015). Em 2015, o Brasil apresentou uma área total de 7,8 milhões de hectares de árvores plantadas, com um crescimento de 0,8% em relação ao ano de 2014. Dessa área total, 34% pertencem às empresas do segmento de celulose e papel, seguido dos pequenos e médios produtores (29%), os quais investem em plantios florestais para comercialização da madeira in natura, e do segmento de siderurgia a carvão vegetal, representando 14% da área plantada (IBÁ, 2016).

Dentre as espécies mais plantadas no Brasil destaca-se o eucalipto, pertencente ao gênero *Eucalyptus*, família Myrtaceae, o qual engloba cerca de 900 espécies (Brooker, 2000). As espécies desse gênero são originárias principalmente da Austrália (Pryor, 1976) e adaptadas às diversas condições de clima e solo. As plantações de eucaliptos cobrem uma área de aproximadamente 20 milhões de hectares, representando 8% das plantações florestais do mundo. Em países tropicais, representam 33% das plantações florestais (Booth, 2013), ocupando cerca de 5,56 milhões de hectares no Brasil (72% da área total plantada) e estão localizados, principalmente, nos estados de Minas Gerais (24%), São Paulo (17%) e Mato Grosso do Sul (15%) o qual tem se destacado com o plantio de 450 mil hectares nos últimos cinco anos (IBÁ, 2016). Espera-se que até 2020, essas florestas ocupem 10 milhões de hectares (Abraf, 2013).

Dos 7,8 milhões de hectares plantados no Brasil, 4,8 milhões (63%) são certificados por organizações como Forest Stewardship Council (FSC) e o Programme for Endorsement of Forest Certification Schemes (PEFC) (Abraf, 2013). No Brasil, as plantações são manejadas em rotações de 6 a 7 anos e apresentam alta capacidade de produção de biomassa em solos pobres em nutrientes, o que explica seu excelente desenvolvimento em zonas tropicais e subtropicais. Em 2015, o Brasil manteve sua liderança no ranking global de produtividade florestal, com uma produtividade média dos plantios de eucalipto de 36 m³/ha/ano (IBÁ, 2016).

2.2 Técnicas silviculturais para compensar as limitações nutricionais das plantações florestais

Os solos tropicais são solos altamente intemperizados, com alto grau de lixiviação e baixa fertilidade natural. No Brasil, mais de 50% das plantações de eucalipto estão localizadas nesse tipo de solo (Gonçalves et al., 2013). A baixa fertilidade dos solos também é aumentada pelas rotações sucessivas das plantações provocando uma elevada exportação de nutrientes, principalmente nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (Gonçalves et al., 2013).

A deficiência em N, P e K é um dos principais fatores limitantes ao crescimento das árvores, podendo limitar a produtividade primária em sistemas naturais, bem como em sistemas de cultivo (Laclau et al., 2010; Vitousek et al., 2010).

Apesar da baixa disponibilidade, o N exerce fortes efeitos sobre a decomposição da serapilheira através da alteração da abundância e da composição das comunidades microbiana (Bini, 2012). Grande parte do N é acumulada rapidamente pela atmosfera através de sistemas biológicos de fixação simbiótica (Vitousek et al., 2010; Vitousek and Sanford, 1986).

O P é derivado principalmente do intemperismo de rochas minerais e é um dos elementos mais limitantes em florestas plantadas em solos tropicais (Vitousek et al., 2010; Vitousek and Sanford, 1986; Wurzburger and Wright, 2015). É um recurso não renovável e suas reservas globais estão sendo rapidamente esgotadas (Brunelle et al., 2015; Gilbert, 2009). Enquanto as reservas globais de P estão sendo esgotadas, os níveis de P em muitos solos estão se acumulando. Por ser um elemento pouco móvel cerca de 80 a 90% de P aplicado como fertilizante é adsorvido pelas partículas do solo, tornando-o indisponível para as plantas (Lambers et al., 2006).

O K é requerido em grandes quantidades pelas plantas para manter uma alta produtividade (Battie-Laclau et al., 2013) cuja oferta se torna limitada em solos antigos, como os de florestas tropicais (Vitousek and Sanford, 1986). Ele apresenta uma estreita relação entre a taxa de crescimento e a taxa de acúmulo de nutrientes na biomassa em espécies florestais (Laclau et al., 2009; Gonçalves et al., 2004).

2.2.1 Fertilização mineral

Apesar das plantas apresentarem adaptações para superar as limitações nutricionais, como mecanismos de reabsorção, ciclagem bioquímica e alocação e uso de N, P e K, isso ainda não é o suficiente para uma alta produtividade (Stape et al., 2010). Assim, as deficiências nutricionais podem ser supridas, em geral, por técnicas de cultivo mínimo, o qual tem desempenhado um papel essencial para mitigar o estresse nutricional das plantas (Gonçalves et al., 2013) e pela adição de fertilizantes minerais, provenientes de fontes não renováveis com entradas de P e K para garantir a produção dos ecossistemas florestais (Laclau et al., 2005; Stape et al., 2010). O sucesso das plantações florestais irá depender da aplicação de grandes quantidades de nutrientes (Bouillet et al., 2004). É necessário uma adubação adequada para a produção à longo prazo das plantações de eucalipto (Silva et al., 2013).

Diversos estudos mostraram que a fertilização em N pode aumentar o crescimento no início das plantações de eucalipto (Du Toit et al., 2001; Silva et al., 2013), contudo essa resposta não se mantém até o final da rotação devido a falta de água (Bouillet et al., 2013). As árvores de eucalipto precisam de uma grande quantidade de nutrientes na fase inicial de crescimento (Noble; Herbert, 1991; Santana et al., 2008; Jesus et al., 2012) devido ao maior investimento no acúmulo de biomassa foliar e no desenvolvimento das raízes nesse período (Laclau et al., 2010, 2005). Na segunda parte do ciclo das plantações de eucalipto (após o terceiro ano), o ritmo de crescimento das árvores diminui (Gonçalves et al., 2004). Nesse período a demanda de nutrientes é em grande parte atendida pela ciclagem biogeoquímica, por meio de processos de mineralização da matéria orgânica e pela ciclagem bioquímica, pela retranslocação interna dos nutrientes (Barros et al., 2000). As árvores de eucalipto exploram rapidamente as camadas do solo (Christina et al., 2011; Laclau et al., 2013a; Pinheiro et al., 2016), resultando na baixa lixiviação dos nutrientes das plantações florestais (Laclau et al., 2010; Mareschal et al., 2013).

Silva et al. (2013) ao estudarem diferentes dosagens de fertilizantes nas plantações de eucalipto verificaram que as plantas responderam positivamente às doses crescentes dos fertilizantes, resultando em maior produtividade, entretanto os efeitos do aumento das doses diminuíram no segundo ano após o plantio. A divisão das aplicações nos dois primeiros anos após o plantio não aumentou a produtividade das plantações quando comparada com apenas uma aplicação após o plantio. Os autores também constataram que a fertilização aumentou a ciclagem de nutrientes através da serapilheira.

2.2.2 Consórcio com espécie fixadora de nitrogênio (EFN)

O consórcio de EFN e não fixadoras de nitrogênio (não-EFN) pode ser uma forma de intensificação ecológica, processo que visa aumentar de forma sustentável a produção das plantações florestais e a disponibilidade de nutrientes no solo (Bouillet et al., 2013; Forrester et al., 2005a; Forrester et al., 2005b; Kelty, 2006).

As plantações consorciadas de eucaliptos com EFN podem aumentar a produção de biomassa, o status mineral e carbono dos solos, reduzindo os custos com fertilizantes (Binkley et al., 2003; Forrester et al., 2006a; Laclau et al., 2008). A associação dessas espécies com o eucalipto acarreta em um aumento da disponibilidade de N através da fixação do N₂ (Bouillet et al., 2008), uma maior produção de serrapilheira (Laclau et al., 2008), um aumento da decomposição foliar e do ciclo do nitrogênio (Forrester et al., 2005) e/ou aumento da mineralização do nitrogênio no solo (Voigtlaender et al., 2012).

O objetivo das plantações mistas é combinar determinadas espécies, local e atributos (temperatura, precipitação e solo) para máximar o balanço entre as interações interespecíficas positivas e negativas, a fim de aumentar o crescimento individual das árvores, sua produtividade, reduzir os impactos de insetos ou doenças, e assim aumentar as probabilidades de sucesso (Forrester et al., 2006a; Kelty, 2006; Pretzsch et al., 2017). Apesar da eficiência desses plantios, menos de 0,1% das plantações florestais no mundo são plantações mistas (Nichols et al., 2006; Paquette and Messier, 2010).

2.2.2.1 As leguminosas fixadoras de nitrogênio

As leguminosas constituem cerca de 18.000 espécies, sendo uma das maiores famílias botânicas. As espécies se caracterizam por terem frutos na forma de vagem, fava ou legume, pertencentes em pelo menos três subfamílias: *Papilionoideae*, *Faboideae* e *Mimosoideae*. Sua estrutura varia desde plantas de pequeno porte como monoculturas agrícolas (ex. soja, feijão, ervilha, alfafa, lentilha, grão de bico) até plantas lenhosas (ex. *Acacia mangium* e *Acacia mearnsi*) e bracatinga (ex. *Mimosa scabrela*) (Foelkel, 2008).

Das leguminosas, quase todas apresentam simbiose radicular com espécies bacterianas denominadas rizóbios, as quais são fixadoras de nitrogênio do ar, agregando qualidade nas culturas florestais e agrícolas. Grande parte das leguminosas é utilizada como adubo verde nitrogenado, devido a essas plantas receberem dessas bactérias nitrogênio na forma de íons incorporando em suas folhas, flores, cascas, etc (Foelkel, 2008).

Entre as leguminosas de alto interesse silvicultural destaca as espécies do gênero *Acacia*, as quais já estão sendo plantadas em povoamentos florestais (Foelkel, 2008).

2.2.2.2 O gênero *Acacia*

O gênero *Acacia* pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Mimosoideae*. A família *Leguminosae* é uma das maiores dentre as dicotiledôneas, compreendendo mais de 13.000 espécies reunidas em mais de 600 gêneros distribuídos mundialmente, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (Andrade et al., 2003). O gênero *Acacia* é considerado o segundo maior da família *Leguminosae* (cerca de 1.350 espécies catalogadas), sua distribuição é ampla podendo ser encontrada em qualquer lugar do mundo (Bocage et al., 2008). A maioria das acacias são originárias da Austrália e da região costeira da Austrália (Papua Nova Guiné, Ilhas de Java e Moluccas) e têm seus plantios e usos difundidos em todo o mundo, principalmente em países da África, Ásia e América do Sul (Segura e Zanão, 2010).

Há mais de dois milhões de hectares de acacia plantados no mundo, constituindo grande importância do ponto de vista social e industrial nas áreas de reflorestamento (Turnbull et., 1998; Voigtlaender, 2012). No Brasil, há aproximadamente 44 espécies, as quais ocorrem desde a região Norte até a região Sul do país. As espécies deste gênero vivem em ambientes diversos, desde florestas tropicais perenifólias até regiões mais áridas do mundo (Bocage; Miotto, 2006; Favalessa, 2011).

Por ser uma espécie de rápido crescimento e com um potencial de recuperação de áreas degradadas, o gênero *Acacia* oferece proteção ao solo e capacidade de decomposição de matéria orgânica fazendo com que aumente a disponibilidade mineral (Voigtlaender et al., 2012). As espécies desse gênero podem ser utilizadas para inúmeras finalidades, dentre elas podemos citar: madeira, marcenaria, lenha, carvão; obtenção de celulose; extração de gomas; essências florais, perfumaria; cercas vivas; uso ornamental; recuperação de áreas degradadas; construção civil e sistemas silvipastoril (Andrade et al., 2003). A área plantada com o gênero é a quarta cultura florestal mais plantada no Brasil com cerca de 150.000 ha (Abraf, 2013).

2.2.2.3 *Acacia mangium*

Acacia mangium é uma leguminosa pioneira de elevado interesse científico devido ao seu rápido crescimento e por ser uma espécie nitrificadora (Veiga et al., 2000). Pode ser cultivada nas zonas baixas e úmidas, além de conseguir suportar temperaturas médias mínimas de 12 a 25°C e médias máximas de 31 a 34°C (Rossi et al., 2003). Está distribuída

principalmente em zona de clima tropical úmido, com um curto período de seca no inverno e uma precipitação anual elevada (Silva et al., 2007).

É utilizada em grande escala na recuperação de áreas degradadas em razão da possibilidade de ocorrência de associação simbiótica com microorganismos, tais como a bactéria do gênero *Rhizobium* e o fungo *Thelephora ramarioides*, e a sua elevada deposição de folhas no solo, favorecendo a ciclagem de nutrientes (Bachega et al., 2016). Apresenta assim, a vantagem de repor grandes quantidades de N, o que é muito importante para reflorestamento e recuperação de solos tropicais. A espécie pode ser utilizada também em sistemas silvipastoris (Milaré, 2007). Ela consegue se adaptar em solos ácidos, compactados, de baixa fertilidade ou degradados e com baixa drenagem. Apresenta significativa capacidade de adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras. Assim, a espécie destaca-se em programas de recuperação de áreas degradadas e representa uma opção silvicultural para o Brasil (Andrade et al., 2000).

Laclau et. al (2008) ao estudarem as plantações mistas de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium* aos 18 meses constataram que para eucalipto a maior biomassa foi de madeira, já para acacia foram as folhas. Isso reflete a importância do nitrogênio que será incrementado pelo eucalipto por meio da serapilheira, aumentando consequentemente sua produção.

No Congo, com condições ecológicas favoráveis para *Acacia mangium* em solo deficiente em N, a associação com o *Eucalyptus urophylla*grandis* pode conduzir um aumento significativo da produtividade (Bouillet et al., 2013; Epron et al., 2013). Ao contrário, no sudeste do Brasil, foi observado que a produção nos plantios mistos de *E. grandis* e *A. mangium* não aumentou devido a limitação hídrica no fim da rotação. Entretanto, estes aspectos benéficos não são sistemáticos (Bouillet et al., 2013; Firn et al., 2007; Forrester et al., 2006b) podendo ter um impacto negativo das EFN sobre o crescimento dos *Eucalyptus* (Forrester et al., 2005).

2.2.3 Processo de mineralização

Nas plantações florestais o N é um dos principais fatores limitantes ao crescimento e desenvolvimentos das árvores (Vitousek et al., 2010). A entrada de N nos ecossistemas florestais pode ocorrer pela deposição atmosférica seca ou úmida de N, por meio de fatores ambientais como precipitação e poeira, por processos de fixação biológica de N, pelo processo de intemperismo de rochas minerais e por fertilização (Bruijnzeel, 1991; Ranger and Turpault, 1999). A maior parte do N do solo vem da atmosfera e encontra-se nas formas de

nitrogênio molecular (N_2), óxidos de nitrogênio (N_2O , NO , NO_2) e compostos de hidrogênio-nitrogênio (NH , NH_3 , HNO_2 e HNO_3) (Botkin; Keller, 1995; Voigtlaender, 2012).

Poucas espécies florestais são capazes de fixar diretamente o N da atmosfera, por isso o N disponível para os seres vivos depende do processo de fixação (Bouillet et al., 2013; Paula et al., 2017 in press). Uma das formas de aumentar a fixação e disponibilidade do N nas plantações monoespecíficas de eucalipto é introduzindo espécies leguminosas arbóreas, que são capazes de fixar o N atmosférico e o disponibilizar para as árvores de eucalipto. Entre as leguminosas destaca-se a *Acacia mangium*, que mostrou aumentar a quantidade e os principais fluxos de N nos diferentes compartimentos do ecossistema (Voigtlaender et al., 2012).

No solo, há duas formas de N, mineral/inorgânico que é forma assimilável para as plantas ou orgânico, a forma muito pouco assimilável (Voigtlaender, 2012). A quantidade de N inorgânico é menor em relação à de N orgânico (Melgar et al., 1999). A transformação do N do solo ocorre pelos processos de mineralização e imobilização, os quais são extremamente importantes para a disponibilidade de N no ecossistema. A mineralização consiste no processo de amonificação e nitrificação que é a transformação do N orgânico em inorgânico nas formas de NH_3 (amônia) e NH_4^+ (amônio) feito por organismos heterotróficos e do amônio em formas mais oxidadas, como o nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) feito por bactérias nitrificantes. A imobilização é a conversão do N inorgânico (NH_4^+ , NH_3 , NO_2^- , NO_3^-) na forma orgânica microbiana.

Em relação às perdas de N no ecossistema, elas podem ocorrer durante as atividades de colheita, em processos de erosão, volatilização e lixiviação (Melo, 1978).

2.3 Processo ecológico em plantações mistas

2.3.1 Hipótese do Gradiente de Estresse (HGE)

As relações de funcionamento da biodiversidade e do ecossistema nas comunidades de plantas podem ser explicadas pela interação entre as espécies (Jucker et al., 2016; Loreau and Hector, 2001). Existem interações positivas e negativas que ocorrem nas plantações mistas (Fridley et al., 2001), sendo o equilíbrio entre elas afetado por fatores como idade da planta ou estresse ambiental (Brooker et al., 2008; Callaway and Walker, 1997; Cavard et al., 2011). Entre as interações positivas tem-se: (i) a facilitação, em que uma espécie influencia positivamente a outra promovendo o crescimento ou a sobrevivência da outra planta (ex.

aumento a disponibilidade dos nutrientes (Bouillet et al., 2013) ou fechamento mais rápido do dossel (Little et al., 2002); (ii) a complementaridade, em que as espécies melhoram o uso ou diminuem a competição dos recursos do ecossistema (ex. pela estratificação da copa de duas espécies (Hunt et al., 2006; Laclau et al., 2008) e (iii) a competição, uma interação negativa, em que as espécies competem por recursos (ex. por luz (Hunt et al., 2006), nutrientes e água (Boyden et al., 2005; Silva et al., 2009) (Figura 1).

Em função do equilíbrio entre os processos de competição e facilitação ocorrem o ‘underyielding’, em que o consórcio entre espécies produz menos que a soma das proporções das produções das espécies em monocultura, o ‘overyielding’, em que a mistura produz mais que a soma das proporções das produções das espécies em monocultura, porém menos que a monocultura mais produtiva, e o ‘transgressive overyielding’, em que a produção do consórcio é maior que o da monocultura mais produtiva (Pretzsch and Schutze, 2009).

Figura 1 - Esquema dos processos de competição e facilitação em função da produção de biomassa e da severidade do ambiente (adaptado de Michalet et al., 2006). A parte 1 do gradiente representa uma forte produção de biomassa e um ambiente pouco severo com predominância dos processos de competição. A parte 2 representa uma alta biomassa com o aumento da severidade e da facilitação entre espécies. Na parte 3 há uma severidade média a alta do ambiente com diminuição da facilitação e da produção de biomassa. A última parte mostra uma alta severidade do ambiente voltando a competição entre as espécies. A curva cinza representa o comportamento das espécies competitivas.

As interações entre as espécies não são constantes, mudando de importância e intensidade em diferentes gradientes ambientais (Brooker et al., 2008). Isso é conceitualizado pela hipótese do gradiente de estresse (HGE), um modelo que indica que a frequência dos processos de facilitação e competição irão variar inversamente em diferentes gradientes de estresse físico ou de produtividade do ecossistema (Bertness and Callaway, 1994; Maestre et

al., 2009). A HGE afirma que sob condições ambientais estressantes as interações competitivas diminuem e as facilitadoras aumentam (Forrester, 2014; Holmgren and Scheffer, 2010; Kikvidze et al., 2011), tornando essa interação mais fortes à medida que as condições para o crescimento tornam-se menos favoráveis (Forrester, 2014; Jucker et al., 2016) (Figura 1).

Entretanto, há controvérsias sobre a importância da facilitação em ambientes extremamente severos (Armas e Pugnaire, 2012). Estudos mostraram que em ambientes extremamente estressantes, as condições abióticas irão se deteriorar até o ponto em que as espécies facilitadoras não serão capazes de melhorar os fatores limitantes, levando a uma interação neutra ou até negativa (Maestre et al., 2009; Michalet et al., 2015).

Uma das maiores respostas aos processos de facilitação e competição ocorre em locais onde há baixa ou alta disponibilidade de nutrientes. Em ambientes pobres nutricionalmente, as EFN irão disponibilizar N para as não-EFN como forma de facilitação, afetando positivamente o crescimento das espécies (Binkley et al., 2003; Bouillet et al., 2013; Forrester et al., 2006b). Binkley et al. (2003) encontrou forte efeito facilitador da fixação de N em *Alnus rubra* sobre o crescimento de *Pseudotsuga menziesii* (Douglas-fir) em um local com baixa disponibilidade de N no solo. Já para um sítio com alta disponibilidade de N não houve interação positiva entre as espécies. Além das interações positivas entre as espécies, há também melhorias na nutrição das plantas de acordo com crescimento, disponibilidade e exploração das raízes finas.

2.4 Raízes finas

As raízes finas são raízes não lenhosas com diâmetro ≤ 2 mm, diferem em forma e função, e desempenham um papel fundamental na ciclagem de água, nutrientes e carbono (McCormack et al., 2015; Pregitzer et al., 2002). São responsáveis pela absorção de água e nutrientes, os quais sustentam os processos de crescimento das plantas (Adegbidi et al., 2004; Yunusa et al., 2012). São compostas por diversas ramificações e podem ser associadas às hifas de fungos micorrízicos ou bactérias fixadoras de N₂. Por serem extremamente complexas, devem ser classificadas não só por seu diâmetro como também por sua função e comportamento (Majdi et al., 2005; McCormack et al., 2015).

As raízes finas podem ser classificadas em duas classes: 1) raízes finas de absorção, que representam as raízes localizadas na extremidade, cuja principal função é de absorção de nutrientes do solo, e 2) raízes finas de transporte, representado pelas maiores raízes das

ramificações, sendo responsáveis pela parte estrutural, além de transporte e armazenamento de nutrientes (McCormack et al., 2015). A função das raízes irá variar de acordo com a ordem de raízes finas (diâmetro). Em geral a capacidade de absorção das raízes diminui e seu transporte aumenta conforme há um aumento da ordem de raiz (McCormack et al., 2015).

Existem também as raízes grossas (> 2 mm diâmetro) que apresentam funções mais especializadas como transporte e armazenamento de água e nutrientes, e a fixação da planta no solo (Addo-Danso et al., 2016). A biomassa total de raízes é constituída em sua maioria por raízes grossas (Vogt et al., 1998). Apesar de grande parte da biomassa de raízes serem grossas, as raízes finas possuem um papel importante na produtividade e nos ciclos biogeoquímicos dos ecossistemas (Addo-Danso et al., 2016).

2.4.1 Métodos para estudos das raízes finas

Sochacki et al. (2017) comparam os diferentes métodos de amostragem de raízes de árvores, que vão da avaliação da dinâmica de raízes finas (Lopez et al., 1998; Makita et al., 2011) até a biomassa total abaixo do solo. As técnicas mais comuns utilizadas incluem amostragem volumétrica de raízes de árvores através de métodos de coleta com sonda, de trincheira no solo (Levillain et al., 2011) e de polígonos de voronoi (Razakamanarivo et al., 2012; Saint-André et al., 2005). Recentemente, diversas metodologias têm sido empregadas para quantificar a biomassa e a dinâmica de crescimento em profundidade das raízes finas das plantações de eucalipto (Christina et al., 2011; da Silva et al., 2011; Germon et al., 2017; Lambais et al., 2017 in press), sendo que grande parte desses estudos utilizam métodos destrutivos para obtenção dos resultados.

Observa-se, que a análise das raízes finas, em geral, são trabalhosas e caras, além das limitações metodológicas durante o desenvolvimento dos resultados (Maeght et al., 2013). A incerteza das estimativas também aumenta com a idade das árvores como resultado do aumento da heterogeneidade da massa radicular devido à presença de raízes com diâmetros maiores (Sochacki et al., 2017).

Os três métodos mais utilizados para a análise das raízes finas profundas são: 1) métodos destrutivos diretos; 2) métodos não destrutivos diretos e 3) métodos indiretos. Não há consenso na literatura sobre a melhor forma de estimar a biomassa, a produção e o turnover das raízes (Levillain et al., 2011; Vogt et al., 1998; Yuan e Chen, 2012). Yuan e Chen (2012) relataram uma maior produção de raiz fina quando estimado por métodos indiretos em

comparação com métodos diretos, o que é contrário a outros estudos nos quais não foram observadas diferenças entre métodos (Finér et al., 2011; Vogt et al., 1998).

2.4.1.1 Métodos destrutivos diretos

Os métodos mais utilizados para estudar a dinâmica das raízes finas consistem em técnicas destrutivas de escavação e coletas sequenciais de solo. Essa metodologia é baseada no cálculo da rotatividade de raízes vivas e mortas. Sua estimativa é feita através da coleta de solos por meio de sondas. Esse tipo de técnica proporciona a obtenção de estimativas sobre a distribuição, comprimento, biomassa e morfologia das raízes (Maeght et al., 2013). Entretanto, ressalta-se que esse tipo de amostragem, muitas vezes, fica restrito as camadas mais superficiais do solo devido à maioria das raízes finas estarem no primeiro metro de solo.

A dificuldade em separar detritos orgânicos a partir de raízes finas pode levar a superestimação da biomassa radicular (Addo-Danso et al., 2016). A extração de amostras de solo e o processamento das raízes (lavagem, separação, pesagem) leva um tempo considerável, assim na maioria dos estudos as raízes estão sub amostradas, o que afeta a confiabilidade dos dados de biomassa de raízes finas (Berhongaray et al., 2013; Levillain et al., 2011; Taylor et al., 2013).

Apesar da técnica destrutiva direta ser vista como a opção mais eficiente para o mapeamento das raízes finas (Dauer, 2009), em geral, há a necessidade de uma grande amostragem devido ao alto grau de heterogeneidade da distribuição das raízes, o que pode dificultar para as raízes profundas, uma vez que sua biomassa é baixa (Maeght et al., 2013). No entanto, amostragens têm sido realizadas em profundidades maiores com ajuda de equipamentos mecanizados (Christina et al., 2011; Germon et al., 2017; Pinheiro et al., 2016).

2.4.1.2 Métodos não destrutivos diretos

Basicamente dois métodos não destrutivos diretos são utilizados para estudar as raízes finas, o método “janelas de raízes” e o método de minirizotron.

No método “janelas de raízes” são feitas janelas, as quais permitem a observação repetida de locais específicos do solo, por meio dele é possível visualizar pequenas raízes e hifas de fungos quando houver (Maeght et al., 2013).

A técnica de minirizotron é usualmente considerada como uma abordagem fiável para estimar o turnover de raiz fina e a longevidade na camada superficial dos ecossistemas

terrestres (Majdi et al., 2005). Esse método consiste na instalação de um tubo transparente de acrílico no perfil do solo por meio de uma sonda (Hummel et al., 1989) ou de um trado manual (Kage et al., 2000). Nesta técnica são obtidas imagens das raízes através de um scanner, que é inserido dentro do tubo capturando imagens em uma rotação de 360°. As imagens obtidas são analisadas por um software específico, por meio delas é possível analisar a dinâmica das raízes finas. Nesse sistema é possível observar *in situ* o sistema radicular sem perturbar o solo (Majdi, 1996) ao longo de um tempo indeterminado, sendo uma ferramenta ideal para estimar a longevidade das raízes (Johnson et al., 2001). Atualmente no Brasil, poucos estudos tem sido feitos utilizando o método de minirrhizotrons (Lambais et al., 2017 in press; Ohashi et al., 2015).

A principal desvantagem dos métodos de minirrhizotron é o custo substancial envolvido na aquisição de equipamentos e processamento dos dados raiz (Addo-Danso et al., 2016). Um período de estabilização é necessário depois da instalação do tubo para garantir que a perturbação do solo não possa influenciar na avaliação do crescimento de raiz (Germon et al., 2016). Johnson et al. (2001) recomenda esperar de 6 a 12 meses entre a instalação dos tubos e a coleta das imagens para permitir que as raízes recolonizam o espaço em torno dos tubos. Para as florestas tropicais, os estudos com minirrhizotrons foram iniciados aos 5-6 meses após a instalação dos tubos (Graefe et al., 2008). Existem possíveis fatores que podem prejudicar a precisão dos dados obtidos pela técnica de minirrhizotron, a dificuldade de distinguir o processo senescente na hora de analisar as imagens obtidas levando a muitos vieses na estimativa da quantidade de raízes mortas, e globalmente o processo de mortalidade (Chairungsee et al., 2013). Além disso, pode ser necessário um grande número de tubos para capturar adequadamente a distribuição da biomassa radicular em locais altamente heterogêneos (Addo-Danso et al., 2016).

2.4.1.3 Métodos indiretos: marcadores

A metodologia de marcadores é utilizada para estimar a capacidade potencial de absorção das raízes em diferentes profundidades do solo. Nesta técnica são injetados traçadores, que podem ser isótopos estáveis ou elementos análogos, em diferentes profundidades. Após um período é recolhida a biomassa das árvores para verificar como ocorreu a absorção em cada profundidade marcada (Lewis; Burgy, 1964).

Alguns fatores devem ser considerados para a aplicação dos marcadores: 1) os marcadores devem estar bem diluídos e sua aplicação deve ser uniforme; 2) a quantidade

disponível de raízes marcadas deve ser previsível com relação a processos concorrentes, como imobilização microbiana e adsorção do solo; e 3) é necessário um breve conhecimento da capacidade de absorção do marcador por raízes em comparação com outro nutriente do solo (Maeght et al., 2013).

2.4.1.4 Análise das características radiculares

As características funcionais são características morfofísico-químico-fenológicas quantificáveis dos organismos que variam com as condições ambientais. E irão influenciar no crescimento, reprodução e sobrevivência dos organismos, e nos processos do ecossistema (Faucon et al., 2017). Uma das características funcionais são as características radiculares que representam as características morfológicas das raízes, eles podem ser definidos como o comprimento, área, diâmetro das raízes, etc (Tabela 1). A distribuição espacial e a morfologia das raízes afetam a capacidade da planta acessar os nutrientes (Maeght et al., 2013).

As características radiculares são fatores importantes para a dinâmica dos nutrientes e fertilidade do solo. As concentrações de N e P influenciam positivamente as taxas de decomposição da serapilheira acima do solo. Concentração de N nas raízes e comprimento de raiz específico, irão influenciar positivamente a decomposição radicular (Faucon et al., 2017).

Tabela 1 – Descrição das características radiculares.

Método	Característica radicular	Descrição e unidade	Interpretação
Coleta com sonda ou trado mecanizado	CRE = Comprimento de raiz específico	Comprimento / peso seco das raízes (m g^{-1})	- Depende do diâmetro e densidade dos tecidos das raízes (Ostonen et al., 2007); - Alto CRE $\rightarrow$ raízes mais eficientes para explorar e absorver nutrientes do solo por unidade de biomassa investida nas raízes (Eissenstat et al., 2000; Ryser, 2006); - Alto CRE $\rightarrow$ < diâmetro e < densidade dos tecidos das raízes (Comas and Eissenstat, 2009).
	ARE = Área de raiz específica	Superfície / peso seco das raízes ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)	- Idem CRE.
	DRF = Densidade de raiz fina	Peso de raízes por kg de solo (g kg^{-1}) ou por volume de solo (g dm^{-3})	- Indicador da distribuição das raízes no solo.
	DCR = Densidade de comprimento de raiz	CRE x DRF Comprimento de raízes por volume de solo (m dm^{-3})	- Alto DCR $\rightarrow$ > habilidade da planta para captar nutrientes (Comas et al., 2012).
Marcadores	PAR = Potencial de absorção relativo PARE = Potencial de absorção relativo específico	Diferença entre o teor antes e depois da marcação (%) PAR/DCR ($\% \text{cm}^{-1} \text{cm}^3$)	- Absorção do marcador em cada profundidade sem considerar a quantidade de raiz - Potencial de absorção radicular por comprimento de raízes; - Alto PARE $\rightarrow$ > absorção por comprimento de raízes (da Silva et al., 2011)
Minirhizotron	PDRF = Produção diária de raiz fina CTA = Comprimento total acumulado	Velocidade de crescimento das raízes por m^2 de tudo por dia ($\text{cm m}^{-2} \text{dia}^{-1}$) Metro de raiz por m^2 de tudo (m m^{-2})	- Velocidade de crescimento de raiz por dia (Germon et al., 2016) - Indica a fenologia das raízes finas (Germon et al., 2016)

2.4.2 Raízes finas em função da profundidade

Raízes finas profundas são definidas como raízes que crescem abaixo de 1 m e que podem fornecer acesso à água e nutrientes onde as raízes das camadas superiores não conseguem alcançar (Kell, 2012). As plantações de eucalipto são ecossistemas florestais simples e crescem muitas vezes como no estado de SP em solos altamente intemperizados sem barreiras de crescimento radicular, sendo assim úteis para investigar o crescimento subterrâneo (Christina et al., 2011; Laclau et al., 2013a; Pinheiro et al., 2016). Nas plantações de eucalipto no Brasil foram encontradas cerca de 60% das raízes muito finas (< 1 mm de diâmetro) abaixo de 1 m de profundidade a partir de um ano de idade e até o final da rotação (Laclau et al., 2013a). As árvores de eucalipto exploram rapidamente as camadas de solo muito profundas (Christina et al., 2011; Laclau et al., 2013a). Estudos mostraram a existência de raízes finas até 13 m de profundidade aos 2 anos (Pinheiro et al., 2016) e a 17 m de profundidade (nível do lençol freático) aos 3,5 anos de idade (Christina et al., 2011).

As raízes finas impedem as perdas de nutrientes por drenagem (Laclau et al., 2010), sendo assim, importantes para a absorção de nutrientes. Da Silva et al. (2011) estudando raízes finas de eucalipto em diferentes profundidades e utilizando marcadores de ^{15}N , Sr^{2+} (análogo do Ca) e Rb^+ (análogo do K) mostraram que há uma especialização funcional das raízes finas, e que elas aumentam a eficiência de captação de Ca e K em camadas profundas em relação à camada superficial de solo.

As raízes finas profundas também melhoram a tolerância das árvores à seca (McDowell et al., 2008; Nardini et al., 2016) e armazenam C em camadas de solo profundas (Laclau et al., 2013a). Sua importância nos ciclos de C e água em florestas tropicais tem sido demonstrada por meio de simulações de modelagem (Christoffersen et al., 2014; Saleska et al., 2007), que visam um entendimento mais amplo e profundo sobre as interações profundidade-solo-raiz. Kleidon e Heimann (2000) durante simulações de modelagem verificaram que as raízes finas profundas são fundamentais para uma melhor compreensão do clima tropical, evidenciando sua importância nas análises climáticas.

Apesar da existência de estudos sobre as raízes finas em florestas tropicais, pouco se sabe sobre os processos que controlam a absorção de água e nutrientes em camadas de solo muito profundas (Gahagan et al., 2015; Iversen, 2010) e em solos tropicais altamente degradados (Hinsinger et al., 2011).

2.4.2.1 Influência da profundidade sobre as características radiculares

A exploração das camadas profundas do solo pode acarretar em um custo metabólico importante para as plantas (Iversen, 2010), ocasionando mudanças contrastantes das características radiculares (Prieto et al., 2015). Uma das principais características radiculares afetadas pela exploração da profundidade é o comprimento radicular específico (CRE), o qual influencia o volume de solo explorado por unidade de biomassa investida em raízes finas (Maurice et al., 2010). Existem poucos trabalhos sobre a variação das características radiculares em relação à profundidade do solo (Makita et al., 2011; Pinheiro et al., 2016; Prieto et al., 2015) e os encontrados na literatura são contrastantes, alguns encontraram uma diminuição do CRE com o aumento da profundidade (Bakker et al., 2009; O'Grady et al., 2005; Wang et al., 2006), enquanto outros encontraram um aumento (Makita et al., 2011).

As árvores de rápido crescimento exigem uma rápida e eficiente aquisição de recursos acima e abaixo do solo, geralmente possuem área (ARE) e comprimento de raiz (CRE) específicos mais altos e um diâmetro de raiz menor em relação às espécies de lento crescimento (Jo et al., 2015; Reich, 2014; Ryser, 2006). Em um estudo comparando 11 espécies de árvores adultas de clima temperado, os autores mostraram que a rápida taxa de crescimento estava associada a um maior CRE e um menor diâmetro de raiz, já para a densidade do tecido da raiz essa resposta não foi significativa entre espécies de rápido e lento crescimento (Comas and Eissenstat, 2004).

Em plantações de eucalipto, o CRE foi pouco estudado e sua comparação com outros estudos é difícil, uma vez que os valores de CRE são, em grande parte, dependentes da classe de diâmetro da raiz e podem variar significativamente com as profundidades do solo e estações do ano (Wang et al., 2006). Espera-se que os genótipos de eucalipto, que maximizam o CRE e a ARE das raízes finas para um determinado investimento em biomassa subterrânea, irão melhorar a aquisição de água e nutrientes (Pinheiro et al., 2016).

Maurice et al. (2010) ao estudarem árvores de eucalipto aos 28 e 54 meses de idade encontraram valores de CRE (<1 mm de diâmetro) de 10 a 60 m g⁻¹. Os autores observaram uma diminuição dos valores de CRE nas camadas superiores do solo (0-10 cm) devido a maior disponibilidade de nutrientes durante o crescimento inicial comparado ao final da rotação. Já aos 3 m de profundidade, os autores encontraram um aumento do CRE. Pinheiro et al. (2016), compararam 4 genótipos diferentes de *Eucalyptus* no Brasil, também encontraram valores similares ao de Maurice et al. (2010), mas não encontraram diferenças de CRE com a profundidade. Uma diminuição do CRE com a profundidade do solo foi encontrada em

plantios de pinheiros marítimos devido ao aumento da oferta de nutrientes nas camadas superiores do solo, acarretando em um maior CRE (Bakker et al., 2009).

2.4.3 Raízes finas em função da fertilização

A DRF pode: i) diminuir conforme há um aumento da fertilidade do solo (Aber et al., 1985; Coomes and Grubb, 2000; Vanninen and Makela, 1999; Yuan and Chen, 2010); ii) aumentar em solos pouco férteis (George et al., 1997; Noguchi et al., 2013) ou iii) não ser influenciada pela fertilização (Leuschner et al., 2004).

As características radiculares podem ser associados a uma maior aquisição de recursos pelas raízes finas, como um alto valor de CRE, diâmetro fino e baixo teor de matéria seca de raízes (“root dry matter contents”, RDMC), enquanto os parâmetros funcionais associados com a conservação dos recursos apresentam um baixo CRE, maior espessura e alta RDMC (Prieto et al., 2015). Foi observada uma alta plasticidade fenotípica das raízes finas em espécies de árvores temperadas com tendência de aumentar o CRE conforme a presença de água e nutrientes (Bakker et al., 2009; Meier and Leuschner, 2008). Pregitzer et al. (2002) mostraram que o comprimento de raiz média aumentou, enquanto que o CRE diminuiu com o aumento da classe das raízes para nove espécies arbóreas. As distribuições de diâmetro de raiz fina podem ser modificadas pela disponibilidade de nutrientes (Zobel et al., 2007) e pela densidade de tecido radicular (Ostonen et al., 2007). Egilla et al. (2001) estudando *Hibiscus rosa-sinensis* verificaram que houve uma redução da longevidade da raiz quando havia deficiência em K, indicando que as deficiências de K podem modificar as características radiculares.

