

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO DA
NATUREZA

Mariana de Andrade Faustino

**Efeitos da diversidade arbórea sobre a composição da comunidade microbiana e
emissão de gases do efeito estufa no solo da Mata Atlântica em estágio inicial de
restauração**

Juiz de Fora
2024

Mariana de Andrade Faustino

**Efeitos da diversidade arbórea sobre a composição da comunidade microbiana e
emissão de gases do efeito estufa no solo da Mata Atlântica em estágio inicial de
restauração**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Processos ecológicos e Conservação da Natureza.

Orientador: Prof. Dr. André Megali Amado

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração
automática da Biblioteca Universitária da UFJF,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Mariana de Andrade Faustino

Efeitos da diversidade arbórea sobre a composição da comunidade microbiana e emissão de gases do efeito estufa no solo da Mata Atlântica em estágio inicial de restauração

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Processos ecológicos e Conservação da Natureza.

Aprovada em 15 de agosto de 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Megali Amado
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Camilo Moitinho Ferreira
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Adriano Caliman
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO DA
NATUREZA

Mariana de Andrade Faustino

**Efeitos da diversidade arbórea sobre a composição da comunidade microbiana e
emissão de gases do efeito estufa no solo da Mata Atlântica em estágio inicial de
restauração**

Juiz de Fora
2024

Mariana de Andrade Faustino

**Efeitos da diversidade arbórea sobre a composição da comunidade microbiana e
emissão de gases do efeito estufa no solo da Mata Atlântica em estágio inicial de
restauração**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Processos ecológicos e Conservação da Natureza.

Orientador: Prof. Dr. André Megali Amado

Juiz de Fora

2024

Dedico este trabalho em primeiro lugar a Deus e a minha espiritualidade, que proporcionaram me conectar a este propósito e me auxiliam nesta caminhada.

Aos meus avós, pais e irmã que são minhas maiores inspirações e motivadores.

Aos meus mestres queridos, que confiaram em mim em todos os momentos e me inspiram nesta jornada acadêmica.

Aos meus ancestrais e aos que vieram antes de mim, que com suas lutas me inspiram a tornar este reconhecimento seja menos árduo com os anos.

Aos meus futuros alunos, que eu seja um meio de inspiração e motivação em suas jornadas como eu tive os meus.

AGRADECIMENTOS

À toda minha família, especialmente aos meus avós *Custódio* e *Maria de Lurdes* que ainda presentes com seu amor sempre me apoiaram e incentivaram os meus sonhos.

Aos meus pais, *Jacqueline* e *Flávio Cirilo* que são fontes de apoio, incentivo, crescimento e amor.

A minha irmã *Ana Flávia*, que é minha fonte de inspiração e admiração, quem contribuiu para que essa jornada fosse mais leve.

Ao meu tio *Luiz Antônio* um dos maiores apoiadores do meu sucesso, crescimento e incentivo.

Aos meus tios, tias e primos em especial *Gustavo*, *Claudia* e *Lucas* que sempre me apoiaram nessa jornada e vibram comigo cada sonho e conquista.

Ao meu orientador *André* que desde o início acreditou em mim, um mentor que me inspira a ser uma profissional mais competente e humana a cada dia.

Aos meus coorientadores *Pedro* e *Leonardo* pela parceria de crescimento e incentivo nessa caminhada, e a possibilidade de encontros únicos.

A minha amiga e meu braço direito nessa caminhada *Lisandra*, que foi um dos encontros mais especiais nessa caminhada a quem sou muitíssimo grata por me ajudar a tornar esse processo mais leve.

Aos amigos que ganhei ao longo desse processo *Leonardo* e *Felipe* o brilho nos olhos de vocês me inspira e me inspirou a ser melhor nesse processo, sou grata por ter encontrado vocês.

Aos amigos que o NIISSA me proporcionou *Lorena*, *Thales*, *Nina*, *Antônio*, *Kelly*, *Carmen*, *Ive*, *Arian*, *Pietra*, que contribuíram para que esse processo fosse possível e mais leve, gratidão por cada momento de risada, cada trabalho de campo, pelas inúmeras noites na fazenda, pelo apoio, auxílio, aprendizados e incentivo.

Aos queridos amigos que pude conhecer em meio a mais de 200 extrações de DNA, *Eliab*, *Moiseis* e *Juliana* gratidão pelo acolhimento, troca e aprendizados compartilhado nessa fase.

Ao meu querido amigo *Pedro*, que é uma das minhas maiores inspirações na academia que me ajuda enxergar o propósito e amor no fazer ciência, muito de você eu pude refletir nesse trabalho.

Aos meus amigos de laboratório do LEA e de Restauração *Ana Luisa*, *Lara*, *Layla*, *Hanna*, *Yumi*, *Anderson*, *Vitor*, *Lais*, *Jonas*, *Ana Paula*, *Gladson*, *July*, *Matheus*, *Marcelly* gratidão por cada apoio, cafés, risadas, trocas, aprendizados, auxílios compartilhados ao longo dessa caminhada.

Ao professor e amigo *Wagner* que nessa caminhada foi um dos encontros mais especiais de incentivo e apoio, obrigada por me ajudar a acreditar mais em mim.

A professora *Julliane* que é um dos motivos pelo qual eu amo o que faço, tem muito de você em mim, e sou grata por cada oportunidade de troca e aprendizado com você.

Aos professores e mentores que compartilhei nessa jornada e em outras distantes *Nathan*, *Camilo*, *Zé*, *Fábio*, *Roberto*, *Dioneia*, *Simone*, *Mariana*, *Gustavo*, *Fabrcio* obrigada por me inspirarem no fazer ciência e no ensinar, cultivo com muito carinho as sementes de vocês.

Aos laboratórios parceiros da UFJF Ecologia Vegetal, Genética e Restauração e ao Biome lab por todo apoio intelectual, humano, infraestrutura e equipamentos e aos encontros ao longo do processo.

A cada um dos meus pupilos *Gustavo*, *Marcela*, *Lara*, *Lisandra*, *Larissa* que pude compartilhar um pouco do meu conhecimento e contar com a ajuda de vocês na realização do meu trabalho, vocês contribuíram para validar o meu propósito.

Aos meus amigos de longa data, *Nathalia Muller*, *Lucas Mendes*, *Jonathan*, *Bruna*, *Nathalia Ribeiro*, *Luana*, *Luiza*, *Fernando*, *Danielle*, *Eduardo*, *Toshio*, *Jessé*, *Izabella*, *Vivian* que compartilham comigo com muito amor e carinho os desafios e crescimentos dessa jornada da vida adulta, que fazem valer a pena compartilhar a vida com vocês.

A incrível experiência que é a ENACTUS que pude viver nesse processo e contribuir com as minhas sementinhas, em especial aos amigos que fiz na caminhada, *Gab, Mariana, Vinícius, Pedro, Nívia, Duda, Laura* vocês são gigantes amo ser gigante com vocês.

As inúmeras oportunidades que pude viver e crescer nessa jornada que me fizeram mais humana e impactaram o meu trabalho.

A Deus em primeiro lugar, a minha espiritualidade e ao meu povo que me auxiliam no meu contínuo e crescente encontro diário.

E a minha gratidão ao meu projeto que desde o início me conectei e me identifiquei, que o fruto que gero hoje possa semear ao longo de muitos anos igual a nossa floresta. Gratidão pelo processo que me fez passar por inúmeras versões, desafios, amadurecimentos, crescimento pessoal e profissional. Sou mais feliz por ter concluído uma incrível jornada sua!

“Sede fortes e corajosos;
não temais, nem vos espanteis diante deles;
porque o Senhor teu Deus é o que vai contigo.
não te deixará nem te desampará.”

(DEUTERONÔMIO 31:6)

RESUMO

A Mata Atlântica, embora rica em diversidade, é um dos biomas mais degradados do Brasil. A restauração ecológica mitiga a perda de biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos, como a regulação do clima. Comunidades microbianas do solo são vitais para o funcionamento das florestas, mantendo os ciclos biogeoquímicos. Estudos na ecologia da restauração, que vão além da produtividade acima do solo são escassos, especialmente na região tropical. Pesquisas recentes sobre Biodiversidade e Funcionamento dos Ecossistemas (BEF) indicam que a diversidade de espécies arbóreas promove o aumento ativo e diversificado comunidades microbianas do solo ao longo do tempo. Este estudo buscou compreender como a diversidade arbórea influencia a diversidade microbiana e funções ecossistêmicas, tais como os fluxos de gases causadores do efeito estufa (GEE). No escopo do projeto BEF-*Atlantic* (MG, Brasil), o qual manipulou um gradiente de riqueza de 1 a 24 espécies de árvores, nós avaliamos se e como a composição microbiana do solo e o fluxo de GEE (CO₂ e CH₄) variaram em resposta a diversidade arbórea após seis e dezoito meses de plantio. Os resultados mostraram uma mudança gradual e crescente na composição da comunidade microbiana, passando inicialmente de um efeito de seleção para uma estabilização gradual de complementariedade. A transição da dominância por bactérias oligotróficas para copiotróficas marcam essa mudança, a qual foi influenciada principalmente pela identidade das espécies arbóreas, a fertilidade do solo, a qualidade e quantidade de matéria orgânica e as condições abióticas do solo. Os fluxos de gases apresentaram variações impulsionadas por condições ambientais e abióticas do solo, mantendo-se desacoplados da composição da comunidade microbiana. O tempo de estabilização do sistema solo-microbiota-planta é essencial para observar alterações estruturais voltados para um efeito de complementariedade. Concluímos que a comunidade microbiana respondeu rapidamente aos indícios de efeito de complementariedade, por meio de mudanças na qualidade do solo e no favorecimento da comunidade microbiana.

Palavras-chave: Funções ecossistêmicas; Genômica; Bactérias do solo; Gases do efeito estufa.

ABSTRACT

The Atlantic Forest, although rich in diversity, is one of the most degraded biomes in Brazil. Ecological restoration mitigates the loss of biodiversity and ecosystem services, such as climate regulation. Soil microbial communities are vital for forest functioning, maintaining biogeochemical cycles. Studies in restoration ecology that go beyond aboveground productivity are scarce, especially in tropical regions. Recent research on Biodiversity and Ecosystem Functioning (BEF) suggests that tree species diversity promotes the active and diverse development of soil microbial communities over time. This study aimed to understand how tree diversity influences ecosystem functions, microbial diversity, and greenhouse gas (GHG) fluxes. Within the BEF-Atlantic project (MG, Brazil), with a gradient of 1 to 24 tree species, it evaluated soil microbial composition and GHG (CO₂ and CH₄) fluxes at six and eighteen months after planting. The results showed a gradual and increasing shift, initially moving from a selection effect towards a gradual stabilization of complementarity. The shift from oligotrophic to copiotrophic bacteria marked this change, mainly influenced by tree species identity, soil nutrition, the quality and quantity of organic matter, and abiotic soil conditions. Gas fluxes showed variations driven by environmental and abiotic soil conditions, remaining decoupled from the microbial community composition. The stabilization time of the soil-microbiota-plant system is essential to observe structural changes aimed at a complementarity effect. We concluded that the microbial community responded quickly to signs of complementarity effect through changes in soil quality and the enhancement of the microbial community.

Keywords: Ecosystem functions; Genomics; Soil bacteria; Greenhouse gases.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1 - Esquema das distintas conexões entre biodiversidade do solo e plantas.
..... 19

METODOLOGIA GERAL

Figura 2 - Fragmento representando Fazenda do Núcleo de Integração Acadêmica Sustentabilidade Socioambiental (NIASSA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).
..... 27

Figura 3 - Representação metodologica e materiais utilizados na coleta de solo em campo.
..... 29

Figura 4 – Representação metodologica e materiais utilizados na medição dos fluxos de GEE.
..... 33

CAPÍTULO I

Figura 5 - Teste de Regressão Linear Simples dos táxons microbianos pela diversidade arbórea.
..... 37

Figura 6 - Abundância relativa dos táxons de microrganismos procariotos do solo nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e controle (*pasto*) por amostra (n = 38; eixo x).
..... 39

Figura 7 - Os gráficos da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustram a relação entre as variáveis abióticas e os dados de fluxo de CO₂ e CH₄ em diferentes tratamentos (1 a 24 espécies).
..... 41

CAPÍTULO II

Figura 8 - Teste de Regressão Linear Simples entre tratamentos de espécies arbóreas e fluxos de CO₂ e CH₄.
..... 51

Figura 9 – Abundância relativa dos táxons de microrganismos procariotos do solo nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e de referências (*pasto e floresta*) por amostra (n = 50; eixo x).
..... 53

Figura 10 - Representação da análise estatística de nMDS (*Non-Metric Multidimensional Scaling*), é utilizado na diversidade dos táxons microbianos - Filo (A) e Gênero (C) pela categoria de diversidade arbórea do experimento 54

Figura 11- Representação das taxas de emissão de GEE pelas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e fragmentos de referência pastagem e floresta. 55

Figura 12 - Gráfico de Análise de Componentes Principais (PCA), ilustra as diferentes variáveis abióticas em relação aos dados de fluxo de CO₂ e CH₄ se destacando pelos diferentes tratamentos (1 a 24 espécies) e fragmentos de referência *pasto* e *floresta*.
..... 57

APÊNDICE 1

Figura 1 - Teste de Regressão Linear Simples, não foram encontrados valores significativos entre a riqueza de diversidade arbórea do experimento (1 a 24 espécies) e os fluxos de CO₂ e CH₄.
..... 67

Figura 2 - Representação da análise nMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling), Na visualização, cada ponto representa uma amostra, referente ao Filo microbiano (A) e ao Gênero (B), com cores que indicam a riqueza da diversidade das árvores (1-24 espécies) 67

Figura 3 - Homogeneidade das amostras nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies). Riqueza de Filo (A) e Índice de diversidade de Shannon-Weaver (B). Riqueza de Gênero (C) e diversidade de Shannon (D). ns = sem diferenças significativas ($p > 0,05$). 68

Figura 4 - Homogeneidade das amostras nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies e pasto). Emissão e consumo de metano (CH₄) (A) e emissão de dióxido de carbono (CO₂) (B) em (mg/m²/dia). ns = sem diferenças significativas ($p > 0,05$). 69

APÊNDICE 2

Figura 01 - Teste de Regressão Linear Simples entre tratamentos de espécies arbóreas e riqueza de táxons microbianos Filo (A) e Gênero (B) 72

Figura 02 - Heterogeneidade representativas pelas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e de controle (PERMANOVA). Riqueza de Filo (A) e Gênero (B) microbiano pela riqueza arbórea. As representações das letras azuis mostram diferenças significativas das amostras, enquanto a representação preta (12 spp.) 73

LISTA DE TABELAS

METODOLOGIA GERAL

Tabela 1 - Listagem das 24 espécies de árvores utilizadas na plantação do experimento BEF- <i>Atlantic</i> com nomes científicos, popular e famílias	28
---	----

CAPÍTULO I

Tabela 2 - Estatística descritiva da variação dos fluxos de CO ₂ e CH ₄ em gradientes de riqueza de diversidade arbóreas 1- 24 espécies e pastagem	40
---	----

CAPÍTULO II

Tabela 3 - Variação dos valores da abundância relativa dos táxons microbianos mais abundantes	53
--	----

Tabela 4 - Estatística descritiva da média e o desvio padrão (\pm) das variáveis abióticas do solo analisadas juntamente com valores de emissão de CO ₂ e CH ₄	56
---	----

APÊNDICE 1

Tabela 01 - Características físico-químicas correspondente as amostras de solo coletadas nas parcelas.	69
--	----

Tabela 02 - Análise granulométrica correspondente as amostras de solo do experimento	70
---	----

Tabela 03 - Variação dos valores da abundância relativa dos táxons microbianos mais abundantes..	70
---	----

Tabela 04 - Variações estáticas dos valores de GEE e das variáveis abióticas do solo	71
---	----

APÊNDICE 2

Tabela 01 - Características físico-químicas correspondente as amostras de solo coletadas nas parcelas referentes a pasto e floresta	74
--	----

Tabela 02 - Análise granulométrica correspondente as amostras de solo das parcelas de pastagem e de fragmento florestal	75
--	----

Tabela 03 - Resultados do teste <i>One-Way Permutational Multivariate Analysis of Variance</i> (PERMANOVA) dos efeitos da riqueza de diversidade arbórea (1 a 24 espécies) e os fragmentos de referência, pastagem e floresta (como fator fixo) na estrutura taxonômica da comunidade microbiana nível gêneros	76
---	----

Tabela 04 - Resultados do teste <i>One-Way Permutational Multivariate Analysis of Variance</i> (PERMANOVA) dos efeitos da riqueza de diversidade arbórea (1 a 24 espécies) e os fragmentos de referência pastagem e floresta em relação as emissões de CO ₂ e CH ₄	77
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BEF	Biodiversidade e Função do Ecossistema
GEE	Gases do efeito estufa
CO ₂	Dióxido de carbono
CH ₄	Metano
MO	Matéria orgânica
MI	Matéria Inorgânica
PCA	Análise de componentes principais
nMDS	Escalonamento Multidimensional não métrico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	16
2	OBJETIVOS	24
3	METODOLOGIA GERAL	26
3.1	Área de estudo	26
3.2	Desenho experimental BEF-Atlantic	27
3.3	Amostras microbiota do solo	29
3.4	Extração de DNA, Sequenciamento e Análise de Bioinformática	30
3.5	Fluxos de gases do efeito estufa e Caracterização do solo	31
3.6	Análises estatística	34
4	CAPÍTULO I	36
	<i>Sinais iniciais da resposta microbiana do solo à restauração ativa de uma área de Mata Atlântica</i>	
4.1	CONTEXTUALIZAÇÃO	36
4.2	RESULTADOS	37
4.3	DISCUSSÃO	41
4.4	CONCLUSÃO	48
5	CAPÍTULO II	50
	<i>Mudança na qualidade do solo e favorecimento das comunidades microbianas em um contexto inicial de restauração em uma área no bioma de Mata Atlântica</i>	
5.1	CONTEXTUALIZAÇÃO	50
5.2	RESULTADOS	50
5.3	DISCUSSÃO	57
5.4	CONCLUSÃO	65
6	CONCLUSÃO GERAL	65
	APÊNDICE 1	67
	APÊNDICE 1	72
	REFERÊNCIAS	78

1. INTRODUÇÃO GERAL

A conservação da biodiversidade e a promoção dos serviços ecossistêmicos florestais são desafios cruciais no século XXI devido ao rápido desmatamento nos neotrópicos, que altera significativamente as funções do solo e contribui para mudanças no uso da terra (Eaton et al., 2021; Gibbs et al., 2010). No Brasil, a mudança do uso da terra em florestas representou 48% das emissões totais de gases do efeito estufa em 2022 (Tsai et al., 2023). A restauração de áreas florestais desmatadas é, portanto, essencial para a conservação da biodiversidade e mitigação das mudanças climáticas, especialmente na Mata Atlântica, um *hotspot* de biodiversidade que possui menos de 27% de sua vegetação original ainda remanescente (Depauw et al., 2024; Ivanova et al., 2020; Bieluczyk et al., 2023a; Coelho et al., 2022).

Iniciativas a fim de recuperar pastagens degradadas e milhares de hectares do bioma Mata Atlântica vêm sendo implementadas no Brasil (Tsai et al., 2023). O bioma é o terceiro maior contribuinte de emissão de gases do efeito estufa (GEE – CO₂ e CH₄) no país (7%) com 77 milhões de toneladas CO₂, atrás do Cerrado (14%) e da Amazônia (75%) (Tsai et al., 2023). O Pacto pela Restauração da Mata Atlântica prevê 15 Mha restaurados até 2050, associado ao Acordo Climático de Paris, o Brasil prevê a restauração de 12 Mha até 2030, contemplando a restauração do bioma da Mata Atlântica (Coelho et al., 2022; Rosa et al., 2021). O país se alinha a estas iniciativas, a fim de cumprir acordos e contribuindo com os esforços globais propostos pela União das Nações Unidas (ONU) para a Década da Restauração de Ecossistemas (Bieluczyk et al., 2023; Bieluczyk et al., 2023).

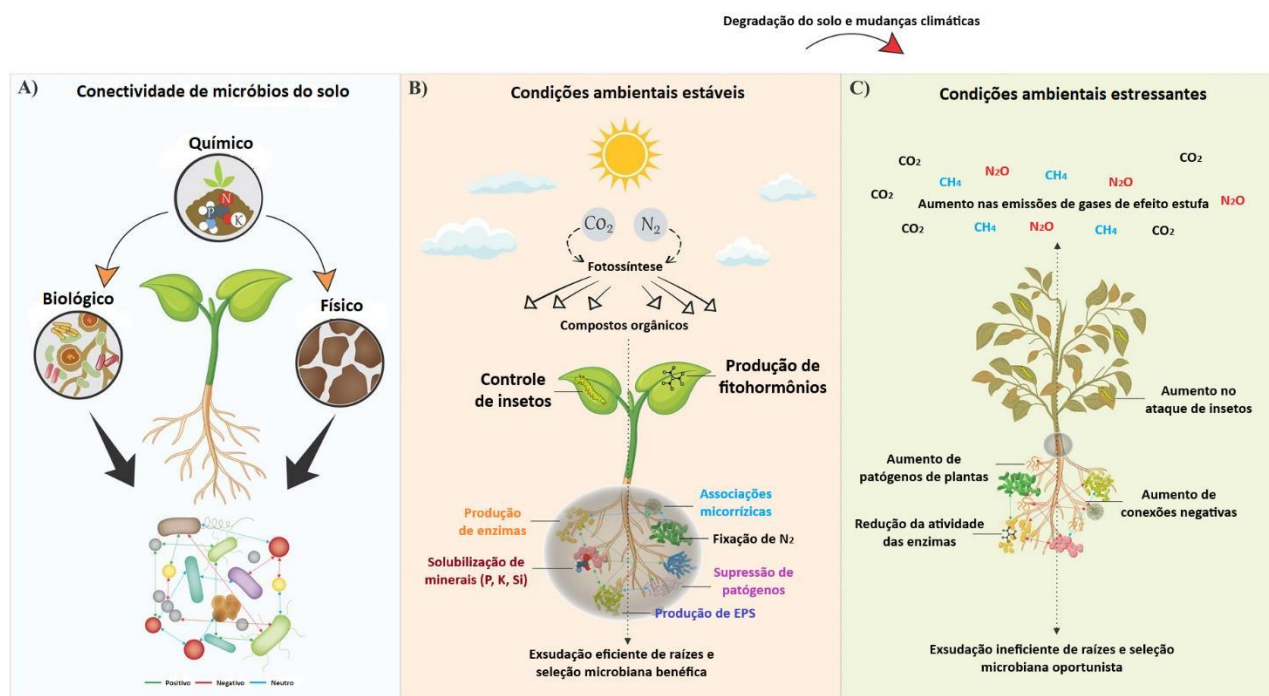
A ecologia da restauração é um campo de pesquisa dedicado às práticas de recuperação de ecossistemas degradados (Brancaion et al., 2010; Couto et al., 2016; Araujo et al., 2014). No entanto, seus estudos são mais concentrados em atributos acima do solo (Depauw et al., 2024; Niklaus et al., 2017; Zhang et al., 2012) e pouco se explora os processos subterrâneos

(Freschet et al., 2021; Bai et al., 2023; Maitra et al., 2024), que são essenciais para monitorar as relações bióticas e abióticas que evoluem ao longo do tempo, fornecendo informações estratégicas de manutenção e produtividade (Depauw et al., 2024; Eaton et al., 2021; Dhiedt et al., 2021).

