



Universidade de Brasília



Programa de Pós-Graduação em
Ecologia

Efeitos da adição de nutrientes na vegetação herbáceo-arbustiva e interações acima e abaixo do solo em um cerrado típico

Thiago de Roure Bandeira de Mello

**Brasília,
Julho de 2019**

Efeitos da adição de nutrientes na vegetação herbáceo-arbustiva e interações acima e abaixo do solo em um cerrado típico

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ecologia pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade de Brasília.

Doutorando: Thiago de Roure Bandeira de Mello

Orientadora: Profa. Dra. Mercedes Maria da Cunha Bustamante.

Brasília, DF

2019

Dedicatória

Dedico esse trabalho ao meu pai (in memoriam):

Luiz Ulpiano

Agradecimentos

A lista é extensa e vou tentar ser breve. Sei que sozinho não teria feito muita coisa e nem chegado muito longe e isso não se refere só a esse período do doutorado.

Não vou citar “ordem de importância”, para não ser injusto com ninguém, mas a duas pessoas eu sou especialmente grato: Mercedes, obrigado por me aceitar como bolsista, mesmo sabendo das coisas pelas quais eu estava passando, obrigado por aceitar me orientar no doutorado, obrigado pela paciência e por sempre estar disposta a ajudar. Aprendi muito com você durante esse período, tanto na parte profissional quanto na “pessoal”; espero continuar próximo! Cássia, obrigado por ter lembrado de mim e me indicado para a bolsa com a Mercedes, em 2014, durante a época mais difícil por que passei até hoje, obrigado por acreditar em mim e confiar que conseguiria dar conta “do recado” durante aquela fase (eu estava longe de ter essa convicção).

Agradeço ao pessoal do laboratório da UnB (aos que estão lá e aos que saíram), pela paciência (definitivamente não sou exemplo de alguém sociável hehe), pela ajuda no campo... e olha que foi muito campo!! Alexandra, Rafa, Patryck, Matheus, Williane, Waira. Obrigado pela ajuda com as apresentações e com as cores (não é mesmo, Letícia e Rafa?!). Obrigado pelas conversas e risadas, Lucas, Nubia, Jéssica, Elisa, Diogo, Salomão, Davi e todo mundo. Obrigado, Francisco, pela ajuda com as micorrizas! Obrigado pela ajuda no início do trabalho, Luísa, durante o delineamento da parte da visitação e contagem de flores. Obrigado, Regina, pelas várias conversas, pelo microscópio, pela ajuda com o moinho, pelas caronas e muitas, muitas outras coisas! Obrigado, Maria, pela infinita paciência com meu estabamento molecular, pela ajuda com a extração (frustrada inicialmente, mas que acabou funcionando e vai ficar para as futuras gerações) de DNA de esporos das micorrizas, pelos reagentes, pelas fotos e, como com a Regina, a lista vai seguindo. Obrigado Wesley e Leandro pela imensa ajuda no campo, durante as não muito empolgantes horas de observação de visitação e contagem de flores. Obrigado, Julia! Pela recepção no laboratório assim que voltei, em 2014, pelas risadas, almoços e até pelas broncas (tenho uma testemunha do sofrimento, não é mesmo, Regina?! Gente estressada.... ☺).

Muito obrigado a toda a equipe da RECOR IBGE, onde todos os dados foram coletados e todas as campanhas do meu trabalho (e muitas outras) foram feitas. Obrigado, Betânia, pela paciência e sempre estar disposta a ajudar. Obrigado, Marina!

Aproximadamente 33% desse trabalho provavelmente não acabaria a tempo e nem a contento se não fosse o apoio da Universidade Católica de Brasília. Agradeço muito pelo empréstimo da lupa, por cederem um laboratório e por me permitirem usar um microscópio com câmera acoplada. Muito obrigado, Luciana Galvão, Chesterton, João e Gabriel. Esse capítulo foi seguramente a parte mais distante de todas da minha formação, acabou entrando de “última hora” e sendo um respiro muito bem-vindo e divertido durante o terço final desses quatro anos!!

Muito obrigado a Dra. Leonor Costa Maia e a todo o pessoal da Universidade Federal de Pernambuco e ao Dr. Fritz Oehl pela excelente acolhida e disciplina oferecida. Obrigado Iolanda, Dani e Larissa, pela paciência e disposição de ajudar.

Muito obrigado, Chesterton, Ani e Octaviano, é sempre um alívio e muito bom quando nos encontramos, ainda que as condições sejam estressantes! Hehehe... e Chesterton, obrigado demais pela ajuda com a estatística!!

Agradeço também a minha família que teve paciência comigo durante as épocas mais tensas e de mau humor... parece clichê, mas é verdade. Essas épocas existem e apoio é importante. Em especial, agradeço à minha mãe e ao meu pai.

Se esqueci de alguém, tenha certeza: não foi por mal!!

Sumário

Abstract.....	1
Resumo geral.....	3
Capítulo 1: Introdução geral.....	5
Nutrientes, biodiversidade e ameaças ao Cerrado.....	5
Ciclos biogeoquímicos, humanidade e degradação ambiental	7
Interações acima e abaixo do solo: polinizadores e micorrizas.....	9
Experimento de adição de nutrientes	10
Objetivos Gerais	13
Hipóteses gerais.....	13
Bibliografia	15
Capítulo 2: Multiple medium and long-term effects of nutrient additions and liming on the vegetation of a tropical savanna area	22
Abstract.....	23
Introduction	23
Methods.....	25
<i>Study Area</i>	25
<i>Soil Analyses</i>	26
<i>Vegetation Sampling</i>	27
<i>Statistical Analyses</i>	27
Results.....	29
<i>Changes in soil variables</i>	29
<i>Changes in vegetation composition</i>	30
Discussion.....	38
References.....	44
Capítulo 3: Efeitos de longo prazo do aumento na disponibilidade de nutrientes no investimento em reprodução em plantas e interações com visitantes florais em área de cerrado típico.....	51
Resumo	52
Introdução.....	53
Material e métodos.....	55
<i>Área de estudo e amostragem da produção de flores</i>	55
<i>Análises estatísticas</i>	61

Resultados.....	64
Discussão.....	72
<i>Produção de flores</i>	72
<i>Visitação floral</i>	74
Conclusões.....	76
Bibliografia	77
Capítulo 4: Efeitos de longo prazo do aumento na disponibilidade de nutrientes nas comunidades de fungos micorrízicos arbusculares de uma área de cerrado	90
Resumo	91
Introdução.....	92
Material e Métodos	94
<i>Área de estudo</i>	94
<i>Amostragem de esporos de fungos micorrízicos arbusculares</i>	95
<i>Extração, contagem e identificação de esporos micorrízicos arbusculares</i>	96
Análises estatísticas	98
<i>Abundância de esporos de micorrizas arbusculares</i>	98
<i>Grupos funcionais, famílias e espécies de micorrizas arbusculares</i>	99
Resultados.....	99
<i>Abundância de esporos micorrízicos arbusculares no solo</i>	99
<i>Comunidade micorrízica arbuscular</i>	102
Discussão.....	113
Conclusões.....	119
Bibliografia	120
Conclusões gerais	129

Lista de Figuras e Tabelas:

Capítulo 1:

Figura 1.1. Desenho experimental do tratamento de fertilização de longa duração realizado em área de Cerrado típico, parcelas e respectivos tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (N), Nitrogênio + Fósforo (NP) e Fósforo (P), Reserva Ecológica do IBGE. Adaptado de Simpson-Júnior (2002).

Capítulo 2:

Figure 2.1. Sketch of the study area, a) with the 20 fertilization 15 x 15 m plots and the respective treatments added to each one. b) Scheme showing the subdivision into nine 5 x 5 m subplots. Typical cerrado area where the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Adapted from (Simpson-Júnior 2002).

Figure 2.2. Principal Component Analysis (PCA) ordination of standardized nutrient concentrations (available P, K, Fe, Ca, Mg, available Al, total N, Organic Matter), pH(H₂O) and pH(CaCl₂) in soils (0 to 10 cm) of each treatment plot, in the two sampling periods, T07 (2007) and T15 (2015). Typical cerrado area where the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus.

Table 2.1. Linear cover (in cm) of the 10 most important species in each sampling period as a whole and its cover in each treatment. In a typical cerrado area where the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. **Period**= Sampling period, **Family**= the family each species belongs to. **P.Pathway**= photosynthetic pathway. **Orign**= origin of each species. **Total**= sum of each species' cover in all treatments. **R.C.**= Relative cover of each of the main species in relation to all species sampled in each sampling period.

Figure 2.3. Metrics of the typical cerrado shrubby herbaceous community in two sampling periods (2009 and 2015) and under different nutrient addition treatments. a) Shannon diversity (H'), b) Pielou equitability (J') and c) Species' richness. Long-term experiment at the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$). NS= non-significant differences between treatments in the same period.

Figure 2.4. Linear cover (in cm) of the exotic C4 *Melinis minutiflora* (Poaceae) in the different treatments in both sampling periods (2009 and 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

Figure 2.5. Linear cover (in cm) of the native C3 *Echinolaena inflexa* (Poaceae) in the different treatments in both sampling periods (2009 and 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

Figure 2.6. Linear cover of native C4 grasses (Poaceae) in the different treatments in both sampling periods (2009 and 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

Figure 2.7. Subshrubs' linear cover (in cm) in the different treatments in both sampling periods (2009 and 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

Figure 2.8. Linear cover (in cm) of shrubs in the different treatments in both sampling periods (2009 and 2015). Typical cerrado area, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. NS= non-significant differences between treatments in the sample period ($\alpha=0.05$).

Figure 2.9. Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS) ordination plot of plant communities (using linear cover in cm) of each plot of each treatment, in the two sampling periods, T09 (2009) and T15 (2015). Typical cerrado area where the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus. Based on Bray-Curtis distance without transformation.

Figure 2.10. Ordination of leaf nutrient contents (N, P, K, Mg, Ca and S) of common species in the study area, in each plot of each treatment, in 2015, nine years after the last addition of nutrients. Typical cerrado area where the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus. Based on Euclidean distance.

Appendix 2.1: Table 2.2. Mean nutrient concentrations (P, K, Fe, Ca, Mg, Al, OM, Fe, N), pH(H₂O) and pH(CaCl₂) in soil (0 to 10 cm) in the different treatments, in both sampling periods (2007 and 2015). Numbers in italics and underlined below each mean= standard deviation around the mean. P= Available P, Al= available Al, OM= Organic Matter, N= total N. Typical cerrado area, in the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF.

Appendix 2.2: Figure 2.11. Soil chemical characteristics in each treatment (colors) and sampling periods (shapes), in the long term nutrient addition Experiment, in Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Data submitted to 5.000 permutations with replacement. **Bars**= 95% confidence intervals based on the permutations. Non-overlapping bars: a chance of more than 95% that the treatment means do not contain control's.

Appendix 2.3: Figure 2.12. Leaf nutrient content (in dag / Kg) of each species (shapes) in each treatment (colors), in the long term nutrient addition Experiment, in Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Data submitted to 5.000 permutations with replacement. **Bars**= 95% confidence intervals based on the permutations. Non-overlapping bars: a chance of more than 95% that the treatment means do not contain control's.

Capítulo 3:

Figura 3.1. Pluviosidade média mensal (e respectivos erros padrões) do período de 1994 a 2015, na Reserva Ecológica do IBGE, onde está inserido o Experimento de longa duração. **Em cinza:** meses amostrados. **Pontos laranja:** precipitação mensal na Reserva em 2016. Fonte: INMET (2019). Dados coletados pela própria Reserva Ecológica do IBGE.

Figura 3.2. Croqui do Experimento de fertilização de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE. a) Parcelas e respectivos tratamentos (adaptado de Simpson-Júnior 2002) e b) Zoom em uma parcela, mostrando o quadrante de 0.5 x 0.5 m para amostragem de Unidades Florais (em escala).

Tabela 3.1. Famílias e espécies amostradas em flor durante as campanhas de amostragem em 2015 e 2016 e respectivos métodos de amostragem, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **n**= número de indivíduos amostrados.

- Figura 3.3.** Produção de flores média por m² da comunidade vegetal amostrada, nos diferentes tratamentos, em cada estação em área de cerrado típico. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significa que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.
- Figura 3.4.** Ordenação da produção de flores (com distância de Bray-Curtis) por espécies, nos diferentes tratamentos e campanhas, em área de cerrado típico. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **Símbolos fechados** (triângulo, losango e quadrado): Chuva, **Quadrado aberto**: Seca, **Círculo com cruz**: Transição. Centróide de cada grupo: Tratamento seguido do número da campanha (e.g. "Ca.5", "N.1"). Nem sempre foram observados indivíduos em flor em todas as parcelas, em todas as campanhas (e.g. duas parcelas em Ca na campanha 5 e duas parcelas em N na campanha 1).
- Figura 3.5.** Produção de flores média por m² da comunidade vegetal amostrada em cada estação em área de cerrado típico, nas diferentes estações. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significa que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.
- Figura 3.6.** Produção de flores de *Styrax ferrugineus* nos diferentes nas campanhas em que teve maior produção de flores (abril e junho de 2016), em área de cerrado típico. A) produção média de flores por metro quadrado em cada tratamento e campanha. B) Diferença entre a produção de flores nos tratamentos Ca, N, NP e P e o Controle, com 5000 permutações e intervalos de confiança. Área cinza: distribuição das diferenças após 5 mil permutações. Barra preta: intervalo de confiança de 95%. Se a linha preta não cruzar a linha horizontal em 0: há mais de 95% de chance de a produção de flores no tratamento ser diferente da produção no Controle. Experimento de fertilização de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 3.7.** Média de visitação por Unidade Floral observada na comunidade vegetal, por campanha, em área de cerrado típico. Experimento de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes. Os cinco tratamentos foram agrupados em cada campanha.
- Figura 3.8.** Média de visitação por Unidade Floral observada na comunidade vegetal, por estação (agrupando todos os tratamentos em cada campanha), em área de cerrado típico. Experimento de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.
- Figura 3.9.** Número de interações entre famílias de visitantes florais (eixo X) e espécies vegetais (eixo Y) em cada campanha: a) dezembro de 2015, b) abril de 2016, c) junho de 2016, d) setembro de 2016, e) novembro de 2016, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Espécies vegetais em flor não visitadas foram retiradas dos gráficos.

Anexo 3.1:

Tabela 3.2. Número de espécies em flor (Spp), total de flores, média de Unidades Florais por m² e respectivo desvio padrão, nas diferentes parcelas, tratamentos e campanhas (com suas respectivas datas e estações) e geral para cada campanha, em área de cerrado típico. Experimento de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. SD= Desvio Padrão. Spp= número de espécies em flor amostradas.

- Anexo 3.2:** **Figura 3.9.** Produção de flores nos diferentes tratamentos e campanhas, em área de cerrado típico. A) produção média de flores por metro quadrado em cada tratamento e campanha. B) Diferença entre a produção de flores nos tratamentos Ca, N, NP e P e o Controle, com 5000 permutações e intervalos de confiança. Área cinza: distribuição das diferenças após 5 mil permutações. Barra preta: intervalo de confiança de 95%. Se a linha preta não cruzar a linha horizontal em 0: há mais de 95% de chance de a produção de flores no tratamento ser diferente da produção no Controle. Experimento de fertilização de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Para este gráfico a produção média de flores por m² nas cinco campanhas foi agrupada para cada tratamento.
- Anexo 3.3:** **Tabela 3.3.** Média de visitantes florais por Unidade Floral observada em cada tratamento, campanha e estação e valores considerando as campanhas como um todo, desconsiderando os tratamentos, em área de cerrado típico. Experimento de Longa Duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. S.D.= desvio padrão, n= número de indivíduos vegetais observados em cada tratamento (independente da espécie) e campanha. Apenas indivíduos vegetais que foram visitados incluídos na tabela.
- Anexo 3.4:** **Figura 3.10.** Média de visitante florais por Unidade Floral observada nos diferentes tratamentos e campanhas, em área de cerrado típico. A) Visitação média por UF observada em cada tratamento e campanha. B) Diferença entre a produ o de flores nos tratamentos Ca, N, NP e P e o Controle, com 5000 permuta es e intervalos de confiança.  rea cinza: distribui o das diferenças após 5 mil permuta es. Barra preta: intervalo de confiança de 95%. Se a linha preta não cruzar a linha horizontal em 0: há mais de 95% de chance de a produ o de flores no tratamento ser diferente da produ o no Controle. Experimento de fertiliza o de longa dura o, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Para este gráfico, as visita es médias por UF observada em cada campanha em um mesmo tratamento foram agrupadas.
- Anexo 3.5:** **Figura 3.11.** Distribui o de aninhamento ponderado em 1000 modelos nulos (curva preta), limites de 95% da área sob a curva (linha vermelha) e valor real, observado para as diferentes redes de intera o entre família de visitantes e espécies vegetais (linha azul), em área de cerrado. Experimento de longa dura o, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Modelos nulos e valores reais calculados para a Rede Completa (todas as campanhas agrupadas), esta es (campanhas agrupadas de acordo com as esta es do ano) e para cada rede individualmente. Se a linha azul está fora da área entre as linhas vermelhas, a probabilidade de o valor de aninhamento ponderado da rede de intera o observada em campo ser igual ao de um modelo nulo (i.e. ser obtida ao acaso)   menor que 5%.
- Anexo 3.6:** **Figura 3.12** Distribui o de aninhamento ponderado em 1000 modelos nulos (curva preta), limites de 95% da área sob a curva (linha vermelha) e valor real, observado para as diferentes redes de intera o entre família de visitantes e espécies vegetais (linha azul), em área de cerrado. Experimento de longa dura o, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Modelos nulos e valores reais calculados para os diferentes tratamentos do experimento (C, Ca, N, NP e P), agrupando os valores de visita o por UF em todas as campanhas. Se a linha azul está fora da área entre as linhas vermelhas, a probabilidade de o valor de aninhamento ponderado da rede de intera o observada em campo ser igual ao de um modelo nulo (i.e. ser obtida ao acaso)   menor que 5%.
- Anexo 3.7** **Figura 3.13** Medidas ( rea basal e altura) de *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. (Styracaceae) com circunferência a altura do solo ≥ 10 cm, nos diferentes tratamentos, em setembro de 2017. a) Altura (m) e b)  rea basal (m²) de cada indivíduo, em cada Tratamento.  rea de cerrado típico, no Experimento de longa dura o, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Compara es feitas par a par com teste de Tukey HSD. Devido a distribui o não normal, os dados para área basal foram logaritimizdos. Letras diferentes significam diferenças significativas ($\alpha < 0.05$) entre tratamentos. **NS**= diferenças não significativas.

Capítulo 4:

- Tabela 4.1.** Classificação em grupos funcionais (**G.F.**) das diferentes famílias de fungos micorrízicos arbusculares cujos esporos foram amostrados em solos (0 a 10 cm) de uma área de cerrado típico, no Experimento de fertilização de longa duração. Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **Ref**= referências usadas na classificação, *= classificação feita neste estudo, baseado na classificação taxonômica anterior.
- Figura 4.1.** Número de esporos da comunidade micorrízica recuperados de 50 g de solo (0 a 10 cm), nos diferentes tratamentos. **Esporos pequenos:** retidos na peneira de 53 μm (**a, b**) e **esporos grandes:** na peneira de 250 μm (**c, d**). Esporos da comunidade (**a, c**) e dos indivíduos (**b, d**). Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.
- Tabela 4.2.** Correlação de Spearman (**R**) entre número de esporos (retidos nas peneiras de 53 e 250 μm) em 50 g de solo coletados (0 a 10 cm) na zona de raiz (**Tipo**= indivíduo) e fora dela (**Tipo**= bulk) e variáveis ambientais. Estão apresentadas apenas as correlações significativas ($\alpha=0.05$). **Variáveis de solo:** **V**= índice de saturação por bases, **SB**= Soma de bases, **Ca**= Ca disponível, **t**= Capacidade de troca catiônica efetiva, **Mg**= Mg disponível, **m**= índice de saturação por alumínio, **MO**= Matéria orgânica, **P**= P disponível, **S**= S disponível, **K**= K disponível, **pH(CaCl₂)**= acidez potencial, **pH(H₂O)**= acidez real. **Variáveis relacionadas ao levantamento da vegetação herbáceo-arbustiva em 2015:** **Pielou**= Equitabilidade de Pielou, **Poaceae C4**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C4, **C4 exótica**= Poaceae C4 exótica, **C4 nativa**= Poaceae C4 nativa, **Poaceae C3**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C3, **Razão C3:C4**= razão entre as coberturas lineares de ambos os tipos fotossintéticos. Em área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 4.3.** Correlação (de Spearman) entre número de esporos extraídos em 50g de solo (0 a 10 cm) e quantidade de esporos recuperados nas alíquotas usadas para a montagem das lâminas de microscopia, nos diferentes tratamentos. Em área de cerrado típico, no Experimento de longa duração instalado na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 4.4.** Número de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** soma de esporos por família em cada tratamento. **b)** Soma de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 4.5.** Abundância relativa (%) de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** Abundância relativa de esporos por família em cada tratamento. **b)** Abundância relativa de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 4.6.** Número de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** soma de esporos por grupo funcional em cada tratamento. **b)** Soma de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 4.7.** Abundância relativa (%) de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** Abundância relativa de esporos por grupo funcional em cada tratamento. **b)** Abundância relativa de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
- Figura 4.8.** Ordenação NMDS (distância de Bray-Curtis) dos esporos das famílias de Glomeromycota extraídos do solo (0 a 10 cm) e recuperados nas alíquotas de 2mL nos diferentes tratamentos e resultados da PerMANOVA (com distância de Bray-Curtis). Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **SS**= Sum of Squares. **Setas**= relação da comunidade micorrízica em cada parcela com as diferentes variáveis ambientais (solo e vegetação). Mostradas apenas aquelas com $R^2 > 10\%$; coeficientes de correlação calculados por meio de regressão linear e 5 mil permutações.

Figura 4.9. Ordenação NMDS (distância de Bray-Curtis) dos esporos dos **grupos funcionais** de Glomeromycota extraídos do solo (0 a 10 cm) e recuperados nas alíquotas de 2mL nos diferentes tratamentos e resultados da PerMANOVA (com distância de Bray-Curtis). Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **SS**= Sum of Squares. **Setas**= relação da comunidade micorrízica em cada parcela com as diferentes variáveis ambientais (solo e vegetação). Mostradas apenas aquelas com $R^2 > 10\%$; coeficientes de correlação calculados por meio de regressão linear e 5 mil permutações.

Tabela 4.3. Correlação de Spearman (**R**) entre número de esporos das diferentes famílias e Grupos Funcionais de micorrizas e variáveis ambientais. Estão apresentadas apenas as correlações significativas ($\alpha=0.05$). **Variáveis de solo:** **V**= índice de saturação por bases, **SB**= Soma de bases, **Ca**= Ca disponível, **t**= Capacidade de troca catiônica efetiva, **Mg**= Mg disponível, **m**= índice de saturação por alumínio, **MO**= Matéria orgânica, **P**= P disponível, **S**= S disponível, **K**= K disponível, **pH(CaCl₂)**= acidez potencial, **pH(H₂O)**= acidez real, **H+Al**= acidez potencial, **Al**= Alumínio trocável. **Variáveis relacionadas ao levantamento da vegetação herbáceo-arbustiva em 2015:** **Pielou**= Equitabilidade de Pielou, **DivShan**= Índice de diversidade Shannon, **Poaceae C4**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C4, **C4 exótica**= Poaceae C4 exótica, **C4 nativa**= Poaceae C4 nativa, **Poaceae C3**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C3, **Razão C3:C4**= razão entre as coberturas lineares de ambos os tipos fotossintéticos, **Poaceae 2015**= Soma da cobertura linear (em cm) de todas as espécies de Poaceae. Em área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.

Tabela 4.4. Densidade de esporos por grama de solo encontrados em diferentes estudos em áreas do bioma Cerrado, em diversas fitofisionomias, em solo de áreas naturais. **Vegetação**= tipo de vegetação informado pelos autores (ainda que não seja uma fitofisionomia formalmente reconhecida); **Prof.**= Profundidade de coleta dos esporos, **Eporos.g**= Densidade de esporos por grama de solo amostrado, **Área**= nome dados pelos autores do trabalho para as áreas de amostragem (no caso deste trabalho, cada um dos tratamentos), **Tipo**= Para este estudo, se os solos vieram da área de zona de raiz ("indivíduo") ou do Bulk Soil. **Ref**= Referência do trabalho. Número entre parênteses= Desvio Padrão do número de esporos no tratamento.

Tabela 4.5. Abundância relativa média (Ab.Rel.Med) de esporos das oito famílias de Glomeromycota amostradas nos solos (0 a 10 cm) dos diferentes tratamentos. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica o IBGE, Brasília, DF. **SD**= desvio padrão (SD=0: valor menor que 0.01). **n**= número de parcelas em que a família foi amostrada (máximo de quatro por tratamento).

Anexo 4.2: **Figura 4.10.** Razão entre número de esporos de Acaulosporaceae e Glomeraceae recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm). Área de cerrado típico no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Valores menores que 1 indicam predominância de Glomeraceae. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.

Anexo 4.3: **Tabela 4.6.** Métricas da comunidade herbáceo-arbustiva e características dos solos (0 a 10 cm) em cada tratamento. Em área de cerrado típico, nos Experimento de longa duração, nas Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Apresentadas as médias e em itálico os desvio padrões. **Variáveis de solo:** **V**= índice de saturação por bases, **SB**= Soma de bases, **Ca**= Ca disponível, **t**= Capacidade de troca catiônica efetiva, **Mg**= Mg disponível, **m**= índice de saturação por alumínio, **MO**= Matéria orgânica, **P**= P disponível, **S**= S disponível, **K**= K disponível, **pH(CaCl₂)**= acidez potencial, **pH(H₂O)**= acidez real, **H+Al**= acidez potencial, **Al**= Alumínio trocável. **Variáveis relacionadas ao levantamento da vegetação herbáceo-arbustiva em 2015:** **Pielou**= Equitabilidade de Pielou, **DivShan**= Índice de diversidade Shannon, **Poaceae C4**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C4, **C4 exótica**= Poaceae C4 exótica, **C4 nativa**= Poaceae C4 nativa, **Poaceae C3**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C3, **Razão C3:C4**= razão entre as coberturas lineares de ambos os tipos, **Poaceae 2015**= Soma da cobertura linear (em cm) de todas as espécies de Poaceae.

1 Abstract

2

3 In the main part of the tropical region the soils are poor, with low availability or low levels of
4 nutrients. Even so, the region is known for its high biodiversity, of different groups of organisms,
5 including plants. Savannas account for 15% of the area of the tropical region and in South
6 America the largest of these is the Cerrado. Like other tropical regions, the biome presents a
7 high diversity and occurs predominantly on poor soils and among its characteristics, we can
8 mention the acidic soils with high availability of toxic elements, such as Al and the seasonality of
9 the biome, which goes through a dry season of approximately 5 months, in which there is a high
10 water stress. In general, the biome presents a highly conservative cycling of nutrients, such as
11 phosphorus (P) and nitrogen (N). The biome also presents a high dependence on pollinators on
12 the part of plants and symbioses that facilitate the acquisition of limiting nutrients, such as those
13 with fixing bacteria and nitrogen and those with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), particularly
14 useful for the acquisition of phosphorus (P), are very common. Knowing the importance of the
15 availability of nutrients for ecological processes and even the composition of natural areas and
16 the limiting characteristics of cerrado soils, a fertilization experiment was installed in the
17 Ecological Reserve of IBGE, Brasília, DF. It consisted of 20 plots of 15 x 15 m that received
18 biannual addition of different nutrients: 1) N treatment: addition of 100 kg/ha annually of
19 ammonium sulfate ((NH₄)₂SO₄); 2) P treatment: addition of 100 kg/ha annually of simple
20 superphosphate 20% - Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; 3) N+P treatment: addition of ammonium
21 sulfate and simple superphosphate 20%; 4) Ca treatment: addition of 4 t/ha per year, in the form
22 of 60% dolomitic limestone (CaO+MgO) + 40% agricultural plaster (CaSO₄.2H₂O); and 5) Control:
23 without addition of nutrients. These additions were made from 1998 to 2006 in the dry
24 transition rain and dry rain and the nutrients were added to the haul on the serapillera. During
25 this time, effects on vegetation composition and structure, biological invasion, changes in tree
26 species growth and soil bacterial community and even ecological processes such as nutrient
27 resorption before foliar senescence and rates of decomposition were documented. Thus,
28 considering the adaptations of vegetation to the conditions of low nutrient availability (such as
29 conservative cycling) and the importance of interactions above (e.g. pollinators) and below (e.g.
30 FMA) the soil, the present study sought to assess whether 1) after 3 and 9 years without new
31 nutrient additions, in 2009 and 2015 respectively, the herbaceous and bushy vegetation of the
32 areas still remained altered and whether the changes were also maintained in leaf nutrient levels
33 of common species. If 2) after 10 years without new additions (in 2016) and taking into account
34 the changes in nutrient availability would have an effect on the investment in reproduction (i.e.
35 production of flowers) of plant species and on the number of floral visitors each received taking
36 into account the seasonality of the biome and if 3) after 11 years without new additions of
37 nutrients, the changes in nutrient availability and the plant community would still have an effect
38 on the FMA community, which is important for the acquisition of nutrients but can also
39 represent a high carbon drain for the plants. After 3 and 9 years (in 2009 and 2015) without new
40 additions of nutrients, the herbaceous and bushy vegetation remained different from the
41 Control plots, particularly in the Ca, P and NP treatments, in which the invasion by the exotic C4
42 graminis minutiflora P.Beauv occurred. (fat grass). In the plots that suffered liming (Ca
43 treatment), unlike NP and P, it is possible to identify different waves of invasion, in which the
44 native C4 exotic initially (in 2009) replaced the native Echinolaena inflexa C3 (Poir.) Chase and
45 were replaced (in 2015) by fat grass. The leaf nutrient levels continued to be altered in relation
46 to the Control plots, particularly in the Ca treatment, in all species, although there was a great
47 interspecific variability (reflecting the great diversity of biome adaptations found in the biome).

48 The production of flowers per m² showed a decrease in the Ca treatment, with no differences in
49 the other treatments and in relation to seasonality, it was higher in the dry rainfall transition.
50 The number of visitors per flower observed was lower in the Ca treatment, also without
51 differences in relation to the Control in the other treatments and in relation to seasonality,
52 which was higher in the rainy season. Hymenoptera and Diptera were the main orders of floral
53 visitors, in that order. In relation to the interactions below ground with the FMA, it is possible to
54 verify changes in all treatments in relation to the Control, but mainly in Ca and NP, with changes
55 both in the total spores produced by the community and in the identity of the families and
56 functional groups of the FMA present. Both the total number of spores and the number per
57 family and functional group showed a significant correlation with soil and vegetation
58 characteristics of the different treatments. As general conclusions of the study, it is possible to
59 verify that even after years (from 9 to 11) without new additions of nutrients, several community
60 parameters continue to change, from vegetation to interactions between vegetation and other
61 organisms. The changes are particularly evident in the Ca. This treatment alters the pH of the
62 soil, which is a controlling factor for several soil characteristics (besides the alteration of the pH
63 itself), such as the availability of toxic and macro elements and micronutrients, and probably
64 contributed to the invasion of the exotic C4; both factors (pH and biological invasion) probably
65 acted synergistically for the effects found. In the NP and P treatments, changes were more
66 strongly related to biological invasion, without such marked changes in soil pH. Finally,
67 treatment N was the one that led to the smallest changes among all, although there was the
68 only C3 species in the area that was strongly benefited in the first sample period (in 2009) and
69 maintained a higher abundance even after 9 years without new additions of nutrients (in 2015).

70 **Keywords:** Biological invasion, Savanna, Poaceae, flower production, Arbuscular mycorrhizal
71 fungi, Glomeromycota, eutrophication

72

73 Resumo geral

74

75 Na maior parte da região tropical os solos são pobres, com baixa disponibilidade ou baixos
76 teores de nutrientes. Ainda assim, a região é conhecida por uma elevada biodiversidade, de
77 diferentes grupos de organismos, entre elas plantas. As savanas correspondem a 15% da área
78 da região tropical e na América do Sul a maior delas é o Cerrado. Assim como outras regiões
79 tropicais, o bioma apresenta uma elevada diversidade e ocorre predominantemente sobre solos
80 pobres e entre suas características, podemos citar os solos ácidos e com elevada disponibilidade
81 de elementos tóxicos, como Al e a sazonalidade do bioma, que passa por uma época seca, de
82 aproximadamente 5 meses, em que há um elevado estresse hídrico. De forma geral, o bioma
83 apresenta uma ciclagem altamente conservativa de nutrientes, como fósforo (P) e nitrogênio
84 (N). O bioma apresenta ainda uma elevada dependência de polinizadores por parte das plantas
85 e as simbioses que facilitam a aquisição de nutrientes limitantes, como as com bactérias
86 fixadoras e nitrogênio e as com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), particularmente úteis
87 para a aquisição de fósforo (P), são muito comuns. Sabendo da importância da disponibilidade
88 de nutrientes para processos ecológicos e até composição de áreas naturais e das características
89 limitantes dos solos de cerrado, um experimento de fertilização foi instalado na Reserva
90 Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Ele consistiu de 20 parcelas de 15 x 15 m que receberam adição
91 bianual de diferentes nutrientes: **1)** Tratamento N: adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de
92 amônio ((NH₄)₂SO₄); **2)** Tratamento P: adição 100 kg/ha anuais de superfosfato simples 20% -
93 Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; **3)** Tratamento N+P: adição de sulfato de amônio e superfosfato
94 simples 20%; **4)** Tratamento Ca: adição de 4 t/ha ao ano, na forma de 60% de calcário dolomítico
95 (CaO+MgO) + 40% de gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O); e **5)** Controle: sem adição de nutrientes. Essas
96 adições foram feitas de 1998 a 2006 na transição seca chuva e chuva seca e os nutrientes foram
97 adicionados a lança sobre a serapilheira. Durante esse tempo, foram documentados efeitos na
98 composição e estrutura da vegetação, invasão biológica, alterações no crescimento de espécies
99 arbóreas e na comunidade de bactérias do solo e até mesmo em processos ecológicos, como
100 resorção de nutrientes antes da senescência foliar e taxas de decomposição. Assim, tendo em
101 vista as adaptações da vegetação para as condições de baixa disponibilidade de nutrientes
102 (como a ciclagem conservativa) e a importância das interações acima (e.g. polinizadores) e
103 abaixo (e.g. FMA) do solo, o presente trabalho buscou avaliar se **1)** após 3 anos e 9 anos sem
104 novas adições de nutrientes, em 2009 e 2015 respectivamente, a vegetação herbáceo-arbustiva
105 das áreas ainda permanecia alterada e se as alterações se mantinham também nos teores de
106 nutrientes foliares de espécies comuns. Se **2)** após 10 anos sem novas adições (em 2016) e
107 levando em conta as alterações na disponibilidade de nutrientes teriam efeito no investimento
108 em reprodução (i.e. produção de flores) de espécies vegetais e no número de visitantes florais
109 que cada uma recebia levando em conta a sazonalidade do bioma e se **3)** após 11 anos sem
110 novas adições de nutrientes, as alterações na disponibilidade de nutrientes e na comunidade
111 vegetal ainda teriam efeito sobre a comunidade de FMA, que é importante para a aquisição de
112 nutrientes mas também pode representar um elevado dreno de carbono para as plantas. Após
113 3 e 9 anos (em 2009 e 2015) sem novas adições de nutrientes, a vegetação herbáceo-arbustiva
114 continuou diferente em relação às parcelas Controle, particularmente nos tratamentos Ca, P e
115 NP, em que ocorreu a invasão pela gramínea C4 exótica *Melinis minutiflora* P.Beauv. (capim
116 gordura). Nas parcelas que sofreram calagem (tratamento Ca), ao contrário de NP e P, é possível
117 identificar diferentes ondas de invasão, em que as nativas C4 exóticas inicialmente (em 2009)
118 substituíram a C3 nativa *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase e foram substituídas (em 2015) pelo
119 capim gordura. Os teores de nutrientes foliares continuaram alterados em relação às parcelas

120 Controle, particularmente no tratamento Ca, em todas as espécies, apesar de haver uma grande
121 variabilidade interespecífica (refletindo a grande diversidade de adaptações bioma encontrada
122 no bioma). A produção de flores por m² mostrou diminuição no tratamento Ca, sem que
123 houvesse diferenças nos outros tratamentos e em relação à sazonalidade, foi maior na transição
124 seca chuva. O número de visitantes por flor observada foi menor no tratamento Ca, também
125 sem diferenças em relação ao Controle nos outros tratamentos e em relação à sazonalidade,
126 maior na época da chuva. Hymenoptera e Diptera foram as principais ordens de visitantes
127 florais, nesta ordem. Em relação às interações abaixo do solo, com os FMA, é possível verificar
128 alterações em todos os tratamentos em relação ao Controle, mas principalmente em Ca e NP,
129 com alterações tanto no total de esporos produzidos pela comunidade quanto na identidade
130 das famílias e grupos funcionais dos FMA presentes. Tanto o número total de esporos quanto o
131 número por família e grupo funcional apresentaram correlação significativa com características
132 do solo e da vegetação dos diferentes tratamentos. Como conclusões gerais do trabalho, é
133 possível verificar que mesmo após anos (de 9 a 11) sem novas adições de nutrientes, diversos
134 parâmetros das comunidades continuam alterados, desde a vegetação às interações entre
135 vegetação e outros organismos. As alterações são particularmente evidentes nas parcelas Ca.
136 Este tratamento altera o pH do solo, que é fator controlador de diversas características edáficas
137 (além da própria alteração do pH por si só), como disponibilidade de elementos tóxicos e macro
138 e micronutrientes e provavelmente contribuiu para a invasão das exóticas C4; ambos os fatores
139 (pH e invasão biológica) provavelmente atuaram de forma sinérgica para os efeitos
140 encontrados. Nos tratamentos NP e P as alterações estiveram mais fortemente relacionados à
141 invasão biológica, sem que houvesse alterações tão marcantes no pH do solo. Por fim, o
142 tratamento N foi o que acarretou nas menores alterações dentre todos, ainda que tenha havido
143 a única espécie C3 da área tenha sido fortemente beneficiada ainda no primeiro período
144 amostral (em 2009) e tenha mantido uma maior abundância mesmo após 9 anos sem novas
145 adições de nutrientes (em 2015).

146

147 **Palavras-chave:** Invasão biológica, Savana, Poaceae , produção de flores, fungos micorrízicos
148 arbusculares, Glomeromycota, eutrofização

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160 **Capítulo 1: Introdução geral**

161

162 Um importante passo para a conservação é o reconhecimento e categorização dos tipos
163 de ecossistemas presentes em uma região, uma vez que além de características como
164 composição de espécies, o próprio funcionamento dos mesmos pode variar, apresentando
165 diferenças na precipitação, na sazonalidade e em outras características (Olson et al. 2001; Olson
166 and Dinerstein 2002). Com isso em mente, autores tem tentado dividir o mundo ou países em
167 regiões, levando em conta diferentes características bióticas e abióticas (Bailey 1983; Olson and
168 Dinerstein 2002; Sayre et al. 2014; Dinerstein et al. 2017). Entre as divisões comumente feitas,
169 podem ser citadas as ecoregiões e biomas. Biomas em geral são mais extensos que ecoregiões
170 (mas por vezes ambos tem fronteiras que se sobrepõe por grandes extensões), mas para ambos
171 os tipos de classificação, a vegetação presente na área é normalmente usado com uma de suas
172 bases (Olson et al. 2001; Archibold 2012). Muitos fatores ajudam a determinar a distribuição dos
173 tipos vegetacionais ao redor do mundo (tanto biomas quanto ecoregiões); entre eles, estão o
174 clima em escalas mais largas, características edáficas e distúrbios (o regime e o tipo), como fogo,
175 em escalas menores (Bond 2010; Veenendaal et al. 2014; Langan et al. 2017).

176 A faixa tropical / subtropical abriga a maior biodiversidade mundial. Os motivos para
177 isso ainda são debatidos e muitos fatores que contribuem para tal diversidade já foram
178 identificados, como sua área, tempo em que apresentou clima estável (e.g., tempo sem sofrer
179 glaciação) e disponibilidade de energia / produtividade (Gaston 2000; Kreft and Jetz 2007).
180 Savanas estão entre os biomas mais representativos da região tropical, compreendendo por
181 volta de 15% de sua área (Olson et al. 2001; Dinerstein et al. 2017). Este é um tipo vegetacional
182 tropical, caracterizado por um dossel aberto, que permite a passagem de altos níveis de
183 luminosidade e a manutenção de uma camada herbáceo-arbustiva proeminente e está
184 comumente associado ao fogo (Ribeiro and Walter 2008; Archibold 2012). A América do Sul
185 contém a savana mais rica do mundo, conhecida como Cerrado, que é composta por um mosaico
186 de tipos vegetacionais (ou fitofisionomias), das campestres às florestais (Ribeiro and Walter
187 2008). Muitos trabalhos exploram a importância da marcada sazonalidade e características
188 edáficas para o aparecimento, distribuição e manutenção destas fitofisionomias (Haridasan
189 1994; Haridasan 2000; Marimon-Júnior and Haridasan 2005; Neri et al. 2012; Pellegrini 2016).

190

191 **Nutrientes, biodiversidade e ameaças ao Cerrado**

192

193 Ao redor do mundo, os solos comumente apresentam baixos teores (ou disponibilidade)
194 de elementos essenciais para as plantas (e.g. nitrogênio – N – e fósforo – P) (Elser et al. 2007;
195 Harpole et al. 2011), particularmente em locais fortemente intemperizados, como é comumente
196 o caso dos trópicos (Augusto et al. 2017). Em relação ao Cerrado, a maior parte de sua área
197 (Reatto et al. 2008), ocorre sobre solos, com baixos teores, ou baixa disponibilidade de muitos
198 elementos, com N, P, potássio (K) e cálcio (Ca) (Bustamante et al. 2006; Kozovits et al. 2007;
199 Vourlitis et al. 2014; Pellegrini 2016). Como reflexo dessas características, é possível identificar
200 uma série de adaptações na vegetação, como folhas grossas (alto investimento em estrutura,
201 para proteger do sol e herbívoros, por exemplo) e uma elevada capacidade de resorção de
202 nutrientes antes da senescência foliar (Franco 2005; Franco et al. 2005; Bustamante et al. 2006;
203 Vourlitis et al. 2014), que contribuem para uma elevada capacidade de ciclagem interna dos
204 nutrientes na ausência de fogo no bioma como um todo.

205 A diversidade do Cerrado também pode ser verificada no aspecto nutricional das
206 plantas. Por exemplo, para lidar com os altos teores de Alumínio (Al) em grande parte dos solos
207 do Cerrado, algumas espécies são capazes de acumular esse elemento em seus tecidos (Silva et
208 al. 2008; Rascio and Navari-Izzo 2011). Já como uma forma de facilitar a aquisição de nutrientes
209 com baixa disponibilidade (ou escassos), simbioses também são comuns. Dentre elas, as
210 principais são as com: **1**) bactérias fixadoras de nitrogênio (Sprent et al. 1996; Bustamante et al.
211 2004); nela, bactérias (nos trópicos, principalmente rizóbios) infectam raízes de espécies de
212 Leguminosae (até onde se sabe, no Cerrado, apenas plantas dessa família são suscetíveis). Nessa
213 associação, a hospedeira supre as bactérias com fotossintatos (suprimento de carbono) e a
214 bactéria fixa N_2 da atmosfera, tornando-o disponível para o vegetal como amônia (NH_3^+) (Sprent
215 2009). **2**) micorrizas arbusculares, em que as plantas se associam com os chamados fungos
216 micorrízicos arbusculares (ou FMA) do filo Glomeromycota, um grupo de organismos biotróficos
217 obrigatórios amplamente distribuído pelo mundo (Smith and Read 2008). Nestas, o hospedeiro
218 também provê ao organismo simbiote fotossintatos e o fungo, por sua vez, assimila e transfere
219 para o hospedeiro nutrientes pouco disponíveis ou difíceis de se obter, como P; essa simbiose,
220 porém, ainda pode trazer diversos outros benefícios às plantas, que vão desde a melhoria na
221 resistência ao estresse hídrico até proteção contra patógenos (Smith and Read 2008; Cardoso
222 et al. 2010; Cameron et al. 2013; Soka and Ritchie 2014). A maior parte das plantas terrestres
223 são capazes de associar com tais organismos (Wang and Qiu 2006) e é interessante notar a
224 riqueza desse grupo no Cerrado: 60% de todas as espécies descritas ocorrem no bioma, fazendo
225 com que esse seja um centro de diversidade de FMA (Jobim et al. 2016).

226 A alta diversidade não está restrita aos FMA: a baixa disponibilidade de nutrientes de
227 forma alguma impede que esse bioma seja extremamente diverso. Ele conta com
228 aproximadamente 12.400 espécies de plantas com flores (Angiospermas), das quais mais de 30%
229 são endêmicas (Flora do Brasil 2016). Mesmo com enorme biodiversidade, porém, o Cerrado
230 não recebe a devida atenção por parte de políticos e do público leigo em geral (Lahsen et al.
231 2016; Strassburg et al. 2017). Por causa dos elevados níveis de endemismo e da grande ameaça
232 a que está submetido, inclusive, o Bioma é está listado desde 2000 como um dos *hotspots* de
233 biodiversidade brasileiros (Myers et al. 2000). Entre as principais ameaças ao bioma, podemos
234 citar o desmatamento (Klink and Machado 2005; Sano et al. 2010); apesar de originalmente
235 ocupar aproximadamente 22% do território nacional (Motta et al. 2002; Oliveira-Filho and
236 Ratter 2002), hoje cerca de metade de sua área já foi de alguma forma alterada (não
237 necessariamente desmatada: áreas com alguma alteração em seu tipo de uso), com
238 aproximadamente 40% sendo usada para agricultura (Projeto MapBiomas 2018). Entretanto,
239 além da ameaça direta da agricultura devido ao desmatamento, ainda há ameaças indiretas por
240 causa das práticas agrícolas usadas. As características de seus solos, brevemente discutidas,
241 fazem com que práticas como a calagem e a adição de nutrientes (através de fertilização
242 inorgânica ou não) sejam necessárias (Haridasan 1994; Fageria and Baligar 2008). Por causa
243 disso, o bioma também está sujeito a um aumento na disponibilidade de nutrientes em seus
244 ecossistemas e aos danos associados ao mesmo (Phoenix et al. 2006).

245 Ciclos biogeoquímicos, humanidade e degradação ambiental

246

247 Aumentos nos teores de nutrientes em áreas naturais (que serão convertidas) e em
248 áreas agrícolas vem se intensificando principalmente depois da década de 50, na chamada
249 "Grande Aceleração" (Steffen et al. 2015). Esse aumento ocorre principalmente através do uso
250 de fertilizantes, indispensáveis para alcançar produções adequadas para suprir as demandas da
251 população (Erisman et al. 2008): atualmente, por volta de 50% da população mundial depende
252 de fertilizantes (principalmente N e P) para sua nutrição (Galloway et al. 2008).

253 Uma vez que são comumente limitantes em diversas regiões (Elser et al. 2007; Augusto
254 et al. 2017) e macronutrientes (ou seja, elementos necessários em grandes quantidades, ver
255 Aerts and Chapin III 2000; Marschner 2011) para as plantas, existe o potencial para que
256 aumentos na disponibilidade de N e P causem profundos impactos no funcionamento em
257 ecossistemas em que se acumulem. Reconhecendo a importância dos elementos, sua ciclagem
258 e interação com a biota (biogeoquímica) e os grandes impactos que a humanidade vem
259 causando sobre esses processos, os ciclos de alguns nutrientes (apenas N e P por enquanto)

260 foram considerados entre o que foi chamado de "Barreiras Planetárias" (Rockström et al. 2009),
261 que são processos cujos impactos causados pela humanidade devem ficar dentro de certos
262 limites calculados para que não sejam causadas "alterações climáticas inaceitáveis" (palavras
263 dos autores). Muitos estudos mostram os impactos pervasivos que aumentos na disponibilidade
264 de N podem causar à biota (por exemplo, através de gases tóxicos, acidificação do solo, ver
265 Stevens et al. 2004; Maskell et al. 2010). Esse elemento também pode contribuir para alterar
266 parâmetros da comunidade vegetal de áreas naturais, tendo potencial para facilitar a invasão
267 biológica e perda de diversidade local (Clark and Tilman 2008; Isbell et al. 2013), dentre outros
268 efeitos. Para o P, outro elemento limitante e extensivamente estudado, também há diversos
269 impactos reportados, como alterações na estrutura da vegetação e facilitação da invasão
270 biológica, como mostrado em uma área de cerrado típico (savana) no Brasil (Jacobson et al.
271 2011; Bustamante et al. 2012). Além dos efeitos de cada elemento separadamente, eles podem
272 atuar de forma sinérgica, algumas vezes causando impacto ainda maiores do que o de cada
273 um em separado (Elser et al. 2007). Por exemplo, a fixação biológica de nitrogênio pode ser
274 limitada por uma disponibilidade insuficiente de P (Vitousek and Howarth 1991; Batterman et
275 al. 2013), mas ao mesmo tempo a disponibilização deste nutriente pode ser limitada por uma
276 quantidade insuficiente de N, que é necessário para a produção de enzimas solubilizadoras de P
277 (fosfatases) (Treseder and Vitousek 2001; Deng et al. 2017; Miao et al. 2019). Nesse caso,
278 aumentos nas disponibilidades de ambos ao mesmo tempo podem acabar a limitação e resultar
279 em um efeito maior do que o de cada um em separado, porém há grande variação nas respostas
280 entre diferentes grupos de organismos (e.g. microrganismos vs. plantas) e até mesmo entre
281 grupos funcionais diferentes (e.g. microrganismos fixadores vs. não fixadores) (Camenzind et al.
282 2018).

283 Além de N e P, usados como fertilizantes, a calagem é outra prática muitas vezes
284 necessária para a agricultura. Ela é particularmente importante em solos tropicais, que são
285 normalmente ácidos e com pouca Capacidade de Troca Catiônica (CTC); sem a calagem, o P
286 adicionado ao solo pode se tornar rapidamente indisponível às plantas por causa de uma forte
287 adsorção (Andrade 2004; Fageria and Baligar 2008), comum nos solos do bioma. A calagem
288 aumenta o pH do solo e conforme isso acontece, a disponibilidade de metais como Al diminui.
289 Com isso, a capacidade de o solo adsorver P também diminui, o que aumenta a sua
290 disponibilidade para as plantas (Haynes 1982; Fageria and Baligar 2008). Além de seus efeitos
291 no pH do solo, a calagem muitas vezes envolve cálcio (Ca), que é outro macronutriente para as
292 plantas, tendo importante papel em processos bioquímicos (como mensageiros e na
293 permeabilidade de membranas, por exemplo) e auxiliando no suporte de tecidos vegetais

294 (Lawrence et al. 1995). A importância desse elemento é tal que sua falta está entre os fatores
295 que parecem contribuir para a existência de vegetações savânicas em áreas em que a
296 disponibilidade de N e P parecem suficientes para sustentar vegetações florestais (Bigelow and
297 Canham 2007; Silva et al. 2008; Baribault et al. 2012). Alguns autores afirmam que diminuição
298 nos níveis de Ca podem danificar severamente ambientes naturais (Schaberg et al. 2001).
299 Porém, apesar de seu elevado potencial para afetar processos ecossistêmicos, os efeitos da
300 calagem ainda são pouco conhecidos quando comparados aos de N e P e serão mencionados
301 daqui para a frente apenas quando informações relevantes foram encontradas na literatura.