Prieto et al. (2015) estudaram os parâmetros radiculares em 20 comunidades de plantas em diferentes gradientes de intensidade de uso da terra e em três zonas climáticas (tropical, mediterrânea e montana). Eles mostraram que as raízes tinham diferentes conjuntos de características em diferentes profundidades, sugerindo uma disparidade nas funções das raízes e na capacidade de exploração. As raízes finas da superfície eram mais finas, mais ricas em nitrogênio e com menores concentrações de lignina associadas a maior capacidade de exploração em relação às raízes finas profundas. Os autores ainda encontraram raízes com maior CRE em ambientes menos férteis.

Um aumento no CRE em resposta à limitação de nutrientes tem sido frequentemente encontrado (Holdaway et al., 2011; Prieto et al., 2015) e espécies de ambientes improdutivos, pobres em nutrientes ou secos têm um CRE mais elevado em comparação com espécies de

ambientes produtivos (Holdaway et al., 2011; Poot and Lambers, 2003) (Tabela 2). No entanto, outros estudos mostraram que espécies de rápido crescimento de habitats produtivos têm CRE mais elevado do que as espécies de ambientes estressados (Comas et al., 2002; Comas and Eissenstat, 2004) e que o aumento do fornecimento de nutrientes tem levado a um maior CRE (Bakker et al., 2009; Fahey and Hughes, 1994; Fort et al., 2013; Freschet et al., 2017; Noguchi et al., 2013), especialmente quando a proliferação de raízes ocorre em uma zona localizada de nutriente (Hodge, 2004) (Tabela 2).

A variação no CRE pode ser determinada tanto pela densidade do tecido radicular (Eissenstat, 1991) quanto pela finura das raízes (Comas et al., 2002), cuja a limitação de recursos pode ter efeitos opostos sobre o CRE (Ryser, 2006).

Tabela 2 – Variação do comprimento de raiz específico (CRE) e da densidade de raiz fina (DRF) em função da fertilidade do solo.

Características radiculares	Tratamento	Impacto	Estudo
CRE	Fertilizado	Alto CRE	Bakker et al., 2009; Fahey e Hughes, 1994; Fort et al., 2013; Freschet et al., 2017; Noguchi et al., 2013.
DRF		Alto DRF	George et al., 1997; Noguchi et al., 2013.
CRE	Não fertilizado	Alto CRE	Chen et al., 2017; Holdaway et al., 2011; Prieto et al., 2015.
DRF		Alto DRF	Aber et al., 1985; Nadelhoffer, 2000; Vanninen e Makela, 1999; Yuan e Chen, 2010.

2.4.4 Raízes finas em plantações mistas

Os efeitos positivos da diversidade de espécies são atribuídos ao aumento do uso total de recursos através da complementaridade ou facilitação (Hooper et al., 2005). As interações subterrâneas em plantações mistas são influenciadas por diversos fatores como idade, profundidade e fertilidade do solo e pode alterar a biomassa das raízes finas, levando a um aumento de sua produtividade quando comparado às monoculturas (Germon et al., 2017).

2.4.4.1 Em função das características radiculares

As plantas são capazes de se adaptarem em diferentes condições abióticas (disponibilidade em nutrientes) e bióticas (competição com as árvores vizinhas) por meio de mudanças das estratégias radiculares subterrâneas (Fransen et al., 1998; Messier et al., 2009; Pregitzer et al., 2002). A plasticidade morfológica é uma das mais importantes respostas às mudanças ambientais (Lohmus et al., 1989).

A competição interespecífica em povoamento misto pode ser inferior a competição intraespecífica nas monoculturas devido ao nicho de particionamento subterrâneo entre as árvores (Bauhus et al., 2000; Meinen et al., 2009). Há uma mudança nas árvores de *A. mangium* e *E. grandis* em povoamentos consorciados como a alteração das características radiculares como forma de adaptação às interações interespecíficas quando comparado com plantios puros (Germon et al., 2017). A competição entre duas espécies provoca forte modificação da morfologia das raízes finas através do aumento do CRE e da área específica da raiz (ARE) para reduzir a relação custo/benefício da captura de recursos (Berg et al., 2010; Fujii and Kasuya, 2008).

2.4.4.2 Em função da profundidade do solo

As interações subterrâneas entre as espécies de árvores aumentam fortemente a exploração das camadas profundas do solo através das raízes finas (Sun et al., 2017). As diferenças de enraizamento ao longo da profundidade do solo entre as espécies podem levar ao aumento da exploração do volume do solo (Bolte and Villanueva, 2006) e assim, aumentar a captação dos recursos do solo em plantações mistas (Sun et al., 2017).

Misturas podem apresentar um maior preenchimento horizontal do volume de solo, aumentando a profundidade e a produtividade dos solos florestais (Ma et al., 2016). O aumento do preenchimento horizontal em povoamentos adultos pode ocorrer simultaneamente com o aumento da utilização dos recursos do solo (Brassard et al., 2013).

Laclau et al. (2013b) ao estudarem plantações mistas de *E. grandis* e *A. mangium* no Brasil aos 5 anos de idade, verificaram que a biomassa de raízes finas até 2 m de profundidade do solo foi 30% maior em plantação mista em comparação com os povoamentos monoespecíficos. A interação entre as duas espécies levou a exclusão das raízes finas de *A. mangium* da camada superficial do solo, a qual apresenta maior disponibilidade em água e

nutrientes, mostrando a superioridade do eucalipto na competição (Laclau et al., 2013b; Schenk, 2006; Silva et al., 2009).

2.4.4.3 Em função da fertilidade do povoamento

Os efeitos positivos da diversidade de espécies em plantações florestais sobre a produtividade de raiz fina têm sido atribuídos ao aumento da demanda da limitação de nutrientes por meio da distribuição de raízes em camadas verticais ricas em nutrientes (Mommer et al., 2010; Ravenek et al., 2014). Estudos mostraram que a produção de raiz fina em plantações mistas foi positivamente associada com a concentração de N nas camadas de solo em diferentes tipos e idades de povoamentos florestais (Brassard et al., 2013; Ma et al., 2016).

Ma et al. (2016) ao estudarem plantações mistas de *Populus tremuloides* e *Pinus banksiana* aos 8 e 34 anos de idade verificaram uma relação positiva entre a concentração de P no solo e a produção de raízes finas, indicando que há uma maior demanda de raízes finas para a procura de P em povoamentos mais velhos e que esta resposta ocorra, provavelmente, em função da menor disponibilidade de P no solo em relação ao N. Os autores ainda indicam uma relação crescente e positiva sobre o efeito da diversidade na produtividade de raízes finas, afirmando que há uma maior complementaridade das raízes nas camadas mais profundas em solos pobres em nutrientes, e uma maior procura de nutrientes nas camadas de solos com altas concentrações nutricionais em povoamentos mais velhos em comparação aos povoamentos jovens. Além disso, a disponibilidade de nutrientes pode agir como uma fonte potencial da variabilidade em experimentos de biodiversidade, alterando as interações competitivas entre as espécies.

A influência da disponibilidade de nutrientes do solo nas interações subterrâneas e na diversidade de espécies florestais tem recebido pouca atenção. Uma das hipóteses é de que o enriquecimento local de nutrientes diminui o efeito da diversidade na produção raízes finas (Lei et al., 2012a).

2.4.4.4 Em função da idade

Ma et al. (2016) mostraram que há um aumento dos efeitos positivos da biodiversidade sobre a produção de raízes finas com a idade dos povoamentos em florestas naturais. As interações subterrâneas entre espécies arbóreas podem ser mais pronunciadas em povoamentos jovens comparados às florestas maduras (de Kroon et al., 2012). Árvores jovens

comparadas com maduras apresentam uma melhor adaptação das raízes finas, enquanto árvores adultas possuem maior capacidade de controlar a mobilização interna de nutrientes e carboidratos (Leuschner et al., 2004). Além disso, as interações subterrâneas entre espécies arbóreas podem ser mais acentuadas em comunidades de árvores jovens quando os sistemas de raiz fina de diferentes espécies se encontram pela primeira vez e ainda não desenvolveram padrões para se evitarem, por exemplo, através de estratificação vertical (Lei et al., 2012b). Já Ravenek et al. (2014) estudando os efeitos subterrâneos, verificaram que o efeito positivo da diversidade de espécies na biomassa de raiz foi encontrada apenas 4 anos após o estabelecimento do experimento.

Apesar da maior interação, ressalta-se que povoamentos jovens com pouca biomassa radicular (Yuan and Chen, 2012) podem subutilizar o solo e outros recursos, como água e nutrientes (de Kroon et al., 2012). De Kroon et al. (2012) constataram que a alta produtividade e biomassa de povoamentos maduros exigem uma elevada absorção de água e nutrientes a partir de raízes finas, levando a interações intensas entre as espécies. Já Brassard et al. (2013, 2011) viram que nesses povoamentos as raízes são mais uniformemente distribuídas horizontalmente, a fim de aumentar o forrageamento de recursos em misturas.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESES

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral do estudo é avaliar como as raízes finas de *Eucalyptus* respondem à fertilização por aplicação mineral e por associação com espécie fixadora de nitrogênio.

Nunca foi avaliado como a fertilização impacta a especialização das raízes finas na absorção de nutrientes, bem como seu impacto no crescimento espacial e temporal em consórcio com *A. mangium*. Verifica-se assim, a necessidade de estudos que visam entender a influência da adubação e da associação com *A. mangium* no funcionamento dos eucaliptos na busca de nutrientes, visando ampliar resultados satisfatórios sobre a sustentabilidade das plantações florestais (da Silva et al., 2011; Germon et al., 2017; Laclau et al., 2013b). Essa tese é desenvolvida em dois capítulos que serão feitos em formato de artigo. O artigo do capítulo 1 “A fertilização aumenta a especialização funcional das raízes finas de *Eucalyptus* jovens em camadas profundas do solo” será submetido na revista *Functional Ecology* e o artigo do capítulo 2 “O desenvolvimento das raízes finas de *Eucalyptus* em plantações mistas mostra uma maior facilitação da *Acacia* em N sob a hipótese de gradiente de estresse” será submetido na edição especial “Roots in Forest Ecosystems” de novembro de 2017 da revista *Forest Ecology and Management*.

3.2 Objetivos específicos e hipóteses

No capítulo 1 será avaliado a especialização das raízes finas de *E. grandis* em povoamentos jovens na absorção de nutrientes em função da profundidade do solo e da aplicação de adubação (Figura 2). As hipóteses de pesquisa são:

- 1) A taxa de absorção potencial relativa (por unidade de comprimento) é maior para Rb^+ e Sr^{2+} em relação ao NO_3^- ^{15}N nas camadas profundas de solo;
- 2) A especialização das raízes finas de eucalipto para a captação de nutrientes aumenta com a fertilização.

Vimos no capítulo 1 como que a fertilização impacta a absorção das raízes finas de *Eucalyptus* em função da profundidade. No capítulo 2 será avaliado o efeito das interações entre *Eucalyptus urophylla* * *grandis* e *Acacia mangium* em povoamento consorciado sobre a

dinâmica de crescimento das raízes finas e a proximidade de cada espécie para dois níveis contrastantes de adubação (Figura 2). As hipóteses de pesquisa são:

- 1) A densidade de raízes finas (DRF) de eucalipto irá ser maior em relação à acácia, e será maior no tratamento fertilizado;
- 2) A DRF de eucalipto perto de acácia é maior quando a fertilidade do solo é baixa para aproveitar o fornecimento do N pela *A. mangium*;
- 3) O tempo de vida das raízes finas aumentará quando a fertilidade do solo é melhorada pela adubação, enquanto sua produção será maior em solos pouco férteis.

Figura 2 – Esquema conceitual do projeto de pesquisa indicando os capítulos abordados ao longo da tese.

REFERÊNCIAS

- Aber, J.D., Melillo, J.M., Nadelhoffer, K.J., Meclaugherty, C. a, Pastor, J. 1985. Fine root turnover in forest ecosystems in relation to quantity and form of nitrogen availability: a comparison of two methods. *Oecologia*, 66, 317–321.
- Abraf, 2013. Anuário Estatístico-Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. Anuário Estatístico ABRAF 146. doi:1980 8550
- Addo-Danso, S.D., Prescott, C.E., Smith, A.R., 2016. Methods for estimating root biomass and production in forest and woodland ecosystem carbon studies: A review. *For. Ecol. Manage.* 359, 332–351. doi:10.1016/j.foreco.2015.08.015
- Adegbidi, H.G., Comerford, N.B., Jokela, E.J., Barros, N.F. 2004. Root Development of Young *Loblolly Pine* in Spodosols in Southeast Georgia. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 596. doi:10.2136/sssaj2004.0596
- Andrade, C., Dallarmi, M., Gomes, O., Alberto, V., 2003. Revisão do gênero *Acacia*. *Visão Acadêmica* 4, 47–56.
- Armas, C., Pugnaire, F.I. 2012. Tansley review Water release through plant roots : new insights into its consequences at the plant and ecosystem level. *New Phytol.* doi:10.1111/j.1469-8137.2011.04039.x
- Bachega, L.R., Bouillet, J.P., de Cássia Piccolo, M., Saint-André, L., Bouvet, J.M., Nouvellon, Y., de Moraes Gonçalves, J.L., Robin, A., Laclau, J.P. 2016. Decomposition of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* leaves and fine roots in tropical conditions did not meet the Home Field Advantage hypothesis. *For. Ecol. Manage.* 359, 33–43. doi:10.1016/j.foreco.2015.09.026
- Bakker, M.R., Jolicoeur, E., Trichet, P., Augusto, L., Plassard, C., Guinberteau, J., Loustau, D. 2009. Adaptation of fine roots to annual fertilization and irrigation in a 13-year-old *Pinus pinaster* stand. *Tree Physiol.* 29, 229–38. doi:10.1093/treephys/tpn020
- Bardgett, R.D., Mommer, L., De Vries, F.T. 2014. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends Ecol. Evol.* 29, 692–699. doi:10.1016/j.tree.2014.10.006
- Battie-Laclau, P., Laclau, J.-P., Beri, C., Mietton, L., Muniz, M.R.A., Arenque, B.C., Piccolo, M.D.C., Jordan-Meille, L., Bouillet, J.-P., Nouvellon, Y. 2013. Photosynthetic and anatomical responses of *Eucalyptus grandis* leaves to potassium and sodium supply in a field experiment. *Plant. Cell Environ.* doi:10.1111/pce.12131
- Bauhus, J., Khanna, P.K., Menden, N. 2000. Aboveground and belowground interactions in mixed plantations of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *Can. J. For. Res.* 30, 1886–1894. doi:10.1139/cjfr-30-12-1886
- Berg, M.P., Toby Kiers, E., Driessen, G., van der Heijden, M., Kooi, B.W., Kuenen, F., Liefting, M., Verhoef, H. a., Ellers, J. 2010. Adapt or disperse: Understanding species persistence in a changing world. *Glob. Chang. Biol.* 16, 587–598. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.02014.x
- Berhongeray, G., Janssens, I.A., King, J.S., Ceulemans, R. 2013. Fine root biomass and turnover of two fast-growing poplar genotypes in a short-rotation coppice culture. *Plant Soil*, 373, 269–283. doi:10.1007/s11104-013-1778-x
- Bertness, M.D., Callaway, R. 1994. Positive interactions in communities. *Trends Ecol. Evol.* 9, 187–191. doi:10.1016/0169-5347(94)90087-6
- Bini, D. atributos microbianos e químicos do solo e da serapilheira em plantios puros e mistos de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium*. 105p. Tese (Doutorado em Ciências do solo) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

- Binkley, D., Giardina, C. 1997. Nitrogen fixation in tropical forest plantations. *Manag. soil, Nutr. water Trop. Plant. For.*, cap. 9, 297-337.
- Binkley, D., Senock, R., Bird, S., Cole, T.G. 2003. Twenty years of stand development in pure and mixed stands of *Eucalyptus saligna* and nitrogen-fixing *Facaltaria moluccana*. *For. Ecol. Manage.* 182, 93–102. doi:10.1016/S0378-1127(03)00028-8
- Blaser, W.J., Shanungu, G.K., Edwards, P.J., Venterink, H.O. 2014. Woody encroachment reduces nutrient limitation and promotes soil carbon sequestration. *Ecol. Evol.* 4, 1423–1438. doi:10.1002/ece3.1024
- Bocage, L.A. Miotto, S.T. S. *Acacia Globosa* e *Acacia Limae*, duas novas espécies de Leguminosae-Mimosoideae para o Brasil. *Revista Rodriguesia*, Rio de Janeiro, RJ, v 57, n1, pag. 131-136, 2006. Bocage, A. luiza, Souza, M.A. De, Teresinha, S., Miotto, S., Gonçalves-esteves, V., 2008. Palinotaxonomia de espécies de *Acacia* (Leguminosae-Mimosoideae) no semi-árido brasileiro. *Ana. Rodriguésia* 59, 587–596.
- Bolte, A., Villanueva, I. 2006. Interspecific competition impacts on the morphology and distribution of fine roots in European beech (*Fagus sylvatica* L.) and Norway spruce (*Picea abies* (L.) karst.). *Eur. J. For. Res.* 125, 15–26. doi:10.1007/s10342-005-0075-5
- Booth, T.H. 2013. *Eucalypt* plantations and climate change. *For. Ecol. Manage.* 301, 28–34. doi:10.1016/j.foreco.2012.04.004
- Bouillet, J., Laclau, J.-P., Deleporte, P. 2004. Pour une production durable des plantations d' eucalyptus au Congo : la fertilisation Pour une production durable des plantations d' eucalyptus au Congo: la fertilisation. *Bois Forêts des Trop.*
- Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Gonçalves, J.L.D.M., Voigtlaender, M., Gava, J.L., Leite, F.P., Hakamada, R., Mareschal, L., Mabiala, A., Tardy, F., Levillain, J., Deleporte, P., Epron, D., Nouvellon, Y. 2013. *Eucalyptus* and *Acacia* tree growth over entire rotation in single- and mixed-species plantations across five sites in Brazil and Congo. *For. Ecol. Manage.* 301, 89–101. doi:10.1016/j.foreco.2012.09.019
- Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Gonçalves, J.L.M., Moreira, M.Z., Trivelin, P.C.O., Jourdan, C., Silva, E. V., Piccolo, M.C., Tsai, S.M., Galiana, A. 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil. Nitrogen accumulation in the stands and biological N₂ fixation. *For. Ecol. Manage.* 255, 3918–3930. doi:10.1016/j.foreco.2007.10.050
- Boyden, S., Binkley, D., Senock, R. 2005. Nitrogen-Fixing *Falcataria* in Relation To Soil Fertility. *Ecology* 86, 992–1001.
- Brassard, B.W., Chen, H.Y.H., Bergeron, Y., Paré, D. 2011. Differences in fine root productivity between mixed- and single-species stands. *Funct. Ecol.* 25, 238–246. doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01769.x
- Brassard, B.W., Chen, H.Y.H., Cavard, X., Laganière, J., Reich, P.B., Bergeron, Y., Paré, D., Yuan, Z. 2013. Tree species diversity increases fine root productivity through increased soil volume filling. *J. Ecol.* 101, 210–219. doi:10.1111/1365-2745.12023
- Brooker, R.W., Maestre, F.T., Callaway, R.M., Lortie, C.L., Cavieres, L. a., Kunstler, G., Liancourt, P., Tielbörger, K., Travis, J.M.J., Anthelme, F., Armas, C., Coll, L., Corcket, E., Delzon, S., Forey, E., Kikvidze, Z., Olofsson, J., Pugnaire, F., Quiroz, C.L., Saccone, P., Schiffers, K., Seifan, M., Touzard, B., Michalet, R. 2008. Facilitation in plant communities: The past, the present, and the future. *J. Ecol.* 96, 18–34. doi:10.1111/j.1365-2745.2007.01295.x
- Bruijnzeel, L. A. 1991. Nutrient Input-Output Budgets of Tropical Forest Ecosystems: A Review. *J. Trop. Ecol.* 7, 1–24.
- Brunelle, T., Dumas, P., Souty, F., Dorin, B., Nadaud, F. 2015. Evaluating the impact of rising fertilizer prices on crop yields. *Agric. Econ. (United Kingdom)* 46, 653–666. doi:10.1111/agec.12161

- Callaway, R.M., Walker, L.R. 1997. Competition and Facilitation: a Synthetic Approach To Interactions in Plant Communities. *Ecology* 78, 1958–1965. doi:10.1890/0012-9658(1997)078[1958:CAFASA]2.0.CO;2
- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, E., Gamfeldt, L., Balvanera, P., O'Connor, M.I., Gonzalez, A. 2011. The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* 98, 572–592. doi:10.3732/ajb.1000364
- Cavard, X., Bergeron, Y., Chen, H.Y.H., Paré, D., Laganière, J., Brassard, B. 2011. Competition and facilitation between tree species change with stand development. *Oikos*, 120, 1683–1695. doi:10.1111/j.1600-0706.2011.19294.x
- Chairungsee, N., Gay, F., Thaler, P., Kasemsap, P., Thanisawanyangkura, S., Chantuma, A., Jourdan, C., Espeleta, J.F., Eissenstat, D.M., Bouskill, N.J., Wood, T.E., Baran, R., Hao, Z., Ye, Z., Bowen, B.P., Lim, H.C., Nico, P.S., Holman, H.-Y., Gilbert, B., Silver, W.L., Northen, T.R., Brodie, E.L. 2013. Impact of tapping and soil water status on fine root dynamics in a rubber tree plantation in Thailand. *Front. Plant Sci.* 4, 113–119. doi:10.3389/fmicb.2016.00323
- Chen, G. tao, Tu, L. hua, Peng, Y., Hu, H. ling, Hu, T. xing, Xu, Z. feng, Liu, L., Tang, Y. 2017. Effect of nitrogen additions on root morphology and chemistry in a subtropical bamboo forest. *Plant Soil* 412, 441–451. doi:10.1007/s11104-016-3074-z
- Christina, M., Laclau, J., Goncalves, J.L.M. 2011. Almost symmetrical vertical growth rates above and below ground in one of the world' s most productive forests. *Ecosphere*, 2, 1-10. doi:10.1890/ES10-00158.1
- Christina, M., Laclau, J., Goncalves, J.L.M. 2011. Almost symmetrical vertical growth rates above and below ground in one of the world ' s most productive forests. *Ecosphere*, 2. doi:10.1890/ES10-00158.1
- Christoffersen, B.O., Restrepo-Coupe, N., Arain, M.A., Baker, I.T., Cestaro, B.P., Ciais, P., Fisher, J.B., Galbraith, D., Guan, X., Gulden, L., van den Hurk, B., Ichii, K., Imbuzeiro, H., Jain, A., Levine, N., Miguez-Macho, G., Poulter, B., Roberti, D.R., Sakaguchi, K., Sahoo, A., Schaefer, K., Shi, M., Verbeeck, H., Yang, Z.L., Araújo, A.C., Kruijt, B., Manzi, A.O., da Rocha, H.R., von Randow, C., Muza, M.N., Borak, J., Costa, M.H., Gonçalves de Gonçalves, L.G., Zeng, X., Saleska, S.R. 2014. Mechanisms of water supply and vegetation demand govern the seasonality and magnitude of evapotranspiration in Amazonia and Cerrado. *Agric. For. Meteorol.* 191, 33–50. doi:10.1016/j.agrformet.2014.02.008
- Comas, L.H., Bouma, T.J., Eissenstat, D.M. 2002. Linking root traits to potential growth rate in six temperate tree species. *Oecologia*, 132, 34–43. doi:10.1007/s00442-002-0922-8
- Comas, L.H., Eissenstat, D.M. 2009. Patterns in root trait variation among 25 co-existing North American forest species. *New Phytol.* 182, 919–928. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02799.x
- Comas, L.H., Eissenstat, D.M. 2004. Potential growth Linking fine root traits to maximum tree species rate among 11 mature temperate. *Funct. Ecol.* 18, 388–397.
- Comas, L.H., Mueller, K.E., Taylor, L.L., Midford, P.E., Callahan, H.S., Beerling, D.J. 2012. Evolutionary Patterns and Biogeochemical Significance of Angiosperm Root Traits. *Int. J. Plant Sci.* 173, 584–595. doi:10.1086/665823
- Coomes, D. a., Grubb, P.J. 2000. Impacts of root competition in forests and woodlands: A theoretical framework and review of experiments. *Ecol. Monogr.* 70, 171–207. doi:10.1890/0012-9615(2000)070[0171:IORCIF]2.0.CO;2
- Cossalter, C. (Cifor), Pye-Smith, C. (Cifor), 2003. Fast-wood forestry: myths and realities, *Nature*. doi:10.17528/cifor/001257

- Coyle, D.R., Coleman, M.D. 2005. Forest production responses to irrigation and fertilization are not explained by shifts in allocation. *For. Ecol. Manage.* 208, 137–152. doi:10.1016/j.foreco.2004.11.022
- Cuevas, E., Medina, E., Ivic, C.D.E. 1988. Nutrient dynamics within amazonian forests II. Fine root growth, nutrient availability and leaf litter decomposition. *Oecologia* 76, 222–235.
- da Silva, E.V., Bouillet, J.-P., de Moraes Gonçalves, J.L., Junior, C.H.A., Trivelin, P.C.O., Hinsinger, P., Jourdan, C., Nouvellon, Y., Stape, J.L., Laclau, J.-P., 2011. Functional specialization of *Eucalyptus* fine roots: contrasting potential uptake rates for nitrogen, potassium and calcium tracers at varying soil depths. *Funct. Ecol.* 25, 996–1006. doi:10.1111/j.1365-2435.2011.01867.x
- de Kroon, H., Hendriks, M., van Ruijven, J., Ravenek, J., Padilla, F.M., Jongejans, E., Visser, E.J.W., Mommer, L. 2012. Root responses to nutrients and soil biota: Drivers of species coexistence and ecosystem productivity. *J. Ecol.* 100, 6–15. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01906.x
- Du Toit, B., Arbuthnot, A., Ocroft, D., Job, R.A. 2001. The effects of remedial fertilizer treatments on growth and pulp properties of *Eucalyptus grandis* stands established on infertile soils of the Zululand coastal plain. *South. African For. J.* 192, 9–18. doi:10.1080/20702620.2001.10434129
- Egilla, J.N., Davies, F.T., Drew, M.C. 2001. Effect of potassium on drought resistance of *Hibiscus rosa-sinensis* cv . Leprechaun : Plant growth , leaf macro- and micronutrient content and root longevity. *Plant Soil* 229, 213–224.
- Eissenstat, D.M. 1991. On the relationship between specific root length and the rate of root proliferation: a field study using citrus rootstocks. *New Phytol.* 118, 63–68. doi:10.1111/j.1469-8137.1991.tb00565.x
- Eissenstat, D.M., Wells, C.E., Yanai, R.D., Whitbeck, J.L. 2000. Building roots in a changing environment: Implications for root longevity. *New Phytol.* 147, 33–42. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00686.x
- Epron, D., Nouvellon, Y., Mareschal, L., Moreira, R.M.E., Koutika, L.S., Geneste, B., Delgado-Rojas, J.S., Laclau, J.P., Sola, G., Gonçalves, J.L.D.M., Bouillet, J.P. 2013. Partitioning of net primary production in *Eucalyptus* and *Acacia* stands and in mixed-species plantations: Two case-studies in contrasting tropical environments. *For. Ecol. Manage.* 301, 102–111. doi:10.1016/j.foreco.2012.10.034
- Fabião, A., Madeira, M., Steen, E., Kätterer, T., Ribeiro, C., Araújo, C. 1995. Development of root biomass in an *Eucalyptus globulus* plantation under different water and nutrient regimes. *Plant Soil*. doi:10.1007/BF00029331
- Fahey, T.J., Hughes, J.W. 1994. Fine Root Dynamics in a Northern Hardwood Forest Ecosystem, Hubbard Brook Experimental Published by: British Ecological Society Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/2261262>. *J. Ecol.* 82, 533–548.
- FAO, 2015. Global Forest Resources Assessment. 2015. FAO Forestry. doi:10.1002/2014GB005021
- Faucon, M., Houben, D., Lambers, H., 2017. Plant Functional Traits : Soil and Ecosystem Services. *Trends Plant Sci.* xx, 1–10. doi:10.1016/j.tplants.2017.01.005
- Favalessa, M. Substratos renováveis e não renováveis na produção de mudas de *Acacia mangium*. 50p (Monografia em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, Espírito Santo 2011.
- Finér, L., Ohashi, M., Noguchi, K., Hirano, Y. 2011. Fine root production and turnover in forest ecosystems in relation to stand and environmental characteristics. *For. Ecol. Manage.* 262, 2008–2023. doi:10.1016/j.foreco.2011.08.042

- Firn, J., Erskine, P.D., Lamb, D. 2007. Woody species diversity influences productivity and soil nutrient availability in tropical plantations. *Oecologia*, 154, 521–533. doi:10.1007/s00442-007-0850-8
- Forrester, D.I. 2014. The spatial and temporal dynamics of species interactions in mixed-species forests: From pattern to process. *For. Ecol. Manage.* 312, 282–292. doi:10.1016/j.foreco.2013.10.003
- Forrester, D.I., Bauhus, J., Cowie, A.L. 2005. Nutrient cycling in a mixed-species plantation of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *Can. J. For. Res.* 35, 2942–2950. doi:10.1139/x05-214
- Forrester, D.I., Bauhus, J., Cowie, A.L. 2005. On the success and failure of mixed-species tree plantations: Lessons learned from a model system of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *For. Ecol. Manage.* 209, 147–155. doi:10.1016/j.foreco.2005.01.012
- Forrester, D.I., Bauhus, J., Cowie, A.L., Vanclay, J.K. 2006a. Mixed-species plantations of *Eucalyptus* with nitrogen-fixing trees: A review. *For. Ecol. Manage.* 233, 211–230. doi:10.1016/j.foreco.2006.05.012
- Forrester, D.I., Pares, A., O'Hara, C., Khanna, P.K., Bauhus, J. 2013. Soil Organic Carbon is Increased in Mixed-Species Plantations of *Eucalyptus* and Nitrogen-Fixing *Acacia*. *Ecosystems*, 16, 123–132. doi:10.1007/s10021-012-9600-9
- Fort, F., Jouany, C., Cruz, P. 2013. Root and leaf functional trait relations in Poaceae species: Implications of differing resource-acquisition strategies. *J. Plant Ecol.* 6, 211–219. doi:10.1093/jpe/rts034
- Fransen, B., De Kroon, H., Berendse, F. 1998. Root morphological plasticity and nutrient acquisition of perennial grass species from habitats of different nutrient availability. *Oecologia*, 115, 351–358. doi:10.1007/s004420050527
- Freschet, G.T., Valverde-Barrantes, O.J., Tucker, C.M., Craine, J.M., McCormack, M.L., Violle, C., Fort, F., Blackwood, C.B., Urban-Mead, K.R., Iversen, C.M., Bonis, A., Comas, L.H., Cornelissen, J.H.C., Dong, M., Guo, D., Hobbie, S.E., Holdaway, R.J., Kembel, S.W., Makita, N., Onipchenko, V.G., Picon-Cochard, C., Reich, P.B., de la Riva, E.G., Smith, S.W., Soudzilovskaia, N. a., Tjoelker, M.G., Wardle, D. a., Roumet, C. 2017. Climate, soil and plant functional types as drivers of global fine-root trait variation. *J. Ecol.* 1–15. doi:10.1111/1365-2745.12769
- Fridley, J.D., Carolina, N., Hill, C. 2001. The influence of species diversity on ecosystem productivity : how , where , and why ? *Oikos*, 3, 514–526.
- Fujii, S., Kasuya, N. 2008. Fine root biomass and morphology of *Pinus densiflora* under competitive stress by *Chamaecyparis obtusa*. *J. For. Res.*, 13, 185–189. doi:10.1007/s10310-008-0063-y
- Gahagan, A., Giardina, C.P., King, J.S., Binkley, D., Pregitzer, K.S., Burton, A.J. 2015. Carbon fluxes, storage and harvest removals through 60 years of stand development in red pine plantations and mixed hardwood stands in Northern Michigan, USA. *For. Ecol. Manage.* 337, 88–97. doi:10.1016/j.foreco.2014.10.037
- George, E., Seith, B., Schaeffer, C., Marschner, H. 1997. Responses of *Picea*, *Pinus* and *Pseudotsuga* roots to heterogeneous nutrient distribution in soil. *Tree Physiol.* 17, 39–45. doi:doi: 10.1093/treephys/17.1.39
- Germon, A., Cardinael, R., Prieto, I., Mao, Z., Kim, J., Stokes, A., Dupraz, C., Laclau, J.P., Jourdan, C. 2016. Unexpected phenology and lifespan of shallow and deep fine roots of walnut trees grown in a silvoarable Mediterranean agroforestry system. *Plant Soil* 401, 409–426. doi:10.1007/s11104-015-2753-5
- Germon, A., Guerrini, I., Bordron, B., Bouillet, J., Nouvellon, Y., Gonçalves, J., Moreira, R., Jourdan, C., Lacalu, J. 2017. Consequence of mixing *Acacia mangium* and *Eucalyptus*

- grandis* trees on soil exploration by fine roots down to a depth of 17 m in a tropical planted forest. Accepted in Plant and Soil.
- Gilbert, N. 2009. Environment: The disappearing nutrient. *Nature*, 461, 716–718. doi:10.1038/461716a
- Gill, R.A., Jackson, R.B. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytol.*, 147, 13–31.
- Gobert, A., Plassard, C. 2008. The Beneficial Effect of Mycorrhizae on N Utilization by the Host-Plant : Myth or Reality? p. 209-240. doi:10.1007/978-3-540-78826-3
- Godbold, D.L., Fritz, H., Jentschke, G., Rademacher, P. 2003. Root turnover and root necromass accumulation of Norway spruce (*Picea abies*) are affected by soil acidity. *Tree Physiol.* 23, 915–921.
- Gonçalves, J.L.M., Alvares, C.A., Higa, A.R., Silva, L.D., Alfenas, A.C., Stahl, J., Ferraz, S.F.D.B., Lima, W.D.P., Brancalion, P.H.S., Hubner, A., Bouillet, J.P.D., Laclau, J.P., Nouvellon, Y., Epron, D. 2013. Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. *For. Ecol. Manage.* 301, 6–27. doi:10.1016/j.foreco.2012.12.030
- Gonçalves, J.L.D.M., Stape, J.-L., Laclau, J.-P., Smethurst, P., Gava, J.L., 2004. Silvicultural effects on the productivity and wood quality of eucalypt plantations. *For. Ecol. Manage.* 193, 45–61. doi:10.1016/j.foreco.2004.01.022
- Graefe, S., Hertel, D., Leuschner, C. 2008. Estimating fine root turnover in tropical forests along an elevational transect using minirhizotrons. *Biotropica* 40, 536–542. doi:10.1111/j.1744-7429.2008.00419.x
- Hendricks, J.J., Hendrick, R.L., Wilson, C. a., Mitchell, R.J., Pecot, S.D., Guo, D. 2006. Assessing the patterns and controls of fine root dynamics: An empirical test and methodological review. *J. Ecol.* 94, 40–57. doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01067.x
- Hertel, D., Leuschner, C. 2002. A comparison of four different fine root production estimates with ecosystem carbon balance data in a *Fagus-Quercus* mixed forest. *Plant Soil*, 239, 237–251. doi:10.1023/A:1015030320845
- Hinsinger, P., Brauman, A., Devau, N., Gérard, F., Jourdan, C., Laclau, J.P., Le Cadre, E., Jaillard, B., Plassard, C. 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant Soil* 348, 29–61. doi:10.1007/s11104-011-0903-y
- Hodge, A. 2004. The plastic plant: Root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytol.* 162, 9–24. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01015.x
- Holdaway, R.J., Richardson, S.J., Dickie, I. a., Peltzer, D. A., Coomes, D. A. 2011. Species- and community-level patterns in fine root traits along a 120000-year soil chronosequence in temperate rain forest. *J. Ecol.* 99, 954–963. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01821.x
- Holmgren, M., Scheffer, M. 2010. Strong facilitation in mild environments: The stress gradient hypothesis revisited. *J. Ecol.* 98, 1269–1275. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01709.x
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, a., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, a. J., Vandermeer, J., Wardle, D. A. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecol. Monogr.* 75, 3–35. doi:10.1890/04-0922
- Hunt, M.A., Battaglia, M., Davidson, N.J., Unwin, G.L. 2006. Competition between plantation *Eucalyptus nitens* and *Acacia dealbata* weeds in northeastern Tasmania 233, 260–274. doi:10.1016/j.foreco.2006.05.017
- IBÁ. 2016. Relatório Anual. Indústria Bras. Árvores 100. doi:10.1017/CBO9781107415324.004

- Iversen, C.M. 2010. Digging deeper: Fine-root responses to rising atmospheric CO₂ concentration in forested ecosystems. *New Phytol.* 186, 346–357. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03122.x
- Jo, I., Fridley, J.D., Frank, D. A. 2015. Linking above- and belowground resource use strategies for native and invasive species of temperate deciduous forests. *Biol. Invasions* 17, 1545–1554. doi:10.1007/s10530-014-0814-y
- Johnson, M.G., Tingey, D.T., Phillips, D.L., Storm, M.J. 2001. Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environ. Exp. Bot.* 45, 263–289. doi:10.1016/S0098-8472(01)00077-6
- Jucker, T., Avăcăriței, D., Bărnoaiea, I., Duduman, G., Bouriaud, O., Coomes, D. A. 2016. Climate modulates the effects of tree diversity on forest productivity. *J. Ecol.* 104, 388–398. doi:10.1111/1365-2745.12522
- Keenan, R.J., Reams, G.A., Achard, F., de Freitas, J. V., Grainger, A., Lindquist, E. 2015. Dynamics of global forest area: Results from the FAO Global Forest Resources Assessment 2015. *For. Ecol. Manage.* 352, 9–20. doi:10.1016/j.foreco.2015.06.014
- Kell, D.B. 2012. Large-scale sequestration of atmospheric carbon via plant roots in natural and agricultural ecosystems: why and how. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 367, 1589–1597. doi:10.1098/rstb.2011.0244
- Kelty, M.J. 2006. The role of species mixtures in plantation forestry. *For. Ecol. Manage.* 233, 195–204. doi:10.1016/j.foreco.2006.05.011
- Kikvidze, Z., Suzuki, M., Brooker, R. 2011. Importance versus intensity of ecological effects : why context matters, 26, 383–388. doi:10.1016/j.tree.2011.04.003
- Kleidon, a., Heimann, M. 2000. Assessing the role of deep rooted vegetation in the climate system with model simulations: mechanism, comparison to observations and implications for Amazonian deforestation. *Clim. Dyn* 16, 183–199. doi:10.1007/s003820050012
- Koutika, L.S., Epron, D., Bouillet, J.P., Mareschal, L. 2014. Changes in N and C concentrations, soil acidity and P availability in tropical mixed acacia and eucalypt plantations on a nutrient-poor sandy soil. *Plant Soil*, 379, 205–216. doi:10.1007/s11104-014-2047-3
- Laclau, J.-P., Almeida, J.C.R., Gonçalves, J.L.M., Saint-André, L., Ventura, M., Ranger, J., Moreira, R.M., Nouvellon, Y. 2009. Influence of nitrogen and potassium fertilization on leaf lifespan and allocation of above-ground growth in *Eucalyptus* plantations. *Tree Physiol.* 29, 111–24. doi:10.1093/treephys/tpn010
- Laclau, J.-P., Bouillet, J.-P., Gonçalves, J.L.M., Silva, E.V., Jourdan, C., Cunha, M.C.S., Moreira, M.R., Saint-André, L., Maquère, V., Nouvellon, Y., Ranger, J. 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil. *For. Ecol. Manage.* 255, 3905–3917. doi:10.1016/j.foreco.2007.10.049
- Laclau, J.P., da Silva, E. a, Rodrigues Lambais, G., Bernoux, M., le Maire, G., Stape, J.L., Bouillet, J.-P., Gonçalves, J.L.D.M., Jourdan, C., Nouvellon, Y. 2013a. Dynamics of soil exploration by fine roots down to a depth of 10 m throughout the entire rotation in *Eucalyptus grandis* plantations. *Front. Plant Sci.* 4, 243. doi:10.3389/fpls.2013.00243
- Laclau, J.P., Nouvellon, Y., Reine, C., Gonçalves, J.L.D.M., Krushe, A.V., Jourdan, C., le Maire, G., Bouillet, J.P. 2013b. Mixing *Eucalyptus* and *Acacia* trees leads to fine root over-yielding and vertical segregation between species. *Oecologia* 172, 903–913. doi:10.1007/s00442-012-2526-2