As diversas práticas de restauração, que se diferem pelo grau de intervenção humana, buscam acelerar a recuperação da saúde de solos degradados e suas funções ecológicas (e.g. funções microbianas do solo como biomassa e atividade enzimática) (Couto et al., 2016; Holl, 2023; Bieluczyk et al., 2023). Pode-se otimizar a recuperação ecológica de duas formas: pela restauração assistida, aplicando técnicas como a nucleação para acelerar a sucessão ecológica e assim, o restabelecimento do sistema (Valle et al., 2019), ou por intervenção intensiva, como o plantio ativo de mudas nativas (e.g., Holl, 2023). A primeira técnica condiciona o solo e sua microbiota, restabelecendo processos ecológicos e assim, fomentando a recuperação da comunidade vegetal (Valle et al., 2019). A segunda técnica promove a inclusão de mudas que se desenvolvem e, a longo prazo, recondicionam o solo e a microbiota por meio da produção de matéria orgânica e da alteração das condições microclimáticas (Eisenhauer et al., 2010).

Técnicas de restauração que utilizam plantações de comunidades arbóreas mistas recuperam mais rapidamente a biomassa e a atividade microbiana do solo do que monoculturas (Couto et al., 2016; Araujo et al., 2014; Meng et al., 2024), fornecendo maior qualidade e quantidade de recursos arbóreos, como serrapilheira, exsudados ou rizodepósitos (Zhang et al., 2012; Meng et al., 2024). Um ecossistema estável tem uma variedade de comunidades microbianas que difere significativamente de ecossistemas degradados que resulta em maior eficiência na reciclagem de carbono e nutrientes (Couto et al., 2016; Rawat et al., 2023; Wan et al., 2022). Essas comunidades microbianas podem ser bons indicadores para avaliar a extensão da restauração dos ecossistemas (Dukunde et al., 2019; Saleem et al., 2019; Rawat et al., 2023).

Impulsionar a biodiversidade do solo é fundamental para sua saúde e multifuncionalidade, proporcionando resiliência aos ecossistemas florestais às perturbações (Bieluczyk et al., 2023a; Pedrinho et al., 2024; Griffiths & Philippot, 2013). Solos florestais são considerados matrizes biológicas cruciais para as comunidades microbianas exercerem as funções ecossistêmicas essenciais, como a ciclagem de matéria (William et al., 2021; Dukunde et al., 2019; Bieluczyk et al., 2023a), os processos de decomposição (mineralização) do carbono (Jewell et al., 2017; Wagg et al., 2019), além de prever feedbacks funcionais para o sistema climático (Hui Li et al., 2017; Xue et al., 2016; Singh et al., 2010) e aumentar a resiliência e produtividade dos solos (Pedrinho et al., 2024; Griffiths & Philippot, 2013). A microbiota do solo está intimamente ligada às comunidades de plantas, de forma que a diversidade vegetal contribuiu promovendo uma comunidade microbiana ativa e diversificada (Cardinale et al., 2012; Beugnon et al., 2023). A vegetação contribui na alteração da oferta de recursos e nas condições microclimáticas do solo (Bardgett e van der Putten, 2014; Eaton et al., 2021), para além da microbiota associada a filosfera da planta (Fanin et al., 2021; Liu J. et al., 2022) (**Figura 1**).



Fonte: Pedrinho, A., Mendes, L.W., de Araujo Pereira, A.P. et al. Soil microbial diversity plays an important role in resisting and restoring degraded ecosystems. *Plant Soil* (2024).

Figura 1: Esquema refletindo as distintas conexões entre biodiversidade do solo e plantas. **A. Conexão entre os microrganismos do solo e as plantas.** Essas interações são influenciadas por variabilidades químicas, físicas e biológicas. **B. Condições ambientais estáveis.** Em um ecossistema estável com poucas ou nenhuma perturbação humana, as plantas podem recrutar eficazmente suas comunidades microbianas, principalmente facilitadas pela exsudação na rizosfera e processos de seleção. Essas interações entre biodiversidade do solo e plantas catalisam múltiplos processos ecossistêmicos, como aumento da atividade enzimática, solubilização, fixação de nitrogênio e supressão de doenças. No entanto, a degradação do solo e as mudanças climáticas em curso perturbam essas interações, resultando em uma correlação negativa aumentada entre os táxons. **C. Condições ambientais estressantes.** Como resultado, as plantas tornam-se mais vulneráveis a agentes nocivos e oportunistas como insetos e patógenos.

Estudos sobre a relação da biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas (BEF) indicam que a diversidade arbórea favorece o sequestro de carbono e diversifica a microbiota em solos florestais ao longo do tempo (Eaton et al., 2021; Cardinale et al., 2012; Gottschall et

al., 2022; Tilman et al., 2014). O *Tree Diversity Network* (TreeDivNet), maior rede global de experimentos de diversidade de árvores, busca mapear essas relações por meio de experimentos do tipo BEF (Depauw et al., 2024). Uma revisão recente dos experimentos desta rede, destacou a microbiota do solo, especialmente fungos e bactérias, como uma das relações bióticas mais estudadas, nos últimos anos, impulsionada pelo avanço dos recursos genômicos (Depauw et al., 2024). Contudo, esses estudos são escassos nas florestas na região tropical, deixando importantes lacunas nessa região que apresenta os ecossistemas mais biodiversos (Yates et al., 2024; Depauw et al., 2024; Beugnon et al., 2023; Purahong et al., 2016).

Pode-se esperar efeitos variados da diversidade de espécies de árvores sobre as funções ecossistêmicas mediadas por microorganismos (e.g. como biomassa microbiana, respiração do solo e decomposição), podendo estes apresentarem resultados positivos (Tian et al., 2024; Shan Xu et al., 2020; Chen et al., 2019), neutros (Duan et al., 2023; Singavarapu et al., 2021) e negativos (Cesarz et al., 2022; Li et al., 2023; Eisenhauer et al., 2010). Assim, a singularidade das espécies arbóreas também é crucial para seus efeitos a longo prazo (Eisenhauer et al., 2010; Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024), complementando a importância das variáveis edáficas, dadas as diferentes condições ambientais, o solo, as escalas espaciais e temporais (Eisenhauer et al., 2010; Gillespie et al., 2023; Li et al., 2023; Rivest et al., 2019; Depauw et al., 2024).

A microbiota do solo regula os ciclos globais de carbono e outros nutrientes (Purahong et al., 2016; Singh et al., 2010), auxiliando fragmentos florestais a atuarem como sumidouros de metano e reservas de carbono. Esse cenário é regulado pelas condições ambientais e pela entrada de recursos no solo (Mombrini et al., 2022; Bieluczyk et al., 2023; Rivest et al., 2019). A respiração do solo, que compreende a mineralização de matéria orgânica e consequente fluxo de CO₂ na interface solo-atmosfera, contabiliza tanto a respiração autotrófica (raízes das plantas), quanto heterotrófica (decomposição pelos microrganismos). O fluxo de CH₄ resulta

do equilíbrio entre produção (metanogênese) e consumo (metanotrofia) por microrganismos (Venturini et al., 2022; Singh et al., 2010; Mombrini et al., 2022). Esses gases são influenciados por condições bióticas e abióticas, como presença ou ausência de oxigênio, que impactam a sua emissão ou consumo (Cesarz et al., 2022; Bieluczyk et al., 2023).

Variáveis como temperatura (Siqueira-Neto et al., 2021), umidade (Venturini et al., 2023), e matéria orgânica (Bieluczyk et al., 2023; Carmo et al., 2014) são frequentemente citadas como preditoras essenciais da atividade microbiana do solo. Além desses fatores, variações climáticas como precipitação (Tulio et al., 2023), altitude (Mombrini et al., 2022), seca (Lima et al., 2023), e sazonalidade (Tulio et al., 2023) são reconhecidas por influenciarem as emissões e consumo de gases no solo. A associação entre fluxos de gases e táxons microbianos fornece insights valiosos sobre a estrutura e funcionamento do solo (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024). As emissões de gases são reflexos das condições do sistema e estas, podem ter influência ou não da diversidade arbórea (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024).

Apesar da idade jovem dos experimentos BEF ($7,2 \pm 3,9$ anos) e da evidência de efeitos mais pronunciados da riqueza de espécies em experimentos de maior duração temporal, ainda não está claro quando as interações entre composição e diversidade de plantas começam a influenciar os processos ecológicos do solo (Chen et al., 2019; Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024). Estudos preveem que a maior diversidade pode impulsionar a produtividade do sistema, aumentando sua eficiência, resiliência e capacidade de resistir a condições extremas, em comparação com cenários de menor diversidade (Ammer et al., 2018; Meng et al., 2024; Chen et al., 2019).

O efeito positivo da diversidade de espécies nos processos ecológicos, é observado quando o processo ecológico em questão seja superior em comunidades mais diversas que em

comunidades menos diversas (Paquette & Messier; Zhang et al., 2012; Ammer et al., 2018). Para o estabelecimento de mecanismos que desencadeiam esse efeito positivo entre comunidades com diferentes níveis de diversidade, é essencial que as espécies envolvidas apresentem variações e características complementares que melhorem o desempenho coletivo. Esse mecanismo é conhecido como efeito de complementariedade de nicho (Loreau, 2000; Loreau & Hector, 2001), que se apresenta nas formas de diferenciação de nicho ou facilitação. Este mecanismo sugere que por meio da partição de recursos e as interações positivas entre as espécies favorecem a captura de recursos, resultando em uma maior intensidade dos processos, como a produtividade (Ammer et al., 2018; Loreau & Hector, 2001). É esperado que esse efeito se estabeleça e se intensifique com o passar do tempo em comunidades mais diversas (Ammer et al., 2018; Martin-Guay et al., 2019; Loreau & Hector, 2001).

Em contrapartida, algumas espécies podem apresentar características individuais que as favoreçam em detrimento de outras, resultando em um processo ecológico mais intenso. Nesse caso, por efeito de diluição em comunidades, seus efeitos são mais pronunciados em condições de monoculturas e menos pronunciados em comunidades de alta diversidade. Nesse caso, o aumento da diversidade resulta em redução da magnitude do processo ecológico estudado e esse mecanismo, recebe o nome de efeito de seleção (Loreau & Hector, 2001; Niklaus et al., 2017). Este mecanismo se estabelece por meio de processos de seleção como a competição interespecífica e favorece a dominância de espécies com características particulares (Loreau & Hector, 2001). O efeito negativo desse processo pode ocorrer quando comunidades forem dominadas por outras espécies com valores menores, para uma característica particular (Loreau, 2000; Loreau & Hector, 2001).

Ambos os efeitos, complementariedade e seleção, podem se dar de forma positiva ou negativa, juntos caracterizam um efeito de amostragem que tem sua forte influência pela identidade das espécies (Loreau & Hector, 2001). A identidade arbórea torna-se crucial neste

contexto para favorecimento de relações negativas ou positivas entre a diversidade das espécies arbóreas e o processo ecológico em questão (Loreau & Hector, 2001; Ammer et al., 2018; Martin-Guay et al., 2019). Estudos indicam que tanto o efeito de seleção quanto o de complementariedade desempenham papéis fundamentais nos efeitos da diversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (Loreau, 2000; Loreau & Hector, 2001).

No bioma da Mata Atlântica, são escassos os estudos que avaliam a microbiota do solo e suas atividades metabólicas no contexto da ecologia da restauração (Teixeira et al., 2020; Mombrini et al., 2022; Rodrigues et al., 2011; Morales-Londoño et al., 2019; Couto et al., 2016), e ainda menos frequentes são as medições in situ de GEE (Bieluczyk et al., 2023; Castellano et al., 2017). Nosso trabalho tem o intuito de auxiliar no preenchimento de algumas lacunas e na contribuição de dados do bioma, com foco na influência da diversidade arbórea na composição e no desenvolvimento de processos microbianos do solo (diversidade e emissão de GEE) em fase inicial de restauração.

2. OBJETIVOS

O trabalho buscou avaliar o papel da diversidade arbórea nas funções ecossistêmicas do solo, como a composição da comunidade microbiana do solo e os fluxos de dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4) entre o solo e atmosfera, em um estágio inicial de restauração (reflorestamento) de uma floresta de Mata Atlântica. Com o objetivo geral de: *Avaliar como a diversidade de espécies arbórea afeta a composição e atividade da comunidade microbiana do solo em 2 períodos (6 e 18 meses) em fase inicial de restauração e a relação das variáveis edáficas do solo com essas funções.* Com isso os objetivos específicos dessa dissertação são:

- 1- Avaliar o efeito da diversidade de espécies arbóreas na composição da comunidade microbiana do solo após 6 meses de reflorestamento (Capítulo 1);
- 2- Avaliar os fluxos de CO_2 e CH_4 na interface solo-atmosfera em contexto de gradiente de diversidade arbóreo e os preditores ambientais de influência após 6 meses de reflorestamento (Capítulo 1);
- 3- Avaliar o efeito da diversidade de espécies arbóreas na composição da comunidade microbiana do solo e seu comportamento temporal após 18 meses de reflorestamento (Capítulo 2);
- 4- Avaliar os fluxos de CO_2 e CH_4 na interface solo-atmosfera em contexto de gradiente de diversidade arbóreo e os preditores ambientais de influência após 18 meses de reflorestamento (Capítulo 2).

Essa dissertação está organizada em 2 capítulos. O primeiro referente ao estudo dos efeitos da diversidade de espécies arbóreas sobre a comunidade microbiana do solo e fluxo de gases solo-atmosfera após 6 meses do plantio. O segundo capítulo avalia os mesmos parâmetros e a sua evolução após um ano da avaliação do capítulo 1, i.e. 18 meses após o

plantio do reflorestamento. Em cada capítulo, apresentamos um contexto, objetivos e hipóteses de trabalho, seguido dos resultados e discussão. O capítulo 1 foi submetido para o jornal “*Science of the Total Environment*” e se encontra sob revisão (**Versão submetida no Anexo 1**).

3. METODOLOGIA GERAL

3.1 Área de estudo

O presente estudo foi realizado na fazenda experimental do Núcleo de Integração Acadêmica Sustentabilidade Socioambiental (NIASSA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), durante o período maio de 2022 a novembro de 2023. A fazenda do NIASSA é margeada pela represa de Chapéu D’uvas, no município de Ewbank da Câmara, Minas Gerais (-21.581160 O, -43.568307 S). Estabelecido no domínio fitogeográfico da Mata Atlântica, de clima tropical, o NIASSA apresenta altitude entre 732 e 900 metros, clima subtropical de altitude, com inverno seco e verão ameno, precipitação anual entre 1300 e 1600 mm e temperatura média entre 17.5 °C e 23.5 °C (Alvares et al., 2013). A topografia da região tem a configuração típica dos “mares de morros”, com a formação florestal classificada como Mata Estacional Semidecidual Montana (IBGE, 2012) e, em sua maioria, apresenta argissolo vermelho-amarelo (Santos et al., 2018).

A fazenda experimental do NIASSA possui cerca de 30 hectares de fragmentos florestais primários e 200 hectares de área ocupada por pastagem com predominância de gramíneas exóticas (e.g., brachiaria), dos quais 23 hectares estão em processo de restauração da vegetação nativa através do plantio de espécies arbóreas. Destes, cerca de 5 hectares segue um desenho experimental que manipula um gradiente de riqueza de espécies arbóreas utilizando parcelas experimentais dispostas em 2 áreas distintas (**Figura 2**).

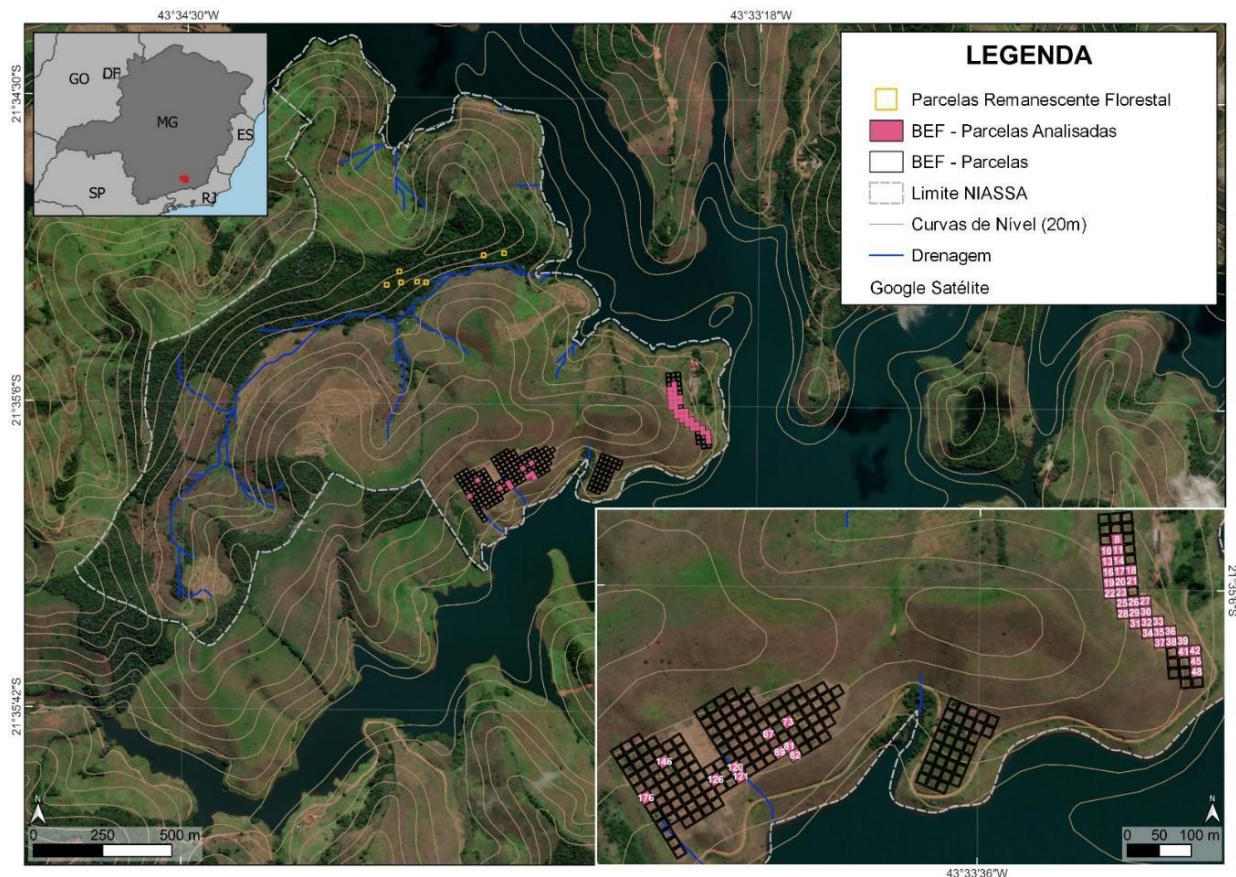


Figura 2: Fragmento representando Fazenda do Núcleo de Integração Acadêmica Sustentabilidade Socioambiental (NIASSA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Representação das parcelas do Experimento BEF-*Atlantic* em preto; Parcelas do experimento são representadas em rosa (Experimento BEF-*Atlantic*) e amarelo (Fragmento florestal) distinguindo as áreas distintas; Limite da Fazenda do NIASSA é representado por tracejados em branco; curvas de nível (20m) representadas por linhas contínuas brancas; Áreas de drenagem representadas por linhas contínuas azuis. Mapa produzido por **Thiago Lobão Cordeiro**.

3.2 Desenho experimental BEF-*Atlantic*

O experimento BEF-*Atlantic* é um experimento de restauração baseado nos estudos de diversidade e funcionamento de ecossistemas (BEF, sigla do inglês para “*Biodiversity and Ecosystem Functioning*”) que utiliza o “*radom partition design*” para criar um gradiente de riqueza de espécies de 1, 3, 6, 12 e 24. O experimento foi implementado em uma área de cerca de 5 ha com plantio de 5.952 mudas de 24 espécies nativas da Mata Atlântica com ampla

ocorrência na região, com início do plantio em novembro de 2021 (**Tabela 1**). O experimento foi organizado em parcelas experimentais (16 x 18 m) distribuídas randomicamente no espaço, sendo que cada uma contém 48 mudas equidistantes (~2,3 metros) plantadas em linhas descasadas, desenho destinto ao encontrado em restaurações do tipo convencional. O gradiente de riqueza de espécies contemplou os seguintes arranjos: controle de pasto, 1, 3, 6, 12 e 24 espécies. Foram estabelecidas 12 parcelas com uma espécie, 8 parcelas com combinações de três e outras 8 parcelas com combinações de seis espécies, e 4 parcelas contendo todas as doze espécies representadas nas monoculturas. Além disso, foi estabelecido um tratamento de alta diversidade com 24 espécies, com as mesmas 12 espécies e outras 12 espécies adicionais, replicado em 4 parcelas. Todas as parcelas que continham mais de uma espécie receberam a mesma quantidade de indivíduos para cada uma delas.

Tabela 1. Listagem das 24 espécies de árvores utilizadas na plantação BEF-*Atlantic* com nomes científicos, popular e famílias.

Nome científico	Nome popular	Família
<i>Anadenanthera colubrina</i>	Angico-branco	Fabaceae
<i>Schinus terebinthifolia</i>	Aroeira-pimenta	Anacardiaceae
<i>Croton urucurana</i>	Sangra-d'água	Urticaceae
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	Ipê-amarelo	Bignoniaceae
<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	Ipê-roxo	Bignoniaceae
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i>	Barbatimão	Fabaceae
<i>Cariniana estrellensis</i>	Jequitibá-rosa	Lecythidaceae
<i>Ceiba speciosa</i>	Paineira	Malvaceae
<i>Piptadenia gonoacantha</i>	Pau-jacaré	Fabaceae
<i>Myrsine aff. coriacea</i>	Pororoca	Primulaceae
<i>Pleroma granulosum</i>	Quaresmeira	Melastomataceae
<i>Citharexylum myrianthum</i>	Pau-de-viola	Verbenaceae
<i>Astronium graveolens</i>	Aroeira-preta	Anacardiaceae
<i>Peltophorum dubium</i>	Canafístula	Fabaceae
<i>Schizolobium parahyba</i>	Guapuruvu	Fabaceae
<i>Tabebuia roseoalba</i>	Ipê-branco	Bignoniaceae
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	Ipê-rosa	Bignoniaceae
<i>Cybistax antisyphilitica</i>	Ipê-verde	Bignoniaceae

<i>Jacaranda mimosifolia</i>	Jacarandá-caroba	Bignoniaceae
<i>Machaerium nictitans</i>	Bico-de-pato	Fabaceae
<i>Cecropia pachystachya</i>	Embaúba	Urticaceae
<i>Libidibia ferrea</i>	Pau-ferro	Fabaceae
<i>Cenostigma pluviosum</i>	Sibipiruna	Fabaceae
<i>Colubrina glandulosa</i>	Sobrasil	Rhamnaceae

3.3 Amostras da microbiota do solo

Em maio de 2022 (capítulo 1) e um ano após, maio de 2023 (capítulo 2), foram coletadas amostras de solo para determinação da composição da comunidade microbiana em ambos os anos e caracterização físico-química e perfil nutricional de todas as parcelas experimentais, foram realizadas no ano de 2022. Utilizamos o protocolo de coleta de solo da Embrapa (EMBRAPA, 1997), juntamente com adaptações que incluem a esterilização dos materiais utilizados a cada troca de parcela. Para cada parcela os quatro vértices foram utilizados como referência na coleta e um do ponto central com auxílio de uma pá. A coleta foi feita a 10 cm de profundidade do solo, considerada como amostra superficial, e após a coleta, o solo foi homogeneizado em um recipiente estéril e posteriormente armazenado em tubos de microcentrifuga (**Figura 3**). As amostras foram acondicionadas em freezer ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior análise molecular.