302 Os efeitos de aumentos na disponibilidade de nutrientes (ou seja, a remoção da
303 limitação nutricional de áreas naturais) sobre as plantas são comumente estudadas (Phoenix et
304 al. 2006; Bobbink et al. 2010), mas os efeitos dessas alterações sobre as interações entre plantas
305 e outros organismos, como polinizadores e FMA, são muito menos conhecidos, apesar de ambos
306 serem fundamentais para o funcionamento de ecossistemas terrestres.

307 Interações acima e abaixo do solo: polinizadores e micorrizas

308

309 A interação entre plantas e polinizadores é crucial para a manutenção de populações
310 vegetais, uma vez que cerca de 85% das espécies de Angiospermas dependem de animais para
311 a polinização (Ollerton et al. 2011). Porém, ao mesmo tempo, as populações de polinizadores
312 tem sofrido declínio em diversos locais do mundo por causa de distúrbios antropogênicos, como
313 perda de vegetação / desmatamento, uso de defensivos agrícolas e as próprias mudanças
314 climáticas (Biesmeijer et al. 2006; Garibaldi et al. 2011; Carvalheiro et al. 2013; Pyke et al. 2016).
315 Por outro lado, as interações abaixo do solo, com os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são
316 fundamentais para que as plantas tenham uma nutrição adequada, afetando positivamente
317 também sua tolerância ao estresse hídrico, resistência a patógenos e até mesmo a produção de
318 flores (Lekberg and Koide 2005; Treseder 2013; Mensah et al. 2015).

319 Algumas das formas pelas quais aumentos na disponibilidade de nutrientes podem
320 impactar as interações mencionadas são: **1)** ao afetar tanto o crescimento / biomassa quanto as
321 populações vegetais, o excesso de nutrientes pode acabar por alterar a quantidade de flores
322 produzidas (Heide and Sønsteby 2012; Westerband and Horvitz 2015), uma vez que esta
323 fenofase requer uma grande quantidade de nutrientes (ver Güsewell 2004; Kerkhoff et al. 2006,
324 por exemplo). **2)** Mesmo a quantidade e qualidade dos recursos produzidos, como pólen e
325 néctar, podem ser afetados (ver Lau and Stephenson 1994; Zhang et al. 2013). Dessa forma,

326 aumentos na disponibilidade de nutrientes podem ter efeitos quantitativos ou qualitativos
327 sobre os recursos oferecidos aos polinizadores.

328 Os FMA podem representar um dreno de carbono elevado para as plantas, de até 20%
329 do elemento fixado pela fotossíntese (Smith & Reader 2008). Quando a disponibilidade de
330 nutrientes aumenta, pode acontecer de os nutrientes ficarem mais facilmente acessíveis a ponto
331 de o custo, em termos de carbono fixado, para a planta, ser mais alto que os benefícios e a
332 simbiose ser desestimulada (e.g. Treseder & Allen 2002; Johnson 2010). Além disso, tem sido
333 verificado que dentro do grupo dos FMA há uma elevada diversidade funcional e grande
334 variabilidade tanto no custo (ou seja, maior ou menor custo de carbono) quanto nos benefícios
335 conferidos ao hospedeiro, com algumas espécies de FMA sendo pouco afetadas pela fertilidade
336 do solo, outras sendo mais efetivas para a proteção contra patógenos e assim por diante (e.g.
337 Hart & Reader 2002; Klironomos 2003; Chagnon 2013). Assim, com relação aos FMA, aumentos
338 na disponibilidade de nutrientes pode impactar suas comunidades em termos de composição e
339 abundância (Treseder and Allen 2002; Treseder 2004; Treseder et al. 2018), ao favorecer uma
340 eleição de espécies mais adequadas para cada situação, por exemplo podendo haver uma
341 seleção de espécies menos eficientes na aquisição de nutrientes como P, mas que exijam uma
342 menor quantidade de carbono por parte da planta (Egerton-Warburton et al 2007).

343

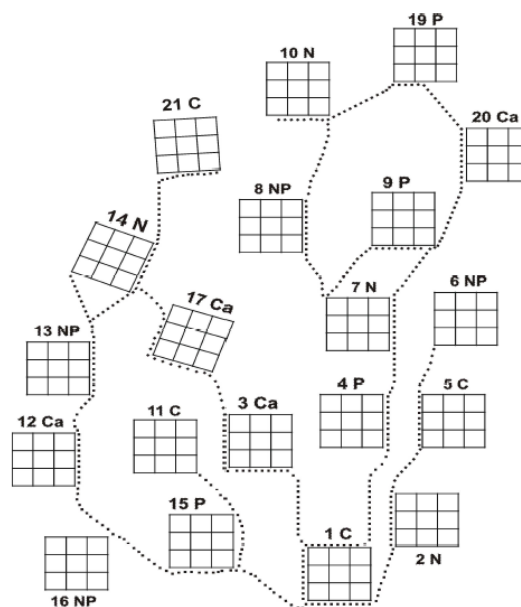
344 Experimento de adição de nutrientes

345

346 Reconhecendo a importância da limitação na disponibilidade de nutrientes para a
347 vegetação do Cerrado, as variadas adaptações (e.g. folhas grossas; folhas decíduas), processos
348 (e.g. ciclagem conservativa de nutrientes) e interações que essa limitação acabou por ajudar a
349 moldar durante a formação do bioma, um experimento de adição de nutrientes foi planejado e
350 implementado, visando melhor compreender como a retirada da limitação poderia afetar um
351 dos principais tipos de vegetação do bioma (cerrado típico) ao longo do tempo. O experimento
352 está localizado na Reserva Ecológica do IBGE (-15.943325 S; -47.878940 O), em Brasília, DF. Esta
353 Reserva tem uma área de aproximadamente 1,3 mil hectares e está situada no Planalto Central,
354 inserido no Cerrado, que é caracterizado, além do que foi mencionado, por duas estações bem
355 definidas: uma seca e outra chuvosa. As parcelas do experimento estão localizadas numa área
356 de cerrado típico, que tem como característica uma cobertura de dossel entre 20 e 50% e
357 árvores com alturas entre 3 e 6 m (Ribeiro and Walter 2008). Os solos são normalmente
358 profundos, antigos e altamente intemperizado, com altos níveis de Al e outros metais (como Fe),

359 baixo pH e baixos teores / disponibilidade de nutrientes (Reatto et al. 2008) e relacionado a isso,
360 tanto na área de estudo quanto no bioma em geral, espécies fixadoras de N (na família
361 Leguminosae) e acumuladoras de Al (principalmente Vochysiaceae e Melastomataceae) são
362 componentes importantes da vegetação (Sprent et al. 1996; Haridasan 2000; Haridasan 2008).

363 O experimento teve início em 1998 (Simpson-Júnior 2002; Jacobson et al. 2011) e
364 consistiu em 5 tratamentos de fertilização aplicados a lanço sobre o solo / serrapilheira, em duas
365 épocas: no início e final da estação seca. Cada tratamento foi aplicado em 4 parcelas de 15 x
366 15m (20 parcelas no total, com distância mínima entre si de 10 m), sendo cada uma dividida em
367 9 subparcelas de 5 x 5 m (**Figura 1.1**). O posicionamento das parcelas e a atribuição de cada
368 tratamento foram feitos de forma aleatória. Os tratamentos consistiram de: **1)** Tratamento N:
369 adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄); **2)** Tratamento P: adição 100 kg/ha
370 anuais de superfosfato simples 20% - Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; **3)** Tratamento N+P: adição de
371 sulfato de amônio e superfosfato simples 20%; **4)** Tratamento Ca: adição de 4 t/ha ao ano, na
372 forma de 60% de calcário dolomítico (CaO+MgO) + 40% de gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O); e **5)**
373 Controle: sem adição de nutrientes. No início do experimento, os solos e vegetação de todas as
374 parcelas eram semelhantes e típicos da fitofisionomia de Cerrado típico (Kozovits et al. 2007).



375

376 **Figura 1.1.** Desenho experimental do tratamento de fertilização de longa duração realizado em área de Cerrado típico,
377 parcelas e respectivos tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (N), Nitrogênio + Fósforo (NP) e Fósforo (P), Reserva
378 Ecológica do IBGE. Adaptado de Simpson-Júnior (2002).

379

380 Apenas sete meses após o início do experimento, já era possível observar alterações nos
381 solos que receberam adição de nutrientes em relação aos das parcelas Controle, como os dos
382 tratamentos N e N+P apresentando menor pH e, como esperado, maiores pH nas parcelas

383 Calagem (Ca). O conteúdo de P aumentou nas parcelas P e N+P (Kozovits et al. 2007). Oito anos
384 após o início do experimento, os tratamentos N e N+P continuaram a mostrar menores pH e as
385 parcelas P e N+P, maiores teores de P (Jacobson 2009). Além disso, os valores de potássio (K) e
386 Magnésio (Mg) se mostraram alterados nas parcelas Ca e sem alterações em N, P e N+P
387 (Jacobson 2009).

388 Como aconteceu com os solos, os efeitos sobre a vegetação foram muitos e começaram
389 rapidamente. Entre eles, podem ser citados impactos na resorção de nutrientes foliares antes
390 da senescência já em 1999 (menos de um ano após o início do experimento), com a serrapilheira
391 no tratamento N mostrando maiores teores deste elemento e maiores teores de P no
392 tratamento N+P, alterações que por vezes alteraram o tempo de decomposição (Kozovits et al.
393 2007). Efeitos na riqueza e diversidade também foram observados em todos os estratos da
394 vegetação (i.e. herbáceo, arbustivo e arbóreo, Jacobson et al. 2011; Bustamante et al. 2012),
395 havendo maiores impactos nos tratamentos N+P e P, que foram fortemente invadidos pelo
396 capim gordura (*Melinis minutiflora* P. Beauv.), uma gramínea exótica.

397 Houve alterações na biomassa aérea e subterrânea e na arquitetura de raízes do estrato
398 herbáceo-arbustivo e o capim flechinha (*Echinolaena inflexa* (Poir.)) mostrou um grande
399 aumento em sua importância no tratamento N (Bustamante et al. 2012). Algumas espécies
400 arbóreas comuns apresentaram alterações em seu crescimento: de forma geral, foi acelerado
401 em parcelas N+P (Simpson-Júnior 2002; Bucci et al. 2006). Foram observadas alterações na área
402 foliar total e condutividade hidráulica específica em muitas das espécies arbóreas comuns na
403 área, particularmente nas parcelas N (Bucci et al. 2006). Apesar de pouco estudados, foram
404 encontrados efeitos até mesmo em interações entre plantas e outros organismos, com
405 alterações na densidade de insetos indutores de galha nos tratamentos N e P, ainda que neste
406 caso as respostas tenham sido idiossincráticas: as respostas aos tratamentos foram distintas
407 para as duas espécies de insetos avaliadas, podendo haver queda (de 50% a 78%) ou mesmo
408 aumento (de 60% a 400%) na densidade de galhas no tratamento N e uma queda (de 70% a
409 700%) ou aumento (de 100% a 200%) na densidade no tratamento P.

410 Apesar dos múltiplos efeitos já observados, em diversos processos e grupos de
411 organismos, os efeitos da adição de nutrientes sobre a produção de flores e os possíveis
412 impactos disso para as interações entre plantas e polinizadores ainda não foram estudados na
413 área, assim como os possíveis impactos das alterações em características do solo e vegetação
414 sobre a comunidade de FMA. Além disso, partir de 2006 a adição de nutrientes foi interrompida
415 até 2017 e não há informações sobre a comunidade vegetal anos após a interrupção; se as

416 alterações sobre a vegetação progrediram e a comunidade as alterações se acentuaram com o
417 tempo ou, se com a interrupção dos tratamentos, ela conseguiu de alguma forma começar a se
418 recuperar.

419 **Objetivos Gerais**

420

421 Esse trabalho buscou avaliar **1)** como alterações na disponibilidade de nutrientes (ou a
422 remoção / diminuição da limitação nutricional, determinante ecológico em áreas de cerrado)
423 em áreas naturais afetam a composição de comunidades vegetais, concentração de nutrientes
424 foliares e investimento em reprodução e se estas alterações se mantêm ao longo do tempo; **2)**
425 se há alterações na produção de flores e, caso existam, se as mesmas afetaram as taxas de
426 visitação e a composição da comunidade de visitantes florais e **3)** se alterações na
427 disponibilidade de nutrientes e na vegetação afetam as comunidades de FMA em termos de
428 número de esporos e composição de famílias e grupos funcionais.

429

430 **Hipóteses gerais**

431

432 As hipóteses iniciais foram, para o **capítulo 2:** a) devido à ciclagem conservativa de
433 nutrientes observada em áreas de cerrado, as comunidades do estrato herbáceo-arbustivo
434 continuam alteradas em relação ao controle, especialmente nas parcelas NP e P, em que um
435 nutriente altamente limitante foi adicionado e uma espécie altamente competitiva invadiu a
436 área. b) as alterações poderão ser vistas também nos teores de nutrientes foliares de plantas
437 comuns, com aumentos principalmente nos que são reconhecidamente limitantes no Cerrado,
438 como P e Ca, nas parcelas NP e P (teores de P foliares) e Ca (teores de Ca foliar).

439 No **capítulo 3:** a) uma vez que as parcelas NP e P foram invadidas por uma gramínea
440 exótica, é esperado que haja menor produção de flores nestes tratamentos em relação ao
441 controle. Devido à menor produção de flores, é esperado que b) haja um menor número de
442 visitantes nestas mesmas parcelas em relação ao controle.

443 No **capítulo 4,** as hipóteses foram que: a) os efeitos causados no solo e na vegetação
444 continuam a afetar a comunidade de AMF, mas espera-se os efeitos sobre o solo sejam mais
445 fortes que o da vegetação e portanto que, onde os teores de P no solo aumentaram
446 (tratamentos NP e P), haja um menor número de esporos no solo e b) espera-se também que os
447 efeitos da fertilização tenham afetado a composição das comunidades micorrízicas, com famílias
448 e grupos funcionais adaptados a situações de estresse sendo beneficiados (com uma maior

449 abundância em relação ao controle) nos tratamentos Ca, NP e P e que os adaptados a situações
450 típicas de cerrado (e.g. baixo pH e teores de P, altos teores de Al) mais abundantes no controle.

451

452 **Bibliografia**

453

- 454 Aerts R, Chapin III FS (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of
455 processes and patterns. In: Advances in ecological research. Elsevier, pp 1–67
- 456 Andrade LRM (2004) Corretivos e fertilizantes para culturas perenes e semiperenes. Cerrado
457 Correção Do Solo e Adubação. EMBRAPA, pp 317–366
- 458 Archibald OW (2012) Ecology of world vegetation. Springer Science & Business Media
- 459 Augusto L, Achat DL, Jonard M, Vidal D, Ringeval B (2017) Soil parent material—a major driver
460 of plant nutrient limitations in terrestrial ecosystems. Glob Change Biol 23:3808–3824
- 461 Bailey RG (1983) Delineation of ecosystem regions. Environ Manage 7:365–373
- 462 Baribault TW, Kobe RK, Finley AO (2012) Tropical tree growth is correlated with soil phosphorus,
463 potassium, and calcium, though not for legumes. Ecol Monogr 82:189–203
- 464 Batterman SA, Wurzburger N, Hedin LO (2013) Nitrogen and phosphorus interact to control
465 tropical symbiotic N₂ fixation: a test in *Inga punctata*. J Ecol 101:1400–1408
- 466 Biesmeijer JC, Roberts SPM, Reemer M, Ohlemüller R, Edwards M, Peeters T, Schaffers AP, Potts
467 SG, Kleukers R, Thomas CD, others (2006) Parallel declines in pollinators and insect-
468 pollinated plants in Britain and the Netherlands. Science 313:351–354
- 469 Bigelow SW, Canham CD (2007) Nutrient limitation of juvenile trees in a northern hardwood
470 forest: calcium and nitrate are preeminent. For Ecol Manag 243:310–319
- 471 Bobbink R, Hicks K, Galloway J, Spranger T, Alkemade R, Ashmore M, Bustamante MMC,
472 Cinderby S, Davidson E, Dentener F, others (2010) Global assessment of nitrogen
473 deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. Ecol Appl 20:30–59
- 474 Bucci SJ, Scholz FG, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Campanello PI, Villalobos-Vega R,
475 Bustamante MMC, Miralles-Wilhelm F (2006) Nutrient availability constrains the
476 hydraulic architecture and water relations of savannah trees. Plant Cell Environ
477 29:2153–2167
- 478 Bustamante MMC, Brito DQ, Kozovits AR, Luedemann G, Mello TRB, de S. AP, Munhoz CBR,
479 Takahashi FSC (2012) Effects of nutrient additions on plant biomass and diversity of the
480 herbaceous-subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). Plant Ecol 213:795–808
- 481 Bustamante MMC, Martinelli LA, Silva DA, Camargo PB de, Klink CA, Domingues TF, Santos RV
482 (2004) 15N natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas
483 (cerrado). Ecol Appl 14:200–213
- 484 Bustamante MMC, Medina E, Asner GP, Nardoto GB, Garcia-Montiel DC (2006) Nitrogen cycling
485 in tropical and temperate savannas. Biogeochemistry 79:209–237
- 486 Camenzind T, Hättenschwiler S, Treseder KK, Lehmann A, Rillig MC (2018) Nutrient limitation of
487 soil microbial processes in tropical forests. Ecol Monogr 88:4–21

- 488 Cameron DD, Neal AL, van Wees SCM, Ton J (2013) Mycorrhiza-induced resistance: more than
489 the sum of its parts? *Trends Plant Sci* 18:539–545
- 490 Cardoso EJBN, Cardoso IM, Nogueira MA, Baretta CRDM, Paula AM de (2010) Micorrizas
491 arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: *Micorrizas: 30 anos de*
492 *pesquisas no Brasil*, pp 153–214
- 493 Carvalheiro LG, Kunin WE, Keil P, Aguirre-Gutiérrez J, Ellis WN, Fox R, Groom Q, Hennekens S,
494 Van Landuyt W, Maes D, others (2013) Species richness declines and biotic
495 homogenisation have slowed down for NW-European pollinators and plants. *Ecol Lett*
496 16:870–878
- 497 Chagnon P-L, Bradley RL, Maherali H, Klironomos JN (2013) A trait-based framework to
498 understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends Plant Sci* 18:484–491
- 499 Clark CM, Tilman D (2008) Loss of plant species after chronic low-level nitrogen deposition to
500 prairie grasslands. *Nature* 451:712
- 501 Deng Q, Hui D, Dennis S, Reddy KC (2017) Responses of terrestrial ecosystem phosphorus cycling
502 to nitrogen addition: A meta-analysis. *Glob Ecol Biogeogr* 26:713–728
- 503 Dinerstein E, Olson D, Joshi A, Vynne C, Burgess ND, Wikramanayake E, Hahn N, Palminteri S,
504 Hedao P, Noss R, others (2017) An ecoregion-based approach to protecting half the
505 terrestrial realm. *BioScience* 67:534–545
- 506 Flora Do Brasil (2019) 2020 em construção. Jard Botânico Rio Jan Disponível em
507 <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>> Acesso em Jun 2019
- 508 Egerton-Warburton LM, Johnson NC, Allen EB (2007) Mycorrhizal community dynamics
509 following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecol Monogr* 77:527–
510 544
- 511 Elser JJ, Bracken MES, Cleland EE, Gruner DS, Harpole WS, Hillebrand H, Ngai JT, Seabloom EW,
512 Shurin JB, Smith JE (2007) Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of
513 primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecol Lett* 10:1135–
514 1142
- 515 Erisman JW, Sutton MA, Galloway J, Klimont Z, Winiwarter W (2008) How a century of ammonia
516 synthesis changed the world. *Nat Geosci* 1:636
- 517 Fageria NK, Baligar VC (2008) Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable
518 crop production. *Adv Agron* 99:345–399
- 519 Franco AC (2005) Biodiversidade de forma e função: implicações ecofisiológicas das estratégias
520 de utilização de água e luz em plantas lenhosas do Cerrado. In: *Cerrado ecologia,*
521 *biodiversidade e conservação*. Ministério de Meio Ambiente. pp 179–196
- 522 Franco AC, Bustamante MMC, Caldas LS, Goldstein G, Meinzer FC, Kozovits AR, Rundel P, Coradin
523 VTR (2005) Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal
524 water deficit. *Trees* 19:326–335

- 525 Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW m, Bekunda M, Cai Z, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger
526 SP, Sutton MA (2008) Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions,
527 and potential solutions. *Science* 320:889–892
- 528 Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Kremen C, Morales JM, Bommarco R, Cunningham SA,
529 Carvalho LG, Chacoff NP, Dudenhöffer JH, Greenleaf SS, others (2011) Stability of
530 pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits.
531 *Ecol Lett* 14:1062–1072
- 532 Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405:220
- 533 Güsewell S (2004) N: P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New*
534 *Phytol* 164:243–266
- 535 Haridasan M (1994) Solos do Distrito Federal. *Cerrado Caracterização Ocupação E Perspect*
536 2:321–344
- 537 Haridasan M (2000) Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. *Rev Bras Fisiol Veg* 12:54–
538 64
- 539 Haridasan M (2008) Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils.
540 *Braz J Plant Physiol* 20:183–195
- 541 Harpole WS, Ngai JT, Cleland EE, Seabloom EW, Borer ET, Bracken MES, Elser JJ, Gruner DS,
542 Hillebrand H, Shurin JB, others (2011) Nutrient co-limitation of primary producer
543 communities. *Ecol Lett* 14:852–862
- 544 Haynes RJ (1982) Effects of liming on phosphate availability in acid soils. *Plant Soil* 68:289–308
- 545 Heide OM, Sønsteby A (2012) Floral initiation in black currant cultivars (*Ribes nigrum* L.): Effects
546 of plant size, photoperiod, temperature, and duration of short day exposure. *Sci Hortic*
547 138:64–72
- 548 Isbell F, Tilman D, Polasky S, Binder S, Hawthorne P (2013) Low biodiversity state persists two
549 decades after cessation of nutrient enrichment. *Ecol Lett* 16:454–460
- 550 Jacobson TKB (2009) Composição, estrutura e funcionamento de um cerrado sentido restrito
551 submetido à adição de nutrientes em médio prazo. Tese de PhD. Universidade de
552 Brasília
- 553 Jacobson TKB, da Bustamante MMC, Kozovits AR (2011) Diversity of shrub tree layer, leaf litter
554 decomposition and N release in a Brazilian Cerrado under N, P and N plus P additions.
555 *Environ Pollut* 159:2236–2242
- 556 Jobim K, Oliveira BIS, Goto BT (2016) Checklist of the Glomeromycota in the Brazilian Savanna.
557 *Mycotaxon* 131:1–13
- 558 Johnson, NC (2010). Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular
559 mycorrhizas across scales. *New Phytol* 185:631–647
- 560 Kerkhoff AJ, Fagan WF, Elser JJ, Enquist BJ (2006) Phylogenetic and growth form variation in the
561 scaling of nitrogen and phosphorus in the seed plants. *Am Nat* 168:E103–E122

- 562 Klink CA, Machado RB (2005) A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* 1:147–155
- 563 Klironomos, JN (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal
564 fungi. *Ecology* 84:2292-2301
- 565 Kozovits AR, Bustamante MMC, Garofalo CR, Bucci S, Franco AC, Goldstein G, Meinzer FC (2007)
566 Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a
567 Neotropical Savanna. *Funct Ecol* 21:1034–1043
- 568 Kreft H, Jetz W (2007) Global patterns and determinants of vascular plant diversity. *Proc Natl*
569 *Acad Sci* 104:5925–5930
- 570 Lahsen M, Bustamante MMC, Dalla-Nora EL (2016) Undervaluing and overexploiting the
571 Brazilian Cerrado at our peril. *Environ Sci Policy Sustain Dev* 58:4–15
- 572 Lau T, Stephenson AG (1994) Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen
573 phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sex*
574 *Plant Reprod* 7:215–220
- 575 Lawrence GB, David MB, Shortle WC (1995) A new mechanism for calcium loss in forest-floor
576 soils. *Nature* 378:162
- 577 Lekberg Y, Koide RT (2005) Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal
578 fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003. *New Phytol*
579 168:189–204
- 580 Marimon-Júnior BH, Haridasan M (2005) Comparação da vegetação arbórea e características
581 edáficas de um cerradão e um cerrado sensu stricto em áreas adjacentes sobre solo
582 distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. *Acta Bot Bras* 19:913–926
- 583 Marschner H (2011) Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press
- 584 Maskell LC, Smart SM, Bullock J. M, Thompson KEN, Stevens CJ (2010) Nitrogen deposition
585 causes widespread loss of species richness in British habitats. *Glob Change Biol* 16:671–
586 679
- 587 Mensah JA, Koch AM, Antunes PM, Kiers ET, Hart M, Bücking H (2015) High functional diversity
588 within species of arbuscular mycorrhizal fungi is associated with differences in
589 phosphate and nitrogen uptake and fungal phosphate metabolism. *Mycorrhiza* 25:533–
590 546
- 591 Miao F, Li Y, Cui S, Jagadamma S, Yang G, Zhang Q (2019) Soil extracellular enzyme activities
592 under long-term fertilization management in the croplands of China: a meta-analysis.
593 *Nutr Cycl Agroecosystems* 1–14
- 594 Motta PEF, Curi N, Franzmeier DP (2002) Relation of soils and geomorphic surfaces in the
595 Brazilian Cerrado. *Cerrados Braz Ecol Nat Hist Neotropical Savanna Columbia Univ Press*
596 *N Y* 13–32
- 597 Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots
598 for conservation priorities. *Nature* 403:853

- 599 Neri AV, Schaefer CEGR, Silva AF, Souza AL, Ferreira-Junior WG, Meira-Neto JAA (2012) The
600 influence of soils on the floristic composition and community structure of an area of
601 Brazilian Cerrado vegetation. *Edinb J Bot* 69:1–27
- 602 Oliveira-Filho AT, Ratter JA (2002) Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado
603 biome. *Cerrados Braz Ecol Nat Hist Neotropical Savanna* 91–120
- 604 Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals?
605 *Oikos* 120:321–326
- 606 Olson DM, Dinerstein E (2002) The Global 200: Priority ecoregions for global conservation. *Ann
607 Mo Bot Gard* 199–224
- 608 Olson DM, Dinerstein E, Wikramanayake ED, Burgess ND, Powell GVN, Underwood EC, D'amico
609 JA, Itoua I, Strand HE, Morrison JC, others (2001) Terrestrial Ecoregions of the World: A
610 New Map of Life on Earth A new global map of terrestrial ecoregions provides an
611 innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience* 51:933–938
- 612 Pellegrini AFA (2016) Nutrient limitation in tropical savannas across multiple scales and
613 mechanisms. *Ecology* 97:313–324
- 614 Phoenix GK, Hicks WK, Cinderby S, Kuylenstierna JCI, Stock WD, Dentener FJ, Giller KE, Austin
615 AT, Lefroy RDB, Gimeno BS, others (2006) Atmospheric nitrogen deposition in world
616 biodiversity hotspots: the need for a greater global perspective in assessing N deposition
617 impacts. *Glob Change Biol* 12:470–476
- 618 Projeto MapBiomias (2018) Coleção 3 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do
619 Brasil. Disponível em < <http://mapbiomas.org/> > acessado em Jun de 2019
- 620 Pyke GH, Thomson JD, Inouye DW, Miller TJ (2016) Effects of climate change on phenologies and
621 distributions of bumble bees and the plants they visit. *Ecosphere* 7:1–19
- 622 Rascio N, Navari-Izzo, (2011) Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do
623 it? And what makes them so interesting? *Plant Sci* 180:169–181
- 624 Reatto A, Correia JR, Spera ST, Martins ES (2008) Solos do Bioma Cerrado: Aspectos pedológicos.
625 In: *Cerrado: ecologia e flora*. EMBRAPA, pp 107–150
- 626 Ribeiro JF, Walter BMT (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: *Cerrado:
627 ecologia e flora*. EMBRAPA, pp 151–212
- 628 Rockström J, Steffen W, Noone K, Persson Åsa, Chapin III FS, Lambin EF, Lenton TM, Scheffer M,
629 Folke C, Schellnhuber HJ, others (2009) A safe operating space for humanity. *Nature*
630 461:472
- 631 Sano EE, Rosa R, Brito JLS, Ferreira LG (2010) Land cover mapping of the tropical savanna region
632 in Brazil. *Environ Monit Assess* 166:113–124
- 633 Sayre R, Dangermond J, Frye C, Vaughan R, Aniello P, Breyer S, Cribbs D, Hopkins D, Nauman R,
634 Derrenbacher W, others (2014) A new map of global ecological land units—an
635 ecophysiological stratification approach. *Wash DC Assoc Am Geogr*

- 636 Schaberg PG, DeHayes DH, Hawley GJ (2001) Anthropogenic calcium depletion: a unique threat
637 to forest ecosystem health? *Ecosyst Health* 7:214–228
- 638 Silva LCR, Sternberg L, Haridasan M, Hoffmann WA, Miralles-Wilhelm F, Franco AC (2008)
639 Expansion of gallery forests into central Brazilian savannas. *Glob Change Biol* 14:2108–
640 2118
- 641 Simpson-Júnior PL (2002) Crescimento e fenologia foliar de espécies lenhosas de uma área de
642 cerrado stricto sensu submetida a fertilização. Dissertação de mestrado. Universidade
643 de Brasília
- 644 Smith SE, Read DJ (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press
- 645 Soka G, Ritchie M (2014) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects
646 for future research in tropical soils. *Open J Ecol* 4:11
- 647 Sprent JI (2009) *Legume nodulation: a global perspective*. John Wiley & Sons
- 648 Sprent JI, Geoghegan IE, Whitty PW, James EK (1996) Natural abundance of ^{15}N and ^{13}C in
649 nodulated legumes and other plants in the cerrado and neighbouring regions of Brazil.
650 *Oecologia* 105:440–446
- 651 Steffen W, Broadgate W, Deutsch L, Gaffney O, Ludwig C (2015) The trajectory of the
652 Anthropocene: the great acceleration. *Anthr Rev* 2:81–98
- 653 Stevens CJ, Dise NB, Mountford JO, Gowing DJ (2004) Impact of nitrogen deposition on the
654 species richness of grasslands. *Science* 303:1876–1879
- 655 Strassburg BBN, Brooks T, Feltran-Barbieri R, Iribarrem A, Crouzeilles R, Loyola R, Latawiec AE,
656 Oliveira-Filho FJB, Scaramuzza CAM, Scarano FR, others (2017) Moment of truth for the
657 Cerrado hotspot. *Nat Ecol Evol* 1:0099
- 658 Treseder KK (2013) The extent of mycorrhizal colonization of roots and its influence on plant
659 growth and phosphorus content. *Plant Soil* 371:1–13
- 660 Treseder KK (2004) A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and
661 atmospheric CO_2 in field studies. *New Phytol* 164:347–355
- 662 Treseder KK, Allen EB, Egerton-Warburton LM, Hart MM, Klironomos JN, Maherali H, Tedersoo
663 L (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi as mediators of ecosystem responses to nitrogen
664 deposition: A trait-based predictive framework. *J Ecol* 106:480–489
- 665 Treseder KK, Allen MF (2002) Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular
666 mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytol* 155:507–515
- 667 Treseder KK, Vitousek PM (2001) Effects of soil nutrient availability on investment in acquisition
668 of N and P in Hawaiian rain forests. *Ecology* 82:946–954
- 669 Vitousek PM, Howarth RW (1991) Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur?
670 *Biogeochemistry* 13:87–115

671 Vourlitis GL, de Almeida Lobo F, Lawrence S, Holt K, Zappia A, Pinto OB, de Souza Nogueira J
672 (2014) Nutrient resorption in tropical savanna forests and woodlands of central Brazil.
673 *Plant Ecol* 215:963–975

674 Wang B, Qiu Y-. L. (2006) Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants.
675 *Mycorrhiza* 16:299–363

676 Westerband AC, Horvitz CC (2015) Interactions between plant size and canopy openness
677 influence vital rates and life-history tradeoffs in two neotropical understory herbs. *Am J*
678 *Bot* 102:1290–1299

679 Zhang Z, Niu K, Liu X, Jia P, Du G (2013) Linking flowering and reproductive allocation in response
680 to nitrogen addition in an alpine meadow. *J Plant Ecol* 7:231–239

681

682

683 **Capítulo 2: Multiple medium and long-term effects of nutrient**
684 **additions and liming on the vegetation of a tropical savanna area**
685

686

687

688

689

690

691

692

693

694

695

696

697

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708 Multiple short and long-term effects of nutrient additions and liming on the
709 vegetation of a tropical savanna area

710

711 **Abstract**

712

713 Although often poor and acidic, soils in tropical areas can host high plant diversity,
714 deeply adapted to such conditions. To better understand how soil characteristics are related to
715 biodiversity and various ecosystem processes, a long-term experiment was set up in 1998 in a
716 Brazilian savanna with characteristically poor and acidic soils, with different treatments (N, NP,
717 P and liming) to remove unfavorable conditions for plants. In the medium (3 years after stopping
718 the additions) and long (9 years after stopping) terms, several alterations were observed in the
719 soil, in the composition and diversity of the plants and in the leaf nutrient contents. Thi
720 demonstrates that the levels of nutrients in the soil have a great effect on different aspects of
721 the vegetation, which in turn has high capacity to maintain them in the ecosystem. One of the
722 main effects detected are differences between native (C3 and C4 species) and exotic (C4)
723 Poaceae species regarding their responses to nutrient availability over time.

724 **Key-words:** exotic grasses, *Melinis minutiflora*, nutrient limitation, typical cerrado, leaf
725 nutrient content

726

727 **Introduction**

728

729 Soils in natural environments often have low availability of essential nutrients for plants
730 (Vitousek and Howarth 1991; Harpole et al. 2011; Augusto et al. 2017). However, despite their
731 low fertility, many of them harbour a high level of biodiversity (Solbrig et al. 1996; Ratter et al.
732 2003). This diversity is associated with some characteristics, such as high efficiency in the
733 internal cycling of nutrients (Wright and Westoby 2003; Kozovits et al. 2007) such as long-lived
734 leaves and high ratios of carbon to other elements, such as nitrogen and phosphorus, and a
735 slower metabolism than species from other types of environments (Kobe et al. 2005; Ordoñez
736 et al. 2009). These traits are related to ecosystem function and aspects of nutrient cycling, as
737 the ratio of chemical elements in plant tissues is one of the determinants of processes such as
738 herbivory and decomposition (Elser et al. 2000a; Elser et al. 2000b). For example, a herbivore
739 that consumes leaves with a very high C:N ratio will require more mass of leaves to meet its N
740 demand or use other sources with an elementary ratio more suited to its needs. The same occurs
741 with decomposing organisms, which may have their efficiency altered according to the

742 characteristics of the material consumed (Elser et al. 2000a; Boersma and Elser 2006; Manzoni
743 et al. 2008).

744 Soil characteristics might influence, directly or indirectly, the processes mentioned, from
745 leaf nutrient contents to decomposition. In addition, these characteristics can act as an
746 ecological filter for plants, sometimes playing an important role in the floristic composition of
747 different areas, sometimes even facilitating processes such as biological invasion (Huenneke et
748 al. 1990; Bustamante et al. 2012; Sardans et al. 2017) which in turn can still generate feedback
749 processes, preventing the areas from returning to the pre-disturbed state (Isbell et al. 2013;
750 D'Antonio et al. 2017).

751 In a significant part of the tropical zone (approximately 48% of the area) the soils have
752 characteristics that hinder plant growth, such as low fertility or high acidity, or both, being of
753 the oxisol, alfisol or ultisol types (Palm et al. 2007) but still harbor a particularly high biodiversity
754 (Gaston 2000; Hillebrand 2004). Within this range, the Cerrado is one of the largest plant
755 formations: it originally occupied around 22% of the Brazilian territory (Ribeiro and Walter 2008)
756 and has more than 12 thousand species of Angiosperms (Flora Do Brasil 2016). It is composed
757 of a mosaic of vegetational types: forests, savannas and grasslands (Ribeiro and Walter 2008),
758 the most common being the savannic vegetation (Oliveira-Filho and Ratter 2002). A large part
759 of the biome occurs on Latosols, that are strongly weathered and acidic (Motta et al. 2002;
760 Reatto et al. 2008), with low contents of N and P and other macronutrients, such as calcium (Ca),
761 and high concentrations of elements that can be toxic to plants such as aluminum (Al).

762 Seeking to better understand the relationships between nutrient availability and the
763 functioning of savannic ecosystems (from plant ecophysiology to community composition), a
764 long-term experiment began in 1998 in which different nutrients were added in a typical
765 savannah area over 8 years (from 1998 to 2006). Several effects have been documented, ranging
766 from changes in stomatal conductance (and hence drought resistance) to the architecture of
767 common plant's roots in the area (Bustamante et al. 2004; Bucci et al. 2006). Among the changes
768 was the invasion by exotic species, especially the molasses grass (*Melinis minutiflora* P. Beauv),
769 an African C4 grass that has become a threat in several tropical environments (see for example
770 D'Antonio et al. 2001; Barger et al. 2003).

771 Having in mind the conservative nutrient cycling in cerrado, the objective of this study
772 was to evaluate the effects of past nutrient additions in the vegetation (particularly regarding
773 the invasive C4 species) and leaf nutrient content in common species.

774 We hypothesized that the **1)** vegetation wasn't able to return to what is found in the
775 control plots and that the invasive C4 species was able to maintain its abundance in NP and P
776 plots, the ones we hypothesize have the lowest diversity. **2)** the leaf nutrient contents in
777 common species, particularly of the ones that are known to be limiting in cerrado soils, such as
778 P, Ca and Mg are higher than in control plots particularly in the P, NP and Ca treatments.

779

780 **Methods**

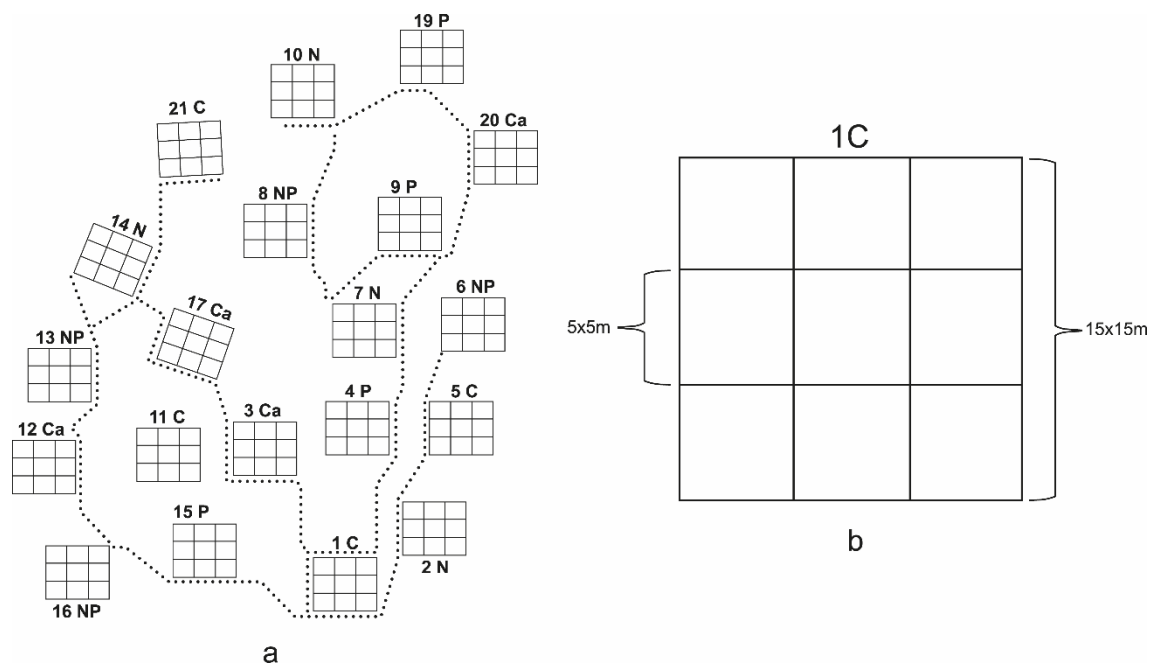
781

782 ***Study Area***

783

784 The study was conducted in a long-term fertilization experiment, located in the
785 Ecological Reserve of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (Reserva Ecológica do
786 IBGE, Recor IBGE), located in Brasília, DF, Brazil. -The reserve has an area of approximately 1,300
787 ha and is located in the Cerrado biome, characterized by a climate with two well-defined
788 seasons, one dry (April to September) and the other rainy (October to March) and an annual
789 rainfall average of around 1,500 mm.

790 The experiment began in 1998 (Simpson-Júnior 2002; Jacobson et al. 2011) and
791 consisted of five fertilization treatments. Fertilizers were applied over the soil / litter in two
792 seasons: at the beginning and end of the dry season, without plowing or any other type of
793 incorporation. Each treatment was applied in 4 plots of 15 x 15 m (20 plots in total, with a
794 minimum distance between them of 10 m), each one divided into 9 subplots of 5 x 5m (**Figure**
795 **2.1**). The positioning of the plots and the assignment of each treatment were done randomly.
796 The treatments consisted of: **1)** N treatment: addition of 100 kg/ha per year of ammonium
797 sulfate ((NH₄)₂SO₄); **2)** P treatment: addition of 100 kg/ha per year of simple superphosphate
798 20% - Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; **3)** N+P treatment: addition of ammonium sulfate and simple
799 superphosphate 20%; **4)** Ca treatment: addition of 4 t/ha per year, in the form of 60% dolomitic
800 limestone (CaO+MgO) + 40% agricultural plaster (CaSO₄.2H₂O); and **5)** Control: without addition
801 of nutrients. At the beginning of the experiment, the soils and vegetation of all plots were similar
802 and typical of Cerrado areas (Kozovits et al. 2007).



803

804 **Figure 2.1.** Sketch of the study area, a) with the 20 fertilization 15 x 15 m plots and the respective treatments added
 805 to each one. b) Scheme showing the subdivision into nine 5 x 5 m subplots. Typical cerrado area where the long-term
 806 fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Adapted from Simpson-Júnior
 807 (2002).

808

809 **Soil Analyses**

810

811 The results of the soil analyses collected in 2007 (Jacobson 2009), from 0 to 10 cm depth,
 812 were used for the analyses, being relative to the first sampling period (T07). In 2015, during the
 813 dry season (in July), five soil samples were collected from 0 to 10 cm, in the four corner subplots
 814 of each plot and in the central subplot and then composed for nutrient analysis, being relative
 815 to the second sampling period (T15). The nutrients evaluated were: P, K, Fe Ca, Mg, Al and
 816 organic matter (OM). The elements P, K and Fe were extracted with Mehlich 1 and the elements
 817 Ca^{2+} , Mg^{2+} and Al^{3+} were extracted with 1M / L KCl solution (Teixeira et al. 2017). The total N was
 818 determined by the MicroKjeldahl method (Teixeira et al. 2017). The analyses were performed at
 819 the Laboratory for Analysis of Soil, Plant Tissue and Fertilizer, in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. Soil
 820 $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ and $\text{pH}(\text{CaCl}_2)$ values were determined at the Laboratory of Ecosystems, University of
 821 Brasília.

822

823 **Vegetation Sampling**

824

825 In 2015 (T15), herbaceous and shrub species had their linear cover (in cm) measured
826 using the line intercept method (Canfield 1941; Canfield 1950), in three lines of five meters each
827 randomly allocated in three of the nine subplots of each plot (**Figure 2.1**). Totaling 15 m of
828 sampling per plot and 60 m for each of the five treatments, following the methodology
829 previously used in the same area (Bustamante et al. 2012). The vegetation data sampled in 2009
830 (T09) were used for the temporal comparison. The species were classified according to their
831 growth form (shrubs, subshrubs and herbs) and origin, whether exotic or native, following Flora
832 do Brasil (2016). In addition, the Poaceae were classified according to their photosynthetic
833 pathway (if C3 or C4).

834 Samples of fully expanded leaves from tree, shrub and subshrub species common in the
835 area were collected at various points of the crown (from the entire individual in some cases, in
836 herbaceous species) from at least three individuals per treatment. The chosen species were:
837 *Croton goyazensis* Müll.Arg., *Myrcia torta* DC., *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill., *Pavonia*
838 *rosa-campestris* A.St.-Hil., *Periandra mediterranea* (Vell.) Taub., *Rourea induta* Planch., *Styrax*
839 *ferrugineus* Nees & Mart. and *Vochysia elliptica* Mart. After collection, the leaves were oven
840 dried at 60°C for 72 hours, ground and sent for nutrient analysis at the Laboratory for Analysis
841 of Soil, Plant Tissue and Fertilizer, in Viçosa. The concentrations of N, P, K, Mg, Ca and S were
842 obtained by the following method: the nitro-perchloric digestion was used for P, K, Mg, Ca and
843 S, followed by the ascorbic acid colorimetric method for P, flame photometry for K, turbidimetric
844 method for S and atomic absorption spectroscopy for Ca and Mg. To determine leaves' N
845 content, the Kjeldahl was used.

846 **Statistical Analyses**

847

848 The results of the soil analyses for all nutrients were analysed by a Principal Component
849 Analysis (PCA). Before analysing, the soil variables were transformed in order to have unit
850 variance . After this step, the PCA was done in order to verify how the plots and treatments
851 behaved in the different sampling periods and whether the changes caused by the addition of
852 nutrients were maintained after one (in 2007) and nine (in 2015) years without new nutrient
853 additions. The PCA and its plot were made in RStudio Version 1.1.456 using the Vegan (Oksanen
854 2007) and ggplot2 packages respectively. With the same transformed soil variables, a
855 PerMANOVA was for both sampling periods (2007 and 2015), to verify if significantly similar
856 groups ($\alpha=0.05$ from here on in all PerMANOVAs) were formed in each treatment when taking

857 into account all soil variables together and if the groups remained in T07, 1 year since the last
858 fertilization and in T15, 9 years since the last fertilization. 9,999 permutations and Euclidean
859 distance were used. These analysis were made using the RStudio Version 1.1.456 using the
860 Vegan (Oksanen 2007) package.

861 For the nutrient content of each soil variable, 5,000 permutations with replacement
862 were made for each treatment in each sampling period, after which the means and confidence
863 intervals (at 95%) were calculated and plotted to better verify the differences among the
864 treatments in each soil variable. These analysis were made using RStudio Version 1.1.456. These
865 analyses were made in order to verify if the soils still showed signs of the treatments.

866 The linear cover (in cm) values of each plant species in each plot and in each sampling
867 period were used to perform an NMDS. The consistency and difference between the groups
868 formed were then evaluated by means of a PerMANOVA Two-Way with 9,999 permutations and
869 Bray-Curtis dissimilarity measurement, which uses quantitative data and is suitable for
870 ecological data (Anderson and Willis 2003), these analysis were made using the program PAST
871 v. 3.23. The Richness and Shannon Diversity (H') and Pielou Equability (J') indexes were
872 calculated based on the linear coverage of each species for each plot and sampling period in
873 RStudio Version 1.1.456, using the Vegan package (Oksanen et al. 2007). The values obtained
874 were then compared by means of a Two-Way ANOVA, using as independent variables the
875 Treatment and the Year, followed by comparisons by the Tukey HSD test. This same procedure
876 was used for comparisons between growth forms (shrubs and subshrubs) and, among the herbs,
877 Poaceae C4 (both native and exotic) and Poaceae C3 (there were no exotic C3 species in the
878 area) using linear coverage data. All these analyses were done using RStudio Version 1.1.456.

879 Finally, data on leaf nutrient contents were sorted by multidimensional non-metric
880 scaling (NMDS) and plotted, using the mean values of each nutrient in each plot, for each
881 species. The nutrient content values were not scaled since the result were all in the same unit
882 (dag / Kg). The groups formed were tested for their significance with a PerMANOVA Two-Way
883 with 9,999 permutations and Euclidean distance. In this particular case, Euclidean distance was
884 used since the stress in the NMDS analysis was lower with it and there were no zero values.
885 These analyses were done using RStudio Version 1.1.456, in the Vegan (Oksanen 2008) package,
886 in order to verify if the nutrient leaves' nutrient content were still different from control plots.

887 Additionally to compare the nutrient content of each species between each treatment,
888 the values were submitted to 5,000 permutations with replacement, after which the means and
889 confidence intervals (at 95%) were calculated and plotted to better. These analysis were made

890 using RStudio Version 1.1.456. These analyses were made in order to verify if the soils still
891 showed signs of the treatments.

892

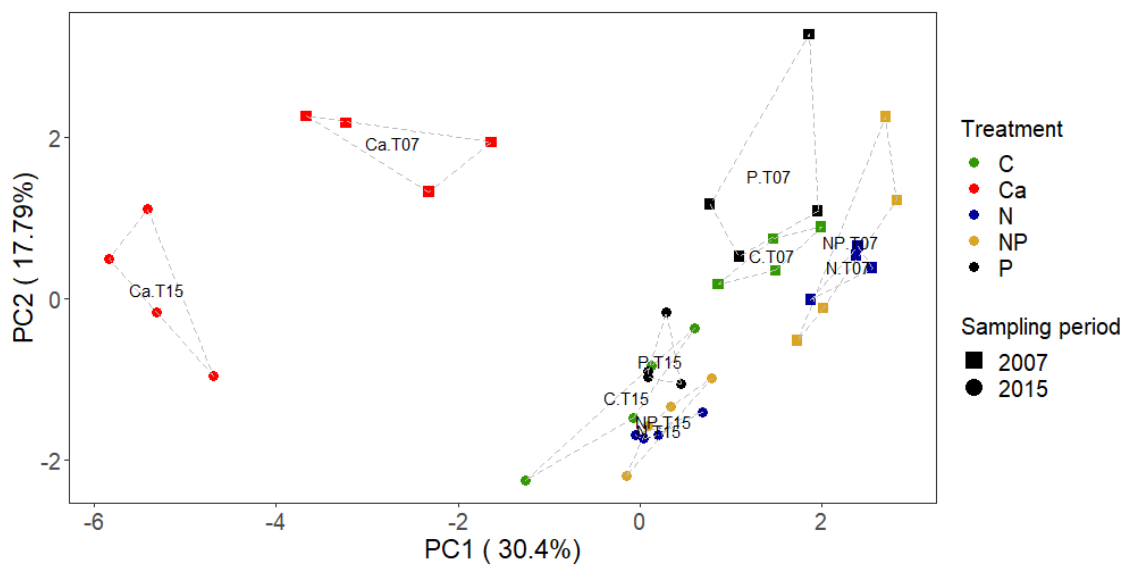
893 Results

894

895 *Changes in soil variables*

896

897 Regarding the soil analyses in the two periods (2007 and 2015), the PerMANOVA
898 indicated that there were differences between treatments (T07, Sum of Squares: 108.94, $p=$
899 0.0004 / T15, Sum of Squares: 140.214, $p=$ 0.0002). In both sampling periods, Ca treatments
900 were different from all others and also N from P treatments. The position of each treatment
901 relative to the others in each sampling period can be seen in **Figure 2.2**, which shows that: **1)** Ca
902 plots differed from the plots under all other treatments, **2)** N differing from P and closer to NP
903 plots and **3)** NP and control plots closer to each other. So, the treatments keep having a residual
904 effect in the soil despite the time without new nutrient additions. The different values for each
905 variable considered can be seen in **Appendix 2.1** and **2.2**.