- Laclau, J.P., Ranger, J., de Moraes Gonçalves, J.L., Maquère, V., Krusche, A. V., M'Bou, A.T., Nouvellon, Y., Saint-André, L., Bouillet, J.P., de Cassia Piccolo, M., Deleporte, P. 2010. Biogeochemical cycles of nutrients in tropical *Eucalyptus* plantations. Main features shown by intensive monitoring in Congo and Brazil. *For. Ecol. Manage.* 259, 1771–1785. doi:10.1016/j.foreco.2009.06.010
- Laclau, J.P., Ranger, J., Deleporte, P., Nouvellon, Y., Saint-André, L., Marlet, S., Bouillet, J.P. 2005. Nutrient cycling in a clonal stand of *Eucalyptus* and an adjacent savanna ecosystem in Congo: Input-output budgets and consequences for the sustainability of the plantations. *For. Ecol. Manage.* 210, 375–391. doi:10.1016/j.foreco.2005.02.028
- Lambais, G.R., Jourdan C., de Cassia Piccolo, M., Germon, A., Nouvellon, Y., Stape, J.L., Campoe, C.O., Robin, A., Bouillet, J.P., Le Maire, G., Laclau, J.P. Phenology of *Eucalyptus grandis* fine roots in a deep tropical soil. In press
- Lambers, H., Shane, M.W., Cramer, M.D., Pearse, S.J., Veneklaas, E.J. 2006. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. *Ann. Bot.* 98, 693–713. doi:10.1093/aob/mcl114
- Lei, P., Scherer-Lorenzen, M., Bauhus, J. 2012a. The effect of tree species diversity on fine-root production in a young temperate forest. *Oecologia* 169, 1105–1115. doi:10.1007/s00442-012-2259-2
- Lei, P., Scherer-Lorenzen, M., Bauhus, J. 2012b. Belowground facilitation and competition in young tree species mixtures. *For. Ecol. Manage.* 265, 191–200. doi:10.1016/j.foreco.2011.10.033
- Leuschner, C., Hertel, D., Schmid, I., Koch, O., Muhs, A., Hölscher, D. 2004. Stand fine root biomass and fine root morphology in old-growth beech forests as a function of precipitation and soil fertility. *Plant Soil*, 258, 43–56. doi:10.1023/B:PLSO.0000016508.20173.80
- Levillain, J., Thongo M'Bou, A., Deleporte, P., Saint-André, L., Jourdan, C. 2011. Is the simple auger coring method reliable for below-ground standing biomass estimation in *Eucalyptus* forest plantations? *Ann. Bot.* 108, 221–230. doi:10.1093/aob/mcr102
- Little, K.M., Schumann, a. W., Noble, A. D. 2002. Performance of a *Eucalyptus grandis* x *E. camaldulensis* hybrid clone as influenced by a cowpea cover-crop. *For. Ecol. Manage.* 168, 43–52. doi:10.1016/S0378-1127(01)00728-9
- Lopez, B., Sabate, S., Gracia, C. 1998. Fine roots dynamics in a Mediterranean forest: effects of drought and stem density. *Tree Physiol.* 18, 601–606.
- Loreau, M., Hector, A. 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Lett. to Nat.* 412, 72–75.
- Ma, Z., Chen, H.Y.H., van Bodegom, P. 2016. Effects of species diversity on fine root productivity in diverse ecosystems: a global meta-analysis. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 25, 1387–1396. doi:10.1111/geb.12488
- Maeght, J.-L., Rewald, B., Pierret, A. 2013. How to study deep roots-and why it matters. *Front. Plant Sci.* 4, 1–14. doi:10.3389/fpls.2013.00299
- Maestre, F.T., Callaway, R.M., Valladares, F., Lortie, C.J. 2009. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J. Ecol.* 97, 199–205. doi:10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x
- Majdi, H. 1996. Root sampling methods - Applications and limitations of the minirhizotron technique. *Plant Soil*, 185, 255–258. doi:10.1007/BF02257530
- Majdi, H., Pregitzer, K., Morén, A.S., Nylund, J.E., I. Ågren, G. 2005. Measuring fine root turnover in forest ecosystems. *Plant Soil*, 276, 1–8. doi:10.1007/s11104-005-3104-8

- Makita, N., Hirano, Y., Mizoguchi, T., Kominami, Y., Dannoura, M., Ishii, H., Finér, L., Kanazawa, Y. 2011. Very fine roots respond to soil depth: Biomass allocation, morphology, and physiology in a broad-leaved temperate forest. *Ecol. Res.* 26, 95–104. doi:10.1007/s11284-010-0764-5
- Mareschal, L., Laclau, J.P., Nzila, J.D.D., Versini, A., Koutika, L.S., Mazoumbou, J.C., Deleporte, P., Bouillet, J.P., Ranger, J. 2013. Nutrient leaching and deep drainage under *Eucalyptus* plantations managed in short rotations after afforestation of an African savanna: Two 7-year time series. *For. Ecol. Manage.* 307, 242–254. doi:10.1016/j.foreco.2013.06.038
- Maurice, J., Laclau, J.-P., Scorzoni Re, D., Gonçalves, J.L.D.M., Nouvellon, Y., Bouillet, J.-P., Stape, J.L., Ranger, J., Behling, M., Chopart, J.-L. 2010. Fine root isotropy in *Eucalyptus grandis* plantations. Towards the prediction of root length densities from root counts on trench walls. *Plant Soil* 334, 261–275. doi:10.1007/s11104-010-0380-8
- Mayor, J., Bahram, M., Henkel, T., Buegger, F., Pritsch, K., Tedersoo, L. 2015. Ectomycorrhizal impacts on plant nitrogen nutrition: emerging isotopic patterns, latitudinal variation and hidden mechanisms. *Exology Lett.* 18, 96–107. doi:10.1111/ele.12377
- McCormack, M.L., Dickie, I. a., Eissenstat, D.M., Fahey, T.J., Fernandez, C.W., Guo, D., Helmisaari, H.S., Hobbie, E. a., Iversen, C.M., Jackson, R.B., Leppalammi-Kujansuu, J., Norby, R.J., Phillips, R.P., Pregitzer, K.S., Pritchard, S.G., Rewald, B., Zadworny, M. 2015. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. *New Phytol.* 207, 505–518. doi:10.1111/nph.13363
- McDowell, N., Pockman, W.T., Allen, C.D., Breshears, D.D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D.G., Yezzer, E. A. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytol.* 178, 719–39. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02436.x
- Meier, I.C., Leuschner, C. 2008. Genotypic variation and phenotypic plasticity in the drought response of fine roots of *European beech*. *Tree Physiol.* 28, 297–309.
- Meinen, C., Hertel, D., Leuschner, C. 2009. Biomass and morphology of fine roots in temperate broad-leaved forests differing in tree species diversity: is there evidence of below-ground overyielding? *Oecologia*, 161, 99–111. doi:10.1007/s00442-009-1352-7
- Messier, C., Coll, L., Poitras-Larivière, A., Bélanger, N., Brisson, J. 2009. Resource and non-resource root competition effects of grasses on early- versus late-successional trees. *J. Ecol.* 97, 548–554. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01500.x
- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Pugnaire, F.I., Valiente-Banuet, A., Callaway, R.M. 2006. Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? *Ecol. Lett.* 9, 767–773. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00935.x
- Michalet, R., Maalouf, J., Choler, P., Cl, B., Rosebery, D., Royer, J., Sch, C., Lortie, C.J. 2015. Competition, facilitation and environmental severity shape the relationship between local and regional species richness in plant communities. *Ecography (Cop.)*. 38, 335–345. doi:10.1111/ecog.01106
- Mommer, L., Padilla, F.M., van Ruijven, J., de Caluwe, H., Smit-Tiekstra, A., Berendse, F., de Kroon, H. 2015. Diversity effects on root length production and loss in an experimental grassland community. *Funct. Ecol.* 29, 1560–1568. doi:10.1111/1365-2435.12466

- Mommer, L., van Ruijven, J., de Caluwe, H., Smit-Tiekstra, A.E., Wagemaker, C. a M., Joop Ouborg, N., Bögemann, G.M., van der Weerden, G.M., Berendse, F., de Kroon, H. 2010. Unveiling below-ground species abundance in a biodiversity experiment: A test of vertical niche differentiation among grassland species. *J. Ecol.* 98, 1117–1127. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01702.x
- Moser, G., Leuschner, C., Röderstein, M., Graefe, S., Soethe, N., Hertel, D. 2010. Biomass and productivity of fine and coarse roots in five tropical mountain forests stands along an altitudinal transect in southern Ecuador. *Plant Ecol. Divers.* 3, 151–164. doi:10.1080/17550874.2010.517788
- Nardini, A., Casolo, V., Dal Borgo, A., Savi, T., Stenni, B., Bertocin, P., Zini, L., McDowell, N.G. 2016. Rooting depth, water relations and non-structural carbohydrate dynamics in three woody angiosperms differentially affected by an extreme summer drought. *Plant, Cell Environ.* 39, 618–627. doi:10.1111/pce.12646
- Nichols, J.D., Bristow, M., Vanclay, J.K. 2006. Mixed-species plantations: Prospects and challenges. *For. Ecol. Manage.* 233, 383–390. doi:10.1016/j.foreco.2006.07.018
- Noguchi, K., Nagakura, J., Kaneko, S. 2013. Biomass and morphology of fine roots of sugi (*Cryptomeria japonica*) after 3 years of nitrogen fertilization. *Front. Plant Sci.* 4, 1–7. doi:10.3389/fpls.2013.00347
- Nouvellon, Y., Laclau, J.P., Epron, D., Le Maire, G., Bonnefond, J.M., Gonalves, J.L.M., Bouillet, J.P. 2012. Production and carbon allocation in monocultures and mixed-species plantations of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* in Brazil. *Tree Physiol.* 32, 680–695. doi:10.1093/treephys/tps041
- O’Grady, A. P., Worledge, D., Battaglia, M. 2005. Temporal and spatial changes in fine root distributions in a young *Eucalyptus globulus* stand in southern Tasmania. *For. Ecol. Manage.* 214, 373–383. doi:10.1016/j.foreco.2005.04.021
- Ohashi, A.Y.P., de Matos Pires, R.C., Ribeiro, R.V., de Oliveira Silva, A.L.B. 2015. Root growth and distribution in sugarcane cultivars fertigated by a subsurface drip system. *Bragantia* 74, 1–9. doi:10.1590/1678-4499.0295
- Ostertag, R. 2001. Effect of nitrogen and phosphorus availability on fine-root dynamics in Hawaiian montane forests. *Ecology* 82, 485–499.
- Ostonen, I., Lõhmus, K., Helmisaari, H.-S., Truu, J., Meel, S. 2007. Fine root morphological adaptations in Scots pine, Norway spruce and silver birch along a latitudinal gradient in boreal forests. *Tree Physiol.* 27, 1627–34.
- Ostonen, I., Püttsepp, Ü., Biel, C., Alberton, O., Bakker, M.R., Lõhmus, K., Majdi, H., Metcalfe, D., Olsthoorn, a. F.M., Pronk, A., Vanguelova, E., Weih, M., Brunner, I. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosyst.* 141, 426–442. doi:10.1080/11263500701626069
- Paquette, A., Messier, C. 2010. The role of plantations in managing the world’s forests in the Anthropocene. *Front. Ecol. Environ.* 8, 27–34. doi:10.1890/080116
- Parrotta, J.A., Baker, D.D., Fried, M. 1996. Changes in dinitrogen fixation in maturing stands of *Casuarina equisetifolia* and *Leucaena leucocephala*. *Can. J. For. Res.* 26, 1684–1691. doi:10.1139/x26-190
- Paula, R.R., Bouillet, J., Trivelin, P.C.O., Zeller, B., Gonçalves, L.D.M., Nouvellon, Y., Bouvet, J.-M., Plassard, C., Laclau, J.-P. 2015. Evidence of short-term belowground transfer of nitrogen from *Acacia mangium* to *Eucalyptus grandis* trees in a tropical planted forest. *Soil Biol. Biochem.* 91, 99–108. doi:10.1016/j.soilbio. 2015.08.017
- Paula, R.R., Secondary, C.A., Author, C., Paula, R.R., Bouillet, J., Balieiro, F.C., Nouvellon, Y., Oliveira, J.C., Laclau, J. 2017. Planting *Eucalyptus grandis* with *Acacia mangium* increased nitrogen fixation compared to monospecific *Acacia mangium* stands in Brazil. Accepted in *Ann. For. Sci.*

- Pinheiro, R.C., de Deus, J.C., Nouvellon, Y., Campoe, O.C., Stape, J.L., Aló, L.L., Guerrini, I.A., Jourdan, C., Laclau, J.P. 2016. A fast exploration of very deep soil layers by *Eucalyptus* seedlings and clones in Brazil. *For. Ecol. Manage.* 366, 143–152. doi:10.1016/j.foreco.2016.02.012
- Poot, P., Lambers, H. 2003. Are trade-offs in allocation pattern and root morphology related to species abundance? A congeneric comparison between rare and common species in the south-western Australian flora. *J. Ecol.* 91, 58–67. doi:10.1046/j.1365-2745.2003.00738.x
- Pregitzer, K.S., DeForest, J.L., Burton, A.J., Allen, M.F., Ruess, R.W., Hendrick, R.L. 2002. Fine root architecture of nine North American trees. *Ecol. Monogr.* 72, 293–309. doi:10.2307/3100029
- Pregitzer, K.S., Hendrick, R.L., Fogel, R. 1993. The Demography of Fine Roots in Response to Patches of Water and Nitrogen. *New Phytol.* 125, 575–580.
- Pretzsch, H., Forrester, D.I., Bauhus, J. 2017. *Mixed-Species Forests, Ecology and Management*. Springer, 653p.
- Pretzsch, H., Schutze, G. 2009. Transgressive overyielding in mixed compared with pure stands of *Norway spruce* and *European beech* in Central Europe: Evidence on stand level and explanation on individual tree level. *Eur. J. For. Res.* 128, 183–204. doi:10.1007/s10342-008-0215-9
- Prieto, I., Roumet, C., Cardinael, R., Dupraz, C., Jourdan, C., Kim, J.H., Maeght, J.L., Mao, Z., Pierret, A., Portillo, N., Roupsard, O., Thammahacksa, C., Stokes, A. 2015. Root functional parameters along a land-use gradient: Evidence of a community-level economics spectrum. *J. Ecol.* 103, 361–373. doi:10.1111/1365-2745.12351
- Radville, L., McCormack, M.L., Post, E., Eissenstat, D.M. 2016. Root phenology in a changing climate. *J. Exp. Bot.* 67, 3617–3628. doi:10.1093/jxb/erw062
- Ranger, J., Turpault, M. 1999. Input output nutrient budgets as a diagnostic tool for sustainable forest management 1. *For. Ecol. Manage.* 122, 139–154.
- Ravenek, J.M., Bessler, H., Engels, C., Scherer-Lorenzen, M., Gessler, A., Gockele, A., De Luca, E., Temperton, V.M., Ebeling, A., Roscher, C., Schmid, B., Weisser, W.W., Wirth, C., de Kroon, H., Weigelt, A., Mommer, L. 2014. Long-term study of root biomass in a biodiversity experiment reveals shifts in diversity effects over time. *Oikos* 1528–1536. doi:10.1111/oik.01502
- Razakamanarivo, R.H., Razakavololona, A., Razafindrakoto, M.A., Vieilledent, G., Albrecht, A. 2012. Below-ground biomass production and allometric relationships of eucalyptus coppice plantation in the central highlands of Madagascar. *Biomass and Bioenergy* 45, 1–10. doi:10.1016/j.biombioe.2011.01.020
- Reich, P.B. 2014. The world-wide “fast-slow” plant economics spectrum: A traits manifesto. *J. Ecol.* 102, 275–301. doi:10.1111/1365-2745.12211
- Richards, A.E., Forrester, D.I., Bauhus, J., Scherer-Lorenzen, M. 2010. The influence of mixed tree plantations on the nutrition of individual species: A review. *Tree Physiol.* 30, 1192–1208. doi:10.1093/treephys/tpq035
- Richards, a E., Schmidt, S. 2010. Complementary resource use by two species in a rain forest tree plantation. *Ecol. Appl.* 20, 1237–1254.
- Rossi, L.M.B., Celso, P. de A., Cintia Rodrigues de Souza, 2003. *Acacia mangium*. Embrapa 28, 9–26.
- Ryser, P. 2006. The mysterious root length. *Plant Soil* 286, 1–6. doi:10.1007/s11104-006-9096-1
- Saint-André, L., M'Bou, A.T., Mabiala, A., Mouvondy, W., Jourdan, C., Roupsard, O., Deleporte, P., Hamel, O., Nouvellon, Y. 2005. Age-related equations for above- and

- below-ground biomass of a *Eucalyptus* hybrid in Congo. *For. Ecol. Manage.* 205, 199–214. doi:10.1016/j.foreco.2004.10.006
- Saleska, S.R., Didan, K., Huete, A.R., da Rocha, H.R. 2007. Amazon forests green-up during 2005 drought. *Science*, 318, 612. doi:10.1126/science.1146663
- Santos, F.M., Balieiro, F.D.C., Ataíde, D.H.D.S., Diniz, A.R., Chaer, G.M. 2016. Dynamics of aboveground biomass accumulation in monospecific and mixed-species plantations of *Eucalyptus* and *Acacia* on a Brazilian sandy soil. *For. Ecol. Manage.* 363, 86–97. doi:10.1016/j.foreco.2015.12.028
- Schenk, H.J. 2006. Root competition: Beyond resource depletion. *J. Ecol.* 94, 725–739. doi:10.1111/j.1365-2745.2006.01124.x
- Segura, T., Zano, M., 2010. Potencial da madeira de acácia para a produção de polpa celulósica kraft. XXI Encontro Nacional da TECNCELPA / VI CIADICYP, Lisboa, Portugal.
- Silva, E.V., Gonçalves, J.L., Coelho, S.R., Moreira, R.M., Miranda Mello, S.L., Bouillet, J.-P., Jourdan, C., Laclau, J.-P. 2009. Dynamics of fine root distribution after establishment of monospecific and mixed-species plantations of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium*. *Plant Soil*, 325, 305–318. doi:10.1007/s11104-009-9980-6
- Silva, G.T.A., Resende, A.S. De, Carneiro, E.F., Campello, Dias, P.F., Franco, A.A. 2007. O Papel da Fixação Biológica de Nitrogênio na Sustentabilidade de Sistemas Agroflorestais. Documentos, 231, 36.
- Silva, P.H.M. Da, Poggiani, F., Libardi, P.L., Gonçalves, A.N. 2013. Fertilizer management of eucalypt plantations on sandy soil in Brazil: Initial growth and nutrient cycling. *For. Ecol. Manage.* 301, 67–78. doi:10.1016/j.foreco.2012.10.033
- Sochacki, S.J., Ritson, P., Brand, B., Harper, R.J., Dell, B. 2017. Accuracy of tree root biomass sampling methodologies for carbon mitigation projects. *Ecol. Eng.* 98, 264–274. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.11.004
- Stape, J.L., Binkley, D., Ryan, M.G., Fonseca, S., Loos, R. a., Takahashi, E.N., Silva, C.R., Silva, S.R., Hakamada, R.E., Ferreira, J.M.D. a, Lima, A.M.N., Gava, J.L., Leite, F.P., Andrade, H.B., Alves, J.M., Silva, G.G.C., Azevedo, M.R. 2010. The Brazil *Eucalyptus* Potential Productivity Project: Influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. *For. Ecol. Manage.* 259, 1684–1694. doi:10.1016/j.foreco.2010.01.012
- Sun, Z.-K., Liu, X.-J., Schmid, B., Bruelheide, H., Bu, W.-S., Ma, K.-P. 2017. Positive effects of tree species richness on fine-root production in a subtropical forest in SE-China. *J. Plant Ecol.* 10, 146–157. doi:10.1111/j.1399-0012.2012.01641.x
- Taylor, B.N., Beidler, K. V, Cooper, E.R., Strand, A.E., Pritchard, S.G. 2013. Sampling Volume in Root Studies: The Pitfalls of Under-Sampling Exposed Using Accumulation Curves. *Ecol. Lett.* 16, 862–869. doi:10.1111/ele.12119
- Tropical acacias planted in Asia: on overview. Turnbull John W., Midgley S.J., Cossalter Christian. 1998. In: Recent developments in acacia planting. Turnbull J.W. (ed.), Crompton H.R. (ed.), Pinyopusarerk K. (ed.). Canberra: ACIAR, pp. 14-28.
- Vanninen, P., Makela, A. 1999. Fine root biomass of *Scots pine* stands differing in age and soil fertility in southern Finland. *Tree Physiol.* 19, 823–830. doi:10.1093/treephys/19.12.823
- Veiga, D.A.A.R., Carvalho, C.M. de, Brasil, M.M.A. 2000. Tree volume equations for *Acacia mangium* Willd. *Cerne* 6, 103–107.
- Vitousek, P.M., Porder, S., Houlton, B.Z., Chadwick, O.A. 2010. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen – phosphorus interactions. *Ecol. Appl.* 20, 5–15. doi:10.1890/08-0127.1
- Vitousek, P.M., Sanford, R.L., 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest. *Ann. Rev Ecol Syst* 17, 137–167.

- Vogt, K. a, Vogt, D.J., Bloomfield, J. 1998. Analysis of some direct and indirect methods for estimating root biomass and production of forests at an ecosystem level. *Plant Soil*, 200, 71–89. doi:10.1023/a:1004313515294
- Voigtlaender, M. Produção de biomassa aérea e ciclagem de nitrogênio em consórcio de genótipos de *Eucalyptus* com *Acacia mangium*. 2012. 95p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- Voigtlaender, M., Laclau, J.P., de Gonçalves, J.L.M., de Piccolo, M.C., Moreira, M.Z., Nouvellon, Y., Ranger, J., Bouillet, J.P. 2012. Introducing *Acacia mangium* trees in *Eucalyptus grandis* plantations: Consequences for soil organic matter stocks and nitrogen mineralization. *Plant Soil*, 352, 99–111. doi:10.1007/s11104-011-0982-9
- Wang, Z., Guo, D., Wang, X., Gu, J., Mei, L. 2006. Fine root architecture, morphology, and biomass of different branch orders of two Chinese temperate tree species. *Plant Soil*, 288, 155–171. doi:10.1007/s11104-006-9101-8
- Wurzbarger, N., Wright, S.J. 2015. Fine-root responses to fertilization reveal multiple nutrient limitation in a lowland tropical forest. *Ecology*, 96, 2137–2146. doi:10.1890/14-1362.1
- Yamashita, N., Ohta, S., Hardjono, A. 2008. Soil changes induced by *Acacia mangium* plantation establishment: Comparison with secondary forest and *Imperata cylindrica* grassland soils in South Sumatra, Indonesia. *For. Ecol. Manage.* 254, 362–370. doi:10.1016/j.foreco.2007.08.012
- Yuan, Z.Y., Chen, H.Y.H. 2012. Indirect Methods Produce Higher Estimates of Fine Root Production and Turnover Rates than Direct Methods. *PLoS One* 7. doi:10.1371/journal.pone.0048989
- Yunusa, I. a M., Zolfaghar, S., Zeppel, M.J.B., Li, Z., Palmer, A.R., Eamus, D. 2012. Fine Root Biomass and Its Relationship to Evapotranspiration in Woody and Grassy Vegetation Covers for Ecological Restoration of Waste Storage and Mining Landscapes. *Ecosystems*, 15, 113–127. doi:10.1007/s10021-011-9496-9
- Zobel, R.W., Kinraide, T.B., Baligar, V.C. 2007. Fine root diameters can change in response to changes in nutrient concentrations. *Plant Soil*, 297, 243–254. doi:10.1007/s11104-007-9341-2

4. POTENCIAL DE ABSORÇÃO RELATIVO CONTRASTANTE PARA O NITROGÊNIO, POTÁSSIO E CÁLCIO EM FUNÇÃO DA PROFUNDIDADE E DA FERTILIZAÇÃO PARA ÁRVORES JOVENS DE *EUCALYPTUS GRANDIS* (CAPÍTULO 1)

Resumo

Uma especialização funcional das raízes finas foi encontrada para *Eucalyptus grandis* no final da rotação (6 anos de idade) em solos arenosos e argilosos. No entanto, não há informações para eucaliptos jovens sobre o efeito da adubação nesta especialização. Estudamos o potencial de absorção de N, K e Ca para as árvores de *E. grandis* aos dois anos de idade, em função da profundidade do solo e da fertilização em NPK. Injetamos macadores de $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$, Rb^+ (K^+) e Sr^{2+} (Ca^{2+}) simultaneamente em uma solução a 10, 50, 150 e 300 cm de profundidade em um Ferral soil arenoso. Um experimento completo randomizado foi feito com três repetições de pares de árvores por profundidade de injeção, em parcelas fertilizadas e não fertilizadas. As folhas recentemente expandidas foram amostradas aos 70 dias após a injeção dos marcadores. A determinação das concentrações foliares de Rb^+ e Sr^{2+} e a porcentagem de átomos de ^{15}N permitiu estimar o potencial de absorção relativo (PAR). O PAR específico, definido como PARE, foi obtido pela unidade de densidade do comprimento de raízes finas por camada de solo correspondente. Diversas características radiculares foram medidos em cada profundidade de marcação. O PAR de $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$ diminuiu rapidamente com a profundidade e os valores mais altos do PARE de $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$ foram encontrados a uma profundidade de 50 cm. O PARE de Rb^+ e Sr^{2+} foi maior a 300 cm de profundidade em relação à camada superficial do solo, com aumento do diâmetro da raiz e uma diminuição da densidade do tecido radicular com profundidade. O PARE de Rb^+ e Sr^{2+} a 300 cm de profundidade foi, em média, 88% maior para árvores fertilizadas quando comparado com as árvores não fertilizadas. Como as árvores adultas, as raízes finas de árvores jovens de *E. grandis* mostram taxas de absorção potencial contrastantes com profundidade dependendo do nutriente. A fertilização provavelmente aumentou nas camadas profundas do solo a absorção de potássio e cálcio por unidade de comprimento de raiz. Esses resultados sugerem que a especialização funcional das raízes finas para a absorção de nutrientes é uma característica estável do eucalipto que pode ser reforçada pela aplicação de fertilizantes.

Palavras-chave: Raízes finas profundas; *Eucalyptus grandis*; Potencial de absorção de nutrientes; ^{15}N ; Rubidium; Estrôncio; Profundidade do solo; Solo tropical arenoso; Brasil

Abstract

Functional specialization of fine roots was found for *Eucalyptus grandis* at the end of stand rotation (6 years of age) on sandy and clayey soils. However, no information was still available for young *Eucalyptus* trees on the effect of fertilization on this specialization. We studied the potential uptake of N, K and Ca by 2-year-old *E. grandis* trees, as a function of soil depth and NPK fertilization. We injected $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$, Rb^+ (K^+) and Sr^{2+} (Ca^{2+}) tracers simultaneously in a solution at 10, 50, 150 and 300 cm in depth in a sandy Ferral soil. A complete randomized design was set up with three replicates of paired trees per injection

depth, in fertilized and unfertilized plots. Recently expanded leaves were sampled at 70 days after tracer injection. Determination of foliar Rb, Sr concentrations and ^{15}N atom % made it possible to estimate the relative uptake potential (RUP). Specific RUP, defined as SRUP, per unit of fine root length density in the corresponding soil layer. Various root traits were measured at each injection depth. The RUPs of $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ decreased sharply with depth and the highest values of the SRUPs of $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ were found at a depth of 50 cm. The SRUP of Rb^+ and Sr^{2+} were higher at 300 cm in depth than in the topsoil with an increase in root diameter and a decrease in root tissue density with depth. The SRUP of Rb^+ and Sr^{2+} at a depth of 300 cm was on average 88 % higher for fertilized trees than for unfertilized trees. As for mature trees, the fine roots of young *E. grandis* trees show contrasting potential uptake rates with depth depending on the nutrient. Fertilization was likely to increase in deep soil layers the uptake by unit of root length of potassium and calcium. These results suggest that functional specialization of fine roots for nutrient uptake is a stable characteristic of *Eucalyptus* that can be enhanced by fertilization application.

Keywords: Deep fine roots; *Eucalyptus grandis*; Nutrient uptake potential; ^{15}N ; rubidium, strontium; Soil depth; Sandy tropical soil; Brazil

4.1. Introdução

As plantações florestais representaram em 2015 cerca de 291 milhões de hectares (7% das áreas florestais mundiais) (FAO, 2015) e desempenham um papel crescente para satisfazer o aumento da demanda mundial de madeira (Keenan et al., 2015; Paquette and Messier, 2010). As plantações de eucalipto (PE) cobrem cerca de 20 milhões de hectares em todo o mundo e estão se expandindo rapidamente em regiões tropicais e subtropicais para fornecer a matéria-prima para produtos de madeira, papel e biocombustíveis, bem como grandes quantidades de lenha e carvão para uso doméstico (Booth, 2013). *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden é uma das espécies de eucaliptos mais plantadas devido à sua alta produtividade (Stape et al., 2010) e adaptação a vários ambientes (Costa et al., 2016).

A alta produtividade das plantações comerciais de eucalipto no Brasil depende em grande parte do uso de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (Battie-Laclau et al., 2013; Laclau et al., 2010). No entanto, o custo (+ 9% ao ano em média na última década) e os potenciais impactos ambientais negativos dos fertilizantes podem limitar seu uso nas PE no futuro (Brunelle et al., 2015). Os adubos são aplicados em PE na superfície ou enterrados no solo superior. No entanto, quantidades significativas de K e N são lixiviadas e absorvidas por árvores de eucalipto até uma profundidade de 3 m (Laclau et al., 2010). Raízes finas são as raízes que apresentam um diâmetro ≤ 2 mm (Freschet et al., 2017), as quais desempenham um papel importante na captura e transporte de água e de nutrientes necessários para o crescimento das plantas (Adegbidi et al., 2004; McCormack et al., 2015; Pregitzer et al., 2002). As raízes finas da árvore são geralmente mais abundantes nas camadas superficiais do

solo do que na profundidade (Brassard et al., 2009; Laclau et al., 2013; Pinheiro et al., 2016). Raízes finas foram encontradas a 17 m de profundidade aos 3,5 anos após o plantio (Christina et al., 2011). A função fisiológica das raízes finas profundas ainda é questionada (Al Afas et al., 2008; Maeght et al., 2013). A absorção de água pelas raízes profundas da planta é de grande importância especialmente em ambientes mais secos (Maeght et al., 2013) ou durante a estação seca (Christina et al., 2017). No entanto, os processos que controlam a absorção em camadas muito profundas dos íons no solo como NO_3 , K^+ ou Ca^{2+} são ainda pouco compreendidos nos ecossistemas florestais (Binkley, 2015; Hinsinger et al., 2011; Iversen, 2010).

Vários fatores influenciam na absorção de nutrientes das árvores, como a disponibilidade de nutrientes no solo, a mobilidade iônica no solo, as características radiculares ou transportadores de íons radiculares (Chapman et al., 2012; Costa et al., 2016). Taxas contrastantes de potencial de absorção de nutrientes com a profundidade foram encontradas para espécies arbóreas (Göransson et al., 2007; Göransson et al., 2008) no norte da Europa e para *E. grandis* no Brasil (da Silva et al., 2011). As raízes finas de árvores adultas de *E. grandis* exibiram, por unidade de comprimento de raiz, maior capacidade de captação de Rb^+ (análogo de K^+) e Sr^{2+} (análogo de Ca^{2+}) a uma profundidade de 3 m comparado à camada superficial do solo. Em contraste, uma especialização das raízes finas da camada superior do solo na captação de NO_3 foi encontrada. Esses resultados encontrados aos 6 anos de idade foram consistentes na estação seca e úmida, para solos argilosos e arenosos. No entanto, não há informações para árvores jovens, as quais possuem diferentes requisitos nutricionais em relação ao final da rotação do plantio (Laclau et al., 2010). Do mesmo modo, precisamos obter informações sobre o efeito da disponibilidade de nutrientes na especialização funcional das raízes finas, para um determinado solo. A especialização das raízes pode ser explicada por mudanças na atividade de transportadores específicos ou no fluxo de massa do solo para as raízes através de mudanças na condutividade hidráulica da raiz em resposta à concentração de nutrientes (Costa et al., 2016). Os transportadores de alta afinidade na planta, como aqueles para K e N, podem ser ativados com concentrações de nutrientes muito baixas e permitem uma absorção eficiente de nutrientes (Schachtman e Schroeder, 1994; Kiba et al., 2016).

Além disso, até agora, não há características radiculares específicos (CARE) (Prieto et al., 2015) associados à especialização funcional das raízes finas de *Eucalyptus* com a profundidade do solo. A profundidade do solo altera fortemente a disponibilidade de água e nutrientes nas PE em regiões tropicais (Mareschal et al., 2013; Versini et al., 2014). Essa

heterogeneidade no perfil do solo leva à CARE contrastante já que eles são altamente sensíveis à distribuição heterogênea dos recursos (Ostonen et al., 2007; Prieto et al., 2015). Prieto et al (2015) mediram CARE em 20 comunidades de plantas localizadas em três zonas climáticas (tropical, mediterrânea e montana) ao longo de um gradiente de uso da terra. As raízes exibiram diferentes características de CARE (por exemplo, o diâmetro da raiz ou comprimento específico da raiz, CRE) em diferentes profundidades do solo, sugerindo uma diferença na função das raízes e na capacidade de exploração. As raízes com CRE maiores foram encontradas em comunidades menos férteis (Prieto et al., 2015). Pate et al. (1995) mostraram que para espécies australianas as raízes profundas tinham condutividades até 15 vezes maior do que na camada superficial do solo, o que poderia ajudar a explicar a capacidade do *Eucalyptus* em explorar eficientemente as camadas profundas, apesar das densidades de raiz seem muito baixas.

O estudo propôs avaliar a absorção potencial de N, K e Ca em árvores de *E. grandis* aos 20 meses de idade em função da profundidade do solo e da aplicação de fertilizantes. Foram injetados marcadores de $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} simultaneamente perto de um par de árvores, nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm em parcelas fertilizadas com NPK e não fertilizadas. Os pares de árvores estavam localizados a mais de 16 m de distância. A capina química foi realizada regularmente durante o primeiro ano de crescimento. A remoção das ervas daninhas ao redor das árvores foi feita manualmente antes da injeção dos traçadores.

Nós hipotetizamos que: i) a taxa de absorção potencial relativa (por unidade de comprimento) é maior para Rb^+ e Sr^{2+} em relação ao $\text{NO}_3^-^{15}\text{N}$ nas camadas profundas do solo, ii) a especialização das raízes finas de eucalipto para a captação de nutrientes aumenta com a fertilização.

4.2. Material e métodos

4.2.1 Local de estudo

O estudo foi realizado na Estação Experimental de Itatinga, da Universidade de São Paulo (23 ° 02'S, 48 ° 38'W), localizada a 860 m de altitude. Ao longo dos 15 anos anteriores ao plantio, a precipitação média anual foi de 1.360 mm. A estação fria e seca ocorre de junho a setembro. De acordo com o sistema de classificação da FAO os solos são Ferralsols muito profundos (FAO, 2014) desenvolvidos em arenito do Cretáceo com um lençol freático a uma

profundidade de 17 m (Christina et al., 2011). O teor de areia é de cerca de 85% na camada superior do solo e cerca de 75-80% entre 1 a 15 m de profundidade (Maquere et al., 2008). As análises químicas do solo até uma profundidade de 3 m são apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 - Principais atributos físicos e químicos do solo no local do experimento.

Profundidade (cm)	Argila	Silte	Areia total	N	C	pH	P	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC
	(%)					CaCl ₂	mg kg ⁻¹	mmol _c kg ⁻¹					
0-20	23.4±2.2	5.75±0.2	70.81±2.3	0.037±0.002	0.58±0.09	3.73±0.04	4.30±0.45	83.82±8.09	0.43±0.04	1.02±0.10	0.65±0.03	2.10±0.1	102.19±10.24
40-60	23.98±2.4	3.88±0.5	72.13±2.8	0.025±0.002	0.39±0.04	3.88±0.03	3.05±0.35	48.65±2.6	0.28±0.02	0.88±0.05	0.62±0.03	1.78±0.06	50.44±2.69
100-200	29.02±2.7	4.42±0.3	66.57±3.0	0.016±0.0002	0.23±0.04	4.04±0.03	2.07±0.26	30.64±1.8	0.19±0.02	0.77±0.04	0.62±0.03	1.58±0.06	32.22±1.84
200-300	31.08±2.3	5.02±0.4	63.95±2.4	0.009±0.00	0.13±0.02	4.19±0.03	2.15±0.28	24.64±2.1	0.18±0.02	0.80±0.06	0.62±0.03	1.60±0.07	26.24±2.14

O teor total de N e orgânico de C foram analisados no analisador de solo CN (Flash 2000 Organic elemental analyzer). P foi determinado por Mehlich-1 e colorimetria; K foi determinado por Mehlich-1 e fotometria; Ca e Mg foram determinados por extração de KCl e absorção atômica; SB, soma das bases; CTC, capacidade de troca catiônica. Os erros padrão são para C, N e análise física (n = 6) e para análise química (n = 24).

4.2.2 Design experimental

O experimento foi realizado em blocos completos casualizados com três blocos e dois tratamentos. As mudas foram plantadas em uma densidade de 1111 árvores ha⁻¹ (espaçamento de 3 m x 3 m) em maio de 2014. Cada parcela tinha uma área total de 48 m x 48 m e um gráfico interno de 36 m x 36 m com duas linhas de borda. Dentro de cada bloco havia parcelas de *E. grandis* sem (F-) ou com fertilização (F+) aplicada no plantio: 125 kg ha⁻¹ P, 121 kg ha⁻¹ N, 136 kg ha⁻¹ K, 45 kg ha⁻¹ borogran (B) e 30 kg ha⁻¹ FTE (micronutrientes) (Apêndice A). Ensaios fatoriais de fertilização feitos no local do estudo mostraram que as quantidades de nutrientes aplicadas não eram limitantes para o crescimento do eucalipto (Laclau et al., 2009). Os fertilizantes foram aplicados no solo no pé das árvores. Valores maiores das concentrações foliares em N e K foram encontrados nas árvores fertilizadas em relação a não fertilizadas (Apêndice B). O estudo foi realizado em janeiro de 2016, aos 20 meses de idade durante o período chuvoso. Os traçadores foram aplicados a quatro profundidades (ex. 10, 50, 150 e 300 cm) em cada bloco, em ambos os tratamentos. Para cada profundidade, os traçadores NO₃⁻¹⁵N, Rb⁺ e Sr²⁺ foram injetados em sete pontos em torno de dois eucaliptos vizinhos apresentando a mesma área basal que a média da parcela (da Silva et al., 2011). A posição dos pontos foi de ¼ (0,75 m) e ½ (1,5 m) da inter-linha em ambos os lados da linha de plantio, no meio da distância (1,5 m) das duas árvores amostradas na linha de plantação e no meio da distância (1,5 m) dos dois vizinhos mais próximos na linha de plantio (Figura 3). Os pares de árvores estavam localizados a mais de 16 m de distância para evitar o contato das raízes (Apêndice A). O teor de água gravimétrica não era significativamente diferente entre os tratamentos, independentemente das profundidades (Apêndice C).