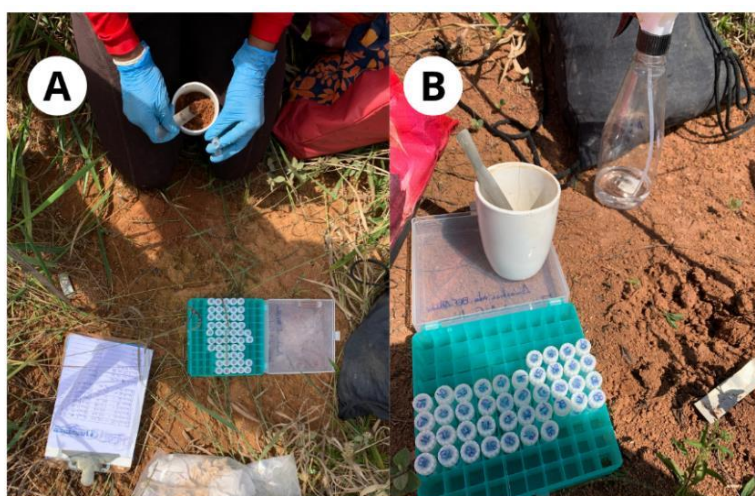


Figura 3: Realização da homogenização da amostra do solo dos cinco pontos da parcela e transferência para microtubos estéreis (A); Materiais utilizados em campo para coleta do solo, caixa com microtubos, frasco de porcelana, aste de metal, álcool líquido 70% (B). Imagens domínio da autora.

3.4 Extração de DNA, PCR, Sequenciamento e Análises de Bioinformática

Extração de DNA das amostras

O DNA dos microrganismos do solo foi extraído utilizando o kit *NucleoSpin Soil* (Macherey-Nagel), seguindo instruções do fabricante. A qualidade do DNA foi avaliada com base na absorvância da espectrometria nos comprimentos de onda de 230, 260 e 280 nm (razões de absorvância esperada: 260/280 nm, ~1.8; 260/230 nm >1.8) detectada por um espectrofotômetro *NanoDrop 1000* (*NanoDrop Technologies*) (Guo et al., 2019). Foram obtidas soluções finais de 30 ng.µl⁻¹ de DNA para cada uma das amostras, que foram armazenadas em freezer a -20 °C por seis meses antes do sequenciamento. Esse procedimento foi adotado para o sequenciamento dos microrganismos procariotos, que serão denominados daqui em diante por microrganismos do solo.

Sequenciamento, Amplificação e Construção das bibliotecas

O DNA do solo isolado de cada amostra foi utilizado para amplificação das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA, das comunidades microbianas de cada parcela amostral por meio de reações da polimerase em cadeia (PCR).

O preparo das bibliotecas seguiu o protocolo do prestador de serviço de sequenciamento (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). A amplificação foi realizada com *primers* para região V3-V4 do gene 16S rRNA, 341F com sequência (CCTACGGGRSGCAGCAG), e

806R com sequência (GGACTACHVGGGTWTCTAT) (Caporaso et al., 2012; Wang & Qian, 2009) *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., USA). O sequenciamento *paired-end*, utilizou os kits V3 com 600 ciclos. Tanto o PCR quanto o sequenciamento das amostras foram realizados pelo Laboratório Neoprospecta Microbiome Technologies, Brasil.

Análises das bibliotecas de sequências

As sequências foram analisadas por meio do pipeline Sentinel. No *pipeline Sentinel* os arquivos *fastq* foram avaliados quanto a qualidade *Phred* (QP) usando o programa *FastQC* v.0.11.8 (Andrews, 2010). A seguir, os arquivos *fastq* foram submetidos à trimagem de primers e sequências com baixa qualidade (*Phred* < 20). Após a filtragem, inferências de sequências únicas de amplicon (ASV) e classificação taxonômica das ASVs, foram anotadas por meio do pacote "DADA2" no R (*R Core Team*, 2023), utilizando a base de referência Silva (Quast et al., 2013), versão 1.38. A partir das anotações obtidas, normalizamos os resultados utilizando a abundância relativa, ou seja, dividindo o número de *reads* em um táxon específico pelo total de *reads* anotados da amostra.

3.5 Fluxos de gases do efeito estufa e Caracterização do solo

Medições dos Fluxos de CO₂ e CH₄

Por razões de logística, realizamos as medições dos fluxos de CO₂ e CH₄ entre os meses de outubro e novembro de 2022, no início da estação chuvosa (Capítulo 1) e no ano de 2023 (capítulo 2) nos meses de setembro e outubro, correspondendo o início da estação da primavera. Em cada parcela foram realizadas incubações *in situ* utilizando uma câmara escura de acrílico (cilíndrica de volume 6.24 L e 0.07 de área de superfície) acoplada a um analisador de gás portátil infravermelho (UGGA, *Los Gatos Research Inc.*). As medições foram realizadas em

triplicatas em cada parcela, a pelo menos 1m de distância de um ponto para o outro, de forma ampliar a representatividade da variabilidade espacial dentro de cada parcela. Simultaneamente, foi medida a temperatura do solo. A câmara foi colocada suavemente sobre a superfície do solo para evitar perturbações e vazamento de gás durante as medições e vedada com argila (Lesmeister & Koschorreck, 2017) (**Figura 4**).

As mudanças na pressão parcial de CO₂ e CH₄ dentro da câmara foram monitoradas durante 3 minutos. O fluxo de CO₂ e CH₄ (mg C m⁻² d⁻¹) em cada medição foi calculado através das seguintes equações:

$$(1) F_{CO_2} = \left(\frac{dp_{CO_2}}{dt} \right) * \left(\frac{V}{R * T * S} \right)$$

$$(2) F_{CH_4} = \left(\frac{dp_{CH_4}}{dt} \right) * \left(\frac{V}{R * T * S} \right)$$

Sendo que dp_{CO_2} é o coeficiente angular da variação do p_{CO_2} (μatm) e dp_{CH_4} é o coeficiente angular da variação do p_{CH_4} (μatm), ao longo do tempo de incubação (dt , dado em segundos), V é o volume da câmara (m^3), R é a constante do gás = $8.205746 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \text{ atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, T é a temperatura do ar (K) e S e A correspondem a área superficial coberta pela câmara (m^2).

Câmaras opacas foram utilizadas para minimizar mudanças de temperatura durante as medições, que podem afetar as trocas gasosas na interface entre solo e espaço livre (Welles et al., 2001). As implantações das câmaras foram realizadas sobre solos expostos, em uma porção entre mudas, evitando superfícies com vegetação.

Para calcular o fluxo dos gases CO₂ e CH₄ na interface solo-atmosfera foi ajustado modelo linear entre concentração dos gases e tempo. O coeficiente angular do modelo foi utilizado para estimar os fluxos (Paranaíba et al., 2022).



Figura 4: Instrumentos utilizados em campo, equipamento de medição dos fluxos de gases (*Los Gatos Research Inc*), tablet, câmara escura, tubos, argila, pá, termômetro e gerador (A). Procedimentos pré medição dos fluxos, registro de ar atmosférico e vedação da câmara no solo com argila (B e C). Imagens domínio da autora.

Caracterização do solo

Em ambas as coletas, as temperaturas do ar e do solo ($^{\circ}\text{C}$) foram medidas *in situ*. Em laboratório, 20g de solo foram misturados em 50 mL de água destilada para a determinação da condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) e pH medindo a solução suspensa (após 1 h em repouso) com eletrodos convencionais (Keller et al., 2020). Cerca de 10 g de cada amostra foi acondicionada em frascos de cerâmica e secos em mufla a 105°C até atingir um peso constante, para a determinação do teor de umidade (% de perda de peso úmido) (Keller et al., 2020). Em seguida, as mesmas amostras foram queimadas a 500°C para determinação do teor de matéria orgânica (% de perda de peso) (Paranaíba et al., 2022).

Para além desta análise de solo, foi realizada uma análise de atributos físico-químicos do solo nas parcelas do experimento. A análise foi realizada pelo Laboratório de análise do solo Viçosa (MG, Brasil) em janeiro de 2023. A interpretação destes dados foi realizada utilizando como referência a ficha catalográfica da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG, 1999). As variações das propriedades químicas e físicas do solo referentes as parcelas analisadas neste estudo são apresentadas no material suplementar.

3.6 Análises estatísticas

Para testar as hipóteses do efeito da riqueza de espécies arbóreas sobre a riqueza de grupos taxonômicos microbianos (Filo e Gênero) e fluxos de CO₂ e CH₄, foi aplicado um modelo linear simples, com os grupos taxonômicos e fluxos de gases como variáveis resposta pela riqueza arbórea (1 – 24 espécies; capítulos 1 e 2), que foi log-transformada (log₁₀) antes das análises.

A resposta da riqueza e diversidade microbiana (Riqueza de espécies e Índice de diversidade Shannon) e dos fluxos de gases à variação da riqueza de espécies foram avaliadas por meio da análise de variância multivariada permutacional *one-way* (PERMANOVA) (Anderson, 2017). Os resultados foram visualmente representados por meio de um gráfico de escalonamento multidimensional não métrico (nMDS). As análises permutacionais foram realizadas utilizando matrizes de semelhança de *Bray-Curtis* com 4999 por permutações para ambos os capítulos.

Para informar as relações dos fluxos de CO₂ e CH₄ entre variáveis contínuas de caracterização do solo (umidade, pH, condutividade e conteúdo de matéria orgânica e inorgânica) foi realizada análise dos componentes principais (PCA). De forma evitar problemas

relacionados com a variância devido ao peso das variáveis, todas as variáveis ambientais numéricas foram estandardizadas.

Os vetores das variáveis abióticas, foram sobrepostas no gráfico para indicar a direção e a força de cada variável em relação aos componentes principais, o fluxo dos gases. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *Software R* (v.4.2.3) (R Core Team, 2018), por meio dos pacotes *Vegan* (Oksanen et al., 2022) em análise e para o tratamento e visualização dos dados, foram utilizados os pacotes *ggplot2* (Wickham et al., 2022a, 2022b), *Tidyverse* (Wickham, 2022), *Dplyr* (Wickham et al., 2022b), as análises estatísticas foram aplicadas para ambos os capítulos.

4. CAPÍTULO I

Sinais iniciais da resposta microbiana do solo à restauração ativa de um ecossistema da Mata Atlântica

4.1 Contextualização

O foco do presente capítulo é compreender as interações das funções ecossistêmicas do solo, após seis meses do plantio do experimento de restauração florestal. O objetivo, é avaliar os efeitos da diversidade arbórea sobre o estabelecimento, composição da comunidade microbiana inicial do solo e suas atividades acopladas, emissão de gases CO₂ e CH₄.

H1 *Quanto maior a riqueza de espécies arbóreas de uma comunidade, maior é a diversidade da microbiota do solo.*

Com os objetivos específicos:

1. Examinar se em um contexto inicial de restauração, a riqueza de diversidade arbórea impulsiona o aumento da atividade e diversidade microbiana do solo;
2. Avaliar a influência das características edáficas na distribuição taxonômica e funcional da microbiota do solo;
3. Avaliar a resposta dos fluxos de CO₂ e CH₄ solo-atmosfera, em contexto de gradiente de diversidade arbóreo e os preditores ambientais de influência.

4. 2 Resultados

A influência da diversidade de vegetação arbórea nas comunidades microbianas do solo e nas suas funções

A riqueza de espécies arbóreas teve um efeito negativo significativo na riqueza taxonômica de microrganismos do solo em nível de filo ($p = 0,044$; $R^2 = 0,11$; $y = 3,12 + -0,01x$) e de gênero, ($p = 0,043$; $R^2 = 0,11$; $y = 4,83 + -0,01x$) (Figura 5). A riqueza arbórea não influenciou os fluxos de CO_2 e CH_4 (Apêndice 01 Figura 1).

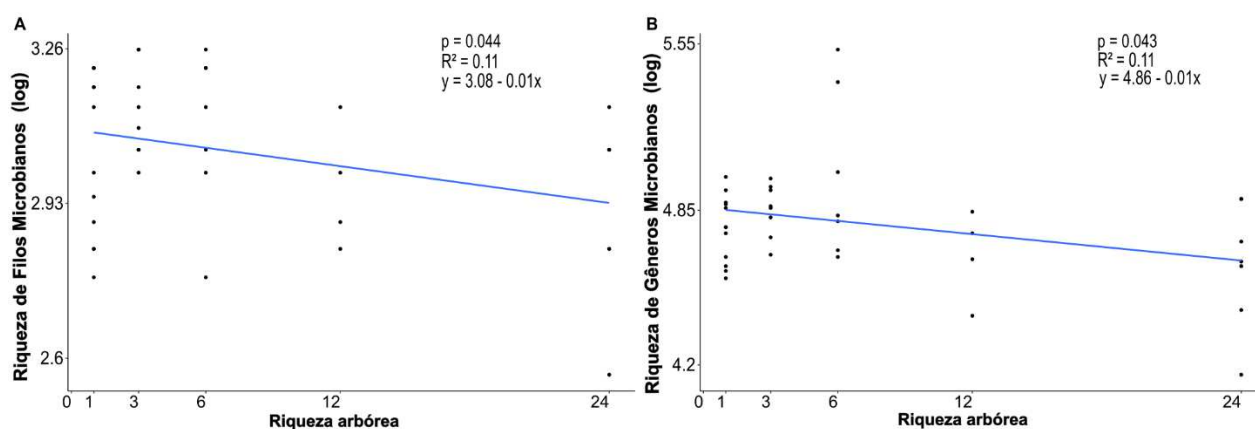


Figura 5: *Simple Linear Regression Test* (Teste de Regressão Linear Simples) mostrando o efeito do gradiente de riqueza de espécies arbóreas sobre a riqueza de microrganismos do solo considerando os níveis de organização de (A) filo e (B) gênero. Equação da reta em relação a riqueza de filo ($y = 3,12 + -0,01x$) e riqueza de gênero ($y = 4,83 + -0,01x$).

Homogeneidade espacial química e microbiológica dos solos

A estrutura física e química dos solos das parcelas experimentais apresentou pouca variação espacial na área do experimento. De maneira geral, a granulometria predominante foi de solos argilosos e pH ácido (entre 4.2 e 5.1). Os demais parâmetros ambientais também apresentaram baixa variação entre as parcelas (Apêndice 01 Tabelas 1 e 2).

Observamos a predominância dos filos *Acidobacteriota* (37,01%), *Proteobacteria* (25,02%), *Actinobacteriota* (14,67%), *Chloroflexi* (11,26%) e *Verrucomicrobiota* (2,46%) na microbiota do solo (**Figura 6 A**). Os filos com abundâncias relativas abaixo de 2%, considerados como microbiota rara (i.e., outros), foram responsáveis por uma fração de 16.29% do total dos táxons. Para o nível de família, os grupos não classificados dentro de *Acidobacteriales* (9,33%) e *Xanthobacteraceae* (7,98%) se mostraram mais abundantes. O grupo *outros* representou cerca de 30% do total na classificação das famílias (**Figura 6 B**). Na classificação de gênero obtivemos os grupos não classificados dentro das ordens *Acidobacteriales* (9,33%) e *Subgroup2* (6,98%) como os mais abundantes (**Figura 6 C**). Os gêneros menos abundantes (abaixo de 2%), agrupados em outros, contribuíram para cerca de 40% do total dos microrganismos encontrados no solo. A variação estatística dos valores dos grupos taxonômicos mais abundantes é apresentada no **apêndice 01; Tabela 3**.

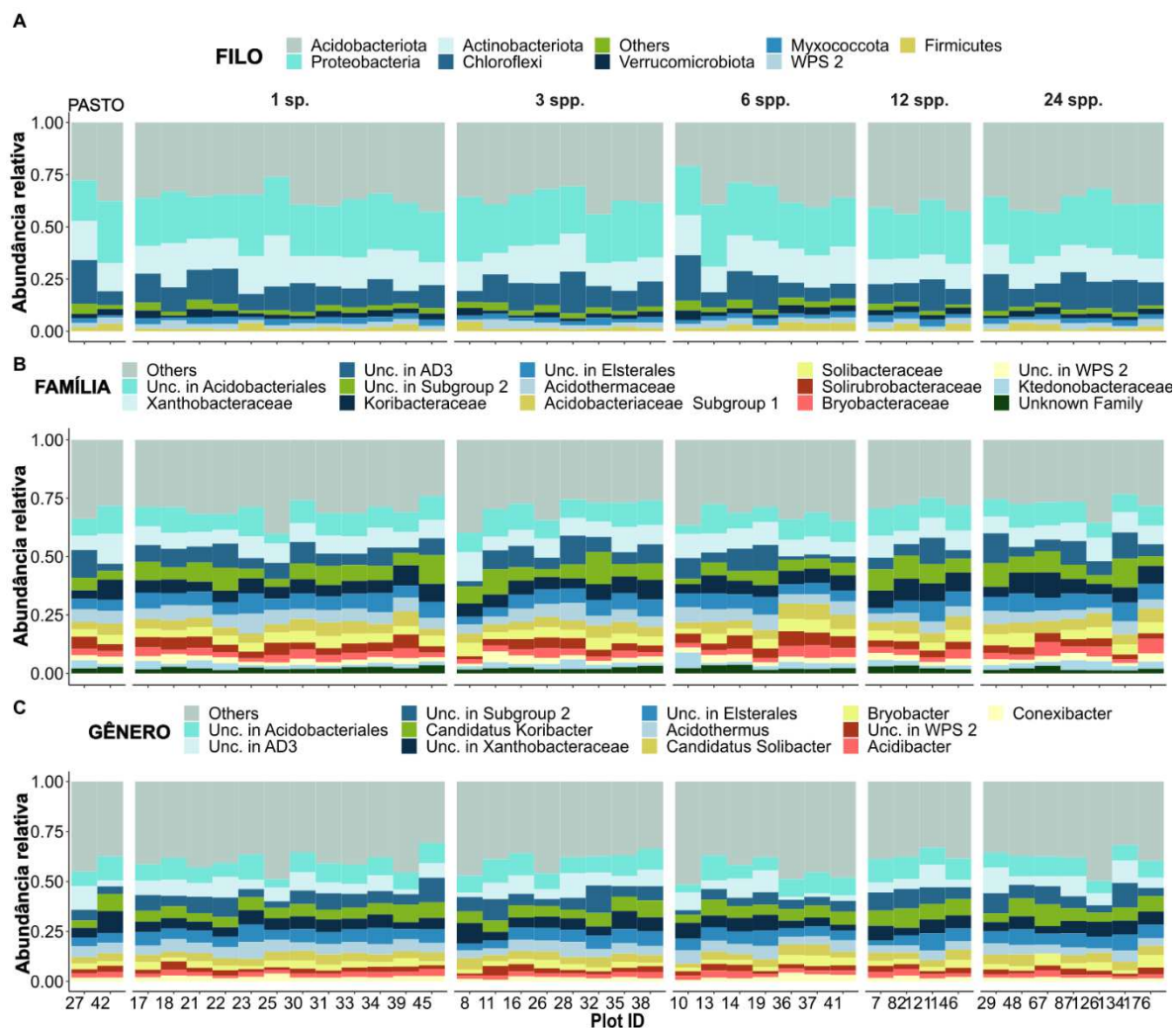


Figura 6: Abundância relativa dos táxons de microrganismos procaríotos do solo nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e controle (*pasto*) por amostra ($n = 38$; eixo x). “outros” representa a soma de todos os grupos taxonômicos com abundância relativa média inferior a 2%. Os dados são apresentados em 3 níveis hierárquicos sendo (A) Filo, (B) Família e (C) Gênero.

A análise visual revelou um padrão de homogeneidade na composição das comunidades microbianas entre os tratamentos (parcelas experimentais de 1 a 24 espécies), especialmente quando comparados com a pastagem como referência. Não foram observados padrões significativos na composição da comunidade microbiana entre os tratamentos para os grupos taxonômicos avaliados, índice de Shannon (PERMANOVA, $p > 0,05$) (Apêndice 01 Figura 4), com visualização da riqueza de espécies através de um gráfico nMDS (Apêndice 01 Figura 3).

Os fluxos de GEE não reflete o impacto inicial da riqueza da diversidade arbórea

As taxas de emissão de CO₂ variaram entre 23.636 e 963 mg.m⁻².⁻¹. As taxas de emissão de CH₄ variaram entre 7,90 e -2,42 mg.m⁻².⁻¹ (influxo) (**Tabela 2**). As taxas de emissão de CH₄ foram significativamente maiores no tratamento de riqueza com 24 espécies em relação aos demais tratamentos, no entanto não foram observadas diferenças significativas entre as emissões e suas respectivas diversidades arbóreas das áreas amostradas (PERMANOVA, $p > 0,05$) (**Apêndice 01 Figura 5**).

Tabela 2. Estatística descritiva da variação dos fluxos de CO₂ e CH₄ em gradientes de riqueza de diversidade arbóreas 1- 24 espécies e pastagem. Representação da média ± desvio padrão dos fluxos de CO₂ e CH₄ (mg.m⁻².⁻¹).

	Riqueza	Máximo	Mínimo	Média	Mediana
Fluxo CO ₂ mg.m ⁻² . ⁻¹	Pastagem	9965	963	5464 ± 6365	5464
	1 sp.	23636	7077	12211 ± 4323	12125
	3 spp.	22177	1645	10645 ± 6304	9708
	6 spp.	22501	2726	10182 ± 7443	11295
	12 spp.	23219	12860	17205 ± 4337	16369
	24 spp.	22381	5244	13332 ± 5715	14035
Fluxo CH ₄ mg.m ⁻² . ⁻¹	Pasture	-0,13	-0,3	-0,23 ± 0,14	-0,23
	1 sp.	1,91	-2,36	-0,12 ± 1,33	-0,11
	3 spp.	2,19	-2,42	-0,60 ± 1,38	-0,68
	6 spp.	2,53	-1,62	-0,14 ± 1,54	-0,38
	12 spp.	-0,23	-1,64	-0,75 ± 0,62	-0,56
	24 spp.	7,90	-1,64	1,30 ± 3,22	0,66

A Análise de Componentes Principais (PCA) incluindo os parâmetros do solo em relação aos fluxos de CO₂ e CH₄ explicou 48.1% da variância dos dados no somatório dos 2

eixos principais. No geral os fluxos apresentaram comportamento similar, de forma que o pH apresentou forte relação, juntamente com matéria inorgânica e umidade. Diferentemente, a matéria orgânica e a condutividade mostraram uma correlação negativa nos eixos (**Figura 7**).

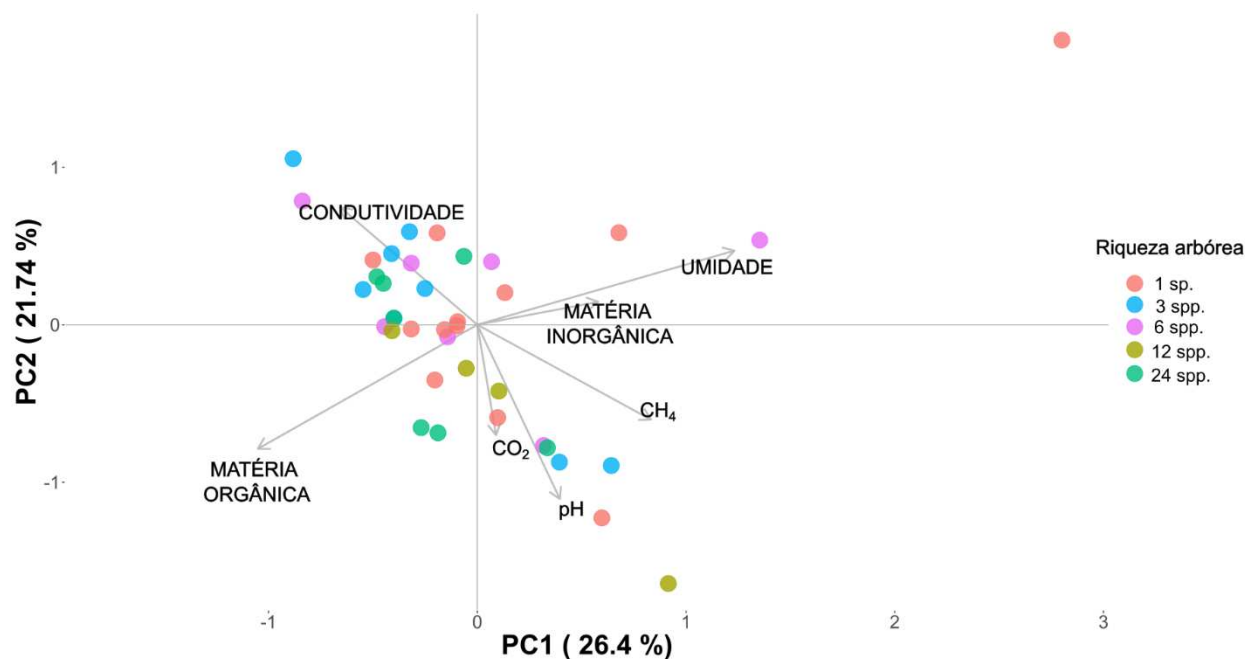


Figura 7. Os gráficos da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustram a relação entre as variáveis abióticas matéria orgânica e inorgânica, umidade, pH e condutividade juntamente com os dados de fluxo de CO₂ e CH₄ em diferentes tratamentos (1 a 24 espécies). Estes foram avaliados através da caracterização do solo a partir de amostras recolhidas. Os vetores indicam a direção e a força de cada variável.