906

907 **Figure 2.2.** Principal Component Analysis (PCA) ordination of standardized nutrient concentrations (available P, K, Fe,
908 Ca, Mg, available Al, total N, Organic Matter), pH(H₂O) and pH(CaCl₂) in soils (0 to 10 cm) of each treatment plot, in
909 the two sampling periods, T07 (2007) and T15 (2015). Typical cerrado area where the long-term fertilization
910 experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen,
911 NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus.

912

913

914 **Changes in vegetation composition**

915

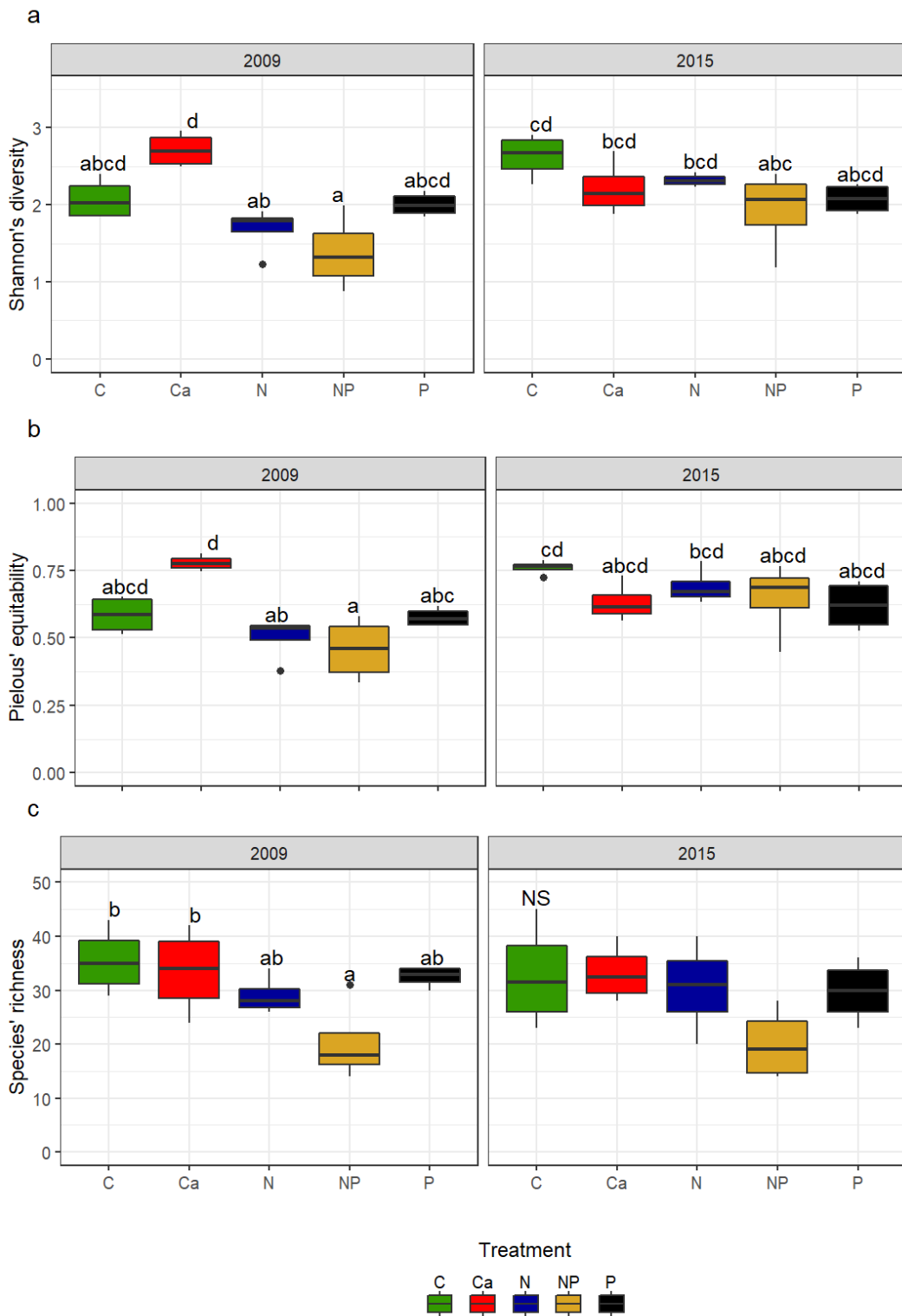
916 A total of 194 species were sampled in the two periods, being Poaceae and Myrtaceae
917 the two main families in both periods. Fabaceae and Euphorbiaceae were the third and fourth
918 families with greatest cover in 2009. In 2015, these positions were occupied by
919 Melastomataceae and Connaraceae (**Table 2.1**). Of the 194 species, only one species was
920 sampled in all 20 plots during both sampling periods: *Myrcia torta* DC (Myrtaceae). Of the top
921 10 species in each sampling period, five species were ranked in both periods, including the native
922 C3 grass *E. inflexa* (*capim flechinha*, or “arrowhead” grass) and the exotic *M. minutiflora* C4
923 (molasses grass) (**Table 2.1**), which were the most abundant in both sampling periods. Although
924 the richness between treatments remains very similar in both sampling periods, it is possible to
925 observe differences between treatments in the second period (**Figure 2.3a**). While diversity and
926 equability increased in the Ca treatment in the first sampling period (T09), both show a tendency
927 to decrease in the second period (T15). There is a tendency to an increase in diversity and
928 equability in NP, N and Control plots from the first to the second period (**Figure 2.3b and c**).

929

930 **Table 2.1.** Linear cover (in cm) of the 10 most important species in each sampling period as a whole and its cover in each treatment. In a typical cerrado area where the long-term fertilization
 931 experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. **Period**= Sampling period, **Family**= the family each species belongs to. **P.Pathway**= photosynthetic pathway. **Origin**= origin
 932 of each species. **Total**= sum of each species' cover in all treatments. **R.C.**= Relative cover of each of the main species in relation to all species sampled in each sampling period. In **Bold** and red:
 933 species common to both sampling periods.

Period	Species	Family	P.Pathway	Origin	C	Ca	N	NP	P	Total	R.C
2009	<i>Echinolaena inflexa</i> (Poir.) Chase	Poaceae	C3	native	4164	411	5008	2324	3056	14963	35.62
2009	<i>Melinis minutiflora</i> P.Beauv.	Poaceae	C4	exotic	7	333	0	3961	3597	7898	18.80
2009	<i>Myrcia torta</i> DC.	Myrtaceae	C3	native	800	951	863	622	588	3824	9.10
2009	Poaceae sp.	Poaceae	C4	native	559	637	354	21	322	1893	4.51
2009	<i>Bauhinia dumosa</i> Benth.	Fabaceae	C3	native	511	230	354	149	356	1600	3.81
2009	<i>Trachypogon spicatus</i> (L.f.) Kuntze	Poaceae	C4	native	140	1086	130	2	122	1480	3.52
2009	<i>Myrcia linearifolia</i> Cambess.	Myrtaceae	C3	native	288	380	127	106	187	1088	2.59
2009	<i>Axonopus marginatus</i> (Trin.) Chase	Poaceae	C4	native	255	356	197	72	174	1054	2.51
2009	<i>Rourea induta</i> Planch.	Connaraceae	C3	native	230	123	35	198	206	792	1.89
2009	<i>Axonopus siccus</i> (Nees) Kuhlms.	Poaceae	C4	native	69	193	204	109	29	604	1.44
2015	<i>Melinis minutiflora</i> P.Beauv.	Poaceae	C4	exotic	0	2324	0	1655	3238	7217	23.87
2015	<i>Echinolaena inflexa</i> (Poir.) Chase	Poaceae	C3	native	643	174	1924	198	162	3101	10.26
2015	<i>Myrcia torta</i> DC.	Myrtaceae	C3	native	811	413	674	386	544	2828	9.35
2015	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Melastomataceae	C3	native	675	173	766	774	383	2771	9.17
2015	<i>Rourea induta</i> Planch.	Connaraceae	C3	native	528	391	131	137	934	2121	7.02
2015	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	Asteraceae	C3	native	0	1129	0	0	0	1129	3.73
2015	<i>Protium ovatum</i> Engl.	Burseraceae	C3	native	153	242	46	348	28	817	2.70
2015	<i>Maprounea brasiliensis</i> A.St.-Hil.	Euphorbiaceae	C3	native	61	54	178	78	346	717	2.37
2015	<i>Trachypogon spicatus</i> (L.f.) Kuntze	Poaceae	C4	native	337	62	136	102	2	639	2.11
2015	<i>Roupala montana</i> Aubl.	Proteaceae	C3	native	190	92	152	61	119	614	2.03

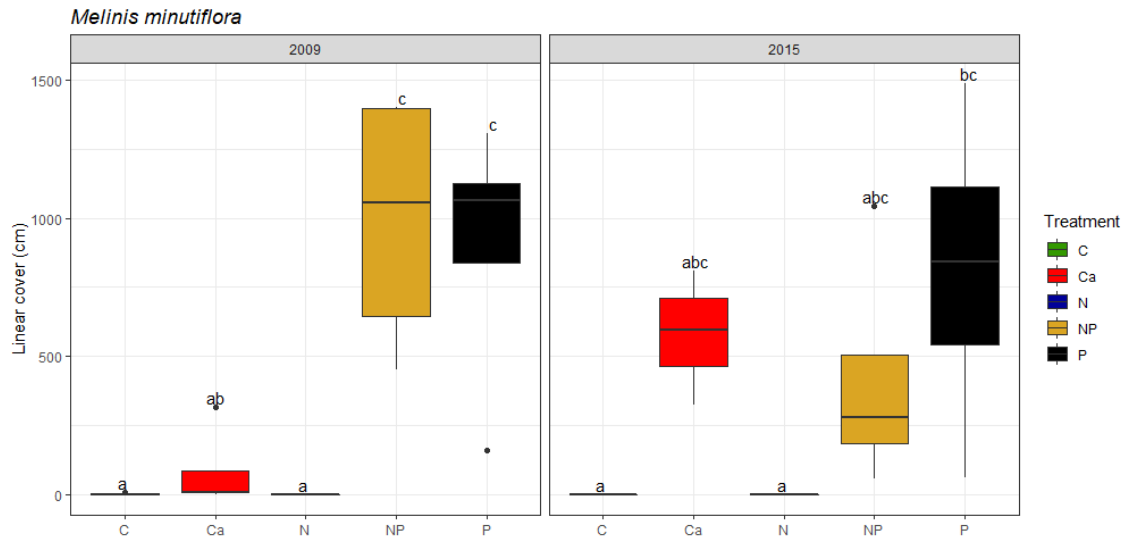
934



935

936 **Figure 2.3.** Metrics of the typical cerrado shrubby herbaceous community in two sampling periods (2009 and 2015)
 937 and under different nutrient addition treatments. a) Shannon diversity (H'), b) Pielou equitability (J') and c) Species'
 938 richness. Long-term experiment at the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N=
 939 nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus. Different letters mean significant differences between
 940 treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$). NS= non-significant differences between treatments in the same period.

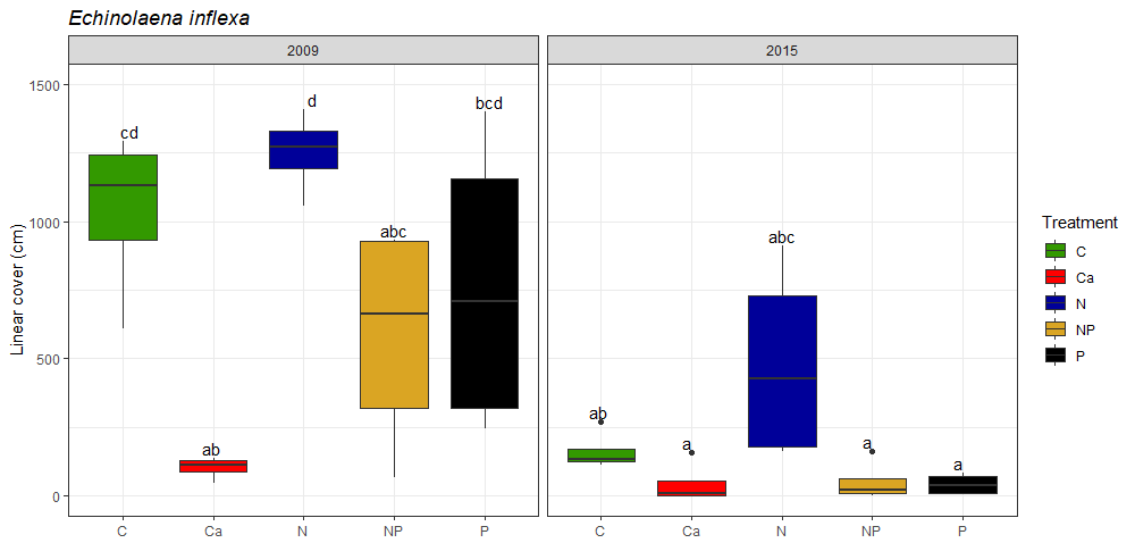
941 *Melinis minutiflora* had a high linear cover in the NP and P plots and a low cover in Ca
 942 plots in 2009. However, in 2015, its cover increased seven times on average in Ca plots and
 943 decreased by approximately 41% on average in NP from T09. In P plots, *M. minutiflora* cover
 944 showed little variation between sampling periods (**Figure 2.4**). *Ehinolaena inflexa* had a cover 10
 945 times lower in Ca plots compared to the Control plots in 2009, maintaining low cover in the
 946 second period, approximately four times lower than in the Control. In the NP and P plots, there
 947 was also a high reduction of *E. inflexa* cover, by about 11 and 18 times, respectively (**Figure 2.5**).



948

949 **Figure 2.4.** Linear cover (in cm) of the exotic C4 *Melinis minutiflora* (Poaceae) in the different treatments in both
 950 sampling periods (2009 and 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE
 951 Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P=
 952 phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

953



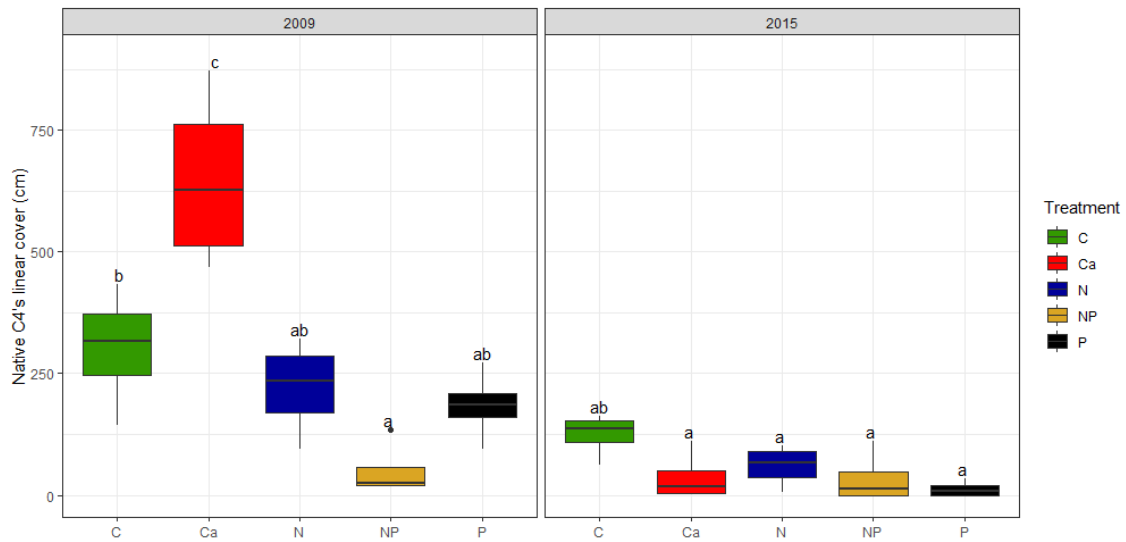
955

956 **Figure 2.5.** Linear cover (in cm) of the native C3 *Echinolaena inflexa* (Poaceae) in the different treatments in both
 957 sampling periods (2009 and 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE
 958 Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P=
 959 phosphorus. Different letters mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

960

961

962 Native C4 grasses were also sampled in both sampling periods, but showed less cover
 963 than the exotic grass species in both cases. The cover of native C4 grasses was higher in the first
 964 sampling period in Ca plots, decreasing significantly in the second period, by about 17 times. It
 965 was by far the largest reduction between sampling periods, even considering that there was a
 966 reduction in the cover of native C4 species in all treatments (**Figure 2.6**). This overall decreasing
 967 trend was also found for the cover of subshrubs (**Figure 2.7**). Cover of shrubs remained relatively
 968 constant between treatments and sampling periods (**Figure 2.8**).

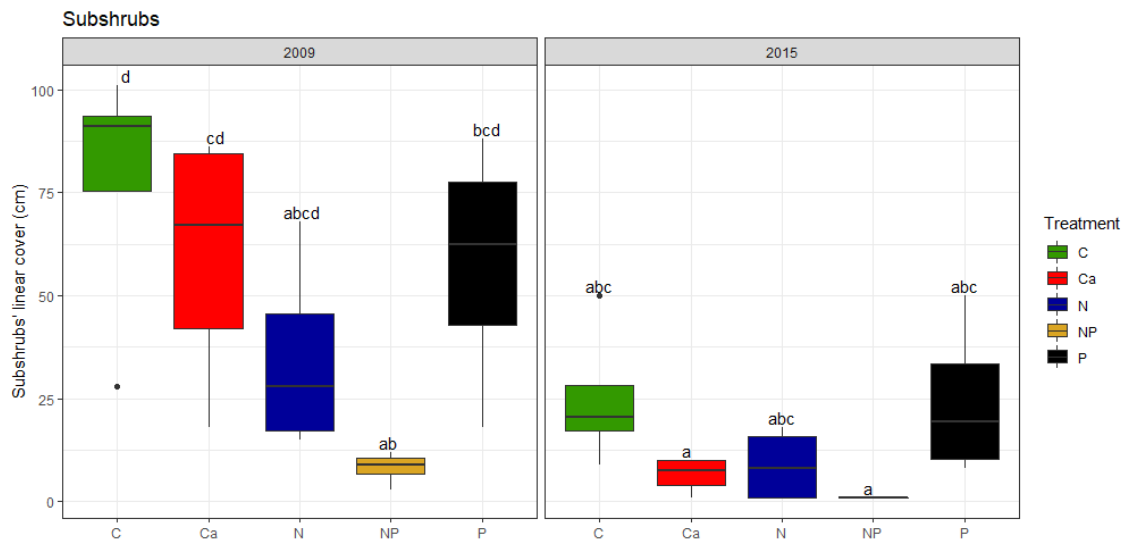


969

970 **Figure 2.6.** Linear cover of native C4 grasses (Poaceae) in the different treatments in both sampling periods (2009 and
 971 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília,
 972 DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. Different letters
 973 mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

974

975

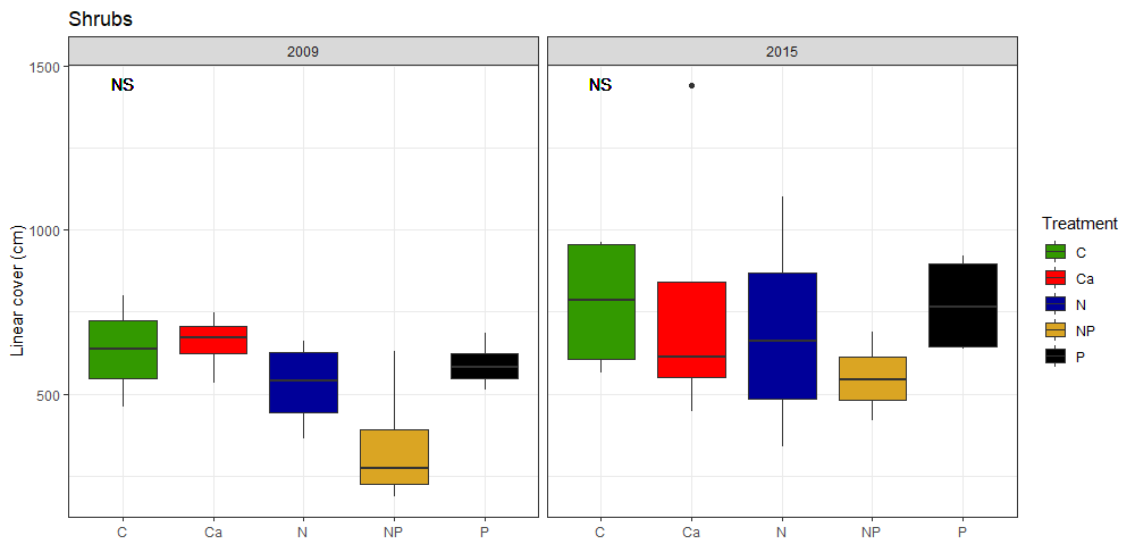


976

977 **Figure 2.7.** Subshrubs' linear cover (in cm) in the different treatments in both sampling periods (2009 and
 978 2015). Area of typical cerrado, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília,
 979 DF. Treatments: C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. Different letters
 980 mean significant differences between treatments and years of sampling ($\alpha=0.05$).

981

982



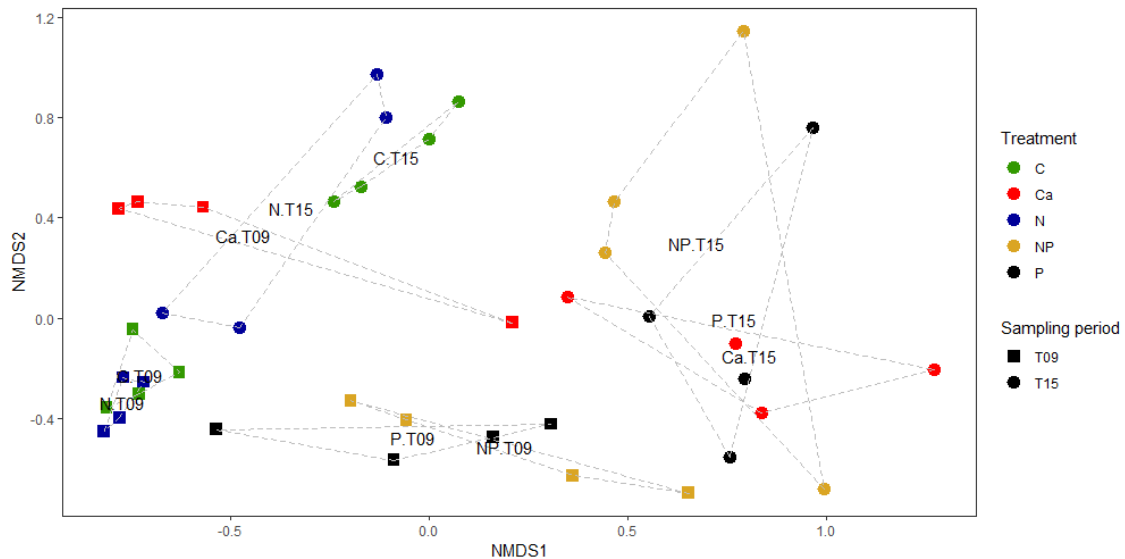
983

984 **Figure 2.8.** Linear cover (in cm) of shrubs in the different treatments in both sampling periods (2009 and 2015). Typical
985 cerrado area, where the long-term experiment is installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments:
986 C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus, P= phosphorus. NS= non-significant differences
987 between treatments in the sample period ($\alpha=0.05$).

988

989

990 Changes in vegetation in the plots of each treatment in the sampling periods can be seen
991 in **Figure 2.9**. Confirming out hypothesis that the vegetation wouldn't be able to return to what
992 it was before the treatments, it is easy to observe the grouping of different treatments,
993 particularly NP, P and Ca, the most different from control plots. Similarly to what was observed
994 for soil data, it is possible to notice that the vegetation in N and Control plots tend to be close in
995 both periods, the same occurring with NP and P plots, that form another group, different from
996 N and control. The vegetation in Ca treatment presents a different behavior: At T09 the Ca plots
997 had already been separated from the N and Control groups and NP and P. The Ca plots were
998 positioned close to the N and Control group of the second sampling period, indicating similarities
999 between the Ca plots in the first sampling period (T09) and the N and Control plots in the second
1000 period (T15). In the second sampling period Ca approached the NP and P group, keeping away
1001 from N and Control (**Figure 2.9**). PerMANOVA indicates that the Treatments (F: 4.97, $p<0.0002$,
1002 Sum of Squares 2.71) were more important for the differentiation of the plots than the sampling
1003 period (F: 13.3, $p<0.0002$, Sum of Squares 1.81).



1004

1005 **Figure 2.9.** Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS) ordination plot of plant communities (using linear cover in
 1006 cm) of each plot of each treatment, in the two sampling periods, T09 (2009) and T15 (2015). Typical cerrado area
 1007 where the long-term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments:
 1008 C= control, Ca= liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus. Based on Bray-Curtis distance
 1009 without transformation.

1010

1011

1012

1013

1014

1015

1016

1017

1018

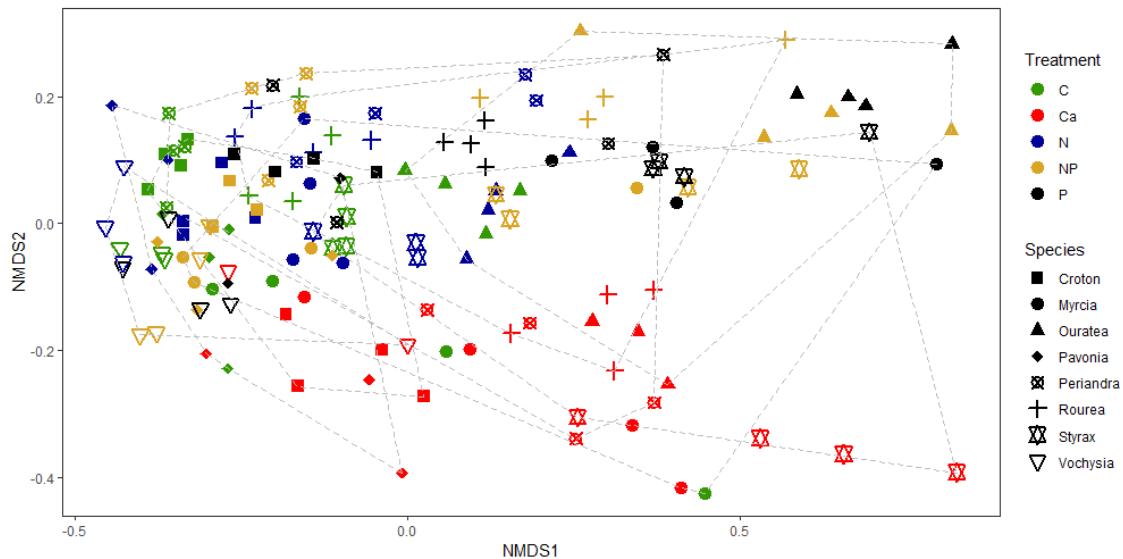
1019

1020

1021

1022

The ordering of foliar nutrient data through the NMDS can be seen in **Figure 2.10**. It is possible to observe that: **1)** in general, and independently of the species, samples from NP and P treatments were closer to each other in the upper right quadrant, samples from N and Control plots grouped in the upper left quadrant and samples from Ca plots were more distant in the lower right quadrant, and that **2)** the variation in the inter-specific nutrient composition is considerably high, with *O. hexasperma*, *P. rosa-campestris* and *S. ferrugineus* showing greater differences between treatments than the other species. PerMANOVA indicated the formation of significantly different groups, with the identity of the species (Sum of Squares: 10.03, $p=0,0002$) being more important for the separation of the groups (i.e., being more variable) than the treatments (Sum of Squares: 6.21, $p=0,0002$). Some nutrients showed the same trend in the majority of the considered species, such as Ca, Mg (in the Ca treatment) and S (in NP and P treatments) as can be seen in the **Appendix 2.3**.



1023

1024 **Figure 2.10.** Ordination of leaf nutrient contents (N, P, K, Mg, Ca and S) of common species in the study area, in each
 1025 plot of each treatment, in 2015, nine years after the last addition of nutrients. Typical cerrado area where the long-
 1026 term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF. Treatments: C= control, Ca=
 1027 liming, N= nitrogen, NP= nitrogen + phosphorus and P= phosphorus. Based on Euclidean distance.

1028

1029 Discussion

1030

1031 Even nine years (in 2015) after the last addition of nutrients, the soils of the fertilized
 1032 areas still differ significantly from control plots. The P plots continue to have higher levels of
 1033 available P (average of 13.75 mg/kg P available) in relation to the control and levels usually found
 1034 in cerrado areas, that appears to range between <0.1 mg/kg to about 0.35 (e.g. Haridasan 2000;
 1035 Marimon-Júnior and Haridasan 2005; Haridasan 2008). The NP plots also maintained higher
 1036 concentrations of available P (average of 11.05 mg/kg).

1037 Concentrations of soil exchangeable Ca and Mg continued to show high values in the
 1038 plots that received liming, even after nine years without new additions (in 2015). The long-
 1039 lasting effects of liming on the levels of basic cations is shown in agronomic studies, even with
 1040 crops being harvested and therefore with part of the nutrients added by liming being removed
 1041 in each cycle (Sousa and Lobato 2004; Fageria and Baligar 2008; da Silva Cravo et al. 2012). In
 1042 addition to the Ca and Mg levels, the change in soil pH is also long-lasting duration and interferes
 1043 with several soil characteristics, such as the availability of potentially toxic elements such as Al
 1044 and Fe (De Matos et al. 2001). These effects on Al and Fe, in turn affects the availability of
 1045 macronutrients, notably P (Fageria and Baligar 2008). The combined effects in pH and element
 1046 availability, in turn, can affect microorganisms (Martins et al. 2015).

1047 Despite the persistence of differences in soil nutrient content in the different treatments
1048 in relation to control, the separation between plots of the different treatments was less
1049 pronounced in 2015 than in 2009 (**Figure 2.2**). The ordination analysis shows the separation of
1050 the plots subjected to different treatments over time, with a separation in the y axis with T07
1051 being in the upper side of the plot and T15 in the bottom. Even after the cessation of nutrient
1052 additions, the soil were not able to return to what is found in the control plots, particularly in
1053 Ca, that continued to be the farthest treatment from the control.

1054 The impacts of increased nutrient availability are pervasive and can affect many
1055 ecosystem processes. Among the most studied are perhaps those on the plant community,
1056 which can last for several years (Isbell et al. 2013) and cause a marked decrease in its diversity.
1057 A study conducted on rural ecosystems in six continents, it was found that the addition of a
1058 greater number of different chemical elements caused greater species (and diversity) losses
1059 (Harpole et al. 2016). Previous studies conducted throughout the time span of this long-term
1060 experiment have indicated several effects in common woody plants in the area, such as changes
1061 in stomatal conductance and water loss (Bucci et al. 2006), growth rates (Simpson-Júnior 2002),
1062 leaf nutrient content (Jacobson 2009) and even photosynthetic rates (Saraceno 2006), with
1063 some responses observed in shortly after the beginning of the experiment, such as changes in
1064 nutrient resorption before leaf senescence in the year 2000 (Kozovits et al. 2007).

1065 The effects of nutrient additions on shrub-herbaceous communities, however, were less
1066 explored. Some of the studies showed changes in aboveground biomass production and in root
1067 architecture of common herbaceous species (Luedemann 2001; Bustamante et al. 2012).
1068 Regarding the composition of the shrub-herbaceous layer, the first survey was conducted in
1069 2009, 11 years after the beginning of the experiment and three years after the last addition. The
1070 analysis showed a clear grouping of the NP and P plots and another grouping formed by the
1071 Control and N plots. The effects on the composition of the shrub-herbaceous layer were still
1072 very obvious nine years after the last addition (2015). The plots treated with NP and P were also
1073 grouped, but this time closer to the Ca plots of the first period. The grouping of NP and P plots
1074 (in 2009 and 2015) based on the species composition is mainly associated with the dominance
1075 of the exotic *M. minutiflora* (mollasses grass), which was the factor that approximated the NP
1076 and P plots. In 2009, the occurrence of *M. minutiflora* was negligible in the Ca plots; the invasion
1077 by this species occurred during the following six years, after it has invaded P and then NP plots,
1078 what explain their similarity in 2015. In addition, the invasion of *M. minutiflora* was accompanied
1079 by a prominent reduction in the coverage of native C4 grasses, as can be seen in **Figure 2.6**.

1080 The addition of N changed the composition of the communities in a less drastic way than
1081 the addition of NP, P and Ca, but caused a great increase (about 20%) in the importance of the
1082 native C3 *Echinolaena inflexa*, which probably was one of the main factors for the decrease in
1083 the diversity and equitability of the shrub-herbaceous layer observed in N plots. Previous
1084 surveys had already observed that this species benefited from the addition of nitrogen, having
1085 a significant increase in its biomass (Bustamante et al. 2012). From the first to the second
1086 sampling period there was a decrease in its importance, but it continued to be one of the main
1087 species in the Control and N plots. Similar to the decrease in the importance of *E. inflexa* (and
1088 native C4 species) from the first to the second sampling period, the importance of subshrubs
1089 herbaceous plants also decreased, although to a lesser extent.

1090 It is interesting to compare what was found here with what was described by
1091 Bustamante et al. (2012), at the beginning of the experiment. In the referred study it was found
1092 that *E. inflexa* was the most abundant grass in all treatments, including Control. Three years
1093 after the beginning of the nutrient additions, this same grass presented a significant increase in
1094 both N and NP plots. It remained the main species in N in 2009 and 2015, but ended up being
1095 largely replaced in NP plots by *M. minutiflora*.

1096 Although the temporal dynamics of the shrub-herbaceous layer in cerrado areas is less
1097 known than that of trees, studies show changes in species dominance and composition over
1098 time (e.g. Eugênio et al. 2011) and that fire may be one of the factors modifying these
1099 parameters over time (Eugênio 2016). In the study area, there was a fire in 2011, which may
1100 have contributed to changes in the shrub-herbaceous layer also in the control plots, and help
1101 explain the differences found in the importance of herbaceous and shrub species and the
1102 increase in diversity observed in 2015. In addition to the fire, there seems to have been a
1103 thickening of trees in the area. The greatest decrease in coverage, from 2009 to 2015, that
1104 occurred with *E. inflexa*, is perhaps due to a combination of fire and subsequent thickening of
1105 shrub-tree vegetation: the fire in 2005 may have been responsible at the same time for
1106 temporarily increasing the entry of light into the area (by causing a decrease in the canopy of
1107 tree individuals or even death of individuals of sensitive species), causing a population increase
1108 of this species in the 2009 survey and a posterior reduction as the vegetation's canopy recovered
1109 and became more thick.

1110 Our results allowed identifying the temporal dynamics of the invasion of the exotic grass
1111 *M. minutiflora* in response to the addition of different nutrients. This African species with C4
1112 photosynthetic metabolism, seems to have a high demand for P (Baruch 1996; Barger et al. 2003;

1113 Lannes et al. 2016). Undisturbed natural areas are hardly invaded by this species, as can be seen
1114 in the Control plots that remained without invasion even after 21 years. *M. minutiflora* became
1115 a better competitor with greater availability of P affecting the composition of the plots as it can
1116 reduce or even prevent the regeneration of woody species (e.g. D'Antonio et al. 2001; Hoffmann
1117 et al. 2004; Hoffmann and Haridasan 2008).

1118 While the addition of NP and P favored the invasion of *M. minutiflora*, this process was
1119 slower in the plots subjected to liming (Ca plots). This can be observed in the NMDS ordination
1120 analysis for 2009, which grouped Ca plots closer to those of the Control and N plots. From 2009
1121 to 2015, *M. minutiflora* also invaded the Ca plots, turning them more similar to NP and P plots
1122 in 2015. Plots of this treatment seemed to have suffered two waves of grass replacement.
1123 Luedemann (2001) working in the same plots reported that they were dominated by *E. inflexa*
1124 (until 2001). From there to 2009, *E. inflexa* was largely replaced by native C4 grasses (mainly
1125 *Trachypogon spicatus*) and from 2009 to 2015 (**Figure 2.6**), native C4 grasses were mostly
1126 replaced by exotic C4 grasses *Melinis minutiflora*. As mentioned above, several soil parameters
1127 are influenced by liming. Besides changes in soil pH, there is a great contribution of
1128 exchangeable Ca and Mg, which in turn are important nutrients and seem to be limiting in areas
1129 of cerrado. Both elements have the potential to compete for sites of cation exchange in the soil,
1130 affecting the availability of other nutrients, for example reducing the availability of K (Udo 1978).
1131 Liming has drastically increased the levels of Ca and Mg in the soil, with a marked decrease in
1132 the levels of K, which were about half or less of the values found on Control plots (**Table 2.2**).
1133 Lower concentration of exchangeable K might be one of factors involved in the striking decrease
1134 in the abundance of *E. inflexa* in Ca plots even before the invasion by *M. minutiflora*. Potassium
1135 plays a role in osmotic regulation of plants. C3 plants, such as *E. inflexa*, have lower water use
1136 efficiency, being more prone to water stress (see Sage et al. 2012), and are therefore probably
1137 more sensitive to low levels of K in the soil while native C4 grasses are more resistant to water
1138 stress. Native Poaceae C4 could have also benefitted from increases in Ca and Mg concentrations
1139 (Lannes et al. 2016). In the second wave of substitution, the native C4 were replaced by the
1140 exotic C4 *M. minutiflora*, a species known to be a good competitor when the nutrient limitation
1141 in soils in native areas, particularly P, is alleviated (D'Antonio et al. 2001). In 2015, the plots that
1142 received liming had higher levels of P in the soil (**Appendix 2.1**) probably due to the effect of soil
1143 pH making P available from Al and Fe oxides and eventually facilitated the invasion by the exotic
1144 C4.

1145 As opposed to the progressive invasion of Ca plots by *M. minutiflora*, its importance
1146 decreased in NP plots over time (average decrease of 50% in the plots of this treatment, from

1147 2009 to 2015), with a tendency to increase in diversity and equitability of the community as a
1148 whole (**Figure 2.3**). In NP plots, the invasion occurred much more quickly, and *M. minutiflora* has
1149 already high abundance in 2009. On the other hand, native C4 species did not seem to have
1150 responded to the increase in P availability at any time (see Luedemann 2001; Bustamante et al.
1151 2012). There are still few studies evaluating how the populations of *M. minutiflora* behave after
1152 invading native cerrado natural, and if there is stabilization or reduction of its population over
1153 time. Pivello et al. (1999a) reported that this species seemed to have a stable population in a
1154 cerrado area in São Paulo, five years after the beginning of the invasion.

1155 The reduction in the cover of *M. minutiflora* was considerably lower (approximately
1156 10%) in plots where only P was added. This species is more efficient in the use of N than the
1157 native species and thus, when only P is added, *M. minutiflora* is likely to be able to meet its N
1158 demand. The difference in N demand is related to the photosynthetic mechanism with C3
1159 species demanding higher foliar concentrations of N to allocate in Rubisco synthesis (Pearcy and
1160 Ehleringer 1984; Sage 2004; Sage et al. 2012). The addition of N in combination with P would
1161 favour C3 shrubs and trees competing with the exotic C4 species. The eventual recovery of the
1162 woody cover over time might change light interception with a negative feedback for grasses. It
1163 was shown in a Venezuelan savanna (Barger et al. 2003) that the addition of NPK increased *M.*
1164 *minutiflora* biomass 37 times even though there was competition with native species and that
1165 when the competition was removed the biomass benefit was even more pronounced. However,
1166 the effects of N added alone were about a quarter (with or without competition) of the effects
1167 of NPK, which confirms that N may not be so limiting for this species. Similarly, Lannes et al.
1168 (2016) report that exotic grasses C4 (*M. minutiflora* among them) were able to respond to the
1169 addition of P alone, unlike the native species (whether Poaceae or not). Cerrado soils are
1170 particularly P limited (Bustamante et al. 2006). This limitation meant that C4 native grasses were
1171 eventually selected to cope with very low levels of P, while C4 exotic species, despite having
1172 similar physiology and life forms, were selected in environments with higher levels of P, and end
1173 up being limited by the low P levels of Cerrado soils.

1174 The persistence of the effects of increased nutrient availability in the area is probably
1175 linked to the highly conservative in the use of nutrients by Cerrado plants (Bustamante et al.
1176 2006; Kozovits et al. 2007). They present high nutrient resorption, particularly for P (reaches
1177 80%) (Kozovits et al. 2007) and K (more than 60%) (Vourlitis et al. 2014). Limitation by multiple
1178 nutrients could explain changes in foliar nutrient concentrations, especially in the NP, P and Ca
1179 treatments. It is important to emphasize that the nutrient contents continued to be altered after
1180 nine years without new additions and the differences remained large enough for the separation

1181 of three (Ca, NP and P) of the five treatments in the NMDS chart to be evident for many of the
1182 species analyzed (**Figure 2.10**).

1183 In conclusion, this study showed that 1) even after nine years without new nutrient additions,
1184 nutrient levels in the soil remain altered in several aspects, mainly pH (higher in the treatment
1185 Ca, and lower in N and NP), available P concentrations (higher in the treatments P, NP and in Ca
1186 in 2015), exchangeable cations (in the treatment Ca in both periods). 2) The increased
1187 availability of nutrients facilitated the invasion by exotic grasses, with loss of diversity and long
1188 lasting effects in the community even with the cessation of the treatments and occurrence of
1189 fire. The speed of invasion varied according to the treatment, being faster with the addition of
1190 P and slower with liming, 4) although the life form and photosynthetic pathway are similar,
1191 native and exotic C4 species responded differently to the treatments, 5) that the conservative
1192 cycling of nutrients in cerrado communities can determine that changes in nutrient levels are
1193 maintained for a long time and that despite the large plant inter-specific variation in responses,
1194 there are indications of limitation by multiple elements, such as Ca, Mg and S.

1195

1196 **References**

1197

1198 Anderson MJ, Willis TJ (2003) Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of
1199 constrained ordination for ecology. *Ecology* 84:511–525

1200 Augusto L, Achat DL, Jonard M, Vidal D, Ringeval B (2017) Soil parent material—a major driver
1201 of plant nutrient limitations in terrestrial ecosystems. *Glob Change Biol* 23:3808–3824

1202 Barger NN, D’antonio CM, Ghneim T, Cuevas E (2003) Constraints to colonization and growth of
1203 the African grass, *Melinis minutiflora*, in a Venezuelan savanna. *Plant Ecol* 167:31–43

1204 Baruch Z (1996) Ecophysiological aspects of the invasion by African grasses and their impact on
1205 biodiversity and function of neotropical savannas. In: *Biodiversity and savanna*
1206 *ecosystem processes*. Springer, pp 79–93

1207 Boersma M, Elser JJ (2006) Too much of a good thing: on stoichiometrically balanced diets and
1208 maximal growth. *Ecology* 87:1325–1330

1209 Bucci SJ, Scholz FG, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Campanello PI, Villalobos-Vega R,
1210 Bustamante MMC, Miralles-Wilhelm F (2006) Nutrient availability constrains the
1211 hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant Cell Environ*
1212 29:2153–2167

1213 Bustamante MMC, Brito DQ, Kozovits AR, Luedemann G, Mello TRB, de S. AP, Munhoz CBR,
1214 Takahashi FSC (2012) Effects of nutrient additions on plant biomass and diversity of the
1215 herbaceous-subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). *Plant Ecol* 213:795–808

1216 Bustamante MMC, Martinelli LA, Silva DA, Camargo PB de, Klink CA, Domingues TF, Santos RV
1217 (2004) 15N natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas
1218 (cerrado). *Ecol Appl* 14:200–213

1219 Bustamante MMC, Medina E, Asner GP, Nardoto GB, Garcia-Montiel DC (2006) Nitrogen cycling
1220 in tropical and temperate savannas. *Biogeochemistry* 79:209–237

1221 Canfield RH (1941) Application of the line interception method in sampling range vegetation. *J*
1222 *For* 39:388–394

1223 Canfield RH (1950) Sampling ranges by the line interception method. Southwestern
1224 Forest and Range Experiment Station Research. Report 4.