Figura 3 - Layout das posições em que os marcadores foram injetados para cada profundidade e cada par de árvores amostradas. As amostras de folhas foram coletadas do mesmo par de árvores (adaptado de da Silva et al., 2011).

4.2.3 Aplicação dos marcadores

Uma solução marcada foi preparada em laboratório um dia antes da aplicação. RbCl (100 g), SrCl_2 (215 g) e $\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ (10% de átomos de NO_3^{15}N) (652 g) foram dissolvidos em 3360 ml de água destilada. A solução foi mantida a 4 °C até a aplicação no campo. Os pontos de aplicação foram perfurados com um trado de aço inoxidável de 35 mm de diâmetro. Um tubo de PVC de 25 mm de diâmetro foi inserido em cada ponto perfurado para evitar a contaminação das camadas do solo durante a aplicação dos marcadores. Um tubo de polietileno de 4 mm de diâmetro conectado a uma barra de ferro foi inserido no tubo de PVC e 20 ml da solução marcada foram injetados na profundidade selecionada. Em seguida, injectou-se 10 ml de água destilada para enxaguar a seringa e o tubo de polietileno. Em cada posição, injetamos 0,42 g de Rb^+ ; 0,42 g de Sr^{2+} e 0,07 g de ^{15}N . A concentração dos marcadores nos 30 ml de solução injetada foi de 0,16 M para Rb^+ , Sr^{2+} e NO_3^{15}N e 1,50 M para N (Apêndice D). Finalmente, os pontos perfurados foram preenchidos com o solo removido durante a perfuração, respeitando a ordem original dos horizontes do solo (da Silva et al., 2011).

4.2.4 Amostragem e análises

4.2.4.1 Amostragem foliar

As folhas jovens completamente expandidas foram coletadas a partir da metade superior da copa de cada par de árvore amostrada (altura total média de 10,2 m para F+ e 7,2 m para F-). As concentrações dos valores de fundo de átomos de Rb^+ e Sr^{2+} e ^{15}N , bem como as concentrações de N, P, K e Ca foram estimadas para cada par de árvores (48 árvores no total) por amostragem de 10 folhas por árvore antes da aplicação dos marcadores. Foram coletadas quarenta folhas (20 por árvore) para cada par de árvore, 70 dias após a aplicação dos marcadores (da Silva et al., 2011) (Apêndice E). As folhas foram lavadas em água desionizada, secas durante três dias a 65 °C e armazenadas em frascos de acrílico lacrados até a análise química e isotópica. O ^{15}N (% de átomos) e a concentração de N foram determinados com um espectrômetro de massa 20-20 Hydra acoplado a um analisador automático de N (ANCA-GSL, SERCON Co., Crewe, UK) a partir de 10 mg de matéria seca de pó foliar (da Silva et al., 2011). As concentrações de Rb^+ e Sr^{2+} foram estimadas por espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS Agilent Technologies, Tóquio, Japão) usando 0,5 g de pó de folha digerido em uma mistura de 5 ml de ácido nítrico (16 M) e 1 ml de ácidos perclorato (12 M) (da Silva et al., 2011). O limite de detecção para Rb^+ e Sr^{2+} foi de 0,018 e 0,020 mg kg⁻¹, respectivamente. O desvio padrão relativo foi inferior a 0,5%. A precisão das medidas de isótopos foi de 0,001% de átomo de ^{15}N .

4.2.4.2 Amostragem radicular

As raízes finas (diâmetro <2 mm) foram amostradas em março de 2016 aos 22 meses de idade em cada bloco nos tratamentos F+ e F-. As amostras de solo foram coletadas em quatro posições em torno de quatro árvores distribuídas aleatoriamente, correspondendo a área basal média do plantio (quatro posições de amostragem por tratamento e bloco). Em cada posição de coleta, as camadas de solo 0-20, 40-60, 130-170 cm foram coletadas usando um trado manual cilíndrico com um diâmetro interno de 4,5 cm. Nos mesmos pontos de coleta, a camada de solo entre 280 e 320 cm foi coletada usando um trado mecanizado cilíndrico com um diâmetro interno de 9 cm, empregando a mesma metodologia utilizada por Christina et al. (2011). Cada amostra de solo foi pesada em laboratório (Apêndice F1) e o teor de água do solo foi medido (secando 10 g de solo a 105 °C por 72 horas). Cada amostra de solo foi

homogeneamente misturada antes de ser dividida em duas sub-amostras que representam aproximadamente 10% e 90% da massa total do solo. Todas as raízes foram cuidadosamente lavadas sob água da torneira usando peneiras (com tamanhos de malha de 0,50 a 1,19 mm) (Apêndices F2, F3 e F4) para retirar o solo (Cornelissen et al., 2003). Todas as raízes com um comprimento > 1 cm foram retiradas de ambas as amostras do solo (Apêndice G1). As raízes mortas foram descartadas. As raízes vivas apresentam uma cor mais clara em relação às raízes mortas, estela branca (parte central da raiz) e são flexíveis (retornando à sua forma original quando envergadas). A sub-amostra de 10% foi utilizada para estimar a massa de raízes extremamente finas (com menos de 1 cm de comprimento). Todas as raízes finas vivas (comprimento > 1 cm em ambas as amostras do solo) foram digitalizadas (resolução de 800 dpi) e o comprimento e as áreas das raízes foram estimadas usando o software WinRHIZO Version Pro V.2009c (Regent Instruments, QC, Canadá) (Apêndice G2).

As raízes finas foram secas a 65 °C durante 72 h e pesadas ($\pm 0,1$ mg), as massas secas, comprimento e área de raízes finas foram utilizadas para estimar o comprimento específico da raiz (CRE, relação entre o comprimento das raízes finas digitalizadas e sua massa seca), a área de raiz específica (ARE, relação entre a área de raízes finas escaneadas e sua massa seca) e o diâmetro das raízes (Maurice et al., 2010), para cada camada do solo, posição de amostragem, tratamento e bloco (96 amostras no total). A densidade de raiz fina (DRF) foi calculada dividindo a massa seca da raiz pelo peso seco da amostra do solo. Em cada amostra de solo, a densidade do comprimento de raiz (DCR) e a densidade da área de raiz (DAR) foram calculadas multiplicando o peso total da massa seca das raízes pelo CRE e ARE, respectivamente. As densidades do solo em cada camada foram medidas em uma trincheira até uma profundidade de 3 m em cada tratamento e em cada bloco, as quais foram utilizadas para converter as densidades de raízes finas expressas em g de raiz por kg de solo, em g de raiz por dm^3 de solo em cada camada. O índice de área radicular (IAR) foi calculado em cada camada do solo, multiplicando a densidade da área de raiz pela espessura da camada do solo. A densidade do tecido radicular (DTR) foi calculada pela razão da massa entre volume de acordo com Wurzburger e Wright (2015).

4.2.4.3 Cálculo do PAR e PARE

As concentrações foliares de Rb^+ e Sr^{2+} e a percentagem de átomos de ^{15}N foram analisadas para todas as amostras de cada tratamento nos 3 blocos. O potencial de absorção relativo (PAR) foi calculado de acordo com da Silva et al. (2011):

$$\text{PAR}_{ip} (\%) = (T_{ip} - T_{i0}) / [(T_{i10} - T_{i0}) + (T_{i50} - T_{i0}) + (T_{i150} - T_{i0}) + (T_{i300} - T_{i0})] \times 100 \quad (1)$$

Sendo PAR_{ip} o PAR do marcador i na profundidade p , T_{ip} a concentração foliar (Rb e Sr) ou percentagem de átomos (^{15}N) do marcador i na profundidade p , T_{i0} o valor de fundo da concentração foliar (Rb e Sr) ou percentagem de átomos (^{15}N), and T_{i10} , T_{i50} , T_{i150} , T_{i300} as concentrações foliares (Rb e Sr) ou percentagem de átomos (^{15}N) do marcador i nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm.

O potencial de absorção relativo específico (PARE) foi calculado em cada bloco para cada tratamento (da Silva et al., 2011):

$$\text{PARE}_{ip} (\% \text{ cm}^{-1} \text{ cm}^3) = \text{PAR}_{ip} / \text{DCR}_p \quad (2)$$

Sendo PARE_{ip} o PARE do marcador i na profundidade p e DCR_p foi a densidade de comprimento de raiz na profundidade p .

Para cada tratamento, cada profundidade e cada bloco, os valores médios de DCR ($n = 4$) foram calculados nos 10 cm acima e abaixo das profundidades de 10 cm e 50 cm, e nos 20 cm acima e abaixo das profundidades de 150 e 300 cm para levar em consideração a menor densidade de raízes finas em camadas de solo mais profundas.

4.2.4.4 Análise estatística

Os modelos lineares generalizados (MLG) com distribuição binomial e função log-link foram utilizados para: 1) avaliar o efeito da profundidade e da fertilização nas distribuições das raízes finas, características radiculares, PAR e PARE, e 2) comparar o PAR e PARE dos três marcadores ($\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ , Sr^{2+}) ao longo do perfil do solo. O significado dos efeitos principais e das interações foi realizado por comparações de modelos agrupados usando testes de verossemelhança (Zuur et al., 2009). Para a distribuição das raízes e características radiculares (12 repetições), a profundidade foi introduzida nos modelos como variável categórica e foram realizados testes de Wald pós-hoc para avaliar as diferenças entre os tratamentos ou entre os marcadores nos diferentes níveis de profundidade. Para PAR e PARE (três repetições), a profundidade foi introduzida nos modelos como variável contínua para

aumentar os graus de liberdade e poder estatístico do modelo, conforme recomendado em pequenas análises de conjuntos de dados (Zuur et al., 2009). Nesse caso, as variáveis dependentes foram transformadas em log quando necessário para linearizar as interações, e os testes pós-hoc sobre a significância do efeito profundidade foram realizados usando os testes t de Student. A homoscedasticidade e a normalidade de todos os resíduos do modelo foram avaliadas utilizando os testes de Levene e os testes de Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. As análises foram realizadas usando a versão de software R 3.2.2 (R development Core Team 2013).

4.3. Resultados

4.3.1 Distribuição das raízes finas

A densidade de raiz fina (DRF) foi significativamente influenciada pela profundidade ($F = 321,8$; $P < 0,01$), mas não pela fertilização. A DRF diminuiu rapidamente de 10 a 50 cm de profundidade com valores médios de $0,93 \cdot 10^{-3}$ e $0,14 \cdot 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$, respectivamente (Figura 4a), e depois mais lentamente com valores médios de $0,13 \cdot 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$ a 150 cm e $0,06 \cdot 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$ a 300 cm. Houve uma interação significativa entre a profundidade e a fertilização ($F=22,09$; $P<0,01$) resultado de uma DRF significativamente maior a 150 cm de profundidade para as árvores fertilizadas (F+) em relação a não fertilizadas (F-) ($W=-3,19$; $P<0,01$), sendo o oposto encontrado a uma profundidade de 300 cm ($W=3,5$; $P<0,001$). A densidade do comprimento de raiz (DCR) foi significativamente influenciada pela profundidade ($F=484,6$; $P<0,01$) e fertilização ($F=5$; $P<0,05$). Como o DRF, o DCR diminuiu rapidamente de 10 a 50 cm de profundidade e em seguida mais lentamente até 300 cm de profundidade (Figura 4c). Os DCR nas profundidades 50, 150 e 300 cm representaram em média 13%, 8% e 3% da DCR a 10 cm de profundidade. Os DCR foram 26% maiores, em média, no F+ em relação ao F-, com diferenças significativas entre os tratamentos a 50 ($W=-2,38$; $P<0,02$) e 150 cm de profundidade ($W=-2,13$; $P<0,05$). Uma interação significativa entre a fertilização e a profundidade ($F=7,58$; $P=0,05$) foi o resultado de um menor DCR para F+ em relação F- a 300 cm, com valores médios de 0,08 e 0,10 cm cm^{-3} , respectivamente. O índice de área da raiz (IAR) foi significativamente influenciado pela profundidade ($F=321,87$; $P<0,01$), mas não pela fertilização. No entanto, os valores de IAR foram 21% maiores em F+ ($7,59 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$) em relação a F- ($6,27 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$), com cerca de 70% da IAR total observado na camada de solo 0-20 cm em ambos os tratamentos (Figura 4e). Uma interação significativa entre a

profundidade e a fertilização ($F=22,09$; $P<0,01$) foi o resultado de um IAR significativamente maior a 150 cm para F+ em relação a F- ($W=-2,58$; $P<0,02$), sendo o oposto encontrado a 300 cm de profundidade ($W=2,8$; $P<0,01$).

4.3.2 Características radiculares

O comprimento de raiz específico (CRE) foi significativamente influenciado pela profundidade ($F=16,82$; $P<0,01$) e fertilização ($F=9,31$; $P<0,01$). Os valores de CRE foram em média 32 m g^{-1} a 10-50 cm e 23 m g^{-1} a 150-300 cm (Figura 4b). Os valores de CRE foram sempre maiores em F+ em relação a F-, com diferença significativa a 300 cm de profundidade. A interação significativa entre a profundidade e a fertilização ($F=10,12$; $P<0,02$) foi o resultado de maior variação do CRE com a profundidade em F+ em relação a F-. A área de raiz específica (ARE) foi significativamente influenciada pela fertilização ($F=4,84$; $P<0,05$), mas não pela profundidade. Em média, os valores de ARE foram $270 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ em F+ e $236 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ em F-, com valor significativamente maior para F+ a 300 cm de profundidade ($W=-3,45$; $P<0,001$) (Figura 4d). A interação significativa entre a fertilização e a profundidade ($F=9,48$; $P<0,05$) foi o resultado de um ARE inferior para F+ em relação a F- na profundidade 150 cm.

O diâmetro de raiz fina foi significativamente influenciado pela profundidade ($F=44,65$; $P<0,01$). Observou-se uma tendência geral de aumento do diâmetro com a profundidade para ambos os tratamentos, com valores médios de 0,29 mm a 10-50 cm e 0,39 mm a 150-300 cm (Figura 4f). Não houve efeito significativo da adubação para o diâmetro de raiz fina. No entanto, os diâmetros foram, em média, 0,36 mm para F+ e 0,48 mm para F-, com valor significativamente maior para F- a 300 cm de profundidade ($W=-4,24$; $P<0,001$). A interação significativa entre a fertilização e a profundidade ($F=11,63$; $P<0,01$) foi o resultado de um valor de diâmetro menor para F- a 150 cm de profundidade ($W=3,28$; $P<0,001$). A densidade do tecido radicular (DTR) foi significativamente influenciada pela profundidade ($F=26,294$; $P<0,001$), com valores decrescentes até 300 cm de profundidade para ambos os tratamentos (Figura 5). Não houve um efeito significativo da fertilização, no entanto, foi encontrado valores significativamente maiores para F- em relação a F+ aos 300 cm de profundidade. Não houve interação significativa entre a profundidade e a fertilização para a DTR.

Figura 4 - Mudança com a profundidade do solo na densidade de raiz fina (a), comprimento de raiz específico (b), densidades de comprimento radicular (c), área de raiz específica (d), índice de área radicular (e) e diâmetro da raiz fina (F) para árvores fertilizadas (F+) e não fertilizadas (F-). Para cada tratamento em uma camada de solo individual, os asteriscos * denotam diferença significativa ($p < 0,05$) entre F+ e F- nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm. Os erros padrão são indicados ($n = 12$).

Figura 5 - Mudança com a profundidade na densidade de tecido radicular para árvores fertilizadas (F+) e não fertilizadas (F-). Os erros padrão são indicados (n = 3).

4.3.3 Potencial de absorção relativo (PAR) dos marcadores

O PAR de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ foi significativamente influenciado pela profundidade da marcação para as árvores fertilizadas ($t=-5,18$; $P<0,001$) e não fertilizadas ($t=-8,35$; $P<0,001$) (Figura 6a). O PAR de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ foi 16 vezes maior a 10 cm em relação a 300 cm de profundidade, com valor médio de 63 e 4%, respectivamente (Figura 6a). O PAR de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ não foi significativamente influenciado pela fertilização. A interação significativa entre a profundidade e a fertilização ($D=5,28$; $P<0,05$) foi resultado de um PAR menor para F+ em relação a F- a 10 cm, com valores médios de 59 e 67%, respectivamente, sendo o oposto a 300 cm de profundidade com 5 e 2%. Os PAR de Rb^+ e Sr^{2+} não foram significativamente influenciados pela profundidade e fertilização, não ocorrendo interações significativas entre os dois fatores. No entanto, os valores de PAR de Rb^+ e Sr^{2+} foram maiores a 300 cm de profundidade em F+ em relação a F-, com valores médios de 29 e 35% em comparação com 12 e 25%, respectivamente. O PAR foi significativamente maior para $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ quando comparado com Sr^{2+} a 10 cm de profundidade para F- ($W=3,16$; $P<0,01$), com valores médios de 67 e 16%, respectivamente (Figuras 6a e 6e). O PAR de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ foi significativamente maior quando comparado com Rb^+ a 50 cm de profundidade em F+ ($W=3,41$; $P<0,01$). O

PAR foi significativamente menor em F+ e F- para $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ em relação a Rb^+ a 150 cm de profundidade ($W=-2,67$; $P<0,05$ e $W=-2,22$; $P<0,01$, respectivamente) e a 300 cm de profundidade ($W=-4,42$; $P<0,001$ e $W=-3,78$; $P<0,001$, respectivamente). O PAR foi significativamente menor em F+ e F- para $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ quando comparado com Sr^{2+} a 150 cm de profundidade ($W=-2,8$; $P<0,05$ e $W=-3,13$; $P<0,01$, respectivamente) e 300 cm ($W=-4,87$; $P<0,001$ e $W=-4,02$; $P<0,001$, respectivamente). Os PAR de Rb^+ e Sr^{2+} não foram significativamente diferentes, independentemente da profundidade de injeção do marcador.

Figura 6 - Potencial de absorção relativo (PAR) (a, c, e) e potencial de absorção relativo específico (PARE) (b, d, f) de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm para as árvores fertilizadas e não fertilizadas. Os PAR e PAREs foram calculados 70 dias após a injeção dos marcadores. Os erros padrão são indicados ($n = 3$).

4.3.4 Potencial de absorção relativo específico (PARE) dos marcadores

O PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ não foi significativamente influenciado pela profundidade de injeção e fertilização. No entanto, os valores médios dos PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ foram 37% maiores a 10-50 cm ($48\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$) em relação a 150-300 cm ($35\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$) (Figura 6b). O PARE de Rb^+ foi significativamente influenciado pela profundidade em F+ ($t=-4,29$; $P<0,001$), com valores crescentes com a profundidade de aplicação, mas não em F- (Figura 6d). Os valores médios do PARE de Rb^+ foi $39\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$ a 10-50 cm e $155\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$ a 150-300 cm (Figura 6d). O PARE de Rb^+ foi quase significativamente influenciado pela fertilização ($D=3,18$; $P<0,07$). A interação entre a fertilização e a profundidade de injeção ($D=3,18$; $P<0,07$) foi principalmente o resultado do menor valor para o PARE de Rb^+ a 50 cm de profundidade para F+ ($24\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$) em relação a F- ($103\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$), sendo o oposto encontrado a 300 cm de profundidade, com valores médios de 325 e $138\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$, respectivamente. O PARE de Sr^{2+} foi significativamente influenciado pela profundidade de injeção tanto para as árvores fertilizadas ($t=-5,32$; $P<0,001$) como para as não fertilizadas ($t=-3,46$; $P<0,001$). Os valores médios do PARE de Sr^{2+} foram $37\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$ a 10-50 cm e $208\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$ a 150-300 cm (Figura 6f). Não houve interação significativa entre a profundidade e a fertilização. No entanto, o PARE de Sr^{2+} a 50 cm de profundidade foi menor para F+ ($38\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$) quando comparado com F- ($95\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$), sendo o oposto a 300 cm de profundidade com valores médios de 398 e $247\% \text{ cm}^{-1}\text{cm}^3$, respectivamente. O PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ foi significativamente maior em relação ao PARE de Sr^{2+} a 10 cm de profundidade para F- ($W=2,53$; $P<0,05$) e superior ao PARE de Rb^+ a 50 cm de profundidade para F+ ($W=2,69$; $P<0,05$) (Figura 7). O PARE de Rb^+ foi significativamente maior quando comparado com o PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ a 150 ($W=-2,93$; $P<0,01$) e 300 cm ($W=-3,99$; $P<0,001$) para F+ e a 300 cm de profundidade para F- ($W=-2,94$; $P<0,01$). O PARE de Sr^{2+} foi significativamente maior que $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ para F+ e F- a 150 cm de profundidade de 150 ($W=-2,29$; $P<0,05$ e $W=-2,61$; $P<0,05$, respectivamente) e a 300 cm ($W=-4,45$; $P<0,001$ e $W=-4,02$; $P<0,001$, respectivamente). Os PARE de Rb^+ e Sr^{2+} não foram significativamente diferentes, independentemente da profundidade de injeção dos marcadores.

Figura 7 - Potencial de absorção relativo específico (PARE) de NO₃⁻¹⁵N, Rb⁺ e Sr²⁺ nas profundidades 10, 50, 150 e 300 cm para árvores as fertilizadas (direita) e não fertilizadas (esquerda). Os PAREs foram calculadas 70 dias após a injeção dos marcadores. Os erros padrão são indicados (n = 3).

4.4. Discussão

4.4.1 Especialização funcional das raízes finas

Os resultados estão de acordo com a nossa primeira hipótese de uma especialização funcional das raízes finas jovens de *E. grandis* em relação à profundidade do solo, como observado anteriormente em árvores *E. grandis* de 6 anos na mesma região (da Silva et al., 2011). A absorção de marcadores por árvores de *E. grandis* até 3 m de profundidade aos 20 meses de idade foi consistente com a rápida exploração do solo pelas raízes finas que podem atingir uma profundidade de 9 a 13 metros aos 18 meses de idade (Pinheiro et al., 2016). A diminuição acentuada da DRF e da DCR com a profundidade, como observado nas plantações de eucaliptos, independentemente da idade das árvores (Christina et al., 2011; Pinheiro et al., 2016) foi consistente com o decréscimo com a profundidade do PAR de NO₃⁻¹⁵N, conforme encontrado para as árvores adultas (da Silva et al., 2011) e para outras espécies de árvores de floresta tropical (Gathumbi et al., 2003; Soethe et al., 2006). No entanto, os PAR de Rb⁺ e Sr²⁺ não foram significativamente afetados pela profundidade de injeção, ao contrário do estudo realizado por da Silva et al. (2011) no final da rotação do plantio. Este padrão sugere

uma especialização marcada das raízes finas profundas de *Eucalyptus* para absorção dos análogos de K^+ e Ca^{2+} no início da rotação.

As distribuições dos PARES de Rb^+ e Sr^{2+} foram de acordo com a nossa hipótese, com valores significativamente maiores a 300 cm em relação a 10 e 50 cm de profundidade para ambos os marcadores (Figuras 6d e 6f). Os maiores PARE em profundidade por Rb^+ e Sr^{2+} foram consistentes com os maiores diâmetros de raízes finas (Figura 4f) e, portanto, potencialmente maior capacidade de absorção de nutrientes através do córtex radicular e da associação com micorrizas e da capacidade de transporte na estela radicular (Guo et al., 2008; Kong et al., 2017). Wang et al. (2015) mostraram que o diâmetro de raízes de primeira ordem de 3 espécies arbóreas de região temperada aumentou com a profundidade e apresentou diferenças na estrutura do xilema. As raízes profundas tinham uma estela mais espessa, uma conduta máxima mais alta e um maior número vasos condutores por estela do que as raízes da superfície. Essas características levaram a uma maior condutividade hidráulica teórica das raízes profundas, aumentando sua eficiência no transporte de água e nutrientes. A diminuição da densidade do tecido radicular com a profundidade (Figura 5) pode levar a uma maior condutividade hidráulica específica da raiz, como encontrado em espécies australianas de árvores e arbustos (Pate et al., 1995). Uma alta condutividade hidráulica específica de raiz pode alterar o fluxo de massa do solo para as raízes, e assim aumentar a absorção de nutrientes em camadas profundas do solo quando comparado com a superfície (Costa et al., 2016). O fluxo de massa do solo para a raiz é maior em F + devido ao menor valor de DTR e a maior transpiração das árvores com fertilização. Esse padrão poderia também ser consistente com diâmetros maiores dos vasos do xilema das raízes finas na profundidade em relação a camada superficial do solo observado em povoamentos próximos de *E. Grandis* (dados não publicados). O CRE é frequentemente relacionado positivamente com a eficiência de absorção de nutrientes (McCormack et al., 2012), um alto CRE representa um maior volume de solo explorado por unidade de carbono investido e uma maior capacidade de exploração do solo e assim, de nutrientes (Freschet et al., 2017; Maurice et al., 2010; Ryser, 2006; Eissenstat et al., 2000). No entanto, o CRE, que está relacionada à massa da raiz, não foi preciso para estimar o PARE, que está relacionado ao comprimento da raiz, conforme ilustrado pelos valores menores de CRE em profundidade. Mudanças na atividade específica dos transportadores também podem explicar a especialização da raiz em profundidade para Rb^+ (Costa et al., 2016). O valor médio do PARE encontrado para Rb^+ e Sr^{2+} a 300 cm foi 40% maior nesse estudo que aos 63 meses em um solo de textura similar (solo arenoso) em que o traçador foi injetado no verão (da Silva et al., 2011). Esse resultado sugere uma maior

especialização das raízes finas profundas na absorção de Rb^+ e Sr^{2+} nos primeiros anos de crescimento do eucalipto, quando os requisitos nutricionais das árvores são maiores do que no final da rotação (Laclau et al., 2010).

Uma especialização na absorção de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ também foi provável, com valores maiores de PAR na camada superficial do que na profundidade (Figura 6a). No entanto, os valores médios do PARE de Rb^+ e Sr^{2+} a 300 cm de profundidade ($277\% \text{ cm cm}^{-3}$) foram 5,8 vezes maiores que o de PARE de NO_3^- a 10-50 cm ($48\% \text{ cm cm}^{-3}$), sugerindo uma maior especialização da raiz fina na absorção de Rb^+ e Sr^{2+} em camadas profundas do solo em relação ao $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ na superfície. Esse padrão poderia estar parcialmente ligado à alta densidade das raízes finas nas camadas superficiais, as quais são duas vezes maiores aos 20 meses do que aos 63 meses (da Silva et al., 2011), enquanto que os valores de DCR a 300 cm não diferiram significativamente. O valor médio do PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ a 10-50 cm em nosso estudo foi de $48\% \text{ cm cm}^{-3}$ e de $69\% \text{ cm cm}^{-3}$ para a marcação feita no verão no final da rotação (da Silva et al., 2011). Os altos valores de DCR e/ou DRF provavelmente não foram capazes de aumentar a captação de NO_3^- devido as zonas sobrepostas de depleção (Andrews e Newman, 1970; Maeght et al., 2013). A baixa especialização das raízes finas para a absorção de NO_3^- na camada superficial em relação à profundidade para Rb^+ e Sr^{2+} também pode estar relacionada a variação do pH ao longo do perfil do solo. Garnett e Smethurst (1999) descobriram que o baixo pH levou a uma maior absorção de NH_4^+ das raízes finas de *Eucalyptus nitens* (200% maior para o pH4 do que para o pH6), mas não a absorção de nitrato. Em nosso estudo, os valores de pH aumentaram com a profundidade (Tabela 3) conforme observado por Pradier et al. (2016) em uma plantação de eucalipto próxima. Esta maior potencialidade de absorção de NH_4^+ nas camadas superficiais do solo comparado à profundidade pode resultar na redução da especialização de absorção de NO_3^- a 10-50 cm de profundidade.

O efeito da profundidade no PARE para um determinado marcador e as diferenças entre os marcadores para uma determinada profundidade em nosso estudo foram comprovados e consistentes para as árvores fertilizadas e não fertilizadas. Esses resultados confirmam fortemente a hipótese de que há uma especialização funcional das raízes em plantações jovens de eucalipto.

4.4.2 Fertilização melhora a especialização funcional das raízes finas ao longo das camadas de solo

A fertilização na plantação levou a valores maiores de DRF, DCR e IAR ao longo do perfil do solo para as árvores fertilizadas quando comparado com as não fertilizadas, exceto a 3 m de profundidade (Figuras 4a, 4c e 4e). A aplicação de fertilizantes em plantações de eucaliptos em solo arenoso leva a um aumento das concentrações de nutrientes nas soluções do solo até 3 m de profundidade ao longo dos dois anos após o plantio (Laclau et al., 2010, 2002; Silva et al., 2013). As mudanças de DRF com a fertilidade do solo ainda são controversas (Nadelhoffer, 2000). A maioria dos estudos relatou uma diminuição da DRF com a fertilidade do solo (Aber et al., 1985; Coomes e Grubb, 2000; Vanninen e Makela, 1999; Yuan e Chen, 2010). No entanto, nenhum efeito (Leuschner et al., 2004) ou maior biomassa de raiz fina (George et al., 1997) podem ser observados quando a fertilidade do solo aumenta. As diferenças entre F+ e F- em relação ao PAR de Rb^{+} e Sr^{2+} não refletiram as mudanças na DRF, DCR e no IAR com a profundidade do solo. A 300 cm de profundidade os valores de DRF, DCR e IAR foram menores para as árvores fertilizadas em relação as não fertilizadas. No entanto, os PAR de Rb^{+} e Sr^{2+} foram 140% e 40% maiores para F+ do que para F-, sugerindo uma maior capacidade das raízes finas das árvores fertilizadas para absorver esses dois marcadores.

De acordo com à nossa segunda hipótese, os PARE de Rb^{+} e Sr^{2+} foram, em média, 136% e 61% maiores para F+ quando comparado com F- a 300 cm de profundidade respectivamente, mostrando que a fertilização provavelmente aumentou a especialização das raízes finas profundas para absorver os análogos de K^{+} e Ca^{2+} . Valores significativamente menor de DTR em F+ em relação a F- em profundidade podem levar a uma maior condutividade hidráulica específica das raízes finas para árvores fertilizadas e, portanto, a uma maior absorção Rb^{+} e Sr^{2+} por unidade de comprimento da raiz. Esta característica contrabalança o potencial de condutividade hidráulica inferior resultante do menor diâmetro da raiz a uma profundidade de 3 m em F+ do que em F-.

O PARE de Sr^{2+} a 3 m de profundidade também foi reforçado pela fertilização com NPK e micronutrientes, enquanto que o cálcio não está limitando o crescimento de *Eucalyptus* na região de estudo, ao contrário do N e K (Gonçalves et al., 2013). Este resultado sugere que um melhor estado nutricional geral da planta aumenta os mecanismos de aquisição de nutrientes pelos eucaliptos. Rowe et al., (2008) mostraram que as concentrações de P e K nos tecidos de *Calluna vulgaris* aumentaram ao longo de um gradiente de deposição de N,

mostrando que a aquisição de outros nutrientes pelas plantas foi limitada pelo N. Os autores mostraram que as elevadas concentrações de P e K foi resultado, possivelmente, de uma aquisição melhorada pela produção adicional de enzimas ou pela atividade micorrízica. A condutividade hidráulica específica da raiz de *E. grandis* crescendo em vasos foi maior quando houve uma alta disponibilidade localizada de P em relação ao baixo suprimento de P, levando a maior captação de água e nutrientes (Costa et al., 2016).

Em conclusão, as taxas de absorção potencial de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$, Rb^+ e Sr^{2+} em *E. grandis* com a profundidade foram observadas aos dois anos, conforme encontrado aos seis anos de idade (da Silva et al., 2011). Essa especialização funcional das raízes finas, reforçada pela fertilização feita no início da plantação deve melhorar a absorção de potássio e cálcio nas camadas profundas do solo contribuindo para quantidades muito baixas de cátions perdidas por drenagem profunda em plantações de eucaliptos, mesmo nos plantios altamente fertilizados (Laclau et al., 2010). Mais estudos devem ser realizados para obter informações sobre as causas da especialização das raízes finas. Ectomicorrizas associadas às raízes até 4 m de profundidade foram observadas em uma plantação vizinha de *E. grandis* (Robin et al., em preparação), sugerindo a necessidade de obter mais informações sobre o papel da associação micorrizal na especialização funcional das raízes finas. Os fungos micorrízicos, que aumentam a aquisição de nutrientes pela planta quanto ao N (Gobert and Plassard, 2008; Mayor et al., 2015), K e Ca (Garcia e Zimmermann, 2014; Jourand et al., 2014), podem potencialmente afetar a absorção de nutrientes pelas raízes finas em profundidade. Em nosso estudo, os ápices de raiz ectomicorrízica foram observadas até 3 m (dados não mostrados). A elevada colonização das ectomicorrizas foi encontrada em ambos os tratamentos a 10 cm e 50 cm de profundidade, o que poderia explicar parcialmente o PARE de $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ parecidos encontrados para árvores fertilizadas e não fertilizadas na camada superior do solo. Um morfotipo preto (provavelmente envolvendo os fungos *Thelephora sp.* ou *Tomentella sp.*) foi observado apenas nas camadas superiores, enquanto um morfotipo amarelo (provavelmente envolvendo fungos *Pisolithus sp.*) foi encontrado em todo o perfil do solo (Apêndice H). A diversidade de morfotipos entre as camadas superficiais e profundas do solo pode contribuir para diferenças na especialização funcional das raízes finas.

A variação dos cílios radiculares, dependendo da profundidade e fertilização, também deve ser um processo importante da especialização funcional das raízes finas das árvores de eucalipto, uma vez que as células ciliadas são altamente seletivas para K (Maathuis e Sanders, 1996), além do alongamento do cílio radicular que também pode aumentar com a concentração de K na planta (Dolan, 2001). Obter informações sobre a taxa de absorção

potencial de P com a profundidade também seria necessário para obter uma visão mais global sobre a especialização das raízes finas de *Eucalyptus*. Tais estudos poderiam ser realizados em plantas de eucalipto em condições controladas usando marcadores de P * (Lehmann, 2003) ou em raízes excisadas (Göransson et al., 2007).