4.3 Discussão

Técnicas de restauração que utilizam comunidades mistas de árvores recuperam a biomassa e a atividade microbiana do solo mais rapidamente do que monoculturas, fornecendo recursos de maior qualidade e quantidade, como serrapilheira e exsudatos, dependendo das características do solo (Allek et al., 2022; Couto et al., 2016; Eisenhauer et al., 2017). Nosso estudo é um dos primeiros no bioma da Mata Atlântica a fornecer dados sobre a influência da

diversidade arbórea na microbiota do solo e na atividade metabólica (fluxos de GEE) no contexto inicial de restauração. Nossos resultados mostraram que, após seis meses, a diversidade arbórea não aumentou a riqueza microbiana, rejeitando nossa hipótese inicial. Também não houve efeito significativo nos fluxos de CO₂ e CH₄ entre solo e atmosfera. Contrariando nossas expectativas, observamos um efeito negativo da riqueza de espécies arbórea sobre a diversidade microbiana do solo, destacando um efeito de seleção do tipo negativa. No entanto, é bem documentado que, mesmo em plantios maduros (acima de 5-10 anos), os efeitos da diversidade arbórea nem sempre são visíveis, podendo ser inexistentes (Cesarz et al., 2022; Rivest et al., 2019; Martin-Guay et al., 2022) ou negativos (Li et al., 2023). Embora alguns estudos encontrem efeitos significativos da diversidade arbórea, em plantios iniciais (2 a 3 anos) sobre as funções microbianas do solo (Couto et al., 2016; Eisenhauer et al., 2010). Trabalhos em contextos experimentais semelhantes destacam a importância das variáveis abióticas para explicação dos padrões das funções microbianas do solo (Cesarz et al., 2022; Bieluczyk et al., 2023; Eaton et al., 2021). Isso corrobora nossos achados taxonômicos microbianos, que refletem comunidades adaptadas ao perfil nutricional escasso no solo da área experimental (Dukunde et al., 2019; Rawat et al., 2023). Essas características coincidem ainda, com os padrões de fluxo e influxo de CO₂ e CH₄ (Bieluczyk et al., 2023; Carmo et al., 2012).

A diversidade de árvores afeta a composição do microbiota e a emissão de GEE do solo na fase inicial da restauração?

Após seis meses do plantio, nossa hipótese foi refutada. Experimentos BEF geralmente apresentam uma idade jovem, com efeitos que se intensificam ao longo do tempo (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024). No entanto, alguns estudos mostram efeitos significativos em períodos curtos pós-plantio. Por exemplo, a diversidade de plantas em pastagens pode aumentar

as funções microbianas, biomassa e atividade metabólica entre 2 a 4 anos (Eisenhauer et al., 2010). Um experimento na Mata Atlântica demonstrou que florestas com espécies mistas podem melhorar propriedades microbianas a partir de 2 a 3 anos (Couto et al., 2016). Em contraste, uma revisão de experimentos BEF indicou que as funções microbianas do solo são mais influenciadas por fatores abióticos do que pela riqueza de espécies arbóreas entre 3 a 7 anos (Cesarz et al., 2022). Além destes, um estudo em uma floresta subtropical relatou uma diminuição na diversidade microbiana com o aumento natural do gradiente arbóreo (Li et al., 2023). Esses estudos sugerem que nos primeiros anos após o plantio, a diversidade de espécies não apresenta papel central na regulação da composição e metabolismo das comunidades microbianas do solo (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024).

Em nosso experimento, o efeito negativo significativo (**Figura 5**) da diversidade de espécies arbóreas na diversidade da microbiota do solo mostrou que, precocemente, a microbiota do solo foi positivamente influenciada em seis parcelas de monoculturas, apresentando maior riqueza de espécies microbianas nas respectivas parcelas. Mudanças de monoculturas como *A. colubrina*, *C. estrellensis*, *C. myrianthum*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus* e *S. terebinthifolia* (**Tabela 1**) afetaram de forma expressiva a comunidade microbiana. Esse resultado contraria estudos anteriores que previam contribuições significativas da diversidade arbórea nas funções ecossistêmicas do solo em comparação com monoculturas, ou mesmo ausência de efeitos no período inicial (Couto et al., 2016; Eisenhauer et al., 2010; Meng et al., 2024; Martin-Guay et al., 2019). Contudo, nosso achado está de acordo com estudos que destacam a importância da identidade das espécies arbóreas na produtividade de sistemas florestais jovens (Markus et al., 2021). A escolha das espécies é crucial para o funcionamento dos efeitos de complementariedade e seleção em um sistema florestal (Meng et al., 2024; Ammer, 2018; Eisenhauer et al., 2010; Loreau & Hector, 2001). Estudos de diversidade e funcionamento dos ecossistemas indicam que a identidade das espécies, pode ser

mais responsiva do que a riqueza de diversidade arbórea no período inicial de desenvolvimento, visto que a baixa estatura e distanciamento das mudas minimizam as relações de interação entre elas (Eisenhauer et al., 2010; Chen et al., 2019; Singavarapu et al., 2021). Monoculturas mostram um efeito de seleção mais pronunciado, destacando a produtividade individual e evidenciando espécies com melhores adaptações (Shovon et al., 2024; Blondeel et al., 2024; Loreau & Hector, 2001).

Devido ao ambiente altamente degradado, com histórico de pastagem extensiva e em estágio inicial de restauração ativa, os mecanismos de complementariedade de nicho ainda não mostram interações expressivas entre as espécies desse trabalho. Por isso, acreditamos que ocorra um maior efeito da biomassa subterrânea e das interações na rizosfera das comunidades arbóreas selecionadas como o solo e seus microorganismos (Singavarapu et al., 2021; Zhou et al., 2017). As trocas dinâmicas de nutrientes durante a sucessão florestal proporcionam condições para a adaptação das bactérias na rizosfera (Zheng et al., 2019; Borowik et al., 2022; Zhou et al., 2017). A liberação de exsudados radiculares, ricos em formas lábeis de carbono orgânico e nitrogênio, estimula o crescimento microbiano em condições limitantes, como as do solo nesse experimento, favorecendo a adaptação bacteriana (Li et al., 2023; Dukunde et al., 2019; Catão, et al., 2014). Solos de monocultura preservam interações mais conservadoras e complexas na rizosfera, onde a interação intraespecífica diminui a competição, favorecendo grupos microbianos especialistas (Loos et al., 2024; Zhou et al., 2017; Dukunde et al., 2019; Loreau & Hector, 2001). Na sucessão florestal de florestas temperadas, há uma predominância inicial de bactérias que contribuem para o sucesso inicial de estabilização microbiana do solo (Zhou et al., 2017). Contudo, são limitados os estudos sobre a contribuição desses bioindicadores do solo ao longo das fases sucessionais, especialmente em condições edáficas variadas (Zhou et al., 2017; Singh et al., 2023). A resposta da microbiota nesse trabalho

evidenciou a capacidade adaptativa dos microrganismos às interações bióticas e abióticas do solo (Meng et al., 2024; Dukunde et al., 2019; Zhalnina et al., 2018).

As propriedades edáficas refletem variações relacionadas com a composição da comunidade microbiana do solo

Nossa análise revelou que o solo das parcelas do experimento é homogêneo, altamente degradado e de baixa qualidade físico-química; (e.g., solo exposto), coberto por braquiárias, compactado, com pH ácido e baixa qualidade nutricional (**Apêndice 01 Tabelas 1 e 2**). Esses fatores podem ter influenciado a absorção de água e o acesso a nutrientes, contribuindo para a seleção de microrganismos (Fischer et al., 2018; Wang & Zou, 2024). Não foi registrada diferenciação da comunidade microbiana em relação aos gradientes de riqueza arbórea, o que corrobora estudos metagenômicos que afirmam a forte influência do solo nos perfis taxonômicos (Catão, et al., 2014; Dukunde et al., 2019). O solo do experimento apresentou grande abundância dos filos, *Acidobacteriota* (37,01%), *Proteobacteria* (25,02%), reafirmando sua presença significativa em solos florestais (Bruce et al., 2010; Faoro et al., 2010; Ward et al., 2009) e pastagens (Bieluczyk et al., 2023; Tomazelli et al., 2023) da Mata Atlântica.

Em estágios iniciais de restauração, compreender a composição dos grupos taxonômicos microbianos pode fornecer informações importantes como bioindicadores para ações corretivas e para monitorar mudanças ao longo do tempo (Zhou et al., 2017; Zheng et al., 2019; Singh et al., 2023; Depauw et al., 2024;). Nossos resultados relevaram como mais abundante o filo *Acidobacteriota* (37,01%) (Gottschall et al., 2022; Saleem et al., 2019; Rivest et al., 2019; Ward et al., 2009) com organismos que apresentam genes ligados a vias de degradação de polímeros de carboidratos, apesar das características oligotróficas do solo (Fierer et al., 2007; Catão, et al., 2014; Dukunde et al., 2019). A capacidade de utilizarem diferentes fontes de carbono é característica compartilhada pelos grupos microbianos, que

permite a coabitação em diferentes nichos (Burke et al., 2011; Catão, et al., 2014; Lladó et al., 2017; Wang & Zou et al., 2024). Os táxons relacionados às Acidobactérias, não classificados dentro de *Acidobacterias*, e *Actinobacteriota* (14,67%) e *Subgroup2* (6,98%) encontrados nesse estudo, destacam-se por compartilharem papéis ecológico semelhantes como, a adaptação em solos de baixo aporte nutricional e pH, resistência à dessecação e estresse hídrico, adaptações essenciais para o solo do experimento (Pacchioni, et al., 2014; Catão, et al., 2014; Thomson et al., 2010).

Esses achados corroboram com estudos realizados no bioma da Mata Atlântica, que, por meio de análises taxonômicas e funcionais, mapeiam outras conexões. Por exemplo, o gênero *Candidatus Koribacter* (3,73%), uma bactéria heterotrófica e aeróbica que utiliza fontes de carbono complexas, compartilha essas características com *Acidobacterium* (4,42%), ambos gêneros representativos em nosso experimento (Catão et al., 2014; Dukunde et al., 2019; Ward et al., 2009). Além disso, esses gêneros compartilham vias metabólicas de N, C e P e a capacidade de degradação da matéria orgânica com o gênero *Candidatus Solibacter* (2,21%) igualmente representativo em nosso estudo (Catão et al., 2014; Dukunde et al., 2019; Ward et al., 2009). Estas ligações são facilitadas quando se tem uma co-ocorrência com comunidades fúngicas (Lladó et al., 2017; Catão et al., 2014; Banerjee et al., 2016; Pan et al., 2021; Liu et al., 2024). Estes resultados revelam táxons adaptados ao histórico degradado do solo, que se encontra ainda em recuperação após poucos meses de plantio (Zhou et al., 2017; Catão et al., 2014; Dukunde et al., 2019).

Influência de variáveis abióticas nos fluxos de gases do solo

Embora a diversidade de espécies arbóreas não tenha afetado significativamente os fluxos de CO₂ ou CH₄, a restauração florestal é essencial para mitigar as mudanças climáticas, armazenando carbono nas estruturas florestais (Bieluczyk et al., 2023; Chen et al. 2019). Além

disso, ajuda a formar sumidouros naturais de metano (Mombrini et al., 2022; Bieluczyk et al., 2023; Chen et al. 2019). Estudos de experimentos do tipo BEF mostram que a diversidade arbórea não influencia a respiração do solo ou a biomassa microbiana, mas as interações filogenéticas indicam que os efeitos da diversidade dependem do contexto e são mais expressivos em solos secos (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024). No bioma da Mata Atlântica, em cenários de restauração, condições bióticas e abióticas são fundamentais, influenciando os processos metabólicos e biogeoquímicos do solo (Bieluczyk et al., 2023; Siqueira-Neto et al., 2021; Tulio et al., 2023). No nosso experimento, apenas a riqueza de diversidade arbórea foi considerada como variável biótica, sem contemplar outras como relações de micorriza e interação bactéria-fungo. As condições abióticas mostraram-se mais influentes na resposta das emissões e consumos de GEE no solo do experimento.

Foi observado influxo médio de CH₄ (\pm SD) $-0,04 \pm 1,81 \text{ mg.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, indicando que o solo do experimento funcionava como sumidouro de metano (Mombrini et al., 2022; Dutaur & Verchot, 2007), valores abaixo dos registrados em florestas tropicais $0,41 - 0,55 \text{ mg.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ (Verchot et al., 2000) e em estudos na Mata Atlântica $0,74 - 1,40 \text{ mg.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ (Sousa Neto et al., 2011; Mombrini et al., 2022). As emissões de CO₂ foram em média $11.901 \pm 5.890 \text{ mg.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, muito inferiores a estudos anteriores na Mata Atlântica que registraram valores significativamente mais altos em áreas de floresta nativa e restauração ativa $7.261.056$ e $5.246.208 \text{ mg.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ (Castellano et al., 2017). Outro estudo no mesmo bioma revelou que as emissões durante o verão foram cerca de 50% maiores do que no inverno (Tulio et al., 2022). Os dados do nosso estudo foram coletados na primavera, quando o clima não permaneceu consistentemente seco. Nos nossos achados, os fluxos de gases mostraram correlação positiva com a umidade do solo, conforme amplamente documentado na literatura (**Figura 7**) (Tulio et al., 2022; Chen et al., 2019; Gottschall et al., 2021).

A respiração do solo engloba desde a mineralização do carbono por microrganismos heterotróficos até a respiração autotrófica pelas raízes das plantas (Ryan & Law, 2005; Bond-Lamberty et al., 2004; Tulio et al., 2022; Hashimoto et al., 2023). A quantidade e qualidade da fonte de carbono são cruciais para esse processo fundamental no ciclo do carbono (Khelifa et al., 2017; Chen et al., 2019). Em nosso experimento o período de seis meses não permitiu uma entrada significativa de matéria orgânica no sistema (produtividade primária), evidenciando ainda o histórico de degradação do solo. Estudos mostram que o aumento na biomassa do solo é compensado pelo aumento na respiração microbiana, indicando uma interação compensatória entre planta e solo (Khelifa et al., 2017). Outros estudos apontam ainda, maiores emissões de CO₂ associadas à biomassa microbiana e respiração em sistemas com mistura de espécies comparados à monoculturas (Jewell et al., 2017; Khelifa et al., 2017; Chen et al., 2019; Martin-Guay et al., 2022). A matéria orgânica e a condutividade mostraram correlações negativas com os fluxos de gases (**Figura 7**), indicando o impacto positivo da matéria inorgânica, validando a influência das variáveis de nutrição do solo (Gottschall et al., 2021; Bieluczyk et al., 2023; Zheng et al., 2019; Wang & Zou, 2024a). Além disso as Acidobactérias, o grupo mais abundante, foram correlacionadas negativamente com matéria orgânica do solo (Catão et al., 2014; Fierer et al., 2007), enquanto o pH mostrou correlação positiva com os fluxos de CO₂ e CH₄, destacando sua importância para a microbiota e processos metabólicos do solo (**Figura 7**) (Gottschall et al., 2021; Pacchioni, et al., 2014; Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024; Chen et al., 2019).

4.4 Conclusão

Concluimos que no estágio inicial de restauração de uma floresta de Mata Atlântica, o efeito de seleção foi o mecanismo preponderante na relação da diversidade de espécies arbóreas plantadas sobre a composição da comunidade microbiana do solo. Concluimos ainda que o histórico do uso do solo na área de pastagem degradada onde o experimento foi implementado

e a escassez nutricional, foram os principais influenciadores do metabolismo e da composição da comunidade microbiana do solo. O efeito de seleção evidenciado neste estágio precoce nos mostra um sinal inicial do processo sucessional, com as bactérias como bioindicadores sensíveis revelando tanto relações bióticas (diversidade arbórea) quanto abióticas que afetam o efeito de complementaridade esperada. Nosso estudo também destacou que o metabolismo microbiano do solo ainda permanece dissociado do processo de reestruturação da comunidade microbiana em seus estágios iniciais. Por fim, nosso estudo aponta que as seis espécies *A. colubrina*, *C. estrellensis*, *C. myrianthum*, *H. chrysotrichus*, *H. heptaphyllus* e *S. terebinthifolia* (**Tabela 1**) representam boas escolhas para restauração florestal de áreas com solo de baixa qualidade, por apresentarem rápido condicionamento da comunidade microbiana do solo.

5. CAPÍTULO II

Mudança na qualidade do solo e favorecimento das comunidades microbianas em um contexto inicial de restauração no bioma de Mata Atlântica

5.1 Contextualização

Neste capítulo avaliamos as modificações sobre as funções ecossistêmicas do solo, na composição da comunidade microbiana e fluxo de gases CO₂ e CH₄, do experimento BEF-*Atlantic* 18 meses após o plantio das mudas. O objetivo do capítulo é avaliar a evolução temporal da relação entre a diversidade arbórea e as funções ecossistêmicas do solo, comparando-se com parcelas em áreas de pastagem e em um fragmento florestal (com características de floresta primária).

H1 *Quanto maior a riqueza de espécies arbóreas de uma comunidade, maior é a diversidade da microbiota do solo.*

Com os objetivos específicos:

1. Avaliar de forma temporal 18 meses após o plantio, o gradiente de diversidade arbórea utilizada no experimento BEF-*Atlantic*, refletirá em um aumento da diversidade e atividade microbiana do solo;
2. Examinar se as características químico-físicas do solo afetam a composição dos grupos taxonômicos microbianos;
3. Avaliar as taxas de emissão de GEE em fragmentos de floresta madura, em áreas restauradas e de pastagens, identificando as variáveis abióticas mais influentes.

5.2 Resultados

A influência da diversidade de vegetação arbórea nas comunidades microbianas do solo e nas suas funções

Não foi registrada correlação significativa entre a riqueza de espécies de árvores e a riqueza da comunidade microbiana do solo (**Apêndice 02 Figura 1**), entre a riqueza de espécies arbóreas e o fluxo de CO₂ do solo (**Figura 8A**). Contudo, foi observada uma correlação linear significativa positiva ($p < 0.05$) entre a riqueza de espécies arbóreas e o fluxo de CH₄ atmosfera-solo ($p = 0,049$; $R^2 = 0,108$; $y = 0,062 + 0,136x$) (**Figura 8B**).

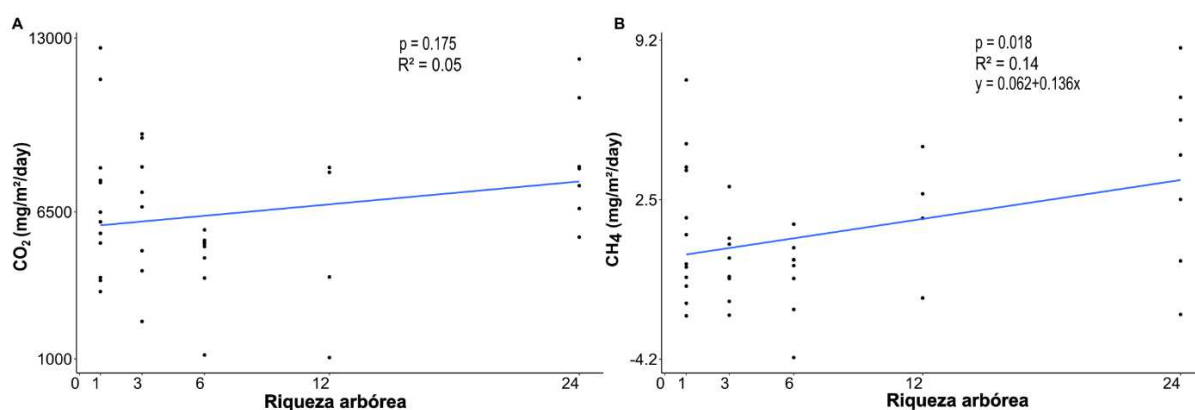


Figura 8: *Simple Linear Regression Test* (Teste de Regressão Linear Simples) mostrando o efeito do gradiente de riqueza de espécies arbóreas sobre e os fluxos de CO₂ (A) e CH₄ (B) atmosfera-solo. Equação da reta em relação ao fluxo de metano ($y = 0,062 + 0,136x$).

Variação microbiológica do solo

Considerando todas as amostras, foi observada a predominância dos filos *Proteobacteria* (24,10%), *Actinobacteriota* (21,80%), *Acidobacteriota* (21,35%), *Chloroflexi* (17,92%) e *Verrucomicrobiota* (3,67%), (**Figura 9A**) que correspondem a 88% da composição total da comunidade. Os filos com abundâncias relativas abaixo de 2%, considerados microbiota rara (Outros), foram responsáveis por uma fração de 9% do total dos táxons. Em

nível de família, os grupos mais abundantes foram *Xanthobacteraceae* (8,21%), não classificados dentro de *AD3* (7,36%) e *Acidothermaceae* (6,57%). O grupo "Outros" representou cerca de 35% do total na classificação das famílias (**Figura 9B**). Na classificação de gênero os grupos mais abundantes foram os grupos não classificados dentro do filo *AD3* (7,36%) e família *Xanthobacteraceae* (6,14%) além de *Acidothermus* (6,59%). Os gêneros menos abundantes (abaixo de 2%), apresentaram contribuição de quase 50% do total (**Figura 9C**). Na **Tabela 3** é possível observar a abundância relativa dos táxons registrados.

Variações nas características abióticas das parcelas experimentais (1 a 24 espécies), se diferenciam das parcelas de referências, pastagem e floresta (**Tabela 04**). Com um pH moderadamente ácido entre (4,10 a 5,50) o fragmento florestal reflete uma maior fertilidade e troca catiônica, diferente das parcelas de pastagem que são caracterizadas como solo ácido, o baixo teor nutricional. Os demais parâmetros ambientais também apresentaram baixa variação entre as parcelas (**Apêndice 02 Tabelas 1 e 2**).