1225 da Silva Cravo M, Jot Smyth T, Carvalho Brasil E (2012) Calagem em latossolo amarelo distrófico
1226 da amazônia e sua influência em atributos químicos do solo e na produtividade de
1227 culturas anuais. *Rev Bras Ciênc Solo* 36:895–907

1228 D’Antonio CM, Hughes RF, Vitousek PM (2001) Factors influencing dynamics of two invasive C4
1229 grasses in seasonally dry Hawaiian woodlands. *Ecology* 82:89–104

1230 D’Antonio CM, Yelenik SG, Mack MC (2017) Ecosystem vs. community recovery 25 years after
1231 grass invasions and fire in a subtropical woodland. *J Ecol* 105:1462–1474

1232 De Matos A, Fontes M, Da Costa L, Martinez M (2001) Mobility of heavy metals as related to soil
1233 chemical and mineralogical characteristics of Brazilian soils. *Environ Pollut* 111:429–435

- 1234 Elser JJ, Fagan WF, Denno RF, Dobberfuhl DR, Folarin A, Huberty A, Interlandi S, Kilham SS,
1235 McCauley E, Schulz KL, others (2000a) Nutritional constraints in terrestrial and
1236 freshwater food webs. *Nature* 408:578
- 1237 Elser JJ, Sterner RW, Gorokhova E, and Fagan WF, Markow TA, Cotner JB, Harrison JF, Hobbie SE,
1238 Odell GM, Weider LW (2000b) Biological stoichiometry from genes to ecosystems. *Ecol*
1239 *Lett* 3:540–550
- 1240 Eugênio CUO (2016) Influência do tempo, espaço, fogo e fertilização na comunidade herbáceo-
1241 arbustiva no Cerrado. Tese de PhD. Universidade de Brasília
- 1242 Eugênio CUO, Munhoz CBR, Felfili JM (2011) Dinâmica temporal do estrato herbáceo-arbustivo
1243 de uma área de campo limpo úmido em Alto Paraíso de Goiás, Brasil. *Acta Bot Bras*
1244 25:497–507
- 1245 Fageria NK, Baligar VC (2008) Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable
1246 crop production. *Adv Agron* 99:345–399
- 1247 Flora Do Brasil (2019) 2020 em construção. Jard Botânico Rio Jan Disponível Em Disponível em
1248 <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>> Acesso Em Jun 2019
- 1249 Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405:220
- 1250 Haridasan M (2000) Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. *Rev Bras Fisiol Veg* 12:54–
1251 64
- 1252 Haridasan M (2008) Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils.
1253 *Braz J Plant Physiol* 20:183–195
- 1254 Harpole WS, Ngai JT, Cleland EE, Seabloom EW, Borer ET, Bracken MES, Elser JJ, Gruner DS,
1255 Hillebrand H, Shurin JB, others (2011) Nutrient co-limitation of primary producer
1256 communities. *Ecol Lett* 14:852–862
- 1257 Harpole WS, Sullivan LL, Lind EM, Firn J, Adler PB, Borer ET, Chase J, Fay PA, Hautier Y, Hillebrand
1258 H, others (2016) Addition of multiple limiting resources reduces grassland diversity.
1259 *Nature* 537:93
- 1260 Hillebrand H (2004) On the generality of the latitudinal diversity gradient. *Am Nat* 163:192–211
- 1261 Hoffmann WA, Haridasan M (2008) The invasive grass, *Melinis minutiflora*, inhibits tree
1262 regeneration in a Neotropical savanna. *Austral Ecol* 33:29–36
- 1263 Hoffmann WA, Lucatelli VMPC, Silva FJ, Azevedo INC, Marinho MS, Albuquerque AMS, Lopes
1264 AO, Moreira SP (2004) Impact of the invasive alien grass *Melinis minutiflora* at the
1265 savanna-forest ecotone in the Brazilian Cerrado. *Divers Distrib* 10:99–103
- 1266 Huenneke LF, Hamburg SP, Koide R, Mooney HA, Vitousek PM (1990) Effects of soil resources on
1267 plant invasion and community structure in Californian serpentine grassland. *Ecology*
1268 71:478–491
- 1269 Isbell F, Tilman D, Polasky S, Binder S, Hawthorne P (2013) Low biodiversity state persists two
1270 decades after cessation of nutrient enrichment. *Ecol Lett* 16:454–460

- 1271 Jacobson TKB (2009) Composição, estrutura e funcionamento de um cerrado sentido restrito
1272 submetido à adição de nutrientes em médio prazo. Tese de PhD. Universidade de
1273 Brasília
- 1274 Jacobson TKB, da Bustamante MMC, Kozovits AR (2011) Diversity of shrub tree layer, leaf litter
1275 decomposition and N release in a Brazilian Cerrado under N, P and N plus P additions.
1276 *Environ Pollut* 159:2236–2242
- 1277 Kobe RK, Lepczyk CA, Iyer M (2005) Resorption efficiency decreases with increasing green leaf
1278 nutrients in a global data set. *Ecology* 86:2780–2792
- 1279 Kozovits AR, Bustamante MMC, Garofalo CR, Bucci S, Franco AC, Goldstein G, Meinzer FC (2007)
1280 Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a
1281 Neotropical Savanna. *Funct Ecol* 21:1034–1043
- 1282 Lannes LS, Bustamante MMC, Edwards PJ, Venterink HO (2016) Native and alien herbaceous
1283 plants in the Brazilian Cerrado are (co-) limited by different nutrients. *Plant Soil*
1284 400:231–243
- 1285 Luedemann G (2001) Efeito da adição de nutrientes ao solo sobre plantas rasteiras de um
1286 cerrado stricto sensu. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília
- 1287 Manzoni S, Jackson RB, Trofymow JA, Porporato A (2008) The global stoichiometry of litter
1288 nitrogen mineralization. *Science* 321:684–686
- 1289 Marimon-Júnior BH, Haridasan M (2005) Comparação da vegetação arbórea e características
1290 edáficas de um cerradão e um cerrado sensu strictoem áreas adjacentes sobre solo
1291 distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. *Acta Bot Bras* 19:913–926
- 1292 Martins MR, Jantalia CP, Polidoro JC, Batista JN, Alves BJ, Boddey RM, Urquiaga S (2015) Nitrous
1293 oxide and ammonia emissions from N fertilization of maize crop under no-till in a
1294 Cerrado soil. *Soil Tillage Res* 151:75–81
- 1295 Motta PEF, Curi N, Franzmeier DP (2002) Relation of soils and geomorphic surfaces in the
1296 Brazilian Cerrado. In: *The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical*
1297 *savanna*. Columbia University Press, pp 13–32
- 1298 Oksanen J, Kindt R, Legendre P, O’Hara B, Stevens MHH, Oksanen MJ, Suggests M (2007) The
1299 vegan package. *Community Ecol Package* 10:631–637
- 1300 Oliveira-Filho AT, Ratter JA (2002) Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado
1301 biome. In: *The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*.
1302 pp 91–120
- 1303 Ordoñez JC, van Bodegom PM, Witte JM, Wright IJ, Reich PB, Aerts R (2009) A global study of
1304 relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. *Glob*
1305 *Ecol Biogeogr* 18:137–149
- 1306 Palm C, Sanchez P, Ahamed S, Awiti A (2007) Soils: A contemporary perspective. *Annu Rev Env*
1307 *Resour* 32:99–129
- 1308 Pearcy R, Ehleringer J (1984) Comparative ecophysiology of C3 and C4 plants. *Plant Cell Environ*
1309 7:1–13

- 1310 Pivello VR, Carvalho VMC, Lopes PF, Peccinini AA, Rosso S (1999) Abundance and Distribution of
 1311 Native and Alien Grasses in a “Cerrado” (Brazilian Savanna) Biological Reserve 1.
 1312 *Biotropica* 31:71–82
- 1313 Ratter JA, Bridgewater S, Ribeiro JF (2003) Analysis of the floristic composition of the Brazilian
 1314 cerrado vegetation III: Comparison of the woody vegetation of 376 areas. *Edinb J Bot*
 1315 60:57–109
- 1316 Reatto A, Correia JR, Spera ST, Martins ES (2008) Solos do Bioma Cerrado: Aspectos pedológicos.
 1317 In: *Cerrado: ecologia e flora*. EMBRAPA, pp 107–150
- 1318 Ribeiro JF, Walter BMT (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: *Cerrado:*
 1319 *ecologia e flora*. EMBRAPA, pp 151–212
- 1320 Sage RF (2004) The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytol* 161:341–370
- 1321 Sage RF, Sage TL, Kocacinar F (2012) Photorespiration and the evolution of C4 photosynthesis.
 1322 *Annu Rev Plant Biol* 63:19–47
- 1323 Saraceno MI (2006) Efeitos da fertilização a longo prazo no metabolismo fotossintético, nas
 1324 características foliares e no crescimento em árvores do cerrado. Dissertação de
 1325 Mestrado. Universidade de Brasília
- 1326 Sardans J, Bartrons M, Margalef O, Gargallo-Garriga A, Janssens IA, Ciais P, Obersteiner M,
 1327 Sigurdsson BD, Chen HY, Peñuelas J (2017) Plant invasion is associated with higher
 1328 plant–soil nutrient concentrations in nutrient-poor environments. *Glob Change Biol*
 1329 23:1282–1291
- 1330 Simpson-Júnior PL (2002) Crescimento e fenologia foliar de espécies lenhosas de uma área de
 1331 cerrado stricto sensu submetida a fertilização. Dissertação de mestrado. Universidade
 1332 de Brasília
- 1333 Solbrig OT, Medina E, Silva JF (1996) Biodiversity and savanna ecosystem processes: a global
 1334 perspective. Springer Science & Business Media
- 1335 Sousa DMG de, Lobato E (2004) Correção da acidez do solo. In: *Cerrado: Correção do solo e*
 1336 *adubação*, 2a. pp 81–96
- 1337 Teixeira, PC, Donagemma, GK, Fontana, A, Teixeira, WG (2017). Manual de métodos de análise
 1338 de solo. Brasília: Embrapa Solos.
- 1339 Udo E (1978) Thermodynamics of Potassium-Calcium and Magnesium-Calcium Exchange
 1340 Reactions on a Kaolinitic Soil Clay 1. *Soil Sci Soc Am J* 42:556–560
- 1341 Vitousek PM, Howarth RW (1991) Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur?
 1342 *Biogeochemistry* 13:87–115
- 1343 Vourlitis GL, de Almeida Lobo F, Lawrence S, Holt K, Zappia A, Pinto OB, de Souza Nogueira J
 1344 (2014) Nutrient resorption in tropical savanna forests and woodlands of central Brazil.
 1345 *Plant Ecol* 215:963–975
- 1346 Wright IJ, Westoby M (2003) Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf traits of
 1347 Australian sclerophyll species. *Funct Ecol* 17:10–19

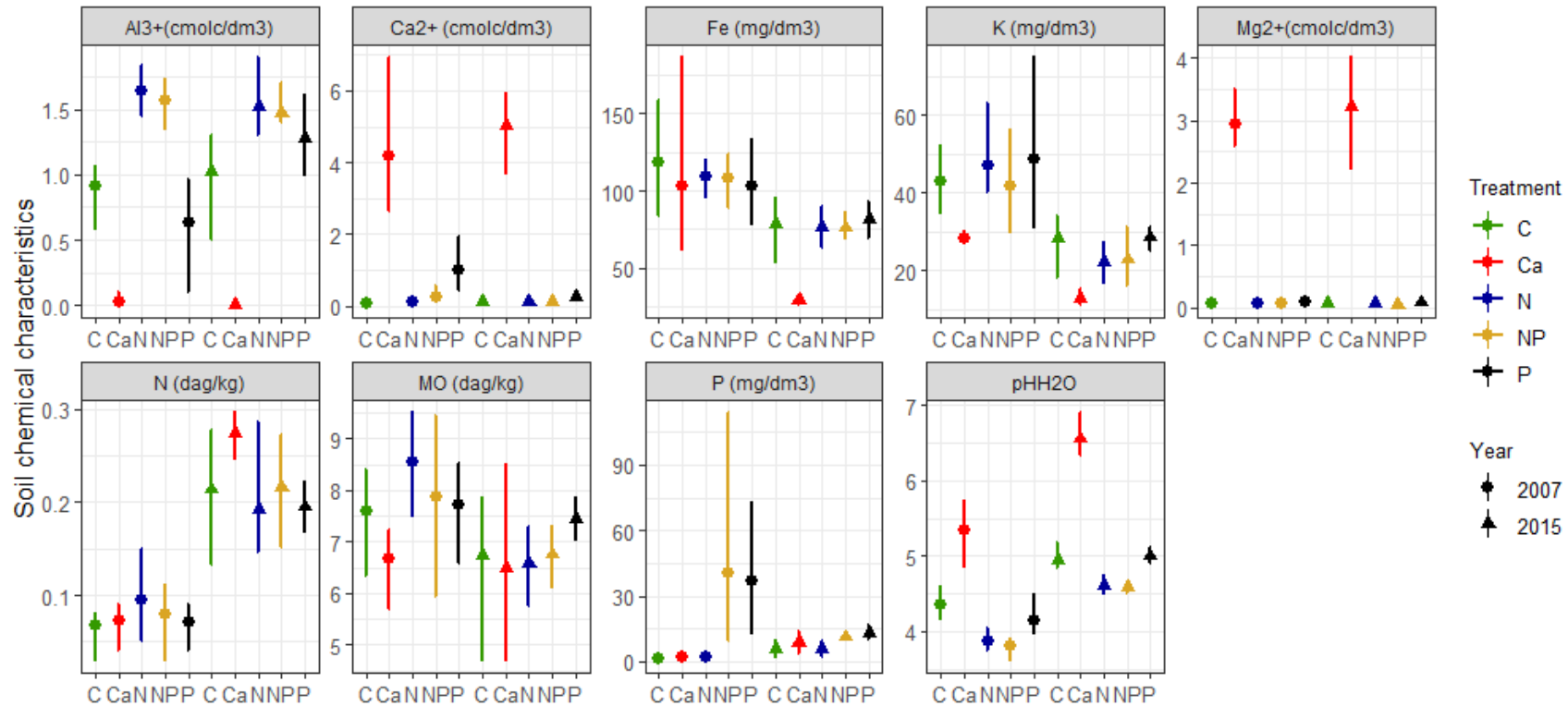
1348 **Appendix 2.1**

1349 **Table 2.2.** Mean nutrient concentrations (P, K, Fe, Ca, Mg, Al, OM, Fe, N), pH(H₂O) and pH(CaCl₂) in soil (0 to 10 cm) in the different trataments, in both sampling periods (2007 and 2015).
 1350 Numbers in italics and underlined below each mean= standard deviation around the mean. P= Available P, Al= available Al, OM= Organic Matter, N= total N. Typical cerrado area, in the long-
 1351 term fertilization experiment was installed, in the IBGE Ecological Reserve, Brasília, DF.

Period	Treatment	P mg/dm ³	K mg/dm ³	Ca cmolc/dm ³	Mg cmolc/dm ³	Al cmolc/dm ³	OM dag/kg	Fe mg/dm ³	N dag/kg	pH(H ₂ O)	pH(CaCl ₂)
2007	C	1.60 <i><u>0.39</u></i>	42.75 <i><u>7.41</u></i>	0.08 <i><u>0.06</u></i>	0.07 <i><u>0.01</u></i>	0.92 <i><u>0.23</u></i>	7.61 <i><u>0.92</u></i>	117.88 <i><u>32.35</u></i>	0.07 <i><u>0.03</u></i>	4.36 <i><u>0.18</u></i>	3.73 <i><u>0.06</u></i>
2007	Ca	1.80 <i><u>1.22</u></i>	28.25 <i><u>1.50</u></i>	4.19 <i><u>1.93</u></i>	2.95 <i><u>0.39</u></i>	0.03 <i><u>0.05</u></i>	6.67 <i><u>0.68</u></i>	102.45 <i><u>56.99</u></i>	0.07 <i><u>0.02</u></i>	5.34 <i><u>0.36</u></i>	5.42 <i><u>0.40</u></i>
2007	N	2.10 <i><u>0.34</u></i>	47.25 <i><u>10.72</u></i>	0.11 <i><u>0.08</u></i>	0.07 <i><u>0.02</u></i>	1.64 <i><u>0.17</u></i>	8.55 <i><u>0.83</u></i>	109.78 <i><u>9.85</u></i>	0.10 <i><u>0.04</u></i>	3.86 <i><u>0.12</u></i>	3.56 <i><u>0.06</u></i>
2007	NP	40.45 <i><u>49.63</u></i>	41.75 <i><u>12.76</u></i>	0.26 <i><u>0.20</u></i>	0.06 <i><u>0.02</u></i>	1.57 <i><u>0.19</u></i>	7.88 <i><u>1.65</u></i>	108.65 <i><u>14.95</u></i>	0.08 <i><u>0.04</u></i>	3.82 <i><u>0.13</u></i>	3.53 <i><u>0.10</u></i>
2007	P	36.90 <i><u>25.57</u></i>	48.75 <i><u>18.98</u></i>	1.02 <i><u>0.63</u></i>	0.11 <i><u>0.05</u></i>	0.63 <i><u>0.39</u></i>	7.72 <i><u>0.82</u></i>	103.60 <i><u>22.19</u></i>	0.07 <i><u>0.02</u></i>	4.15 <i><u>0.23</u></i>	3.81 <i><u>0.11</u></i>
2015	C	0.78 <i><u>0.17</u></i>	28.25 <i><u>7.32</u></i>	0.11 <i><u>0.04</u></i>	0.07 <i><u>0.01</u></i>	1.03 <i><u>0.36</u></i>	6.72 <i><u>1.48</u></i>	78.13 <i><u>17.47</u></i>	0.21 <i><u>0.06</u></i>	4.94 <i><u>0.16</u></i>	4.02 <i><u>0.16</u></i>
2015	Ca	1.93 <i><u>0.91</u></i>	12.75 <i><u>1.71</u></i>	5.01 <i><u>1.00</u></i>	3.22 <i><u>0.77</u></i>	0.00 <i><u>0.00</u></i>	6.48 <i><u>1.60</u></i>	29.13 <i><u>2.62</u></i>	0.27 <i><u>0.02</u></i>	6.56 <i><u>0.26</u></i>	5.81 <i><u>0.34</u></i>
2015	N	0.83 <i><u>0.17</u></i>	22.25 <i><u>4.57</u></i>	0.13 <i><u>0.04</u></i>	0.07 <i><u>0.01</u></i>	1.53 <i><u>0.26</u></i>	6.57 <i><u>0.73</u></i>	76.38 <i><u>11.12</u></i>	0.19 <i><u>0.06</u></i>	4.61 <i><u>0.10</u></i>	3.93 <i><u>0.03</u></i>
2015	NP	11.05 <i><u>0.97</u></i>	22.75 <i><u>7.41</u></i>	0.12 <i><u>0.01</u></i>	0.05 <i><u>0.01</u></i>	1.48 <i><u>0.15</u></i>	6.75 <i><u>0.52</u></i>	75.98 <i><u>6.98</u></i>	0.22 <i><u>0.06</u></i>	4.59 <i><u>0.06</u></i>	3.89 <i><u>0.04</u></i>
2015	P	13.75 <i><u>6.77</u></i>	28.50 <i><u>3.00</u></i>	0.24 <i><u>0.07</u></i>	0.09 <i><u>0.02</u></i>	1.28 <i><u>0.25</u></i>	7.44 <i><u>0.39</u></i>	81.78 <i><u>9.91</u></i>	0.19 <i><u>0.03</u></i>	5.00 <i><u>0.09</u></i>	4.03 <i><u>0.03</u></i>

1352
1353

1354 **Appendix 2.2**

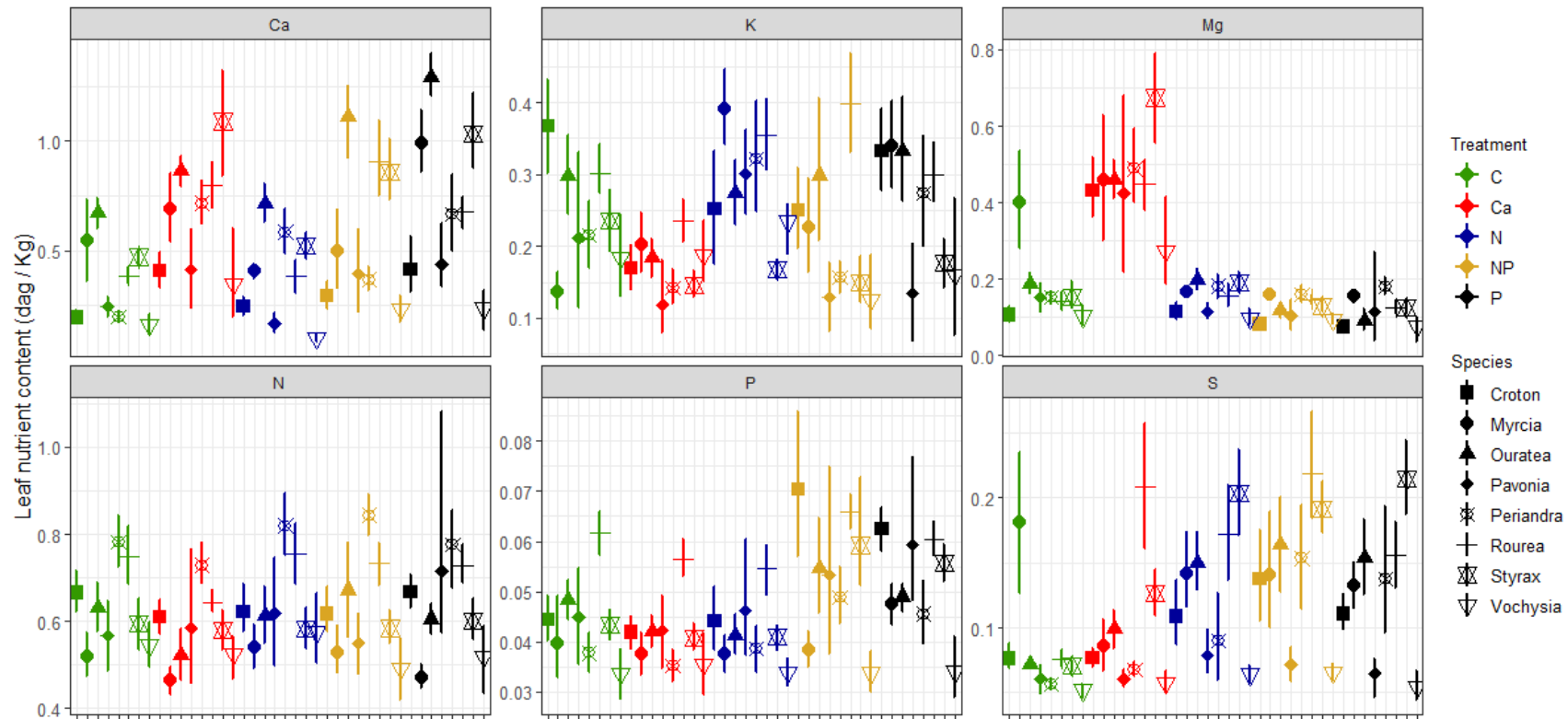


1355

1356 **Figure 2.11.** Soil chemical characteristics in each treatment (colors) and sampling periods (shapes), in the long term nutrient addition Experiment, in Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Data
 1357 submitted to 5.000 permutations with replacement. **Bars**= 95% confidence intervals based on the permutations. Non-overlapping bars: a chance of more than 95% that the treatment means do
 1358 not contain control's.

1359

1360 **Appendix 2.3**



1361

1362 **Figure 2.12.** Leaf nutrient content (in dag / Kg) of each species (shapes) in each treatment (colors), in the long term nutrient addition Experiment, in Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Data
 1363 submitted to 5.000 permutations with replacement. **Bars**= 95% confidence intervals based on the permutations. Non-overlapping bars: a chance of more than 95% that the treatment means do
 1364 not contain control's.

1365 Capítulo 3: Efeitos de longo prazo do aumento na disponibilidade
1366 de nutrientes no investimento em reprodução em plantas e
1367 interações com visitantes florais em área de cerrado típico
1368

1369 Resumo

1370

1371 A polinização é importante para a maior parte das plantas terrestres. A atração de polinizadores
1372 eficientes depende de diversos fatores, entre eles, a condição nutricional da planta, que terá
1373 relação com a quantidade de recursos que poderão ser investidos em sua produção e também
1374 com a qualidade dos recursos oferecidos aos polinizadores, podendo afetar por exemplo o teor
1375 de substância atrativas ou repulsivas. A condição nutricional das plantas, por sua vez, terá
1376 relação com características do solo, dentre elas, a disponibilidade de nutrientes como fósforo
1377 (P) e nitrogênio (N). Alterações na disponibilidade de nutrientes, portanto, tem potencial para
1378 afetar a quantidade e qualidade dos recursos produzidos pela comunidade vegetal de forma
1379 direta, ao influenciar a condição nutricional do vegetal, mas também de forma indireta, ao poder
1380 afetar a composição da comunidade de plantas presente em uma área (por exemplo, no caso
1381 de invasão biológica, em que uma única espécie passa a ser dominante em uma área). Contudo,
1382 ainda há muitas lacunas de conhecimento sobre como a remoção da limitação nutricional em
1383 áreas de cerrado (cujos solos são comumente limitantes em diversos nutrientes, como P e N)
1384 pode afetar a produção de flores das áreas afetadas e a visitação por polinizadores. Assim, o
1385 objetivo deste trabalho foi avaliar se e como as alterações causadas pelo aumento na
1386 disponibilidade de nutrientes em solos álicos e distróficos alterou a produção de flores e
1387 visitação floral de áreas de cerrado típico. Este trabalho foi realizado na Reserva Ecológica do
1388 IBGE, Brasília, DF, em um experimento de fertilização de longa duração. O experimento consiste
1389 em 20 parcelas de 15 x 15 m que receberam adição bianual de diferentes nutrientes: **1)**
1390 Tratamento N: adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄); **2)** Tratamento P:
1391 adição 100 kg/ha anuais de superfosfato simples 20% - Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; **3)** Tratamento
1392 N+P: adição de sulfato de amônio e superfosfato simples 20%; **4)** Tratamento Ca: adição de 4
1393 t/ha ao ano, na forma de 60% de calcário dolomítico (CaO+MgO) + 40% de gesso agrícola
1394 (CaSO₄.2H₂O); e **5)** Controle: sem adição de nutrientes. Essas adições foram feitas de 1998 a
1395 2006 na transição seca chuva e chuva seca e os nutrientes foram adicionados a lanço sobre a
1396 serapilheira. Procurando abranger a sazonalidade na precipitação do bioma, cinco campanhas
1397 de contagem de flores e observação de visitação floral foram realizadas entre 2015 e 2016. Os
1398 resultados mostram que após 9 a 10 anos sem novas adições de nutrientes, a produção de flores
1399 por m² foi menor nas parcelas que receberam a calagem (tratamento Ca). A sazonalidade do
1400 bioma teve maior efeito sobre a produção de flores que os efeitos residuais dos tratamentos,
1401 sendo maior na época da transição da época seca para a chuvosa (setembro). Em relação aos
1402 visitantes florais, a menor quantidade de visitas por unidade floral foi observada também no
1403 tratamento Ca e novamente a sazonalidade do bioma teve maior efeito, com a visitação sendo
1404 maior na época da chuva. É possível concluir que após 9 a 10 anos sem novas adições de
1405 nutrientes, o tratamento Ca continua a afetar o número de flores e de visitantes florais. Porém
1406 é necessária levar em conta a possibilidade que, devido à alta heterogeneidade de plantas na
1407 área e da grande variabilidade temporal inerente às redes de interações, resultados mais
1408 consistentes tivessem sido encontrados caso os levantamentos no número de flores e visitantes
1409 florais tivessem ocorrido por um período de tempo mais longo (mais de um ano). Além disso,
1410 apesar de ainda haver efeitos no tratamento Ca, é necessário salientar que quase uma década
1411 havia se passado sem novas adições de nutrientes e é possível que os efeitos tivessem sido
1412 maiores caso as amostragens tivessem sido feitas depois de um intervalo menor sem novos
1413 aportes de nutrientes.

1414 Introdução

1415

1416 A polinização é uma das associações mutualísticas com fortes relações com a estrutura
1417 e diversidade de ecossistemas. Cerca de 85% das espécies de Angiospermas são polinizadas por
1418 animais (Ollerton et al. 2011) e, portanto, precisam em maior ou menor grau de uma polinização
1419 eficiente para que sementes sejam formadas e sua população mantida. Além disso são as
1420 Angiospermas, que dominam a maior parte dos ecossistemas terrestres do mundo (Berendse
1421 and Scheffer 2009).

1422 A eficiência da polinização tem relação com o número e qualidade de sementes
1423 produzidas. O primeiro passo para polinização efetiva é a atração de animais que possam realizá-
1424 la e essa atração depende de múltiplos fatores. Entre eles, pode ser citada a biomassa das
1425 espécies e indivíduos, uma vez que plantas maiores (i.e. maior biomassa aérea), em geral,
1426 podem investir mais em reprodução (Heide and Sønsteby 2012; Westerband and Horvitz 2015).
1427 Esta fenofase necessita de grande investimento de nutrientes (Güsewell 2004; Kerkhoff et al.
1428 2006), o que acaba por fazer com que o estado nutricional das espécies vegetais tenha relação
1429 com sua produção de flores e manutenção na comunidade.

1430 Apesar de a maioria dos ambientes naturais terem baixas disponibilidades de um ou
1431 mais nutrientes essenciais às plantas (sendo fósforo e nitrogênio os mais estudados) (Elser et al.
1432 2000; Augusto et al. 2017), elas conseguem alocar os nutrientes que adquirem de forma a se
1433 manter na comunidade, crescendo vegetativamente e produzindo flores. Isso é feito através de
1434 uma alta eficiência na aquisição e manutenção de nutrientes adquiridos nos tecidos (Aerts and
1435 Chapin III 2000; Bustamante et al. 2006). Contudo, distúrbios relacionados a alterações na
1436 disponibilidade de nutrientes tem o potencial de alterar a aquisição dos mesmos pelas plantas,
1437 sua concentração e as razões estequiométricos dos diferentes elementos. Essas alterações tanto
1438 nos teores quanto em sua razão podem ter grandes consequências para o vegetal (Bucci et al.
1439 2006; Kozovits et al. 2007; Ågren and Weih 2012; Mo et al. 2015). As respostas das plantas à
1440 remoção ou diminuição do nível de limitação nutricional do solo estão entre os motivos da
1441 dependência de fertilizantes para produção agrícola (Galloway et al. 2008; Rockström et al.
1442 2009; Steffen et al. 2015).

1443 Entre os possíveis impactos de alterações nos níveis de nutrientes, estão aqueles
1444 relacionados à produção de flores e visitação floral (potenciais polinizadores), o que pode
1445 impactar as populações e comunidades vegetais como um todo (Lázaro et al. 2009; Burkle and
1446 Irwin 2010; Hoover et al. 2012). Os impactos sobre esses processos podem ser diretos ou

1447 indiretos. Entre os indiretos, podemos incluir alterações na composição ou dominância na
1448 comunidade vegetal. Estudos mostram que determinadas espécies vegetais podem afetar
1449 positiva ou negativamente a visitação em espécies vizinhas, por exemplo ao produzir muitas
1450 flores ou serem muito chamativas (Lázaro et al. 2009; Carvalheiro et al. 2014; Fowler et al. 2016).
1451 Alterações químicas também impactam as interações pois tanto a composição do néctar quanto
1452 a do pólen parecem ser influenciadas pela disponibilidade de nutrientes e insetos são capazes
1453 de perceber e escolher as plantas visitadas com base nisso (Burkle and Irwin 2010; Hoover et al.
1454 2012; Ziska et al. 2016). No entanto, a maioria dos estudos que avaliam tais aspectos foi
1455 desenvolvida em ambientes temperados (Burkle and Irwin 2010; Hoover et al. 2012).

1456 O Cerrado é um bioma predominantemente tropical, cujos solos tem baixa
1457 disponibilidade de diversos nutrientes, entre eles N, P e cátions básicos (Haridasan 2000;
1458 Bustamante et al. 2006; Fageria and Baligar 2008; Vourlitis et al. 2014). Sua biodiversidade é
1459 extremamente alta: conta com mais de 12 mil espécies de plantas com flores (Flora Do Brasil
1460 2016) e diferentes formações vegetais, que vão de ambientes campestres a florestais, passando
1461 pelos savânicos (são os que tem maior extensão) (Ribeiro and Walter 2008). Com o objetivo de
1462 entender como a limitação por nutrientes influencia a vegetação e processos ecossistêmicos,
1463 em 1998, foi montado um experimento de adição de nutrientes na Reserva Ecológica do IBGE
1464 (maiores detalhes no Capítulo 1: Introdução Geral). A adição de nutrientes afetou comunidades
1465 de microrganismos do solo (Silva 2012), composição e estrutura da vegetação (Jacobson 2009;
1466 Bustamante et al. 2012 e Capítulo 2 da presente tese), características hidráulicas de espécies
1467 lenhosas (Bucci et al. 2006), dentre outros. Os efeitos observados tem potencial para, de forma
1468 direta ou indireta, afetar a produção de flores e visitação por animais. A flora do Cerrado é
1469 fortemente dependente de polinizadores, com indicações de alto nível de
1470 autoincompatibilidade (o que significa que é necessário que haja polinização cruzada para
1471 produção de sementes e frutos) em estudos realizados no Centro-Oeste (apesar de valores bem
1472 mais baixos relatados para o Sudeste) (Oliveira and Gibbs 1994; Oliveira and Gibbs 2002). Uma
1473 das revisões mais completas sobre o assunto indica que insetos (insetos pequenos e abelhas
1474 grandes) são os principais polinizadores neste bioma (Oliveira and Gibbs 2002). Porém, ainda há
1475 poucos estudos que avaliam as interações entre as condições nutricionais, floração e interações
1476 entre plantas e polinizadores. Além disso, o bioma apresenta sazonalidade na produção de flores
1477 que, com um pico de produção na transição da estação seca para a chuvosa (Oliveira and Gibbs
1478 2002). Caso o aumento na disponibilidade afete a época do pico de floração da comunidade
1479 vegetal, isso pode acabar por impactar a época que o fruto amadurece, a época de dispersão
1480 das sementes (Escobar et al. 2018) e o recrutamento de plântulas.

1481 Assim, o objetivo desse trabalho foi **1)** avaliar se e como o investimento em reprodução
1482 da comunidade vegetal de uma área de cerrado típico foi afetado pelo aumento na
1483 disponibilidade de nutrientes e **2)** se essas alterações afetaram a visitação de flores por
1484 polinizadores.

1485 As hipóteses iniciais foram que **1)** a quantidade de flores produzidas por m² seria menor
1486 que o controle nos tratamentos invadidos pelo capim gordura, uma vez que essa espécie é uma
1487 boa competidora em ambientes alterados e **2)** que o número de visitantes florais seguiria o
1488 padrão encontrado para a produção de flores, ou seja, que com uma menor quantidade de flores
1489 produzidas, os tratamentos invadidos pelo capim gordura também apresentariam menores
1490 taxas de visitação.

1491

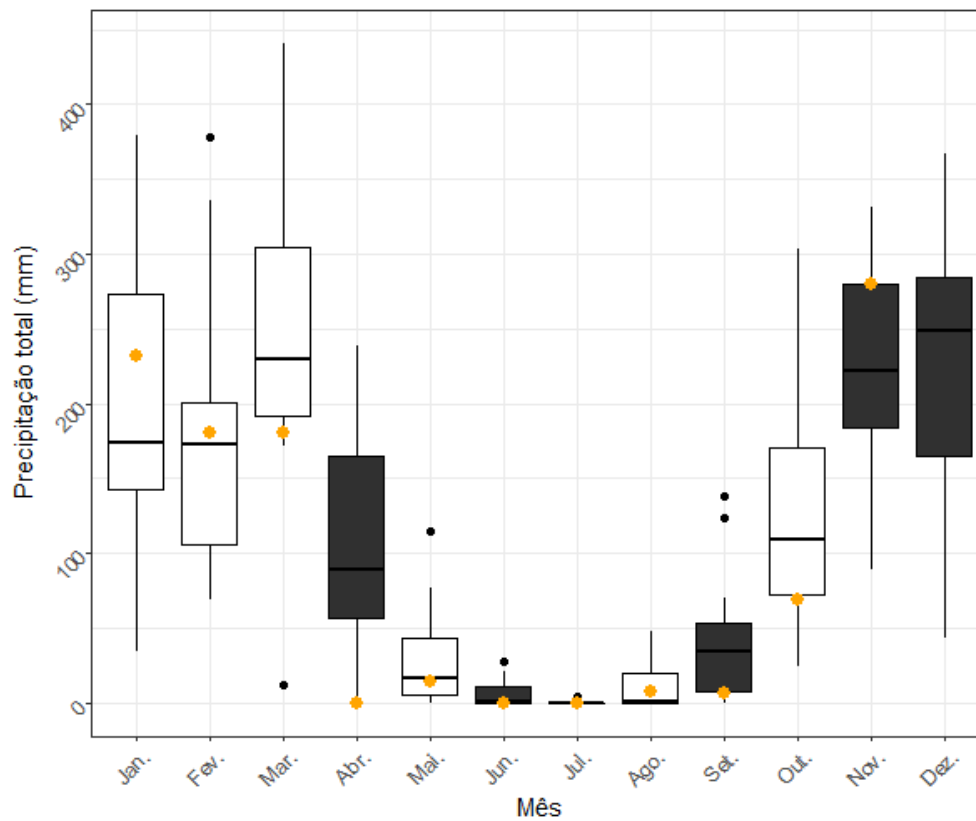
1492 Material e métodos

1493

1494 *Área de estudo e amostragem da produção de flores*

1495

1496 Na área do Experimento de fertilização de longa duração (ver Capítulo 2 da tese), foram
1497 lançados quadrados de 0.5 x 0.5 m, por 36 vezes em cada parcela de 15 x 15m (225m²).
1498 Totalizando 9m² de amostragem por parcela, por estação. A amostragem ocorreu em cinco
1499 períodos diferentes, buscando abranger diferentes intensidades de floração de comunidades de
1500 cerrado (Oliveira 2008). As coletas foram divididas de acordo com a sazonalidade da
1501 precipitação, considerando a série histórica pluviométrica de Brasília e estão indicadas na **Figura**
1502 **3.1:** 1) Chuva: dezembro de 2015, abril de 2016, novembro de 2016, 2) Seca: junho de 2016 e 3)
1503 Transição seca-chuva: setembro de 2016. A transição seca-chuva é um período importante no
1504 funcionamento de ecossistemas de cerrado por tratar-se do período dos primeiros eventos de
1505 precipitação após prolongado período de estresse hídrico para muitas espécies da comunidade.
1506 Nesse período também se observa o pico de floração em comunidades de cerrado .



1507

1508 **Figura 3.1.** Pluviosidade média mensal (e respectivos erros padrões) do período de 1994 a 2015, na Reserva Ecológica
 1509 do IBGE, onde está inserido o Experimento de longa duração. **Em cinza:** meses amostrados. **Pontos laranja:**
 1510 precipitação mensal na Reserva em 2016. Fonte: INMET (2019). Dados coletados pela própria Reserva Ecológica do
 1511 IBGE.

1512

1513

1514

1515

1516

1517

1518

Em cada lançamento do quadrado (**Figura 3.2**), o número de Unidades Florais (UF) em antese em seu interior foi contado e as espécies com flores identificadas (ou coletadas para posterior identificação no herbário UB ou IBGE). Aqui tomamos Unidade Floral como medida padrão uma vez que caso a flor seja muito grande, mais de um visitante pode utilizá-la ao mesmo tempo (Carvalho et al. 2014). Neste estudo, porém, as UF podem ser consideradas sinônimo de número de flores.

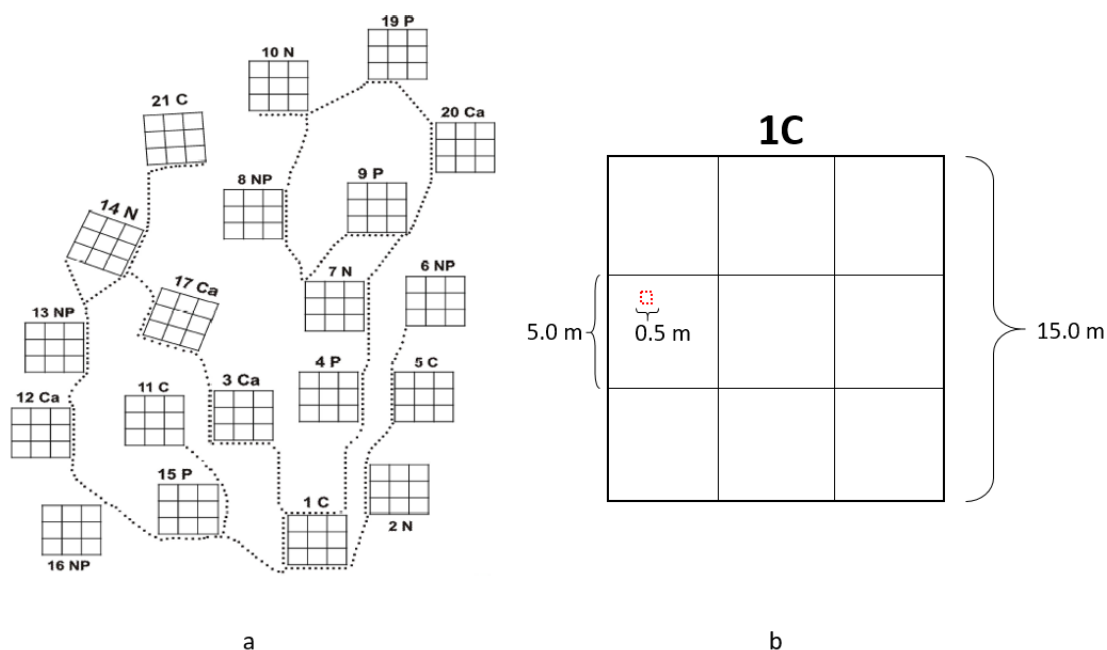


Figura 3.2. Croqui do Experimento de fertilização de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE. a) Parcelas e respectivos tratamentos (adaptado de Simpson-Júnior 2002) e b) Zoom em uma parcela, mostrando o quadrante de 0.5 x 0.5 m para amostragem de Unidades Florais (em escala).

Em cada campanha, espécies vegetais em floração que pareciam ser particularmente atrativas foram amostradas na forma de censo. Ou seja, todos os indivíduos em flor foram contabilizados; estas espécies em particular, ao contrário das outras, não foram amostradas com o lançamento do quadrado. A **Tabela 3.1** apresenta as espécies amostradas e se a amostragem foi aleatória ou exaustiva. Excepcionalmente, *M. brasiliensis* (Euphorbiaceae) foi amostrada em uma campanha de forma exaustiva e em outra de forma aleatória pois na primeira campanha poucos indivíduos em flor foram amostrados e a produção de flores era baixa. O número de flores das espécies amostradas de forma aleatória ou exaustiva foi padronizado para Unidades Florais por m² para as análises estatísticas. Para a espécie *Styrax ferrugineus* Nees & Mart., especificamente, que teve um maior número de indivíduos amostrados pelo método exaustivo, foram feitas comparações entre os tratamentos e o controle, além disso, medidas dos indivíduos, obtidos por (Bustamante et al. dados não publicados), de altura e circunferência à altura do solo foram usadas para avaliar a resposta vegetativa da espécie frente aos tratamentos.

1539
1540

Tabela 3.1. Famílias e espécies amostradas em flor durante as campanhas de amostragem em 2015 e 2016 e respectivos métodos de amostragem, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. n= número de indivíduos amostrados.

Amostragem	Família	Espécie	n
Aleatória	Acanthaceae	<i>Ruelia gemniflora</i> Kunth	1
Aleatória	Asteraceae	<i>Chromolaena chaseae</i> (B.L.Rob.) R.M.King & H.Rob.	1
Aleatória	Asteraceae	<i>Chromolaena squalida</i> var. <i>martiusii</i>	1
Aleatória	Asteraceae	<i>Lepidaploa rufogrisea</i> (A.St.-Hil.) H.Rob.	4
Aleatória	Asteraceae	<i>Trichogonia salviifolia</i> Gardner	2
Aleatória	Asteraceae	<i>Vernonanthura rubriramea</i> (Mart. ex DC.) Loewille & P.N. Soares	1
Aleatória	Bignoniaceae	<i>Anemopaegma glaucum</i> Mart. ex DC.	1
Aleatória	Burseraceae	<i>Protium ovatum</i> Engl.	1
Aleatória	Celastraceae	<i>Peritassa campestris</i> (Cambess.) A.C.Sm.	1
Aleatória	Chrysobalanaceae	<i>Parinari obtusifolia</i> Hook.f.	1
Aleatória	Connaraceae	<i>Rourea induta</i> Planch.	2
Aleatória	Cyperaceae	<i>Rhynchospora consanguinea</i> (Kunth) Boeckeler	3
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Croton antisiphiliticus</i> Mart.	1
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Croton goyazensis</i> Müll.Arg.	12
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Dalechampia caperonioides</i> Baill.	11
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia potentilloides</i> Boiss.	2
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Manihot gracilis</i> Pohl	1
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Maprounea brasiliensis</i> A.St.-Hil.	7
Aleatória	Euphorbiaceae	<i>Microstachys ditassoides</i> (Didr.) Esser	1
Aleatória	Fabaceae	<i>Chamaecrista desvauxii</i> (Collad.) Killip	1
Aleatória	Fabaceae	<i>Chamaecrista imbricans</i> (H.S.Irwin & Barneby) H.S.Irwin & Barneby	1
Aleatória	Fabaceae	<i>Eriosema defoliatum</i> Benth.	1
Aleatória	Fabaceae	<i>Galactia stereophylla</i> Harms	2
Aleatória	Fabaceae	<i>Periandra mediterranea</i> (Vell.) Taub.	9
Aleatória	Fabaceae	<i>Senna rugosa</i> (G.Don) H.S.Irwin & Barneby	1

Amostragem	Família	Espécie	n
Aleatória	Fabaceae	<i>Stryphnodendron pumilum</i> Glaz.	2
Aleatória	Loranthaceae	<i>Strutanthus</i> sp. 1	3
Aleatória	Lythraceae	<i>Cuphea spermacoce</i> A.St.-Hil.	3
Aleatória	Lythraceae	<i>Diplusodon villosus</i> Pohl	9
Aleatória	Malpighiaceae	<i>Banisteriopsis campestris</i> (A.Juss.) Little	1
Aleatória	Malpighiaceae	<i>Byrsonima guilleminiana</i> A.Juss.	1
Aleatória	Malpighiaceae	<i>Byrsonima rigida</i> A.Juss.	5
Aleatória	Malpighiaceae	Malpighiaceae sp. 1	1
Aleatória	Malvaceae	<i>Pavonia rosa-campestris</i> A.St.-Hil.	8
Aleatória	Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	1
Aleatória	Melastomataceae	<i>Miconia fallax</i> DC.	13
Aleatória	Menispermaceae	<i>Cissampelos ovalifolia</i> DC.	1
Aleatória	Myrtaceae	<i>Blepharocalyx salicifolius</i> (Kunth) O.Berg	1
Aleatória	Myrtaceae	<i>Eugenia involucreta</i> DC.	1
Aleatória	Myrtaceae	<i>Myrcia linearifolia</i> Cambess.	1
Aleatória	Myrtaceae	<i>Myrcia stricta</i> (O.Berg) Kiaersk.	1
Aleatória	Myrtaceae	<i>Myrcia torta</i> DC.	11
Aleatória	Oxalidaceae	<i>Oxalis suborbiculata</i> Lourteig	1
Aleatória	Primulaceae	<i>Cybianthus detergens</i> Mart.	5
Aleatória	Rubiaceae	<i>Palicourea officinalis</i> Mart.	2
Aleatória	Rubiaceae	<i>Borreria poaya</i> (A.St.-Hil.) DC.	6
Exaustiva	Asteraceae	<i>Baccharis retusa</i> DC.	12
Exaustiva	Asteraceae	<i>Eremanthus glomerulatus</i> Less.	10
Exaustiva	Calophyllaceae	<i>Kielmeyera coriacea</i> Mart. & Zucc.	2
Exaustiva	Chrysobalanaceae	<i>Couepia grandiflora</i> (Mart. & Zucc.) Benth.	3
Exaustiva	Euphorbiaceae	<i>Maprounea brasiliensis</i> A.St.-Hil.	3
Exaustiva	Fabaceae	<i>Leptolobium dasycarpum</i> Vogel	2

Amostragem	Família	Espécie	n
Exaustiva	Malpighiaceae	<i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth	3
Exaustiva	Malpighiaceae	<i>Byrsonima intermedia</i> A.Juss.	1
Exaustiva	Melastomataceae	<i>Miconia ligustroides</i> (DC.) Naudin	2
Exaustiva	Primulaceae	<i>Myrsine guianensis</i> (Aubl.) Kuntze	1
Exaustiva	Styracaceae	<i>Styrax ferrugineus</i> Nees & Mart.	25
Exaustiva	Vochysiaceae	<i>Vochysia cf. rufa</i> Mart.	1
Exaustiva	Vochysiaceae	<i>Vochysia elliptica</i> Mart.	7

1541

1542

1543 **Observação de visitantes florais**

1544 Como não havia informações prévias sobre a visitação floral na área, o tempo de
1545 observação foi variável. Na primeira e terceira campanhas a observação foi feita durante 10
1546 minutos, na segunda campanha, durante 15 minutos. Na quarta campanha, o tempo de
1547 observação foi expandido para 20 minutos devido às baixas taxas de visitação floral detectadas
1548 nas primeiras campanhas e como não foram detectadas diferenças na visitação com 20 minutos
1549 de observação, na quinta e última campanha o tempo de observação foi de 15 minutos. Como
1550 não foi encontrada diferença no número de visitas por minuto de observação quando as flores
1551 foram observadas por mais tempo, as análises foram feitas usando a medida de visitantes florais
1552 por unidade floral observada, sem corrigir este valor pelo tempo de observação.

1553 Em cada uma das campanhas, a amostragem de visitantes foi feita em dias consecutivos
1554 até que todas as 20 parcelas tivessem sido amostradas. Em cada dia, as observações foram
1555 iniciadas aproximadamente as 8 horas da manhã e foram feitas até as 16. As flores observadas
1556 podiam ter caído dentro dos quadrados lançados para a avaliação da produção de flores, mas
1557 caso indivíduos em flor fossem encontrados sem que tivessem sido amostrados com o
1558 lançamento dos quadrados, ainda assim a visitação foi amostrada.

1559 Todos os visitantes florais que tocaram nas partes reprodutivas das flores foram
1560 registrados (com descrição geral de Ordem e morfologia) e coletados sempre que possível para
1561 posterior identificação. O toque nas partes reprodutivas das flores foi o critério para considerá-
1562 los como polinizadores. No caso de plantas do estrato arbóreo, com flores acima de 4m de
1563 altura, a observação foi feita através de binóculos. As taxas de visitação foram obtidas dividindo
1564 o número de visitantes florais pelo número de unidades florais observadas e as identificações
1565 foram feitas até o nível taxonômico mais baixo possível.

1566

1567 *Análises estatísticas*

1568

1569 O número de flores amostradas foi comparado com usando 5 mil permutações com
1570 substituição e posteriormente calculando intervalos de confiança a 95%, usando-se como limite
1571 superior intervalo que contivesse 97.5% dos valores mais altos e como limite inferior aquele que
1572 contivesse 2.5% dos valores mais baixos gerados pela permutação (Ho et al. 2018; Halsey 2019).
1573 Os testes foram: se havia diferença no número de flores produzidas por 1) Tratamento, 2)
1574 Campanha e 3) Campanhas agrupadas por estação. As diferenças levando em conta a

1575 sazonalidade do bioma (ou seja, entre campanhas e entre estações) foram avaliadas por conta
1576 da alta sazonalidade, característica do bioma.

1577 Para a **Figura 3.5, Anexo 3.2 e Anexo 3.4**, após as permutações e para facilitar a
1578 visualização, a diferença entre as médias geradas com a permutação em cada tratamento e a
1579 média do controle foi calculada (*effect size*) e plotada, com os respectivos intervalos de
1580 confiança também a 95% (Ho et al. 2018). As permutações e gráficos com Intervalos de
1581 Confiança foram feitos usando o programa RStudio Version 1.1.456, o pacote dabestr (**Data**
1582 **Analysis using Bootstrap-Coupled ESTimation**) (Ho and Tumkaya 2019).

1583 A produção de flores nos diferentes tratamentos e campanhas foi analisada por
1584 Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS), com 5000 repetições e medida de
1585 distância de Bray-Curtis. A consistência dos grupos formados foi então verificada com uma
1586 PerMANOVA, com 5000 repetições e medida de distância de Bray -Curtis (Anderson and Willis
1587 2003). Essas análises foram realizadas no programa RStudio Version 1.1.456.

1588 Os dados de visitação floral foram analisados com o pacote bipartite (Dormann et al.
1589 2008), que é usado para visualizar e analisar dados de interações e redes ecológicas. Para os
1590 cálculos e montagem dos gráficos deste tipo de análise, os dados de número de interações entre
1591 família de visitante floral e espécies vegetais (i.e., número de vezes que uma determinada família
1592 de inseto interagiu com uma determinada espécie vegetal) são usados. Para a visualização de
1593 quais famílias de insetos e espécies de plantas foram mais importantes em cada campanha, um
1594 gráfico de interação foi montado para cada uma delas.

1595 O aninhamento ponderado foi calculado (Almeida-Neto and Ulrich 2011) para 1) Rede
1596 Completa, com as interações entre famílias de visitantes e espécies vegetais de todas as
1597 campanhas agrupadas, 2) estações, com as interações das campanhas agrupadas de acordo com
1598 as estações em que os dados foram coletados, 3) para cada uma das cinco campanhas
1599 isoladamente, em um total de nove valores e 4) para cada tratamento (contendo os valores
1600 observados em todas as campanhas em um mesmo tratamento). Para ter certeza que os valores
1601 calculados de aninhamento ponderado não poderiam ter sido obtidos ao acaso (Dormann et al.
1602 2008; Dormann et al. 2009; Dormann 2019), 1000 modelos nulos foram gerados (com o
1603 algoritmo de Patefield, ver Dormann et al. 2009) para cada uma das nove redes mencionadas
1604 acima e os valores obtidos plotados em um gráfico de densidade, sendo o eixo x o aninhamento
1605 gerado por cada modelo nulo e o eixo y o número de vezes que cada valor de x foi obtido.
1606 Intervalos de confiança de 95% foram então calculados com base nesses modelos nulos. Os
1607 valores de aninhamento ponderado obtidos com as redes reais foram considerados

- 1608 significativos (i.e. diferentes de um modelo nulo) apenas quando estiveram fora deste intervalo.
- 1609 Quanto mais próximo de 100 o valor, mais aninhada é a rede, com o inverso acontecendo.
- 1610

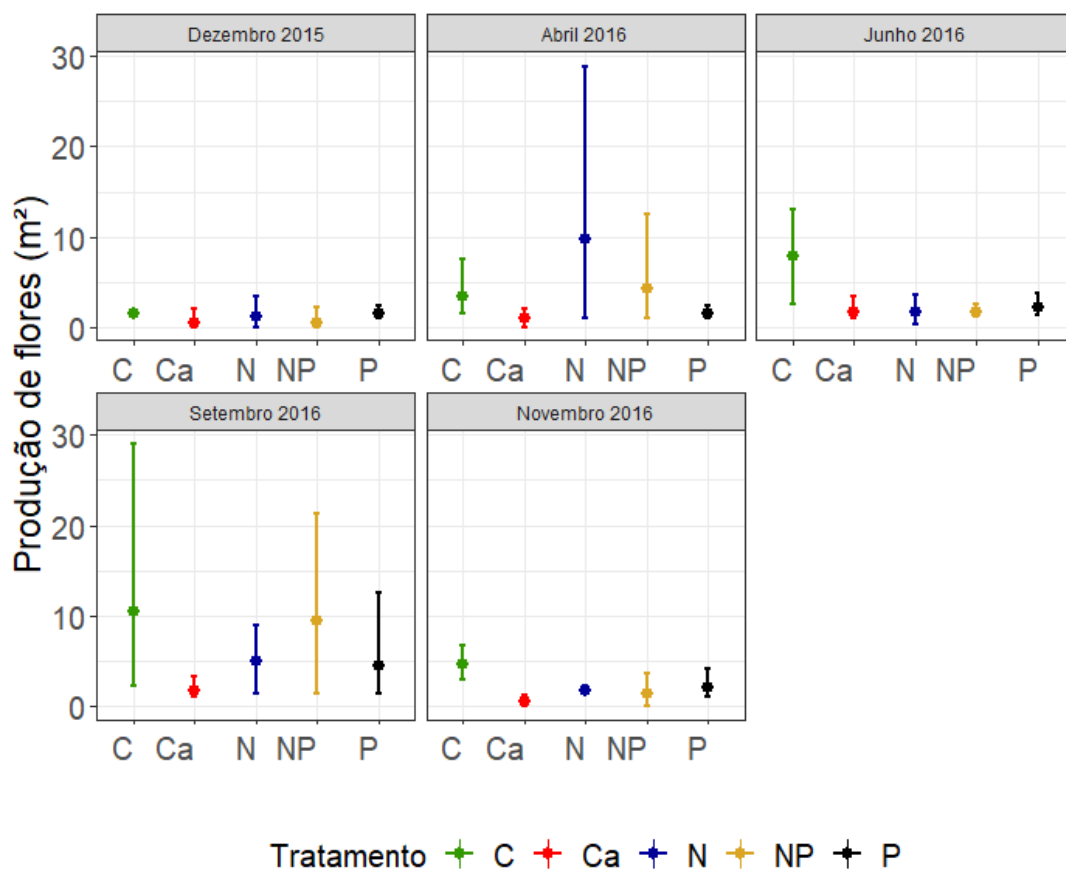
1611

1612 Resultados

1613

1614 Um total de 30 espécies em floração foram encontradas em mais de uma parcela ou
1615 campanha, enquanto 28 espécies foram encontradas em floração em apenas uma campanha ou
1616 parcela (estas últimas, retiradas das análises posteriores) (**Tabela 3.1**). A maior quantidade de
1617 flores (107 / m²) foi amostrada na transição seca-chuva (setembro de 2016) e a menor (9 / m²),
1618 em dezembro de 2015 (estação chuvosa) (**Anexo 3.1**). Em algumas parcelas, com o método de
1619 amostragem utilizado, não foram amostradas plantas com flores.