REFERÊNCIAS

- Aber, J.D., Melillo, J.M., Nadelhoffer, K.J., Meclaugherty, C. a, Pastor, J., 1985. Fine root turnover in forest ecosystems in relation to quantity and form of nitrogen availability: a comparison of two methods. *Oecologia* 66, 317–321.
- Adegbidi, H.G., Comerford, N.B., Jokela, E.J., Barros, N.F., 2004. Root Development of Young Loblolly Pine in Spodosols in Southeast Georgia. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 596. doi:10.2136/sssaj2004.0596
- Al Afas, N., Marron, N., Zavalloni, C., Ceulemans, R., 2008. Growth and production of a short-rotation coppice culture of poplar—IV: Fine root characteristics of five poplar clones. *Biomass and Bioenergy* 32, 494–502. doi:10.1016/j.biombioe.2007.11.007
- Alemán, F., Nieves-Cordones, M., Martínez, V., Rubio, F., 2011. Root K⁺ acquisition in plants: The *Arabidopsis thaliana* model. *Plant Cell Physiol.* 52, 1603–1612. doi:10.1093/pcp/pcr096
- Bao, S., An, L., Su, S., Zhou, Z., Gan, Y., 2011. Expression patterns of nitrate, phosphate, and sulfate transporters in *Arabidopsis* roots exposed to different nutritional regimes. *Botany* 89, 647–653. doi:10.1139/b11-053
- Battie-Laclau, P., Laclau, J.-P., Beri, C., Mietton, L., Muniz, M.R.A., Arenque, B.C., Piccolo, M.D.C., Jordan-Meille, L., Bouillet, J.-P., Nouvellon, Y., 2013. Photosynthetic and anatomical responses of *Eucalyptus grandis* leaves to potassium and sodium supply in a field experiment. *Plant. Cell Environ.* doi:10.1111/pce.12131
- Binkley, D., 2015. Ecosystems in four dimensions. *New Phytol.* 206, 883–885. doi:10.1111/nph.13379
- Booth, T.H., 2013. Eucalypt plantations and climate change. *For. Ecol. Manage.* 301, 28–34. doi:10.1016/j.foreco.2012.04.004
- Brassard, B.W., Chen, H.Y.H., Bergeron, Y., 2009. Influence of Environmental Variability on Root Dynamics in Northern Forests. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 28, 179–197. doi:10.1080/07352680902776572
- Brunelle, T., Dumas, P., Souty, F., Dorin, B., Nadaud, F., 2015. Evaluating the impact of rising fertilizer prices on crop yields. *Agric. Econ. (United Kingdom)* 46, 653–666. doi:10.1111/agec.12161
- Chapman, N., Miller, A.J., Lindsey, K., Whalley, W.R., 2012. Roots, water, and nutrient acquisition: Let's get physical. *Trends Plant Sci.* 17, 701–710. doi:10.1016/j.tplants.2012.08.001
- Christina, M., Laclau, J., Goncalves, J.L.M., 2011. Almost symmetrical vertical growth rates above and below ground in one of the world's most productive forests. *Ecosphere* 2, 1–10. doi:10.1890/ES10-00158.1
- Coomes, D. a., Grubb, P.J., 2000. Impacts of root competition in forests and woodlands: A theoretical framework and review of experiments. *Ecol. Monogr.* 70, 171–207. doi:10.1890/0012-9615(2000)070[0171:IORCIF]2.0.CO;2

- Costa, L., Faustino, L.I., Graciano, C., 2016. The spatial distribution of phosphate in the root system modulates N metabolism and growth in *Eucalyptus grandis* young plants. *Trees - Struct. Funct.* 31, 247–257. doi:10.1007/s00468-016-1480-8
- da Silva, E.V., Bouillet, J.-P., de Moraes Gonçalves, J.L., Junior, C.H.A., Trivelin, P.C.O., Hinsinger, P., Jourdan, C., Nouvellon, Y., Stape, J.L., Laclau, J.-P., 2011. Functional specialization of *Eucalyptus* fine roots: contrasting potential uptake rates for nitrogen, potassium and calcium tracers at varying soil depths. *Funct. Ecol.* 25, 996–1006. doi:10.1111/j.1365-2435.2011.01867.x
- Dennison, 2001. Functions of AKT1 and AKT2 Potassium Channels Determined by Studies of Single and Double Mutants of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 127, 1012–1019. doi:10.1104/pp.127.3.1012
- Dolan, L., 2001. How and where to build a root hair. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4, 550–554. doi:10.1016/S1369-5266(00)00214-4
- Fairbairn, D., Liu, W., Schachtman, D.P., Gomez-Gallego, S., Day, S., Teasdale, R.D., 2000. Characterisation of two distinct HKT1-like potassium transporters from *Eucalyptus camaldulensis*. *plant Mol. Biol.* 43, 515–525. doi:10.1023/A
- FAO, 2015. Global Forest Resources Assessment 2015, FAO Forestry. doi:10.1002/2014GB005021
- FAO, 2014. World reference base for soil resources 2014. Rome, Italy.
- Freschet, G.T., Valverde-Barrantes, O.J., Tucker, C.M., Craine, J.M., McCormack, M.L., Violle, C., Fort, F., Blackwood, C.B., Urban-Mead, K.R., Iversen, C.M., Bonis, A., Comas, L.H., Cornelissen, J.H.C., Dong, M., Guo, D., Hobbie, S.E., Holdaway, R.J., Kembel, S.W., Makita, N., Onipchenko, V.G., Picon-Cochard, C., Reich, P.B., de la Riva, E.G., Smith, S.W., Soudzilovskaia, N. a., Tjoelker, M.G., Wardle, D. a., Roumet, C., 2017. Climate, soil and plant functional types as drivers of global fine-root trait variation. *J. Ecol.* 1–15. doi:10.1111/1365-2745.12769
- Garcia, K., Zimmermann, S.D., 2014. The role of mycorrhizal associations in plant potassium nutrition. *Front. Plant Sci.* 5, 1–9. doi:10.3389/fpls.2014.00337
- Garnett, T., Smethurst, P., 1999. Ammonium and nitrate uptake by *Eucalyptus nitens*: effects of pH and temperature. *Plant Soil* 214, 133–140. doi:10.1023/a:1004740204876
- Gathumbi, S.M., Cadisch, G., Buresh, R.J., Giller, K.E., 2003. Subsoil nitrogen capture in mixed legume stands as assessed by deep nitrogen-15 placement. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 573–582. doi:10.2136/sssaj2003.0573
- George, E., Seith, B., Schaeffer, C., Marschner, H., 1997. Responses of *Picea*, *Pinus* and *Pseudotsuga* roots to heterogeneous nutrient distribution in soil. *Tree Physiol.* 17, 39–45. doi:10.1093/treephys/17.1.39
- Gonçalves, J.L.D.M., Alvares, C.A., Higa, A.R., Silva, L.D., Alfenas, A.C., Stahl, J., Ferraz, S.F.D.B., Lima, W.D.P., Brancalion, P.H.S., Hubner, A., Bouillet, J.P.D., Laclau, J.P., Nouvellon, Y., Epron, D., 2013. Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. *For. Ecol. Manage.* 301, 6–27. doi:10.1016/j.foreco.2012.12.030
- Göransson, H., Fransson, A.M., Jönsson-Belyazid, U., 2007. Do oaks have different strategies for uptake of N, K and P depending on soil depth? *Plant Soil* 297, 119–125. doi:10.1007/s11104-007-9325-2
- Göransson, H., Ingerslev, M., Wallander, H., 2008. The vertical distribution of N and K uptake in relation to root distribution and root uptake capacity in mature *Quercus robur*, *Fagus sylvatica* and *Picea abies* stands. *Plant Soil* 306, 129–137. doi:10.1007/s11104-007-9524-x

- Göransson, H., Wallander, H., Ingerslev, M., Rosengren, U., 2006. Estimating the relative nutrient uptake from different soil depths in *Quercus robur*, *Fagus sylvatica* and *Picea abies*. *Plant Soil* 286, 87–97. doi:10.1007/s11104-006-9028-0
- Han, M., Wu, W., Wu, W.H., Wang, Y., 2016. Potassium Transporter KUP7 Is Involved in K⁺ Acquisition and Translocation in *Arabidopsis* Root under K⁺-Limited Conditions. *Mol. Plant* 9, 437–446. doi:10.1016/j.molp.2016.01.012
- Iversen, C.M., 2010. Digging deeper: Fine-root responses to rising atmospheric CO₂ concentration in forested ecosystems. *New Phytol.* 186, 346–357. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03122.x
- Jourand, P., Hannibal, L., Majorel, C., Mengant, S., Ducousso, M., Lebrun, M., 2014. Ectomycorrhizal *Pisolithus albus* inoculation of *Acacia spirorbis* and *Eucalyptus globulus* grown in ultramafic topsoil enhances plant growth and mineral nutrition while limits metal uptake. *J. Plant Physiol.* 171, 164–172. doi:10.1016/j.jplph.2013.10.011
- Keenan, R.J., Reams, G.A., Achard, F., de Freitas, J. V., Grainger, A., Lindquist, E., 2015. Dynamics of global forest area: Results from the FAO Global Forest Resources Assessment 2015. *For. Ecol. Manage.* 352, 9–20. doi:10.1016/j.foreco.2015.06.014
- Kiba, T., Krapp, A., 2016. Plant Nitrogen Acquisition Under Low Availability : Regulation of Uptake and Root Architecture. *Plant Cell Physiol.* 57, 707–714. doi:10.1093/pcp/pcw052
- Laclau, J.P., da Silva, E. a, Rodrigues Lambais, G., Bernoux, M., le Maire, G., Stape, J.L., Bouillet, J.-P., Gonçalves, J.L.D.M., Jourdan, C., Nouvellon, Y., 2013. Dynamics of soil exploration by fine roots down to a depth of 10 m throughout the entire rotation in *Eucalyptus grandis* plantations. *Front. Plant Sci.* 4, 243. doi:10.3389/fpls.2013.00243
- Laclau, J.P., Ranger, J., de Moraes Gonçalves, J.L., Maquère, V., Krusche, A. V., M'Bou, A.T., Nouvellon, Y., Saint-André, L., Bouillet, J.P., de Cassia Piccolo, M., Deleporte, P., 2010. Biogeochemical cycles of nutrients in tropical *Eucalyptus* plantations. Main features shown by intensive monitoring in Congo and Brazil. *For. Ecol. Manage.* 259, 1771–1785. doi:10.1016/j.foreco.2009.06.010
- Laclau, J.P., Sama-Poumba, W., Nzila, J.D.D., Bouillet, J.P., Ranger, J., 2002. Biomass and nutrient dynamics in a littoral savanna subjected to annual fires in Congo. *Acta Oecologica* 23, 41–50. doi:10.1016/S1146-609X(02)01132-3
- Lehmann, J., 2003. Subsoil root activity in tree-based cropping systems. *Plant Soil* 255, 319–331. doi:10.1023/A:1026195527076
- Leuschner, C., Hertel, D., Schmid, I., Koch, O., Muhs, A., Hölscher, D., 2004. Stand fine root biomass and fine root morphology in old-growth beech forests as a function of precipitation and soil fertility. *Plant Soil* 258, 43–56. doi:10.1023/B:PLSO.0000016508.20173.80
- Liu, W., Fairbairn, D.J., Reid, R.J., Schachtman, D.P., 2001. Characterization of two HKT1 homologues from *Eucalyptus camaldulensis* that display intrinsic osmosensing capability. *Plant Physiol.* 127, 283–294. doi:10.1104/pp.127.1.283
- Maathuis, F.J.M., Sanders, D., 1996. Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. *Physiol. Plant.* 96, 158–168. doi:10.1111/j.1399-3054.1996.tb00197.x
- Maeght, J.-L., Rewald, B., Pierret, A., 2013. How to study deep roots-and why it matters. *Front. Plant Sci.* 4, 1–14. doi:10.3389/fpls.2013.00299
- Maquere, V., Laclau, J.P., Bernoux, M., Saint-Andre, L., Gonçalves, J.L.M., Cerri, C.C., Piccolo, M.C., Ranger, J., 2008. Influence of land use (savanna, pasture, *Eucalyptus* plantations) on soil carbon and nitrogen stocks in Brazil. *Eur. J. Soil Sci.* 59, 863–877. doi:10.1111/j.1365-2389.2008.01059.x

- Mareschal, L., Laclau, J.P., Nzila, J.D.D., Versini, a., Koutika, L.S., Mazoumbou, J.C., Deleporte, P., Bouillet, J.P., Ranger, J., 2013. Nutrient leaching and deep drainage under *Eucalyptus* plantations managed in short rotations after afforestation of an African savanna: Two 7-year time series. *For. Ecol. Manage.* 307, 242–254. doi:10.1016/j.foreco.2013.06.038
- Maurice, J., Laclau, J.-P., Scorzoni Re, D., Gonçalves, J.L.D.M., Nouvellon, Y., Bouillet, J.-P., Stape, J.L., Ranger, J., Behling, M., Chopart, J.-L., 2010. Fine root isotropy in *Eucalyptus grandis* plantations. Towards the prediction of root length densities from root counts on trench walls. *Plant Soil* 334, 261–275. doi:10.1007/s11104-010-0380-8
- McCormack, M.L., Adams, T.S., Smithwick, E. a H., Eissenstat, D.M., 2012. Predicting fine root lifespan from plant functional traits in temperate trees. *New Phytol.* 195, 823–831. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04198.x
- McCormack, M.L., Dickie, I. a., Eissenstat, D.M., Fahey, T.J., Fernandez, C.W., Guo, D., Helmisaari, H.S., Hobbie, E. a., Iversen, C.M., Jackson, R.B., Leppalammi-Kujansuu, J., Norby, R.J., Phillips, R.P., Pregitzer, K.S., Pritchard, S.G., Rewald, B., Zadworny, M., 2015. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. *New Phytol.* 207, 505–518. doi:10.1111/nph.13363
- Nadelhoffer, K.J., 2000. The potential effects of nitrogen deposition on fine-root production in forest ecosystems. *New Phytol.* 147, 131–139. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00677.x
- Ostonen, I., Püttsepp, Ü., Biel, C., Alberton, O., Bakker, M.R., Lõhmus, K., Majdi, H., Metcalfe, D., Olsthoorn, a. F.M., Pronk, A., Vanguelova, E., Weih, M., Brunner, I., 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosyst.* 141, 426–442. doi:10.1080/11263500701626069
- Paquette, A., Messier, C., 2010. The role of plantations in managing the world's forests in the Anthropocene. *Front. Ecol. Environ.* 8, 27–34. doi:10.1890/080116
- Pate, J.S., Jeschke, W.D., Aylward, M.J., 1995. Hydraulic architecture and xylem structure of the dimorphic root systems of South-West Australian species of *Proteaceae*. *J. Exp. Bot.* 46, 907–915. doi:10.1093/jxb/46.8.907
- Pinheiro, R.C., de Deus, J.C., Nouvellon, Y., Campoe, O.C., Stape, J.L., Aló, L.L., Guerrini, I.A., Jourdan, C., Laclau, J.P., 2016. A fast exploration of very deep soil layers by *Eucalyptus* seedlings and clones in Brazil. *For. Ecol. Manage.* 366, 143–152. doi:10.1016/j.foreco.2016.02.012
- Pradier, C., Hinsinger, P., Laclau, J.P., Bouillet, J.P., Guerrini, I.A., Gonçalves, J.L.M., Asensio, V., Abreu-Junior, C.H., Jourdan, C., 2016. Rainfall reduction impacts rhizosphere biogeochemistry in eucalypts grown in a deep Ferralsol in Brazil. *Plant Soil* 414, 339–354. doi:10.1007/s11104-016-3107-7
- Pregitzer, K.S., DeForest, J.L., Burton, A.J., Allen, M.F., Ruess, R.W., Hendrick, R.L., 2002. Fine root architecture of nine North American trees. *Ecol. Monogr.* 72, 293–309. doi:10.2307/3100029
- Prieto, I., Roumet, C., Cardinael, R., Dupraz, C., Jourdan, C., Kim, J.H., Maeght, J.L., Mao, Z., Pierret, A., Portillo, N., Rounsard, O., Thammahacksa, C., Stokes, A., 2015. Root functional parameters along a land-use gradient: Evidence of a community-level economics spectrum. *J. Ecol.* 103, 361–373. doi:10.1111/1365-2745.12351
- Robin, A., Pradier, C., Sanguin, H., Mahé, F., Lambais, GR., Prudêncio de Araujo Pereira, A., Germon, A., Cintra, M., Tisseyre, P., Bouillet, JP., Dini Androte, F., Passard, C., Cardoso, EJBN., Laclau, JP., Hinsinger, P., Jourdan, C. First evidence of *ectomycorrhizae* associated with very deep roots in *Eucalyptus* plantation in Brazil (in prep)

- Rowe, E.C., Smart, S.M., Kennedy, V.H., Emmett, B.A., Evans, C.D., 2008. Nitrogen deposition increases the acquisition of phosphorus and potassium by heather *Calluna vulgaris*. *Environ. Pollut.* 155, 201–207. doi:10.1016/j.envpol.2007.12.008
- Ryser, P., 2006. The mysterious root length. *Plant Soil* 286, 1–6. doi:10.1007/s11104-006-9096-1
- Schachtman, D.P., Schroeder, J.I., 1994. Structure and transport mechanism of a high-affinity potassium uptake transporter from higher plants. *Nature* 370, 655–658. doi:10.1038/370655a0
- Silva, P.H.M. Da, Poggiani, F., Libardi, P.L., Gonçalves, A.N., 2013. Fertilizer management of eucalypt plantations on sandy soil in Brazil: Initial growth and nutrient cycling. *For. Ecol. Manage.* 301, 67–78. doi:10.1016/j.foreco.2012.10.033
- Soethe, N., Lehmann, J., Engels, C., 2006. The Vertical Pattern of Rooting and Nutrient Uptake at Different Altitudes of a South Ecuadorian Montane Forest. *Plant Soil* 286, 287–299. doi:10.1007/s11104-006-9044-0
- Stape, J.L., Binkley, D., Ryan, M.G., Fonseca, S., Loos, R. a., Takahashi, E.N., Silva, C.R., Silva, S.R., Hakamada, R.E., Ferreira, J.M.D. a., Lima, A.M.N., Gava, J.L., Leite, F.P., Andrade, H.B., Alves, J.M., Silva, G.G.C., Azevedo, M.R., 2010. The Brazil *Eucalyptus* Potential Productivity Project: Influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. *For. Ecol. Manage.* 259, 1684–1694. doi:10.1016/j.foreco.2010.01.012
- Vanninen, P., Makela, a., 1999. Fine root biomass of Scots pine stands differing in age and soil fertility in southern Finland. *Tree Physiol.* 19, 823–830. doi:10.1093/treephys/19.12.823
- Versini, A., Mareschal, L., Matsoumbou, T., Zeller, B., Ranger, J., Laclau, J.P., 2014. Effects of litter manipulation in a tropical *Eucalyptus* plantation on leaching of mineral nutrients, dissolved organic nitrogen and dissolved organic carbon. *Geoderma* 232–234, 426–436. doi:10.1016/j.geoderma.2014.05.018
- Wang, Y., Dong, X., Wang, H., Wang, Z., Gu, J., 2015. Root tip morphology , anatomy , chemistry and potential hydraulic conductivity vary with soil depth in three temperate ... *Tree Physiol.* 0, 1–10. doi:10.1093/treephys/tpv094
- Wurzburger, N., Wright, S.J., 2015. Fine-root responses to fertilization reveal multiple nutrient limitations in a lowland tropical forest. *Ecology* 96, 2137–2146. doi:10.1890/14-1362.1
- Yuan, Z.Y., Chen, H., 2010. Fine Root Biomass, Production, Turnover Rates, and Nutrient Contents in Boreal Forest Ecosystems in Relation to Species, Climate, Fertility, and Stand Age: Literature Review and Meta-Analyses. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 29, 204–221. doi:10.1080/07352689.2010.483579
- Zhao, S., Zhang, M.-L., Ma, T.-L., Wang, Y., 2016. Phosphorylation of ARF2 Relieves its Repression of Transcription of the K⁺ transporter gene HAK5 in Response to Low Potassium Stress. *Plant Cell.* 28, 3005–3019. doi:10.1105/tpc.16.00684
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A. a, Smith, G.M., 2009. *Journal of Statistical Software.* J. Stat. Softw. Novemb. 32, 2–4.

5. O DESENVOLVIMENTO DAS RAÍZES FINAS DE *EUCALYPTUS* EM PLANTAÇÕES MISTAS MOSTRA UMA MAIOR FACILITAÇÃO DA ACACIA EM N SOB A HIPÓTESE DE GRADIENTE DE ESTRESSE (CAPÍTULO 2)

Resumo

O nitrogênio (N) é um dos principais fatores nutricionais que limitam a produção das plantações de eucalipto. Uma maneira de superar as deficiências de N e garantir a sustentabilidade das plantações de eucalipto é associar espécies fixadoras de N_2 (EFN) com eucaliptos. Essa mistura poderia aumentar a produção através de um equilíbrio positivo entre processos de competição e facilitação entre as espécies. Nos ecossistemas florestais, as raízes finas desempenham um papel fundamental através das funções fisiológicas para capturar e transportar quantidades de água e nutrientes necessários para o crescimento da planta. Mudanças na distribuição e dinâmica das raízes finas podem ser usadas para analisar os processos de facilitação e competição. Nosso estudo teve como objetivo avaliar o efeito da fertilidade do solo sobre as mudanças temporais e espaciais na densidade de raízes finas (DRF) de *E. grandis* e *A. mangium* para dois regimes contrastantes de fertilização. De acordo com a hipótese do gradiente de estresse, previmos uma maior facilitação de N no tratamento sem fertilização (F-) com maior densidade de raízes finas de *Eucalyptus* perto de *Acacia* do que no tratamento fertilizado (F+) para aproveitar melhor as transferências subterrâneas de N das EFN. O estudo foi realizado na Estação Experimental de Itatinga da USP, SP, Brasil. As raízes finas (diâmetro <2 mm) foram amostradas aos 16 e 34 meses após o plantio em um delineamento em blocos casualizados com dois tratamentos: uma mistura com 50% de cada espécie (50A:50E), com e sem fertilização. Para cada tratamento, amostras de solo foram coletadas nos três blocos aos 0-15; 15-30; 30-50 e 50-100 cm de profundidade a várias distâncias das árvores de eucalipto e acácia. Durante este período, dois tubos de minirrhizotron perto de eucalipto e acácia, em cada tratamento e bloco, foram utilizados para monitorar o crescimento e o tempo de vida das raízes finas. Aos 16 e 34 meses após o plantio, a DRF de *Eucalyptus* foi 30% maior em relação à *Acacia* e maior em F+ do que em F- na camada superior do solo (0-15 cm). Este resultado mostrou que, provavelmente, há uma maior competição das raízes de eucalipto nas raízes de acácia em F+ do que em F-. Na camada superficial, a DRF de *Eucalyptus* em F- foi maior aos 34 meses perto de árvores de *Acacia* comparado aos eucaliptos, o que seria consistente com maior facilitação de N da *Acacia* para o *Eucalyptus* em ambiente com maior deficiência de N (hipótese de gradiente de estresse). A mesma concentração de N nas folhas de *Eucalyptus* em F+ e F- também foi consistente com essa hipótese. A produção de raízes finas de eucalipto entre as duas datas de amostragem foi maior em F- que em F+ em paralelo ao aumento de DRF de eucaliptos perto das acácias. Não foi possível estimar o tempo de vida da raiz, pois não houve mortalidade radicular durante o período de estudo para ambas as espécies. A maior facilitação da acácia para o eucalipto é provável quando não é aplicado fertilizante.

Palavras-chave: Plantações mistas; Raízes finas; Fertilização; Facilitação; Competição; Hipótese do gradiente de estresse

Abstract

Nitrogen (N) is one of the main nutrient factors limiting eucalypt stand production. One way to overcome N deficiencies and to ensure *Eucalyptus* plantation sustainability is to associate N₂-fixing species (NFS) with eucalypts. Such mixture could increase stand production through positive balance between facilitative and competitive processes among species. In forest ecosystems, fine roots play a key role through physiological functions to capture and transport the amounts of water and nutrients needed for plant growth. Changes in fine roots distribution and fine roots dynamics can be used to analyze facilitation and competition processes. Our study aimed to assess the effect of soil fertility on the temporal and spatial changes in *E. grandis* and *A. mangium* fine roots mass density for two contrasting fertilization regimes. According to the stress gradient hypothesis, we predicted higher N facilitation in the non-N fertilized treatment (F-) with greater density of *Eucalyptus* fine roots near *Acacia* than in the fertilized treatment (F+) to better benefit of belowground transfers of N from the NFS. The study was carried out at the Itatinga Station of USP, SP, Brazil. Fine roots (diameter < 2 mm) were sampled at 16 and 34 months after planting in a randomized block design with two treatments: a mixture with 50% of each species (50A:50E), with and without fertilization. For each treatment, soil samples were collected in 3 blocks at 0-15; 15-30; 30-50 and 50-100 cm at various distances of *Eucalyptus* and *Acacia* trees. During this period, two tubes of minirhizotron near eucalypt and acacia trees in each treatment and block were used to monitoring fine roots growth and turnover. At 16 and 34 months after planting, fine root mass density (RMD) of *Eucalyptus* was 30% higher than of *Acacia* and higher in F+ than in F- in the top soil layer (0-15 cm). This result likely showed higher competition of eucalypt roots on acacia roots in F+ than in F-. In the superficial layer, RMD of *Eucalyptus* in F- were higher at 34 months near *Acacia* trees than *Eucalyptus* trees that would be consistent with greater N facilitation of *Acacia* on *Eucalyptus* in higher N-deficient environment (stress gradient hypothesis). The same N concentration in *Eucalyptus* leaves in both F+ and F- was also consistent with this hypothesis. Production of *Eucalyptus* fine roots between the two sampling dates was higher in F- than in F+ in parallel to the increase of RMD of *Eucalyptus* near acacia trees. It was not possible to estimate root life span as no root mortality occurred during the study period for both species. Higher N facilitation of *Acacia* on *Eucalyptus* was likely when no fertilization is applied.

Keywords: Mixed-species plantations; Fine roots; Fertilization; Facilitation; Competition; Stress gradient hypothesis

5.1 Introdução

Os solos tropicais são altamente intemperizados, com alto grau de lixiviação e baixa fertilidade natural. Além disso, há uma elevada exportação de nutrientes como consequência das rotações sucessivas das plantações florestais (Gonçalves et al., 2013). A saída de nutrientes no solo, principalmente de nitrogênio (N) e fósforo (P), diminuem a sustentabilidade e a produtividade florestal (Laclau et al., 2010). Assim, para atender a demanda nutricional e manter a produção das plantações florestais são adicionados fertilizantes minerais (Bouillet et al., 2013). Os principais problemas relacionados aos

fertilizantes são as altas taxas exigidas pelas plantas e o seu elevado custo. Devido ao mercado de fósforo o aumento dos preços dos fertilizantes (+ 9% ao ano em média no mercado mundial) observado nas últimas décadas poderá persistir no futuro (Brunelle et al., 2015). Como alternativa ao uso de fertilizantes uma outra opção tem surgido por meio do consórcio entre espécies fixadoras de nitrogênio (EFN) e não-EFN (Bouillet et al., 2013; Santos et al., 2016).

O consórcio entre EFN e eucalipto pode aumentar a produção de biomassa (Forrester, 2014; Richards et al., 2010), o sequestro de carbono (Blaser et al., 2014; Forrester et al., 2013) a disponibilidade e ciclagem de nutrientes no solo (Blaser et al., 2014; Koutika et al., 2014; Voigtlaender et al., 2012), reduzindo assim, os custos com fertilizantes (Binkley et al., 2003; Forrester et al., 2006; Laclau et al., 2008). Essa associação pode ser uma nova alternativa para manter os balanços de reservas de N nas plantações de eucalipto (Forrester et al., 2006; Paula et al., 2015), pois irá aumentar a disponibilidade de N através da fixação do N₂ (Bouillet et al., 2008), a produção de serapilheira (Laclau et al., 2008), a decomposição foliar e o ciclo do N (Forrester et al., 2005) e a mineralização do N do solo (Voigtlaender et al., 2012) e a transferências de N entre EFN e não-EFN (Paula et al., 2015).

Entre as EFN de alto interesse silvicultural destaca-se a *Acacia mangium* (Willd.) por apresentar um rápido crescimento (Veiga et al., 2000). No sudoeste asiático a *Acacia mangium* tem sido amplamente plantada, principalmente, para as indústrias produtoras de celulose e carvão (Yamashita et al., 2008). Diversos estudos mostraram que plantações consorciadas com EFN podem aumentar a produtividade florestal comparado às monoculturas (Binkley et al., 2003; Bouillet et al., 2013; Forrester et al., 2006; Laclau et al., 2008; Santos et al., 2016) devido a maior disponibilidade e eficiência do uso de recursos (Cardinale et al., 2011; Kelty, 2006; Richards et al., 2010).

Os processos ecológicos que ocorrem acima do solo já foram amplamente estudados, entretanto os processos abaixo do solo são ainda pouco compreendidos (Germon et al., 2017; Radville et al., 2016). As raízes finas são fundamentais na captação de água e nutrientes (Eissenstat et al., 2000), mas estudos sobre as raízes finas em plantações mistas são, principalmente, focados na comparação com monoculturas. As interações subterrâneas em plantações mistas são influenciadas por diversos fatores como idade, profundidade e fertilidade do solo e podem alterar a biomassa das raízes finas (Germon et al., 2017). Os efeitos positivos da diversidade de espécies são atribuídos ao aumento do uso total de recursos através de diferenciação de nicho ou facilitação (Hooper et al., 2005). A facilitação subterrânea ocorre quando uma espécie é beneficiada por outra, melhorando as condições de

crescimento ou contribuindo para o aumento do desempenho da mistura (Sun et al., 2017).

A hipótese do gradiente de estresse afirma que sob condições ambientais estressantes as interações competitivas diminuem e as facilitadoras aumentam (Forrester, 2014; Holmgren and Scheffer, 2010; Maestre et al., 2009), tornando essa interação mais forte à medida que as condições para o crescimento tornam-se menos favoráveis (Forrester, 2014; Jucker et al., 2016). Em ambientes pobres nutricionalmente as EFN irão disponibilizar N para as não-EFN como forma de facilitação, afetando positivamente o crescimento das espécies (Bouillet et al., 2013; Forrester et al., 2006). Binkley et al. (2003) encontrou forte efeito facilitador da fixação de N em *Alnus rubra* sobre o crescimento de *Pseudotsuga menziesii* em um local com baixa disponibilidade de N no solo, já para um sítio com alta disponibilidade de N não houve interação positiva entre as espécies. Laclau et al. (2013) mostraram que a biomassa de raízes finas foi 30% maior nos horizontes superficiais do solo em plantios mistos de *E. grandis* e *A. mangium* em comparação às monoculturas aos 5 anos de idade. Os autores também verificaram que na camada superficial há uma maior densidade de raízes finas de eucalipto em relação à acácia. Estudos mostraram que a biomassa das raízes finas é maior em populações com diversas espécies, em relação às comunidades com poucas espécies (Cuevas et al., 1988; Germon et al., 2017; Ravenek et al., 2014). Entretanto, não se sabe se esse efeito é devido a grande produção e/ou a baixa mortalidade de raízes, fatores que determinam a dinâmica do sequestro de C e N no solo (Mommer et al., 2015). Outros estudos indicaram que a produção e rotatividade das raízes finas em florestas tropicais é maior (Cuevas et al., 1988; Ostertag, 2001) em comparação às florestas temperadas ou boreais (Gill and Jackson, 2000), e que a longevidade das raízes finas é menor e sua produção é maior em solos pobres em nutrientes em relação à solos férteis (Godbold et al., 2003; Pregitzer et al., 1993).

A técnica de minirrhizotron tem sido comumente utilizada para estimar a produção de raízes finas em ecossistemas florestais, sendo considerada uma abordagem fiável para estimar o turnover de raiz fina (Majdi et al., 2005). Nesse sistema é possível observar in situ o sistema radicular sem perturbar o solo (Majdi, 1996) ao longo de um tempo indeterminado (Johnson et al., 2001). Entretanto, existem fatores que podem prejudicar a precisão dos dados obtidos pela técnica de minirrhizotron, como o efeito da janela de observação sobre a longevidade da raiz e a dificuldade de distinguir o processo senescente na hora de analisar as imagens enviesando a estimativa da quantidade de raízes mortas (Chairungsee et al., 2013). Além disso, pode ser necessário um grande número de tubos minirrhizotron para capturar adequadamente a distribuição da biomassa radicular em locais altamente heterogêneos (Addo-

Danso et al., 2016). Atualmente no Brasil poucos estudos tem sido feitos utilizando o método de minirhizotrons (Ohashi et al., 2015; Lambais et al., 2017 in press).

Apesar da existência de estudos sobre as raízes finas em plantações puras de eucalipto (Christina et al., 2011; Lambais et al., 2017 in press) e consorciadas com *A. mangium* no Brasil (Germon et al., 2017; Laclau et al., 2013), não se sabe como será a exploração espacial e temporal das camadas superficiais do solo em ambientes com fertilização contrastante. Verifica-se assim, a necessidade de mais estudos sobre a dinâmica das raízes finas em florestas de rápido crescimento para um melhor entendimento do funcionamento dos ecossistemas florestais, da influência da fertilização e da associação com EFN como *A. mangium* no crescimento das árvores de eucalipto, afim de uma gestão mais sustentável das plantações florestais.

Nesse contexto, o objetivo desse capítulo é avaliar o efeito das interações entre *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden e *A. mangium* em povoamento consorciado sobre a dinâmica de crescimento das raízes finas e a proximidade de cada espécie, para dois níveis contrastantes de adubação.

As hipóteses de pesquisa são:

- 1) A densidade de raízes finas (DRF) de eucalipto irá ser maior em relação a acacia, e será maior no tratamento fertilizado;
- 2) A DRF de eucalipto perto de acacia é maior quando a fertilidade do solo é baixa para aproveitar do fornecimento do N pela *A. mangium*;
- 3) O tempo de vida das raízes finas aumentará quando a fertilidade do solo é melhorada pela adubação enquanto sua produção será maior em solos pouco férteis.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Caracterização da área de estudo

O estudo foi conduzido na Estação Experimental de Ciências Florestais (EECF) - ESALQ/USP, localizada no município de Itatinga, São Paulo (23°02'S e 48°38'W), a uma altitude de cerca de 800 metros. Nos 15 últimos anos a precipitação média anual foi de 1360 milímetros e a temperatura média anual de 20 °C. As propriedades do solo (Tabela 4) caracterizam com um típico Latossolo Vermelho-Amarelo com textura médio-arenosa, suavemente ondulada e de baixa fertilidade natural (Silva et al., 2009). O teor de argila variou entre 18% na camada superficial do solo (0-20 cm) para 24% na camada 80-100 cm. O pH do

solo é ácido variando de 3,8 a 4,1 e as quantidades de nutrientes disponíveis foram baixos. A capacidade de troca catiônica (CTC) variou de 75,8 mmolc kg⁻¹ na camada superficial para 34,8 aos 80-100cm. Os maiores valores de matéria orgânica foram encontrados na camada 0-20 cm, com cerca de 16 g kg⁻¹ até 6 g kg⁻¹ na camada 80-100 cm. As concentrações de nutrientes na camada superficial foram cerca de 3,6 mg kg⁻¹ para o P resina e a média da soma das bases (troca K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺) foi de 5,2 mmolc kg⁻¹. As propriedades do solo antes da adubação (Tabela 4) foram obtidas para cada parcela. Foi verificado que não houve diferença entre elas, permitindo comparar assim, o efeito da fertilização.

Tabela 4 - Principais atributos físicos e químicos do solo do local do experimento antes da plantação. Desvio padrão (n =3).

Profundidade (cm)	Argila	Silte (%)	Areia	pH CaCl ₂	OM g kg ⁻¹	P mg kg ⁻¹	H+Al	K	Ca mmol _c kg ⁻¹	Mg	SB	CTC
0-20	18.6 ± 3.0	4.8 ± 1.7	76.4 ± 4.5	3.8 ± 0.07	16.2 ± 2.9	3.6 ± 0.4	50.8 ± 7.0	0.4 ± 0.0	2.4 ± 0.4	0.9 ± 0.4	5.2 ± 1.2	75.8 ± 9.0
20-40	18.8 ± 3.0	4.5 ± 2.0	76.6 ± 4.7	4.0 ± 0.1	9.6 ± 2.9	2.4 ± 0.4	35.4 ± 10.1	0.3 ± 0.0	1.8 ± 0.3	0.6 ± 0.4	3.5 ± 0.8	53.2 ± 15.6
40-60	17.8 ± 4.6	4.9 ± 1.6	77.2 ± 4.7	4.0 ± 0.08	7.8 ± 1.03	2.2 ± 0.8	28.7 ± 5.6	0.4 ± 0.2	2.1 ± 1.2	0.6 ± 0.4	4.0 ± 2.4	44.7 ± 9.2
60-80	19.6 ± 3.4	4.6 ± 1.5	75.5 ± 4.6	4.1 ± 0.003	7.1 ± 0.9	1.9 ± 0.3	21.6 ± 3.5	0.3 ± 0.0	2.1 ± 0.4	0.6 ± 0.3	3.7 ± 1.2	32.2 ± 5.6
80-100	23.8 ± 2.5	4.6 ± 1.9	71.8 ± 4.4	4.1 ± 0.05	6.4 ± 1.4	1.9 ± 0.5	22.0 ± 3.8	0.3 ± 0.0	2.1 ± 0.7	0.8 ± 0.4	4.3 ± 1.7	34.8 ± 6.6

P foi determinado por Mehlich-1 e colorimetria; K foi determinado por Mehlich-1 e fotometria; MO, matéria orgânica foi determinada usando dicromato de sódio; Ca e Mg foram determinados por extração de KCl e absorção atômica; SB, soma das bases; CTC, capacidade de troca catiônica. Os erros padrão da análise física (n = 6) e para análise química (n = 6).

5.2.2 Delineamento experimental

O experimento foi instalado em maio de 2013 em três blocos completos casualizados contendo dois tratamentos por bloco. Cada parcela é constituída por 10 x 10 plantas com espaçamento de 2,5 x 2,5 m, totalizando 100 plantas/parcela e duas linhas de bordadura (6 x 6 linhas internas). É composto por 2 tratamentos: plantio misto de 50% *Acacia mangium* e 50% *E. grandis* x *E. urophylla* com adubo (F+) e plantio misto de 50% *Acacia mangium* e 50% *E. grandis* x *E. urophylla* sem adubo (F-). As árvores foram dispostas de forma alternada. Nos tratamentos adubados foram aplicados 520.6 kg.ha⁻¹ de Calcário dolomítico, 33.5 kg.ha⁻¹ de FTE-BR, 166 kg.ha⁻¹ de K, 37 kg.ha⁻¹ de P e 24 kg.ha⁻¹ de N apenas para as árvores de eucalipto. Após um ano foram aplicados mais 166 kg.ha⁻¹ de K e 37 kg.ha⁻¹ de P. Nos tratamentos sem adubação não foram aplicados nutrientes no solo.

5.2.3 Inventário e amostragem foliar

O crescimento em altura (m) e circunferência a 1.3 m de altura (CAP, cm) foram mensurados em todos os tratamentos e blocos aos 12, 26 e 37 meses após plantio. Aos 12 meses o CAP foi medido a 10 cm de altura. A área basal (G, m²) das árvores foi calculada dividindo o CAP² das árvores por 4 π e depois foi calculado por hectare. As folhas jovens completamente expandidas das duas espécies foram coletadas a partir da metade superior da copa para os dois tratamentos, nos três blocos aos 17 e 21 meses de idade.

5.2.4 Amostragem de solo com sonda para biomassa de raízes finas

As coletas de raízes finas (diâmetro inferior a 2 mm) foram realizadas aos 16 e 34 meses após plantio. As árvores foram selecionadas aleatoriamente nas parcelas internas em cada um dos dois tratamentos dos três blocos. A coleta do solo foi realizada em várias profundidades e em diferentes distâncias da árvore, esses pontos representam uma área superficial de 6 m² em torno da árvore amostrada. Por meio de uma sonda cilíndrica com um diâmetro interno de 4,5 cm foram amostradas seis posições de 0 a 100 cm de profundidade perto das árvores de eucalipto e acácia retirando quatro camadas de solo: 0-15; 15-30; 30-50 e de 50 a 100 cm (Figura 8) (Christina et al., 2011; Pinheiro et al., 2016). Em 2016 somente duas posições das seis últimas foram amostradas, as posições 1 e 6, as quais correspondem a posição mais próxima e mais longe da árvore.

As amostras de solo foram processadas no laboratório para selecionar, lavar e classificar as raízes finas utilizando duas peneiras (com malhagem de 1 e 0,5 mm) sobrepostas (Apêndices F2, F3 e F4) e separadas cuidadosamente por pinças (Cornelissen et al., 2003). A umidade relativa do solo em cada amostra foi medida (AFNOR NF ISO 11465: método gravimétrico). Cada amostra de solo foi pesada, misturada e dividida em duas sub-amostras, representando 10 e 90% da massa total (Apêndice F1). Na sub-amostra de 10% foram retiradas raízes maiores e menores que 1 cm de comprimento. Para os outros 90% foram selecionadas apenas as raízes acima de 1 cm. Algumas amostras apresentaram uma quantidade menor de raiz em função do tratamento, da posição ou da profundidade, nesse caso a porcentagem de 10% foi aumentada (10-40%) a fim de recolher raízes suficientes para ter uma pesagem de confiança ($> 0,001$ g).

Figura 8 - Esquema das posições de amostragem de solo no 50E:50A e de instalação dos minirrhizotrons. Em cada parcela interna (excluindo duas linhas de bordas) 6 posições foram amostradas aleatoriamente perto das árvores de *Acacia* (círculos brancos) e 6 posições perto das árvores de *Eucalyptus* (círculos pretos). Retângulo vermelho representa os minirrhizotrons instalados.

5.2.5 Identificação das raízes

5.2.5.1 Separação das raízes finas

Foram selecionadas apenas as raízes finas vivas (Apêndice G1), as quais apresentam uma cor mais clara, são mais flexíveis e possuem um cilindro central branco em relação às raízes mortas, que são mais escuras (marrom a preto) e mais frágeis, quebrando facilmente quando envergadas. No processo de separação a cor e a textura das raízes foi um bom indicador da espécie. As raízes de acacia são mais amareladas, rugosas e espessas (Apêndice G3) em comparação às de eucalipto, que têm uma proporção superior de ramificação e são mais escuras (Apêndice G4). Para facilitar a identificação das espécies foram analisadas previamente raízes amostradas em povoamentos monoespecíficos (Germon et al., 2017; Laclau et al., 2013b). As amostras selecionadas foram secas a 65°C até obtenção do peso constante, em seguida foram pesadas em balança de alta precisão ($\pm 0,0001$ g). A massa seca de raiz fina foi totalizada para cada camada de solo para calcular a densidade de raiz fina (DRF) em g kg^{-1} .

5.2.5.2 Processamento das imagens de raízes

As raízes maiores que 1 cm de comprimento foram digitalizadas por meio de um scanner EPSON TWAIN PRO (32 bits) em resolução de 800 dpi (Lei et al., 2012). Todas as raízes vivas recolhidas foram secas a 65 °C durante 72 h, pesadas em balança de alta precisão ($\pm 0,0001$ g) e analisadas utilizando o software WinRhizo (Regent Instruments, Quebec, CA) (Apêndice G2), o qual permite a análise morfológica e a obtenção de informações quantitativas das raízes (diâmetro, comprimento e superfície dos segmentos de raiz).