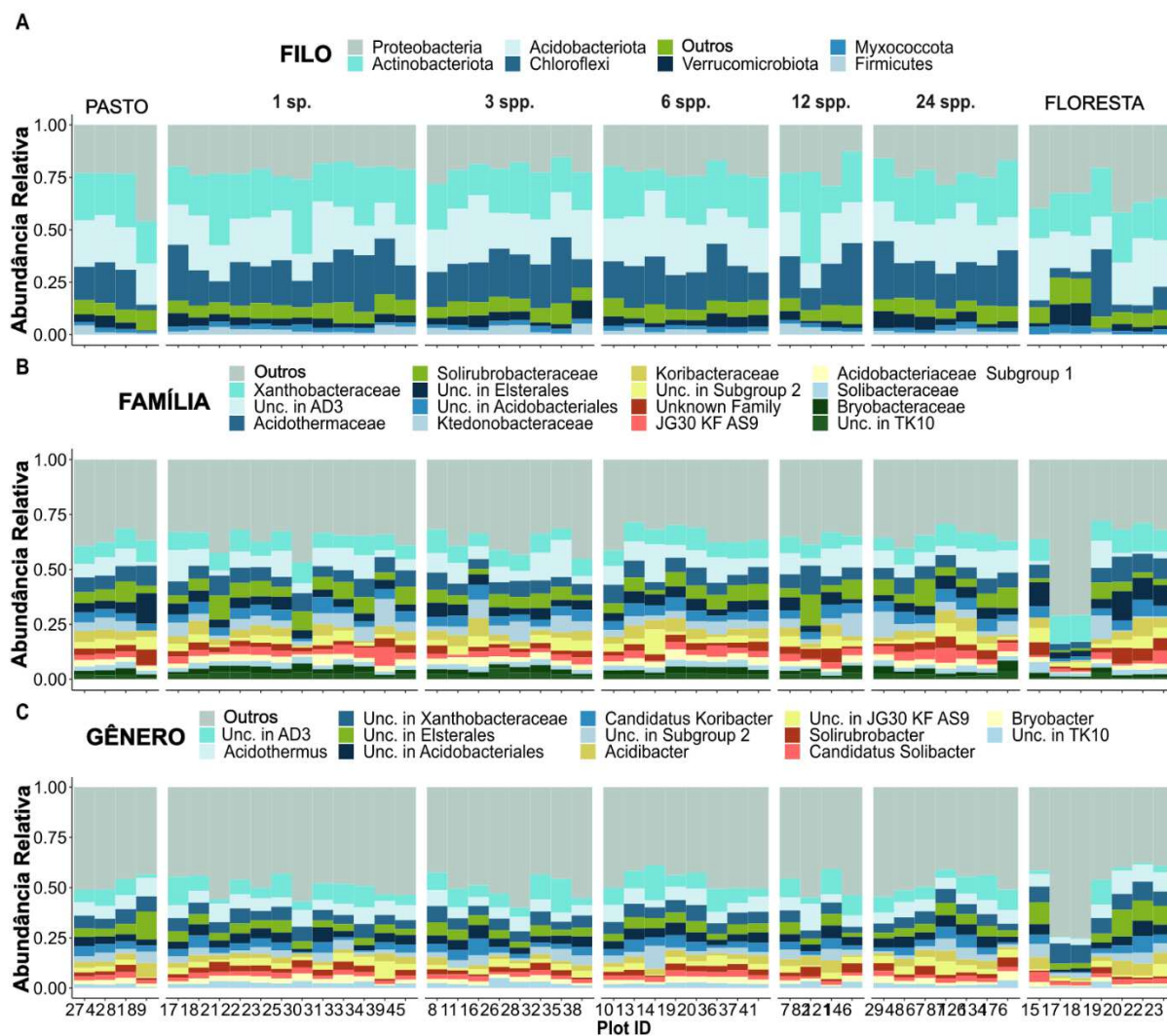


Figura 9: Abundância relativa dos táxons de microrganismos procariotos do solo nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e de referências (*pasto e floresta*) por amostra ($n = 50$; eixo x), o ID Plot corresponde a identificação das parcelas trabalhadas. *Outros* representa a soma de todos os grupos taxonômicos com abundância relativa média inferior a 2%. Os dados são apresentados em 3 níveis hierárquicos sendo Filo (A), Família (B) e Gênero (C).

Tabela 3: Abundância relativa dos táxons microbianos mais abundantes. MED (média), MD (mediana), SD (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), MÍN (mínimo), MÁX (máximo).

	MED.	MD.	MÁX.	MÍN.	SD	CV %
FILO						
<i>Proteobacteria</i>	0,24	0,23	0,46	0,126	0,06	25,00
<i>Actinobacteriota</i>	0,21	0,21	0,44	0,101	0,06	28,57
<i>Acidobacteriota</i>	0,21	0,21	0,32	0,117	0,05	23,80
<i>Chloroflexi</i>	0,18	0,19	0,32	0,027	0,07	38,89

	<i>Verrucomicrobiota</i>	0,04	0,03	0,11	0,003	0,02	50,00
FAMÍLIA	<i>Xanthobacteraceae</i>	0,08	0,08	0,13	0,042	0,02	25,00
	Unclassified in <i>AD3</i>	0,07	0,07	0,17	0,002	0,04	57,14
	<i>Acidothermaceae</i>	0,07	0,06	0,13	0,029	0,02	28,57
	Unclassified in <i>AD3</i>	0,07	0,07	0,17	0,002	0,04	57,14
GÊNERO	<i>Acidothermus</i>	0,07	0,06	0,13	0,029	0,02	28,57
	Unclassified in						
	<i>Xanthobacteraceae</i>	0,06	0,06	0,10	0,029	0,01	16,67

Observamos um padrão de similaridade significativo na composição da comunidade microbiana entre as parcelas experimentais (gradiente de diversidade de 1 a 24 espécies) e as áreas de referência (pastagem e fragmento de floresta), conforme indicado pela análise PERMANOVA ($p < 0,05$) para os grupos taxonômicos avaliados (**Apêndice 02 Figura 2 e Tabela 3**). A visualização dos grupamentos foi representada pela análise estatística de nMDS (*Non-Metric Multidimensional Scaling*) que destaca os arranjos formados, como o do fragmento florestal (**Figura 10**). De maneira geral, as amostras do fragmento florestal apresentam-se distintas das demais amostras. Não é possível identificar nenhum padrão ou distinção entre as parcelas do gradiente de diversidade e de pastagem.

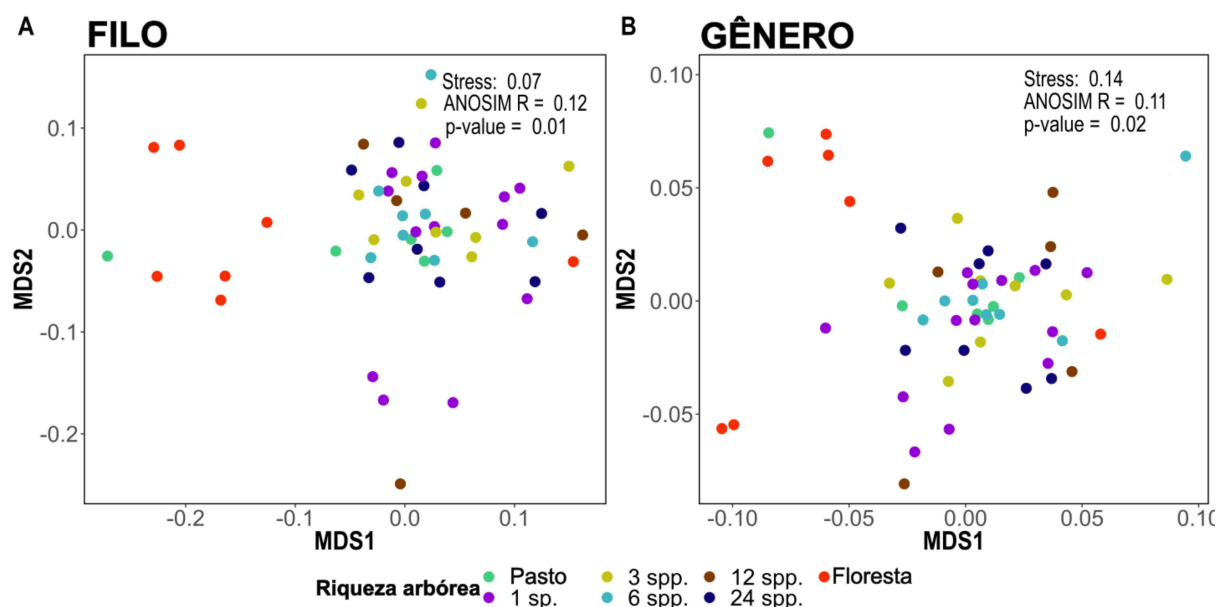


Figura 10. Representação da análise estatística de nMDS (*Non-Metric Multidimensional Scaling*), busca preservar a ordem de proximidade entre os objetos, de forma que os mais semelhantes estejam mais próximos em um espaço de baixa dimensão. Na visualização, o nMDS é utilizado na diversidade dos táxons microbianos - Filo (A) e Gênero (C) pela categoria de diversidade arbórea do experimento (1 a 24 espécies) e valores de referência (pasto e floresta). Valores significativos são observados para os dois táxons.

Os fluxos de GEE refletem variações em relação a riqueza da diversidade arbórea

O CO₂ apresentou emissão (fluxo do solo-atmosfera) variando entre 21386,3 e 1053,07 mg.m⁻².⁻¹. O fluxo de CH₄ variou entre 8,88 mg.m⁻².⁻¹ (emissão) e - 4,34 mg.m⁻².⁻¹ (influxo). Diferenças significativas foram observadas entre as emissões dos gases e suas respectivas diversidades arbóreas (PERMANOVA, $p > 0,05$) (**Figura 11 e Apêndice 02 Tabela 04**).

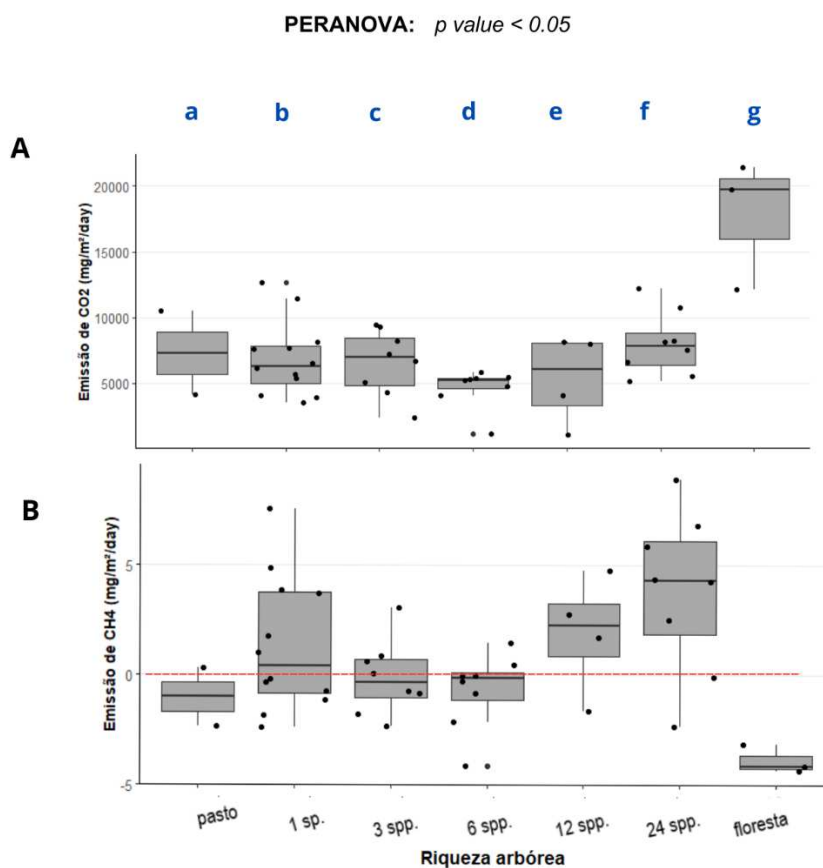


Figura 11: Representação das taxas de emissão de GEE pelas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e fragmentos de referência pastagem e floresta (PERMANOVA). Emissão de dióxido de carbono (CO₂) (A) e emissão e consumo de metano (CH₄), com a linha tracejada em vermelho indicando a mudança de efluxo para influxo (B) em (mg.m⁻².⁻¹).

A Análise de Componentes Principais (PCA), incluindo os parâmetros do solo e o fluxo dos gases, explicou 45,65% da variância dos dados no somatório dos 2 eixos principais (**Figura 12**). Observou-se uma relação positiva entre os fluxos de CO₂ com CH₄, teor de matéria orgânica e pH, se opondo a condutividade, umidade e matéria inorgânica. As médias e o desvio das variáveis abióticas são apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4: Estatística descritiva da média e o desvio padrão (\pm) das variáveis abióticas do solo analisadas juntamente com valores de emissão de CO₂ e CH₄. As variáveis foram representadas como Matéria orgânica (MO) e matéria inorgânica (MI).

	Fluxo CH ₄	CO ₂	pH	Condutividade	Umidade	MO	MI
	mg.m ⁻² . ⁻¹			(mS/cm)		(g)	
Pasto	-1,00 ± 1,88	7306 ± 4513	4,9 ± 0,14	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,001	0,006 ± 0,001
1sp.	1,34 ± 3,05	6888 ± 2849	4,9 ± 0,25	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,003	0,007 ± 0,002
3spp.	-0,13 ± 1,07	6566 ± 2486	4,8 ± 0,18	0,08 ± 0,04	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,014	0,008 ± 0,009
6spp.	-0,68 ± 1,73	4532 ± 1598	4,8 ± 0,25	0,07 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,003	0,006 ± 0,001
12spp.	1,89 ± 2,66	4426 ± 3566	4,8 ± 0,25	0,10 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,05 ± 0,004	0,008 ± 0,003
24spp.	3,79 ± 3,66	8208 ± 2570	4,6 ± 0,36	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,004	0,006 ± 0,002
Floresta	-3,86 ± 0,65	17748 ± 4916	5,4 ± 0,38	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,004 ± 0,001

Correlacionando aos vetores de CO₂ e pH é possível observar a maior concentração das parcelas de monoculturas - porção central, e as parcelas bem definidas do fragmento florestal - porção inferior, as parcelas de pastagem se apresentaram próximas ao vetor pH, avaliadas pelo PC1. Seguindo o mesmo padrão, o fluxo de CH₄ também apresentou relação positiva com CO₂ e teor de MO e negativa com condutividade, umidade e MI em relação ao eixo 2, e negativa

com pH em relação ao eixo 1. Encontramos uma relação positiva entre CH₄ e MO e um agrupamento das parcelas 12 spp. próximo a desses vetores.

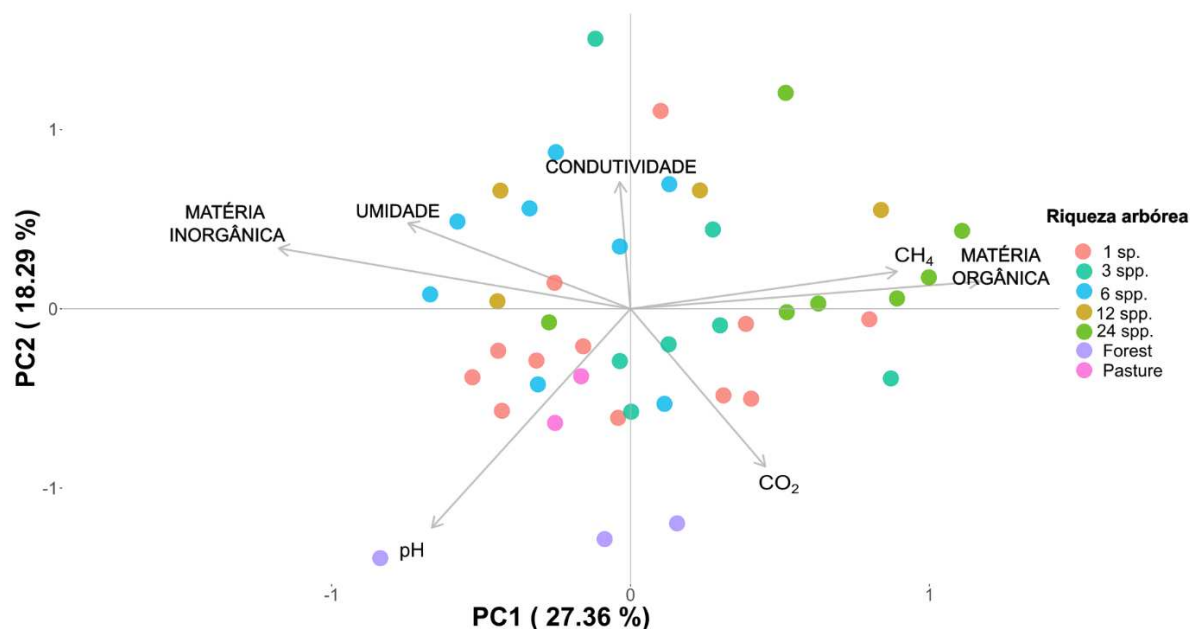


Figura 12. Gráfico de Análise de Componentes Principais (PCA), ilustra as diferentes variáveis abióticas matéria orgânica (MO), matéria inorgânica (MI), umidade, pH e condutividade em relação aos dados de fluxo de CO₂ e CH₄ se destacando pelos diferentes tratamentos (1 a 24 espécies) e fragmentos de referência *pasto* e *floresta*. Aferidas através da caracterização do solo coletado. Os vetores indicam a direção e força de cada variável.

5.3 Discussão

Promover a biodiversidade do solo é crucial para a saúde e funcionalidade de sistemas degradados (Pedrinho et al., 2024). Técnicas de restauração que priorizam a diversidade arbórea recuperam mais rapidamente a biomassa e a atividade microbiana do solo, em comparação com contextos monoespecíficos, devido à qualidade do solo (Allek et al., 2022; Couto et al., 2016; Eisenhauer et al., 2017). Nosso estudo forneceu dados complementares, após 12 meses do primeiro mapeamento (Capítulo 1), sobre a influência da diversidade arbórea

na microbiota do solo e na atividade metabólica (fluxos de GEE) em um contexto inicial de restauração. Os resultados deste capítulo revelam que, 18 meses após plantio, não foram suficientes para uma influência significativa da diversidade arbórea na riqueza microbiana, rejeitando novamente nossa hipótese. Contudo, um aumento da riqueza dos táxons microbianos foi observado, sugerindo um favorecimento da microbiota do solo, possivelmente decorrente da interação das mudas plantadas, com maior desenvolvimento das raízes com o solo e formação de rizosferas mais amplas.

Observamos que o aumento significativo da emissão de metano esteve relacionado à diversidade arbórea (**Figura 8**), possivelmente impulsionado pela presença de exsudatos, ou seja, matéria orgânica de melhor qualidade decorrente da interação raízes-solo, o que pode ter afetado a produção e a difusão do gás em contraste com o cenário de sumidouro documentado nos solos e encontrado no primeiro capítulo (Nazaries et al., 2013). Como demonstrado em estudos anteriores e validado em nosso primeiro capítulo, os efeitos da diversidade arbórea nem sempre são visíveis, podendo, ser inexistentes (Cesarz et al., 2022; Rivest et al., 2019; Martin-Guay et al., 2022) ou negativos (Li et al., 2023; Capítulo 1). As variáveis abióticas são amplamente utilizadas para auxiliar a responder os efeitos (Cesarz et al., 2022; Bieluczyk et al., 2023; Eaton et al., 2021). No presente estudos as variáveis abióticas contribuíram com nossos novos achados taxonômicos (Dukunde et al., 2019; Rawat et al., 2023) e validou o aumento significativo nos fluxos CO_2 e CH_4 (Bieluczyk et al., 2023; Carmo et al., 2012).

Após 18 meses, é visível alguma influência da diversidade arbórea na composição microbiana e na emissão de GEE em um contexto inicial de restauração?

Nossa hipótese permanece rejeitada após dezoito meses do plantio. Conforme explorado no capítulo 1, os experimentos do tipo BEF são característicos de idades jovens, com

efeitos se intensificam ao longo do tempo (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024). Esses resultados estão alinhados com estudos que sugerem que outros fatores, como características abióticas, podem ter uma influência crucial no aumento das funções microbianas do solo (Cesarz et al., 2022; Depauw et al., 2024). Variações física, químicas e biológicas do solo influenciam as emissões de GEEs, que apresentam alta variabilidade espacial e temporal (Courtois et al., 2018). Em nossos estudos, observamos um efeito significativo do aumento da emissão do metano relacionado à diversidade arbórea (**Figura 8**), particularmente em parcelas com arranjos mistos de 12 e 24 espécies. A emissão do metano no contexto solo-atmosfera decorre de arqueias metanogênicas e bactérias fermentativas (Bartlett e Harriss, 1993). Esta emissão é associada a solos de zonas úmidas ou mesmo em sítios anaeróbicos (Liptzin et al., 2011; Courtois et al., 2018).

O aumento das emissões de metano, foi diretamente relacionado a matéria orgânica, como validado pelo teste de PCA (**Figura 12**) e pelas maiores médias de matéria orgânica registradas em ambas as parcelas (**Tabela 4**). Estudos indicam que maiores entradas de matéria orgânica (serrapilheira) favorecem maiores emissões de CO₂ e o consumo de CH₄ (Janssens et al., 2001; Jevon et al., 2023). Contudo, outros estudos observam que menores taxas de consumo de CH₄ podem ocorrer devido à formação de horizonte orgânico no solo, que inviabiliza o transporte difusivo de metano (Wanyama et al., 2019). A profundidade resultante da formação desse horizonte orgânico pode promover a criação de microssítios anaeróbicos que favorecem a ação metanogênica, embora essas condições exijam medições e estudos mais aprofundados para entender sua influência (Bowden et al., 1998; Jevon et al., 2023; Wanyama et al., 2019). Outro estudo, que destaca que tanto a quantidade quanto a qualidade da serrapilheira afetam a absorção de CH₄ (Jevon et al., 2023) e a espessura e a composição da camada da serrapilheira influenciam a difusão pelas bactérias metanotróficas. A qualidade do recurso orgânico influencia processos metabólicos que indiretamente pode alterar a comunidade microbiana do

solo (Brumme e Borken 1999; Pancotto e outros 2010; Jevon et al., 2023). Embora a atividade das metanogênicas esteja associada a condições alcalinas, elas são muito sensíveis às variações do pH do solo (Le Mer & Pierre, 2001). Caracterizado pela sua acidez, o solo do experimento apresentava uma média de pH de 4,4 - seis meses após o plantio, que aumentou para 4,8 após 18 meses. Esse aumento, embora pequeno, pode ter sido resultante da maior entrada de carbono no solo, que leva a grandes mudanças na carga elétrica e que afetam as emissões de carbono, o acúmulo e a reciclagem do carbono orgânico, alterando a comunidade microbiana e suas características metabólicas (Huang et al., 2009; Prommer et al., 2020; Wu et al., 2024).

Em escalas temporais curtas, como no nosso experimento, pulsos de recursos orgânicos são os principais impulsionadores da dinâmica microbiana, desencadeando respostas rápidas no sistema (Bardgett & Putten, 2014). Embora a diversidade arbórea não tenha impulsionado a diversidade microbiana, a característica temporal foi essencial para alterar a qualidade dos recursos e as interações da rizosfera, favorecendo condições metabólicas que contribuíram para um aumento significativo na riqueza dos táxons microbianos (Dukunde et al., 2019; Zhou et al., 2017; Zheng et al., 2019; Singh et al., 2023). Comparando com dados mapeados no primeiro capítulo, observamos um aumento significativo na riqueza taxonômica, com médias variando de $1,98 \pm 2,32$ primeiros seis meses e $1,81 \pm 2,36$ dezoito meses para filo e $1,08 \pm 2,17$ e $8,00 \pm 1,85$ para gênero respectivamente. Em termos absolutos, o aumento foi de 27% para filo e 124% para gênero. Embora não tenhamos avaliado variáveis de produtividade do sistema, as condições após 18 meses indicam uma sucessão e metabolismo no solo diferente da mapeada nos primeiros seis meses. No capítulo 1, identificamos um efeito de seleção, com maior atividade microbiana condicionada a algumas espécies arbóreas, destacando a importância da identidade das espécies. Os resultados deste capítulo revelaram mudanças significativas na qualidade da matéria orgânica do solo, bem como nas variações físico-químicas, abióticas e taxonômicas. Estas mudanças contribuíram para mudanças nos padrões

das regressões entre diversidade de espécies arbóreas e diversidade microbiana (**Figura 5 e Apêndice 02 Figura 01**), com indícios do enriquecimento geral do solo pelas presenças das mudas em desenvolvimento (Ammer et al., 2018; Loreau & Hector, 2001).