1620 A produção de flores não mostrou grande variação com os tratamentos ao longo do ano,
1621 sendo o único padrão claro e constante uma tendência de diminuição no número de flores por
1622 m² em Ca (**Figura 3.3**).

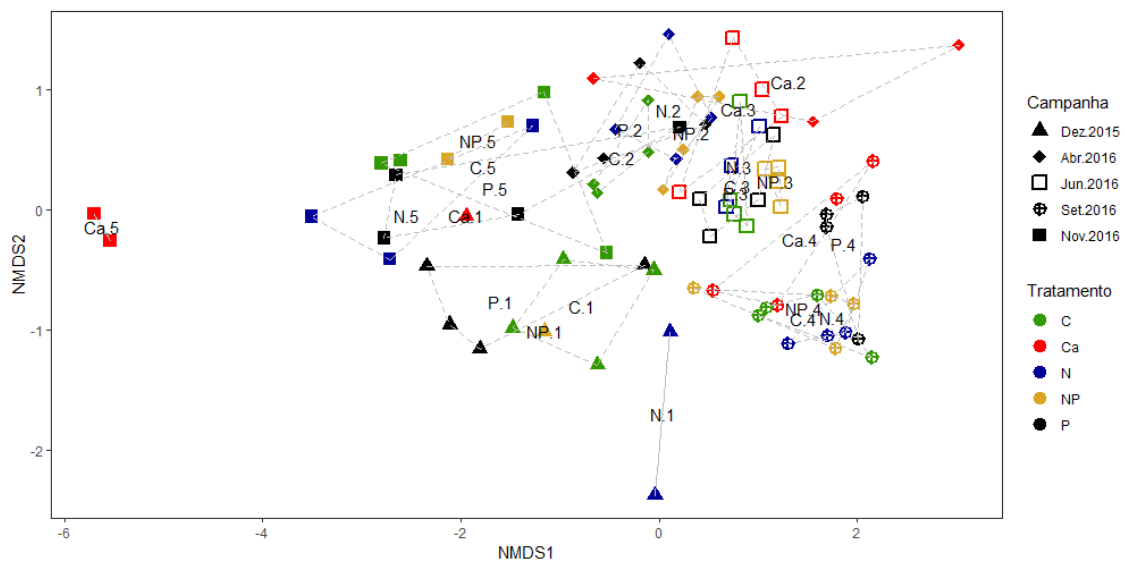


1623

1624 **Figura 3.3.** Produção de flores média por m² da comunidade vegetal amostrada, nos diferentes tratamentos, em cada
1625 estação em área de cerrado típico. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados
1626 submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras
1627 que não se sobrepõem significa que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.

1628 Com a análise de NMDS (**Figura 3.4**) temos uma visão mais clara de como se comportou
 1629 a comunidade vegetal quanto à produção de flores, considerando todas as diferentes espécies
 1630 amostradas em cada campanha. Nela, é possível ver uma separação mais clara entre as
 1631 campanhas do que entre tratamentos (PerMANOVA: campanhas, F: 8.49, p=0.0002;
 1632 tratamentos: F: 2.42, p=0.0002). Observa-se a formação de um grupo relativo à campanha 4
 1633 (setembro de 2016), sem diferença entre os tratamentos. Um outro grupo, que engloba as
 1634 campanhas 2 (abril de 2016) e 3 (junho de 2016). Outro grupo, com as campanhas 1 (dezembro
 1635 de 2015) e 5 (novembro de 2016). Esses grupos correspondem, ainda que de forma não muito
 1636 exata dada a variabilidade encontrada entre as parcelas, às amostragens sazonais, com o grupo
 1637 da campanha 4 correspondendo à transição seca-chuva, o grupo das campanhas 2 e 3 à seca e
 1638 o grupo das campanhas 1 e 5 à chuva. Esses “grupos” podem ser vistos na **Figura 3.5**, que mostra
 1639 uma maior produção de flores na transição seca-chuva do que nas outras estações. Essas
 1640 diferenças existem apenas quando as campanhas são agrupadas de acordo com as estações em
 1641 que foram realizadas. Nos **Anexos 3.1 e 3.2** é possível observar que as diferenças na produção
 1642 de flores entre os tratamentos são pequenas, em particular nos tratamentos Ca, NP e P.

1643

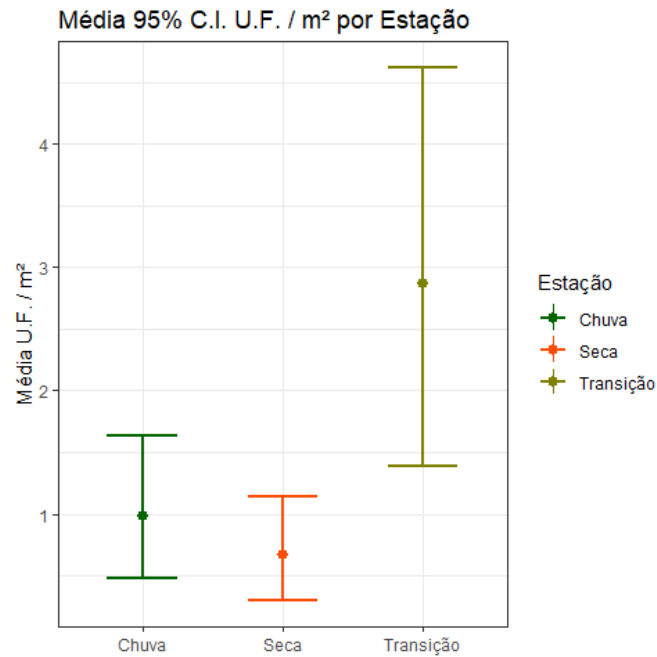


1644

1645 **Figura 3.4.** Ordenação da produção de flores (com distância de Bray-Curtis) por espécies, nos diferentes tratamentos
 1646 e campanhas, em área de cerrado típico. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.
 1647 **Símbolos fechados** (triângulo, losango e quadrado): Chuva, **Quadrado aberto**: Seca, **Círculo com cruz**: Transição.
 1648 Centróide de cada grupo: Tratamento seguido do número da campanha (e.g. “Ca.5”, “N.1”). Nem sempre foram
 1649 observados indivíduos em flor em todas as parcelas, em todas as campanhas (e.g. duas parcelas em Ca na campanha
 1650 5 e duas parcelas em N na campanha 1).

1651

1652

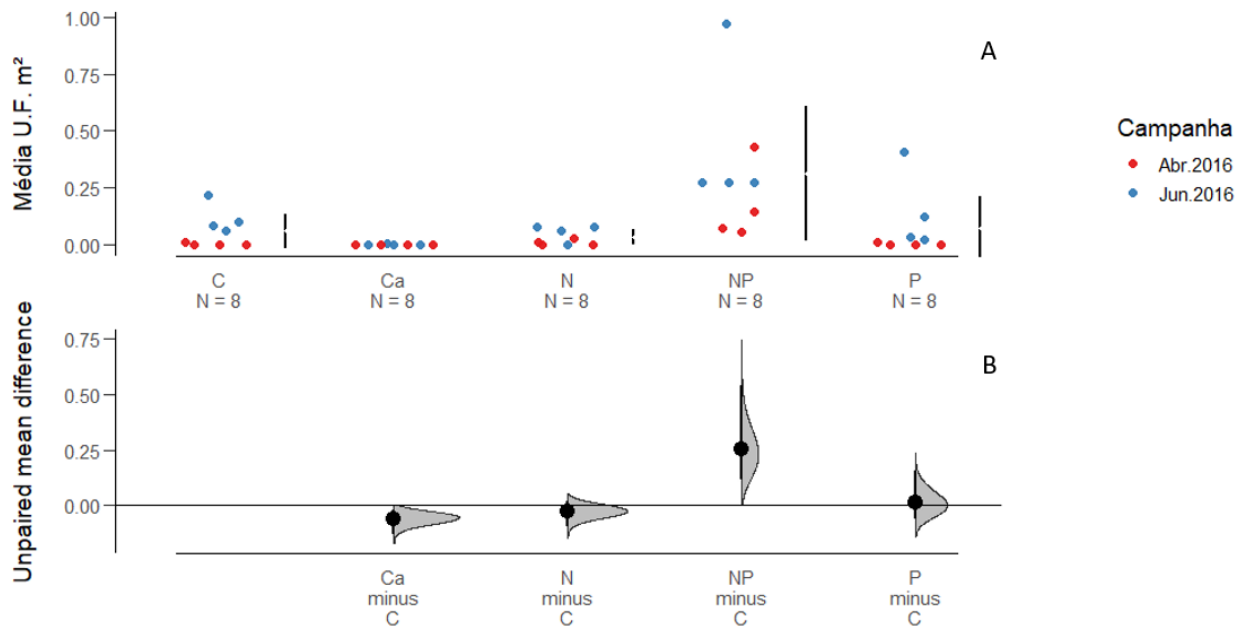


1653

1654 **Figura 3.5.** Produção de flores média por m² da comunidade vegetal amostrada em cada estação em área de cerrado
1655 típico, nas diferentes estações. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados
1656 submetidos a 5.000 permutações. **Barras**= Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras
1657 que não se sobrepõem significa que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.

1658 Nenhuma espécie foi amostrada em floração em todas as campanhas, porém
1659 *Dalechampia caperonioides* (Euphorbiaceae) em quatro e *Croton goyazensis* (Euphorbiaceae) e
1660 *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) em três campanhas estavam em floração. A única espécie que
1661 mostrou diferenças na produção de flores com os tratamentos foi *S. ferrugineus*, com aumento
1662 no tratamento NP e redução no tratamento Ca (**Figura 3.6**). As espécies *Miconia fallax*, *Miconia*
1663 *ligustroides* (Melastomataceae) e *Eremanthus glomerulatus* (Asteraceae) foram as maiores
1664 produtoras de flores mas em nenhuma delas houve diferença na produção de flores entre
1665 tratamentos ou campanhas.

1666



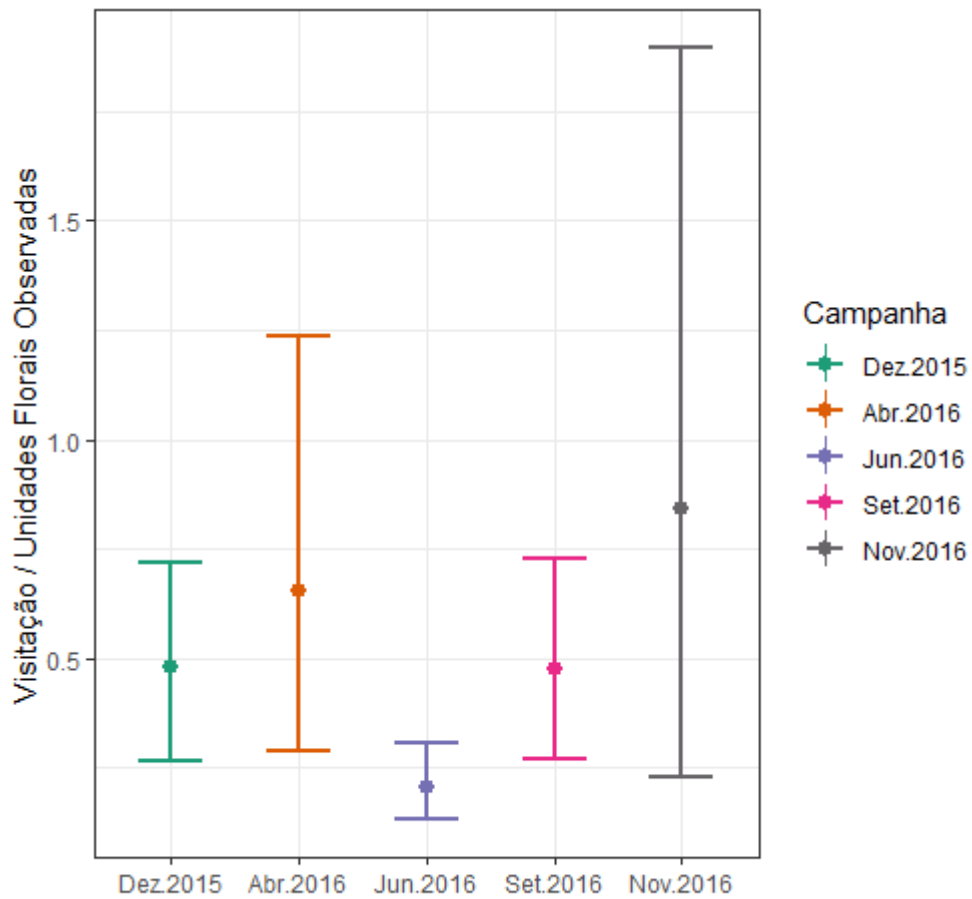
1667

1668 **Figura 3.6.** Produção de flores de *Styrox ferrugineus* nos diferentes nas campanhas em que teve maior produção de
 1669 flores (abril e junho de 2016), em área de cerrado típico. A) produção média de flores por metro quadrado em cada
 1670 tratamento e campanha. B) Diferença entre a produção de flores nos tratamentos Ca, N, NP e P e o Controle, com
 1671 5000 permutações e intervalos de confiança. Área cinza: distribuição das diferenças após 5 mil permutações. Barra
 1672 preta: intervalo de confiança de 95%. Se a linha preta não cruzar a linha horizontal em 0: há mais de 95% de chance
 1673 de a produção de flores no tratamento ser diferente da produção no Controle. Experimento de fertilização de longa
 1674 duração, na Reserva Ecológica do IBGE.

1675

1676

1677 Em todas as campanhas foram observados aproximadamente 8.290 minutos. Assim
 1678 como ocorreu com a produção de flores, a visitação não foi substancialmente influenciada pelas
 1679 épocas das campanhas ou tratamentos (**Figura 3.7** e **Anexos 3.2** e **3.3**), porém houve diferença
 1680 quando a visitação por UF observada foi agrupada de acordo com as estações. Neste caso, é
 1681 possível observar que na chuva as flores foram mais visitadas que na seca (**Figura 3.8**). Na maior
 1682 parte dos casos as taxas de visitação ficaram abaixo de um visitante por unidade floral observada
 1683 (**Anexo 3.3**).

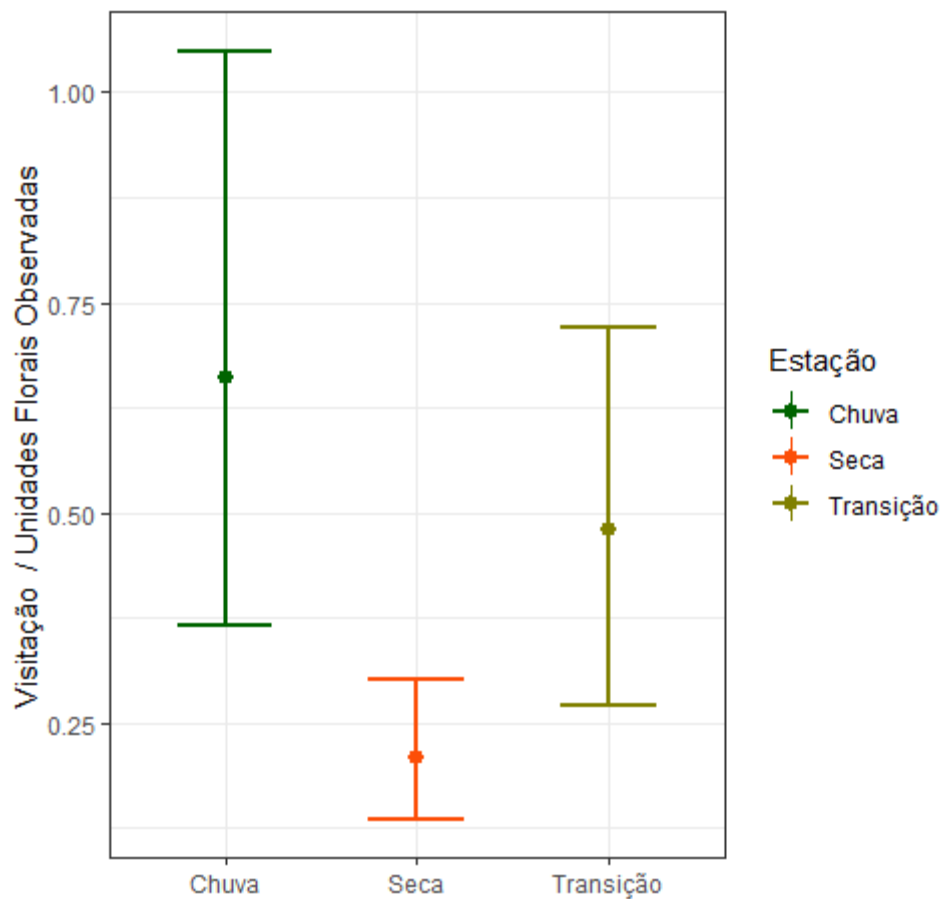


1684

1685 **Figura 3.7.** Média de visitação por Unidade Floral observada na comunidade vegetal, por campanha, em área de
 1686 cerrado típico. Experimento de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000
 1687 permutações. **Barras=** Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se
 1688 sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes. Os cinco tratamentos foram
 1689 agrupados em cada campanha.

1690

1691



1692

1693 **Figura 3.8.** Média de visitação por Unidade Floral observada na comunidade vegetal, por estação (agrupando todos
1694 os tratamentos em cada campanha), em área de cerrado típico. Experimento de longa duração na Reserva Ecológica
1695 do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras=** Intervalo de Confiança a 95% calculados com
1696 base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem
1697 diferentes.

1698

1699 Hymenoptera foi a ordem com maior número de interações em todas as campanhas,
1700 seguida por Diptera e Coleoptera. Os números de interações de cada família de visitante com as
1701 diferentes plantas em cada campanha podem ser vistos na **Figura 3.9**. Apidae e Formicidae,
1702 ambos pertencentes à Hymenoptera, foram as famílias com maior número de interações em
1703 quatro das cinco campanhas. Também é possível observar que muitas espécies vegetais tiveram
1704 poucas interações com insetos.

1705

1706 Em relação aos níveis de aninhamento ponderado (NODF) encontrados nas redes,
1707 fossem elas de: 1) Cinco campanhas analisadas separadamente, 2) com as campanhas agrupadas
1708 por estação ou 3) com todas as campanhas agrupadas em uma única rede, englobando todas as
1709 interações em todas as campanhas, foi possível observar que a maioria delas (com exceção das

1709 campanhas de dezembro de 2015 e novembro de 2016) foi significativamente menos aninhada
1710 que os modelos nulos gerados. As campanhas de dezembro de 2015 e novembro de 2016
1711 tiveram valores dentro do intervalo dos modelos nulos gerados e, portanto, não são
1712 significativos (**Anexo 3.5**). O aninhamento ponderado de todos os tratamentos foi
1713 significativamente menor que o dos modelos nulos (**Anexo 3.6**).

1714

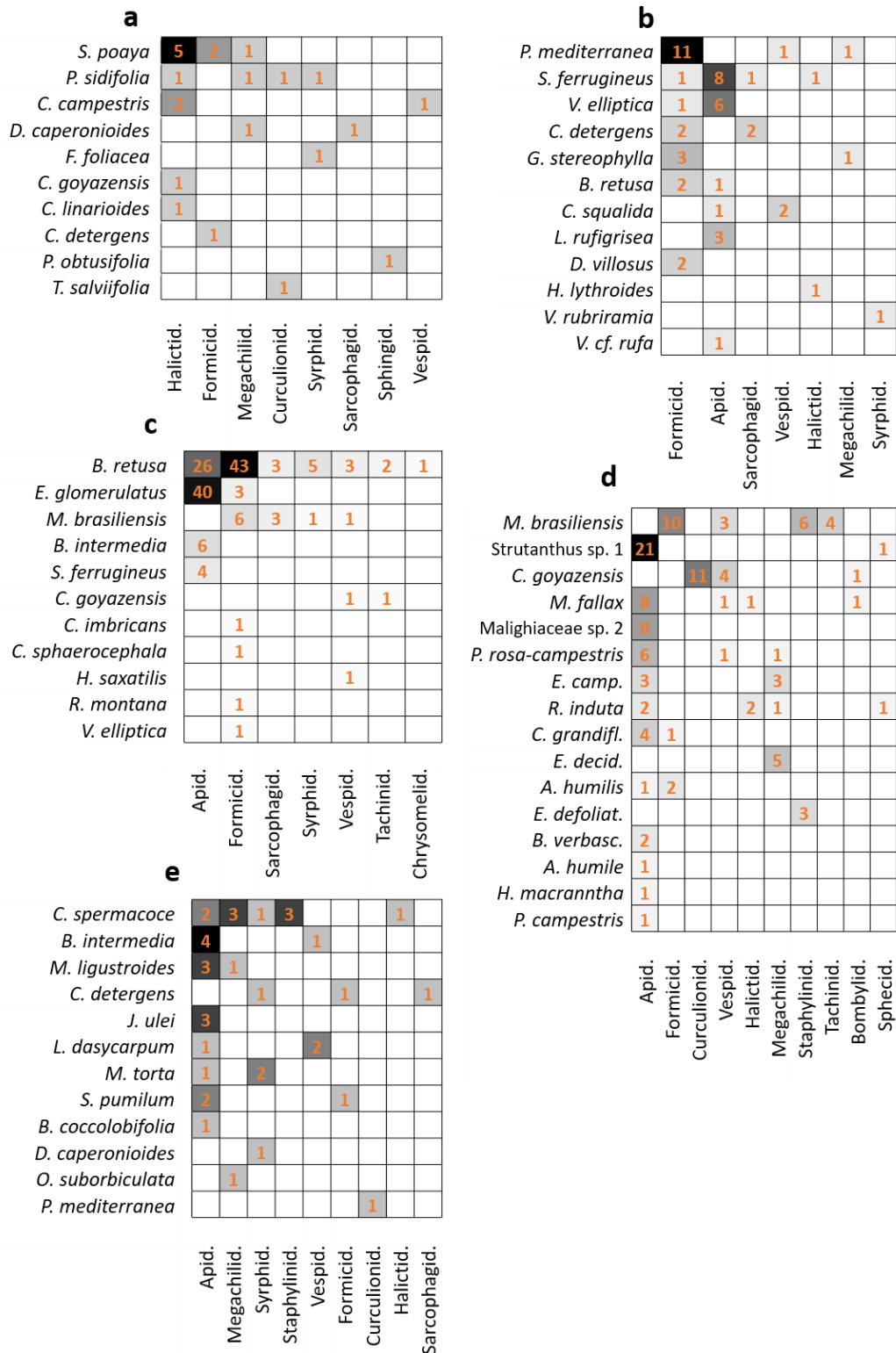


Figura 3.9. Número de interações entre famílias de visitantes florais (eixo X) e espécies vegetais (eixo y) em cada campanha: a) dezembro de 2015, b) abril de 2016, c) junho de 2016, d) setembro de 2016, e) novembro de 2016, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Espécies vegetais em flor não visitadas foram retiradas dos gráficos.

1722 Discussão

1723

1724 *Produção de flores*

1725

1726 Os resultados não indicam alterações significativas na época da floração em relação ao
1727 que é comumente encontrado para o Cerrado, com uma maior densidade de flores ocorrendo
1728 por volta de setembro (Oliveira 2008). Apesar de, como indicado no capítulo anterior, haver
1729 evidências de que os nutrientes adicionados ainda estão na comunidade, o efeito mais claro de
1730 um tratamento sobre a produção de flores foi a sua diminuição com o tratamento de calagem.
1731 Estudo conduzido anteriormente nas parcelas experimentais indicou alterações em interações
1732 entre plantas e insetos. Anteriormente, Cuevas-Reyes et al. (2011), avaliaram as interações com
1733 insetos indutores de galha e observaram que respostas às adições de N e P foram idiossincráticas
1734 com aumento ou redução da densidade dependendo da espécie de inseto avaliada, podendo
1735 não haver resposta, haver queda (de 50% a 78%) ou mesmo aumento (de 60% a 400%) na
1736 densidade de galhas no tratamento N e uma queda (de 70% a 700%) ou aumento (de 100% a
1737 200%) na densidade no tratamento P. É interessante notar, portanto, a possibilidade de
1738 tratamentos diferentes atuarem de formas distintas nas interações entre plantas e organismos
1739 acima do solo.

1740 A análise NMDS (**Figura 3.4**) e a PerMANOVA confirmam o menor efeito dos tratamentos
1741 sobre a produção de flores da comunidade em relação à sazonalidade (i.e., época de realização
1742 das amostragens). Isso pode indicar que as plantas alocaram os nutrientes prioritariamente para
1743 outras funções, como crescimento vegetativo. Por exemplo, Bucci et al. (2006) encontraram
1744 uma série de modificações estruturais e fisiológicas em espécies arbóreas de cerrado em
1745 resposta à fertilização, como aumento na condutividade hidráulica de ramos terminais e
1746 aumento no número de folhas no tratamento N. Os autores afirmam que as espécies de cerrado
1747 parecem ser capazes de explorar a maior disponibilidade de nutrientes visando aumentar a
1748 fixação de C e seu crescimento. Dessa forma, é possível que os nutrientes adquiridos pelas
1749 plantas com os tratamentos podem não ter sido investidos na produção de flores e sim em
1750 alterações anatômicas e fisiológicas visando uma maior aquisição de C, por exemplo. Ainda,
1751 dependendo da forma de vida da espécie considerada e tratamento, há as interações
1752 competitivas com as gramíneas beneficiadas pelos tratamentos (*E. inflexa* em N e a exótica
1753 altamente competitiva *M. minutiflora* nos tratamentos P, NP e Ca, vide capítulo 2 da tese):
1754 Apesar de as raízes de espécies arbóreas e arbustivas poderem escapar da competição com
1755 gramíneas alcançando maiores profundidades (Rossatto et al. 2012; Rossatto et al. 2014), as

1756 espécies herbáceas e até mesmo arbustivas de menor porte ainda podem estar sujeitas à
1757 competição com as gramíneas que foram beneficiadas em cada tratamento, tendo menor
1758 oportunidade para alocar nutrientes para a produção de flores. Em suma, ainda que o indivíduo
1759 consiga adquirir uma maior quantidade de nutrientes com o aumento da disponibilidade no solo,
1760 pode haver uma alocação prioritária para funções outras que a floração, dependendo de seu
1761 contexto, por exemplo, se a espécie estiver em competição com gramíneas exóticas ou caso
1762 estejam a priorizar a proteção contra danos que maiores taxas metabólicas e de crescimento
1763 podem causar (como aumentos na probabilidade de cavitação).

1764 Adicionalmente, é possível que a baixa quantidade de plantas em floração em comum
1765 entre parcelas devido à alta riqueza de espécies e baixa abundância de indivíduos, tenha
1766 mascarado possíveis padrões. Nenhuma espécie foi amostrada em flor nas 20 parcelas do
1767 experimento em uma mesma campanha (uma alta heterogeneidade, encontrada também na
1768 cobertura linear do herbáceo-arbustivo, em que apenas uma espécie esteve presente em todas
1769 as parcelas nos dois anos de amostra; ver Capítulo 2 da tese). A heterogeneidade encontrada
1770 fica especialmente clara em alguns casos particulares de ausência de indivíduos em floração em
1771 algumas parcelas de uma campanha, como no caso de duas parcelas do tratamento Ca em
1772 novembro de 2016 (campanha 5) e em duas no tratamento N em dezembro de 2015 (campanha
1773 1). Como outro exemplo da variabilidade encontrada, na campanha com maior número de flores
1774 amostradas, setembro de 2016 (campanha 4), apenas *M. fallax* (Melastomataceae) e *M.*
1775 *brasiliensis* (Euphorbiaceae), foram amostradas em 10 ou mais parcelas nesta campanha e
1776 ambas são espécies comuns na área de estudo.

1777 Mesmo as espécies arbustivas ou arbóreas amostradas exaustivamente (i.e. censo dos
1778 indivíduos em flor) e comuns na área experimental não foram encontradas em floração em
1779 todas as parcelas em uma mesma campanha, como aconteceu no caso de *S. ferrugineus*, com
1780 indivíduos em floração em 16 das 20 parcelas amostradas, no pico de sua floração, em junho de
1781 2016 (campanha 3) (**Figura 3.6**). Apesar disso, para essa espécie em particular foi possível
1782 observar um padrão constante nas duas campanhas em que foi amostrada, de maior produção
1783 de flores no tratamento NP. Essa espécie parece se beneficiar com esse tratamento também em
1784 termos vegetativos, com indivíduos aparentemente maiores no tratamento NP (Bustamante et
1785 al. Dados não publicados, **Anexo 3.8**). Os teores de nutrientes foliares de *S. ferrugineus* também
1786 se diferenciam entre os tratamentos (ver capítulo 2 da tese). Essa parece ser uma das espécies
1787 que conseguiram se beneficiar com o aumento na disponibilidade de nutrientes também
1788 investindo em reprodução.

1789 *Visitação floral*

1790

1791 Em relação aos visitantes florais, apesar de apenas insetos terem sido coletados, beija-
1792 flores também foram observados, mas poucas vezes e em poucas espécies de plantas. Insetos
1793 foram o grupo majoritário de visitantes, como encontrado em outros estudos e dentre estes,
1794 abelhas da família Apidae (ver Oliveira and Gibbs 2002). Apesar de setembro ter sido a época
1795 com maior número de flores produzidas, não foi a época com maiores quantidades de visitaçã
1796 por UF observada. Estudos mostram que a quantidade de flores produzidas pode afetar as taxas
1797 de visitaçã por insetos, com as maiores quantidades podendo ser mais atrativas (Lázaro et al.
1798 2009; Fowler et al. 2016). Algumas espécies da área produziram uma quantidade de flores muito
1799 grande e foram muito visitadas (por exemplo, *Baccharis retusa*, que teve muitas interações, ver
1800 **Figura 3.9**), mas o número de visitantes por flor produzida não foi maior do que o de outras
1801 espécies.

1802 Redes de interação podem ser muito variáveis temporalmente. Por exemplo, Petanidou
1803 et al. (2008) usaram os dados obtidos ao longo de quatro anos, em um estudo sobre as plantas
1804 e polinizadores em uma região seca, com vegetação xeromórfica na Grécia. Os autores
1805 verificaram uma alta variação anual nas redes, com as interações entre plantas e polinizadores
1806 não sendo constantes ao longo do tempo, com tanto as espécies vegetais, quanto os
1807 polinizadores e mesmo qual parceiro interagia com qual, variando bastante. Os autores
1808 ressaltaram que, durante o período de estudo, 72% das interações foram registradas em apenas
1809 um dos anos e apenas 4.9% das interações ocorreram em todos os anos.

1810 No presente trabalho, cada campanha de amostragem teve curta duração (no máximo
1811 duas semanas em um mesmo mês) e cada uma das 20 parcelas foi amostrada uma única vez por
1812 campanha. Esses fatores podem ter contribuído para reduzir a concordância entre as espécies
1813 em floração em cada campanha, uma vez que indivíduos de parcelas diferentes podem ter
1814 florescido em dias diferentes em um mesmo mês. Ainda assim, é interessante notar que três das
1815 campanhas foram realizadas na estação chuvosa (dezembro de 2015, abril de 2016 e novembro
1816 de 2016), em que as condições ambientais como disponibilidade hídrica e variação de
1817 temperatura são mais homogêneas (do que entre estações diferentes, por exemplo). Das 38
1818 espécies observadas em flor e que foram visitadas na época da chuva, apenas uma (2.5%)
1819 ocorreu nas três campanhas e três ocorrem em duas delas (<10%). Dadas as condições do
1820 cerrado, com uma sazonalidade marcada (e fenologia reprodutiva também marcada, ver
1821 Oliveira 2008), a probabilidade de que as espécies fossem encontradas em floração durante
1822 todas as campanhas não é alta, porém, dois fatos sugerem que maior área de levantamento

1823 poderia ser mais adequada: 1) primeiramente, o fato de mesmo espécies comuns na área terem
1824 sido observadas em poucas parcelas, como citado acima e 2) o fato de mesmo dentro de uma
1825 mesma estação haver pouca concordância entre as espécies encontradas.

1826 Dentre as métricas de redes de interação que são comumente usadas, existe o chamado
1827 aninhamento, que é um conceito geralmente usado para biogeografia de ilhas e informa quanto
1828 as espécies presentes em um local (*e.g.* ilha) constituem um subconjunto das espécies presentes
1829 em outro local (*e.g.* continente) (Dormann et al. 2009). Quando aplicado às redes de interação
1830 entre organismos, o aninhamento calcula quanto que as interações de espécies especialistas são
1831 um subgrupo das interações das espécies generalistas. Uma rede aninhada é aquela em que as
1832 interações das espécies especialistas é um subconjunto das interações das espécies generalistas,
1833 com espécies especialistas interagindo com generalistas e não entre si (Bascompte et al. 2003;
1834 Rech et al. 2014). Redes aninhadas são mais robustas a perturbações, porque como as espécies
1835 especialistas interagem com as mesmas espécies que as generalistas, a probabilidade de uma
1836 interação desaparecer é menor, porém a estabilidade das mesmas é dependente das espécies
1837 generalistas (*e.g.* Memmott et al. 2004). Assim como outras métricas de redes de interação, o
1838 aninhamento é influenciado pelo esforço amostral e outras características das redes (como seu
1839 tamanho) e é o motivo pelo qual se recomenda a comparação dos índices obtidos em redes reais
1840 com o obtido através de modelos nulos (Dormann et al. 2009). Apesar de a comparação com os
1841 modelos neste estudo ter indicado que os aninhamentos das redes são diferentes do obtido por
1842 modelos nulos na maioria dos casos (com exceção das campanhas de dezembro de 2015 e
1843 novembro de 2016), os valores foram menores que os dos modelos gerados, indicando um “anti
1844 aninhamento” (*anti-nestedness*). Este tipo de resultado segundo Almeida-Neto et al. (2007)
1845 pode ter algumas causas ecológicas, entre elas, um padrão de interações do tipo “tabuleiro de
1846 xadrez”, onde as espécies vegetais e animais tem interações complementares, com as espécies
1847 vegetais compartilhando poucos visitantes, o mesmo ocorrendo com os animais. Apesar de a
1848 maioria dos índices de aninhamento obtidos neste trabalho serem significativamente diferentes
1849 dos modelos nulos, os resultados devem ser tomados com cautela por causa da
1850 heterogeneidade do cerrado típico (ver também capítulo 2 da tese). Além disso, os insetos não
1851 foram identificados até o nível de espécie e isso pode influenciar os resultados encontrados.

1852 Formicidae é um grupo geralmente considerado pouco importante na polinização, por
1853 muitas vezes roubar néctar ou até mesmo secretar substâncias que afetam negativamente o
1854 pólen de algumas plantas (ver revisão de Del Toro et al. 2012). Contudo, em alguns ambientes e
1855 para alguns tipos de plantas parecem ser importantes como, por exemplo, para uma espécie de
1856 sempre-viva do Cerrado (*Paepalanthus lundii* Körn., Eriocaulaceae) (Del-Claro et al. 2019).

1857 Diversos autores tem recomendando que o papel das formigas como polinizadores seja
1858 reavaliado com cuidado (Domingos-Melo et al. 2017; Del-Claro et al. 2019). As três plantas que
1859 mais atraíram formigas foram, em ordem de importância *Baccharis retusa* (Asteraceae),
1860 *Periandra mediterranea* (Fabaceae) e *Maprounea brasiliensis* (Euphorbiaceae); todas espécies
1861 arbustivas. *Baccharis retusa* e *M. brasiliensis* apresentam flores cujas partes florais ficam
1862 expostas, facilmente alcançadas por insetos e é de se supor que formigas andando pelas flores
1863 sejam capazes de tocar nas partes masculinas e femininas, potencialmente conseguindo realizar
1864 a polinização, contudo testes de eficiência não foram realizados e é possível que ainda que haja
1865 polinização, o fluxo gênico seja baixo, pelo fato de formigas não voarem e por isso em geral
1866 percorrerem menores distâncias (ver a interessante discussão em Rostás and Tautz 2010, em
1867 que os autores apresentam motivos pelos quais formigas poderiam ser polinizadores eficientes
1868 em alguns casos). Já *P. mediterranea* é uma leguminosa da subfamília Papilionoideae, com flores
1869 grandes e zigomórficas e ainda que tenham sido bastante visitadas por formigas, parece pouco
1870 provável que elas consigam polinizar a espécie adequadamente.

1871 Conclusões

1872

1873 Os levantamentos demonstram o efeito residual das adições de nutrientes mesmo
1874 aproximadamente 10 anos após a última fertilização (feita em 2006). As adições de nutrientes,
1875 com exceção da calagem, parecem não ter alterado o padrão (época de floração) e nem a
1876 quantidade de flores produzidas pela comunidade, que continuaram sendo majoritariamente
1877 influenciados pela sazonalidade climática, contudo é necessário ter em mente o longo período
1878 de tempo sem novas adições; não é possível afirmar que, se a produção de flores tivesse sido
1879 analisada após um menor intervalo sem novos aportes, os efeitos também seriam pequenos.
1880 *Styrax ferrugineus*, uma arbórea sempre verde que tem respondido ao aumento nos níveis de
1881 nutrientes (principalmente P) no solo foi a única a mostrar alteração na produção de flores, que
1882 aumentou nos tratamentos NP e P. As taxas de visitação da área foram baixas e também não
1883 foram afetadas pelos tratamentos (com exceção de Ca) e apesar de algumas espécies terem sido
1884 muito visitadas (como *B. retusa*), quando levamos em conta o número de visitantes por
1885 quantidade de flores produzidas, a visitação desta espécie não foi maior do que de outras, que
1886 produziram menos flores por m². Apesar de ter sido detectado um padrão de “anti-
1887 aninhamento” nas redes de interação, esses resultados precisam ser tomados com cautela
1888 devido à alta heterogeneidade do cerrado típico. Formigas estiveram entre os principais
1889 visitantes da comunidade em diversas épocas do ano, mas sua relevância para polinização no
1890 Cerrado ainda não está esclarecida.

1891

1892 **Bibliografia**

1893

1894 Aerts R, Chapin III FS (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of
1895 processes and patterns. In: *Advances in ecological research*. Elsevier, pp 1–67

1896 Ågren GI, Weih M (2012) Plant stoichiometry at different scales: element concentration patterns
1897 reflect environment more than genotype. *New Phytol* 194:944–952

1898 Almeida-Neto M, R. Guimarães Jr P, M. Lewinsohn T (2007) On nestedness analyses: rethinking
1899 matrix temperature and anti-nestedness. *Oikos* 116:716–722

1900 Almeida-Neto M, Ulrich W (2011) A straightforward computational approach for measuring
1901 nestedness using quantitative matrices. *Environ Model Softw* 26:173–178

1902 Anderson MJ, Willis TJ (2003) Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of
1903 constrained ordination for ecology. *Ecology* 84:511–525

1904 Augusto L, Achat DL, Jonard M, Vidal D, Ringeval B (2017) Soil parent material—a major driver
1905 of plant nutrient limitations in terrestrial ecosystems. *Glob Change Biol* 23:3808–3824

1906 Bascompte J, Jordano P, Melian CJ, Olesen JM (2003) The nested assembly of plant-animal
1907 mutualistic networks. *Proc Natl Acad Sci* 100:9383–9387

1908 Berendse F, Scheffer M (2009) The angiosperm radiation revisited, an ecological explanation for
1909 Darwin’s ‘abominable mystery.’ *Ecol Lett* 12:865–872

1910 Bucci SJ, Scholz FG, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Campanello PI, Villalobos-Vega R,
1911 Bustamante MMC, Miralles-Wilhelm F (2006) Nutrient availability constrains the
1912 hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant Cell Environ*
1913 29:2153–2167

1914 Burkle LA, Irwin RE (2010) Beyond biomass: measuring the effects of community-level nitrogen
1915 enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. *J Ecol* 98:705–
1916 717

1917 Bustamante MMC, Brito DQ, Kozovits AR, Luedemann G, Mello TRB, de S. AP, Munhoz CBR,
1918 Takahashi FSC (2012) Effects of nutrient additions on plant biomass and diversity of the
1919 herbaceous-subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). *Plant Ecol* 213:795–808

1920 Bustamante MMC, Medina E, Asner GP, Nardoto GB, Garcia-Montiel DC (2006) Nitrogen cycling
1921 in tropical and temperate savannas. *Biogeochemistry* 79:209–237

1922 Carvalheiro LG, Biesmeijer JC, Benadi G, Fründ J, Stang M, Bartomeus I, Kaiser-Bunbury CN,
1923 Baude M, Gomes SIF, Merckx V and others (2014) The potential for indirect effects
1924 between co-flowering plants via shared pollinators depends on resource abundance,
1925 accessibility and relatedness. *Ecol Lett* 17:1389–1399

1926 Cuevas-Reyes P, De Oliveira-Ker FT, Fernandes GW i, Bustamante MMC (2011) Abundance of
1927 gall-inducing insect species in sclerophyllous savanna: understanding the importance of
1928 soil fertility using an experimental approach. *J Trop Ecol* 27:631–640

- 1929 Del Toro I, Ribbons RR, Pelini SL (2012) The little things that run the world revisited: a review of
1930 ant-mediated ecosystem services and disservices (Hymenoptera: Formicidae).
1931 Myrmecol News 17:133–146
- 1932 Del-Claro K, Rodriguez-Morales D, Calixto E, Martins A, Torezan-Silingardi H (2019) Ant
1933 pollination of *Paepalanthus lundii* (Eriocaulaceae) in Brazilian savanna. Ann Bot XX: 107–
1934 150
- 1935 Domingos-Melo A, de Lima Nadia T, Machado IC (2017) Complex flowers and rare pollinators:
1936 Does ant pollination in *Ditassa* show a stable system in Asclepiadoideae (Apocynaceae)?
1937 Arthropod-Plant Interact 11:339–349
- 1938 Dormann CF (2019) Using bipartite to describe and plot two-mode networks in R. Biometry
1939 Environ Syst Anal 1–28
- 1940 Dormann CF, Frund J, Bluthgen N, Gruber B (2009) Indices, Graphs and Null Models: Analyzing
1941 Bipartite Ecological Networks. Open Ecol J 2:7–24
- 1942 Dormann CF, Gruber B, Fründ J (2008) Introducing the bipartite package: analysing ecological
1943 networks. Interaction 1:8–11
- 1944 Elser JJ, Fagan WF, Denno RF, Dobberfuhl DR, Folarin A, Huberty A, Interlandi S, Kilham SS,
1945 McCauley E, Schulz KL, others (2000) Nutritional constraints in terrestrial and freshwater
1946 food webs. Nature 408:578
- 1947 Escobar, DF, Silveira, FA, Morellato, LPC (2018). Timing of seed dispersal and seed dormancy in
1948 Brazilian savanna: two solutions to face seasonality. Ann. Bot. 121:1197-1209
- 1949 Fageria NK, Baligar VC (2008) Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable
1950 crop production. Adv Agron 99:345–399
- 1951 Flora Do Brasil (2019) 2020 em construção. Jard Botânico Rio Jan Disponível Em Disponível em
1952 <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>> Acesso Em Jun 2019
- 1953 Fowler RE, Rotheray EL, Goulson D (2016) Floral abundance and resource quality influence
1954 pollinator choice. Insect Conserv Divers 9:481–494
- 1955 Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW m, Bekunda M, Cai Z, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger
1956 SP, Sutton MA (2008) Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions,
1957 and potential solutions. Science 320:889–892
- 1958 Güsewell S (2004) N: P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. New
1959 Phytol 164:243–266
- 1960 Halsey LG (2019) The reign of the p-value is over: what alternative analyses could we employ to
1961 fill the power vacuum? Biol Lett 15:20190174
- 1962 Haridasan M (2000) Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. Rev Bras Fisiol Veg 12:54–
1963 64
- 1964 Heide OM, Sønsteby A (2012) Floral initiation in black currant cultivars (*Ribes nigrum* L.): Effects
1965 of plant size, photoperiod, temperature, and duration of short day exposure. Sci Hortic
1966 138:64–72

- 1967 Ho J, Tumkaya T, Aryal S, Choi H, Claridge-Chang A (2018) Moving beyond P values: Everyday
1968 data analysis with estimation plots
- 1969 Ho JW, Tumkaya T (2019) Package ‘dabestr’
- 1970 Hoover SE, Ladley JJ, Shchepetkina AA, Tisch M, Giese SP, Tylianakis JM (2012) Warming, CO₂,
1971 and nitrogen deposition interactively affect a plant-pollinator mutualism. *Ecol Lett*
1972 15:227–234
- 1973 Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (2019) Banco de dados meteorológicos para ensino
1974 e pesquisa. Disponível em:
1975 <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>> Acesso em: 15 Jun.
1976 2019
- 1977 Jacobson TKB (2009) Composição, estrutura e funcionamento de um cerrado sentido restrito
1978 submetido à adição de nutrientes em médio prazo. Tese de PhD. Universidade de
1979 Brasília
- 1980 Kerkhoff AJ, Fagan WF, Elser JJ, Enquist BJ (2006) Phylogenetic and growth form variation in the
1981 scaling of nitrogen and phosphorus in the seed plants. *Am Nat* 168:E103–E122
- 1982 Kozovits AR, Bustamante MMC, Garofalo CR, Bucci S, Franco AC, Goldstein G, Meinzer FC (2007)
1983 Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a
1984 Neotropical Savanna. *Funct Ecol* 21:1034–1043
- 1985 Lázaro A, Lundgren R, Totland O (2009) Co-flowering neighbors influence the diversity and
1986 identity of pollinator groups visiting plant species. *Oikos* 118:691–702
- 1987 Memmott J, Waser NM, Price MV (2004) Tolerance of pollination networks to species
1988 extinctions. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 271:2605–2611
- 1989 Mo Q, Zou B, Li Y, Chen Y, Zhang W, Mao R, Ding Y, Wang J, Lu X, Li X, Tang J, Li Z, Wang F (2015)
1990 Response of plant nutrient stoichiometry to fertilization varied with plant tissues in a
1991 tropical forest. *Sci Rep* 5:14605
- 1992 Oliveira P (2008) Fenologia e biologia reprodutiva de espécies do Cerrado. In: *Cerrado Ecologia*
1993 *e flora*. EMBRAPA, pp 273–290
- 1994 Oliveira P, Gibbs P (1994) Pollination biology and breeding systems of six *Vochysia* species
1995 (*Vochysiaceae*) in Central Brazil. *J Trop Ecol* 10:509–522
- 1996 Oliveira PE, Gibbs PE (2002) Pollination and reproductive biology in cerrado plant communities.
1997 In: *The Cerrados of Brazil*. Columbia Univ Press, pp 329–347
- 1998 Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals?
1999 *Oikos* 120:321–326
- 2000 Petanidou T, Kallimanis AS, Tzanopoulos J, Sgardelis SP, Pantis JD (2008) Long-term observation
2001 of a pollination network: fluctuation in species and interactions, relative invariance of
2002 network structure and implications for estimates of specialization: High plasticity in
2003 plant-pollinator networks. *Ecol Lett* 11:564–575

- 2004 Petraglia A, Tomaselli M, Mondoni A, Brancaleoni L, Carbognani M (2014) Effects of nitrogen
2005 and phosphorus supply on growth and flowering phenology of the snowbed forb
2006 *Gnaphalium supinum* L. *Flora-Morphol Distrib Funct Ecol Plants* 209:271–278
- 2007 Rech AR, Agostini K, Oliveira PE, Machado IC (2014) *Biologia da polinização*. Projecto Cultural
- 2008 Ribeiro JF, Walter BMT (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. *Cerrado Ecol E*
2009 *Flora* 1:151–212
- 2010 Rockström J, Steffen W, Noone K, Persson Åsa, Chapin III FS, Lambin EF, Lenton TM, Scheffer M,
2011 Folke C, Schellnhuber HJ, others (2009) A safe operating space for humanity. *Nature*
2012 461:472
- 2013 Rossatto D, da Silveira Lobo Sternberg L, Franco A (2012) The partitioning of water uptake
2014 between growth forms in a Neotropical savanna: do herbs exploit a third water source
2015 niche? *Plant Biol* 15:84–92
- 2016 Rossatto D, Silva L, Sternberg L, Franco A (2014) Do woody and herbaceous species compete for
2017 soil water across topographic gradients? Evidence for niche partitioning in a Neotropical
2018 savanna. *South Afr J Bot* 91:14–18
- 2019 Rostás M, Tautz Jü (2010) Ants as pollinators of plants and the role of floral scents. In: *All flesh*
2020 *is grass*. Springer, pp 149–161
- 2021 Silva MRSS da (2012) Diversidade de comunidades bacterianas de solo de Cerrado em resposta
2022 a diferentes alterações dos ecossistemas. Tese de PhD. Universidade de Brasília
- 2023 Simpson-Júnior PL (2002) Crescimento e fenologia foliar de espécies lenhosas de uma área de
2024 cerrado stricto senso submetida a fertilização. Dissertação de mestrado. Universidade
2025 de Brasília
- 2026 Steffen W, Broadgate W, Deutsch L, Gaffney O, Ludwig C (2015) The trajectory of the
2027 Anthropocene: the great acceleration. *Anthr Rev* 2:81–98
- 2028 Vourlitis GL, de Almeida Lobo F, Lawrence S, Holt K, Zappia A, Pinto OB, de Souza Nogueira J
2029 (2014) Nutrient resorption in tropical savanna forests and woodlands of central Brazil.
2030 *Plant Ecol* 215:963–975
- 2031 Westerband AC, Horvitz CC (2015) Interactions between plant size and canopy openness
2032 influence vital rates and life-history tradeoffs in two neotropical understory herbs. *Am J*
2033 *Bot* 102:1290–1299
- 2034 Zhang Z, Niu K, Liu X, Jia P, Du G (2013) Linking flowering and reproductive allocation in response
2035 to nitrogen addition in an alpine meadow. *J Plant Ecol* 7:231–239
- 2036 Ziska LH, Pettis JS, Edwards J, Hancock JE, Tomecek MB, Clark A, Dukes JS, Loladze I, Polley HW
2037 (2016) Rising atmospheric CO₂ is reducing the protein concentration of a floral pollen
2038 source essential for North American bees. *Proc R Soc B Biol Sci* 283:20160414
- 2039
- 2040

2041

2042

2043

2044

2045 **Anexo 3.1**

2046 **Tabela 3.2.** Número de espécies em flor (**Spp**), total de flores, média de Unidades Florais por m² e respectivo desvio
 2047 padrão, nas diferentes parcelas, tratamentos e campanhas (com suas respectivas datas e estações) e geral para cada
 2048 campanha, em área de cerrado típico. Experimento de longa duração na Reserva Ecológica do IBGE. **SD**= Desvio
 2049 Padrão. **Spp**= número de espécies em flor amostradas.