5.2.5.3 Cálculo das características radiculares

O comprimento de raiz específico (CRE) (m. g^{-1} = comprimento / massa) foi calculado pela razão entre o comprimento das raízes finas digitalizadas e o peso seco das raízes para cada amostra de solo (Maurice et al., 2010). A densidade do tecido radicular (DTR) foi estimada pela razão entre a massa e volume seguindo a metodologia utilizada por Wurzburger e Wright (2015).

5.2.6 Instalação dos minirhizotrons e monitoramento das raízes finas

Os tubos de minirhizotrons (MR) foram instalados em setembro de 2014 aos 16 meses de idade. Para a avaliação da dinâmica de crescimento das raízes finas foram selecionadas árvores com área basal média. Doze tubos de MR em acrílicos transparentes (180 cm de comprimento, 63,5 mm diâmetro interno) foram inseridos no solo em cada parcela com um ângulo de 45° até a profundidade de 1 m. Em cada tratamento foram instalados dois MR (a uma distância de mais de 10 m entre eles). Os MR estão localizados em duas distâncias diferentes das árvores, sendo um perto de eucalipto e um da acácia (Figura 8). A parte exposta de cada tubo foi fechada e pintada de branco para reduzir a infiltração de luz e calor. Para impedir a entrada de água dentro dos tubos o fundo foi selado e a extremidade superior foi coberta com uma tampa removível. A área em volta dos tubos foi protegida para evitar influência antrópica.

A coleta das imagens foi realizada seis meses após a instalação dos MR (Graefe et al., 2008a; Johnson et al., 2001). As imagens foram feitas por meio de um scanner system (CI-600 Root Scanner, CID Inc., Camas, WA, USA). O MR foi introduzido manualmente dentro de cada um dos tubos, obtendo oito imagens por tubo que foram agrupadas em quatro grupos de profundidade: imagens 1 e 2 de 0-0,25 cm; imagens 3 e 4 de 0,25-0,50 cm; imagens 5 e 6 de 0,50-0,75 cm e imagens 7 e 8 de 0,75 a 1 cm, durante um ano com intervalos a cada 14 dias (março de 2015 até março de 2016). Para cada digitalização foi registrado um setor de 345° da interface tubo-solo (21.59 x 19.56 cm image, 100 dpi). As imagens representam uma área efetiva de solo observada de 422 cm².

5.2.7 Análise das imagens

As imagens foram analisadas por meio do software WinRHIZOTRON MF 2009 (Regent Instruments Inc., Quebec, Canada) (Apêndice K), o qual permite traçar manualmente o comprimento e diâmetro das raízes para cada imagem (Germon et al., 2016; Graefe et al., 2008b). As imagens foram capturadas em formato TIF com uma orientação horizontal. Antes da análise todas as imagens foram giradas em vertical e renomeadas de acordo com as configurações do software, totalizando mais de 3500 imagens.

A coleta prévia de raízes com sonda permitiu visualizar as características morfológicas das duas espécies, ajudando na distinção entre acácia e eucalipto. As raízes de acácia são mais rugosas e espessas que as de eucalipto. Já as raízes de eucalipto são mais ramificadas e

os ramos laterais são perpendiculares à raiz principal, enquanto as ramificações das acacia não são simétricas. Após a identificação das raízes o comprimento e diâmetro individual foram demarcados manualmente para cada imagem. Para analisar a próxima imagem, as imagens mais recentes foram superpostas com imagens da sessão anterior, permitindo assim, a identificação das novas características, e estado, “vivas” se as seções radiculares cresceram, se permaneceram da mesma cor ou se era uma nova raiz (observada pela primeira vez) ou “morta” se as seções haviam desaparecido devido à morte e/ou decomposição da raiz. As raízes foram consideradas mortas quando se tornaram pretas ou desapareceram entre as datas amostradas ou ainda, quando o diâmetro original reduziu aproximadamente pela metade (Satomura et al., 2007; Wells and Eissenstat, 2001). Para todas as imagens observou-se o diâmetro da raiz (mm), o comprimento (mm) das raízes vivas, a mortalidade e o aparecimento de novas raízes. Foram consideradas apenas raízes finas (diâmetro ≤ 2 mm), agrupadas em quatro classes de diâmetro ($<0,5$ mm; 0,5 a 1 mm; 1 a 1,5 mm e 1,5 a 2 mm).

5.2.8 Cálculos da produção e mortalidade por comprimento de raiz

Os dados obtidos pelo MR permitiram descrever o comprimento total acumulado (CTA, em m m^{-2}) (Eq. 1) e o comprimento acumulado das raízes mortas (CAM, em m m^{-2}) em cada data definidos como o comprimento total de raízes vivas ou mortas até o período de tempo T.

$$CTA_T \text{ (ou } CAM_T) = \sum_{t=1}^T \sum_{n=1}^N \frac{l_{n,t} - l_{n,t-1}}{A} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, $l_{n,t-1}$ (e $l_{n,t}$) é o comprimento da raiz viva n (ou mortas) entre os tempos $t-1$ e t ; $n \in [1, N]$, N é o número total de raízes vivas (ou mortas) incluídas no cálculo de perda de comprimento vivo ou morto; A é a unidade de área do solo observado através das imagens digitalizadas (A , em m^2 de imagem de MR) (Germon et al., 2016; Graefe et al., 2008b; Lambais et al., 2017 in press).

A partir da diferença entre o comprimento de raiz que apareceu ou desapareceu dentro do período $t - t-1$ (expresso em dias), foi obtida a produção diária de raízes finas (PDRF, em $\text{cm m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) (Eq. 2).

$$PDRF_t = \frac{CTA_t - CTA_{t-1}}{t - t_{-1}} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, t é o tempo (expresso em dias) entre cada sessão escaneada e L o comprimento total de raiz mensurada.

Todas as variáveis foram calculadas para cada tratamento em todos os blocos, em cada distância da árvore, profundidade do solo e classe de diâmetro de raiz.

5.2.9 Análises estatísticas

A normalidade dos dados foi verificada usando um teste de Shapiro-Wilk, assim como a homogeneidade das variâncias e uma transformação em log foi realizada quando os dados não estavam cumprindo a normalidade dos resíduos (Germon et al., 2016). Modelos lineares generalizados separados (MLG) foram utilizados para avaliar os efeitos dos tratamentos (F- e F+), posição de coleta (perto das árvores de acácia ou eucalipto), tipo de raiz (acácia ou eucalipto), profundidade (0-15; 15-30; 30-50; 50-100 cm), idade (16 e 34 meses) e as interações entre os diferentes fatores, sobre a DRF, CRE, DTR. Para o CTA e PDRF foram feitas as mesmas análises, porém as diferentes profundidades foram agrupadas até um metro de profundidade. Estas análises serão seguidas por uma análise unidirecional de variância (ANOVA) para cada fator. As diferenças Post-hoc foram analisadas usando “Tukey’s post-hoc Honest Significant Difference” (HSD) para determinar quais são as principais diferenças significativas entre cada profundidade de coleta comparando o DRF, CRE, diâmetro e DTR de cada tipo de raiz, entre as posições de coleta, tratamento e para cada idade. As análises foram realizadas utilizando o programa R software versão 3.2.2 (R development Core Team 2013) e o nível de significância foi 0,05. Para as representações gráficas, os valores médios e os erros padrão foram calculados a partir de todas as repetições (Biomassa de raiz fina (DRF, CRE, DTR): $n = 18$ para a coleta com 16 e 34 meses $n = 6$; CTA e PDRF $n = 3$).

5.3 Resultados

5.3.1 Crescimento aéreo e concentração de nutrientes nas folhas

Os valores de altura, CAP e G dos eucaliptos e das acácias foram maiores no tratamento com adubação comparado ao tratamento sem adubação, aos 12, 26 e 37 meses de

idade, respectivamente (Apêndice J). Observa-se, que no tratamento sem adubação, para todas as idades, as árvores de eucalipto e acacia apresentam um crescimento semelhante em altura. No primeiro ano, neste tratamento, o CAP e G das acacias foi inferior em relação aos eucaliptos. Já no segundo ano as árvores de eucalipto tiveram valores de CAP e G menor que das acacias, enquanto que no terceiro ano os valores foram semelhantes, indicando um crescimento em diâmetro similar para ambas as espécies.

Nas folhas de eucalipto aos 17 e 21 meses após a plantação foi encontrado concentração de N similar para os dois tratamentos, 13,7 e 15,0 g kg⁻¹ para as árvores de eucalipto no não fertilizado, e 11,5 e 15,7 g kg⁻¹ no fertilizado, respectivamente. O mesmo padrão foi encontrado para as concentrações de P nas folhas de eucalipto (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentrações foliares em macronutrients aos 17 meses (15/10/2014) e 21 meses após o plantio (03/02/2015). Desvio padrão n=3.

Idade (meses)	Espécie	Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	Na
			g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹
17	<i>Acacia</i>	F+	24.7 ± 2.9	0.6 ± 0.1	7.2 ± 0.3	2.0 ± 0.3	1.4 ± 0.1	596.6 ± 205.0
		F-	24.2 ± 3.0	0.4 ± 0.05	6.7 ± 0.1	1.3 ± 0.4	1.3 ± 0.05	556.6 ± 55.0
	<i>Eucalipto</i>	F+	11.5 ± 1.2	0.5 ± 0.1	4.0 ± 0.5	1.8 ± 0.1	1.3 ± 0.1	633.3 ± 15.2
		F-	13.7 ± 1.9	0.5 ± 0.05	3.3 ± 0.2	2.4 ± 0.4	1.3 ± 0.1	653.3 ± 83.2
21	<i>Acacia</i>	F+	21.9 ± 1.2	0.6 ± 0	8.1 ± 1.3	2.2 ± 0.8	1.1 ± 0.1	400.0 ± 173.4
		F-	20.2 ± 1.5	0.5 0.1	6.7 ± 0.9	1.8 ± 0.7	1.0 ± 0.2	483.3 ± 205.5
	<i>Eucalipto</i>	F+	15.7 ± 0.4	0.8 ± 0.05	6.7 ± 0.2	2.9 ± 0.2	1.9 ± 0.05	913.3 ± 80.8
		F-	15.0 ± 0.9	0.7 ± 0.05	4.7 ± 0.3	2.6 ± 0.3	1.5 ± 0.1	710.0 ± 155.2

5.3.2 Densidade de raízes finas

Comparando os efeitos dos diversos fatores sem a posição de coleta sobre a DRF para as duas idades

A DRF foi significativamente influenciada pela profundidade, mas não pela fertilização (Tabela 6). A DRF diminuiu cerca de 75% entre a camada 0-15 ($0,37 \text{ g kg}^{-1}$) e 15-30 cm ($0,09 \text{ g kg}^{-1}$) e depois mais lentamente, com valores médios de $0,07 \text{ g kg}^{-1}$ aos 30-50 cm e $0,06 \text{ g kg}^{-1}$ aos 50-100 cm de profundidade, respectivamente. A DRF foi também significativamente influenciada pela idade do plantio e tipo de raiz (eucalipto/acacia) (Tabela 6). Houve um aumento significativo da DRF para os dois tipos de raízes entre as duas idades (Tabela 7), com valores médios de $0,11 \text{ g kg}^{-1}$ aos 16 meses e de $0,26 \text{ g kg}^{-1}$ aos 34 meses de idade. Para o fator tipo de raiz houve significativamente mais raiz de eucalipto, cerca de 30% a mais de raiz de eucalipto, em relação à acacia, com valores de $0,17$ e $0,13 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente. Há uma interação significativa entre o tipo de raiz e tratamento (Tabela 6), com maior DRF de eucalipto no tratamento fertilizado, $0,19 \text{ g kg}^{-1}$, em relação ao não fertilizado, $0,15 \text{ g kg}^{-1}$. O oposto foi encontrado para o não fertilizado, com DRF significativamente maior de acacia, $0,15 \text{ g kg}^{-1}$, comparado ao fertilizado, $0,11 \text{ g kg}^{-1}$. Foi encontrado no tratamento com fertilização uma DRF de eucalipto significativamente maior em relação à acacia, enquanto no tratamento sem fertilização não há diferença.

Tabela 6 - ANOVA no modelo GLM para densidade de raiz fina (DRF), comprimento de raiz específico (CRE), densidade dos tecidos de raiz (DTR) e diâmetro das raízes em função do tipo de raiz, tratamento, profundidade do solo, idade e interação entre tratamento e tipo de raiz para as árvores de eucalipto e acácia.

	DRF (g kg ⁻¹)		CRE (m g ⁻¹)		DTR (g cm ⁻³)		Diâmetro (mm)	
	F value	P value	F value	P value	F value	P value	F value	P value
Tipo de raiz	15.05	<0.001***	7.136	0.007**	194.59	<0.001***	128.14	<0.001***
Tratamento	0.02	0.89	0.53	0.46	1.72	0.19	2.8	0.09
Profundidade	501.05	<0.001***	5.55	0.14	11.33	0.02*	1.17	0.88
Idade	173.33	<0.001***	108.595	<0.001***	131.48	<0.001***	3.99	0.04*
Tratamento x tipo raiz	20.45	<0.001***	9.76	0.0018**	2.44	0.11	4.74	0.029

Tabela 7 - Densidade de raiz fina (DRF), comprimento de raiz específico (CRE), densidade dos tecidos de raiz (TDR) e diâmetro até 1 m de profundidade nos tratamentos com e sem fertilização em função da posição de coleta e do tipo de raiz aos 16 e 34 meses de idade. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as idades ($p < 0,05$). Para verificar cada profundidade vide Apêndice I.

	Árvore não fertilizada								Árvore fertilizada							
	Perto eucalipto				Perto acacia				Perto eucalipto				Perto acacia			
	Raiz E		Raiz A		Raiz E		Raiz A		Raiz E		Raiz A		Raiz E		Raiz A	
	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses	16 meses	34 meses
DRF (g kg^{-1})	0.11b	0.25a	0.09b	0.18a	0.09b	0.30a	0.12b	0.35a	0.17b	0.39a	0.09a	0.13a	0.12b	0.25a	0.08b	0.22a
CRE (m g^{-1})	54.5a	23.4b	48.8a	27.5b	54.5a	32.8b	51.8a	30.5b	40.9a	25.4b	52.6a	32.8b	53.2a	26.0b	53.8a	33.4b
DTR (g cm^{-3})	0.37b	0.54a	0.24b	0.38a	0.35b	0.59a	0.23b	0.33a	0.40b	0.56a	0.20b	0.32a	0.34b	0.58a	0.22b	0.32a
Diâmetro (mm)	0.28b	0.34a	0.35a	0.39a	0.28a	0.29a	0.36a	0.38 a	0.32a	0.32a	0.38a	0.37a	0.29a	0.30a	0.35a	0.34a

Comparando as DRF de eucalipto e acacia em cada tratamento entre as posições de coleta para cada idade

Aos 16 meses de idade a DRF foi significativamente influenciada pela posição de coleta ($F=7,91$; $P=0,004$), com maior valor perto de eucalipto, $0,12 \text{ g kg}^{-1}$, em relação à acacia, $0,10 \text{ g kg}^{-1}$. Uma interação significativa foi encontrada entre o tipo de raiz e a posição de coleta ($F=18,75$; $P< 0,001$), com maior DRF de eucalipto perto das árvores de eucalipto, $0,14 \text{ g kg}^{-1}$, e maior DRF de acacia perto de acacia, $0,10 \text{ g kg}^{-1}$. Não houve diferença significativa entre as raízes de eucalipto e acacia em cada tratamento entre a posição de coleta. Apesar de não haver diferença, observa-se uma tendência de ter 38% mais raízes de eucalipto perto das árvores de eucalipto que das árvores de acacia na camada superficial no tratamento fertilizado (Figuras 9a e 9c).

Aos 34 meses de idade não houve efeito significativo da posição de coleta. Uma interação significativa foi encontrada entre o tipo de raiz e a posição de coleta ($F=15,42$; $P< 0,001$), com DRF similar para as raízes de eucalipto perto das árvores de eucalipto e acacia, $0,32$ e $0,28 \text{ g kg}^{-1}$, e com valores mais altos das raízes de acacia perto de acacia do que eucalipto, $0,29$ e $0,16 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente. Houve uma interação significativa entre o tipo de raiz e a profundidade ($F=4,92$; $P=0,002$), com uma maior DRF (50%) para eucalipto na camada superficial, $0,77 \text{ g kg}^{-1}$, em relação às raízes de acacia, $0,52 \text{ g kg}^{-1}$. Já na camada 15-30 cm há uma maior DRF de acacia, $0,19 \text{ g kg}^{-1}$, do que eucalipto, $0,13 \text{ g kg}^{-1}$. No tratamento sem fertilização as raízes de eucalipto apresentaram na camada 0-15 cm valores de DRF significativamente mais altos quando coletadas perto das árvores de acacia que de eucalipto, com valores médios de $0,93$ e $0,52 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente (Figura 9b). Já no tratamento com fertilização não houve diferença significativa, mas há uma clara tendência de ter mais raízes de eucalipto (cerca de 31%), $0,96 \text{ g kg}^{-1}$, perto das árvores de eucalipto na camada superficial (0-15 cm), do que perto de acacia, $0,66 \text{ g kg}^{-1}$ (Figura 9b). As raízes de acacia na camada superficial apresentaram valores significativamente mais altos quando coletadas perto de acacia para ambos tratamentos, com valores de $0,86 \text{ g kg}^{-1}$ no não fertilizado perto de acacia e de $0,37 \text{ g kg}^{-1}$ perto de eucalipto, e no fertilizado com $0,58$ e $0,25 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente (Figura 9d).

Figura 9 - Densidade de raiz fina de eucalipto aos 16 (a) e 34 meses (b) de idade e de acácia aos 16 (c) e 34 meses (d) em árvores fertilizadas e não fertilizadas. Para cada camada do solo letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas) e letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para aos coleta de 32 meses $n = 6$).

Comparando as proporções de DRF de eucalipto e acácia entre as posições de coleta nas duas idades

A proporção de raízes de eucalipto/acácia perto das árvores de eucalipto/acácia em cada tratamento não foi significativamente influenciada pela profundidade, fertilização e tipo de raiz.

Comparando as proporções de DRF de eucalipto e acacia entre as posições de coleta para cada idade

Aos 16 meses de idade houve um efeito significativo da posição de coleta ($F=15,74$; $P<0,001$), com mais raízes perto de eucalipto (54%) do que perto de acacia (46%). Houve uma interação significativa entre o tipo de raiz e a posição de coleta ($F=11,32$; $P<0,001$), com significativamente mais raízes de eucalipto perto das árvores de eucalipto (59%) do que perto de acacia (41%), enquanto não houve diferença significativa da posição de coleta para as raízes de acacia (51% perto de acacia e 49% perto de eucalipto). Há uma proporção significativamente maior de raízes de eucalipto perto de eucalipto em quase todas as profundidades para os dois tratamentos (Figura 10a). Já para as raízes de acacia não houve diferença significativa (Figura 10c).

Aos 34 meses não houve efeito significativa da posição de coleta. No tratamento sem fertilização houve uma proporção significativamente maior de raízes de eucalipto perto de acacia (62,3%) na camada superficial quando comparado à posição perto de eucalipto (37,6%) (Figura 10b). Já na camada 30-50 cm houve uma proporção maior de raiz de eucalipto (69%) perto das árvores de eucalipto em relação à acacia (31%) (Figura 10b). O mesmo padrão foi encontrado na camada 50-100 cm, com cerca de 61% de raiz de eucalipto perto de eucalipto e 38% perto de acacia. No tratamento com fertilização houve uma diferença significativa aos 0-15 e 30-50 cm de profundidade, com mais raízes de eucalipto perto de eucalipto (Figura 10b). Já para as raízes de acacia houve diferença significativa apenas na camada superficial, com mais raízes de acacia perto de acacia para os dois tratamentos (Figura 10d).

Comparando os valores e as proporções de DRF de eucalipto e acacia entre tratamento em cada posição de coleta para cada idade

A DRF de eucalipto na camada superficial foi significativamente maior perto das árvores de eucalipto no tratamento com fertilização quando comparado ao sem fertilização para as duas idades, com valores médios aos 16 meses de 0,46 e 0,26 g kg⁻¹, e de 0,96 e 0,52 g kg⁻¹ aos 34 meses de idade (Figuras 9a e 9b). Somente aos 34 meses de idade na posição de coleta 6, perto de acacia, que encontramos DRF de eucalipto duas vezes maior no tratamento sem fertilização, 1,20 g kg⁻¹, em relação ao fertilizado, 0,56 g kg⁻¹. Para as raízes de acacia, nessa mesma posição foi encontrado maior DRF perto de acacia no tratamento sem fertilização, 1,15 g kg⁻¹, quando comparado ao tratamento com fertilização, 0,69 g kg⁻¹. Em relação as proporções, verificamos que aos 16 meses de idade não houve diferença significativa entre tratamento, posição e tipo de raiz (Figuras 10a e 10c). Aos 34 meses, na

camada superficial perto das árvores de acácia, há uma proporção significativamente maior de raiz de eucalipto no tratamento sem fertilização em relação ao fertilizado, com valores médios de 62,3 e 39,8%, respectivamente (Figura 10b). Perto das árvores de eucalipto houve uma proporção significativamente maior de raiz de eucalipto na camada 0-15 cm no fertilizado, 60%, do que no não fertilizado, 37% (Figura 10b). Para as raízes de acácia aos 34 meses, não houve diferença significativa entre tratamento e posição de coleta (Figura 10d).

Figura 10 – Proporção das raízes finas de eucalipto aos 16 (a) e 34 meses (b) de idade e de acácia aos 16 (c) e 34 meses (d) em árvores fertilizadas e não fertilizadas. Para cada camada do solo letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas) e letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para aos coleta de 32 meses $n = 6$).

5.3.3 Características radiculares

5.3.3.1 Comprimento de raiz específico (CRE)

Comparando os efeitos dos diversos fatores sem a posição de coleta sobre o CRE para as duas idades

O comprimento de raiz específico (CRE) não foi significativamente influenciado pela profundidade e fertilização (Tabela 6). Ocorreu um efeito significativo da idade, (Tabela 4), com uma diminuição significativa do CRE (cerca de 43%) dos 16 aos 34 meses de idade, com valores médios de 51 e 29 m g^{-1} , respectivamente (Tabela 7). Houve uma interação significativa entre a profundidade e a idade ($F=5,41$; $P<0,001$). Aos 16 meses de idade houve um efeito significativo da profundidade ($F=14,41$; $P=0,006$). Os valores de CRE aumentaram 28% entre a camada 0-15 ($44,7 \text{ m g}^{-1}$) e 50-100 cm ($57,33 \text{ m g}^{-1}$). Aos 34 meses de idade também ocorreu um efeito significativo da profundidade ($F=7,90$; $P=0,004$). Os valores de CRE diminuíram 20% entre a camada 0-15 ($33,0 \text{ m g}^{-1}$) e 50-100 cm ($26,2 \text{ m g}^{-1}$). Há um efeito significativo do tipo de raiz (Tabela 5), as árvores de eucalipto apresentaram CRE menor que das acacias, 46,6 e 44,3 m g^{-1} , respectivamente. Houve uma interação significativa entre o tipo de raiz e o tratamento (Tabela 6), com valores mais altos para raízes de eucalipto no tratamento sem fertilização, 47 m g^{-1} , comparado ao fertilizado, 41 m g^{-1} , e inversamente para as raízes de acacia, com valores de 45 e 48 m g^{-1} , respectivamente. Os valores do CRE para acacia ($48,3 \text{ m g}^{-1}$) foram significativamente maior em relação ao eucalipto no tratamento com fertilização ($41,2 \text{ m g}^{-1}$), enquanto não houve diferença entre as espécies no sem fertilização.

Comparando os CRE de eucalipto e acacia entre as posições de coleta para cada idade

Aos 16 meses de idade não houve efeito significativo para a posição de coleta. Foi encontrado no tratamento com fertilização na camada 0-15 cm um CRE maior para os eucaliptos ($47,7 \text{ m g}^{-1}$) em relação à acacia ($41,6 \text{ m g}^{-1}$). Já na camada 50-100 cm as acacias apresentaram um CRE significativamente maior ($60,46 \text{ m g}^{-1}$) que os eucaliptos ($48,53 \text{ m g}^{-1}$). No tratamento sem fertilização, na camada 0-15 cm, as raízes de eucalipto apresentaram um CRE significativamente maior do que as acacia, 49,48 m g^{-1} e 38,91 m g^{-1} , respectivamente. Para ambos os tratamentos não houve diferença entre as raízes de eucalipto e a posição de coleta, exceto na camada 50-100 cm onde há um maior CRE no tratamento sem fertilização perto de acacia, 70,6 m g^{-1} , do que perto de eucalipto, 47,3 m g^{-1} , o mesmo ocorre no com

fertilização, com valores de 59,2 e 38,4 m g^{-1} , respectivamente (Figura 11a). Há um CRE maior das raízes de eucalipto coletadas perto de eucalipto na camada 15-30 cm no tratamento não fertilizado, 62,8 m g^{-1} , em relação ao fertilizado, 37,7 m g^{-1} (Figura 11a). Para as raízes de acacia não houve diferença significativa entre as posições de coleta para cada tratamento e entre tratamentos (Figura 12a).

Aos 34 meses de idade houve um efeito significativo da posição de coleta ($F=5,77$; $P=0,001$), com CRE maior perto de acacia, 30,6 m g^{-1} , em relação ao eucalipto, 27,2 m g^{-1} . Não houve interação entre os diferentes fatores, entretanto foi encontrado no tratamento com fertilização um CRE para acacia significativamente maior (33,14 m g^{-1}) em relação as raízes de eucalipto (25,74 m g^{-1}). Já no tratamento sem fertilização não houve diferenças de CRE entre as duas espécies. Para as raízes de eucalipto só houve diferença na camada 30-50 cm no tratamento sem fertilização, com um CRE maior perto de acacia, 31,3 m g^{-1} , do que perto de eucalipto, 19,7 m g^{-1} (Figura 11b). Para as raízes de acacia não houve diferença entre as posições de coleta em cada tratamento. Entre tratamento o CRE das raízes de acacia perto de eucalipto foi maior no fertilizado, 48,4 m g^{-1} , em relação ao não fertilizado, 32,8 m g^{-1} (Figura 12b).

Figura 11 - Mudanças no comprimento de raiz específico das raízes de eucalipto aos 16 (a) e 34 meses (b) de idade, densidade dos tecidos das raízes de eucalipto aos 16 anos (c) e 34 meses (d) e diâmetro das raízes de eucalipto aos 16 (e) e 34 meses de idade (f) em 50A:50E. Para cada camada do solo letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas), letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para aos coleta de 32 meses $n = 6$).

Figura 12 - Mudanças no comprimento de raiz específico das raízes de acácia aos 16 (a) e aos 34 meses (b) de idade, densidade dos tecidos radiculares das raízes de acácia aos 16 anos (c) e 34 meses (d) de idade e diâmetro das raízes de acácia aos 16 meses (e) e 34 meses de idade (f) em 50A:50E. Para cada camada do solo, letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a posição de coleta, perto das árvores de eucalipto (barras pretas) ou acácia (barras abertas), letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamentos (árvore fertilizada ou não fertilizada). Os valores médios e os erros padrões foram calculados a partir de todas as repetições ($n = 18$ para a coleta aos 16 meses e para a coleta de 32 meses $n = 6$).

5.3.3.2 Densidade dos tecidos das raízes finas (DTR)

Comparando os efeitos dos diversos fatores sem a posição de coleta sobre o DTR para as duas idades

A densidade dos tecidos das raízes finas (DTR) foi significativamente influenciada pela profundidade (Tabela 6), mas não pela fertilização. Os valores médios de DTR diminuíram entre a camada superficial, $0,43 \text{ g cm}^{-3}$, e a camada 50-100 cm, $0,36 \text{ g cm}^{-3}$. Houve um efeito significativo da idade (Tabela 7), com um aumento de cerca de 55% dos 16 para os 34 meses, com valores médios de 0,29 e $0,45 \text{ g cm}^{-3}$, respectivamente (Figura 11 e 13, Tabela 6). O tipo de raiz (Tabela 6) influenciou significativamente o DTR, com valores de eucalipto, $0,42 \text{ g cm}^{-3}$, 68% maior que de acacia, $0,25 \text{ g cm}^{-3}$, em ambos tratamentos. Não houve interações significativas entre os diferentes fatores.

Comparando os DTR de eucalipto e acacia entre as posições de coleta para cada idade

Aos 16 meses não foram encontradas interações significativas entre os fatores. Não houve diferença significativa para as raízes de eucalipto no tratamento sem fertilização entre as posições de coleta, no tratamento fertilizado só houve diferença significativa na camada 50-100 cm, com uma maior DTR perto de eucalipto que de acacia. Não foi encontrada diferença entre tratamentos para eucalipto (Figura 11c). Para as raízes de acacia não houve diferença em cada tratamento entre as posições de coleta e entre tratamentos (Figura 12c).

Aos 34 meses não foram encontradas interações significativas entre os diferentes fatores. Para cada profundidade só ocorreu diferença significativa para as raízes de eucalipto na camada superficial no tratamento não fertilizado, com maior DTR perto de acacia que eucalipto (Figura 11d). Para as raízes de acacia, apenas na profundidade 30-50 cm no não fertilizado houve uma DTR maior perto de acacia do que eucalipto (Figura 12d).

5.3.3.3 Diâmetro das raízes finas

Comparando os efeitos dos diversos fatores sem a posição de coleta sobre o diâmetro para as duas idades

O diâmetro das raízes finas não foi significativamente influenciado pela profundidade. Houve um aumento significativo entre as idades, com valores de 0,33 mm aos 16 e de 0,35 mm aos 34 meses (Figuras 11 e 13, Tabela 7). O tipo de raiz foi significativamente influenciado pelo diâmetro (Tabela 6), com as raízes de acacia apresentando um diâmetro

maior (0,37 mm) em relação as raízes de eucalipto (0,30 mm). Ocorreu uma interação significativa entre o tipo de raiz e o tratamento (Tabela 5), as raízes de eucalipto apresentaram um diâmetro menor, 0,29 mm, em relação as raízes de acacia, 0,36 mm, em ambos tratamentos.

Comparando os diâmetros das raízes de eucalipto e acacia entre as posições de coleta para cada idade

Aos 16 meses de idade o diâmetro das raízes foi significativamente influenciado pela fertilização ($F=6,75$; $P=0,009$), com valores médios de 0,32 mm no não fertilizado e de 0,34 mm no fertilizado. Houve também um efeito significativo da posição de coleta ($F=4,84$; $P=0,02$), com raiz mais fina perto das árvores de acacia (0,32 mm) do que perto das árvores de eucalipto (0,34 mm). Não houve interações significativas entre os diferentes fatores. Para as raízes de eucalipto não ocorreu diferença em cada profundidade entre a posição de coleta para ambos os tratamentos (Figura 11e). Já para as raízes de acacia, apenas na camada 15-30 cm no tratamento fertilizado, houve maior diâmetro perto de eucalipto que acacia (Figura 12e).

Aos 34 meses houve uma interação significativa entre o tipo de raiz e a profundidade ($F=5,06$; $P=0,002$), com raízes mais finas para ambas as espécies na camada superficial, com valores de 0,28 mm para eucalipto e 0,34 mm para acacia, em relação à profundidade, 0,36 mm e 0,38 mm, respectivamente. Para as raízes de eucalipto não houve diferença em cada profundidade entre as posições de coleta para ambos os tratamentos (Figura 11f). Já para as raízes de acacia só ocorreu diferença na posição perto de acacia na camada superficial, com um maior diâmetro no tratamento sem fertilização em relação ao fertilizado (Figura 12f).

5.3.4 Dinâmica de crescimento das raízes finas

O comprimento total acumulado (CTA) ou produção de raiz fina ao longo de um ano foi significativamente influenciado pela fertilização (Tabela 8), com valores médios observados no primeiro ano de $11,49 \text{ m m}^{-2}$ no tratamento sem fertilização e de $6,92 \text{ m m}^{-2}$ no fertilizado (Tabela 8). Um efeito do tipo de raiz foi encontrado (Tabela 8), com valores de CTA de $13,8 \text{ m m}^{-2}$ para as raízes de eucalipto e $4,5 \text{ m m}^{-2}$ para acacia (Tabela 9). Encontramos uma interação significativa entre o tratamento e o tipo de raiz ($F=13,84$; $P<0,001$), com um CTA duas vezes maior para as raízes de eucalipto no tratamento sem fertilização ($18,34 \text{ m m}^{-2}$) em relação fertilizado ($9,34 \text{ m m}^{-2}$). Para as raízes de acacia foram

encontrados valores similares entre o sem ($4,64 \text{ m m}^{-2}$) e com fertilização ($4,51 \text{ m m}^{-2}$) (Tabela 9). Foi encontrada interação significativa entre a posição de coleta e o tipo de raiz (Tabela 8), com um CTA maior para as raízes de eucalipto quando coletadas perto de eucalipto ($18,6 \text{ m m}^{-2}$) do perto de acacia (9 m m^{-2}). O inverso foi encontrado para as raízes de acacia, com maior valor perto das árvores de acacia ($6,13 \text{ m m}^{-2}$) do que perto das árvores de eucalipto (3 m m^{-2}) (Tabela 9). No período de um ano um maior CTA foi encontrado para as raízes de eucalipto perto de eucalipto no tratamento sem fertilização (25 m m^{-2}) (Figura 13).

O comprimento acumulado das raízes mortas (CAM) foi considerado nulo, pois não foi possível avaliar o tempo de vida das raízes devido a falta de mortalidade.

Figura 13 - Comprimento total acumulado de raiz fina (m m^{-2}) durante um ano para as árvores de *Eucalyptus* e *Acacia* em cada tratamento, fertilizado (F+) e não fertilizado (F-), e em cada posição, perto de acacia e perto de eucaliptos para todas as profundidades. A média e o desvio padrão foram calculados pelo número de tubos observados em cada tratamento, bloco e posição ($n = 3$).

Tabela 8 - ANOVA no modelo GLM para o comprimento total acumulado (CTA, cm m^{-2}) e produção diária de raiz fina (PDRF, cm dia^{-1}), em função do tipo de raiz, tratamento, posição de coleta, sazonalidade, e das interações entre os fatores para as árvores de eucalipto e acácia.

	CTA (m m^{-2})		PDRF (cm dia^{-1})	
	F Value	P value	F Value	P value
Tipo de raiz	628.03	<0.001***	32.82	<0.001***
Tratamento	36.27	<0.001***	11.8	<0.001***
Posição de coleta	1.36	0.24	1.12	0.29
Sazonalidade	2408.8	<0.001***	174.95	<0.001***
Posição x tipo raiz	23.402	<0.001***	23.18	<0.001***
Tratamento x tipo raiz	13.84	<0.001***	13.88	<0.001***
Posição x tratamento x tipo de raiz	7.52	0.006**	7.78	0.005**

Tabela 9 - Comprimento total acumulado (CTA, m m^{-2}), comprimento acumulado de raiz morta (CAM, m m^{-2}), produção diária de raiz fina média e máxima (PDRF, cm dia^{-1}) calculados no período de um ano para cada posição de coleta, tratamento e tipo de raiz. CTA, CAM e PDRF e desvio padrão foram calculados para toda a profundidade em conjunto (0-100 cm).

	Perto de <i>Acacia</i>				Perto de <i>Eucalyptus</i>			
	F-		F+		F-		F+	
	<i>Acacia</i>	<i>Eucalyptus</i>	<i>Acacia</i>	<i>Eucalyptus</i>	<i>Acacia</i>	<i>Eucalyptus</i>	<i>Acacia</i>	<i>Eucalyptus</i>
CTA (m m^{-2}) observado por um ano	6.54±1.06	11.0±4.83	5.72±1.21	7.02±4.10	2.75±1.38	25.68±7.54	3.30±0.64	11.67±0.84
CAM (m m^{-2}) observado por um ano	0	0	0	0.27±0.47	0.46±0.80	0	0.007±0.012	0
PDRF média (cm dia^{-1})	0.25±0.36	0.19±0.28	0.21±0.28	0.37±0.65	0.48±0.89	0.33±0.62	0.19±0.17	0.23±0.30
PDRF máxim	1.76	2.25	1.47	3.17	3.87	5.54	0.85	2.16
Nº de raiz	304	425	212	184	85	650	77	290

A produção diária de raiz fina (PDRF) foi significativamente influenciada pela fertilização (Tabela 8). Os valores médios de PDRF foram maiores no tratamento sem fertilização ($0,31 \text{ cm dia}^{-1}$) em relação ao fertilizado ($0,25 \text{ cm dia}^{-1}$) (Tabela 9). Um efeito significativo da sazonalidade foi observado (Tabela 8), com uma maior PDRF durante o verão (novembro a dezembro) para as raízes de acácia e constante para as raízes de eucalipto, com valor menor no inverno (julho e agosto) (Figura 14). Houve um efeito significativo do tipo de raiz (Tabela 8), com valores mais altos para as raízes de eucalipto comparado as raízes de acácia (Figura 14). Há uma interação significativa entre a posição de coleta e o tipo de raiz (Tabela 8), com uma maior PDRF perto das árvores de eucalipto ($0,30 \text{ cm dia}^{-1}$) do que perto das árvores de acácia ($0,25 \text{ cm dia}^{-1}$). Outra interação significativa foi encontrada entre o tratamento e o tipo de raiz (Tabela 8), com valores médios maiores para as raízes de eucalipto no tratamento com fertilização ($0,30 \text{ cm dia}^{-1}$) comparado ao sem fertilização ($0,26 \text{ cm dia}^{-1}$). O inverso foi encontrado para acácia, a qual produziu $0,36 \text{ cm dia}^{-1}$ no não fertilização e $0,20 \text{ cm dia}^{-1}$ no fertilizado. Ao final dos 12 meses de coleta de imagens houve uma interação significativa entre o tratamento, tipo de raiz e posição de coleta (Tabela 8), com uma PDRF maior no tratamento fertilizado para as raízes de eucalipto perto das árvores de acácia e no tratamento sem fertilização para as raízes de acácia perto das árvores de eucalipto (Tabela 9). Os valores de PDRF máxima (cerca de $5,54 \text{ cm dia}^{-1}$) ocorreram no tratamento sem fertilização perto das árvores de eucalipto (Tabela 9).

Figura 14 - Produção diária de raiz fina ($\text{cm m}^{-2} \text{dia}^{-1}$) a cada 15 dias, de 26 de março de 2015 a 21 de março de 2016, em cada tratamento, fertilizado (F+) e não fertilizado (F-), e em cada posição, perto de acácia e perto de eucalipto para todas as profundidades e espécie. A média e o desvio padrão foram calculados pelo número de tubos observados em cada tratamento, bloco e posição ($n = 3$).