De bactérias oligotróficas para copiotróficas

As condições edáficas após 18 meses do plantio parecem ter proporcionado um aumento na entrada e na qualidade de recursos orgânicos no solo, comparados aos primeiros seis meses do experimento, refletindo na melhoria da qualidade do solo. Mantiveram-se características de cobertura por braquiárias, pH ácido, solo exposto e característica argilosa (**Tabela 4**). Os fragmentos de pastagem e floresta apresentaram características físico-químicas distintas (**Apêndice 02 Tabelas 1 e 2**). Fragmento florestal apresentou o melhor aporte nutricional e disponibilidade de carbono no solo, embora ambos mantivessem o solo argiloso e pH ácido. As comunidades microbianas, moldadas por fatores edáficos, biológicos, exsudatos radiculares, deposição de serrapilheira e matéria orgânica decomposta (Dukunde et al., 2019; Thoms et al., 2010), apresentaram maior heterogeneidade nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) após 18 meses (**Apêndice 02 Tabela 3**), exceto nas parcelas de 12 espécies, que se assemelharam às parcelas de pastagem. Este resultado pode indicar um efeito de legado ainda presente nas parcelas de 12 espécies, sugerindo que o efeito da diversidade arbórea ainda não é significativo, mas estabelecendo mecanismos iniciais de enriquecimento do solo (Bieluczyk et al., 2023; Ammer et al., 2018).

Como resultado da melhora das condições edáficas do solo, a estrutura da abundância taxonômica foi alterada, destacando os filos de *Proteobacteria* (24,10%), *Actinobacteriota* (21,80%) e *Acidobacteriota* (21,35%), que reafirmaram sua presença significativa em solos florestais (Bruce et al., 2010; Faoro et al., 2010; Ward et al., 2009) e pastagens (Bieluczyk et al., 2023; Tomazelli et al., 2023) da Mata Atlântica. Esses grupos taxonômicos, como bons

bioindicadores, revelam interações metabólicas do solo acerca da produtividade, fertilidade e diversidade microbiana (Wang & Zou et al., 2024; Singh et al., 2023; Garau, et al., 2019). A mudança na qualidade do solo experimental foi validada pelos filos mais abundantes, *Proteobacteria* (24,10%) e *Actinobacteriota* (21,80%), pertencentes à categoria copiotrófica sendo mais abundantes em solos de qualidade superior. Em contrapartida, o filo *Acidobacteriota* (21,35%), adaptado a condições limitantes de nutrientes, pertence à categoria oligotrófica (Dukunde et al., 2019; Zhou et al., 2017; Fierer et al., 2012). Além disso, *Proteobacteria* e *Acidobacteria* se adaptam facilmente à característica ácida do solo experimental, enquanto *Actinobacteria* é reconhecida com o aumento do pH no solo, podendo justificar sua maior presença com a elevação, mesmo pequena, da média do pH (Wang et al., 2022; Dukunde et al., 2019). A sucessão contribuiu para a mudança da abundância relativa dos seus principais filos, passando de *Acidobacteria* (seis meses após o plantio) para *Proteobacteria* (18 meses após o plantio), confirmando a hipótese copiotrófica de que táxons de crescimento rápido são competitivos em solos mais nutritivos (Liang et al., 2021; Ramirez et al. 2012) (**Figura 6 e 9**). Este resultado foi corroborado por um estudo que, ao avaliar a sucessão da restauração de povoamentos de diferentes idades, observou que as bactérias foram sensíveis com o passar dos anos e que a comunidade microbiana mudou com a sucessão, de um cenário dominado por bactérias oligotróficas para bactérias copiotróficas (Liang et al., 2021; Carson & Zeglin, 2018).

Variações nos fluxos de emissão e consumo de CO₂ e CH₄ são observados em fase de sucessão florestal

O cenário de sucessão pode afetar significativamente os fluxos de GEE do solo, devido à variabilidade da vegetação que contribui alterando os ciclos biogeoquímicos de C e N e a atividade microbiana (Mills et al., 2013; Dou et al., 2016). Ao comparar os fluxos iniciais (após seis meses) com os de um ano depois, notamos que a média dos fluxos se inverteu: as emissões

de CO₂ atingiram uma média (\pm SD) de $11901 \pm 5890 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$ e o influxo de CH₄ foi de $-0.04 \pm 1.81 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$ na primeira medição (Capítulo 1) e 7953 ± 4077 e $0,75 \pm 3,16 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$ respectivamente na segunda medição. Os fragmentos de floresta e pastagem apresentaram características de consumo e respiração que definiram sua heterogeneidade, com valores médios abaixo dos registrados na literatura referente ao bioma da Mata Atlântica. A média de fluxo de CH₄ no fragmento florestal foi de $-3,86 \pm 0,65$, valor inferior aos registrados em florestas tropicais $0,41 - 0,55 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$ (Verchot et al., 2000) e estudos na Mata Atlântica $0,74 - 1,40 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$ (Sousa Neto et al., 2011; Mombrini et al., 2022). Já os de emissão de CO₂ foram $17748 \pm 4916 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$, bem abaixo dos registrados em florestas nativa no bioma $7.261.056 \text{ mg.m}^{-2}.\text{-}^1$. Para pastagem, os valores médios de CH₄ foram de $-1,00 \pm 1,88$ e CO₂ foram de $7306 \pm \text{mg.m}^{-2}.\text{-}^1$ ambos abaixo da faixa registrada para pastagens no bioma.

Em um estudo de meta-análise, constatou-se que os fluxos de CO₂ foram considerados maiores em um povoamento recém-estabelecido (com 1 ano) e maduros (com mais de 30 anos), em comparação a povoamentos jovens (com 10 anos) (Barrena et al., 2013; Walkiewicz et al., 2021). A disponibilidade de matéria orgânica é essencial para a mineralização do carbono e aumento da respiração do solo (Walkiewicz et al., 2021; Jevon et al., 2023), além de estar positivamente relacionada à absorção do CH₄ (Janssens et al., 2001; Jevon et al., 2023). Em nosso experimento, a emissão de CO₂ foi maior nos primeiros seis meses (Capítulo 1) em comparação à segunda medição (18 meses após o plantio). Em condições de solo exposto, com histórico recente de degradação, alta acidez e abundância de táxons adaptados à escassez nutricional e estresse hídrico, a matéria orgânica possivelmente refletiu um efeito de legado, que determinou a qualidade do composto no solo (Bieluczyk et al., 2023). As condições sazonais, incluindo solo seco e quente, podem ter afetado as condições do solo, contribuindo para o aumento da respiração do solo (Tulio et al., 2022; Walkiewicz et al., 2021). Este cenário inicial favoreceu o consumo do CH₄, com o solo atuando como sumidouro deste gás (Mombrini

et al., 2022; Dutaur & Verchot, 2007). A acidez do solo pode ter beneficiado grupos metanotróficos, visto que as arqueias metanogênicas necessitam de condições mais básicas para se estabelecerem (Garcia et al., 2000; Le Mer & Pierre, 2001). Nossos achados, mostraram uma correlação positiva entre os fluxos de gases e a umidade do solo, evidenciando sua influência nos resultados (**Figura 07**) (Tulio et al., 2022; Chen et al., 2019; Gottschall et al., 2021).

Em contraste, a baixa emissão de CO₂ e o aumento da emissão de CH₄, observados neste capítulo, podem ter refletido mudanças na qualidade da matéria orgânica depositada (Bradford et al., 2016; Jevon et al., 2023). A identidade das plantas é essencial para quantidade e a qualidade dos substratos no solo, especialmente as biomassas radiculares responsáveis pela respiração autotrófica (Walkiewicz et al., 2021; Jevon et al., 2023). A variação nas quantidades e qualidades de serrapilheira, pode ter influenciado no aumento do fluxo de CH₄. A serrapilheira, principal fonte de carbono e nitrogênio para o solo, foi associada a alterações nas emissões de CH₄ (Dou et al., 2016; Gao et al., 2022). Um estudo em floresta tropical sugeriu que a entrada de nitrogênio através da decomposição da serrapilheira, impulsionou a redução da absorção ou consumo do CH₄ pelos solos florestais (Gao et al., 2022). Além disso, outras pesquisas investigam como aportes de serrapilheira podem inibir o consumo de CH₄ no solo (Xiong et al., 2024). A correlação positiva entre a matéria orgânica e o pH evidenciou a influência desses fatores nos resultados (**Figura 12**) (Walkiewicz et al., 2021; Gao et al., 2022; Jevon et al., 2023). Nossos resultados sugerem que o processo de sucessão restaurativa, especialmente nos primeiros anos, pode apresentar variações nos fluxos de CO₂ e CH₄ mediadas pelas influências espaciais, temporais, ambientais e pelas condições edáficas do solo (Bardgett & Putten, 2014; Walkiewicz et al., 2021; Gao et al., 2022; Mombrini et al., 2022; Tulio et al., 2022; Jevon et al., 2023).

5.4 Conclusão

Concluimos que em estágio inicial de restauração de uma floresta de Mata Atlântica, dezoito meses após o plantio, indícios iniciais de complementaridade de nicho foram evidenciados na relação da diversidade de riquezas arbóreas em relação ao metabolismo microbiano. Destacamos que a quantidade e a qualidade da matéria orgânica e condições edáficas foram os principais influenciadores da composição e metabolismo da comunidade microbiana do solo. O processo de sucessão foi essencial para a transição de bactérias oligotróficas para copiotróficas, que refletiu melhorias nas condições edáficas e na qualidade do solo ao longo do tempo. Excelentes bioindicadores as bactérias evidenciam as relações bióticas e abióticas influentes para estabelecendo gradual dos mecanismos de complementariedade esperado. Nosso estudo ressaltou uma forte variação nos fluxos de CO₂ e CH₄ nos períodos iniciais da sucessão, destacando a importância de considerar múltiplos fatores na avaliação da diversidade arbórea em relação às emissões e consumo de gases de efeito estufa.

6. CONCLUSÃO GERAL

Concluimos que, nos estágios iniciais de restauração de uma floresta de Mata Atlântica, efeitos graduais e crescente na relação entre a diversidade arbórea e a composição e metabolismo da comunidade microbiana do solo são observáveis em menos de dois anos. O conhecimento do histórico de uso do solo, sua nutrição, identidade das espécies arbóreas, condições edáficas e ambientais em um contexto espacial e temporal, foram cruciais para identificar esses efeitos. O processo de sucessão, aliado a condições abióticas e ao papel das bactérias como bioindicadores, revelou não só a melhoria na qualidade do solo, mas também o favorecimento de sua microbiota. A transição de bactérias oligotróficas para copiotróficas indicaram uma mudança clara, do efeito de seleção inicial – seis meses após o plantio, para

uma estabilização gradual do efeito de complementaridade de nicho – dezoito meses após o plantio, validando a influência da diversidade arbórea nas funções ecossistêmicas analisadas. As emissões de CO₂ e CH₄ se mostram variáveis, sendo dependentes dos fatores abióticos para avaliar, estando ainda desacopladas as comunidades microbianas do solo. Nosso estudo foi um dos primeiros no bioma da Mata Atlântica a fornecer dados sobre a influência da diversidade arbórea na microbiota do solo e na atividade metabólica (fluxos de GEE) no contexto inicial de restauração. Investir em estudos de longo prazo que considerem a microbiota como uma resposta sensível às mudanças é fundamental para o sucesso dos projetos de restauração em ecossistemas degradados.

APÊNDICE 01 – FIGURAS E TABELAS REFERENTES AOS RESULTADOS DO CAPÍTULO I

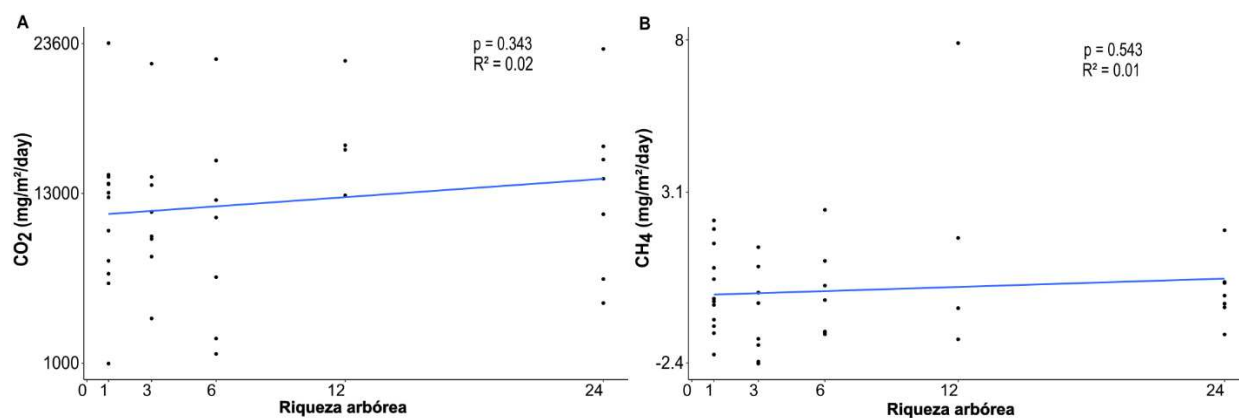


Figura 1: *Simple Linear Regression Test* (Teste de Regressão Linear Simples), não foram encontrados valores significativos entre a riqueza de diversidade arbórea do experimento (1 a 24 espécies) e os fluxos de CO₂ e CH₄.

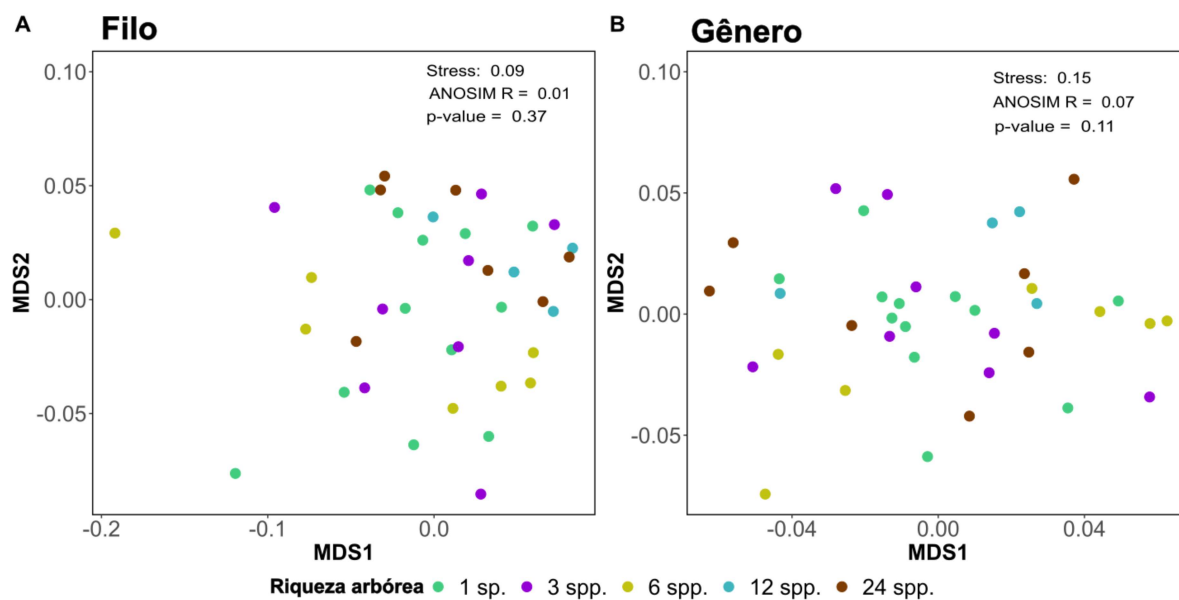


Figura 2: Representação da análise nMDS (*Non-Metric Multidimensional Scaling*), com o objetivo de preservar a ordem de proximidade entre objetos, de modo a que os mais semelhantes estejam mais próximos no espaço de baixa dimensão. Na visualização, cada ponto

representa uma amostra, referente ao Filo microbiano (A) e ao Gênero (B), com cores que indicam a riqueza da diversidade das árvores (1-24 espécies). Os valores de significância estatística são apresentados em cada painel.

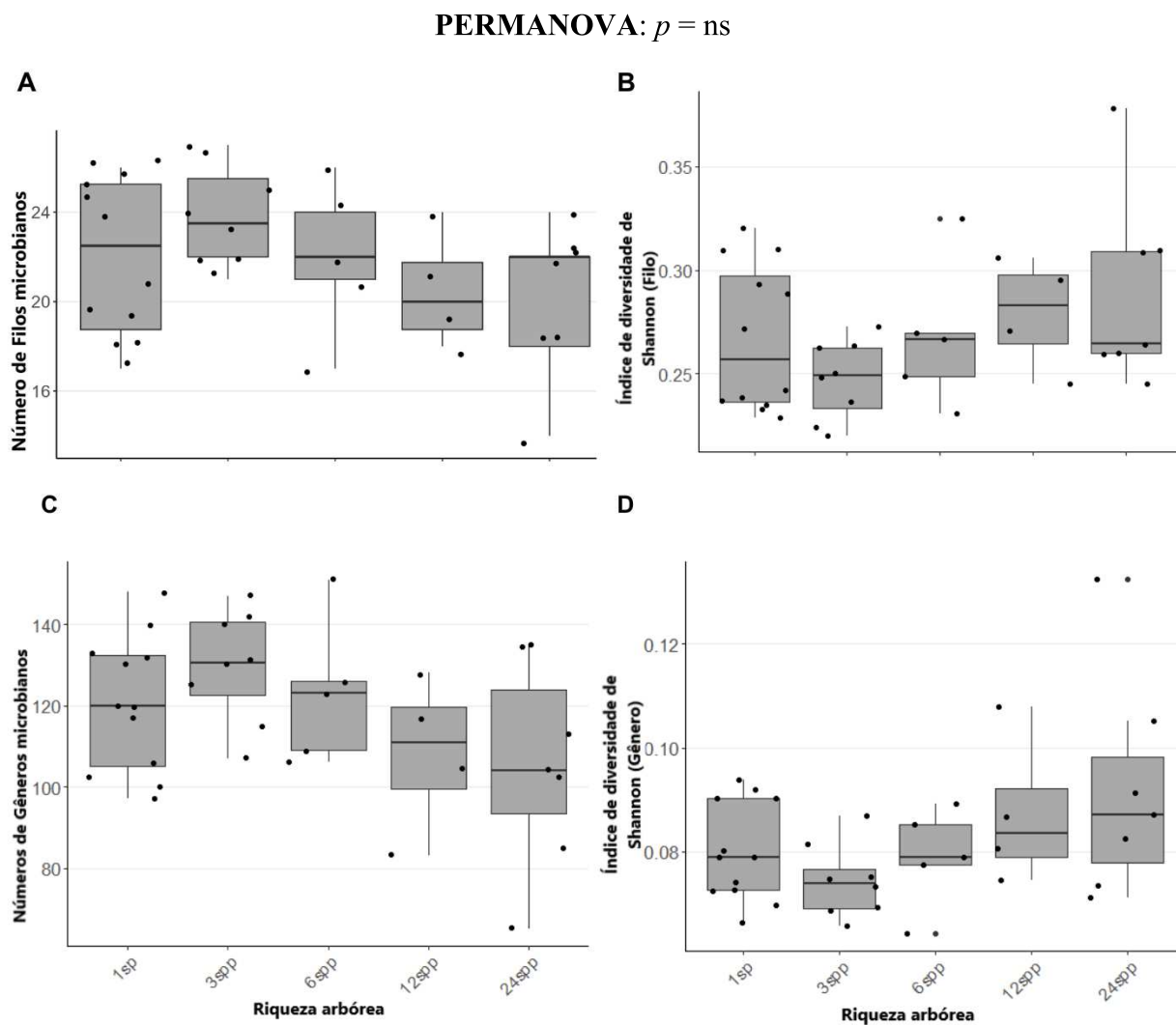


Figura 3: Homogeneidade das amostras nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies). Riqueza de Filo (A) e Índice de diversidade de *Shannon-Weaver* (B). Riqueza de Gênero (C) e diversidade de *Shannon* (D). ns = sem diferenças significativas ($p > 0,05$).

PERMANOVA: $p = ns$

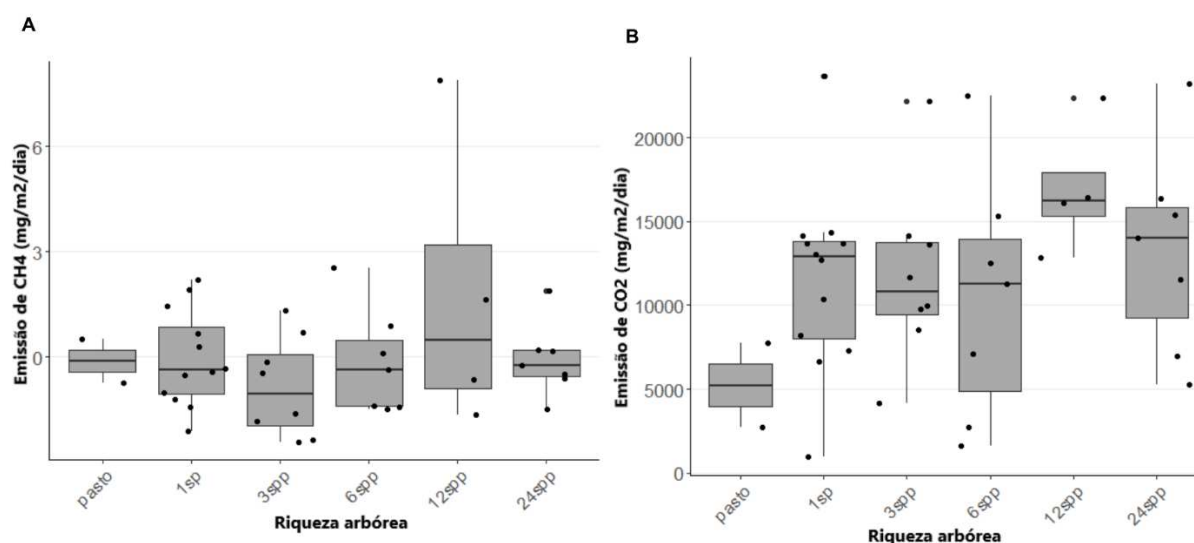


Figura 4: Homogeneidade das amostras nas parcelas experimentais (1 a 24 espécies e pasto). Emissão e consumo de metano (CH_4) (A) e emissão de dióxido de carbono (CO_2) (B) em ($\text{mg}/\text{m}^2/\text{dia}$). ns = sem diferenças significativas ($p > 0,05$).

Tabela 1. Características físico-químicas correspondente as amostras de solo coletadas nas parcelas. Simbologias representam Al (cmol/dm^3), Al+H (cmol/dm^3), Ca (cmol/dm^3), K (mg/dm^3), Mg (cmol/dm^3), MO% (dag/kg - matéria orgânica), P (mg/dm^3), pH (pH diluído em água), Saturação de ctc ($\text{cmol c}/\text{dm}^3$ - capacidade de troca catiônica), SD (desvio padrão), CV (coeficiente de variação).

	Média	Mediana	SD	CV (%)	Mínimo	Máximo
Al	4,55	4,6	0,19	4,24	4,2	5,1
Al+H	1,12	1,1	0,27	24,56	0,5	1,7
Ca	21,03	20	7,07	33,62	10	44
K	8144,6	3,2	17634,69	216,52	2,7	45475
Mg	0,68	0,7	0,19	28,12	0,2	1,1
MO%	0,36	0,27	0,21	58,59	0,14	1,16
P	0,27	0,18	0,25	95,14	0,02	1,1
pH	6,57	6,6	1,18	17,97	4,29	10,56
Sat. ctc	55,12	58,1	15,18	27,55	10,9	79,9

Tabela 2. Análise granulométrica correspondente as amostras de solo do experimento.