Campanha	Estação	Tratamento	Parcela	Spp	Soma	Média	S.D.
Dez.2015	Chuva	C	11C	2	0.50	NA	NA
Dez.2015	Chuva	C	1C	2	0.22	NA	NA
Dez.2015	Chuva	C	21C	3	0.67	0.22	0.19
Dez.2015	Chuva	C	5C	3	0.89	0.30	0.13
Dez.2015	Chuva	Ca	17Ca	2	1.11	NA	NA
Dez.2015	Chuva	N	14N	1	0.22	NA	NA
Dez.2015	Chuva	N	7N	4	2.44	0.61	0.46
Dez.2015	Chuva	NP	13NP	2	1.22	NA	NA
Dez.2015	Chuva	P	15P	2	0.44	NA	NA
Dez.2015	Chuva	P	19P	3	1.33	0.44	0.11
Dez.2015	Chuva	P	4P	1	0.33	NA	NA
Dez.2015	Chuva	P	9P	1	0.11	NA	NA
Abr.2016	Chuva	C	11C	5	6.57	1.31	2.62
Abr.2016	Chuva	C	1C	3	0.61	0.20	0.14
Abr.2016	Chuva	C	21C	2	1.33	NA	NA
Abr.2016	Chuva	C	5C	2	1.67	NA	NA
Abr.2016	Chuva	Ca	12Ca	1	0.11	NA	NA
Abr.2016	Chuva	Ca	17Ca	2	1.03	NA	NA
Abr.2016	Chuva	Ca	20Ca	1	0.11	NA	NA
Abr.2016	Chuva	N	10N	2	27.89	NA	NA
Abr.2016	Chuva	N	14N	1	0.01	NA	NA
Abr.2016	Chuva	N	2N	2	0.22	NA	NA
Abr.2016	Chuva	N	7N	4	6.92	1.73	3.07
Abr.2016	Chuva	NP	13NP	1	0.06	NA	NA
Abr.2016	Chuva	NP	16NP	5	11.52	2.30	4.37
Abr.2016	Chuva	NP	6NP	2	0.18	NA	NA
Abr.2016	Chuva	NP	8NP	4	1.50	0.37	0.43
Abr.2016	Chuva	P	15P	1	0.11	NA	NA
Abr.2016	Chuva	P	19P	2	1.44	NA	NA
Abr.2016	Chuva	P	4P	1	0.01	NA	NA
Abr.2016	Chuva	P	9P	2	0.44	NA	NA
Jun.2016	Seca	C	11C	4	1.65	0.41	0.24
Jun.2016	Seca	C	1C	5	11.02	2.20	3.23
Jun.2016	Seca	C	21C	3	12.23	4.08	6.77

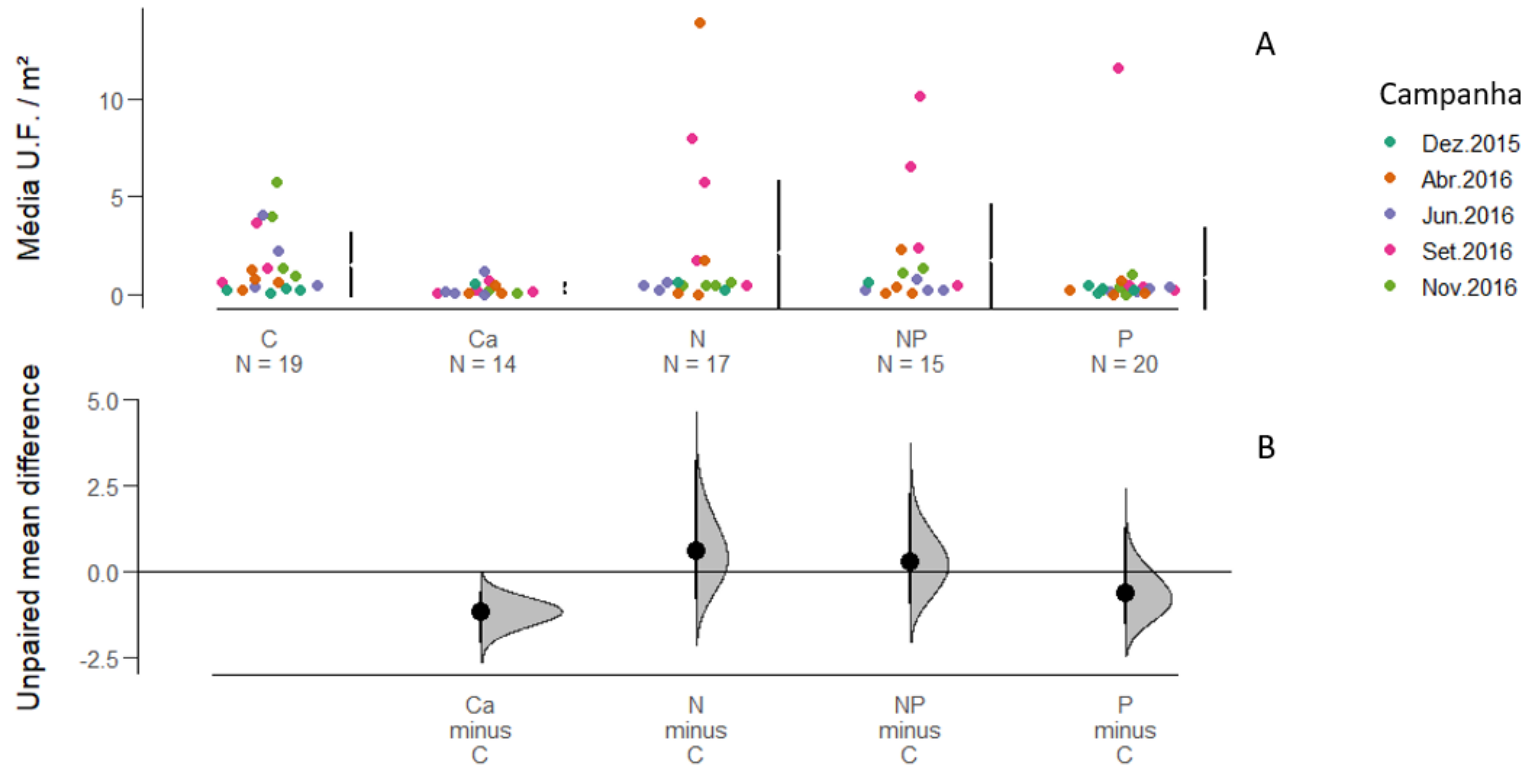
Campanha	Estação	Tratamento	Parcela	Spp	Soma	Média	S.D.
Jun.2016	Seca	C	5C	6	3.10	0.52	0.96
Jun.2016	Seca	Ca	12Ca	3	0.25	0.08	0.12
Jun.2016	Seca	Ca	17Ca	3	0.59	0.20	0.16
Jun.2016	Seca	Ca	20Ca	1	0.02	NA	NA
Jun.2016	Seca	Ca	3Ca	2	2.37	NA	NA
Jun.2016	Seca	N	10N	4	2.60	0.65	0.67
Jun.2016	Seca	N	14N	2	0.96	NA	NA
Jun.2016	Seca	N	7N	2	0.47	NA	NA
Jun.2016	Seca	NP	13NP	1	0.27	NA	NA
Jun.2016	Seca	NP	16NP	2	1.53	NA	NA
Jun.2016	Seca	NP	6NP	3	0.73	0.24	0.21
Jun.2016	Seca	NP	8NP	2	0.40	NA	NA
Jun.2016	Seca	P	15P	3	0.59	0.20	0.23
Jun.2016	Seca	P	19P	7	2.79	0.40	0.53
Jun.2016	Seca	P	4P	3	0.40	0.13	0.08
Jun.2016	Seca	P	9P	4	1.15	0.29	0.27
Set.2016	Transição	C	11C	2	1.22	NA	NA
Set.2016	Transição	C	1C	2	7.33	NA	NA
Set.2016	Transição	C	21C	1	28.11	NA	NA
Set.2016	Transição	C	5C	2	2.78	NA	NA
Set.2016	Transição	Ca	12Ca	2	0.24	NA	NA
Set.2016	Transição	Ca	17Ca	3	2.23	0.74	1.00
Set.2016	Transição	Ca	20Ca	2	0.56	NA	NA
Set.2016	Transição	Ca	3Ca	1	0.11	NA	NA
Set.2016	Transição	N	10N	1	8.00	NA	NA
Set.2016	Transição	N	14N	1	0.44	NA	NA
Set.2016	Transição	N	2N	1	5.78	NA	NA
Set.2016	Transição	N	7N	1	1.75	NA	NA
Set.2016	Transição	NP	13NP	1	6.56	NA	NA
Set.2016	Transição	NP	16NP	1	0.44	NA	NA
Set.2016	Transição	NP	6NP	2	20.33	NA	NA
Set.2016	Transição	NP	8NP	3	7.22	2.41	2.71
Set.2016	Transição	P	15P	2	0.89	NA	NA
Set.2016	Transição	P	19P	1	11.56	NA	NA
Set.2016	Transição	P	4P	2	0.44	NA	NA
Set.2016	Transição	P	9P	2	0.72	NA	NA
Nov.2016	Chuva	C	11C	1	4.00	NA	NA
Nov.2016	Chuva	C	1C	1	5.78	NA	NA
Nov.2016	Chuva	C	21C	2	2.69	NA	NA
Nov.2016	Chuva	C	5C	2	1.89	NA	NA
Nov.2016	Chuva	Ca	17Ca	1	0.22	NA	NA
Nov.2016	Chuva	Ca	20Ca	1	0.11	NA	NA
Nov.2016	Chuva	N	10N	1	0.44	NA	NA
Nov.2016	Chuva	N	14N	1	0.44	NA	NA
Nov.2016	Chuva	N	2N	2	1.28	NA	NA

Campanha	Estação	Tratamento	Parcela	Spp	Soma	Média	S.D.
Nov.2016	Chuva	N	7N	2	1.00	NA	NA
Nov.2016	Chuva	NP	16NP	2	2.67	NA	NA
Nov.2016	Chuva	NP	6NP	1	1.11	NA	NA
Nov.2016	Chuva	P	15P	3	3.09	1.03	1.52
Nov.2016	Chuva	P	19P	2	0.80	NA	NA
Nov.2016	Chuva	P	4P	2	0.01	NA	NA
Nov.2016	Chuva	P	9P	3	0.68	0.23	0.19
Floração da comunidade por campanha							
Dez.2015	Chuva	NA	NA	26	9.5	0.3654	0.29
Abr.2016	Chuva	NA	NA	43	61.75	1.436	4.52
Jun.2016	Seca	NA	NA	60	43.14	0.7191	1.84
Set.2016	Transição	NA	NA	33	106.7	3.234	6.16
Nov.2016	Chuva	NA	NA	27	26.21	0.9709	1.39

2050

2051

Anexo 3.2



2052

2053 **Figura 3.9.** Produção de flores nos diferentes tratamentos e campanhas, em área de cerrado típico. A) produção média de flores por metro quadrado em cada tratamento e campanha. B)
2054 Diferença entre a produção de flores nos tratamentos Ca, N, NP e P e o Controle, com 5000 permutações e intervalos de confiança. Área cinza: distribuição das diferenças após 5 mil permutações.
2055 Barra preta: intervalo de confiança de 95%. Se a linha preta não cruzar a linha horizontal em 0: há mais de 95% de chance de a produção de flores no tratamento ser diferente da produção no
2056 Controle. Experimento de fertilização de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Para este gráfico a produção média de flores por m² nas cinco campanhas foi agrupada para
2057 cada tratamento.

2058

2059

Anexo 3.3

2060

2061

2062

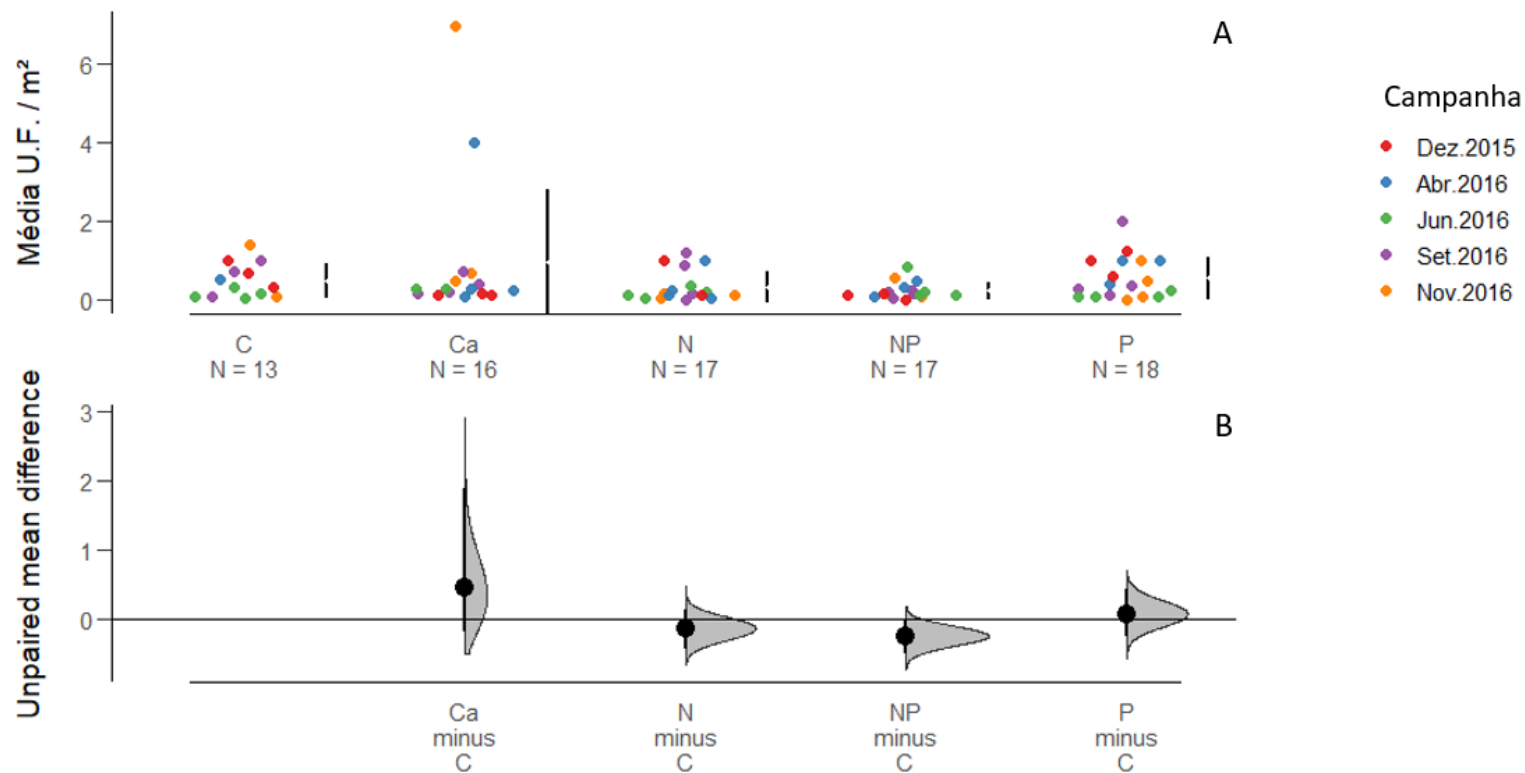
2063

2064

Tabela 3.3. Média de visitantes florais por Unidade Floral observada em cada tratamento, campanha e estação e valores considerando as campanhas como um todo, desconsiderando os tratamentos, em área de cerrado típico. Experimento de Longa Duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. S.D.= desvio padrão, n= número de indivíduos vegetais observados em cada tratamento (independente da espécie) e campanha. Apenas indivíduos vegetais que foram visitados incluídos na tabela.

Tratamento	Campanha	Estação	Visita por U.F.		
			n	Média	SD
C	Dez.2015	Chuva	5	0.67	0.33
Ca	Dez.2015	Chuva	3	0.13	0.03
N	Dez.2015	Chuva	2	0.56	0.63
NP	Dez.2015	Chuva	5	0.10	0.08
P	Dez.2015	Chuva	6	0.95	0.33
C	Abr.2016	Chuva	1	0.54	NA
Ca	Abr.2016	Chuva	10	1.15	1.90
N	Abr.2016	Chuva	6	0.35	0.44
NP	Abr.2016	Chuva	8	0.31	0.20
P	Abr.2016	Chuva	6	0.80	0.35
C	Jun.2016	Seca	13	0.16	0.11
Ca	Jun.2016	Seca	4	0.28	0.01
N	Jun.2016	Seca	7	0.18	0.13
NP	Jun.2016	Seca	6	0.33	0.35
P	Jun.2016	Seca	7	0.12	0.08
C	Nov.2016	Chuva	3	0.75	0.92
Ca	Nov.2016	Chuva	4	2.72	3.71
N	Nov.2016	Chuva	5	0.11	0.07
NP	Nov.2016	Chuva	6	0.26	0.27
P	Nov.2016	Chuva	10	0.41	0.45
C	Set.2016	Transição	6	0.60	0.47
Ca	Set.2016	Transição	11	0.37	0.26
N	Set.2016	Transição	13	0.56	0.56
NP	Set.2016	Transição	11	0.17	0.08
P	Set.2016	Transição	11	0.70	0.87
NA	Dez.2015	Chuva	21	0.48	0.43
	Abr.2016	Chuva	31	0.66	0.98
	Jun.2016	Seca	37	0.21	0.19
	Set.2016	Transição	52	0.47	0.51
	Nov.2016	Chuva	28	0.83	1.75

2065



2067

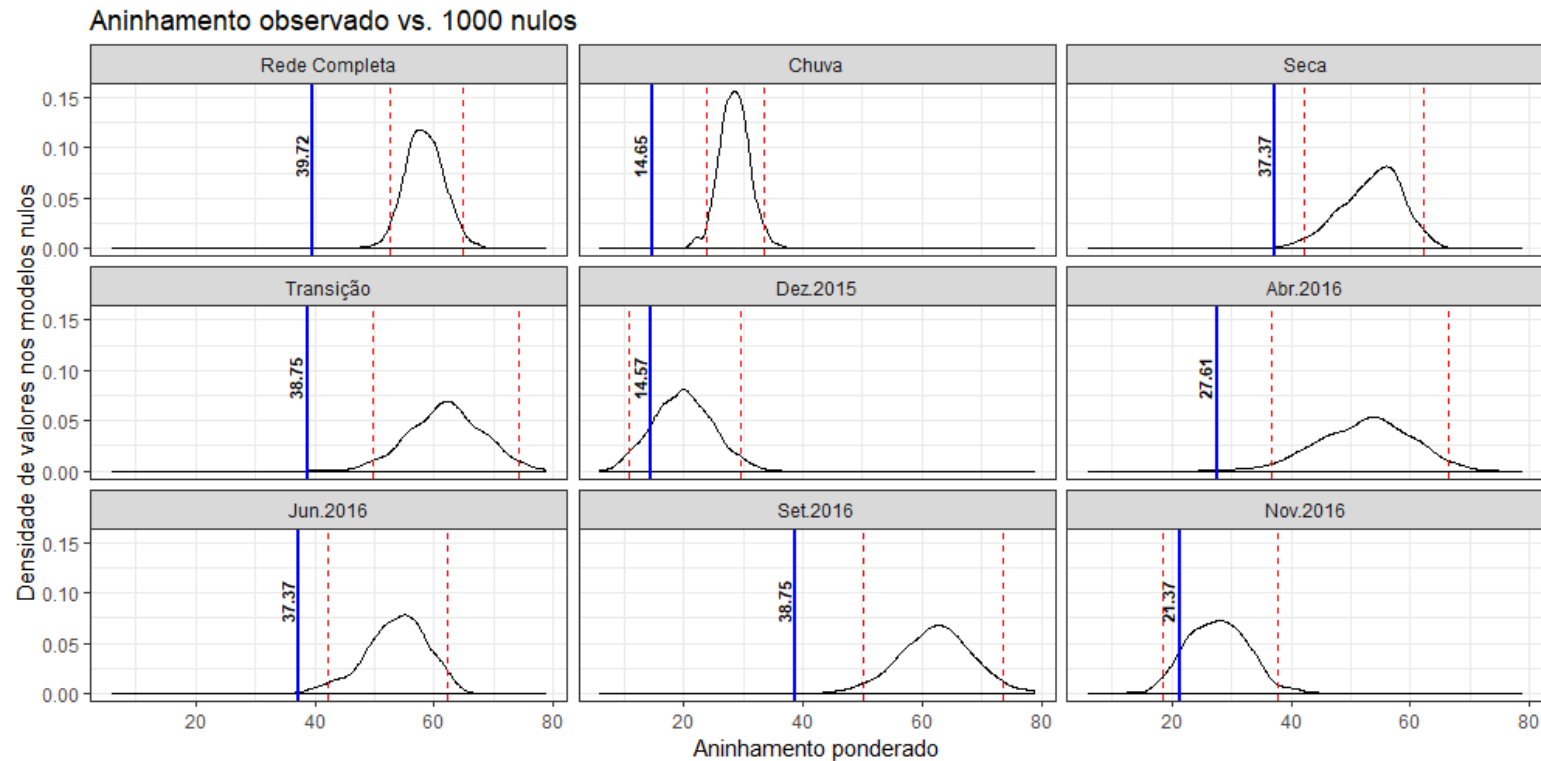
2068 **Figura 3.10.** Média de visitante florais por Unidade Floral observada nos diferentes tratamentos e campanhas, em área de cerrado típico. A) Visitação média por UF observada em cada tratamento
 2069 e campanha. B) Diferença entre a produção de flores nos tratamentos Ca, N, NP e P e o Controle, com 5000 permutações e intervalos de confiança. Área cinza: distribuição das diferenças após
 2070 5 mil permutações. Barra preta: intervalo de confiança de 95%. Se a linha preta não cruzar a linha horizontal em 0: há mais de 95% de chance de a produção de flores no tratamento ser diferente
 2071 da produção no Controle. Experimento de fertilização de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Para este gráfico, as visitas médias por UF observada em cada campanha
 2072 em um mesmo tratamento foram agrupadas.

2073

2074

2075 Anexo 3.5

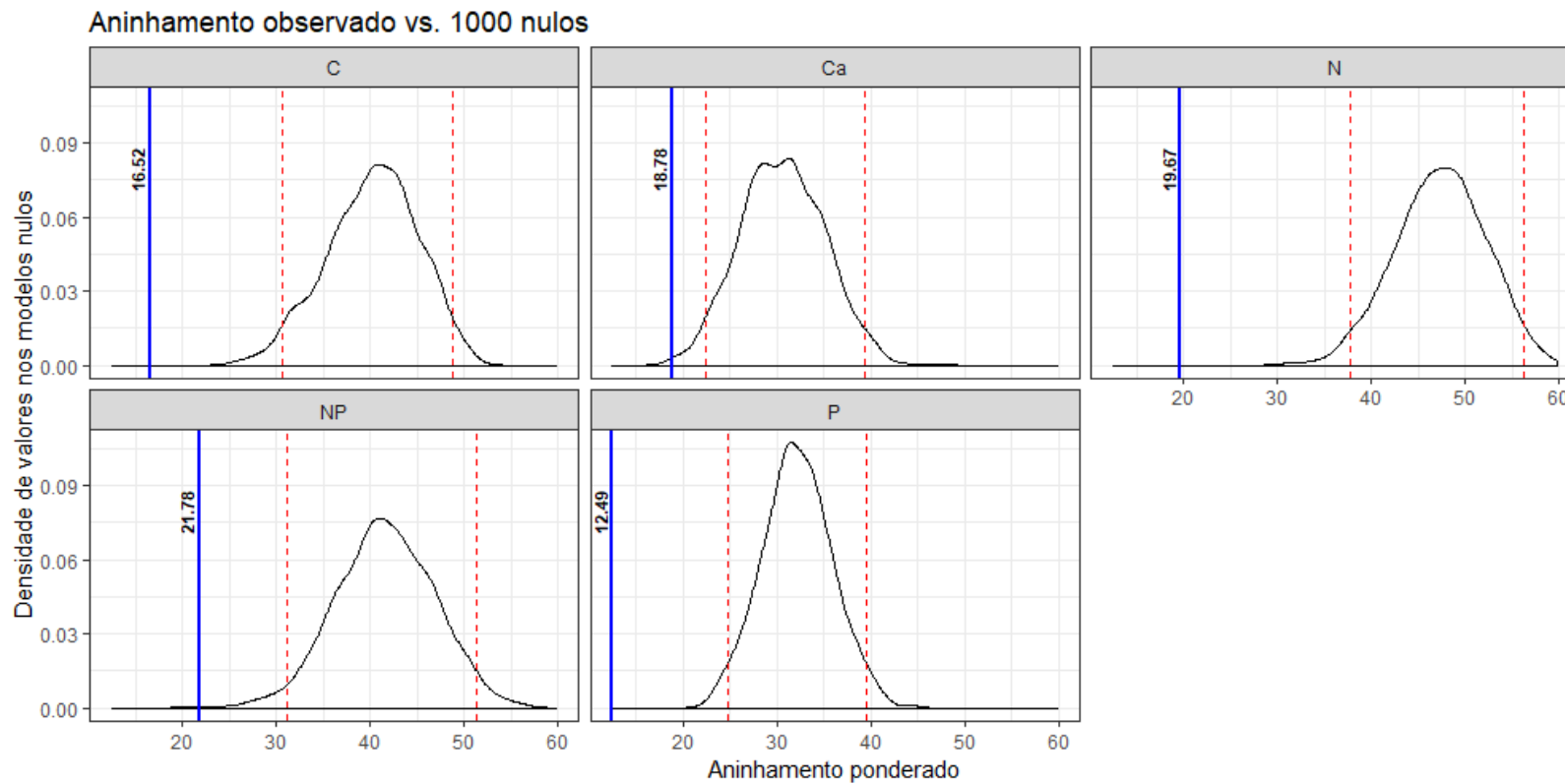
2076



2077 **Figura 3.11.** Distribuição de aninhamento ponderado em 1000 modelos nulos (curva preta), limites de 95% da área sob a curva (linha vermelha) e valor real, observado para as diferentes redes
2078 de interação entre família de visitantes e espécies vegetais (linha azul), em área de cerrado. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Modelos nulos e valores
2079 reais calculados para a Rede Completa (todas as campanhas agrupadas), estações (campanhas agrupadas de acordo com as estações do ano) e para cada rede individualmente. Se a linha azul
2080 está fora da área entre as linhas vermelhas, a probabilidade de o valor de aninhamento ponderado da rede de interação observada em campo ser igual ao de um modelo nulo (i.e. ser obtida ao
2081 acaso) é menor que 5%.

2082

2083 **Anexo 3.6**

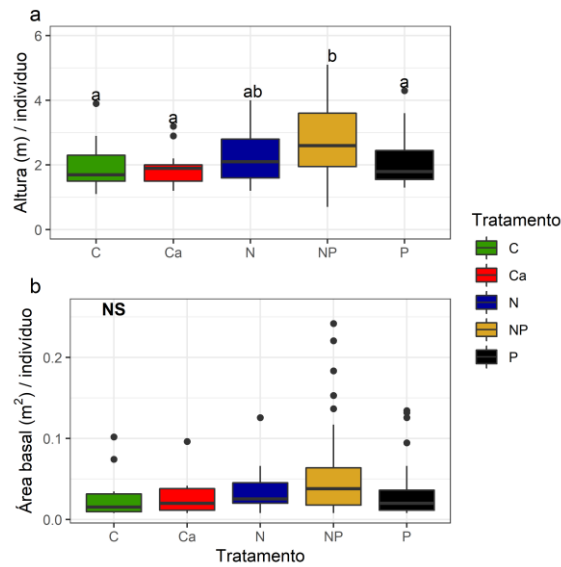


2084

2085 **Figura 3.12.** Distribuição de aninhamento ponderado em 1000 modelos nulos (curva preta), limites de 95% da área sob a curva (linha vermelha) e valor real, observado para as diferentes redes
2086 de interação entre família de visitantes e espécies vegetais (linha azul), em área de cerrado. Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Modelos nulos e valores
2087 reais calculados para os diferentes tratamentos do experimento (C, Ca, N, NP e P), agrupando os valores de visitação por UF em todas as campanhas. Se a linha azul está fora da área entre as
2088 linhas vermelhas, a probabilidade de o valor de aninhamento ponderado da rede de interação observada em campo ser igual ao de um modelo nulo (i.e. ser obtida ao acaso) é menor que 5%.

2089

2090 Anexo 3.7



2091

2092 **Figura 3.13.** Medidas (área basal e altura) de *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. (Styracaceae) com circunferência a
2093 altura do solo ≥ 10 cm, nos diferentes tratamentos, em setembro de 2017. a) Altura (m) e b) Área basal (m²) de cada
2094 indivíduo, em cada Tratamento. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do
2095 IBGE, Brasília, DF. Comparações feitas par a par com teste de Tukey HSD. Devido a distribuição não normal, os dados
2096 para área basal foram logaritimizados. Letras diferentes significam diferenças significativas ($\alpha < 0.05$) entre
2097 tratamentos. **NS**= diferenças não significativas.

2098 Capítulo 4: Efeitos de longo prazo do aumento na disponibilidade
2099 de nutrientes nas comunidades de fungos micorrízicos
2100 arbusculares de uma área de cerrado
2101

2102 Resumo

2103

2104 Entre as simbioses mais comuns entre plantas e outros organismos estão as micorrizas
2105 arbusculares. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são organismos biotróficos
2106 obrigatórios, que contribuem com a planta em diversos aspectos, entre eles tolerância a
2107 estresses e aquisição de nutrientes limitantes, particularmente fósforo (P). Porém, os FMA
2108 podem representar um grande dreno de carbono (na forma de fotossintatos) para a planta,
2109 chegando a 20% do total fixado durante a fotossíntese. Assim, caso o benefício conferido à
2110 planta por alguma espécie de FMA for menor do que o custo na forma de carbono, a simbiose
2111 pode ser desencorajada. Contudo, é necessário levar em conta que os FMA tem uma grande
2112 diversidade funcional, com espécies pertencentes a diferentes famílias ou grupos funcionais
2113 conferindo benefícios distintos às plantas (e.g. protegendo contra patógenos ou contribuindo
2114 com a nutrição) e em diferentes intensidades (e.g. contribuindo mais ou menos com a aquisição
2115 de P). Outro fator importante a ser levado em consideração é que diferentes espécies ou grupos
2116 funcionais vegetais podem ser mais ou menos dependentes das associações com FMA. Com
2117 base nessa elevada complexidade, o presente trabalho buscou avaliar como e se a comunidade
2118 micorrízica arbuscular continua alterada em uma área natural após 11 anos sem adições de
2119 nutrientes em um experimento de fertilização de longa duração instalado na Reserva Ecológica
2120 do IBGE, Brasília, DF. O experimento está localizado em uma área de cerrado típico, que possui
2121 uma ciclagem de nutrientes conservativa e mesmo sem novas adições de nutrientes continua a
2122 apresentar alterações nas características químicas do solo e na composição e diversidade
2123 florística. O experimento consiste em 20 parcelas de 15 x 15 m que receberam adição bianual
2124 de diferentes nutrientes: **1)** Tratamento N: adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de amônio
2125 ((NH₄)₂SO₄); **2)** Tratamento P: adição 100 kg/ha anuais de superfosfato simples 20% - Ca(H₂PO₄)₂
2126 + CaSO₄.2H₂O; **3)** Tratamento N+P: adição de sulfato de amônio e superfosfato simples 20%; **4)**
2127 Tratamento Ca: adição de 4 t/ha ao ano, na forma de 60% de calcário dolomítico (CaO+MgO) +
2128 40% de gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O); e **5)** Controle: sem adição de nutrientes. Essas adições
2129 foram feitas de 1998 a 2006 na transição seca chuva e chuva seca e os nutrientes foram
2130 adicionados a lanço sobre a serapilheira. Os esporos no solo foram extraídos em 2017 (em
2131 setembro), contados e identificados até o nível de família. As famílias então foram separadas
2132 em grupos funcionais que refletem características ecológicas dos FMA: Ancestrais, Edafofílicos
2133 e Rizofílicos. Tanto o número de esporos quanto a abundância das diferentes famílias e grupos
2134 funcionais foram correlacionados a características da vegetação e características químicas dos
2135 solos dos diferentes tratamentos. A calagem (Ca) teve o maior efeito sobre o número de
2136 esporos, provocando aumentos na maior parte dos casos. Os tratamentos também afetaram a
2137 abundância das famílias e grupos funcionais de FMA, havendo competição entre os FMA
2138 ancestrais e rizofílicos nos tratamentos NP e Ca, com os ancestrais tendo sua abundância
2139 aumentada, enquanto os FMA edafofílicos tiveram menor importância em todos os
2140 tratamentos. Tanto o número de esporos quanto as famílias e grupos funcionais de FMA
2141 estiveram significativamente relacionados com características da vegetação (particularmente
2142 características das Poaceae relacionadas à fotossíntese, se C3 ou C4 e à origem, se nativas ou
2143 exóticas) e de solo. É possível concluir que mesmo após 11 anos sem novas adições de
2144 nutrientes, os tratamentos e as alterações provocadas pelos mesmos na comunidade vegetal
2145 ainda tem efeitos sobre a comunidade de FMA, que difere em número de esporos e composição
2146 do que é encontrado onde não houve alterações (i.e. controle).

2147

2148 Introdução

2149

2150 Simbioses são relações ecológicas comuns em diversos tipos de ecossistemas e ocorrem
2151 quando os organismos a interagir são beneficiados. Plantas frequentemente se associam de
2152 forma mutualística, se beneficiando de diversas maneiras, por exemplo com a polinização no
2153 grupo das Angiospermas, cuja maioria das espécies dependem em maior ou menor grau de
2154 polinizadores (e que são beneficiados, por exemplo, com alimentos ricos em açúcares ou
2155 proteínas) (Nicolson 2011; Ollerton et al. 2011). São frequentes também as simbioses que
2156 facilitam a obtenção de elementos escassos ou pouco disponíveis, mas importantes para a
2157 nutrição vegetal como a associação com bactérias fixadoras de N atmosférico (Sprent 2009) e
2158 com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Smith and Read 2008).

2159 Dentre as associações com FMA, uma das mais antigas é a que ocorre com o filo
2160 Glomeromycota (micorrizas arbusculares) (Tedersoo et al. 2018), cujo fóssil mais antigo
2161 encontrado, apresentando estruturas típicas destes organismos, tem por volta de 400 milhões
2162 de anos (Taylor et al. 1995). Sua importância é tal que aproximadamente 80% das espécies
2163 vegetais se associam com estes fungos (Wang and Qiu 2006) e autores propõem que eles foram
2164 fundamentais para a colonização da terra por parte das plantas, estando entre os organismos
2165 mais importantes para a transição do ambiente aquático para o terrestre (Brundrett 2002;
2166 Rensing 2018; Hoysted et al. 2018).

2167 A especialização dos FMA é grande a ponto de eles não completarem seu ciclo de vida
2168 sem um hospedeiro vegetal: são biotróficos obrigatórios e dependem do carbono que recebem
2169 das plantas na forma de fotossintatos (Smith and Read 2008). Seu “custo” para a planta é alto,
2170 podendo representar um dreno de até 20% do carbono assimilado pela planta (Smith and Read
2171 2008). Em troca, o fungo fornece ao vegetal macronutrientes pouco acessíveis, entre eles, ao
2172 que tudo indica principalmente os macronutrientes, nitrogênio (N) e fósforo (P) (Cardoso et al.
2173 2010; Garcia and Zimmermann 2014; Mensah et al. 2015). Outros benefícios da associação
2174 também já foram identificados, como melhor tolerância ao estresse hídrico e maior resistência
2175 a patógenos (Porcel and Ruiz-Lozano 2004; Cardoso et al. 2010), dentre outros.

2176 Formando uma associação tão estreita, plantas e FMA se influenciam mutuamente, com
2177 algumas características vegetais estando fortemente relacionadas a um maior benefício com a
2178 associação e contribuindo, por sua vez, com a comunidade micorrízica (Zangaro et al. 2012;
2179 Treseder 2013; Rondina et al. 2019). Além das características vegetais, as ambientais também
2180 podem influenciar nas associações micorrízicas arbusculares, podemos citar a disponibilidade

2181 de nutrientes no solo, razão entre nutrientes, umidade e outros (Treseder 2004; Verbruggen et
2182 al. 2015; Treseder et al. 2018; Veresoglou et al. 2019; Phillips et al. 2019). Estudos indicam que
2183 há interações entre características vegetais e ambientais na estruturação e composição da
2184 comunidade micorrízica, com as mesmas se comportando de forma diferente com variações em
2185 uma mesma característica ambiental dependendo do hospedeiro (Klironomos 2003; Egerton-
2186 Warburton et al. 2007; Phillips et al. 2019): por exemplo com uma espécie de FMA conferindo
2187 um grande benefício em termos de ganho de biomassa a uma espécie vegetal e se comportando
2188 como parasita em outra, suprimindo este ganho (Klironomos 2003).

2189 Em ambientes tropicais, cujos solos são, em geral, pobres em nutrientes e
2190 intemperizados (Palm et al. 2007; Augusto et al. 2017), as micorrizas arbusculares são a forma
2191 mais comum de associação de plantas com fungos (Steidinger et al. 2019). O Cerrado é o
2192 segundo maior bioma da América do Sul, ocorrendo em grande parte de sua extensão sobre
2193 solos altamente intemperizados, ácidos, com altos teores de Al e baixa disponibilidade de P e
2194 outros macronutrientes (Fageria and Baligar 2008; Reatto et al. 2008). Ele é composto por um
2195 mosaico de tipos vegetacionais, que vão de formações florestais às campestres, sendo a
2196 vegetação savânica a mais comum do bioma, que é caracterizada por dois estratos bem
2197 definidos, um arbóreo e outro herbáceo (Ribeiro and Walter 2008). Essa coexistência de formas
2198 de vida vegetais tão diferentes em termos fisiológicos, anatômicos e mesmo sucessionais,
2199 juntamente com a alta limitação que o solo impõe sobre as plantas, indica que a avaliação das
2200 comunidades micorrízicas arbusculares e como elas influenciam e são influenciadas pela
2201 vegetação tem o potencial de ser uma importante componente do entendimento do
2202 funcionamento de área de cerrado.

2203 Outro ponto interessante de salientar é que a maioria dos estudos realizados no Cerrado
2204 sobre os FMA tem maior foco em áreas agrícolas (Miranda 2008; Vilela et al. 2014;), visto que
2205 o Cerrado é considerado um “celeiro” para produção de *commodities* (Lahsen et al. 2016) e
2206 existe forte pressão haja aumento na produção sem que haja aumento na degradação
2207 ambiental. Micorrizas arbusculares são uma forma promissora de alcançar tal objetivo, ao
2208 proteger as plantas dos altos teores de Al no solo e diminuir a necessidade de fertilizantes
2209 químicos, dentre outros benefícios (Miranda 2008; Carrenho et al. 2010; Zhang et al. 2019).
2210 Assim o conhecimento das comunidades nativas do bioma e de suas características pode
2211 contribuir para este fim. Para avaliar as comunidades de fungos micorrízicos arbusculares,
2212 existem duas metodologias principais, uma delas leva em conta os esporos (seu número e a
2213 morfologia) e outra a infecção de raízes de plantas pelos FMA. Ambas as metodologias tem
2214 vantagens e desvantagens: usando os esporos, é possível classificar as espécies, famílias e

2215 grupos funcionais observando as características dos mesmos, como tamanho, cor e
2216 ornamentação (Souza et al. 2010; Oehl et al. 2011), a desvantagem é que os esporos são
2217 estruturas de resistência e podem estar no solo, mas não ativos dentro de raízes vegetais. Já ao
2218 usar as estruturas intraradiculares dos FMA, é possível saber quão abundante são as micorrizas
2219 na comunidade vegetal, porém na maioria dos casos não é possível chegar a níveis taxonômicos
2220 mais baixos (como famílias).

2221 Estudos mostram que o Cerrado apresenta uma grande diversidade de micorrizas (Jobim
2222 et al. 2016; Calaça 2018) e que as diferentes práticas agrícolas tem elevado potencial para alterar
2223 as comunidades desses organismos (Miranda 2008; Pontes et al. 2017). Contudo, visto que os
2224 trabalhos sobre os impactos de práticas agrícolas geralmente avaliam áreas cuja vegetação
2225 original foi alterada (e.g., lavoura de soja), ainda existe a lacuna no entendimento sobre como a
2226 retirada da limitação por nutrientes por si só pode alterar as comunidades de FMA. Outra
2227 questão de investigação é se as alterações em comunidades micorrízicas arbusculares tem
2228 alguma relação com outros impactos causados pela remoção da limitação nutricional, como as
2229 observadas na comunidade vegetal (ver capítulo 2 da presente tese e referências citadas).
2230 Assim, esse trabalho tem como objetivo avaliar como a adição de nutrientes e as alterações por
2231 elas causadas no solo e sobre afetam a comunidade micorrízica arbuscular de uma área de
2232 cerrado.

2233 **Material e Métodos**

2234

2235 *Área de estudo*

2236

2237 O estudo foi realizado em um experimento de fertilização de longa duração, localizado
2238 na Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Recor IBGE), localizada
2239 em Brasília, DF (-15,943325 S; -47,878940 O). A reserva tem área de aproximadamente 1.300ha
2240 e está situada no Cerrado, bioma caracterizado por um clima com duas estações bem definidas,
2241 uma seca (abril a setembro) e outra chuvosa (outubro a março) e média pluviométrica anual em
2242 torno de 1.500 mm.

2243 O experimento teve início em 1998 (Kozovits et al. 2007) e consistiu em 5 tratamentos
2244 de fertilização aplicados a lanço sobre o solo / serrapilheira, em duas épocas: no início e final da
2245 estação seca. Cada tratamento foi aplicado em 4 parcelas de 15 x 15m (20 parcelas no total, com
2246 distância mínima entre si de 10 m), sendo cada uma dividida em 9 subparcelas de 5 x 5 m. O
2247 posicionamento das parcelas e a atribuição de cada tratamento foram feitos de forma aleatória.
2248 Os tratamentos consistiram de: **1)** Tratamento N: adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de

2249 amônio ((NH₄)₂SO₄); **2)** Tratamento P: adição 100 kg/ha anuais de superfosfato simples 20% -
2250 Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; **3)** Tratamento N+P: adição de sulfato de amônio e superfosfato
2251 simples 20%; **4)** Tratamento Ca: adição de 4 t/ha ao ano, na forma de 60% de calcário dolomítico
2252 (CaO+MgO) + 40% de gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O); e **5)** Controle: sem adição de nutrientes. No
2253 início do experimento, os solos e vegetação de todas as parcelas eram semelhantes e típicos da
2254 fitofisionomia de Cerrado típico (Kozovits et al. 2007). No início do experimento, os solos e
2255 vegetação de todas as parcelas eram semelhantes e típicos da fitofisionomia de cerrado típico
2256 (Garofalo 2001; Kozovits et al. 2007).

2257 *Amostragem de esporos de fungos micorrízicos arbusculares*

2258

2259 Neste trabalho optou-se por avaliar os esporos micorrízicos, para se ter informação
2260 sobre a composição da comunidade de FMA.

2261 A análise dos esporos foi feita em setembro de 2017, através da coleta de solo de 0 a 10
2262 cm de profundidade retiradas com ajuda de um trado. Dois “tipos” de solo foram coletados: **1)**
2263 amostras de solos na rizosfera de indivíduos de *Maprounea brasiliensis* A.St.-Hil.
2264 (Euphorbiaceae), um arbusto com até 60 cm de altura. Em cada indivíduo, os solos foram
2265 coletados em 4 pontos equidistantes (i.e. “em cruz”), ao redor dos indivíduos. Em cada um dos
2266 tratamentos, 5 indivíduos foram amostrados, totalizando 100 amostras. **2)** solos fora da zona de
2267 influência da raiz (chamado daqui para frente de “*solo da comunidade*”), retirados de locais com
2268 pouca vegetação e sempre que possível, fora da influência da copa de indivíduos arbóreos
2269 (partindo da premissa de que as raízes desses indivíduos tem aproximadamente o mesmo raio
2270 que a copa). Em cada uma das parcelas, 4 pontos foram amostrados, com um total de 16
2271 amostras por tratamento totalizando 80 amostras ao todo. Os solos **rizosféricos** representam a
2272 comunidade micorrízica arbuscular de indivíduos vegetais de uma espécie específica, com
2273 grande influência da mesma, enquanto os solos da **comunidade** representam a comunidade de
2274 FMA das áreas submetidas aos diferentes tratamentos como um todo, sem influência
2275 predominante de qualquer espécie vegetal e uma maior influência dos tratamentos.

2276 Após a coleta, uma fração de aproximadamente 50g de solo de cada ponto de
2277 amostragem (ou seja, dos quatro pontos das amostras de solo da comunidade em cada parcela
2278 e dos quatro pontos de solo rizosférico em cada indivíduo vegetal) foi usada para obter amostras
2279 compostas de 1) cada uma das 20 parcelas de esporos da comunidade e 2) de esporos de cada
2280 um dos 25 indivíduos vegetais amostrados. Dessas amostras compostas, aproximadamente 40g
2281 foram levadas para secar em estufa a 105 °C por 72h para determinação do teor gravimétrico

2282 de água em cada uma. O restante da amostra composta foi seco à temperatura ambiente (para
2283 evitar danificar os esporos). Após seca, uma fração de 50g foi usada para a extração de esporos.

2284 Para as análises, os esporos recolhidos em volta dos indivíduos da espécie alvo estão
2285 sendo considerados como representando a zona de raízes da comunidade vegetal arbustivo-
2286 arbórea, uma vez que indivíduos de *M. guianensis* ocorriam sob a copa de árvores e em meio a
2287 indivíduos com porte semelhante, como é comum em espécies arbustivas em áreas de cerrado
2288 típico.

2289 *Extração, contagem e identificação de esporos micorrízicos arbusculares*

2290

2291 Os esporos de AMF foram extraídos de amostras de 50 g de solo usando o método do
2292 peneiramento úmido (Gerdemann and Nicolson 1963). A amostra de solo foi diluída em
2293 aproximadamente 1L de água e agitada em uma batedeira por aproximadamente 40 segundos.
2294 Após isso, a solução foi deixada descansar por aproximadamente 30 segundos para que as
2295 partículas mais pesadas decantassem e então vertida com cuidado sobre peneiras de diferentes
2296 tamanhos de malha: 0.5 mm, 0.250 mm (250 μ m) e 0.002 mm (53 μ m). A primeira peneira usada
2297 para remover resíduos mais grossos da solução do solo e não retenção de esporos. Esse processo
2298 foi repetido por 6 a 7 vezes para cada amostra composta de solo. Após passar a solução esse
2299 número de vezes pelas peneiras, o que ficou retido nas peneiras de 250 e 53 μ m foi passado
2300 para dois tubos falcon de 50mL (totalizando 50 tubos falcon de 50mL para solos da zona de raiz
2301 e 40 tubos para o solo da comunidade); os esporos retidos nas peneiras duas peneiras foram
2302 mantidos e analisados separadamente. O material armazenado nos tubos ao processo de
2303 centrifugação: primeiramente com água (3000 rpm, 3 minutos), seguido pela centrifugação com
2304 solução de sacarose a 60 % (2000 rpm, 2 minutos), conforme método proposto por Jenkins
2305 (1964). Depois de terminada a centrifugação, o conteúdo do tubo foi cuidadosamente vertido
2306 sobre a peneira de 53 μ m e a sacarose enxaguada. A seguir, os esporos foram novamente
2307 passados para o tubo falcon, com 7.5mL de água, e armazenado.

2308 Essas amostras foram usadas para realizar a contagem de esporos: os 7.5mL de água
2309 com esporos foram transferidos para uma placa de petri com sulcos concêntricos com ajuda de
2310 uma pipeta e contados com ajuda de estereoscópio com aumento de 40 a 50 vezes. Após a
2311 contagem, os esporos eram transferidos novamente para os tubos falcon com 7.5mL de água e
2312 armazenados em congelador. A etapa de contagem foi realizada para todas as 40 amostras de
2313 solo de comunidade (20 da peneira de 250 μ m e 20 da peneira de 53 μ m) e 50 de solo da zona
2314 de raiz (25 da peneira de 250 μ m e 25 da peneira de 53 μ m). Após a contagem de todas as

2315 amostras, seguiu-se a etapa da montagem de lâminas e obtenção de fotos para posterior
2316 identificação. Essa etapa, foi feita apenas para as amostras de comunidade.

2317 Para a montagem das lâminas, alíquotas de 2mL foram retiradas da solução de 7.5mL
2318 (um volume de aproximadamente 27% dos 7.5mL iniciais) depois de agitadas com cuidado (para
2319 que esporos não ficassem presos na tampa do tubo), visando obter um número representativo
2320 do total de esporos da parcela na alíquota. Para verificar se a quantidade de esporos obtida
2321 dessa maneira estava próxima do esperado, os números recuperados nas alíquotas de quatro
2322 parcelas aleatórias foram contados e com isso verificou-se que a quantidade estava dentro do
2323 esperado e o procedimento foi repetido para as 16 parcelas restantes. As alíquotas foram então
2324 transferidas para um vidro de relógio e com a ajuda de um estereoscópio, os esporos foram
2325 separados de acordo com aspectos morfológicos, como cor, tamanho e ornamentação da
2326 parede tanto quanto possível e montados em lâminas semi-permanentes, utilizando-se PVLG
2327 (álcool polivinílico lacto-glicerol) e PVLG + reagente de Melzer (1:1 v/v) (Ainsworth 2008).

2328 As lâminas foram então observadas sob microscópio ótico com câmera acoplada ao
2329 computador e fotografadas no Laboratório de Biodiversidade Aquática da Universidade Católica
2330 de Brasília. Com as fotos, os esporos de AMF foram identificados até o menor nível taxonômico
2331 possível com a ajuda de especialistas da Universidade Federal de Pernambuco e consulta à
2332 literatura (e.g. Oehl et al. 2006; Oehl et al. 2008; Oehl et al. 2011). Para as análises estatísticas,
2333 os esporos foram agrupados de acordo com as famílias visando diminuir os possíveis erros de
2334 identificação (ou seja, visando ser conservativo na análise dos efeitos da fertilização do solo).
2335 Também com esse fim, os esporos de com apenas uma parede externa foram classificados como
2336 Glomeraceae *sensu lato*. Os fungos foram então divididos em três grupos funcionais que levam
2337 em conta características funcionais, das famílias de FMA, de acordo com o proposto por Weber
2338 et al. (2019): **1) Rizofílicos**: espécies cujo maior investimento de recursos é na colonização
2339 radicular das espécies vegetais, **2) Edafofílicos**: espécies cujo maior investimento é na
2340 exploração do solo, com grande produção de hifas extraradiculares e **3) Ancestrais**: espécies que
2341 apresentam baixa colonização intraradicular e poucas hifas extraradiculares (**Tabela 4.1**).