5.4 Discussão

Alta competição entre eucalipto e acácia no tratamento fertilizado

Os resultados estão de acordo com a nossa primeira hipótese, afirmando que há uma maior DRF de eucalipto em relação à acácia, e que a DRF de eucalipto é maior quando a fertilidade do solo é melhorada pela adubação. Foi encontrada uma maior DRF de eucalipto na camada superficial em relação à acácia aos 16 e 34 meses de idade. Laclau et al. (2013) ao estudarem plantações mistas de *E. grandis* e *A. mangium* aos 5 anos de idade no Brasil mostraram uma exclusão competitiva das raízes de acácia pelas raízes de eucalipto nos horizontes superficiais, os quais são mais ricos em nutrientes. Os autores sugerem que esse resultado seja consequência de uma ocupação anterior do horizonte superficial do solo pelas

raízes finas de eucalipto. Verifica-se assim, que a planta que ocupar primeiro um fragmento de solo mais rico em nutrientes irá antecipar a absorção dos recursos disponíveis levando a uma desvantagem competitiva para a espécie que chegar depois (de Kroon et al., 2012; Robinson et al., 1999; Schwinning and Weiner, 1998). Nesse estudo corroboramos essa hipótese, mostrando que aos 16 meses de idade já existe uma maior DRF de eucalipto em comparação à acacia na camada superficial. Estudos comprovaram a rápida expansão das raízes finas de eucalipto nos primeiros meses após o plantio (Laclau et al., 2013a; O'Grady et al., 2005). O'Grady et al. (2005) ao estudarem as raízes finas de *Eucalyptus globulus* na Tasmânia dos 3 aos 14 meses de idade, verificaram em solos arenoso-argiloso que a partir dos 6 meses já há presença de raiz a mais de 1 m de distância da planta no primeiro metro de profundidade do solo. Bouillet et al (2002) mostraram no Congo em solos muito arenosos a presença de raízes finas de *E. PFI* a mais de 3 m de profundidade e até 2.5 m das árvores no “inter-row”.

As plantas irão se adaptar de acordo com as condições abiótica (nutrientes) e biótica (vizinhança), alterando sua estratégia de crescimento subterrâneo conforme a necessidade de busca por recursos (Fransen et al., 1998; Messier et al., 2009; Pregitzer et al., 2002). No tratamento com adubação a DRF de eucalipto foi maior perto das árvores de eucalipto na camada superficial quando comparado ao sem adubação aos 16 e 34 meses de idade (Figuras 10a e 10b). Diversos estudos mostraram uma diminuição da DRF com um aumento da fertilidade do solo (Aber et al., 1985; Coomes and Grubb, 2000; Vanninen and Makela, 1999; Yuan and Chen, 2010), já outros encontraram o oposto, com uma maior DRF (George et al., 1997; Noguchi et al., 2013) em solos pouco férteis, ou ainda não encontraram impacto da fertilização (Leuschner et al., 2004). Já para as raízes de acacia a maior DRF foi encontrada no tratamento sem fertilização e perto de acacia quando comparado ao fertilizado, provavelmente devido a alta competição dos eucaliptos no tratamento com fertilização (Laclau et al., 2013b). A estratégia de forrageamento das raízes em fragmentos mais ricos nutricionalmente leva a uma maior DRF e uma forte competição entre as espécies (Hutchings et al., 2003). Outro resultado que comprova a forte competição subterrânea do eucalipto sobre a acacia foi um aumento ao longo do tempo da DRF nos dois tratamentos e nas duas posições de coleta para as raízes de eucalipto e acacia, exceto no tratamento fertilizado para as raízes de acacia perto de eucalipto. Além disso, verificamos que as raízes de eucalipto dominaram todas as posições quando havia fertilização, com uma maior DRF de eucalipto perto das árvores de eucalipto e perto das árvores de acacia. A proliferação das raízes de eucalipto no tratamento fertilizado perto das árvores de acacia indica a formação de “overlapping depletion

zones” que irão se sobrepor entre as espécies, reduzindo consequentemente, a absorção dos recursos pelas raízes de acacia (Chakraborty and Li, 2009; Maeght et al., 2013). Paula et al. (2015) ao estudarem a transferência de nitrogênio abaixo do solo verificaram que o crescimento das raízes finas de acacia é mais restrito no primeiros metros em volta do tronco. Estudos mostraram que uma forte competição pode desfavorecer o crescimento das árvores acacia em plantações mistas em relação às monoculturas (Bouillet et al., 2013) e aumentar a fixação do N_2 (Paula et al., 2017 in press).

Aos 16 meses de idade foi observado um maior CRE de *Eucalyptus* na camada superficial para ambos os tratamentos quando comparado com a acacia, entretanto na camada 50-100 cm do tratamento fertilizado o CRE de acacia foi maior. Aos 34 meses no tratamento fertilizado o CRE das acacias permaneceu o mesmo na camada superficial, enquanto que para as árvores de eucalipto o CRE diminuiu, acarretando assim, em um CRE significativamente maior das acacia em relação ao eucalipto. Esse contraste entre um maior DRF e menor CRE de eucalipto, poderia ocorrer porque as raízes de eucalipto estavam dominando as acacias não precisando manter um alto CRE, mostrando assim, um potencial tradeoff entre os características radiculares (Maurice et al., 2010). Bauhus et al. (2000) ao estudarem plantações mistas de *E. globulos* e *A. mearnsii* aos 6 anos de idade na Austrália encontraram valores de CRE semelhante ao nosso estudo, porém não encontraram diferença entre as duas espécies. A maior competição dos eucaliptos sobre as acacias no tratamento com fertilização pode ser responsável pelas mudanças de CRE entre as duas idades, já que no tratamento sem fertilização não há diferença entre as duas espécies. Estudos comprovaram que a competição interespecífica pode resultar em forte modificação das características radiculares, como o aumento do CRE e da ARE (área de raiz específica), a fim de reduzir a relação custo/benefício para a obtenção de recursos (nutrientes e água) (Bolte and Villanueva, 2006; Curt and Prévosto, 2003; Fujii and Kasuya, 2008). A forte competição interespecífica fez com que as acacias seguissem a estratégia de forrageamento, a qual já foi reportada para outras espécies dominadas, para acessar os recursos do solo menos explorados pela espécie dominante (Bauhus and Messier, 1999).

Foi encontrado aos 34 meses de idade um CRE de eucalipto 40% maior perto de acacia em relação ao eucalipto no tratamento sem fertilização, enquanto a DRF até 1 m de profundidade foram parecidas. Os eucaliptos também estão seguindo uma estratégia de forrageamento, ocupando uma área maior pela mesma quantidade de carbono investido nas raízes perto das árvores de acacia do que perto de eucalipto, aproveitando assim, das zonas de fertilidade (Yano and Kume, 2005).

Facilitação das árvores de acacia para as árvores de eucalipto no tratamento não fertilizado

Aos 16 meses não foi encontrado uma maior DRF de eucalipto perto de acacia. Já aos 34 meses de idade na camada superficial houve uma maior DRF de eucalipto perto das árvores de acacia no tratamento sem fertilização. Esse resultado comprova a nossa segunda hipótese, de que há uma DRF de eucalipto maior perto das árvores de acacia no tratamento sem fertilização. Verificamos concentrações semelhantes de N nas folhas de eucalipto entre os dois tratamentos aos 17 e 21 meses de idade. Silva et al. (2013) em plantação pura no Brasil de *Eucalyptus grandis* nos 15 primeiros meses após o plantio, mostraram que as árvores de eucalipto sem fertilização apresentaram uma concentração menor de N nas folhas quando comparado às árvores fertilizadas. Nossos resultados mostram que além da mobilidade das raízes de eucalipto para chegarem perto da acacia, elas também conseguem aproveitar da maior disponibilidade de N nessa região. Quando a disponibilidade de recurso é limitada e não é repartida de forma homogênea as raízes tendem a colonizar zonas mais ricas em nutrientes facilitando a captação dos recursos (Hodge, 2006, 2004; López-Bucio et al., 2003). As raízes ao encontrarem essas zonas irão alterar seu crescimento e fisiologia como forma de forrageamento (Hinsinger et al., 2011).

Paula et al. (2015) mostraram que a rizosfera perto das árvores de acacia é mais rica em N quando comparada ao eucalipto. O solo perto de *Acacia mangium* apresenta uma alta disponibilidade de N, devido a decomposição de serapilheira mais rica em N (Bachega et al., 2016; Koutika et al., 2014; Voigtlaender et al., 2012) e a alta diversidade de fauna e de comunidades microbianas no solo (Bini et al., 2013; Rachid et al., 2013). A disponibilidade de N no solo também pode ser aumentada para não-EFN quando as EFN dependem fortemente de N fixado ao invés do N presente no solo (Pretzsch et al., 2017). Estudos mostraram que o N fixado poderá ser usado no desenvolvimento da planta e que ele se tornará mais disponível para as não-EFN depois de um ou dois anos de idade (Khanna, 1997; Parrota et al., 1996; Richards et al., 2010). Paula et al. (2015) comprovaram uma transferência subterrânea a curto prazo de N entre as árvores de acacia e eucalipto, que pode ter ocorrido por exsudado ou hifas de micorrizas. Uma possível hipótese é que essa transferência seria ainda pouco expressiva aos 16 meses de idade, justificando porque não foi encontrado uma maior DRF de eucalipto perto de acacia no tratamento sem fertilização, como foi o caso aos 34 meses.

Foi observado nas imagens de minirrhizotron (Apêndice K) a presença de micorrizas. Estudos mostraram que diversos fungos ectomicorrízicos possuem alta capacidade de

absorver o N orgânico (Finlay Frostegard and Sonnerfeldt, 1992; Read, 1991). A colonização de *Eucalyptus* e *Acacia mangium* com ectomicorriza *Pisolithus sp.* and *Scleroderma sp* já foi comprovada (Ducousso et al., 2012; Founoune et al., 2002) indicando que, provavelmente, essa colonização possa favorecer a transferência de N (Paula et al., 2015). Uma transferência significativa de N entre EFN e não EFN é mais susceptível quando ambas são colonizadas por fungos ectomicorriza (Ekblad and Huss-Danell, 1995).

Foi encontrado aos 34 meses de idade uma proporção maior de raiz de eucalipto perto de acacia no tratamento não fertilizado em comparação ao fertilizado. Diversos estudos confirmaram a HGE (Forrester, 2014; Holmgren and Scheffer, 2010; Maestre et al., 2009; Michalet et al., 2006), mostrando que o processo de facilitação irá aumentar com o aumento da severidade do ambiente (Bertness and Callaway, 1994), outros ainda, verificaram mais especificamente que essa interação positiva irá ocorrer onde há baixa disponibilidade de nutrientes (Binkley et al., 2003; Bouillet et al., 2013; Forrester et al., 2006). Em ambientes pobres nutricionalmente a facilitação irá ocorrer entre as espécies afetando a exploração espacial das raízes, como foi encontrado em nosso estudo. Apesar da existência de diversos estudos sobre a HGE não havia sido comprovado, até aonde vai o nosso conhecimento, que essa interação poderia ser encontrado abaixo do solo. No nosso estudo conseguimos comprovar que a HGE também ocorre entre as raízes finas de EFN e não-EFN.

Dinâmica de crescimento das raízes finas

Nossa terceira hipótese foi parcialmente comprovada, pois ao longo de um ano de medição do CTA (produção de raiz fina), entre as duas coletas de biomassa radicular, não foi observado mortalidade suficiente das raízes para ambas as espécies para quantificar seu tempo de vida (Tabela 9). Nesse período houve uma alta produção das raízes de eucalipto no tratamento sem fertilização, sendo encontrado nesse tratamntento um aumento da DRF de eucalipto perto de acacia entre os 16 e 34 meses. Esses resultados mostram o início da estratégia de forrageamento das raízes de eucalipto em direção às acacias. O uso dos minirrhizotrons permitiu evidenciar o que aconteceu entre as duas biomassas de raiz fina, comprovando o forte crescimento das raízes de eucalipto em direção às acacias.

Aos 16 meses de idade a DRF das árvores fertilizadas foi 50% maior em relação das árvores não fertilizadas, ao contrário da CTA que foi maior no não fertilizado. As árvores do tratamento sem fertilização após o plantio levaram mais tempo no desenvolvimento da parte subterrânea em relação às árvores fertilizadas, porém depois investiram mais na produção de raiz para compensar a falta de nutrientes (Elberse and Berendse, 1993). Yuan and Chen

(2010) também observaram um padrão inverso entre a DRF e a produção de raiz fina em relação à fertilidade do solo, justificando que isso irá depender se a produção e o turnover das raízes finas irão seguir o mesmo padrão. As raízes finas podem apresentar um crescimento rápido (alta produção), porém a DRF irá depender se o turnover vai aumentar ou diminuir com a fertilidade do solo.

Apesar de não ter conseguido estimar o tempo de vida das raízes, podemos afirmar que as duas espécies apresentam um turnover superior a um ano. Lambais et al. (2017) (in press) registraram que o tempo de vida médio das raízes finas, em plantação pura de eucalipto, é de 514 dias na camada superior do solo. Os autores mostraram que o tempo de vida das raízes aumenta conforme seu diâmetro aumenta, e que as raízes micorrizadas da camada 0-30 cm vivem um mês a mais em relação as que não foram micorrizadas. Jourdan et al. (2008), em plantações de *Eucalyptus* no Brasil, ao estudarem o turnover das raízes em função da fertilização (com ou sem adição de N) na camada 0-30 cm encontraram uma taxa maior de turnover no tratamento sem adição de N. Os autores verificaram que as árvores cresceram mais e que o turnover das raízes foi maior no tratamento sem adição de N. Em nosso estudo verificamos um maior crescimento em altura e diâmetro tanto para as árvores de eucalipto que acacia no tratamento com fertilização (Apêndice J). Lehmann and Zech (1998) ao estudarem as raízes de *Acacia saligna* também encontraram um turnover superior a um ano, com um tempo de vida estimado de 2 anos. Em nosso estudo não conseguimos definir em qual tratamento o turnover das raízes irá ser maior, por isso sob essas condições o ideal seria observar por mais tempo seu desenvolvimento para saber se a fertilização aumenta ou não o tempo de vida das raízes.

O valor máximo de PDRF (até 5,54 cm dia⁻¹) foi encontrado nas árvores de eucalipto no tratamento não fertilizado. Lambais et al. (2017) (in press), em plantios puros de eucalipto localizados próximo ao nosso experimento, obtiveram valores máximos de PDRF nas camadas profundas (abaixo de 3 m) de 3,6 cm dia⁻¹, enquanto Misra (1999) usando rhizotron encontrou valores de PDRF para mudas de eucalipto de cerca de 2,5 cm dia⁻¹. Estudos reportaram valores altos de PDRF em uma solução hidropônica extremamente pobre em nutrientes, o que seria uma possível adaptação das raízes para uma maior exploração do solo em ambientes limitantes nutricionalmente (Hermans et al., 2006; Walter et al., 2003). A limitação dos recursos (nutrientes) leva a um aumento do crescimento da raiz, a qual é responsável pelo suprimento desse recurso (Comeau e Kimmins 1989; pretzsh 2017).

Foi encontrado um crescimento (PDRF) constante ao longo do ano para as raízes de eucalipto, enquanto o crescimento para as raízes de acacia foi maior durante o verão

(novembro a dezembro). Lambais et al 2017 (in press) também verificaram que o crescimento radicular nas camadas superficiais nas plantações de eucalipto ocorreu ao longo do ano. Germon et al (2017) reportaram que a capacidade das árvores de eucalipto e de acacia explorar o solo e as zonas mais ricas em nutrientes difere em função da época do ano. As condições ambientais que controlam a dinâmica de crescimento das raízes finas nos ecossistemas florestais são difíceis de entender (Lambais et al 2017 in press). O crescimento das raízes pode ser influenciado por fatores exógenos (Moroni et al., 2003; Tierney et al., 2003). Em um estudo de meta-análise realizado em diversos tipos de florestas (boreal, temperada e subtropical) foi verificado que o crescimento das raízes finas foi influenciado positivamente pelos fatores climáticos (temperatura e precipitação) (Abramoff e Finzi, 2015).

Perspectivas

Em conclusão, nosso estudo mostrou que as árvores de eucalipto são fortemente competitivas quando há uma alta disponibilidade de nutrientes no solo. Verificamos que há uma facilitação das árvores de acacia para as árvores de eucalipto em solos pobres nutricionalmente, comprovando que a HGE ocorre entre as raízes finas. Estudos dificilmente associam as mudanças na distribuição, biomassa ou crescimento das raízes finas com a absorção de nutrientes (Pretzsch et al., 2017). Vimos que os processos ecológicos que ocorrem abaixo do solo estão associados à fertilização das árvores, entretanto um maior crescimento ou biomassa de raiz, não irá necessariamente acarretar em uma maior absorção de nutriente (Pretzsch et al., 2017). Seria importante verificar se os processos subterrâneos irão provocar a especialização das características radiculares.

A ocorrência de micorrizas, as quais podem aumentar a absorção e transferência de nutrientes, poderia ser quantificada em plantações mistas para analisar sua influência nas interações entre as espécies. Além disso, é necessário entender mais profundamente o funcionamento das raízes finas no âmbito de um gradiente de estresse nutricional, a fim de comprovarmos a existência dos processos de competição e facilitação abaixo do solo. A marcação das árvores ou aplicação no solo com isótopos de N, P e K poderia ser uma forma eficaz de quantificar a taxa de absorção e transferência de nutrientes entre as espécies.

REFERÊNCIAS

- Aber, J.D., Melillo, J.M., Nadelhoffer, K.J., Meclaugherty, C. a, Pastor, J., 1985. Fine root turnover in forest ecosystems in relation to quantity and form of nitrogen availability: a comparison of two methods. *Oecologia* 66, 317–321.
- Abramoff, R.Z., Finzi, a C., 2015. Are above- and below-ground phenology in sync? *New Phytol.* 205, 1054–1061. doi:10.1111/nph.13111
- Addo-Danso, S.D., Prescott, C.E., Smith, A.R., 2016. Methods for estimating root biomass and production in forest and woodland ecosystem carbon studies: A review. *For. Ecol. Manage.* 359, 332–351. doi:10.1016/j.foreco.2015.08.015
- Bachega, L.R., Bouillet, J.P., de Cássia Piccolo, M., Saint-André, L., Bouvet, J.M., Nouvellon, Y., de Moraes Gonçalves, J.L., Robin, A., Laclau, J.P., 2016. Decomposition of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* leaves and fine roots in tropical conditions did not meet the Home Field Advantage hypothesis. *For. Ecol. Manage.* 359, 33–43. doi:10.1016/j.foreco.2015.09.026
- Bauhus, J., Khanna, P.K., Menden, N., 2000. Aboveground and belowground interactions in mixed plantations of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *Can. J. For. Res.* 30, 1886–1894. doi:10.1139/cjfr-30-12-1886
- Bauhus, J., Messier, C., 1999. Soil exploitation strategies of fine roots in different tree species of the southern boreal forest of eastern Canada 273, 260–273.
- Bertness, M.D., Callaway, R., 1994. Positive interactions in communities. *Trends Ecol. Evol.* 9, 187–191. doi:10.1016/0169-5347(94)90087-6
- Bini, D., Alcantara, C., Bouillet, J.-P., Gonçalves, J.L. de M., Cardoso, E.J.B.N., 2013. *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* in monoculture and intercropped plantations : Evolution of soil and litter microbial and chemical attributes during early stages of plant development. *Appl. Soil Ecol.* 63, 57–66. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.09.012
- Binkley, D., Senock, R., Bird, S., Cole, T.G., 2003. Twenty years of stand development in pure and mixed stands of *Eucalyptus saligna* and nitrogen-fixing *Facaltaria moluccana*. *For. Ecol. Manage.* 182, 93–102. doi:10.1016/S0378-1127(03)00028-8
- Blaser, W.J., Shanungu, G.K., Edwards, P.J., Venterink, H.O., 2014. Woody encroachment reduces nutrient limitation and promotes soil carbon sequestration. *Ecol. Evol.* 4, 1423–1438. doi:10.1002/ece3.1024
- Bolte, A., Villanueva, I., 2006. Interspecific competition impacts on the morphology and distribution of fine roots in European beech (*Fagus sylvatica* L.) and Norway spruce (*Picea abies* (L.) karst.). *Eur. J. For. Res.* 125, 15–26. doi:10.1007/s10342-005-0075-5
- Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Gonçalves, J.L.D.M., Voigtlaender, M., Gava, J.L., Leite, F.P., Hakamada, R., Mareschal, L., Mabiala, A., Tardy, F., Levillain, J., Deleporte, P., Epron, D., Nouvellon, Y., 2013. *Eucalyptus* and *Acacia* tree growth over entire rotation in single- and mixed-species plantations across five sites in Brazil and Congo. *For. Ecol. Manage.* 301, 89–101. doi:10.1016/j.foreco.2012.09.019
- Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Gonçalves, J.L.M., Moreira, M.Z., Trivelin, P.C.O., Jourdan, C., Silva, E. V., Piccolo, M.C., Tsai, S.M., Galiana, a., 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil. 2: Nitrogen accumulation in the stands and biological N₂ fixation. *For. Ecol. Manage.* 255, 3918–3930. doi:10.1016/j.foreco.2007.10.050
- Bouillet, J., Laclau, J., Arnaud, M., Thongo, A., Bou, M., Saint-andre, L., Jourdan, C., 2002. Changes with age in the spatial distribution of roots of *Eucalyptus* clone in Congo Impact on water and nutrient uptake. *For. Ecol. Manage.* 171, 43–57.

- Brunelle, T., Dumas, P., Souty, F., Dorin, B., Nadaud, F., 2015. Evaluating the impact of rising fertilizer prices on crop yields. *Agric. Econ. (United Kingdom)* 46, 653–666. doi:10.1111/agec.12161
- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, E., Gamfeldt, L., Balvanera, P., O'Connor, M.I., Gonzalez, A., 2011. The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* 98, 572–592. doi:10.3732/ajb.1000364
- Chairungsee, N., Gay, F., Thaler, P., Kasemsap, P., Thanisawanyangkura, S., Chantuma, A., Jourdan, C., Espeleta, J.F., Eissenstat, D.M., Bouskill, N.J., Wood, T.E., Baran, R., Hao, Z., Ye, Z., Bowen, B.P., Lim, H.C., Nico, P.S., Holman, H.-Y., Gilbert, B., Silver, W.L., Northen, T.R., Brodie, E.L., 2013. Impact of tapping and soil water status on fine root dynamics in a rubber tree plantation in Thailand. *Front. Plant Sci.* 4, 113–119. doi:10.3389/fmicb.2016.00323
- Chakraborty, A., Li, B., 2009. Plant-to-Plant direct competition for belowground resource in an overlapping depletion zone Plant-to-plant direct competition for belowground resource in an overlapping depletion zone. *J. Arid Land* 1, 9–15. doi:10.3724/SP.J.1227.00009
- Christina, M., Laclau, J., Goncalves, J.L.M., 2011. Almost symmetrical vertical growth rates above and below ground in one of the world's most productive forests. *Ecosphere* 2, 1–10. doi:10.1890/ES10-00158.1
- Comeau, P.G., Kimmins, J.P., 1989. Above- and below-ground biomass and production of Lodgepole pine on sites with differing soil moisture regimes. *Can. J. For. Res.* 19, 447–454. doi:10.1139/x89-070
- Coomes, D. a., Grubb, P.J., 2000. Impacts of root competition in forests and woodlands: A theoretical framework and review of experiments. *Ecol. Monogr.* 70, 171–207. doi:10.1890/0012-9615(2000)070[0171:IORCIF]2.0.CO;2
- Cornelissen, J.H.C.A., Lavorel, S.B., Garnier, E.B., Díaz, S.C., Buchmann, N.D., Gurvich, D.E.C., Reich, P.B.E., Steege, H.F., Morgan, H.D.G., A, M.G.A.V.D.H., Pausas, J.G.H., Poorter, H.I., 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 51, 335–380.
- Cuevas, E., Medina, E., Ivic, C.D.E., 1988. Nutrient dynamics within amazonian forests II. Fine root growth, nutrient availability and leaf litter decomposition. *Oecologia* 76, 222–235.
- Curt, T., Prévosto, B., 2003. Rooting strategy of naturally regenerated beech in Silver birch and Scots pine woodlands. *Plant Soil* 255, 265–279.
- de Kroon, H., Hendriks, M., van Ruijven, J., Ravenek, J., Padilla, F.M., Jongejans, E., Visser, E.J.W., Mommer, L., 2012. Root responses to nutrients and soil biota: Drivers of species coexistence and ecosystem productivity. *J. Ecol.* 100, 6–15. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01906.x
- Ducousso, M., Duponnois, R., Thoen, D., Prin, Y., 2012. Diversity of Ectomycorrhizal Fungi Associated with *Eucalyptus* in Africa and Madagascar. *Int. J. For. Res.* 2–10. doi:10.1155/2012/450715
- Eissenstat, D.M., Wells, C.E., Yanai, R.D., Whitbeck, J.L., 2000. Building roots in a changing environment: Implications for root longevity. *New Phytol.* 147, 33–42. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00686.x
- Ekblad, A., Huss-Danell, K., 1995. Nitrogen fixation by *Alnus incana* and nitrogen transfer from *A. incana* to *Pinus sylvestris* influenced by macronutrients and ectomycorrhiza. *New Phytol.* 131, 453–459.
- Elberse, W.T., Berendse, F., 1993. A Comparative Study of the Growth and Morphology of Eight Grass Species from Habitats with Different Nutrient Availabilities. *Funct. Ecol.* 7, 223–229.

- Finlay Frostegard, A., Sonnerfeldt, A.M., 1992. Utilization of organic and inorganic nitrogen sources by ectomycorrhizal fungi in pure culture and in symbiosis with *Pinus contorta* Dougl. ex Loud. New Phytol. 120, 105–115.
- Forrester, D.I., 2014. The spatial and temporal dynamics of species interactions in mixed-species forests: From pattern to process. For. Ecol. Manage. 312, 282–292. doi:10.1016/j.foreco.2013.10.003
- Forrester, D.I., Bauhus, J., Cowie, A.L., 2005. Nutrient cycling in a mixed-species plantation of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. Can. J. For. Res. 35, 2942–2950. doi:10.1139/x05-214
- Forrester, D.I., Bauhus, J., Cowie, A.L., Vanclay, J.K., 2006. Mixed-species plantations of *Eucalyptus* with nitrogen-fixing trees: A review. For. Ecol. Manage. 233, 211–230. doi:10.1016/j.foreco.2006.05.012
- Forrester, D.I., Pares, a., O'Hara, C., Khanna, P.K., Bauhus, J., 2013. Soil Organic Carbon is Increased in Mixed-Species Plantations of *Eucalyptus* and Nitrogen-Fixing *Acacia*. Ecosystems 16, 123–132. doi:10.1007/s10021-012-9600-9
- Founoune, H., Duponnois, R., Ba, A.M., 2002. Ectomycorrhization of *Acacia mangium*, Willd. and *Acacia holosericea*, A. Cunn. ex G. Don in Senegal. Impact on plant growth, populations of indigenous symbiotic microorganisms and plant parasitic nematodes. J. Arid Environ. 50, 325–332. doi:10.1006/jare.2001.0800
- Fransen, B., De Kroon, H., Berendse, F., 1998. Root morphological plasticity and nutrient acquisition of perennial grass species from habitats of different nutrient availability. Oecologia 115, 351–358. doi:10.1007/s004420050527
- Fujii, S., Kasuya, N., 2008. Fine root biomass and morphology of *Pinus densiflora* under competitive stress by *Chamaecyparis obtusa*. J. For. Res. 13, 185–189. doi:10.1007/s10310-008-0063-y
- George, E., Seith, B., Schaeffer, C., Marschner, H., 1997. Responses of *Picea*, *Pinus* and *Pseudotsuga* roots to heterogeneous nutrient distribution in soil. Tree Physiol. 17, 39–45. doi:doi: 10.1093/treephys/17.1.39
- Germon, A., Cardinael, R., Prieto, I., Mao, Z., Kim, J., Stokes, A., Dupraz, C., Laclau, J.P., Jourdan, C., 2016. Unexpected phenology and lifespan of shallow and deep fine roots of walnut trees grown in a silvoarable Mediterranean agroforestry system. Plant Soil 401, 409–426. doi:10.1007/s11104-015-2753-5
- Germon, A., Guerrini, I., Bordron, B., Bouillet, J., Nouvellon, Y., Gonçalves, J., Moreira, R., Jourdan, C., Lacalu, J., 2017. Consequence of mixing *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* trees on soil exploration by fine roots down to a depth of 17 m in a tropical planted forest. Accepted in Plant and Soil.
- Gill, R.A., Jackson, R.B., 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. New Phytol. 147, 13–31.
- Godbold, D.L., Fritz, H., Jentschke, G., Rademacher, P., 2003. Root turnover and root necromass accumulation of Norway spruce (*Picea abies*) are affected by soil acidity. Tree Physiol. 23, 915–921.
- Gonçalves, J.L.D.M., Alvares, C.A., Higa, A.R., Silva, L.D., Alfenas, A.C., Stahl, J., Ferraz, S.F.D.B., Lima, W.D.P., Brancalion, P.H.S., Hubner, A., Bouillet, J.P.D., Laclau, J.P., Nouvellon, Y., Epron, D., 2013. Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. For. Ecol. Manage. 301, 6–27. doi:10.1016/j.foreco.2012.12.030
- Graefe, S., Hertel, D., Leuschner, C., 2008a. Estimating fine root turnover in tropical forests along an elevational transect using minirhizotrons. Biotropica 40, 536–542. doi:10.1111/j.1744-7429.2008.00419.x

- Graefe, S., Hertel, D., Leuschner, C., 2008b. Fine root dynamics along a 2,000-m elevation transect in South Ecuadorian mountain rainforests. *Plant Soil* 313, 155–166. doi:10.1007/s11104-008-9688-z
- Hermans, C., Hammond, J.P., White, P.J., Verbruggen, N., 2006. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends Plant Sci.* 11, 610–617. doi:10.1016/j.tplants.2006.10.007
- Hinsinger, P., Brauman, A., Devau, N., Gérard, F., Jourdan, C., Laclau, J.P., Le Cadre, E., Jaillard, B., Plassard, C., 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant Soil* 348, 29–61. doi:10.1007/s11104-011-0903-y
- Hodge, A., 2006. Plastic plants and patchy soils. *J. Exp. Bot.* 57, 401–411. doi:10.1093/jxb/eri280
- Hodge, A., 2004. The plastic plant: Root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytol.* 162, 9–24. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01015.x
- Holmgren, M., Scheffer, M., 2010. Strong facilitation in mild environments: The stress gradient hypothesis revisited. *J. Ecol.* 98, 1269–1275. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01709.x
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, a., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, a. J., Vandermeer, J., Wardle, D. a., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecol. Monogr.* 75, 3–35. doi:10.1890/04-0922
- Hutchings, M.J., John, E.A., Wijesingue, D.K., 2003. Toward understanding the consequences of soil heterogeneity for plant populations and communities. *Ecol. Soc. Am.* 84, 2322–2334.
- Johnson, M.G., Tingey, D.T., Phillips, D.L., Storm, M.J., 2001. Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environ. Exp. Bot.* 45, 263–289. doi:10.1016/S0098-8472(01)00077-6
- Jourdan, C., Silva, E.V., Gonçalves, J.L.M., Ranger, J., Moreira, R.M., Laclau, J.-P., 2008. Fine root production and turnover in Brazilian *Eucalyptus* plantations under contrasting nitrogen fertilization regimes. *For. Ecol. Manage.* 256, 396–404. doi:10.1016/j.foreco.2008.04.034
- Jucker, T., Avăcăriței, D., Bărnoaiea, I., Duduman, G., Bouriaud, O., Coomes, D. a., 2016. Climate modulates the effects of tree diversity on forest productivity. *J. Ecol.* 104, 388–398. doi:10.1111/1365-2745.12522
- Kelty, M.J., 2006. The role of species mixtures in plantation forestry. *For. Ecol. Manage.* 233, 195–204. doi:10.1016/j.foreco.2006.05.011
- Khanna, P., 1997. Comparison of growth and nutrition of young monocultures and mixed stands of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *For. Ecol. Manage.* 94, 105–113.
- Koutika, L.S., Epron, D., Bouillet, J.P., Mareschal, L., 2014. Changes in N and C concentrations, soil acidity and P availability in tropical mixed acacia and eucalypt plantations on a nutrient-poor sandy soil. *Plant Soil* 379, 205–216. doi:10.1007/s11104-014-2047-3
- Laclau, J.-P., Bouillet, J.-P., Gonçalves, J.L.M., Silva, E.V., Jourdan, C., Cunha, M.C.S., Moreira, M.R., Saint-André, L., Maquère, V., Nouvellon, Y., Ranger, J., 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil. *For. Ecol. Manage.* 255, 3905–3917. doi:10.1016/j.foreco.2007.10.049
- Laclau, J.P., da Silva, E. a, Rodrigues Lambais, G., Bernoux, M., le Maire, G., Stape, J.L., Bouillet, J.-P., Gonçalves, J.L.D.M., Jourdan, C., Nouvellon, Y., 2013a. Dynamics of soil exploration by fine roots down to a depth of 10 m throughout the entire rotation in *Eucalyptus grandis* plantations. *Front. Plant Sci.* 4, 243. doi:10.3389/fpls.2013.00243

- Laclau, J.P., Nouvellon, Y., Reine, C., Gonçalves, J.L.D.M., Krushe, A.V., Jourdan, C., le Maire, G., Bouillet, J.P., 2013b. Mixing *Eucalyptus* and *Acacia* trees leads to fine root over-yielding and vertical segregation between species. *Oecologia* 172, 903–913. doi:10.1007/s00442-012-2526-2
- Laclau, J.P., Ranger, J., de Moraes Gonçalves, J.L., Maquère, V., Krusche, A. V., M'Bou, A.T., Nouvellon, Y., Saint-André, L., Bouillet, J.P., de Cassia Piccolo, M., Deleporte, P., 2010. Biogeochemical cycles of nutrients in tropical *Eucalyptus* plantations. Main features shown by intensive monitoring in Congo and Brazil. *For. Ecol. Manage.* 259, 1771–1785. doi:10.1016/j.foreco.2009.06.010
- Lambais, GR., Jourdan C., de Cassia Piccolo, M., Germon, A., Nouvellon, Y., Stape, J.L., Campoe, CO., Robin, A., Bouillet, J.P., Le Maire, G., Laclau, J.P. Phenology of *Eucalyptus grandis* fine roots in a deep tropical soil. In press
- Lehmann, J., Zech, W., 1998. Fine root turnover of irrigated hedgerow intercropping in Northern Kenya. *Plant Soil* 198, 19–31. doi:10.1023/A
- Lei, P., Scherer-Lorenzen, M., Bauhus, J., 2012. Belowground facilitation and competition in young tree species mixtures. *For. Ecol. Manage.* 265, 191–200. doi:10.1016/j.foreco.2011.10.033
- Leuschner, C., Hertel, D., Schmid, I., Koch, O., Muhs, A., Hölscher, D., 2004. Stand fine root biomass and fine root morphology in old-growth beech forests as a function of precipitation and soil fertility. *Plant Soil* 258, 43–56. doi:10.1023/B:PLSO.0000016508.20173.80
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., Herrera-Estrella, L., 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 280–287. doi:10.1016/S1369-5266(03)00035-9
- Maeght, J.-L., Rewald, B., Pierret, A., 2013. How to study deep roots-and why it matters. *Front. Plant Sci.* 4, 1–14. doi:10.3389/fpls.2013.00299
- Maestre, F.T., Callaway, R.M., Valladares, F., Lortie, C.J., 2009. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J. Ecol.* 97, 199–205. doi:10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x
- Majdi, H., 1996. Root sampling methods - Applications and limitations of the minirhizotron technique. *Plant Soil* 185, 255–258. doi:10.1007/BF02257530
- Majdi, H., Pregitzer, K., Morén, A.S., Nylund, J.E., Ågren, G., 2005. Measuring fine root turnover in forest ecosystems. *Plant Soil* 276, 1–8. doi:10.1007/s11104-005-3104-8
- Maurice, J., Laclau, J.-P., Scorzoni Re, D., Gonçalves, J.L.D.M., Nouvellon, Y., Bouillet, J.-P., Stape, J.L., Ranger, J., Behling, M., Chopart, J.-L., 2010. Fine root isotropy in *Eucalyptus grandis* plantations. Towards the prediction of root length densities from root counts on trench walls. *Plant Soil* 334, 261–275. doi:10.1007/s11104-010-0380-8
- Messier, C., Coll, L., Poitras-Larivière, A., Bélanger, N., Brisson, J., 2009. Resource and non-resource root competition effects of grasses on early- versus late-successional trees. *J. Ecol.* 97, 548–554. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01500.x
- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Pugnaire, F.I., Valiente-Banuet, A., Callaway, R.M., 2006. Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? *Ecol. Lett.* 9, 767–773. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00935.x
- Misra, R.K., 1999. Root and shoot elongation of rhizotron-grown seedlings of *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus* in relation to temperature Author (s): R . K . Misra Published by: Springer Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/42949434> Root and shoot elongation. *Plant Soil* 206, 37–46.