	Escala ABNT			CLASSIFICAÇÃO DA TEXTURA DO SOLO
	Coloides ou micelas			
	Fina	Média	Grossa	
	< 0.002 mm ou 2 μ	2 μ a 0,06 mm	0.06 a 2 mm	
	ARGILA (%)	SILTE (%)	AREIA (%)	
Média	44,15	13,87	41,97	
Mediana	45	14	42	
Desvio padrão	4,76	2,75	4,70	
Mínimo	36,00	7,00	29,00	Solo Argiloso
Máximo	61,00	19,00	50,00	
Coefficiente de variação	0,10	0,19	0,11	

Tabela 3. Variação dos valores da abundância relativa dos táxons microbianos mais abundantes. MED (média), MD (mediana), SD (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), MÍN (mínimo), MÁX (máximo).

	Grupos	MED.	MD.	SD	CV (%)	MÍN.	MÁX.
FILO	<i>Acidobacteriota</i>	0,36	0,37	0,05	15,00	0,19	0,44
	<i>Proteobacteria</i>	0,25	0,25	0,03	12,34	0,10	0,24
	<i>Actinobacteriota</i>	0,15	0,14	0,03	22,76	0,05	0,31
	<i>Chloroflexi</i>	0,12	0,11	0,05	40,39	0,15	0,31
	<i>Verrucomicrobiota</i>	0,02	0,03	0,01	34,19	0,01	0,05
FAMÍLIA	Unclassified in <i>Acidobacteriales</i>	0,09	0,09	0,02	23,59	0,04	0,12
	Unclassified in <i>Xanthobacteraceae</i>	0,08	0,08	0,02	20,55	0,05	0,13
GÊNERO	Unclassified in <i>Acidobacteriales</i>	0,09	0,09	0,02	23,59	0,04	0,12
	Unclassified in <i>Subgroup 2</i>	0,07	0,06	0,03	39,88	0,02	0,14

Tabela 4: Estatística descritiva da média e o desvio padrão (\pm) das variáveis abióticas do solo analisadas juntamente com valores de emissão de CO_2 e CH_4 . As variáveis foram representadas como Matéria orgânica (MO) e matéria inorgânica (MI).

	Fluxo CH_4	CO_2	pH	Condutividade	Umidade	MO	MI
	$\text{mg.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$			(mS/cm)		(g)	
Pasto	$-0,13 \pm 0,88$	5.228 ± 3.537	$4,3 \pm 0,14$	$0,04 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,002$	$0,006 \pm 0,001$
1sp.	$-0,05 \pm 1,37$	11.565 ± 5.558	$4,4 \pm 0,20$	$0,04 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,036$	$0,007 \pm 0,011$
3spp.	$-0,85 \pm 1,42$	11.756 ± 5.252	$4,4 \pm 0,32$	$0,05 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,004$	$0,006 \pm 0,007$
6spp.	$-0,16 \pm 1,48$	10.445 ± 7.332	$4,4 \pm 0,19$	$0,05 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,04$	$0,04 \pm 0,003$	$0,004 \pm 0,001$
12spp.	$1,81 \pm 4,28$	16.935 ± 3.969	$4,4 \pm 0,17$	$0,04 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,004$	$0,004 \pm 0,001$
24spp.	$-0,08 \pm 1,03$	13.242 ± 6.068	$4,3 \pm 0,16$	$0,03 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,006$	$0,004 \pm 0,001$

APÊNDICE 02 – FIGURAS E TABELAS REFERENTES AOS RESULTADOS DO CAPÍTULO II

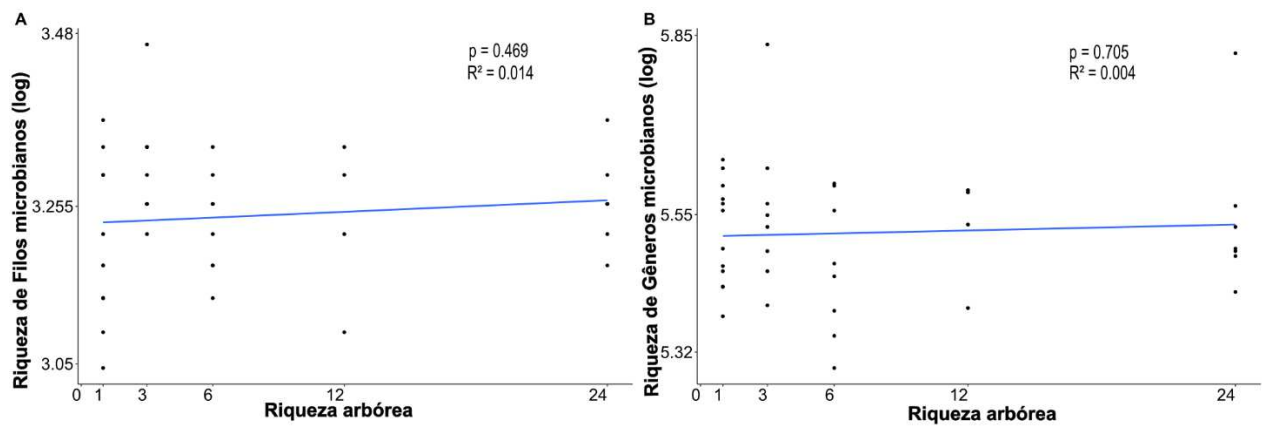


Figura 1. *Simple Linear Regression Test* (Teste de Regressão Linear Simples) entre tratamentos de espécies arbóreas e riqueza de táxons microbianos Filo (A) e Gênero (B).

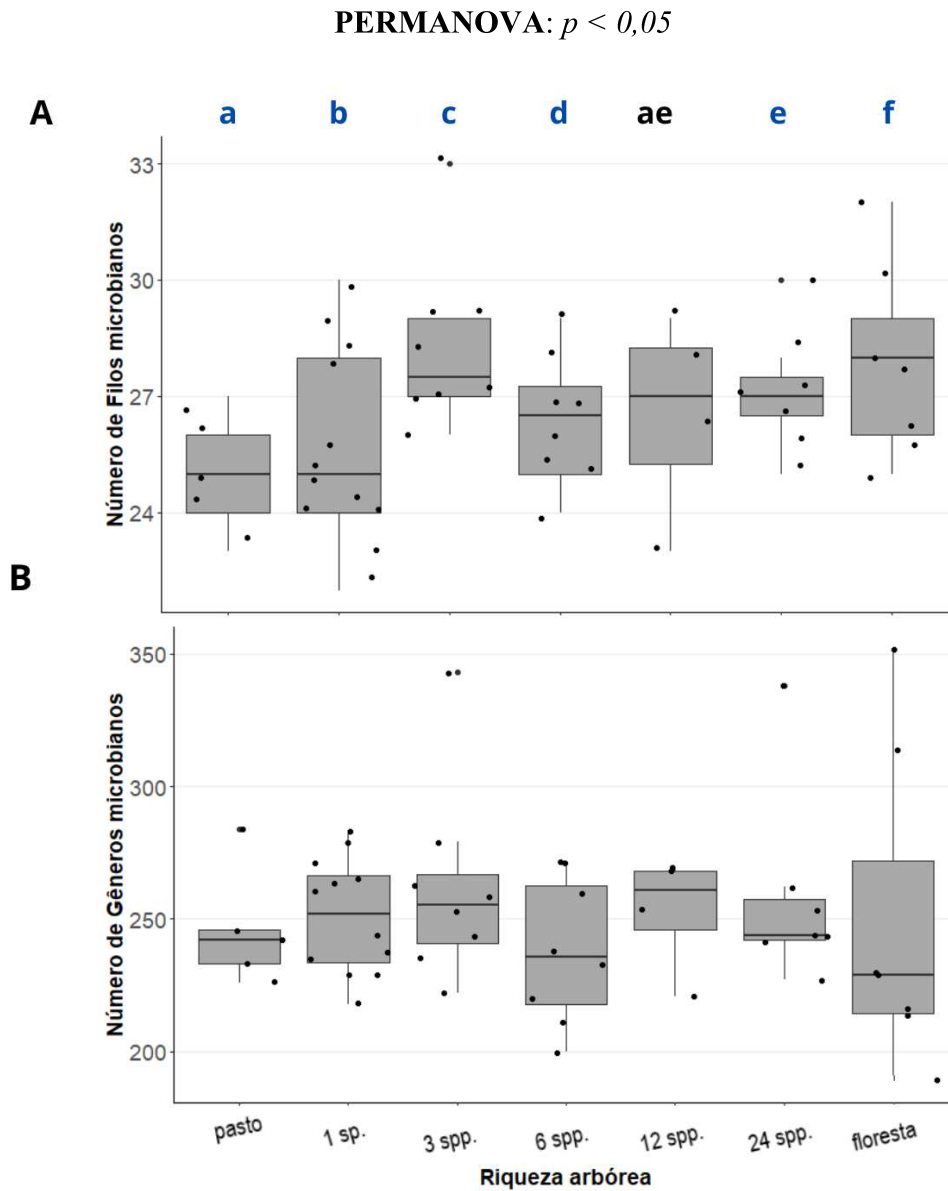


Figura 2: Heterogeneidade representativas pelas parcelas experimentais (1 a 24 espécies) e de controle (PERMANOVA). Riqueza de Filo (A) e Gênero (B) microbiano pela riqueza arbórea. As representações das letras azuis mostram diferenças significativas das amostras, enquanto a representação preta (12 spp.) representa amostragem não distinta.

Tabela 1. Características físico-químicas correspondente as amostras de solo coletadas nas parcelas referentes a pasto e floresta. Simbologias representam Al (cmol /dm³), Al+H (cmol /dm³), Ca (cmol /dm³), K (mg/dm³), Mg (cmol /dm³), MO% (dag/kg - matéria orgânica), P (mg/dm³), PH (Ph diluído em água), Saturação de ctc (cmol c /dm³ - capacidade de troca catiônica), SD (desvio padrão), CV (coeficiente de variação).

		Média	Mediana	SD	CV (%)	Mínimo	Máximo
PASTAGEM	Al	1,15	1,25	0,87	75,31	0,00	2,10
	Al+H	6,60	6,11	1,40	21,21	5,61	8,58
	Ca	0,18	0,19	0,02	13,61	0,15	0,20
	K	15,50	16,00	2,52	16,24	12,00	18,00
	Mg	0,43	0,40	0,38	88,82	0,10	0,80
	MO%	2,93	2,80	0,43	14,61	2,60	3,50
	P	0,73	0,80	0,22	30,58	-0,40	0,90
	pH	4,58	4,60	0,26	5,75	4,30	4,80
	Sat. ctc	4,53	4,55	1,36	30,00	3,30	5,70
FLORESTA	Al	1,23	1,25	0,84	68,40	0,00	2,40
	Al+H	10,97	10,07	4,19	38,17	5,94	16,17
	Ca	1,39	0,49	1,57	113,67	0,36	4,68
	K	63,13	45,50	43,58	69,03	37,00	167,00
	Mg	0,60	0,32	0,59	97,78	0,20	1,81
	MO%	9,88	13,30	4,74	47,96	3,80	13,30
	P	3,35	3,00	1,30	38,89	-1,70	5,90
	pH	4,60	4,40	0,52	11,27	4,10	5,50
	Sat. ctc	17,78	8,75	18,61	104,68	4,00	53,00

Tabela 2. Análise granulométrica correspondente as amostras de solo das parcelas de pastagem e de fragmento florestal.

		Escala ABNT			CLASSIFICAÇÃO DA TEXTURA DO SOLO
		Coloides ou micelas			
		Fina	Média	Grossa	
		< 0.002 mm ou 2 μ	2 μ a 0,06 mm	0.06 a 2 mm	
		ARGILA (%)	SILTE (%)	AREIA (%)	
PASTAGEM	Média	52,00	11,00	37,00	Argila
	Mediana	50,50	12,00	37,50	
	Desvio padrão	4,24	2,00	2,45	
	Mínimo	49,00	8,00	34,00	
	Máximo	58,00	12,00	39,00	
	Coefficiente de variação	8,16	18,18	6,62	
FLORESTA	Média	34,25	14,00	51,75	Argila arenoso
	Mediana	39,00	14,00	46,00	
	Desvio padrão	14,34	2,20	15,89	
	Mínimo	15,00	10,00	35,00	
	Máximo	51,00	17,00	73,00	
	Coefficiente de variação	41,87	15,74	30,71	

Tabela 3. Resultados do teste *One-Way Permutational Multivariate Analysis of Variance* (PERMANOVA) dos efeitos da riqueza de diversidade arbórea (1 a 24 espécies) e os fragmentos de referência, pastagem e floresta (como fator fixo) na estrutura taxonômica da comunidade microbiana nível gêneros. Os resultados significativos estão indicados a negrito.

	<i>R</i> ²	<i>F</i> - value	<i>P</i> - value
pasto – 1 sp.	0,71	36,72	0,001
pasto – 3 spp.	0,86	66,63	0,001
pasto – 6 spp.	0,89	93,67	0,001
pasto – 12 spp.	0,88	53,69	0,012
pasto – 24 spp.	0,92	111,61	0,001
pasto - floresta	0,92	119,62	0,004
1 sp. – 3 spp.	0,87	115,36	0,001
1 sp. – 6 spp.	0,94	277,26	0,001
1 sp. – 12 spp.	0,94	224,21	0,001
1 sp. – 24 spp.	0,97	515,43	0,001
1 sp. - floresta	0,97	601,95	0,001
3 spp. – 6 spp.	0,95	272,18	0,001
3 spp. – 12 spp.	0,98	493,42	0,004
3 spp. – 24 spp.	0,99	1628,77	0,001
3 spp. - floresta	0,99	2255,61	0,001
6 spp. – 12 spp.	0,98	545,39	0,002
6 spp. – 24 spp.	1,00	3573,52	0,001
6 spp. - floresta	1,00	6602,21	0,001
12 spp. – 24 spp.	0,99	1702,56	0,005
12 spp. - floresta	1,00	6398,39	0,003
24 spp. - floresta	1,00	8578,30	0,001

Tabela 4. Resultados do teste *One-Way Permutational Multivariate Analysis of Variance* (PERMANOVA) dos efeitos da riqueza de diversidade arbórea (1 a 24 espécies) e os fragmentos de referência pastagem e floresta em relação as emissões de CO₂ e CH₄. Os resultados significativos estão indicados a negrito.

	Variável	DF	SS	F. Value	P.Value
CO ₂	Categorias	6	410219454	8,839	4,73e-06
	Resíduos	38	293946812		
CH ₄	Categorias	6	175,6	4,228	0,00236
	Resíduos	38	263,1		

REFERÊNCIAS

- Allek, A., Viany Prieto, P., Korys, K. A., Rodrigues, A. F., Latawiec, A. E., & Crouzeilles, R. (2023). How does forest restoration affect the recovery of soil quality? A global meta-analysis for tropical and temperate regions. *Restoration Ecology*, 31(3). <https://doi.org/10.1111/rec.13747>
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., de Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Ammer, C. (2019). Diversity and forest productivity in a changing climate. *New Phytologist*, 221(1), 50–66. <https://doi.org/10.1111/nph.15263>
- Anderson, M. J. (2017). Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). In *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online* (pp. 1–15). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841>
- Andrews, S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. *Babraham Bioinformatics*.
- Araújo, A. S. F., Borges, C. D., Tsai, S. M., Cesarz, S., & Eisenhauer, N. (2014). Soil bacterial diversity in degraded and restored lands of Northeast Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(5), 891–899. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0258-5>
- Banerjee, S., Kirkby, C. A., Schmutter, D., Bissett, A., Kirkegaard, J. A., & Richardson, A. E. (2016). Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 97, 188–198. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.017>
- Bai, Y., Wei, H., Ming, A., Shu, W., & Shen, W. (2023). Tree species mixing begets admixture of soil microbial communities: Variations along bulk soil, rhizosphere soil and root tissue. *Geoderma*, 438, 116638. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2023.116638>
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505–511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Bartlett, K. B., & Harriss, R. C. (1993). Review and assessment of methane emissions from wetlands. *Chemosphere*, 26(1–4), 261–320. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90427-7](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90427-7)
- Beugnon, R., Eisenhauer, N., Bruelheide, et al. (2023). Tree diversity effects on litter decomposition are mediated by litterfall and microbial processes. *Oikos*, 2023(10). <https://doi.org/10.1111/oik.09751>
- Bieluczyk, W., Asselta, F. O., Navroski, D., et al. (2023). Linking above and belowground carbon sequestration, soil organic matter properties, and soil health in Brazilian Atlantic Forest restoration. *Journal of Environmental Management*, 344, 118573. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118573>
- Blondeel, H., Guillemot, J., Martin-StPaul, N., et al. (2024). Tree diversity reduces variability in sapling survival under drought. *Journal of Ecology*, 112, 1164–1180. <https://doi-org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1111/1365-2745.14294>
- Bond-Lamberty, B., Wang, C., & Gower, S. T. (2004). A global relationship between the heterotrophic and autotrophic components of soil respiration? *Global Change Biology*, 10(10), 1756–1766. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2004.00816.x>
- Borowik, A., Wyszowska, J., & Kucharski, J. (2022). Bacteria and Soil Enzymes Supporting the Valorization of Forested Soils. *Materials*, 15(9), 3287. <https://doi.org/10.3390/ma15093287>
- Burke, C., Steinberg, P., Rusch, D. B., Kjelleberg, S., and Thomas, T. (2011). Bacterial community assembly based on functional genes rather than species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 14288–14293. doi: 10.1073/pnas.1101591108

Bruce, T., Martinez, I. B., Maia Neto, O., Vicente, A. C. P., Kruger, R. H., & Thompson, F. L. (2010). Bacterial Community Diversity in the Brazilian Atlantic Forest Soils. *Microbial Ecology*, 60(4), 840–849. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9750-2>

Brumme R, Borken W. 1999. Site variation in methane oxidation as affected by atmospheric deposition and type of temperate forest ecosystem. *Global Biogeochemical Cycles* 13:493–501.

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., et al. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, 6(8), 1621–1624. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>

Carson, C. M., & Zeglin, L. H. (2018). Long-term fire management history affects N-fertilization sensitivity, but not seasonality, of grassland soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 121, 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.03.023>

Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., et al. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486(7401), 59–67. <https://doi.org/10.1038/nature11148>

Carmo, J. B. do, de Sousa Neto, E. R., Duarte-Neto, P. J., Ometto, J. P. H. B., & Martinelli, L. A. (2012). Conversion of the coastal Atlantic Forest to pasture: Consequences for the nitrogen cycle and soil greenhouse gas emissions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 148, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.11.010>

Carmo, J. B., Urzedo, D. I. de, Ferreira Filho, P. J., Pereira, E. A., & Pitombo, L. M. (2014). CO₂ emission from soil after reforestation and application of sewage sludge. *Bragantia*, 73(3), 312–318. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0093>

Castellano, G. R., Moreno, L. X., Menegário, A. A., Govone, J. S., & Gastmans, D. (2017). Quantificação das emissões de CO₂ pelo solo em áreas sob diferentes estádios de restauração no domínio da mata atlântica. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170036>

Catão, E. C. P., Lopes, F. A. C., Araújo, J. F., de Castro, et al. (2014). Soil Acidobacterial 16S rRNA Gene Sequences Reveal Subgroup Level Differences between Savanna-Like Cerrado and Atlantic Forest Brazilian Biomes. *International Journal of Microbiology*, 2014, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2014/156341>

CFSMG. Soil Fertility Commission of the State of Minas Gerais. Recommendations for the use of soil amendments and fertilizers in Minas Gerais - 5th Approximation / Antonio Carlos Ribeiro, Paulo Tácito Gontijo Guimarães, Victor Hugo Alvarez V., Editors. – Viçosa, MG, 1999. 359 pages.

Cesarz, S., Craven, D., Auge, H., Bruelheide, et al. (2022). Tree diversity effects on soil microbial biomass and respiration are context dependent across forest diversity experiments. *Global Ecology and Biogeography*, 31(5), 872–885. <https://doi.org/10.1111/geb.13461>

Chen, C., Chen, H. Y. H., Chen, X., & Huang, Z. (2019). Meta-analysis shows positive effects of plant diversity on microbial biomass and respiration. *Nature Communications*, 10(1), 1332. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09258-y>

Couto M., G., Eisenhauer, N., Batista de Oliveira, et al. (2016). Response of soil microbial biomass and activity in early restored lands in the northeastern Brazilian Atlantic Forest. *Restoration Ecology*, 24(5), 609–616. <https://doi.org/10.1111/rec.12356>

Courtois, E.A., Stahl, C., Van den Berge, J. et al. Spatial Variation of Soil CO₂, CH₄ and N₂O Fluxes Across Topographical Positions in Tropical Forests of the Guiana Shield. *Ecosystems* 21, 1445–1458 (2018). <https://doi-org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10021-018-0232-6>

Depauw, L., de Lombaerde, E., Dhiedt, E., et al. (2024). Enhancing Tree Performance Through Species Mixing: Review of a Quarter-Century of TreeDivNet Experiments Reveals Research Gaps and Practical Insights. *Current Forestry Reports*, 10(1), 1–20. <https://doi.org/10.1007/s40725-023-00208-y>

Dou, X., Zhou, W., Zhang, Q., & Cheng, X. (2016). Greenhouse gas (CO₂, CH₄, N₂O) emissions from soils following afforestation in central China. *Atmospheric Environment*, 126, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.11.054>

- Duan, P., Fu, R., Nottingham, A. T., Domeignoz-Horta, L. A., Yang, X., Du, H., Wang, K., & Li, D. (2023). Tree species diversity increases soil microbial carbon use efficiency in a subtropical forest. *Global Change Biology*, 29(24), 7131–7144. <https://doi.org/10.1111/gcb.16971>
- Dukunde, A., Schneider, D., Schmidt, M., Veldkamp, E., & Daniel, R. (2019). Tree Species Shape Soil Bacterial Community Structure and Function in Temperate Deciduous Forests. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01519>
- Dutaur, L., & Verchot, L. v. (2007). A global inventory of the soil CH₄ sink. *Global Biogeochemical Cycles*, 21(4). <https://doi.org/10.1029/2006GB002734>
- Dhiedt, E., Verheyen, K., de Smedt, P., Ponette, Q., & Baeten, L. (2021). Early Tree Diversity and Composition Effects on Topsoil Chemistry in Young Forest Plantations Depend on Site Context. *Ecosystems*, 24(7), 1638–1653. <https://doi.org/10.1007/s10021-021-00605-z>
- Eaton, W. D., McGee, K. M., Larimer, M., Hoke, E., Karas, O., Hernandez, B., & Wayland, N. A. (2021). Changes in soil bacterial communities, and carbon and nitrogen metrics as potential indicators of land use effects in a humid tropical forest. *Pedobiologia*, 85–86, 150730. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2021.150730>
- Eisenhauer, N., Beßler, H., Engels, C., Gleixner, et al. (2010). Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology*, 91(2), 485–496. <https://doi.org/10.1890/08-2338.1>
- Eisenhauer, N., Lanoue, A., Strecker, T., Scheu, S., Steinauer, K., Thakur, M. P., & Mommer, L. (2017). Root biomass and exudates link plant diversity with soil bacterial and fungal biomass. *Scientific Reports*, 7(1), 44641. <https://doi.org/10.1038/srep44641>
- EMBRAPA (1997). Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos. In EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ) (Vol. 2).
- Fanin, N., Lin, D., Freschet, G. T., Keiser, A. D., Augusto, L., Wardle, D. A., & Veen, G. F. (Ciska). (2021). Home-field advantage of litter decomposition: from the phyllosphere to the soil. *New Phytologist*, 231(4), 1353–1358. <https://doi.org/10.1111/nph.17475>
- Faoro, H., Alves, A. C., Souza, E. M., Rigo, L. U., Cruz, L. M., et al. (2010). Influence of Soil Characteristics on the Diversity of Bacteria in the Southern Brazilian Atlantic Forest. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(14), 4744–4749. <https://doi.org/10.1128/AEM.03025-09>
- Fierer, N., Morse, J. L., Berthrong, S. T., Bernhardt, E. S., & Jackson, R. B. (2007). Environmental Controls on the Landscape-scale Biogeography of Stream Bacterial Communities. *Ecology*, 88(9), 2162–2173. <https://doi.org/10.1890/06-1746.1>
- Fierer, N., Leff, J. W., Adams, B. J., Nielsen, U. N., Bates, S. T., Lauber, C. L., et al. (2012). Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 21390–21395. doi: 10.1073/pnas.1215210110
- Fischer, C., Leimer, S., Roscher, C., Ravenek, J., de Kroon, et al. (2019). Plant species richness and functional groups have different effects on soil water content in a decade-long grassland experiment. *Journal of Ecology*, 107(1), 127–141. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13046>
- Freschet, G. T., Roumet, C., Comas, L. H., Weemstra, M., Bengough, A. G., Rewald, B., Bardgett, R. D., de Deyn, G. B., Johnson, D., Klimešová, J., Lukac, M., McCormack, M. L., Meier, I. C., Pagès, L., Poorter, H., Prieto, I., Wurzbarger, N., Zadworny, M., Bagniewska-Zadworna, A., ... Stokes, A. (2021). Root traits as drivers of plant and ecosystem functioning: current understanding, pitfalls and future research needs. *New Phytologist*, 232(3), 1123–1158. <https://doi.org/10.1111/nph.17072>
- Garcia, J.-L., Patel, B. K. C., & Ollivier, B. (2000). Taxonomic, Phylogenetic, and Ecological Diversity of Methanogenic Archaea. *Anaerobe*, 6(4), 205–226. <https://doi.org/10.1006/anae.2000.0345>
- Garau, G., Morillas, L., Roales, J., Castaldi, P., Mangia, N. P., Spano, D., & Mereu, S. (2019). Effect of monospecific and mixed Mediterranean tree plantations on soil microbial community and biochemical functioning. *Applied Soil Ecology*, 140, 78–88. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2019.04.005>