2342 No caso de famílias recém descritas ou que não foram consideradas por Weber et al.
2343 (2019), utilizou-se a nomenclatura que as mesmas tinham anteriormente. Assim, por exemplo,
2344 Scutellosporaceae foi classificada como **edafofílica**, pois anteriormente era um gênero dentro
2345 da família Gigasporaceae (Oehl et al. 2008). A espécie *Entrophospora infrequens* (a única
2346 pertencente a Entrophosporaceae), foi considerada como **ancestral**, já que estava incluída
2347 dentro de Acaulosporaceae (Sieverding and Oehl 2006) anteriormente e não foram encontradas

2348 informações na literatura sobre o investimento em hifas intra e extraradulares por parte da
 2349 espécie. A divisão nestes grupos funcionais tem sido feita em alguns trabalhos recentemente e
 2350 parece refletir características ecológicas das espécies micorrizas (Steidinger et al. 2019; Phillips
 2351 et al. 2019; Weber et al. 2019).

2352 **Tabela 4.1.** Classificação em grupos funcionais (G.F.) das diferentes famílias de fungos micorrízicos arbusculares cujos
 2353 esporos foram amostrados em solos (0 a 10 cm) de uma área de cerrado típico, no Experimento de fertilização de
 2354 longa duração. Reserva Ecológica do IBGE. **Ref**= referências usadas na classificação, *= classificação feita neste estudo,
 2355 baseado na classificação taxonômica anterior.

G.F.	Família	Ref.
Ancestral	Acaulosporaceae	1, 2
Ancestral	Entrophosporaceae	1, 3, *
Edafofílico	Dentiscutataceae	1, 4, *
Edafofílico	Gigasporaceae	1, 2
Edafofílico	Racocetraceae	1, 4, *
Edafofílico	Scutellosporaceae	1, 4, *
Rizofílico	Glomeraceae	1

2356 1. Hart and Reader 2002
 2357 2. Powell et al. 2009
 2358 3. Sieverding and Oehl 2006
 2359 4. Oehl et al. 2008

2360

2361 Análises estatísticas

2362

2363 *Abundância de esporos de micorrizas arbusculares*

2364

2365 Foi verificado se havia diferença no número médio de esporos entre tratamentos e tipos
 2366 de amostragem (*bulk soil* ou zona de raiz) usando 5 mil permutações *bootstrap* e calculando o
 2367 intervalo de confiança a 95% (Ho et al. 2018; Halsey 2019).

2368 Correlações entre número de esporos e diferentes variáveis foram verificadas.

2369 **Características físicas e químicas de amostras de solo** coletadas em 2017 (mesmo ano da coleta

2370 dos esporos), de 0 a 10 cm de profundidade (Bustamante et al., dados não publicados) foram

2371 usadas: P disponível, K⁺, Ca²⁺, Matéria Orgânica, S, Mg²⁺, Al³⁺, H+Al, Soma de Bases, Capacidade

2372 de Troca Catiônica, índice de Saturação por Bases e índice de saturação por alumínio, pH(H₂O),

2373 pH(CaCl₂) e Teor Gravimétrico de água (%). **Métricas da comunidade herbáceo-arbustiva,**

2374 obtidas no capítulo 2: Riqueza, diversidade Shannon e Equitabilidade de Pielou. Como Poaceae

2375 é uma família com alto índice de colonização por micorrizas e bastante responsiva à colonização

2376 (Zangaro et al. 2012; Treseder 2013), **a cobertura linear (cm) desta família** (obtida no

2377 levantamento de 2015, vide capítulo 2 desta tese) foi usada como variável ambiental, tanto a

2378 família como um todo como separando as espécies de acordo com os diferentes mecanismos de
2379 fixação de carbono: C4 ou C3. Para todos esses casos, a correlação de Spearman foi utilizada por
2380 não pressupor distribuição normal dos dados (Egerton-Warburton et al. 2007) e considerada
2381 significativa quando $\alpha < 0.05$. Considerou-se que as métricas da vegetação poderiam ser usadas
2382 mesmo sendo de dois anos antes da coleta de esporos porque não houve mais adições de
2383 nutrientes na área e comunidades herbáceo-arbustiva apresentam pouca variação em períodos
2384 tão curtos de tempo (e.g. Eugênio 2016). Além disso, como mostra o capítulo 2, mesmo com seis
2385 anos de intervalo, a diversidade das áreas continuou semelhante e metade das principais
2386 espécies da comunidade continuaram as mesmas nos dois períodos, especialmente Poaceae.

2387 *Grupos funcionais, famílias e espécies de micorrizas arbusculares*

2388

2389 Com as alíquotas de 2mL recuperadas do total extraído do solo, prosseguiu-se com as
2390 seguintes análises: Primeiramente, para confirmar que as alíquotas das 20 parcelas foram
2391 representativas do total extraído dos 50 g de solo, foi feita uma correlação de Spearman entre
2392 o recuperado e o total.

2393 Foi calculado o total de esporos e a abundância relativa de cada família e grupo
2394 funcional, em cada parcela e tratamento. Com base no número de esporos, ordenações NMDS
2395 para as famílias e grupos funcionais de Glomeromycota foram feitas para visualizar as diferenças
2396 entre as comunidades micorrízicas presentes nas diferentes parcelas e tratamentos. Os grupos
2397 formados foram verificados por meio de PerMANOVAs (Anderson 2001). Ambas as análises
2398 foram feitas com distância de Bray-Curtis, por ser uma análise robusta a não normalidade nos
2399 dados, e 5 mil permutações. Após isso, os valores calculados nos eixos 1 e 2 da NMDS para cada
2400 parcela foram correlacionados com as variáveis ambientais citadas (tanto de solo quanto de
2401 vegetação) através de regressões lineares e 5 mil permutações com o pacote vegan (Oksanen et
2402 al. 2007) e plotados como vetores na ordenação da NMDS.

2403 Por fim, correlações de Spearman entre as variáveis ambientais citadas acima e as
2404 diferentes famílias e grupos funcionais de micorriza foram calculadas.

2405 Todas as análises estatísticas e gráficos foram feitos no RStudio Version 1.1.456.

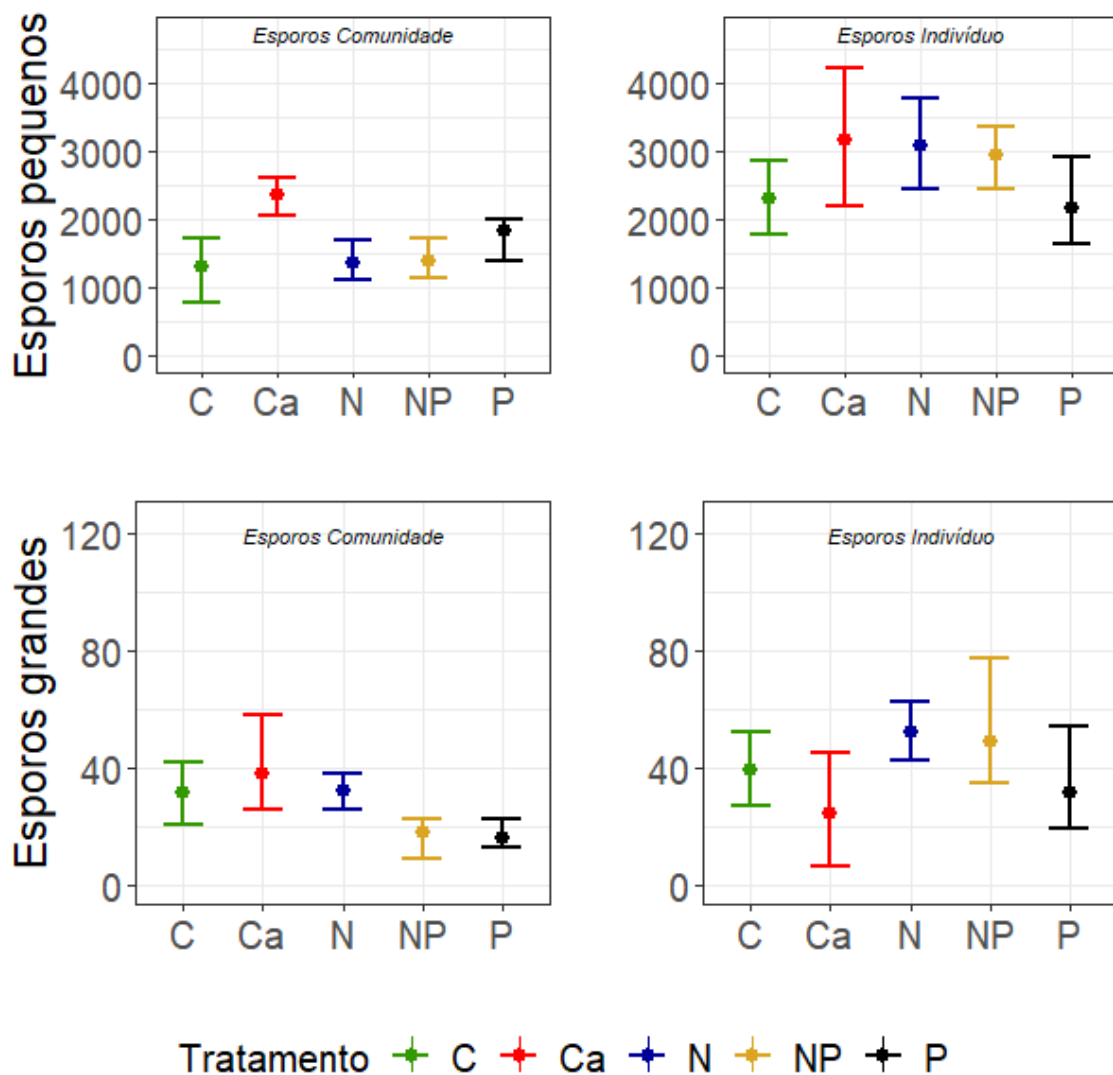
2406 Resultados

2407

2408 *Abundância de esporos micorrízicos arbusculares no solo*

2409

2410 Os esporos pequenos a intermediários (retidos na peneira de 53 μm) foram dezenas de
 2411 vezes mais numerosos que os grandes (retidos na peneira de 250 μm), em todas as parcelas e
 2412 tanto para as amostras de solo rizosférico quanto para as de comunidade. Em muitos casos, as
 2413 amostras de solo rizosférico tenderam a ter maior quantidade de esporos que as amostras de
 2414 comunidade (**Figura 4.1**): em média, 1.7 vezes a mais na malha de 53 μm e 1.5 vezes na malha
 2415 de 250 μm . As amostras do tratamento Ca apresentaram um aumento expressivo nos esporos
 2416 pequenos da comunidade, pouca alteração nos esporos pequenos e médios do solo rizosférico
 2417 e nos esporos grandes da comunidade e uma tendência a diminuição no número de esporos
 2418 grandes no solo rizosférico.



2419

2420 **Figura 4.1.** Número de esporos da comunidade micorrízica recuperados de 50 g de solo (0 a 10 cm), nos diferentes
 2421 tratamentos. **Esporos pequenos:** retidos na peneira de 53 μm (a, b) e **esporos grandes:** na peneira de 250 μm (c, d).
 2422 Esporos da comunidade (a, c) e no solo rizosférico (b, d). Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração,
 2423 na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Dados submetidos a 5.000 permutações. **Barras=** Intervalo de Confiança a
 2424 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se sobrepõem significam que há mais de 95% de chance
 2425 de as médias serem diferentes.

2426 O número de esporos esteve significativamente correlacionado com diversas variáveis
 2427 ambientais, como pode ser visto na **Tabela 4.2**. Como o número de esporos na malha de 53 µm
 2428 foi maior que os esporos na malha de 250 µm, havendo diferenças também entre esporos da
 2429 comunidade e do solo rizosférico (**Figura 4.1**), avaliou-se as correlações entre esporos e variáveis
 2430 ambientais para cada um destes quatro casos: 1) Pequenos (malha de 53 µm) e esporos de
 2431 comunidade, 2) Pequenos (malha de 53 µm) e esporos de solo rizosférico, 3) Grandes (malha de
 2432 250 µm) e esporos de comunidade e 4) Grande (malha de 250 µm) e esporos de solo rizosférico.
 2433 Houve diferenças nas relações entre os esporos em cada uma dessas quatro análises e as
 2434 variáveis ambientais (**Tabela 4.2**). Por exemplo, enquanto esporos de comunidade pequenos
 2435 estiveram fortemente correlacionados com o índice de saturação por alumínio, os esporos
 2436 pequenos do solo rizosférico só estiveram relacionados com o S disponível. Enquanto a cobertura
 2437 linear de Poaceae C4 esteve relacionada positivamente com os esporos pequenos da
 2438 comunidade, ela esteve relacionada negativamente com os esporos grandes rizosféricos.

2439 **Tabela 4.2.** Correlação de Spearman (**R**) entre número de esporos (retidos nas peneiras de 53 e 250 µm) em 50 g de
 2440 solo coletados (0 a 10 cm) na zona de raiz (**Tipo**= rizosfera) e fora dela (**Tipo**= comunidade) e variáveis ambientais.
 2441 Estão apresentadas apenas as correlações significativas ($\alpha=0.05$). **Variáveis de solo:** **V**= índice de saturação por bases,
 2442 **SB**= Soma de bases, **Ca**= Ca disponível, **t**= Capacidade de troca catiônica efetiva, **Mg**= Mg disponível, **m**= índice de
 2443 saturação por alumínio, **MO**= Matéria orgânica, **P**= P disponível, **S**= S disponível, **K**= K disponível, **pH(CaCl₂)**= acidez
 2444 potencial, **pH(H₂O)**= acidez real. **Variáveis relacionadas ao levantamento da vegetação herbáceo-arbustiva em 2015:**
 2445 **Pielou**= Equitabilidade de Pielou, **Poaceae C4**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C4, **C4 exótica**= Poaceae C4
 2446 exótica, **C4 nativa**= Poaceae C4 nativa, **Poaceae C3**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C3, **Razão C3:C4**= razão
 2447 entre as coberturas lineares de ambos os tipos fotossintéticos. Em área de cerrado típico, no Experimento de longa
 2448 duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.

Tipo	Peneira (µm)	Variável	R	p
Comunidade	53	V	0.78	0.000
Comunidade	53	pH(CaCl ₂)	0.78	0.000
Comunidade	53	SB	0.77	0.000
Comunidade	53	Ca	0.71	0.000
Comunidade	53	m	-0.67	0.001
Comunidade	53	t	0.66	0.001
Comunidade	53	C4 exótica	0.63	0.003
Comunidade	53	Mg	0.56	0.010
Comunidade	53	pH(H ₂ O)	0.55	0.011
Comunidade	53	Poaceae C3	-0.53	0.016
Comunidade	53	Poaceae C4	0.50	0.023
Comunidade	53	Razão C3:C4	-0.50	0.025
Comunidade	53	Pielou	-0.49	0.029
Comunidade	250	P	-0.61	0.004
Comunidade	250	MO	-0.49	0.029
Comunidade	250	pH(H ₂ O)	0.48	0.031
Rizosfera	53	K	-0.48	0.015
Rizosfera	53	S	0.45	0.024
Rizosfera	53	C4 nativa	-0.41	0.041

Tipo	Peneira (μm)	Variável	R	p
Rizosfera	250	m	0.65	0.000
Rizosfera	250	V	-0.56	0.004
Rizosfera	250	SB	-0.53	0.006
Rizosfera	250	Razão C3:C4	0.53	0.007
Rizosfera	250	pH(CaCl ₂)	-0.50	0.012
Rizosfera	250	Poaceae C4	-0.49	0.012
Rizosfera	250	C4 exótica	-0.46	0.021
Rizosfera	250	Poaceae C3	0.45	0.022
Rizosfera	250	Ca	-0.44	0.026
Rizosfera	250	pH(H ₂ O)	-0.40	0.049

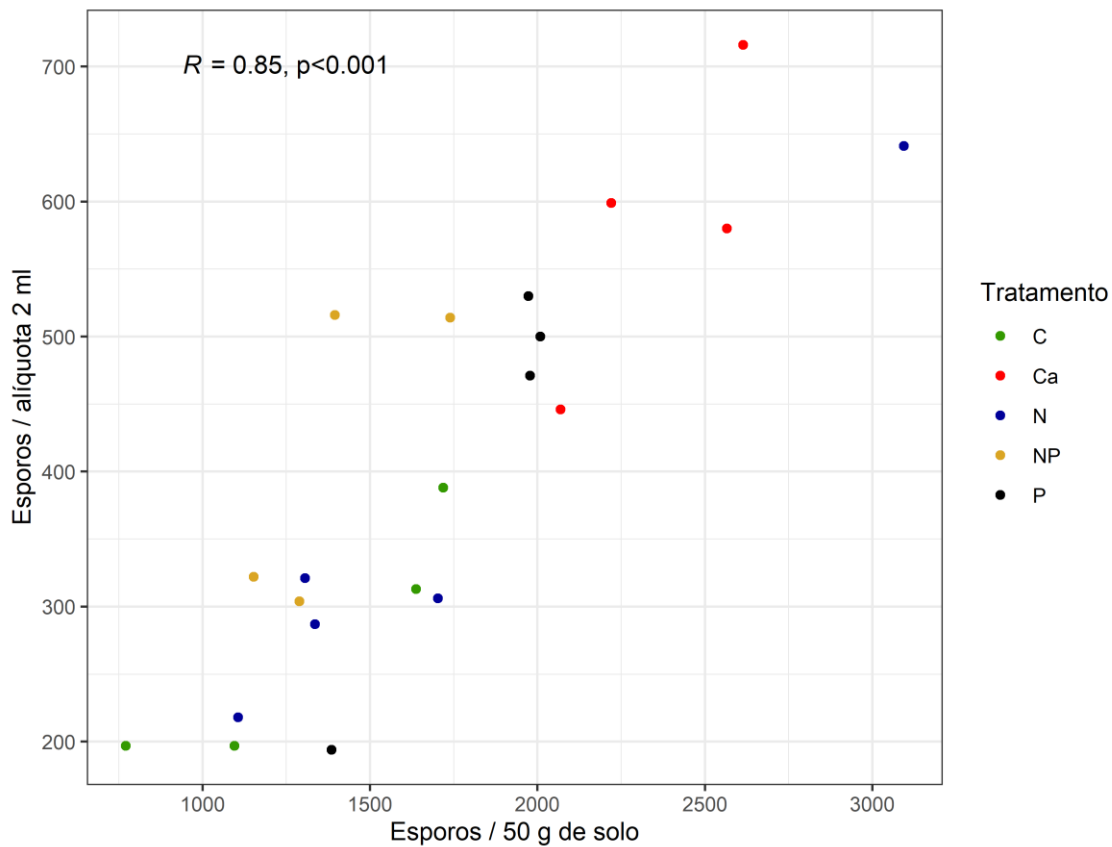
2449

2450

2451 *Comunidade micorrízica arbuscular*

2452

2453 O número de esporos recuperados na alíquota de 2mL e o total de esporos contabilizado
 2454 em 50g de solo estiveram fortemente correlacionados (**Figura 4.3**), portanto, em termos de
 2455 número de esporos, a alíquota foi representativa da quantidade total.



2456

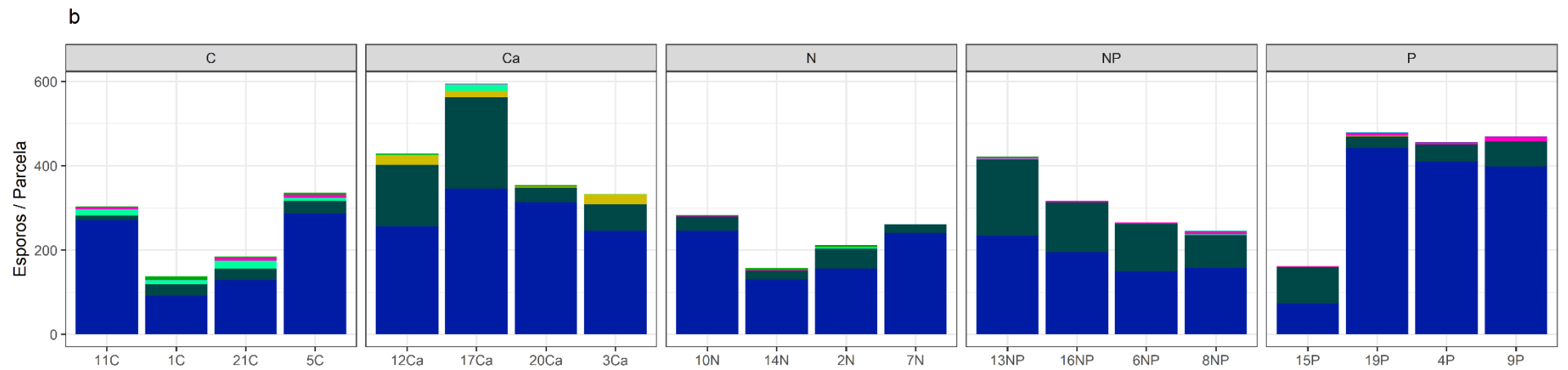
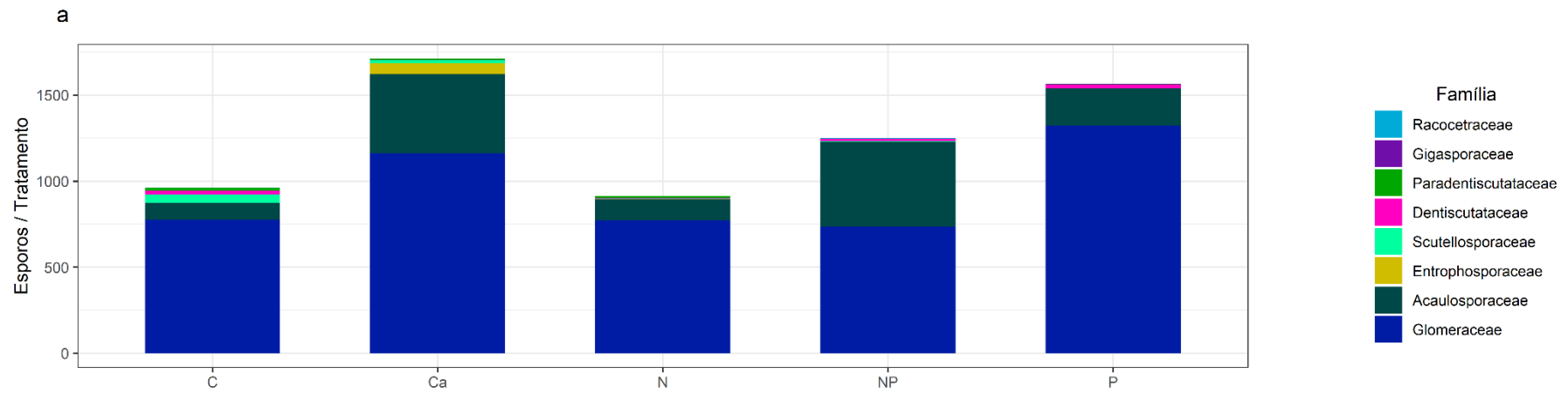
2457 **Figura 4.3.** Correlação (de Spearman) entre número de esporos extraídos em 50 g de solo (0 a 10 cm) e quantidade
 2458 de esporos recuperados nas alíquotas usadas para a montagem das lâminas de microscopia, nos diferentes

2459 tratamentos. Em área de cerrado típico, no Experimento de longa duração instalado na Reserva Ecológica do IBGE,
2460 Brasília, DF.

2461 Foram encontradas oito famílias de Glomeromycota na área do experimento, com a
2462 única família exclusiva sendo Gigasporaceae, encontrada em duas parcelas do tratamento P. Em
2463 todos os tratamentos e parcelas, Glomeraceae *lato sensu* e Acaulosporaceae foram as famílias
2464 mais abundantes (**Figura 4.4a e b**). Fica mais fácil observar as diferenças encontradas entre as
2465 famílias ao se levar em consideração a abundância relativa de cada uma em relação ao número
2466 total de esporos em uma determinada parcela ou tratamento, como mostrado nas **Figuras 4.5a**
2467 **e b**. É possível ver que famílias pouco abundantes em termos absolutos tiveram alterações em
2468 sua abundância relativa, como ocorreu com Scutellosporaceae e Dentiscutataceae, que
2469 mostraram redução de importância em relação ao controle (redução média de 4 a 12.8 e de 1.5
2470 a 9.7 vezes, respectivamente) (**Anexo 4.1**). Também se torna evidente que apesar de em
2471 números absolutos haver bastante variação no número de esporos de Glomeraceae e
2472 Acaulosporaceae, em termos de contribuição relativa, ambas as famílias juntas respondem por
2473 mais de 80% do total em todas as parcelas. Acaulosporaceae apresenta aumento de importância
2474 nos tratamentos Ca e NP (**Figura 4.4 e 4.5**), em média 2 e 3 vezes, respectivamente (**Anexo 4.1**
2475 **e 4.2**). Na maioria das parcelas, esporos de famílias rizofílicas foram os mais comuns em todos
2476 os tratamentos e parcelas e na sequência os esporos ancestrais na maioria das parcelas. No
2477 tratamento controle, no geral, foi observada uma equivalência na abundância de esporos
2478 ancestrais e rizofílicos e em duas das quatro parcelas houve maior abundância de esporos
2479 edafofílicos (**Figuras 4.6 e 4.7**).

2480

2481

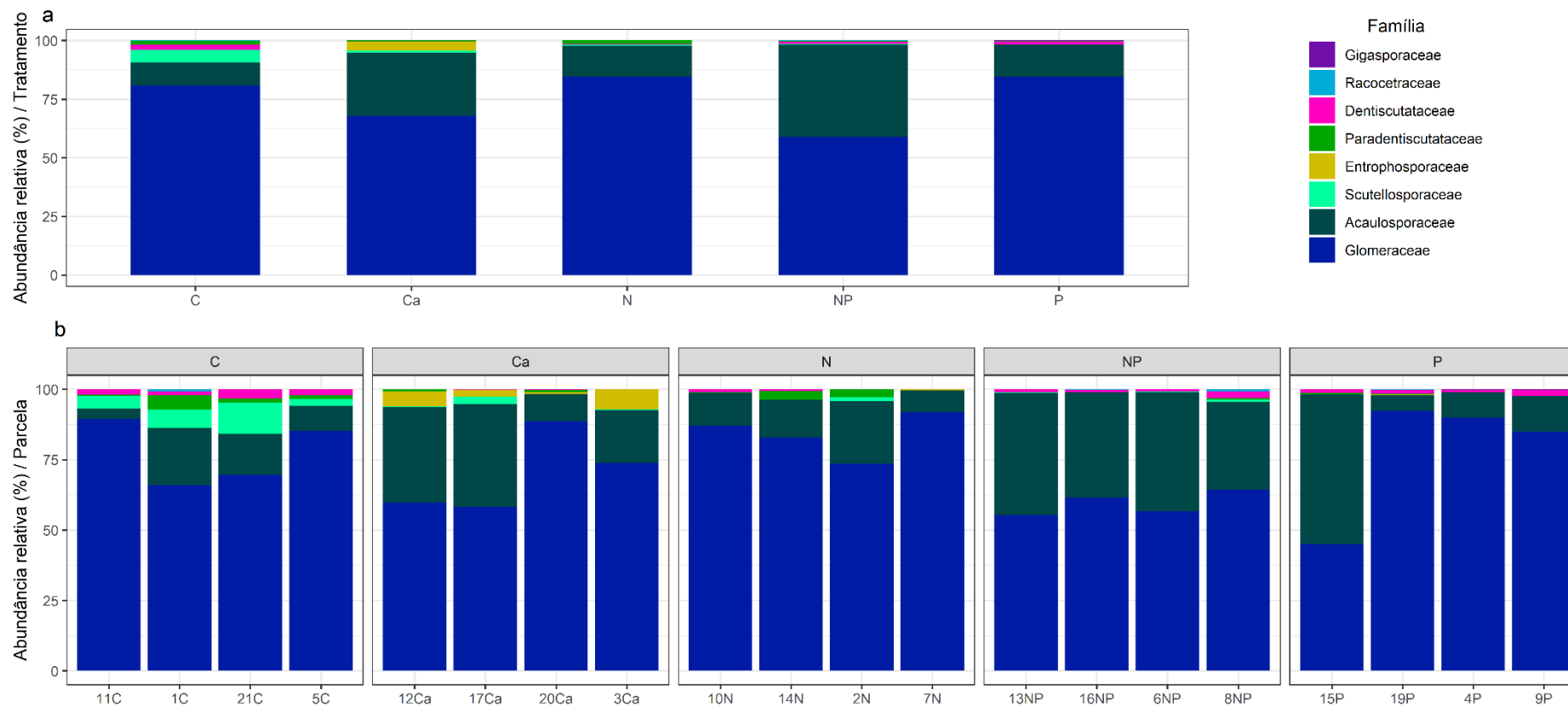


2482

2483

2484

Figura 4.4. Número de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** soma de esporos por família em cada tratamento. **b)** Soma de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.



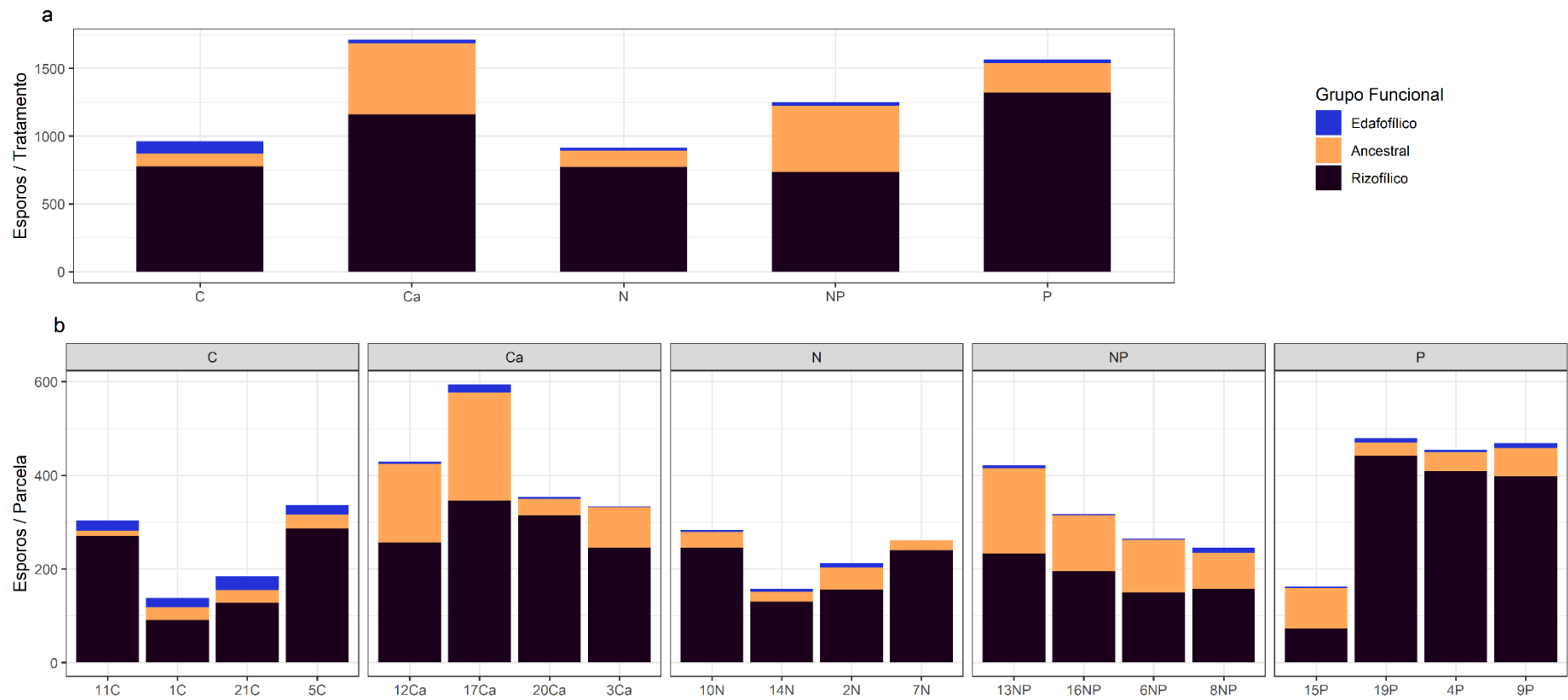
2485

2486

2487

2488

Figura 4.5. Abundância relativa (%) de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** Abundância relativa de esporos por família em cada tratamento. **b)** Abundância relativa de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.



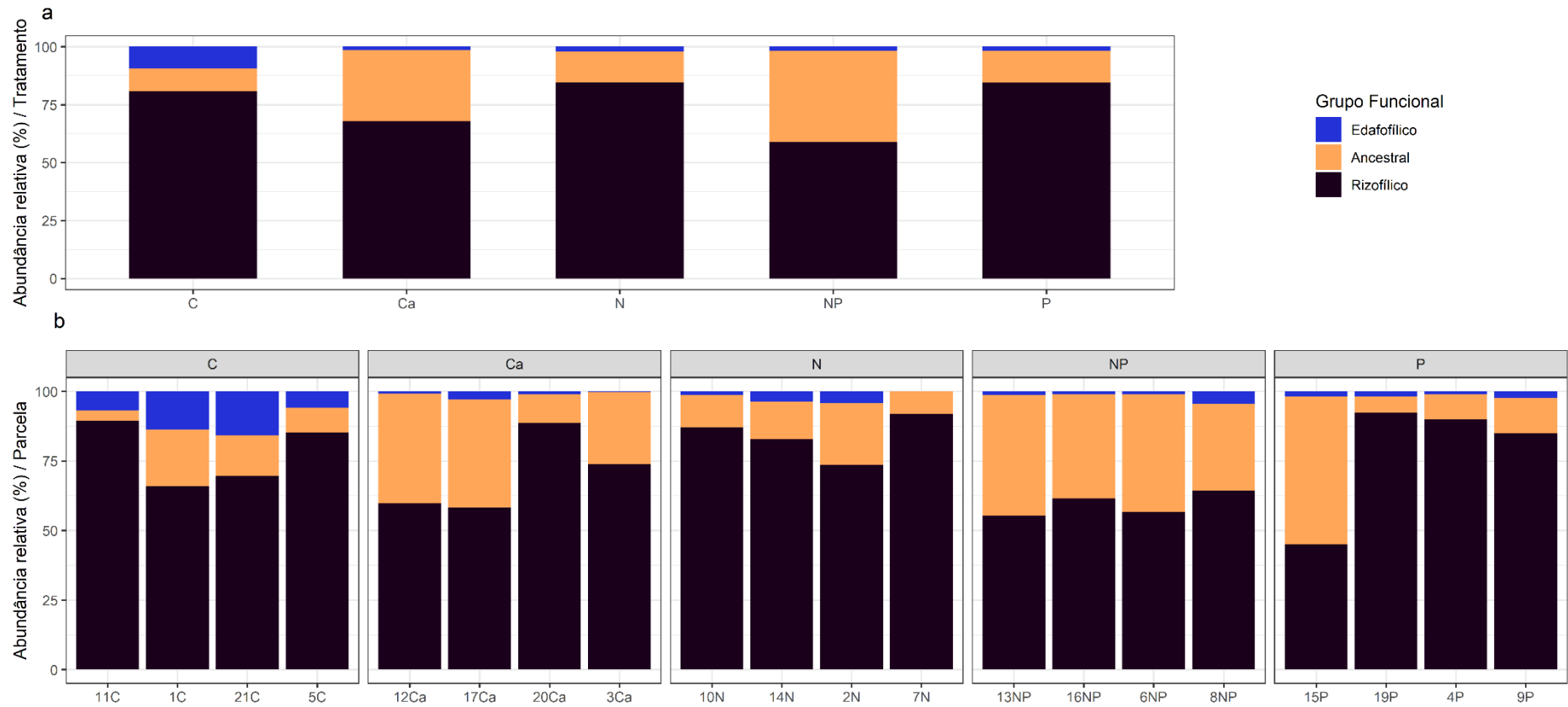
2489

2490

2491

Figura 4.6. Número de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** soma de esporos por grupo funcional em cada tratamento. **b)** Soma de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.

2492



2493

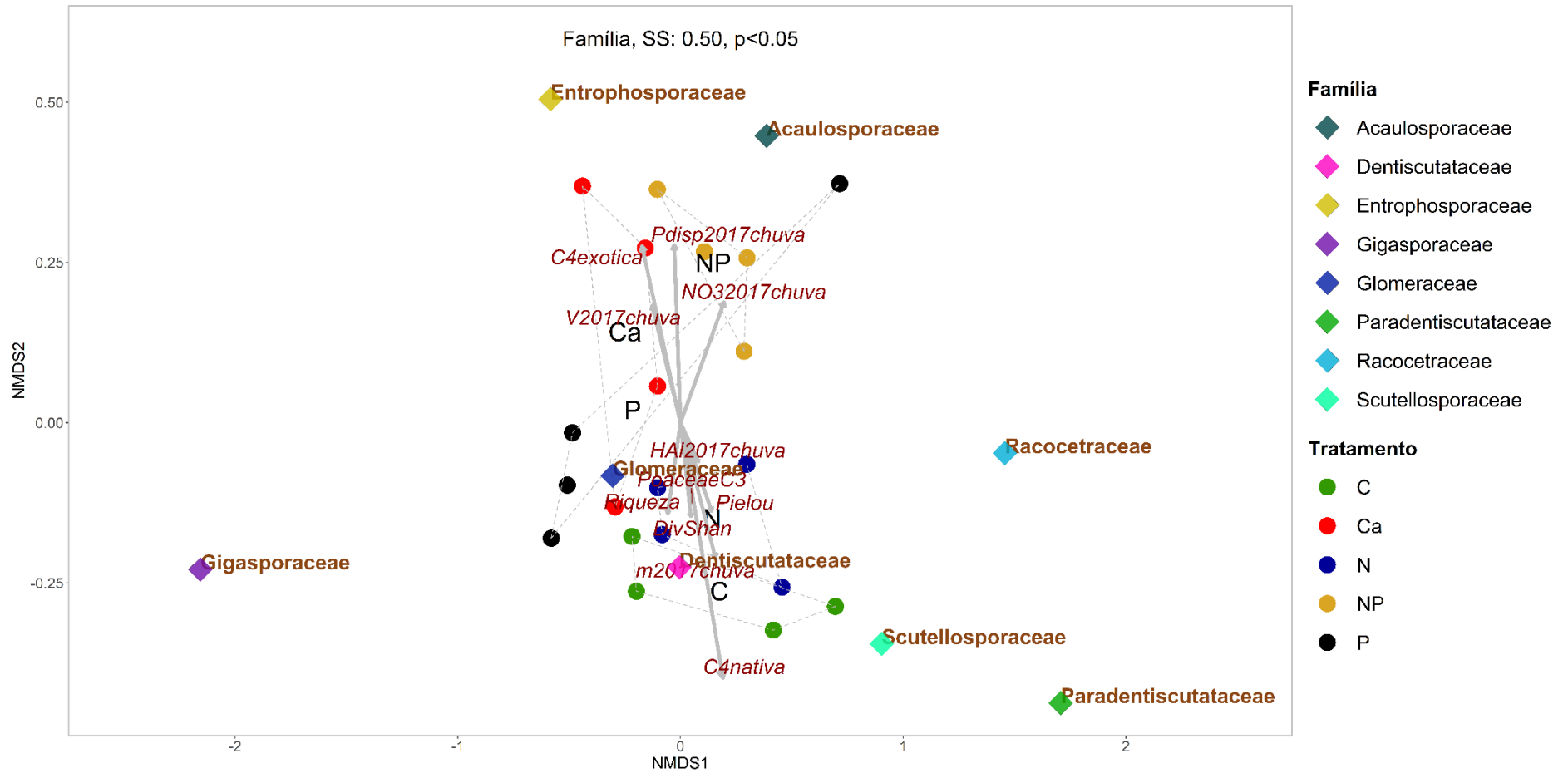
2494

2495

Figura 4.7. Abundância relativa (%) de esporos recuperados da alíquota de 2mL, extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm), por família. **a)** Abundância relativa de esporos por grupo funcional em cada tratamento. **b)** Abundância relativa de esporos em cada parcela. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.

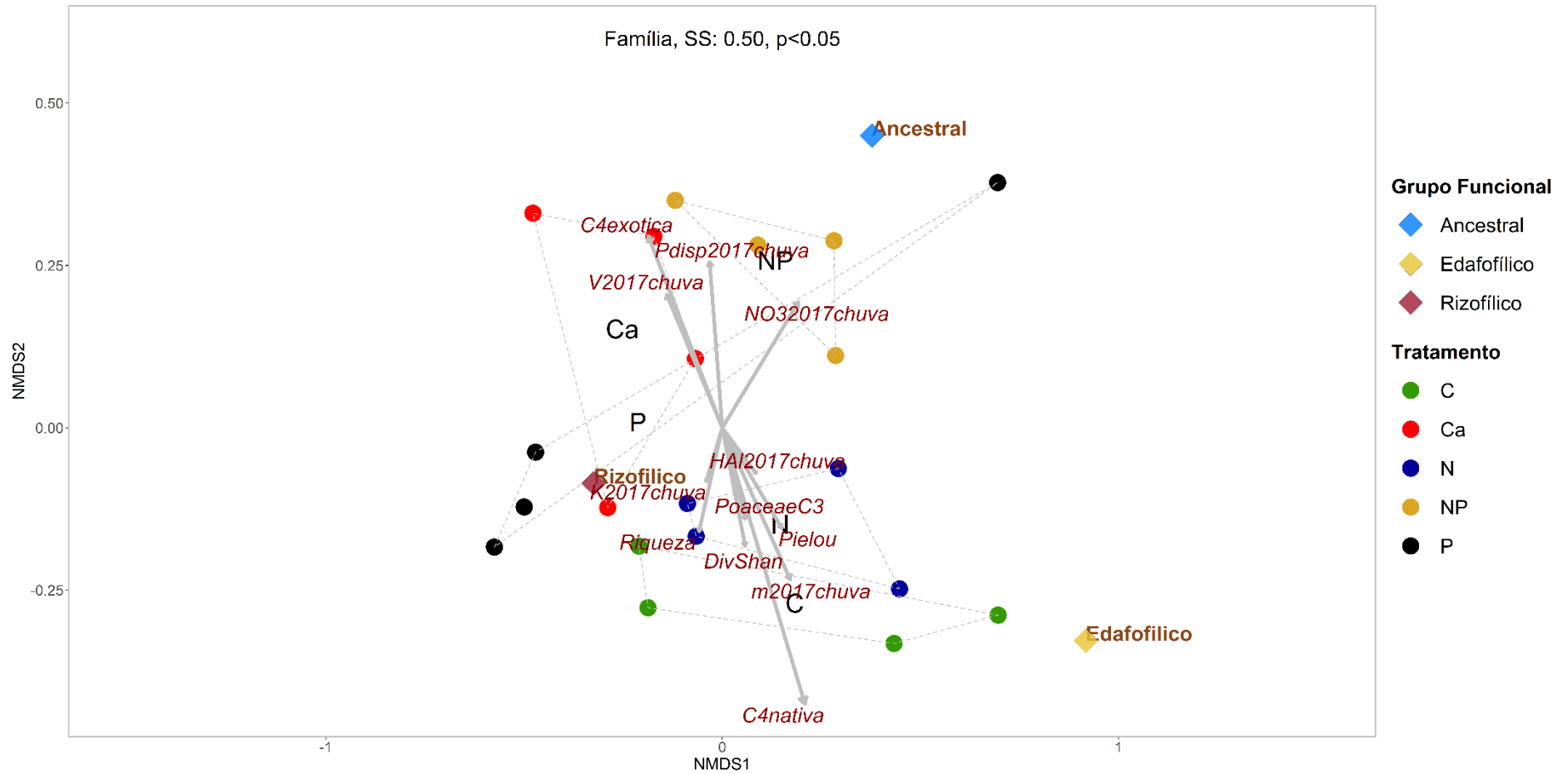
2496

2497 De forma similar ao observado com as comunidades herbáceo-arbustivas e concentrações de
2498 nutrientes foliares, houve diferenciação entre os tratamentos tanto quando consideramos as
2499 famílias de Glomeromycota (PerManova: Sum of Squares= 0.50, $p=0.0134$) como quando as
2500 agrupamos de acordo com seus grupos funcionais (PerMANOVA: Sum of Squares= 0.48,
2501 $p=0.0192$) (**Figuras 4.8 e 4.9**), já que os dois principais grupos funcionais (rizofílicos e
2502 ancestrais) dominam fortemente a comunidade. De ambas as formas, as comunidades das
2503 parcelas controle e N são mais semelhantes e relacionadas a variáveis como cobertura de
2504 espécies C4 nativas, índice de saturação por Al e diversidade Shannon. Em geral, as
2505 comunidades das parcelas do tratamento P ficam relativamente isoladas, próximas a apenas
2506 uma parcela de Ca, e as parcelas do tratamento NP aparecem próximas às do tratamento Ca e
2507 relacionadas a variáveis como cobertura de C4 exóticas, P disponível no solo, NO_3^- e índice de
2508 saturação por bases (**Figuras 4.8, Anexo 4.3**). É possível notar que, enquanto as famílias do
2509 grupo ancestral (Acaulosporaceae e Entrophosporaceae) estiveram relacionadas aos
2510 tratamentos Ca e NP, as famílias Rizofílicas (neste estudo, composta apenas por Glomeraceae)
2511 estiveram relacionadas aos tratamentos P, N e controle, enquanto as Edafofílicas (composta
2512 por Dentiscutataceae, Gigasporaceae, Diversisporaceae, Racocetraceae e Stutelosporaceae)
2513 aos tratamentos N e controle (**Figuras 4.9**).



2514

2515 **Figura 4.8.** Ordenação NMDS (distância de Bray-Curtis) dos esporos das famílias de Glomeromycota extraídos do solo (0 a 10 cm) e recuperados nas alíquotas de 2mL nos diferentes tratamentos
 2516 e resultados da PerMANOVA (com distância de Bray-Curtis). Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **SS**= Sum of Squares. **Setas**=
 2517 relação da comunidade micorrízica em cada parcela com as diferentes variáveis ambientais (solo e vegetação). Mostradas apenas aquelas com $R^2 > 10\%$; coeficientes de correlação calculados
 2518 por meio de regressão linear e 5 mil permutações.



2519

2520 **Figura 4.9.** Ordenação NMDS (distância de Bray-Curtis) dos esporos dos **grupos funcionais** de Glomeromycota extraídos do solo (0 a 10 cm) e recuperados nas alíquotas de 2mL nos diferentes
 2521 tratamentos e resultados da PerMANOVA (com distância de Bray-Curtis). Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **SS**= Sum of Squares.
 2522 **Setas**= relação da comunidade micorrízica em cada parcela com as diferentes variáveis ambientais (solo e vegetação). Mostradas apenas aquelas com $R^2 > 10\%$; coeficientes de correlação
 2523 calculados por meio de regressão linear e 5 mil permutações.

2524 Considerando as famílias e grupos funcionais isoladamente ao invés da comunidade
 2525 como um todo, é possível observar correlações com diversas variáveis ambientais, como pode
 2526 ser visto na **Tabela 4.3**. Variáveis relacionadas a características do solo foram as mais
 2527 comumente relacionadas com as famílias de micorrizas, tais como acidez e disponibilidade de
 2528 elementos potencialmente tóxicos às plantas (Índice de Saturação por Alumínio) e nutrientes
 2529 (por exemplo, P e K disponíveis). Relações significativas e positivas foram observadas entre soma
 2530 de bases, Ca, Mg e capacidade de troca catiônica e famílias de micorriza enquanto o inverso
 2531 ocorreu com o pH solo (tanto em H₂O quanto em CaCl₂). Variáveis relacionadas à vegetação
 2532 também estiveram significativamente correlacionadas com algumas famílias de micorriza,
 2533 particularmente à Scutellosporaceae. Enquanto Acaulosporaceae foi positivamente
 2534 correlacionada com espécies exóticas de Poaceae C4, Scutellosporaceae e Dentiscutataceae
 2535 estiveram positivamente relacionadas às Poaceae C4 nativas. Entrophosporaceae foi a família
 2536 com maior número de correlações significativas e parece se relacionar de forma inversa com
 2537 Dentiscutataceae: além de correlação negativa entre as duas famílias, as relações das duas
 2538 famílias com K disponível e teor gravimétrico de água tiveram direções opostas. Gigasporaceae
 2539 não esteve correlacionada significativamente com nenhuma variável analisada; ocorreu com
 2540 abundância muito baixa em apenas 2 das 20 parcelas (**Tabela 4.3**).

2541

2542 **Tabela 4.3.** Correlação de Spearman (**R**) entre número de esporos das diferentes famílias e Grupos Funcionais de
 2543 micorrizas e variáveis ambientais. Estão apresentadas apenas as correlações significativas ($\alpha=0.05$). **Variáveis de solo:**
 2544 **V**= índice de saturação por bases, **SB**= Soma de bases, **Ca**= Ca disponível, **t**= Capacidade de troca catiônica efetiva,
 2545 **Mg**= Mg disponível, **m**= índice de saturação por alumínio, **MO**= Matéria orgânica, **P**= P disponível, **S**= S disponível, **K**=
 2546 K disponível, **pH(CaCl₂)**= acidez potencial, **pH(H₂O)**= acidez real, **H+Al**= acidez potencial, **Al**= Alumínio trocável.
 2547 **Variáveis relacionadas ao levantamento da vegetação herbáceo-arbustiva em 2015:** Pielou= Equitabilidade de
 2548 Pielou, **DivShan**= Índice de diversidade Shannon, **Poaceae C4**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C4, **C4 exótica**=
 2549 Poaceae C4 exótica, **C4 nativa**= Poaceae C4 nativa, **Poaceae C3**= cobertura linear (em cm) de Poaceae C3, **Razão**
 2550 **C3:C4**= razão entre as coberturas lineares de ambos os tipos fotossintéticos, **Poaceae 2015**= Soma da cobertura linear
 2551 (em cm) de todas as espécies de Poaceae. Em área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva
 2552 Ecológica do IBGE, Brasília, DF.