- Mommer, L., Padilla, F.M., van Ruijven, J., de Caluwe, H., Smit-Tiekstra, A., Berendse, F., de Kroon, H., 2015. Diversity effects on root length production and loss in an experimental grassland community. *Funct. Ecol.* 29, 1560–1568. doi:10.1111/1365-2435.12466
- Moroni, M.T., Worledge, D., Beadle, C.L., 2003. Root distribution of *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* in irrigated and droughted soil. *For. Ecol. Manage.* 6065, 1–9. doi:10.1016/S0378-1127(02)00410-3
- Nadelhoffer, K.J., 2000. The potential effects of nitrogen deposition on fine-root production in forest ecosystems. *New Phytol.* 147, 131–139. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00677.x
- Noguchi, K., Nagakura, J., Kaneko, S., 2013. Biomass and morphology of fine roots of sugi (*Cryptomeria japonica*) after 3 years of nitrogen fertilization. *Front. Plant Sci.* 4, 1–7. doi:10.3389/fpls.2013.00347
- O’Grady, a. P., Worledge, D., Battaglia, M., 2005. Temporal and spatial changes in fine root distributions in a young *Eucalyptus globulus* stand in southern Tasmania. *For. Ecol. Manage.* 214, 373–383. doi:10.1016/j.foreco.2005.04.021
- Ohashi, A.Y.P., de Matos Pires, R.C., Ribeiro, R.V., de Oliveira Silva, A.L.B., 2015. Root growth and distribution in sugarcane cultivars fertigated by a subsurface drip system. *Bragantia* 74, 1–9. doi:10.1590/1678-4499.0295
- Ostertag, R., 2001. Effect of nitrogen and phosphorus availability on fine-root dynamics in Hawaiian montane forests. *Ecology* 82, 485–499.
- Parrota, J.A., Baker, D.D., Fried, M., 1996. Changes in dinitrogen fixation in maturing stands of *Casuarina equisetifolia* and *Leucaena leucocephala*. *Can. J. For. Res.* 26, 1684–1691.
- Paula, R.R., Bouillet, J., Trivelin, P.C.O., Zeller, B., Gonçalves, L.D.M., Nouvellon, Y., Bouvet, J.-M., Plassard, C., Laclau, J.-P., 2015. Evidence of short-term belowground transfer of nitrogen from *Acacia mangium* to *Eucalyptus grandis* trees in a tropical planted forest. *Soil Biol. Biochem.* 91, 99–108. doi:10.1016/j.soilbio.2015.08.017
- Paula, R.R., Secondary, C.A., Author, C., Paula, R.R., Bouillet, J., Balieiro, F.C., Nouvellon, Y., Oliveira, J.C., Laclau, J., 2017. Planting *Eucalyptus grandis* with *Acacia mangium* increased nitrogen fixation compared to monospecific *Acacia mangium* stands in Brazil. Accepted in *Ann. For. Sci.*
- Pinheiro, R.C., de Deus, J.C., Nouvellon, Y., Campoe, O.C., Stape, J.L., Aló, L.L., Guerrini, I.A., Jourdan, C., Laclau, J.P., 2016. A fast exploration of very deep soil layers by *Eucalyptus* seedlings and clones in Brazil. *For. Ecol. Manage.* 366, 143–152. doi:10.1016/j.foreco.2016.02.012
- Pregitzer, K.S., DeForest, J.L., Burton, A.J., Allen, M.F., Ruess, R.W., Hendrick, R.L., 2002. Fine root architecture of nine North American trees. *Ecol. Monogr.* 72, 293–309. doi:10.2307/3100029
- Pregitzer, K.S., Hendrick, R.L., Fogel, R., 1993. The Demography of Fine Roots in Response to Patches of Water and Nitrogen. *New Phytol.* 125, 575–580.
- Pretzsch, H., Forrester, D.I., Bauhus, J. 2017. *Mixed-Species Forests, Ecology and Management*. Springer, 653p.
- Rachid, C.T.C.C., Balieiro, F.C., Peixoto, R.S., Pinheiro, Y. a S., Piccolo, M.C., Chaer, G.M., Rosado, a. S., 2013. Mixed plantations can promote microbial integration and soil nitrate increases with changes in the N cycling genes. *Soil Biol. Biochem.* 66, 146–153. doi:10.1016/j.soilbio.2013.07.005
- Radville, L., McCormack, M.L., Post, E., Eissenstat, D.M., 2016. Root phenology in a changing climate. *J. Exp. Bot.* 67, 3617–3628. doi:10.1093/jxb/erw062

- Ravenek, J.M., Bessler, H., Engels, C., Scherer-Lorenzen, M., Gessler, A., Gockele, A., De Luca, E., Temperton, V.M., Ebeling, A., Roscher, C., Schmid, B., Weisser, W.W., Wirth, C., de Kroon, H., Weigelt, A., Mommer, L., 2014. Long-term study of root biomass in a biodiversity experiment reveals shifts in diversity effects over time. *Oikos* 1528–1536. doi:10.1111/oik.01502
- Read, D.J., 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47, 376–391.
- Richards, A.E., Forrester, D.I., Bauhus, J., Scherer-Lorenzen, M., 2010. The influence of mixed tree plantations on the nutrition of individual species: A review. *Tree Physiol.* 30, 1192–1208. doi:10.1093/treephys/tpq035
- Robinson, D., Hodge, A., Gri, B.S., Fitter, A.H., 1999. Plant root proliferation in nitrogen-rich patches confers competitive advantage. *R. Soc.* 266, 431–435.
- Santos, F.M., Balieiro, F.D.C., Ataíde, D.H.D.S., Diniz, A.R., Chaer, G.M., 2016. Dynamics of aboveground biomass accumulation in monospecific and mixed-species plantations of *Eucalyptus* and *Acacia* on a Brazilian sandy soil. *For. Ecol. Manage.* 363, 86–97. doi:10.1016/j.foreco.2015.12.028
- Satomura, T., Fukuzawa, K., Horikoshi, T., 2007. Considerations in the study of tree fine-root turnover with minirhizotrons 34–45. doi:10.3117/plantroot.1.34
- Schwinning, S., Weiner, J., 1998. Mechanisms determining the degree of size asymmetry in competition among plants. *Oecologia* 113, 447–455.
- Silva, P.H.M. Da, Poggiani, F., Libardi, P.L., Gonçalves, A.N., 2013. Fertilizer management of eucalypt plantations on sandy soil in Brazil: Initial growth and nutrient cycling. *For. Ecol. Manage.* 301, 67–78. doi:10.1016/j.foreco.2012.10.033
- Silva, E.V., Gonçalves, J.L., Coelho, S.R., Moreira, R.M., Miranda Mello, S.L., Bouillet, J.-P., Jourdan, C., Laclau, J.-P., 2009. Dynamics of fine root distribution after establishment of monospecific and mixed-species plantations of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium*. *Plant Soil* 325, 305–318. doi:10.1007/s11104-009-9980-6
- Sun, Z.-K., Liu, X.-J., Schmid, B., Bruehlheide, H., Bu, W.-S., Ma, K.-P., 2017. Positive effects of tree species richness on fine-root production in a subtropical forest in SE-China. *J. Plant Ecol.* 10, 146–157. doi:10.1111/j.1399-0012.2012.01641.x
- Tierney, G.L., Groffman, P.M., Driscoll, C.T., Yavitt, J.B., 2003. Environmental control of fine root dynamics in a northern hardwood forest hardwood forest. *Glob. Chang. Biol.* 9, 670–679. doi:10.1046/j.1365-2486.2003.00622.x
- Vanninen, P., Makela, a., 1999. Fine root biomass of Scots pine stands differing in age and soil fertility in southern Finland. *Tree Physiol.* 19, 823–830. doi:10.1093/treephys/19.12.823
- Veiga, D.A.A.R., Carvalho, C.M. de, Brasil, M.M.A., 2000. Tree volume equations for *Acacia mangium* Willd. *Cerne* 6, 103–107.
- Voigtlaender, M., Laclau, J.P., de Gonçalves, J.L.M., de Piccolo, M.C., Moreira, M.Z., Nouvellon, Y., Ranger, J., Bouillet, J.P., 2012. Introducing *Acacia mangium* trees in *Eucalyptus grandis* plantations: Consequences for soil organic matter stocks and nitrogen mineralization. *Plant Soil* 352, 99–111. doi:10.1007/s11104-011-0982-9
- Walter, A., Feil, R., Schurr, U., 2003. Expansion dynamics, metabolite composition and substance transfer of the primary root growth zone of *Zea mays* L. *Plant, Cell Environ.* 26, 1451–1466. doi:10.1046/j.0016-8025.2003.01068.x
- Wells, C.E., Eissenstat, D.M., 2001. Marked differences in survivorship among apple roots of different diameters. *Ecol. Soc. Am.* 82, 882–892.
- Wurzburger, N., Wright, S.J., 2015. Fine-root responses to fertilization reveal multiple nutrient limitation in a lowland tropical forest. *Ecology* 96, 2137–2146. doi:10.1890/14-1362.1

- Yamashita, N., Ohta, S., Hardjono, A., 2008. Soil changes induced by *Acacia mangium* plantation establishment: Comparison with secondary forest and *Imperata cylindrica* grassland soils in South Sumatra, Indonesia. *For. Ecol. Manage.* 254, 362–370. doi:10.1016/j.foreco.2007.08.012
- Yano, K., Kume, T., 2005. Root Morphological Plasticity for Heterogeneous Phosphorus Supply in *Zea mays L.* *plant prod Sci* 8, 427–432. doi:10.1626/ppp.8.427
- Yuan, Z.Y., Chen, H., 2010. Fine Root Biomass, Production, Turnover Rates, and Nutrient Contents in Boreal Forest Ecosystems in Relation to Species, Climate, Fertility, and Stand Age: Literature Review and Meta-Analyses. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 29, 204–221. doi:10.1080/07352689.2010.483579

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

6.1 Conclusão geral

O objetivo geral dessa tese foi compreender melhor o funcionamento das raízes finas de *Eucalyptus*. Mais especificamente, foi comparar como ocorre a variação na absorção de nutrientes pelas raízes finas em função da fertilização e da profundidade do solo, assim como aumentar o conhecimento sobre a dinâmica de crescimento das raízes finas em plantações mistas com uma espécie fixadora de nitrogênio no âmbito da hipótese do gradiente de estresse.

Uma das ideias da tese foi que as raízes finas de *Eucalyptus* apresentam uma alta plasticidade podendo ajustar a densidade de raiz fina (DRF) e as características radiculares, afim de uma melhor adaptação às condições ambientais. O estudo foi baseado na hipótese de que a fertilização irá influenciar no funcionamento das raízes finas tanto na superfície como na profundidade, além de tentar entender como as interações interespecíficas irão mudar em função da fertilização das árvores.

A tese foi organizada em duas grandes partes. Na primeira (Capítulo 1) foram estudadas as raízes finas de *Eucalyptus* em plantação pura com e sem fertilização, avaliando a biomassa radicular, as características radiculares e usando marcadores para avaliar o potencial de absorção das raízes finas em função da profundidade do solo. Na segunda parte (Capítulo 2) foi avaliado a resposta das raízes finas de *Eucalyptus* à fertilização, mas dessa vez em plantação mista com *Acacia mangium*, visando entender melhor a dinâmica de crescimento espacial e temporal, e o funcionamento das raízes finas.

Nessa parte da tese, os principais resultados dos dois capítulos serão cruzados visando entender melhor como as raízes finas de *Eucalyptus* respondem: (i) à fertilização mineral e (ii) a associação com uma espécie fixadora de nitrogênio. Primeiro será abordado sobre as metodologias que foram utilizadas, em seguida sobre os principais resultados encontrados em cada capítulo, e por fim sobre as perspectivas de trabalhos futuros.

6.1.1 Avaliação crítica das metodologias utilizadas para quantificação de raiz fina

Nessa primeira parte vamos falar sobre as metodologias que foram utilizadas ao longo da tese e, mais especificamente, sobre os pontos positivos e negativos de cada uma.

Para estudar as raízes finas é necessário utilizar várias metodologias e fazer escolhas, não existe um jeito certo ou errado, cada metodologia empregada apresenta pontos positivos e negativos. Nos últimos anos diversos estudos mostraram como se deve analisar as raízes finas (da Silva et al., 2011; Christina et al., 2011; Germon et al., 2017; Lambais et al., 2017 in press; Pinheiro et al., 2015), com isso houve um aumento nas repetições dos estudos, e assim, da mesma metodologia utilizada para comparar os resultados obtidos.

As duas metodologias utilizadas nessa tese para quantificar as raízes finas foram a coleta com sondas e os minirrhizotrons. Ambas as técnicas apresentam a vantagem de serem facilmente reproduzidas na superfície do solo, porém a coleta em horizontes profundos são mais difíceis devido a presença de sedimentos rochosos. No solo do nosso estudo não ocorreu esse problema durante a coleta ou instalação dos todos, entretanto essa etapa foi mais difícil depois de um longo período sem chuva. A coleta com sonda permite obter informações sobre a distribuição espacial das DRF, além das amostras poderem ser analisadas depois da coleta para obter mais informações sobre a morfologia das raízes (Maeght et al., 2013). Os minirrhizotrons permitem saber a densidade de comprimento radicular (DCR) e a dinâmica de crescimento das raízes, assim como estimar o tempo de vida das raízes (turnover) durante um tempo indeterminado minimizando as perturbações do solo (Maeght et al., 2013). Usar essas duas metodologias ao mesmo tempo, como foi o caso do nosso capítulo 2, mostrou a possibilidade de obter informações complementares, afim de entender melhor as relações interespecíficas ao longo de um período de tempo. Entretanto, ambas as técnicas também apresentam pontos negativos. A análise das amostras de raízes coletada com a sonda leva um tempo considerável, principalmente entre a lavagem, separação, pesagem e digitalização (Berhongaray et al., 2013; Levillain et al., 2011; Taylor et al., 2013), além da necessidade de uma grande amostragem devido ao alto grau de heterogeneidade da distribuição das raízes (ambas técnicas) (Addo-Danso et al., 2016; Maeght et al., 2013). Os mesmos problemas são encontrados com a técnica de minirrhizotron. Apesar do tempo para instalação dos tubos e captura de imagens serem relativamente moderado a análise das imagens leva um tempo considerável para ser finalizada (Addo-Danso et al., 2016; Maeght et al., 2013). Outra possível problemática é o elevado preço dos equipamentos e software para processar os dados obtidos (ex. minirrhizotron, tubos de acrílico, scanner, programa WinRhizo) (Addo-Danso et al., 2016), além da necessidade de um período de adaptação dos tubos antes da análise das raízes para garantir que não haja perturbação do solo no crescimento radicular (Germon et al., 2016). Outro ponto negativo é que mesmo utilizando plásticos para impedir a entrada de luz é difícil observar a primeira posição da imagem, 0-20 cm, devido a claridade que dificulta a

vizualização das raízes. Uma outra limitação comum de se encontrar é a formação de zonas de umidade entre o tudo e o solo devido ao mal contato entre eles (Johnson et al., 2001), criando assim condições artificiais para um melhor crescimento das raízes. Por fim, pode ocorrer vieses na estimativa da quantidade de raízes durante o processo de análise das imagens devido a dificuldade em se distinguir as raízes vivas e mortas (Chairungsee et al., 2013).

Apesar dos pontos negativos, os minirrhizotrons representam hoje a melhor técnica a ser utilizada para acompanhar o crescimento e tempo de vida das raízes sem perturbar o solo durante um longo período de tempo. Essa técnica também permite avaliar a associação das raízes finas com micorrizas (Lambais et al., 2017 in press), um trabalho que poderia ser realizado no futuro.

O estudo da especialização funcional da absorção das raízes finas também apresenta limitações devido ao caráter potencial dos resultados. Nesse experimento utilizamos uma solução de isótopos com uma alta molaridade que foi injectada perto das raízes finas de eucalipto, esses são elementos que não são presentes nessas concentrações em condições naturais. O uso dos marcadores de Sr^{2+} e Rb^+ (análogos de Ca^{2+} e K^+) também apresenta limitação como descrito por da Silva et al. (2011). Há a possibilidade de uma absorção preferencial de K^+ contra Rb^+ e de Ca^{2+} contra Sr^{2+} , porém devido as altas concentrações aplicadas, os marcadores irão ser potencialmente absorvidas da mesma forma. Outro ponto negativo é que os três marcadores aplicados simultaneamente não apresentam a mesma mobilidade no solo, podendo ocorrer a influência de processos de antagonismo ou sinergismo na absorção, o qual impede estimar valores absolutos de absorção.

6.1.2 Principais resultados do Capítulo 1

Os principais resultados desse capítulo estão resumidos na Figura 15. Os resultados mostraram que as raízes finas das árvores jovens conforme encontrado nas árvores adultas (da Silva et al., 2011) de *Eucalyptus grandis* apresentaram taxas de absorção potencial contrastante com a profundidade dependendo do marcador. A fertilização aumentou a absorção de potássio (análogo ao Rb^+) e cálcio (análogo ao Sr^{2+}) por unidade de comprimento de raiz nas camadas profundas do solo. Em conclusão vimos que a fertilização no início do plantio impactou fortemente o funcionamento das raízes finas de eucalipto. A fertilização também foi responsável pelo aumento da DRF. Os resultados sugerem que a especialização funcional das raízes finas para a absorção de nutrientes é uma característica estável do eucalipto e que pode ser reforçada pela aplicação de fertilizantes.

Figura 15 - Esquema mostrando os principais resultados do capítulo 1 em função da fertilização e da profundidade. Triângulos representam o aumento/diminuição dos parâmetros: potencial de absorção relativo específico (PARE) do Sr^{2+} e Rb^{+} em vermelho, lado esquerdo árvores fertilizadas e lado direito não fertilizadas, maior a quantidade de + maior a absorção; potencial de absorção relativo (PAR) do $\text{NO}_3^{-15}\text{N}$ em azul; e o diâmetro, densidade de raiz fina (DRF), densidade de comprimento de raiz (DCR) e a densidade de tecido radicular (DTR) em cinza.

6.1.3 Principais resultados do Capítulo 2

Os principais resultados desse capítulo estão resumidos na Figura 16. Os resultados mostraram que em plantio misto de eucalipto com *Acacia mangium*, aos 16 e 34 meses após o plantio, a DRF do eucalipto foi 30% maior em relação à acácia e maior no tratamento fertilizado comparado ao não fertilizado na camada superior do solo (0-15 cm), mostrando que a fertilização aumentou a competição das árvores de eucalipto sobre as árvores de acácia.

Aos 34 meses a DRF de eucalipto foi 50% maior na camada superior em relação à acácia, o mesmo encontrado por Laclau et al., 2013. Provavelmente isso ocorra porque grande parte dos nutrientes está localizada na primeira camada do solo. Em relação ao CRE (comprimento de raiz específico) foi observado que para cada espécie a competição por recurso provocou um aumento, sendo no tratamento não fertilizado para eucalipto e no fertilizado para acácia.

No tratamento sem fertilização, aos 34 meses de idade, encontramos valores maiores de DRF de eucalipto perto das árvores de acacia em relação ao eucalipto, e o oposto foi encontrado no tratamento com fertilização. Houve também uma proporção maior de raiz de eucalipto perto de acacia no sem fertilização do que no fertilizado. Foi encontrado valores similares das concentrações de N nas folhas de eucalipto, mostrando que além de ter mais raiz de eucalipto perto de acacia as árvores de eucalipto se beneficiaram, aumentando o teor de N nas folhas.

Ao longo de um ano de medição houve um maior comprimento total acumulado (CTA) ou produção de raiz fina no tratamento sem fertilização em relação ao fertilizado. Também não foi observado mortalidade das raízes para as duas espécies, o que impossibilitou estimar o seu tempo de vida.

No capítulo 2 vimos que a fertilização foi responsável por mudanças nas interações interespecíficas entre eucalipto e acacia aumentando a competição, enquanto a ausência de fertilização permitiu observar um processo de facilitação da acacia sobre o eucalipto. Essas diferenças de comportamento entre os tratamentos confirmaram a existência da hipótese do gradiente de estresse em plantios mistos de eucalipto e *Acacia mangium* sob essas condições. O uso das duas técnicas para a análise da distribuição (coleta com sonda manual, estoque em um determinado tempo) e crescimento (minirhizotron, produção ao longo de um tempo determinado) das raízes finas possibilitou uma melhor compreensão sobre seu crescimento entre dois períodos de tempo.

		F-		F+	
		Posição de coleta			
		Acacia	Eucalipto	Acacia	Eucalipto
DRF	Eucalipto
	Acacia
CTA	Eucalipto
	Acacia

Figura 16 - Esquema mostrando os principais resultados obtidos por meio da coleta com sonda, densidade de raiz fina (DRF), e da técnica de minirhizotron, comprimento total acumulado (CTA) em função da fertilização (F+ com fertilização e F- sem fertilização), posição de coleta (perto de eucalipto e perto de acacia) e tipo de raiz (raiz de eucalipto e raiz de acacia). Sinal de + e - grande representa diferenças entre tratamentos, sinal de + e - pequeno representa diferenças entre posição de coleta, sinal de = representa quando não há diferença significativa entre os tratamentos (sinal grande) e posições de coleta (sinal pequeno).

6.1.4 Impacto da fertilização

Nos dois capítulos da tese foi comprovado que a fertilização aumenta a DRF de eucalipto. No segundo capítulo foi mostrado que a fertilização aumenta a competição entre as árvores de eucalipto e acacia, enquanto que no capítulo 1 mostramos uma maior taxa de absorção do K^+ e Ca^{2+} nas camadas profundas para F+ quando comparado ao F-. Esse segundo resultado indica que a fertilização pode ter permitido que as árvores de eucalipto expressassem mais seu potencial de crescimento, acarretando em uma maior competição, em relação às árvores de acacia (Bouillet et al., 2013). Seria interessante verificar se em plantações mistas esse padrão de maior absorção de nutrientes das árvores fertilizadas se mantem, e assim comparar as duas espécies para ver qual irá apresenta a maior especialização radicular no âmbito da hipótese do gradiente de estresse.

6.2 Perspectivas

A existência de uma facilitação entre eucalipto e acacia no tratamento sem fertilização deixa perguntas “a responder”. Como essa facilitação acontece? Quais são os processos envolvidos que permitem essa facilitação? Qual o papel da microbiologia do solo nesse processo?

6.2.1 Perspectiva 1: A fertilização aumenta o tempo de vida das raízes finas?

No capítulo 2 foi encontrado um maior estoque de raiz fina no tratamento fertilizado (DRF) aos 34 meses, porém uma maior produção (CTA) foi encontrado no tratamento sem fertilização após um ano de medição. Essa produção foi maior para as raízes de eucalipto quando comparado à acacia, conforme encontrado para a DRF. Uma possível hipótese para justificar esses resultados é que as árvores do tratamento sem fertilização após o plantio levaram mais tempo no desenvolvimento da parte subterrânea em relação às árvores fertilizadas, porém depois investiram mais na produção de raiz para compensar a falta de nutrientes. Assim, estudos futuros serão necessários para avaliar se a fertilização aumento ou diminui o tempo de vida das raízes.

6.2.2 Perspectiva 2: Especialização das raízes finas sem a utilização de marcadores

Ao longo da tese foi realizado um experimento cujo o objetivo foi monitorar a dinâmica da concentração de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg) e do volume de água (em tubos) em diferentes tempos, afim de avaliar a especialização das raízes finas em diferentes profundidades. Infelizmente não obtivemos sucesso devido à dificuldade na implementação do experimento. Assim, um estudo interessante seria avaliar a especialização da absorção das raízes finas com a profundidade, como foi realizado no capítulo 1, mas sem a utilização de marcadores para evitar os problemas já citados. Marschner et al. (1991) realizaram um estudo desse tipo avaliando a absorção de NH_4^+ e NO_3^- em mudas 4 anos de idade de *Picea abies* crescendo em câmara controlada e no campo, encontrando uma maior absorção de NH_4^+ .

6.2.3 Perspectiva 3: Aplicação de marcadores em floresta nativa

Além de compreender como ocorre a absorção de nutrientes em profundidade, como nosso primeiro experimento, seria interessante saber como isso ocorre em diferentes distâncias da árvore. Pouco se sabe sobre qual a distância máxima que as árvores conseguem absorver água e nutrientes em floresta natural. Este tipo de pesquisa usando ^{15}N já está sendo desenvolvida em plantação de eucalipto e no Cerrado (Pinheiro, tese em andamento), e poderia ser também aplicada em outros biomas como a Mata Atlântica e Amazônia.

6.2.4 Perspectiva 4: Função dos fungos micorrízicos na transferência de N em plantações mistas

Outro possível estudo, seria ver qual a função da rede comum de micorrizas (common mycorrhizal networks - CMNs) na transferência de N entre espécie fixadora de nitrogênio (EFN) e não-EFN. Avaliar o papel das micorrizas na transferência de N entre acácia e eucalipto não é fácil devido a dificuldade de observar fungos ectomicorrízicos nas raízes de acácia (estudos realizados no Congo e confirmado no Brasil, dados não publicados). Montesinos et al. (2016) avaliaram a transferência de N entre uma planta facilitadora e uma planta facilitada, e até que ponto os CMNs participaram dessa transferência. Os autores trataram alguns fragmentos da vegetação com fungicida, enquanto outros não foram tratados (controle). Em seguida marcaram as plantas facilitadoras com ^{15}N e quantificaram sua transferência para a planta facilitada. Ao final do estudo, eles conseguiram mostrar que as

plantas facilitadas que cresceram em zonas com CMNs intactas apresentaram, em média, um maior aumento da concentração foliar em ^{15}N quando comparado aos fragmentos tratados com fungicida, comprovando que os CMNs aumentam a transferência de N entre as plantas.

Futuros estudos são necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos de captação de nutrientes pelos eucaliptos em plantações puras e consorciadas, visando um manejo mais sustentável das plantações florestais por meio dos processos naturais para reduzir os insumos nos plantios comerciais.

REFERÊNCIAS

- Addo-Danso, S.D., Prescott, C.E., Smith, A.R., 2016. Methods for estimating root biomass and production in forest and woodland ecosystem carbon studies: A review. *For. Ecol. Manage.* 359, 332–351. doi:10.1016/j.foreco.2015.08.015
- Berhongaray, G., Janssens, I.A., King, J.S., Ceulemans, R., 2013. Fine root biomass and turnover of two fast-growing poplar genotypes in a short-rotation coppice culture. *Plant Soil* 373, 269–283. doi:10.1007/s11104-013-1778-x
- Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Gonçalves, J.L.D.M., Voigtlaender, M., Gava, J.L., Leite, F.P., Hakamada, R., Mareschal, L., Mabiala, A., Tardy, F., Levillain, J., Deleporte, P., Epron, D., Nouvellon, Y., 2013. *Eucalyptus* and *Acacia* tree growth over entire rotation in single- and mixed-species plantations across five sites in Brazil and Congo. *For. Ecol. Manage.* 301, 89–101. doi:10.1016/j.foreco.2012.09.019
- Chairungsee, N., Gay, F., Thaler, P., Kasemsap, P., Thanisawanyangkura, S., Chantuma, A., Jourdan, C., Espeleta, J.F., Eissenstat, D.M., Bouskill, N.J., Wood, T.E., Baran, R., Hao, Z., Ye, Z., Bowen, B.P., Lim, H.C., Nico, P.S., Holman, H.-Y., Gilbert, B., Silver, W.L., Northen, T.R., Brodie, E.L., 2013. Impact of tapping and soil water status on fine root dynamics in a rubber tree plantation in Thailand. *Front. Plant Sci.* 4, 113–119. doi:10.3389/fmicb.2016.00323
- da Silva, E.V., Bouillet, J.-P., de Moraes Gonçalves, J.L., Junior, C.H.A., Trivelin, P.C.O., Hinsinger, P., Jourdan, C., Nouvellon, Y., Stape, J.L., Laclau, J.-P., 2011. Functional specialization of *Eucalyptus* fine roots: contrasting potential uptake rates for nitrogen, potassium and calcium tracers at varying soil depths. *Funct. Ecol.* 25, 996–1006. doi:10.1111/j.1365-2435.2011.01867.x
- Germon, A., Cardinael, R., Prieto, I., Mao, Z., Kim, J., Stokes, A., Dupraz, C., Laclau, J.P., Jourdan, C., 2016. Unexpected phenology and lifespan of shallow and deep fine roots of walnut trees grown in a silvoarable Mediterranean agroforestry system. *Plant Soil* 401, 409–426. doi:10.1007/s11104-015-2753-5
- Johnson, M.G., Tingey, D.T., Phillips, D.L., Storm, M.J., 2001. Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environ. Exp. Bot.* 45, 263–289. doi:10.1016/S0098-8472(01)00077-6
- Lambais, GR., Jourdan C., de Cassia Piccolo, M., Germon, A., Nouvellon, Y., Stape, J.L., Campoe, CO., Robin, A., Bouillet, J.P., Le Maire, G., Laclau, J.P. Phenology of *Eucalyptus grandis* fine roots in a deep tropical soil. In press
- Levillain, J., Thongo M'apo;Bou, A., Deleporte, P., Saint-André, L., Jourdan, C., 2011. Is the simple auger coring method reliable for below-ground standing biomass estimation in *Eucalyptus* forest plantations? *Ann. Bot.* 108, 221–230. doi:10.1093/aob/mcr102

- Maeght, J.-L., Rewald, B., Pierret, A., 2013. How to study deep roots-and why it matters. *Front. Plant Sci.* 4, 1–14. doi:10.3389/fpls.2013.00299
- Marschner, H., Haussling, M., George, E., 1991. Marschner-Trees-1991-NH₄-NO₃-root_uptake.pdf. Ammonium nitrate uptake rate Rhizosph. pH non-mycorrhizal root Norw. spruce [*Picea abies* Karst.] 5, 14–21.
- Montesinos-navarro, A., Verdú, M., Ignacio, J., Sortibrán, L., Valiente-banuet, A., 2016. Soil fungi promote nitrogen transfer among plants involved in long-lasting facilitative interactions. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 18, 45–51. doi:10.1016/j.ppees.2016.01.004
- Pinheiro, R.C. Avaliação da distância máxima de absorção de nutrientes em formações florestais tropicais usando ¹⁵N como marcador (Doutorado em Ciências Florestais em andamento, 2017) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.
- Taylor, B.N., Beidler, K. V, Cooper, E.R., Strand, A.E., Pritchard, S.G., 2013. Sampling Volume in Root Studies: The Pitfalls of Under-Sampling Exposed Using Accumulation Curves. *Ecol. Lett.* 16, 862–869. doi:10.1111/ele.12119

APÊNDICES

APÊNDICE A - Desenho esquemático do delineamento experimental e posição dos marcadores por bloco nos talhões de *Eucalyptus grandis* jovem (Estação da ESALQ – Itatinga, SP). Disposição das posições onde os marcadores foram injetados para cada profundidade e cada par de árvores amostradas.

APÊNDICE B – Concentração de nutrientes em folhas jovens totalmente expandidas para árvores fertilizadas e não fertilizadas.

	N	P	K	Ca	Mg	Na	Al	Mn
	-----g kg ⁻¹ -----					-----mg kg ⁻¹ -----		
Árvores fertilizadas	21.5±06	1.79±0.06	6.8±0.38	3.0±0.09	2.0±0.04	1116.7±67.2	28.25±1.08	615.4±27.9
Árvores não fertilizadas	20.8±0.4	1.73±0.05	4.4±0.22	2.7±0.14	2.2±0.06	1325.0±85.3	32.97±2.54	828.0±38.0

APÊNDICE C – Mudanças no teor de água gravimétrica com profundidade para árvores fertilizadas (F +) e não fertilizadas (F-). Os erros padrão são indicados (n = 3).

APÊNDICE D – Aplicação dos marcadores. (1) Abertura dos pontos de aplicação; (2) Inserção do tubo de PVC de 25 mm de diâmetro no solo para evitar a contaminação dos horizontes dos solos; (3) Inserção do tubo de polietileno com 4 mm de diâmetro interno, conectado a uma barra de ferro; (4) Seringa de 20 ml da solução marcada e 10 ml de água destilada para enxaguar o tubo de polietileno e expedir todos os marcadores; (E) Aplicação dos marcadores e água destilada.

APÊNDICE E – Amostragem foliar. (1) Coleta das folhas no terço superior da copa; (2) Folha coletada completamente expandida.

APÊNDICE F – Amostragem de solo para biomassa de raízes. (1) Pesagem das amostras de solo; (2) Lavagem das raízes com peneira de 1 mm de malha; (3, 4) Lavagem final das raízes com peneira de 0,5 mm de malha.

APÊNDICE G – (1) Separação da biomassa radicular; (2) raízes > 1 cm digitalizadas e processadas por meio da utilização do software WinRHIZO Version Pro V.2009c (Regent Instruments, QC, Canadá); (3) Raízes de *Acacia mangium*; (4) Raízes de *Eucalyptus*.

APÊNDICE H - Coleta de solo rizosférico em trincheiras de 3,5 metros de profundidade em plantio puro de *Eucalyptus grandis* (Capítulo 1) em dois tratamentos, com (F+) e sem fertilização (F-).

O objetivo dessa coleta foi avaliar o impacto potencial, dependendo da profundidade, das associações micorrízicas e das comunidades microbianas na absorção de nutrientes pelas raízes de eucalipto aos 20 meses de idade.

Depois da marcação com os marcadores as amostras de solo foram coletadas (maio 2016). Duas trincheiras de 1,5 m x 1,5 m foram cavadas até 3,5 metros de profundidade, em cada bloco/tratamento, sendo 6 por tratamento, totalizando 12 trincheiras (Figura 1). A coleta foi realizada em 3 semanas afim de limitar as diferenças que poderiam acontecer entre o início e o fim da coleta se ela fosse estendida em um prazo maior. As amostras de solos foram coletadas em 4 grupos de profundidade: 0-20 cm, 40-60 cm, 1,3-1,7 m e 2,8-3,2 m. A rizosfera (o solo aderido as raízes, Hinsinger et al., 2003) e solo bulk foram coletados em cada grupo de profundidade. Durante a escavação, em cada profundidade, o solo foi colocado numa lona. As raízes e o solo rizosférico foram retiradas e colocadas dentro de bandejas. O solo rizosférico foi separado das raízes utilizando um pincel em cima de uma peneira (Figura 2). Para ter certeza de não coletar solo sob a influencia de raízes, o solo “bulk” foi amostrado a partir de zonas livres de raízes em vários locais nas 4 paredes de cada trincheira no final da escavação de cada profundidade do solo. As análises foram realizadas em solos in natura, uma parte do solo foi seco ao ar e consevardo, enquanto uma outra parte foi congelado. Uma parte das análises físico-químicas foram feitas no solo (rizosférico e bulk) afim de determinar os teores de C, N, K e Ca, outras anpalises como o pH irão ser feitas futuramente. Uma respiração induzida utilizando o solo (rizosférico e bulk) in natura foi realizada em parceria com o laboratório de solo da ESALQ. No futuro também serão realizadas atividades enzimáticas sobre o ciclos do C, N e P com os dois tipos de solo.

Durante a escavação das trincheiras, observações diretas de raízes micorrizadas foram realizadas. Dois morfotipos foram encontrados, um morfotipo preto (provavelmente envolvendo os fungos *Thelephora sp.* Ou *Tomentella sp.*) foi observado apenas nas camadas superiores (Figura 3a), enquanto um morfotipo amarelo (provavelmente envolvendo fungos *Pisolithus sp.*) foi encontrado em todo o perfil do solo (Figura 3b). As raízes micorrizadas foram coletadas e conservadas em álcool, outra parte foi seca e uma última parte foi congela para análises futuras (determinação de glucosamina fúngica).

Figura 1 - Posições das trincheiras para coleta raiz fina micorrizada, solo rizosférico, bulk e micorrizas.

Figura 2 - Foto 1 raiz de eucalipto com solo rizosférico e foto 2 a mesma raiz, mas sem o solo rizosférico). Fotos: Agnès Robin, 2016.

Figura 3 - Foto 1 raiz micorrizada por um morfotipo preto (provavelmente envolvendo os fungos *Thelephora sp.* Ou *Tomentella sp.*) e foto 2 raiz micorrizada por um morfotipo amarelo (provavelmente envolvendo fungos *Pisolithus sp.*). Fotos: Agnès Robin, 2016.

APÊNDICE I – Tabela estatística do efeito da idade sobre a densidade de raiz fina (DRF), comprimento de raiz específico (CRE), densidade dos tecidos radiculares (DTR) e diâmetro das raízes finas em cada do tratamento (árvore não ou fertilizada), posição de coleta e tipo de raiz (eucalipto ou acácia).

		Árvore não fertilizada								Árvore fertilizada							
		Perto eucalipto				Perto acácia				Perto eucalipto				Perto acácia			
		Raiz E		Raiz A		Raiz E		Raiz A		Raiz E		Raiz A		Raiz E		Raiz A	
		16	34	16	34	16	34	16	34	16	34	16	34	16	34	16	34
		meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses	meses
DRF (g kg ⁻¹)	0-15	0.26 b	0.52 a	0.21 b	0.37 a	0.23 b	0.93 a	0.28 b	0.86 a	0.45 b	0.96 a	0.21 b	0.58 a	0.33 b	0.66 a	0.23 b	0.25 a
	15-30	0.09 a	0.12 a	0.10 a	0.18 a	0.06 a	0.10 a	0.10 b	0.25 a	0.07 b	0.15 a	0.06 b	0.18 a	0.07 b	0.15 a	0.06b	0.13 a
	30-50	0.07 b	0.21 a	0.05 a	0.09 a	0.03b	0.09a	0.06 b	0.13 a	0.08 b	0.25 a	0.04 b	0.06 a	0.05 b	0.11 a	0.04 a	0.07 a
	50-100	0.04 b	0.17 a	0.02 b	0.06 a	0.03 b	0.09 a	0.03 b	0.15 a	0.06 b	0.21 a	0.02 b	0.04 a	0.04 b	0.09 a	0.02 b	0.07 a
CRE (m g ⁻¹)	0-15	49.3 a	24.6 b	40.6 a	35.8 a	49.6 a	37.1 a	32.8 a	38.4 a	42.1 a	26.9 b	48.4 a	41.2 a	54.03 a	26.1 b	34.2 a	42.0 a
	15-30	62.8 a	29.3 b	50.8 a	26.4 a	48.5 a	47.7 a	21.5 b	24.1 b	37.7 a	30.6 a	54.4 a	28.8 a	51.4 a	23.3 a	39.5 a	59.7 a
	30-50	58.2 a	19.7 b	54.4 a	32.5 a	44.9 a	51.2 a	21.4 b	35.4 a	45.3 a	21.9 a	55.0 a	30.2b	45.8 a	30.7 a	31.3 a	51.7 a
	50-100	47.4 a	20.1 b	60.6 a	26.8 a	70.6 a	60.7 a	34.6 a	36.1 b	38.3 a	23.3 a	59.1 a	23.2b	59.26 a	23.3 b	26.1 b	61.9 a
DTR (g kg ⁻¹)	0-15	0.40 b	0.57 a	0.25 a	0.29 a	0.34 b	0.71 a	0.27 a	0.27 a	0.42 b	0.64 a	0.24 a	0.28 a	0.37 b	0.72 a	0.29 a	0.37 a
	15-30	0.32 b	0.58 a	0.26 a	0.39 a	0.38 b	0.58 a	0.24 b	0.37 a	0.38 a	0.54 a	0.19 a	0.30 a	0.36 b	0.60 a	0.21 b	0.31 a
	30-50	0.39 a	0.51 a	0.23 b	0.51 a	0.34 a	0.45 a	0.19 b	0.30 a	0.39 a	0.57 a	0.20b	0.36 a	0.30 b	0.56 a	0.18 a	0.25 a
	50-100	0.36 b	0.50 a	0.21 b	0.36 a	0.34 b	0.61 a	0.22 b	0.37 a	0.40 a	0.50 a	0.19 b	0.35 a	0.33 b	0.47 a	0.20 b	0.32 a
Diâmetro (mm)	0-15	0.27 a	0.29 a	0.38 a	0.36 a	0.30a	0.28 a	0.37 a	0.37 a	0.32 a	0.27 a	0.38 a	0.31 a	0.27 a	0.27 a	0.38 a	0.29 b
	15-30	0.27 a	0.29 a	0.36 a	0.44 a	0.26 a	0.26 a	0.34 a	0.39 a	0.31 a	0.34 a	0.41 a	0.39 a	0.29 a	0.25 a	0.33 b	0.43 a
	30-50	0.27 a	0.36 a	0.36 a	0.39 a	0.29 a	0.27 a	0.38 a	0.37 a	0.33 a	0.34 a	0.36 a	0.40 a	0.29 a	0.33 a	0.38 a	0.32 a
	50-100	0.29 b	0.39 a	0.31 a	0.34 a	0.25 a	0.35 b	0.36 a	0.39 a	0.30 a	0.34 a	0.36 a	0.37 a	0.29 a	0.35 a	0.32 a	0.32 a

APÊNDICE J - Principais características, altura (m), circunferência a altura de peito CAP (cm) e area basal (G, m² ha⁻¹) do plantio aos 12, 26 e 37 meses. Desvio padrão n=3.

Idade (meses)	Espécie	Tratamento	Altura (m)	CAP (cm)	G (m ² ha ⁻¹)
12	<i>Acacia</i>	F+	3.55 ± 0.24	10.54 ± 0.45	0.72 ± 0.08
		F-	2.9 ± 0.19	8.10 ± 0.98	0.44 ± 0.11
	<i>Eucalipto</i>	F+	4.43 ± 0.37	19.71 ± 1.68	2.45 ± 0.41
		F-	2.83 ± 0.17	12.50 ± 0.77	1.09 ± 0.08
26	<i>Acacia</i>	F+	7.84 ± 0.68	32.51 ± 0.46	6.86 ± 0.41
		F-	6.87 ± 0.45	29.76 ± 2.17	5.66 ± 0.87
	<i>Eucalipto</i>	F+	10.50 ± 0.87	26.02 ± 1.50	4.42 ± 0.62
		F-	7.64 ± 0.46	16.61 ± 1.75	1.95 ± 0.51
37	<i>Acacia</i>	F+	11.54 ± 0.45	39.34 ± 2.01	9.9 ± 1.11
		F-	10.55 ± 0.90	34.26 ± 1.20	7.56 ± 0.53
	<i>Eucalipto</i>	F+	16.22 ± 0.76	38.35 ± 1.70	9.18 ± 0.83
		F-	12.2 ± 0.85	27.24 ± 3.42	5.08 ± 1.08