- Gao, J., Zhou, W., Liu, Y., Sha, L., Song, Q., Lin, Y., Yu, G., Zhang, J., Zheng, X., Fang, Y., Grace, J., Zhao, J., Xu, J., Gui, H., Sinclair, F., & Zhang, Y. (2022). Litter-derived nitrogen reduces methane uptake in tropical rainforest soils. *Science of The Total Environment*, 849, 157891. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157891>
- Germany, M. S., Bruelheide, H., & Erfmeier, A. (2021). Drivers of understorey biomass: tree species identity is more important than richness in a young forest. *Journal of Plant Ecology*, 14(3), 465–477. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtab004>
- Gibbs, H. K., Ruesch, A. S., Achard, F., Clayton, M. K., et al. (2010). Tropical forests were the primary sources of new agricultural land in the 1980s and 1990s. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(38), 16732–16737. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910275107>
- Gillespie, L. M., Prada-Salcedo, L. D., Shihan, A., Fromin, N., et al. (2023). Taxonomical and functional responses of microbial communities from forest soils of differing tree species diversity to drying–rewetting cycles. *Pedobiologia*, 97–98, 150875. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2023.150875>
- Gottschall, F., Cesarz, S., Auge, H., Kovach, K. R., Mori, A. S., Nock, C. A., & Eisenhauer, N. (2022). Spatiotemporal dynamics of abiotic and biotic properties explain biodiversity–ecosystem–functioning relationships. *Ecological Monographs*, 92(1). <https://doi.org/10.1002/ecm.1490>
- Gottschall, F., Cesarz, S., Auge, H., Kovach, K. R., Nock, C. A., & Eisenhauer, N. (2023). Tree community composition stabilizes ecosystem functions in response to drought. *Ecosphere*, 14(4). <https://doi.org/10.1002/ecs2.4486>
- Griffiths, B. S., & Philippot, L. (2013). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(2), 112–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>
- Guo, X., Zhou, X., Hale, L., Yuan, M., Ning, et al. (2019). Climate warming accelerates temporal scaling of grassland soil microbial biodiversity. *Nature Ecology & Evolution*, 3(4), 612–619. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0848-8>
- Hashimoto, S., Ito, A., & Nishina, K. (2023). Divergent data-driven estimates of global soil respiration. *Communications Earth & Environment*, 4(1), 460. <https://doi.org/10.1038/s43247-023-01136-2>
- Holl, K.D. and Lesage, J. and Amazonas, N. and Resende, et al., (2023). Fundamentos da restauração ecológica. Copit-Arxives, 9781938128509. <https://books.google.com.mx/books?id=hUm7EAAAQBAJ>
- Huang, K. B. , Yu, R.P. Gambrell Effects of ferric iron reduction and regeneration on nitrous oxide and methane emissions in a rice soil *Chemosphere*, 74 (2009), pp. 481-486, 10.1016/j.chemosphere.2008.10.015
- Hui Li., Yang, S., Xu, Z., Yan, Q., Li, X., van Nostrand, et al. (2017). Responses of soil microbial functional genes to global changes are indirectly influenced by aboveground plant biomass variation. *Soil Biology and Biochemistry*, 104, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.009>
- IBGE. (2012). Manual técnico da vegetação brasileira: sistema fitogeográfico: inventário das formações florestais e campestres: técnicas e manejo de coleções botânicas: procedimentos para mapeamentos. IBGE. Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 2(1), 1–272.
- Ivanova, A., Zia, A., Ahmad, P., & Bastos-Lima, M. (2020). Climate mitigation policies and actions: access and allocation issues. *International Environmental Agreements: Politics, Law and Economics*, 20(2), 287–301. <https://doi.org/10.1007/s10784-020-09483-7>
- Janssens, I. A., Lankreijer, H., Matteucci, G., Kowalski, A. S., et al., (2001). Productivity overshadows temperature in determining soil and ecosystem respiration across European forests. *Global Change Biology*, 7(3), 269–278. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2001.00412.x>
- Jevon, F.V., Gewirtzman, J., Lang, A.K. et al. Tree Species Effects on Soil CO₂ and CH₄ Fluxes in a Mixed Temperate Forest. *Ecosystems* 26, 1587–1602 (2023). <https://doi-org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10021-023-00852-2>

- Jewell, M. D., Shipley, B., Low-Décarie, E., Tobner, C. M., Paquette, A., Messier, C., & Reich, P. B. (2017). Partitioning the effect of composition and diversity of tree communities on leaf litter decomposition and soil respiration. *Oikos*, 126(7), 959–971. <https://doi.org/10.1111/oik.03868>
- Keller, P. S., Catalán, N., von Schiller, et al. (2020). Global CO₂ emissions from dry inland waters share common drivers across ecosystems. *Nature Communications*, 11(1), 2126. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15929-y>
- Khelifa, R., Paquette, A., Messier, C., Reich, P. B., & Munson, A. D. (2017). Do temperate tree species diversity and identity influence soil microbial community function and composition? *Ecology and Evolution*, 7(19), 7965–7974. <https://doi.org/10.1002/ece3.3313>
- Le Mer, J., & Roger, P. (2001). Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *European Journal of Soil Biology*, 37(1), 25–50. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(01\)01067-6](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(01)01067-6)
- Lesmeister, L., & Koschorreck, M. (2017). A closed-chamber method to measure greenhouse gas fluxes from dry aquatic sediments. *Atmospheric Measurement Techniques*, 10(6), 2377–2382. <https://doi.org/10.5194/amt-10-2377-2017>
- Li, Y., Qian, Z., & Li, D. (2023). Effects of tree diversity on soil microbial community in a subtropical forest in Southwest China. *European Journal of Soil Biology*, 116, 103490. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2023.103490>
- Liang, Y., Pan, F., Ma, J., Yang, Z., & Yan, P. (2021). Long-term forest restoration influences succession patterns of soil bacterial communities. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(16), 20598–20607. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11849-y>
- Lima, J. R. de S., Souza, R. M. S., Sampaio, E. V. de S. B., et al. (2023). Moisture, temperature and respiration of two soil classes under pasture and tropical dry forest in the semiarid Brazilian region. *Journal of Arid Environments*, 214, 104981. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2023.104981>
- Liptzin, D., Silver, W.L. & Detto, M. Temporal Dynamics in Soil Oxygen and Greenhouse Gases in Two Humid Tropical Forests. *Ecosystems* 14, 171–182 (2011). <https://doi.org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10021-010-9402-x>
- Liu, Y., Jin, X., Huang, S., Liu, Y., Kong, Z., Wu, L., & Ge, G. (2024). Co-Occurrence Patterns of Soil Fungal and Bacterial Communities in Subtropical Forest-Transforming Areas. *Current Microbiology*, 81(2), 64. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03608-2>
- Liu J, Ding C, Zhang W, Wei Y, Zhou Y and Zhu W (2022) Litter mixing promoted decomposition rate through increasing diversities of phyllosphere microbial communities. *Front. Microbiol.* 13:1009091. doi: 10.3389/fmicb.2022.1009091
- Lladó, S., López-Mondéjar, R., & Baldrian, P. (2017). Forest Soil Bacteria: Diversity, Involvement in Ecosystem Processes, and Response to Global Change. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(2). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00063-16>
- Loos, D., Filho, A. P. da C., Dutilh, B. E., Barber, A. E., & Panagiotou, G. (2024). A global survey of host, aquatic, and soil microbiomes reveals shared abundance and genomic features between bacterial and fungal generalists. *Cell Reports*, 43(4), 114046. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.114046>
- Loreau, M. (2000). Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, 91(1), 3–17. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.910101.x>
- Loreau, M., Hector, A. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76 (2001). <https://doi.org/10.1038/35083573>
- Loreau, M., Sapijanskas, J., Isbell, F., & Hector, A. (2012). Niche and fitness differences relate the maintenance of diversity to ecosystem function: comment. *Ecology*, 93(6), 1482–1487. <https://doi.org/10.1890/11-0792.1>
- Maitra, P., Hrynkiewicz, K., Szuba, A., Jagodziński, A. M., Al-Rashid, J., Mandal, D., & Mucha, J. (2024). Metabolic niches in the rhizosphere microbiome: dependence on soil horizons, root traits and climate variables in forest ecosystems. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1344205>

- Meng, M., Huang, L., Jiao, Q., Chen, M., Zhang, X., Li, M., & Cao, Y. (2024). Biomass difference between mixed plantations and monocultures and its influencing factors: A meta-analysis. *Land Degradation & Development*, 35(6), 2284–2296. <https://doi.org/10.1002/ldr.5060>
- Mills, R. T. E., Dewhurst, N., Sowerby, A., Emmett, B. A., & Jones, D. L. (2013). Interactive effects of depth and temperature on CH₄ and N₂O flux in a shallow podzol. *Soil Biology and Biochemistry*, 62, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.03.003>
- Mombrini, L. M., de Mello, W. Z., Ribeiro, R. P., et al. (2022). Physical and hydric factors regulating nitrous oxide and methane fluxes in mountainous Atlantic Forest soils in southeastern Brazil. *Journal of South American Earth Sciences*, 116, 103781. <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2022.103781>
- Morales-Londoño, D. M., Meyer, E., Kunze, A., Gonzalez, D et al. (2019). Are microbial activity and arbuscular mycorrhizal fungal community influenced by regeneration stages? A case study in Southern Brazil coastal Atlantic Rain Forest. *Applied Soil Ecology*, 138, 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.028>
- Nazaries, L., Murrell, J. C., Millard, P., Baggs, L., & Singh, B. K. (2013). Methane, microbes and models: fundamental understanding of the soil methane cycle for future predictions. *Environmental Microbiology*, 15(9), 2395–2417. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12149>
- Niklaus, P. A., Baruffol, M., He, J., Ma, K., & Schmid, B. (2017). Can niche plasticity promote biodiversity–productivity relationships through increased complementarity? *Ecology*, 98(4), 1104–1116. <https://doi.org/10.1002/ecy.1748>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, et al. (2015). *Vegan: Community Ecology Package*. 2.
- Pacchioni, R. G., Carvalho, F. M., Thompson, C. E., et al. (2014). Taxonomic and functional profiles of soil samples from Atlantic Forest and Caatinga biomes in northeastern Brazil. *MicrobiologyOpen*, 3(3), 299–315. <https://doi.org/10.1002/mbo3.169>
- Pan YQ, Kang P, Hu JP, Song NP (2021) Bacterial community demonstrates stronger network connectivity than fungal community in desert-grassland salt marsh. *Sci Total Environ* 798:149118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149118>
- Pancotto, V. A., van Bodegom, P. M., van Hal, J., van Logtestijn, R. S. P., Blokker, P., Toet, S., & Aerts, R. (2010). N deposition and elevated CO₂ on methane emissions: Differential responses of indirect effects compared to direct effects through litter chemistry feedbacks. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 115(G2). <https://doi.org/10.1029/2009JG001099>
- Paquette, A., & Messier, C. (2011). The effect of biodiversity on tree productivity: from temperate to boreal forests. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 170–180. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00592.x>
- Paranaíba, J. R., Aben, R., Barros, N., Quadra, G et al. (2022). Cross-continental importance of CH₄ emissions from dry inland-waters. *Science of The Total Environment*, 814, 151925. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151925>
- Pedrinho, A., Mendes, L. W., de Araujo Pereira, A. P., Araujo, A. S. F et al. (2024). Soil microbial diversity plays an important role in resisting and restoring degraded ecosystems. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06489-x>
- Pires C., A. J., Ribeiro Matos, F. A., Villa, P. M., Heringer, et al. (2022). Multiple drivers influence tree species diversity and above-ground carbon stock in second-growth Atlantic forests: Implications for passive restoration. *Journal of Environmental Management*, 318, 115588. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115588>
- Purahong, W., Durka, W., Fischer, M., Dommert, S., Schöps, R., Buscot, F., & Wubet, T. (2016). Tree species, tree genotypes and tree genotypic diversity levels affect microbe-mediated soil ecosystem functions in a subtropical forest. *Scientific Reports*, 6(1), 36672. <https://doi.org/10.1038/srep36672>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>

- R Core Team, 2018. R: a language and environment for statistical computing (Version 4.2.1). (n.d.). Retrieved April 28, 2024, from <https://www.R-project.org/>
- Ramirez, K. S., Craine, J. M., & Fierer, N. (2012). Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Global Change Biology*, 18(6), 1918–1927. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02639.x>
- Rawat, V., Kaur, J., Bhagwat, S., Arora Pandit, M., & Dogra Rawat, C. (2023). Deploying microbes as drivers and indicators in ecological restoration. *Restoration Ecology*, 31(1). <https://doi.org/10.1111/rec.13688>
- Rivest, M., Whalen, J. K., & Rivest, D. (2019). Tree diversity is not always a strong driver of soil microbial diversity: a 7-yr-old diversity experiment with trees. *Ecosphere*, 10(4). <https://doi.org/10.1002/ecs2.2685>
- Rodrigues Nogueira, L. Jr., de Moraes Gonçalves, J. L., Lex Engel, V., & Parrotta, J. (2011). Soil dynamics and carbon stocks 10 years after restoration of degraded land using Atlantic Forest tree species. *Forest Systems*, 20(3), 536–545. <https://doi.org/10.5424/fs/20112003-11844>
- Ryan, M. G., & Law, B. E. (2005). Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry*, 73(1), 3–27. <https://doi.org/10.1007/s10533-004-5167-7>
- Saleem, M., Hu, J., & Jousset, A. (2019). More Than the Sum of Its Parts: Microbiome Biodiversity as a Driver of Plant Growth and Soil Health. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50(1), 145–168. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062605>
- Santos, H., Jacomine, P., Anjos, L. dos Oliveria, et al. (2018). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. In *Embrapa* (Vol. 5).
- Shovon, T. A., Auge, H., Haase, J., & Nock, C. A. (2024). Positive effects of tree species diversity on productivity switch to negative after severe drought mortality in a temperate forest experiment. *Global Change Biology*, 30(3). <https://doi.org/10.1111/gcb.17252>
- Singavarapu, B., Beugnon, R., Bruelheide, et al. (2022). Tree mycorrhizal type and tree diversity shape the forest soil microbiota. *Environmental Microbiology*, 24(9), 4236–4255. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15690>
- Singh, B. K., Bardgett, R. D., Smith, P., & Reay, D. S. (2010). Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews Microbiology*, 8(11), 779–790. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2439>
- Siqueira-Neto, M., Popin, G. V., Piccolo, M. C., Corbeels, M., et al. (2021). Impacts of land use and cropland management on soil organic matter and greenhouse gas emissions in the <scp>Brazilian Cerrado</scp>. *European Journal of Soil Science*, 72(3), 1431–1446. <https://doi.org/10.1111/ejss.13059>
- Sousa Neto, E., Carmo, J. B., Keller, M., Martins, et al. (2011). Soil-atmosphere exchange of nitrous oxide, methane and carbon dioxide in a gradient of elevation in the coastal Brazilian Atlantic Forest. *Biogeosciences*, 8(3), 733–742. <https://doi.org/10.5194/bg-8-733-2011>
- Teixeira, H. M., Cardoso, I. M., Bianchi, F. J. J. A., da Cruz Silva, A., Jamme, D., & Peña-Claros, M. (2020). Linking vegetation and soil functions during secondary forest succession in the Atlantic Forest. *Forest Ecology and Management*, 457, 117696. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117696>
- Thoms, C., Gattinger, A., Jacob, M., Thomas, F. M., and Gleixner, G. (2010). Direct and indirect effects of tree diversity drive soil microbial diversity in temperate deciduous forest. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1558–1565. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.05.030
- Thomson, B. C., Ostle, N., McNamara, N., Bailey, M. J., Whiteley, A. S., & Griffiths, R. I. (2010). Vegetation Affects the Relative Abundances of Dominant Soil Bacterial Taxa and Soil Respiration Rates in an Upland Grassland Soil. *Microbial Ecology*, 59(2), 335–343. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9575-z>
- Tian, J., Ni, T., Miao, Z., Hao, Y., Ma, A., Dong, L., & Li, F. (2024). Effects of biotic and abiotic factors on ecosystem multifunctionality of plantations. *Ecological Processes*, 13(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s13717-024-00525-5>

- Tilman, D., Isbell, F., & Cowles, J. M. (2014). Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45(1), 471–493. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091917>
- Tomazelli, D., Klauberg-Filho, O., Mendes, S. D. C., et al. (2023). Pasture management intensification shifts the soil microbiome composition and ecosystem functions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 346, 108355. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108355>
- Tsai, D., Potenza, R., Quintana, G., Cardoso, A., et al. (2023). Análise das emissões de gases de efeito estufa e suas implicações para as metas climáticas do Brasil 1970-2021. *Observatório Do Clima*, 4, 3–45.
- Tulio, R. H., Rachwal, M. F. G., Zanatta, J. A., da Silva, K., & Kaschuk, G. (2023). Physical, chemical and microbiological soil attributes influence soil greenhouse gases fluxes in Atlantic Forest and pine (*Pinus taeda*) plantations in Brazil. *Soil Use and Management*, 39(1), 183–197. <https://doi.org/10.1111/sum.12864>
- Venturini, A. M., Dias, N. M. S., Gontijo, J. B., Yoshiura, et al. (2022). Increased soil moisture intensifies the impacts of forest-to-pasture conversion on methane emissions and methane-cycling communities in the Eastern Amazon. *Environmental Research*, 212, 113139. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113139>
- Verchot, L. v., Davidson, E. A., Cattânio, J. H., & Ackerman, I. L. (2000). Land-Use Change and Biogeochemical Controls of Methane Fluxes in Soils of Eastern Amazonia. *Ecosystems*, 3(1), 41–56. <https://doi.org/10.1007/s100210000009>
- Walkiewicz, A., Rafalska, A., Bulak, P., Bieganski, A., & Osborne, B. (2021). How Can Litter Modify the Fluxes of CO₂ and CH₄ from Forest Soils? A Mini-Review. *Forests*, 12(9), 1276. <https://doi.org/10.3390/f12091276>
- Wan, X., Yu, Z., Wang, M., Zhang, Y., Lucas-Borja, M. E., & Huang, Z. (2022). Functional trait variation and community-weighted means of tree traits can alter soil microbial biomass and community composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 170, 108715. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108715>
- Wang, Y.-F., Li, X., Datta, R., Chen, J., Du, Y., & Du, D.-L. (2022). Key factors shaping prokaryotic communities in subtropical forest soils. *Applied Soil Ecology*, 169, 104162. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104162>
- Wang, Y., & Qian, P.-Y. (2009). Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. *PLOS ONE*, 4(10), e7401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007401>
- Wang, Y., & Zou, Q. (2024). Deciphering Microbial Adaptation in the Rhizosphere: Insights into Niche Preference, Functional Profiles, and Cross-Kingdom Co-occurrences. *Microbial Ecology*, 87(1), 74. <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02390-3>
- Wanyama, I., Pelster, D.E., Butterbach-Bahl, K. et al. Soil carbon dioxide and methane fluxes from forests and other land use types in an African tropical montane region. *Biogeochemistry* 143, 171–190 (2019). <https://doi.org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10533-019-00555-8>
- Ward, N. L., Challacombe, J. F., Janssen, P. H., Henrissat, B., et al. (2009). Three Genomes from the Phylum Acidobacteria Provide Insight into the Lifestyles of These Microorganisms in Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 2046–2056. <https://doi.org/10.1128/AEM.02294-08>
- Welles, J. M., Demetriades-Shah, T. H., & McDermitt, D. K. (2001). Considerations for measuring ground CO₂ effluxes with chambers. *Chemical Geology*, 177(1–2), 3–13. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(00\)00388-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(00)00388-0)
- Wickham, H., Chang, W., Henry, L., Pedersen, T. L., Takahashi, K., Wilke, C., Woo, K., Yutani, H., & Dunnington, D. (2022a). *ggplot2: create elegant data visualisations using the grammar of graphics*. <https://Ggplot2.Tidyverse.Org/Reference/Ggplot2-Package.Html#author>.
- Wickham, H., François, R., Henry, L., & Müller, K. (2022b). *dplyr: a grammar of data manipulation (version 1.0.10)*. <https://Cran.r-Project.Org/Web/Packages/Dplyr/Index.Html>.
- Wu, H., Cui, H., Fu, C., Li, R., Qi, F., Liu, Z., Yang, G., Xiao, K., & Qiao, M. (2024). Unveiling the crucial role of soil microorganisms in carbon cycling: A review. *Science of The Total Environment*, 909, 168627. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168627>

Xu, S., Eisenhauer, N., Ferlian, O., Zhang, J., et al. (2020). Species richness promotes ecosystem carbon storage: evidence from biodiversity-ecosystem functioning experiments. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1939), 20202063. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.2063>

Yates, C., King, W. L., Richards, S. C., Wilson, C., Viddam, V., Blakney, A. J. C., Eissenstat, D. M., & Bell, T. H. (2024). Temperate trees locally engineer decomposition and litter-bound microbiomes through differential litter deposits and species-specific soil conditioning. *New Phytologist*, 243(3), 909–921. <https://doi.org/10.1111/nph.19900>

Zhalnina, K., Louie, K. B., Hao, Z., Mansoori, N., et al. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 3(4), 470–480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>

Zheng, W., Sheng, R., Zhang, M., Xiong, G., Hou, H., Li, S., & Wei, W. (2018). Effects of continuous manure application on methanogenic and methanotrophic communities and methane production potentials in rice paddy soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 258, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.02.018>

Zhang, Y., Chen, H. Y. H., & Reich, P. B. (2012). Forest productivity increases with evenness, species richness and trait variation: a global meta-analysis. *Journal of Ecology*, 100(3), 742–749. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01944.x>

Zheng, L., Barry, K. E., Guerrero-Ramírez, N. R., et al. (2024). Effects of plant diversity on productivity strengthen over time due to trait-dependent shifts in species overyielding. *Nature Communications*, 15(1), 2078. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46355-z>

Zhou, Z., Wang, C., Jiang, L., & Luo, Y. (2017). Trends in soil microbial communities during secondary succession. *Soil Biology and Biochemistry*, 115, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.08.014>