Família	Variável	cor	p
Acaulosporaceae	P	0.65	0.002
Acaulosporaceae	t	0.59	0.006
Acaulosporaceae	Ca	0.59	0.007
Acaulosporaceae	C4 exótica	0.57	0.008
Acaulosporaceae	pH(CaCl ₂)	0.54	0.014
Acaulosporaceae	Razão C3:C4	-0.54	0.015
Acaulosporaceae	SB	0.53	0.017
Acaulosporaceae	Poaceae C4	0.44	0.050
Dentiscutataceae	K	0.71	0.000
Dentiscutataceae	TG	0.54	0.013
Entrophosporaceae	H+Al	-0.68	0.001

Entrophosporaceae	Al	-0.65	0.002
Entrophosporaceae	pH(CaCl ₂)	0.63	0.003
Entrophosporaceae	m	-0.63	0.003
Entrophosporaceae	K	-0.62	0.003
Entrophosporaceae	Ca	0.61	0.004
Entrophosporaceae	V	0.61	0.005
Entrophosporaceae	pH(H ₂ O)	0.59	0.006
Entrophosporaceae	SB	0.59	0.006
Entrophosporaceae	Mg	0.58	0.007
Entrophosporaceae	MO	-0.57	0.008
Entrophosporaceae	t	0.55	0.011
Entrophosporaceae	Dentiscutataceae	-0.53	0.016
Entrophosporaceae	TG	-0.46	0.040
Glomeraceae	V	0.67	0.001
Glomeraceae	SB	0.60	0.005
Glomeraceae	m	-0.55	0.012
Glomeraceae	pH(CaCl ₂)	0.54	0.015
Glomeraceae	Ca	0.48	0.031
Glomeraceae	Gigasporaceae	0.46	0.040
Glomeraceae	pH(H ₂ O)	0.45	0.044
Diversisporaceae	C4 nativa	0.67	0.001
Scutellosporaceae	Pielou	0.76	0.000
Scutellosporaceae	DivShan	0.68	0.001
Scutellosporaceae	C4 nativa	0.62	0.004
Scutellosporaceae	Poaceae 2015	-0.44	0.050
Grupo Funcional			
Ancestral	P	0.64	0.002
Ancestral	Ca	0.62	0.004
Ancestral	t	0.61	0.004
Ancestral	C4 exótica	0.60	0.005
Ancestral	pH(CaCl ₂)	0.58	0.008
Ancestral	SB	0.56	0.011
Ancestral	Razão C3:C4	-0.56	0.011
Ancestral	PoaceaeC4	0.47	0.038
Edafofílico	C4 nativa	0.71	0.000
Edafofílico	Pielou	0.54	0.014
Edafofílico	DivShan	0.54	0.014
Edafofílico	K	0.52	0.018
Edafofílico	S	-0.48	0.032
Rizofílico	V	0.67	0.001
Rizofílico	SB	0.60	0.005
Rizofílico	m	-0.55	0.012
Rizofílico	pH(CaCl ₂)	0.54	0.015
Rizofílico	Ca	0.48	0.031
Rizofílico	pH(H ₂ O)	0.45	0.044

2554 **Discussão**

2555

2556 Estudos abordando a comunidade de FMA em solos de áreas naturais de Cerrado ainda
 2557 são escassos. No presente estudo, a abundância de esporos por 50g de solo foi alta e maior que
 2558 a relatada em outros estudos realizados em áreas de cerrado típico, que em média fica em torno
 2559 de 5,5 por grama de solo (**Tabela 4.4**), enquanto neste trabalho o número variou de 27 a 64 por
 2560 grama.

2561 Visto que fungos micorrízicos arbusculares necessitam de hospedeiros vegetais para
 2562 completar seu ciclo de vida, é esperado que características da vegetação tenham grande
 2563 influência sobre suas comunidades e, de fato, diversos trabalhos tem apontado para isso
 2564 (Hoeksema et al. 2010; Zangaro et al. 2012; Zobel and Öpik 2014; Banerjee et al. 2019; Weber
 2565 et al. 2019). Por exemplo, em área de Mata Atlântica, foi verificado que vegetação mais aberta,
 2566 mais semelhante a campos, apresenta maior quantidade de esporos que áreas com vegetação
 2567 secundária, que por sua vez tem maior quantidade de esporos que a vegetação clímax (Zangaro
 2568 et al. 2012). Assim, é provável que características da vegetação (como porte e forma de vida
 2569 dominante) das áreas sob estudo estejam entre os motivos para as diferenças encontradas no
 2570 número de esporos entre os diferentes estudos (**Tabela 4.4**). Neste estudo foi possível detectar
 2571 variabilidade mesmo em uma área de 15 m², entre coletas de solos da comunidade e solo
 2572 rizosférico: o número de esporos na zona de raiz foi consistentemente maior que em solos não
 2573 associados a raízes de plantas (**Figura 4.1**).

2574 **Tabela 4.4.** Densidade de esporos por grama de solo encontrados em diferentes estudos em áreas do bioma Cerrado,
 2575 em diversas fitofisionomias, em solo de áreas naturais. **Vegetação**= tipo de vegetação informado pelos autores (ainda
 2576 que não seja uma fitofisionomia formalmente reconhecida); **Prof.**= Profundidade de coleta dos esporos, **Eporos.g**=
 2577 Densidade de esporos por grama de solo amostrado, **Área**= nome dados pelos autores do trabalho para as áreas de
 2578 amostragem (no caso deste trabalho, cada um dos tratamentos), **Tipo**= Para este estudo, se os solos vieram da área
 2579 de zona de raiz (“rizosfera”) ou da comunidade. **Ref**= Referência do trabalho. Número entre parênteses= Desvio
 2580 Padrão do número de esporos no tratamento.

Vegetação	Prof.	Esporos.g	Área	Tipo	Ref.
Cerrado típico	0 a 20	9	CSI	NA	Pontes et al 2017
Cerrado típico	0 a 20	11	CSII	NA	Pontes et al 2017
Cerrado típico	0 a 20	10	CSIII	NA	Pontes et al 2017
Mata semidecídua	0 a 20	0.88	Mata	NA	Correia et al 2004
Cerrado típico	0 a 20	1.9	Cerrado	NA	Correia et al 2004
Cerrado típico	0 a 5	3.62	CN	NA	Martins et al 1999
Cerrado típico	0 a 5	5.2	CN	NA	Martins et al 1999
Floresta Ripária	0 a 10	5.26	RF	NA	Fernandes et al 2016
Floresta Ripária	0 a 10	5.62	RF	NA	Fernandes et al 2016
Sandy Bog	0 a 20	1.6	sb1	NA	Carvalho et al 2011
Peat Bog	0 a 20	1.4	pb1	NA	Carvalho et al 2011

Vegetação	Prof.	Esporos.g	Área	Tipo	Ref.
Rocky Outcrop	0 a 20	2.4	ro1	NA	Carvalho et al 2011
Quartz Gravel Field	0 a 20	15	qf1	NA	Carvalho et al 2011
Cerrado	0 a 20	4	ce1	NA	Carvalho et al 2011
Cerrado típico	0 a 10	27 (9)	C	Comunidade	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	48 (5)	Ca	Comunidade	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	28 (5)	N	Comunidade	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	28 (5)	NP	Comunidade	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	37 (6)	P	Comunidade	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	47 (12)	C	Rizosfera	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	64 (22)	Ca	Rizosfera	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	63 (15)	N	Rizosfera	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	60 (11)	NP	Rizosfera	Este estudo
Cerrado típico	0 a 10	44 (16)	P	Rizosfera	Este estudo

2581

2582 Dentre as variáveis com alta correlação com o número de esporos, estão características
2583 da vegetação herbáceo-arbustiva, notadamente as relacionadas às espécies de Poaceae, tanto
2584 para esporos de comunidade quanto para as amostras de solo rizosférico. As amostras de
2585 comunidade foram coletadas tomando-se o cuidado de evitar pontos próximos a áreas com
2586 grande concentração de plantas ou embaixo da copa de indivíduos arbóreos grandes, ainda
2587 assim, é provável raízes infectadas por FMA tenham sido amostradas, mas a influência de raízes
2588 ativas da vegetação teria sido menor que nos solos coletados em pontos mais densamente
2589 vegetados. Além disso, esporos são estruturas de resistência e é possível que as correlações
2590 entre esporos coletados no solo da comunidade e características da vegetação reflitam ao
2591 menos parcialmente a dinâmica da vegetação ao longo do tempo.

2592 Vários trabalhos tem sugerido que Poaceae é uma família importante para a
2593 comunidade de FMA, sendo altamente generalistas em suas associações (mais que espécies
2594 arbustivas, por exemplo, ainda que a especificidade seja baixa em ambos os casos; Sepp et al.
2595 2019) e que, entre elas, as Poaceae C4 são particularmente beneficiadas pela associação
2596 (Treseder 2013). Quando considerando apenas as associações com micorrizas arbusculares em
2597 uma metanálise com 420 estudos, Hoeksema et al. (2010) verificaram que o grupo funcional das
2598 plantas (se C3 ou C4, associada ou não com bactérias fixadoras de N) foi mais importante para
2599 explicar a resposta aos fungos micorrízicos arbusculares do que a fertilização com N e P e P
2600 isoladamente.

2601 Neste estudo, os grupos funcionais Poaceae C3 e C4 também se comportaram de
2602 formas distintas entre si. Enquanto Poaceae C3 (aqui representada exclusivamente por
2603 *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase) mostrou uma correlação negativa com a abundância de

2604 esporos no solo, o grupo Poaceae C4 exóticas correlacionou-se positivamente com esporos da
2605 comunidade. Ainda que não tenha sido significativa para os esporos da comunidade, a
2606 correlação entre Poaceae C4 nativa e número de esporos também foi negativa. Isso pode ser
2607 devido ao fato de, como mencionado no capítulo 2, as espécies nativas estarem adaptadas aos
2608 baixos níveis de nutrientes no solo, particularmente P (os tratamentos N e controle
2609 apresentaram baixa disponibilidade P no solo) e, portanto, dependerem menos da associação
2610 com FMA para manterem os níveis do elemento dentro de limite adequados em seus tecidos.
2611 Por outro lado, o capim gordura (*Melinis minutiflora* P. Beauv.), principal espécie exótica na área,
2612 é reconhecidamente limitado pela disponibilidade de P (Baruch 1996; Barger et al. 2003; Lannes
2613 et al. 2016). De todos os tratamentos, aqueles com maior tendência de aumento na abundância
2614 de esporos foi o tratamento Ca. Este tratamento apresenta baixos teores de P e foi invadido
2615 pelo capim gordura e assim, é possível que no tratamento Ca a baixa disponibilidade de P,
2616 somado à invasão por uma espécie exótica C4 com alta demanda por este nutriente esteja entre
2617 os responsáveis pelos aumentos observados no número de esporos. Neste contexto, é
2618 importante mencionar que estudos demonstram que espécies vegetais exóticas podem não só
2619 se integrar, como serem beneficiadas por comunidades micorrízicas locais, em certas condições
2620 até mesmo em detrimento de espécies vegetais nativas (Klironomos 2003; Zangaro et al. 2018).

2621 Variáveis relacionadas à acidez do solo e disponibilidade de elementos potencialmente
2622 tóxicos às plantas também estiveram por várias vezes fortemente correlacionadas com o
2623 número de esporos no solo. Dentre elas, as relações foram positivas com o índice de Saturação
2624 por bases, soma de Bases e pH e negativa com o índice de saturação por Al (**Tabela 4.3**). Outros
2625 estudos também detectaram influência dessas variáveis sobre a comunidade micorrízica
2626 arbuscular (Pontes et al. 2017; Calaça 2018). A disponibilidade de Al (que por sua vez tem
2627 correlação positiva com o pH e negativa com a saturação de bases do solo) parece influenciar
2628 negativamente a germinação de esporos de algumas espécies de FMA (Moreira and Siqueira
2629 2002) e assim, de forma geral é esperado que condições de acidez intermediárias favoreçam as
2630 comunidades deste fungos como um todo, apesar de haver grande diversidade fisiológica entre
2631 as diferentes espécies e algumas serem beneficiadas em pH mais baixos ou mesmo
2632 relativamente indiferentes ao pH do solo (Moreira and Siqueira 2002; Maia et al. 2010).

2633 Dada a grande diversidade fisiológica e funcional encontradas em Glomeromycota (Hart
2634 and Reader 2002; Klironomos 2003; Egerton-Warburton et al. 2007; Hoeksema et al. 2010;
2635 Mensah et al. 2015), a identificação das famílias e seu agrupamento de acordo com
2636 características ecológicas podem se mostrar importantes para melhor compreender os efeitos
2637 de alterações no solo (como alterações nos teores de nutrientes e pH) e na comunidade vegetal

2638 sobre a comunidade destes fungos. Neste trabalho, é possível verificar que mesmo com a
2639 variação relativamente pequena na abundância absoluta de esporos entre tratamentos, a
2640 abundância relativa dos diferentes grupos (famílias ou grupos funcionais) parece ter mudado
2641 significativamente.

2642 As associações com FMA são altamente complexas e podem ser afetadas por múltiplos
2643 fatores, indo de características do vegetal (por exemplo, trabalhos indicam que plantas
2644 associadas a bactérias fixadoras de N pode ter maior benefício com a associação com AMF, ver
2645 Treseder 2013) à própria espécie de FMA, passando por características edáficas e até mesmo
2646 características genéticas de ambos os parceiros (Klironomos 2003; Mensah et al. 2015). Ainda
2647 assim, padrões comuns às famílias e grupos funcionais tem sido identificados. Entre algumas das
2648 características comumente consideradas em estudos sobre ecologia de micorrizas arbusculares
2649 estão o investimento em hifas intra e extraradiculares e a velocidade de colonização de raízes
2650 (Hart and Reader 2002; van der Heijden and Scheublin 2007; Powell et al. 2009). Assim, as
2651 famílias Scutellosporaceae, Gigasporaceae, Dentiscutataceae, Diversisporaceae e
2652 Racocetraceae tem um alto investimento na produção de hifas exploratórias (extraradiculares),
2653 que são robustas, em geral. Por outro lado, espécies de Glomeraceae costumam investir pouco
2654 em hifas extraradiculares e mais em hifas intraradiculares. Acaulosporaceae e Entrophosporaceae
2655 (ao menos a única espécie da família encontrada neste estudo: *E. infrequens*) produzem pouca
2656 quantidade de hifas, que são em geral delicadas, tanto fora quanto dentro das raízes vegetais.

2657 O agrupamento nos referidos grupos funcionais, propostos por Hart and Reader (2002)
2658 tem uma boa concordância com o proposto mais recentemente, por Chagnon et al. (2013), que
2659 procurou usar a nomenclatura já usada para plantas e expandida para outros grupos, que leva
2660 em conta a tolerância a distúrbio ou estresse dos organismos (Grime 1979). Com esta
2661 nomenclatura, as famílias de FMA são divididas em: **ruderais**, associadas a ambientes que
2662 sofrem distúrbios frequentes, com pouco investimento em hifas extraradiculares, que tem baixo
2663 custo de carbono (de forma geral, as rizosféricas na classificação de Hart), **tolerantes a estresse**,
2664 que seriam as com ciclo de vida mais lento, com boa eficiência no uso de nutrientes e tolerância
2665 a situações desfavoráveis como baixo pH ou baixas temperaturas (as ancestrais na outra
2666 classificação) e por fim, no grupo das **competidoras**, as espécies estariam associadas a
2667 ambientes com distúrbios pouco frequentes e baixos níveis de estresse (as edafófilas segundo
2668 Hart and Reader 2002).

2669 Espécies com maior investimento em hifas extraradiculares (que tem sido agrupadas
2670 dentro das espécies edafófilas ou tolerantes), tem maior capacidade de exploração do solo e

2671 parecem estar associadas a um maior benefício nutricional ao hospedeiro, por exemplo
2672 aumentando os teores de P nos mesmos (Powell et al. 2009). Neste estudo, é possível ver que
2673 essas famílias estiveram associadas principalmente às parcelas controle e N (**Figuras 4 a 7**). Entre
2674 as variáveis que estiveram correlacionadas com estas espécies, é interessante notar as
2675 associações positivas com características da vegetação nativa: equitabilidade, diversidade
2676 Shannon, cobertura de Poaceae C4 nativas. Este resultado está de acordo com o encontrado por
2677 Weber et al. (2019), que estudando comunidades nativas e invadidas por espécies exóticas na
2678 Califórnia, verificou que espécies edafófilas estiveram mais associadas aos arbustos nativos
2679 que a espécies de Poaceae invasoras.

2680 Glomeraceae foi a única família no grupo das micorrizas arbusculares rizofílicas (ruderais
2681 na classificação de Chagnon et al. (2013)). Este grupo de micorrizas parece estar associado
2682 fortemente a Poaceae (Weber et al. 2019), contudo neste estudo não apresentou correlações
2683 significativas com variáveis da vegetação (apesar disso, a correlação foi negativa com Poaceae
2684 C4 nativa e positiva com Poaceae C4 exótica) (**Tabela 4.3**). Essa família esteve relacionada com
2685 níveis intermediários de saturação por bases e pH e enquanto em termos absolutos produziu
2686 mais esporos no tratamento P, em termos relativos ela não foi afetada pelo tratamento (**Figuras**
2687 **4.4, 4.5 e 4.8**). Espécies desta família por vezes são associadas a um ciclo de vida “ruderal”: altas
2688 taxas de crescimento, alto investimento em reprodução e ciclo de vida rápido (Chagnon et al.
2689 2013). Além disso, estudos indicam que Glomeraceae pode ser beneficiada por uma maior
2690 fertilidade do solo (Treseder and Allen 2002; Egerton-Warburton et al. 2007; Carrenho et al.
2691 2010), estando entre as famílias menos afetadas, por exemplo, pela deposição de N na
2692 metanálise de Treseder et al. (2018). Por fim, como essa família parece ter uma baixa demanda
2693 por carbono (Egerton-Warburton et al. 2007), é possível que mesmo em áreas com altas
2694 concentrações de P no solo, o custo fotossintético da associação tenha sido baixo o suficiente
2695 para que ela não fosse prejudicada. Em termos absolutos, a família foi beneficiada nas parcelas
2696 do tratamento Ca e não foi afetada pelo tratamento NP, mas em termos relativos perdeu
2697 importância em ambos os tratamentos, principalmente devido a família Acaulosporaceae
2698 (**Anexo 4.3**).

2699 Acaulosporaceae foi beneficiada em termos absolutos e relativos nos tratamentos NP e
2700 Ca, estando fortemente relacionada às parcelas destes tratamentos (**Figuras 4.4, 4.5 e 4.8**). Essa
2701 família parece ser eficiente na aquisição e transferência de P para o hospedeiro (Egerton-
2702 Warburton et al. 2007) e é de se supor que seja beneficiada em condições que tornem o
2703 elemento mais limitante, embora outro estudo tenha verificado que ela é pouco afetada pela
2704 fertilidade do solo (Treseder and Allen 2002). Neste estudo, Acaulosporaceae foi correlacionada

2705 positivamente com a disponibilidade de P, com um coeficiente de correlação de 65%. É possível
2706 que esta associação tenha ocorrido por causa da invasão do grupo Poaceae C4 exóticas, variável
2707 a que a família também esteve positiva e significativamente correlacionada (**Tabela 4.3**). Apesar
2708 de *M. minutiflora* mostrar uma resposta muito mais forte às micorrizas arbusculares em
2709 condições de baixa fertilidade do solo (produção de biomassa mais de 10 vezes maiores em
2710 condições de baixa fertilidade em relação à fertilidade alta), suas taxas de micorrização não são
2711 significativamente afetadas pela fertilidade (Rondina et al. 2014), assim como a de outras
2712 Poaceae C4 invasoras (Zangaro et al. 2018). Acaulosporaceae faz parte do grupo dos FMA
2713 ancestrais e foi considerada como uma família do grupo das tolerantes a estresse (Chagnon et
2714 al. 2013). Talvez quando levamos todas as alterações provocadas pelos tratamentos em conta
2715 como um todo, as condições mais estressantes possam ser encontradas no tratamento Ca: alta
2716 cobertura de uma espécie exótica e pH próximo da neutralidade, com elevados níveis de
2717 saturação de bases (31 vezes mais elevado que no controle).

2718 Entrophosporaceae foi a outra família do grupo dos FMA ancestrais, sendo representada
2719 por apenas uma espécie neste estudo: *Entrophospora infrequens*. Essa espécie parece ter sido
2720 especialmente bem-sucedida no tratamento Ca pois enquanto apresentou abundância relativa
2721 média de quase 4% nesse tratamento com ocorrência em todas as parcelas, *Entrophospora*
2722 *infrequens* apresentou abundância relativa menor que 0.5% e ocorreu em apenas uma parcela
2723 nos tratamentos P e N (**Tabela 4.3, Figuras 4.4, 4.5 e 4.8**). Informações ecológicas sobre a família
2724 são escassas na literatura, muitas vezes havendo observações conflitantes: por exemplo, ela já
2725 foi relatada como só sendo encontrada em solo sob cultivo (de Miranda et al. 2005) e como não
2726 ocorrendo em solo sob cultivo (Jansa et al. 2002). De forma interessante, ela foi relatada como
2727 produzindo mais esporos em condições de baixa umidade no solo na Costa Rica (Lovelock et al.
2728 2003) e neste trabalho, o teor gravimétrico de água no solo esteve entre as variáveis
2729 correlacionadas negativamente com o número de esporos da família e foi menor no tratamento
2730 Ca.

2731 Por fim, um ponto interessante levantado por Chagnon et al. (2013) é que as
2732 características das plantas e dos AMF que as hospedam seria de certa forma convergente. Assim,
2733 por exemplo, uma espécie de planta tolerante a estresse, com um metabolismo lento e uso
2734 conservativo de recursos, se associaria preferencialmente com AMF tolerantes a estresse e não,
2735 por exemplo, com uma espécie competidora, que pode representar um grande dreno de
2736 carbono para sustentar seu extensivo micélio de um hospedeiro com taxas metabólicas lentas.
2737 Neste estudo, os AMF tolerantes a estresse estiveram positivamente relacionados à espécie C4
2738 exótica, que talvez possa se enquadrar em uma espécie tolerante a estresse, uma vez que é

2739 capaz de sobreviver em ambientes com características como fogos periódicos e baixa fertilidade.
2740 Ainda que não tenha sido feito o sequenciamento de estruturas de AMF dentro das raízes do
2741 capim gordura (para verificar diretamente as espécies associadas), esta é mais uma área
2742 interessante para futuras investigações (levantada inclusive em Chagnon et al. 2013): o nível de
2743 determinismo existente na simbiose para parceiros com estratégias de vida semelhantes.

2744 **Conclusões**

2745

2746 Este trabalho é uma exploração inicial dos efeitos de alterações na comunidade vegetal
2747 e características edáficas sobre a comunidade micorrízica arbuscular em áreas de vegetação
2748 natural de cerrado. Ele confirma a extrema complexidade das interações entre micorrizas,
2749 plantas e variáveis ambientais, mas mostra claramente que, ainda que em termos de número
2750 de esporos totais as alterações não sejam particularmente expressivas, houve alterações
2751 relevantes das comunidades micorrízicas arbusculares. Essa diferenciação foi detectada mesmo
2752 usando níveis taxonômicos elevados (i.e. famílias) e agrupando famílias de acordo com grupos
2753 funcionais que levam em conta estratégias ecológicas e tem se mostrado relativamente
2754 consistentes (i.e. ancestrais, edafófilas e rizofílicas / Estresse tolerantes, competidoras e
2755 ruderais). Como tem acontecido com diversos trabalhos realizados no experimento de adição
2756 de nutrientes (vide capítulo 2 da tese e referências citadas ao longo da mesma), ao que tudo
2757 indica, em comparação com as parcelas controle, o tratamento N é o que impacta de forma
2758 menos drástica a comunidade, enquanto NP, Ca e P tem efeitos mais fortes.

2759

2760 **Bibliografia**

2761

- 2762 Ainsworth GC (2008) Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. Cabi Europe, UK
- 2763 Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral*
2764 *Ecol* 26:32–46
- 2765 Augusto L, Achat DL, Jonard M, Vidal D, Ringeval B (2017) Soil parent material—a major driver
2766 of plant nutrient limitations in terrestrial ecosystems. *Glob Change Biol* 23:3808–3824
- 2767 Banerjee S, Walder F, Büchi L, Meyer M, Held AY, Gattinger A, Keller T, Charles R, Van Der Heijden
2768 MG (2019) Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the
2769 abundance of keystone taxa in roots. *ISME J* 13:1722
- 2770 Barger NN, D'antonio CM, Ghneim T, Cuevas E (2003) Constraints to colonization and growth of
2771 the African grass, *Melinis minutiflora*, in a Venezuelan savanna. *Plant Ecol* 167:31–43
- 2772 Baruch Z (1996) Ecophysiological aspects of the invasion by African grasses and their impact on
2773 biodiversity and function of neotropical savannas. In: *Biodiversity and savanna*
2774 *ecosystem processes*. Springer, pp 79–93
- 2775 Brundrett MC (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol* 154:275–
2776 304
- 2777 Calaça FJS (2018) Microbiota micorrízica e saprofítica em diferentes fitofisionomias de Cerrado
2778 no Distrito Federal, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília
- 2779 Cardoso EJBN, Cardoso IM, Nogueira MA, Baretta CRDM, Paula AM de (2010) Micorrizas
2780 arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: *Micorrizas: 30 anos de*
2781 *pesquisas no Brasil*, pp 153–214
- 2782 Carrenho R, Gomes-da-Costa S, Balota E, Colozzi Filho A (2010) Fungos micorrízicos arbusculares
2783 em agrossistemas brasileiros. *Micorrizas 30 Anos Pesqui No Bras* 215–249
- 2784 Chagnon P-L, Bradley RL, Maherali H, Klironomos JN (2013) A trait-based framework to
2785 understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends Plant Sci* 18:484–491
- 2786 de Miranda JCC, Vilela L, de Miranda LN (2005) Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular
2787 em sistemas de produção com rotação de culturas. *Pesqui Agropecuária Bras* 40:1005–
2788 1014
- 2789 Egerton-Warburton LM, Johnson NC, Allen EB (2007) Mycorrhizal community dynamics
2790 following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecol Monogr* 77:527–
2791 544
- 2792 Eugênio CUO (2016) Influência do tempo, espaço, fogo e fertilização na comunidade herbáceo-
2793 arbustiva no cerrado. Tese de PhD. Universidade de Brasília.
- 2794 Fageria NK, Baligar VC (2008) Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable
2795 crop production. *Adv Agron* 99:345–399

- 2796 Garcia K, Zimmermann SD (2014) The role of mycorrhizal associations in plant potassium
2797 nutrition. *Front Plant Sci* 5:1–9
- 2798 Garofalo CR (2001) Efeitos do aumento da disponibilidade de nutrientes na dinâmica de
2799 nutrientes em plantas lenhosas e solo em uma área de cerrado stricto sensu. Dissertação
2800 de mestrado. Universidade de Brasília
- 2801 Gerdemann J, Nicolson TH (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil
2802 by wet sieving and decanting. *Trans Br Mycol Soc* 46:235–244
- 2803 Grime, JP (1979) *Plant Strategies and Vegetation Processes*. John Wiley and Sons
- 2804 Halsey LG (2019) The reign of the p-value is over: what alternative analyses could we employ to
2805 fill the power vacuum? *Biol Lett* 15:20190174
- 2806 Hart MM, Reader RJ (2002) Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of
2807 arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 153:335–344
- 2808 Ho J, Tumkaya T, Aryal S, Choi H, Claridge-Chang A (2018) Moving beyond P values: Everyday
2809 data analysis with estimation plots
- 2810 Hoeksema JD, Chaudhary VB, Gehring CA, Johnson NC, Karst J, Koide RT, Pringle A, Zabinski C,
2811 Bever JD, Moore JC, others (2010) A meta-analysis of context-dependency in plant
2812 response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecol Lett* 13:394–407
- 2813 Hoysted GA, Kowal J, Jacob A, Rimington WR, Duckett JG, Pressel S, Orchard S, Ryan MH, Field
2814 KJ, Bidartondo MI (2018) A mycorrhizal revolution. *Curr Opin Plant Biol* 44:1–6
- 2815 Jacobson TKB, da Bustamante MMC, Kozovits AR (2011) Diversity of shrub tree layer, leaf litter
2816 decomposition and N release in a Brazilian Cerrado under N, P and N plus P additions.
2817 *Environ Pollut* 159:2236–2242
- 2818 Jansa J, Mozafar A, Anken T, Ruh R, Sanders I, Frossard E (2002) Diversity and structure of AMF
2819 communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12:225–234
- 2820 Jenkins W (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil.
2821 *Plant Dis Report* 48:692
- 2822 Jobim K, Oliveira BIS, Goto BT (2016) Checklist of the Glomeromycota in the Brazilian Savanna.
2823 *Mycotaxon* 131:1–13
- 2824 Klironomos JN (2003) Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal
2825 fungi. *Ecology* 84:2292–2301
- 2826 Kozovits AR, Bustamante MMC, Garofalo CR, Bucci S, Franco AC, Goldstein G, Meinzer FC (2007)
2827 Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a
2828 Neotropical Savanna. *Funct Ecol* 21:1034–1043
- 2829 Lahsen M, Bustamante MMC, Dalla-Nora EL (2016) Undervaluing and overexploiting the
2830 Brazilian Cerrado at our peril. *Environ Sci Policy Sustain Dev* 58:4–15

- 2831 Lannes LS, Bustamante MMC, Edwards PJ, Venterink HO (2016) Native and alien herbaceous
2832 plants in the Brazilian Cerrado are (co-) limited by different nutrients. *Plant Soil*
2833 400:231–243
- 2834 Lovelock CE, Andersen K, Morton JB (2003) Arbuscular mycorrhizal communities in tropical
2835 forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia* 135:268–279
- 2836 Maia L, Silva B, Goto B (2010) Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos.
2837 *Micorrizas* 30:75–116
- 2838 Mensah JA, Koch AM, Antunes PM, Kiers ET, Hart M, Bücking H (2015) High functional diversity
2839 within species of arbuscular mycorrhizal fungi is associated with differences in
2840 phosphate and nitrogen uptake and fungal phosphate metabolism. *Mycorrhiza* 25:533–
2841 546
- 2842 Miranda JCC de (2008) Cerrado: Micorriza Arbuscular-ocorrência e manejo. Planaltina EMBRAPA
2843 Cerrados
- 2844 Moreira FM de S, Siqueira JO (2002) *Microbiologia e bioquímica do solo*. Editora Ufla
- 2845 Nicolson SW (2011) Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures
2846 of the two. *Afr Zool* 46:197–204
- 2847 Oehl F, de Souza FA, Sieverding E (2008) Revision of *Scutellospora* and description of five new
2848 genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes.
2849 *Mycotaxon* 106:311–360
- 2850 Oehl F, Sieverding E, Palenzuela J, Ineichen K, others (2011) Advances in Glomeromycota
2851 taxonomy and classification. *IMA Fungus* 2:191–199
- 2852 Oehl F, Sykorova Z, Redecker D, Wiemken A, Sieverding E (2006) *Acaulospora alpina*, a new
2853 arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine
2854 regions of the Swiss Alps. *Mycologia* 98:286–294
- 2855 Oksanen J, Kindt R, Legendre P, O’Hara B, Stevens MHH, Oksanen MJ, Suggests M (2007) The
2856 vegan package. *Community Ecol Package* 10:631–637
- 2857 Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals?
2858 *Oikos* 120:321–326
- 2859 Palm C, Sanchez P, Ahamed S, Awiti A (2007) *Soils: A contemporary perspective*. *Annu Rev Env*
2860 *Resour* 32:99–129
- 2861 Phillips ML, Weber SE, Andrews LV, Aronson EL, Allen MF, Allen EB (2019) Fungal community
2862 assembly in soils and roots under plant invasion and nitrogen deposition. *Fungal Ecol*
2863 40:107–117
- 2864 Pontes JS, Oehl F, Pereira CD, de Toledo Machado CT, Coyne D, da Silva DKA, Maia LC (2017)
2865 Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the Brazilian’s Cerrado and in soybean under
2866 conservation and conventional tillage. *Appl Soil Ecol* 117:178–189

- 2867 Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2004) Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute
2868 accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *J Exp*
2869 *Bot* 55:1743–1750
- 2870 Powell JR, Parrent JL, Hart MM, Klironomos JN, Rillig MC, Maherali H (2009) Phylogenetic trait
2871 conservatism and the evolution of functional trade-offs in arbuscular mycorrhizal fungi.
2872 *Proc R Soc B Biol Sci* 276:4237–4245
- 2873 Reatto A, Correia JR, Spera ST, Martins ES (2008) Solos do Bioma Cerrado: Aspectos pedológicos.
2874 In: *Cerrado: ecologia e flora*, pp 107–150
- 2875 Rensing SA (2018) Great moments in evolution: the conquest of land by plants. *Curr Opin Plant*
2876 *Biol* 42:49–54
- 2877 Ribeiro JF, Walter BMT (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: *Cerrado:*
2878 *ecologia e flora*, pp 151–212
- 2879 Rondina ABL, Lescano LEAM, de Almeida Alves R, Matsuura EM, Nogueira MA, Zangaro W (2014)
2880 Arbuscular mycorrhizas increase survival, precocity and flowering of herbaceous and
2881 shrubby species of early stages of tropical succession in pot cultivation. *J Trop Ecol*
2882 30:599–614
- 2883 Rondina ABL, Tonon BC, Lescano LEAM, Hungria M, Nogueira MA, Zangaro W (2019) Plants of
2884 Distinct Successional Stages Have Different Strategies for Nutrient Acquisition in an
2885 Atlantic Rain Forest Ecosystem. *Int J Plant Sci* 180:186–199
- 2886 Sepp S-K, Davison J, Jairus T, Vasar M, Moora M, Zobel M, Öpik M (2019) Non-random
2887 association patterns in a plant–mycorrhizal fungal network reveal host–symbiont
2888 specificity. *Mol Ecol* 28:365–378
- 2889 Sieverding E, Oehl F (2006) Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and
2890 *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. *J Appl Bot*
2891 *Food Qual* 80:69–81
- 2892 Simpson-Júnior PL (2002) Crescimento e fenologia foliar de espécies lenhosas de uma área de
2893 cerrado stricto sensu submetida a fertilização. Dissertação de mestrado. Universidade
2894 de Brasília
- 2895 Smith SE, Read DJ (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press
- 2896 Souza F de, Stürmer S, Carrenho R, Trufem S (2010) Classificação e taxonomia de fungos
2897 micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. *Micorrizas 30 Anos*
2898 *Pesqui No Bras* 15–73
- 2899 Spatafora JW, Chang Y, Benny GL, Lazarus K, Smith ME, Berbee ML, Bonito G, Corradi N, Grigoriev
2900 I, Gryganskyi A, others (2016) A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete
2901 fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108:1028–1046
- 2902 Sprent JI (2009) *Legume nodulation: a global perspective*. John Wiley & Sons
- 2903 Steidinger BS, Crowther TW, Liang J, Van Nuland ME, Werner GDA, Reich PB, Nabuurs G, de-
2904 Miguel S, Zhou M, Picard N, and others (2019) Climatic controls of decomposition drive
2905 the global biogeography of forest-tree symbioses. *Nature* 569:404–408

- 2906 Taylor TN, Remy W, Hass H, Kerp H (1995) Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early
2907 Devonian. *Mycologia* 87:560–573
- 2908 Tedersoo, L, Sánchez-Ramírez, S, Koljalg, U, Bahram, M, Döring, M, Schigel, D, ... Abarenkov, K
2909 (2018). High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological
2910 analyses. *Fungal Divers.* 90:135-159
- 2911 Treseder KK (2013) The extent of mycorrhizal colonization of roots and its influence on plant
2912 growth and phosphorus content. *Plant Soil* 371:1–13
- 2913 Treseder KK (2004) A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and
2914 atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytol* 164:347–355
- 2915 Treseder KK, Allen EB, Egerton-Warburton LM, Hart MM, Klironomos JN, Maherali H, Tedersoo
2916 L (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi as mediators of ecosystem responses to nitrogen
2917 deposition: A trait-based predictive framework. *J Ecol* 106:480–489
- 2918 Treseder KK, Allen MF (2002) Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular
2919 mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytol* 155:507–515
- 2920 van der Heijden MG, Scheublin TR (2007) Functional Traits in Mycorrhizal Ecology: Their Use for
2921 Predicting the Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities on Plant Growth
2922 and Ecosystem Functioning. *New Phytol* 174:244–250
- 2923 Verbruggen E, Xiang D, Chen B, Xu T, Rillig MC (2015) Mycorrhizal fungi associated with high soil
2924 N: P ratios are more likely to be lost upon conversion from grasslands to arable
2925 agriculture. *Soil Biol Biochem* 86:1–4
- 2926 Veresoglou SD, Chen B, Fischer MM, Helgason T, Mamolos AP, Rillig MC, Roldán A, Johnson D
2927 (2019) Latitudinal constraints in responsiveness of plants to arbuscular mycorrhiza: the
2928 ‘sun-worshipper’ hypothesis. *New Phytol*
- 2929 Wang B, Qiu Y-. L-. (2006) Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants.
2930 *Mycorrhiza* 16:299–363
- 2931 Weber SE, Diez JM, Andrews LV, Goulden ML, Aronson EL, Allen MF (2019) Responses of
2932 arbuscular mycorrhizal fungi to multiple coinciding global change drivers. *Fungal Ecol*
2933 40:62–71 . doi: 10.1016/j.funeco.2018.11.008
- 2934 Zangaro W, Ansanelo AP, Lescano LEAM, de Almeida Alves R, Rondina ABL, Nogueira MA (2012)
2935 Infection intensity, spore density and inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi
2936 decrease during secondary succession in tropical Brazilian ecosystems. *J Trop Ecol*
2937 28:453–462
- 2938 Zangaro W, Lescano LEAM, Matsuura EM, Rondina ABL, Nogueira MA (2018) Interactions
2939 between arbuscular mycorrhizal fungi and exotic grasses differentially affect the
2940 establishment of seedlings of early-and late-successional woody species. *Appl Soil Ecol*
2941 124:394–406
- 2942 Zhang S, Lehmann A, Zheng W, You Z, Rillig MC (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi increase
2943 grain yields: a meta-analysis. *New Phytol* 222:543–555

2944 Zobel M, Öpik M (2014) Plant and arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities—which
2945 drives which? *J Veg Sci* 25:1133–1140

2946

2947

2948 **Anexo 1**

2949 **Tabela 4.5.** Abundância relativa média (Ab.Rel.Med) de esporos das oito famílias de Glomeromycota amostradas nos
 2950 solos (0 a 10 cm) dos diferentes tratamentos. Área de cerrado típico, no Experimento de longa duração, na Reserva
 2951 Ecológica o IBGE, Brasília, DF. **SD**= desvio padrão (SD=0: valor menor que 0.01). **n**= número de parcelas em que a
 2952 família foi amostrada (máximo de quatro por tratamento).

Família	Tratamento	Ab.Rel.Med	SD	n
Glomeraceae	C	77.52	11.51	4
Acaulosporaceae	C	11.88	7.19	4
Scutellosporaceae	C	6.10	3.60	4
Dentiscutataceae	C	2.19	0.76	4
Diversisporaceae	C	2.13	2.05	4
Racocetraceae	C	0.72	NA	1
Glomeraceae	Ca	70.12	14.25	4
Acaulosporaceae	Ca	24.65	12.75	4
Entrophosporaceae	Ca	3.91	2.95	4
Scutellosporaceae	Ca	1.08	1.40	3
Diversisporaceae	Ca	0.77	0.10	2
Dentiscutataceae	Ca	0.23	0.08	2
Glomeraceae	N	83.82	7.78	4
Acaulosporaceae	N	13.72	6.12	4
Diversisporaceae	N	2.12	1.54	3
Scutellosporaceae	N	1.42	NA	1
Dentiscutataceae	N	0.85	0.30	2
Entrophosporaceae	N	0.38	NA	1
Glomeraceae	NP	59.42	4.16	4
Acaulosporaceae	NP	38.58	5.45	4
Dentiscutataceae	NP	1.19	0.84	4
Racocetraceae	NP	0.56	0.35	2
Scutellosporaceae	NP	0.48	0.30	3
Diversisporaceae	NP	0.32	0.12	2
Glomeraceae	P	78.02	22.19	4
Acaulosporaceae	P	20.13	22.16	4
Dentiscutataceae	P	1.43	0.53	4
Diversisporaceae	P	0.41	0.29	2
Gigasporaceae	P	0.22	0.00	2
Entrophosporaceae	P	0.21	NA	1
Racocetraceae	P	0.21	NA	1

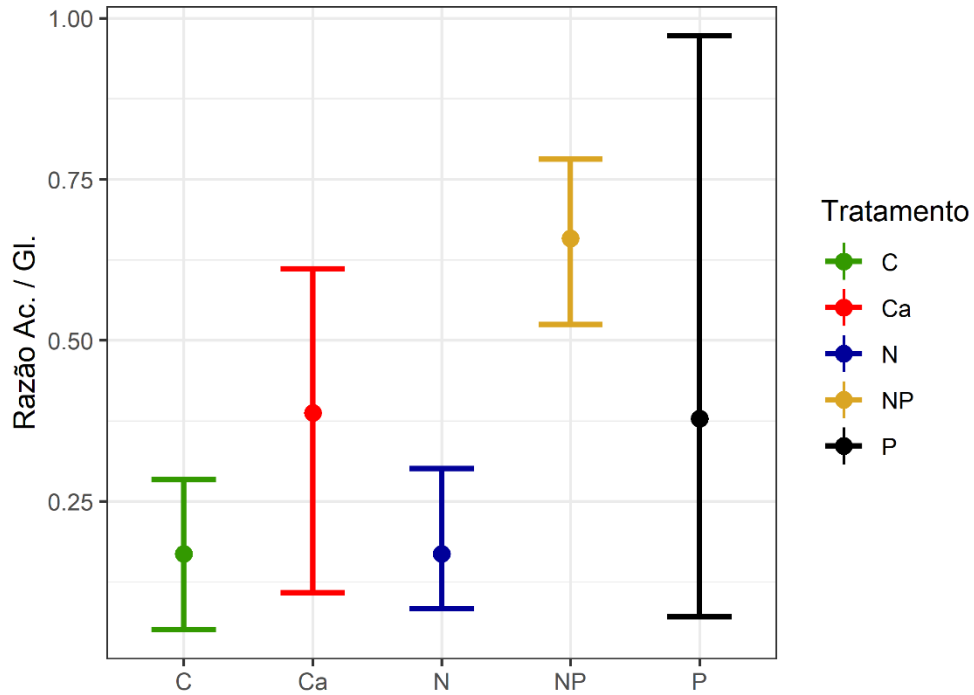
2953

2954

2955

2956

2957



2959

2960 **Figura 4.10.** Razão entre número de esporos de Acaulosporaceae e Glomeraceae recuperados da alíquota de 2ml,
 2961 extraídos de 50g de solo (0 a 10 cm). Área de cerrado típico no Experimento de longa duração, na Reserva Ecológica
 2962 do IBGE, Brasília, DF. Valores menores que 1 indicam predominância de Glomeraceae. Dados submetidos a 5.000
 2963 permutações. **Barras=** Intervalo de Confiança a 95% calculados com base nas permutações. Barras que não se
 2964 sobrepõem significam que há mais de 95% de chance de as médias serem diferentes.

2965

2966

2967

2968

2969

2970

2971

2972

2973

2974

2975

2976 **Anexo 4.3**

2977 **Tabela 4.6.** Métricas da comunidade herbáceo-arbustiva e características dos solos (0 a 10 cm) em cada tratamento. Em área de cerrado típico, nos Experimento de longa duração, nas Reserva Ecológica do IBGE,
 2978 Brasília, DF. Apresentadas as médias e em itálico os desvios padrões. **Variáveis de solo:** V= índice de saturação por bases, **SB**= Soma de bases, **Ca**= Ca disponível, **t**= Capacidade de troca catiônica efetiva, **Mg**= Mg
 2979 disponível, **m**= índice de saturação por alumínio, **MO**= Matéria orgânica, **P**= P disponível, **S**= S disponível, **K**= K disponível, **pH(CaCl₂)**= acidez potencial, **pH(H₂O)**= acidez real, **H+Al**= acidez potencial, **Al**= Alumínio trocável,
 2980 **NO₃-** = nitrato. **Variáveis vegetacionais do levantamento do estrato herbáceo-arbustivo em 2015:** **Pielou**= Equitabilidade de Pielou, **DivShan**= Índice de diversidade Shannon, **Poaceae C4**= cobertura linear de Poaceae
 2981 C4, **C4 exótica**= Poaceae C4 exótica, **C4 nativa**= Poaceae C4 nativa, **Poaceae C3**= cobertura linear de Poaceae C3, **Razão C3:C4**= razão entre as coberturas lineares de ambos os tipos, **Poaceae 2015**= Soma da cobertura
 2982 linear de todas as espécies de Poaceae. Cobertura linear dada em cm.

Tratamento	Vegetação										Solo															
	Poaceae 2015	Poaceae C3	Poaceae C4	C4 exótica	C4 nativa	Razão C3:C4	DivShannon	Riqueza	Pielou	MO	TG	P	K	Ca	NO ₃ -	S	Mg	Al	H+Al	m	pH(H ₂ O)	pH(CaCl ₂)	SB	t	T	V
C	285.8	160.8	125.0	0.0	125.0	1.3	2.6	32.8	0.8	7.0	22.3	0.5	27.3	0.1	1.6	1.7	0.1	1.2	10.2	82.1	5.0	3.1	0.3	1.4	10.5	2.4
<i>C</i>	<i>106.3</i>	<i>71.5</i>	<i>44.6</i>	<i>0.0</i>	<i>44.6</i>	<i>0.5</i>	<i>0.3</i>	<i>9.8</i>	<i>0.0</i>	<i>0.4</i>	<i>1.7</i>	<i>0.1</i>	<i>7.7</i>	<i>0.0</i>	<i>1.0</i>	<i>0.3</i>	<i>0.0</i>	<i>0.2</i>	<i>1.1</i>	<i>2.5</i>	<i>0.1</i>	<i>0.1</i>	<i>0.1</i>	<i>0.2</i>	<i>1.1</i>	<i>0.5</i>
Ca	669.8	43.5	626.3	589.5	36.8	0.1	2.2	33.3	0.6	5.7	18.2	1.3	11.0	6.0	2.1	2.5	3.4	0.0	1.4	0.0	7.1	5.7	9.5	9.5	10.9	86.9
<i>Ca</i>	<i>199.8</i>	<i>75.5</i>	<i>247.6</i>	<i>217.1</i>	<i>51.3</i>	<i>0.2</i>	<i>0.4</i>	<i>5.4</i>	<i>0.1</i>	<i>0.5</i>	<i>2.7</i>	<i>0.3</i>	<i>2.7</i>	<i>0.8</i>	<i>0.8</i>	<i>1.5</i>	<i>0.4</i>	<i>0.0</i>	<i>0.2</i>	<i>0.0</i>	<i>0.3</i>	<i>0.3</i>	<i>1.0</i>	<i>1.0</i>	<i>0.9</i>	<i>2.3</i>
N	541.5	481.0	60.5	0.0	60.5	12.1	2.3	30.5	0.7	7.3	23.1	0.5	19.8	0.1	1.4	3.7	0.1	1.5	11.6	86.4	4.6	3.1	0.2	1.7	11.8	2.0
<i>N</i>	<i>393.1</i>	<i>369.7</i>	<i>42.4</i>	<i>0.0</i>	<i>42.4</i>	<i>8.9</i>	<i>0.1</i>	<i>8.5</i>	<i>0.1</i>	<i>0.6</i>	<i>3.5</i>	<i>0.2</i>	<i>1.7</i>	<i>0.0</i>	<i>1.0</i>	<i>0.6</i>	<i>0.0</i>	<i>0.1</i>	<i>0.6</i>	<i>1.4</i>	<i>0.1</i>	<i>0.0</i>	<i>0.0</i>	<i>0.1</i>	<i>0.6</i>	<i>0.3</i>
NP	497.5	49.5	448.0	413.8	34.3	0.1	1.9	20.0	0.6	7.6	21.9	10.4	20.0	0.2	1.2	3.6	0.1	1.6	12.6	82.3	4.6	3.2	0.3	1.9	13.0	2.6
<i>NP</i>	<i>415.1</i>	<i>74.8</i>	<i>419.4</i>	<i>434.0</i>	<i>52.6</i>	<i>0.2</i>	<i>0.5</i>	<i>6.7</i>	<i>0.1</i>	<i>0.5</i>	<i>1.0</i>	<i>2.0</i>	<i>3.6</i>	<i>0.0</i>	<i>0.8</i>	<i>0.7</i>	<i>0.0</i>	<i>0.2</i>	<i>1.3</i>	<i>1.6</i>	<i>0.0</i>	<i>0.0</i>	<i>0.0</i>	<i>0.2</i>	<i>1.3</i>	<i>0.1</i>
P	862.5	40.5	822.0	809.5	12.5	0.1	2.1	29.8	0.6	7.9	23.3	11.1	44.0	0.2	1.2	2.0	0.1	1.4	12.0	78.6	4.8	3.3	0.4	1.8	12.4	3.2
<i>P</i>	<i>613.0</i>	<i>40.1</i>	<i>609.9</i>	<i>595.1</i>	<i>16.6</i>	<i>0.1</i>	<i>0.2</i>	<i>5.9</i>	<i>0.1</i>	<i>0.8</i>	<i>1.2</i>	<i>3.2</i>	<i>38.7</i>	<i>0.1</i>	<i>0.9</i>	<i>0.3</i>	<i>0.0</i>	<i>0.2</i>	<i>2.2</i>	<i>3.5</i>	<i>0.1</i>	<i>0.1</i>	<i>0.1</i>	<i>0.2</i>	<i>2.2</i>	<i>0.7</i>

2983

2984 Conclusões gerais

2985

2986 Este trabalho mostra que, dentre todos os tratamentos, o Ca (calagem) foi aquele que
2987 apresentou os efeitos mais expressivos, afetando uma maior quantidade de características
2988 (composição de comunidades, teores de nutrientes nas folhas e até mesmo interações acima do
2989 solo) do cerrado que os outros quatro. Entre os responsáveis por esse efeito está provavelmente
2990 a alteração no pH, que passou de ácido (entre 3,5 a 4,5, como é típico de áreas de cerrado) a
2991 quase neutro. O pH por si só tem potencial para afetar organismos vivos (tanto microrganismos
2992 quanto as plantas) diretamente, mas também causa alterações na disponibilidade de outros
2993 nutrientes, como P, Al e Mn. Com o tratamento de calagem, ainda, dois nutrientes comumente
2994 limitantes em áreas de cerrado, Ca e Mg, são adicionados ao solo em grande quantidade. As
2995 alterações provocadas pela calagem afetaram a composição da comunidade herbáceo-
2996 arbustiva, tendo sido o único tratamento que passou por duas substituições de gramíneas
2997 dominantes, sendo a última a invasão pelo capim gordura, com substituição de espécies C4
2998 nativas anteriormente beneficiadas pelo mesmo tratamento. As alterações provocadas pela
2999 calagem tiveram os maiores efeitos sobre a produção de flores e visitação das áreas e os maiores
3000 efeitos também sobre a comunidade micorrízica arbuscular, aparentemente induzindo uma
3001 competição e substituição parcial de grupos funcionais importantes na área e um aumento
3002 expressivo de uma espécie em particular (*Entrophospora infrequens*).

3003 Os tratamentos NP e P, apesar de poderem interferir no pH do solo, não o fazem de
3004 forma tão acentuada e os efeitos principais pelos quais os tratamentos agiram nas parcelas foi
3005 através de alterações na comunidade vegetal, principalmente ao favorecer o capim gordura, que
3006 é uma boa competidora e fortemente limitada por P. Essa espécie foi capaz de alterar
3007 substancialmente as áreas que invadiu, substituindo grande parte das C4 nativas e da espécie
3008 C3 e as populações se mantiveram nas áreas mesmo após 9 anos sem novas adições de
3009 nutrientes (em comparação, o capim gordura não conseguiu invadir as parcelas controle). Os
3010 efeitos sobre a produção de flores e visitação floral foram menos pronunciados. O tratamento
3011 NP provocou uma maior alteração na comunidade micorrízica arbuscular do que o P, apesar de
3012 ambos terem sido invadidos pelo capim gordura.

3013 De todos os tratamentos, é possível afirmar que a adição de N isoladamente foi o que
3014 teve menores efeitos, talvez pela maior limitação por P em áreas de cerrado. O maior dos efeitos
3015 encontrados nesse trabalho foi um aumento expressivo das populações de *Echinolaena inflexa*,

3016 que se mantiveram estáveis e com maior cobertura em relação ao controle mesmo após 9 anos
3017 sem adições de nutrientes.