

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Efeito da adição de fósforo na herbivoria de plantas de sub-bosque em uma
floresta amazônica**

Gabriele França do Nascimento
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

GABRIELE FRANÇA DO NASCIMENTO

**Efeito da adição de fósforo na herbivoria de plantas de sub-bosque em uma
floresta amazônica**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Thiago Gechel Kloss

Coorientadores: Tatiana G. Cornelissen
Cleberson Ribeiro

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

N244e
2025 Nascimento, Gabriele França do, 1999-
Efeito da adição de fósforo na herbivoria de plantas de
sub-bosque em uma floresta amazônica / Gabriele França do
Nascimento. – Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (36 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Thiago Gechel Kloss.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2025.

Referências bibliográficas: f. 31-34.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.350>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Ecologia química das plantas. 2. Plantas - Efeito do
fósforo. 3. Plantas - Nutrição. 4. Plantas - Amazônia. 5. Solos -
Amazônia - Teor de fósforo. 6. Relação inseto-planta -
Amazônia. I. Kloss, Thiago Gechel, 1987-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa
de Pós-Graduação em Ecologia. III. Título.

CDD 22. ed. 581.7

GABRIELE FRANÇA DO NASCIMENTO

Efeito da adição de fósforo na herbivoria de plantas de sub-bosque em uma floresta amazônica

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Gabriele França do Nascimento
Autora

Thiago Gechel Kloss
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 26/05/2025 às 16:11:47 e pela orientadora em 26/05/2025 às 16:16:17. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **12Z3.C9Y6.ECEI** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus. Sinto que é a força que me guia e sustenta não só em dias difíceis, mas também em dias em que estou em paz. É o bem que existe dentro de mim, e me faz acreditar que sou capaz de qualquer coisa. Aos meus pais, Jucileide e Cicero que são minha base, meu alicerce e meu maior exemplo de amor e dedicação. Ficar esses dois anos tão longe de casa e longe da presença deles foi a coisa mais desafiadora que já passei. Foram muitos dias de choro, angustias e sentimento de estar sozinha no mundo. Mas como o amor atravessa e pode tudo, eu pude sentir o carinho e cheirinho deles todos os dias mesmo à 1.858 km de distância. A eles eu dedico todas as minhas conquistas. Ao meu irmão Gabriel, que está do outro lado do oceano. Por todo carinho, compressão e paciência por todas as ligações aleatórias que eu fazia só para desabafar. Obrigada por sempre me ensinar algo novo e nunca deixar eu desistir das coisas que eu quero. Por ser a pessoa no mundo que eu sempre vou poder contar independente de qualquer coisa. A ele dedico também todas as minhas conquistas.

Ao meu orientador Thiago Gechel Kloss. Lembro da primeira vez que entrei em sua sala pedindo orientação. Ali ele já viu o caos que era Gabriele, e mesmo assim me abraçou e acolheu nesse lugar totalmente novo para mim. Agradeço por tudo que me ensinou e ensina. Obrigada por sempre me acolher e falar “calma, respira, olha essa ansiedade”. Obrigada por acreditar em mim, mesmo quando nem eu mesma acreditava. Obrigada por ser esse excelente orientador/professor/psicólogo/pai. Obrigada por me dar a oportunidade de conhecer e trabalhar na maior floresta tropical do mundo e sonho de todo e qualquer pesquisador (a). Obrigada por ser minha família aqui em Minas Gerais.

À todos os meus amigos (as) do LABECOM, do PPGEÇO e da vida. Vocês tornaram essa caminhada bem mais leve e divertida. Obrigada por sempre segurarem a mãozinha de todos. Em especial a Raissa (minha prima, amiga e companheira de perrengues), Erika Tatiana (agora companheira de casa), Alex (que compartilhou os perrengues de campo) e a Eduardo (dono dos melhores conselhos).

À todas as pessoas que me auxiliaram em campo. Em especial a Thairine, que sem sombra de dúvidas sem ela eu estaria até hoje coletando folhas na Amazônia, obrigada por toda a ajuda e por me ensinar tanto. Aos auxiliares de campo (Seu Juruna, Osmaildo, Francisco e João), por me ensinarem tanto sobre a floresta e por me ajudarem na identificação das minhas plantas. Vocês fazem o trabalho acontecer.

Ao INPA, ao PDBFF e ao AFEX por todo auxílio com a logística em campo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo e ao programa de pós graduação em Ecologia e todo seu corpo docente e técnico.

À Universidade Federal de Viçosa, por ser minha quarta casa durante esses dois anos. Que venham mais quatro.

“...se são meus pés que caminham os trajetos que eu faço, então eu os escolherei.”.
(Lucas Misunaga)

RESUMO

NASCIMENTO, Gabriele França do, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Efeito da adição de fósforo na herbivoria de plantas de sub-bosque em uma floresta amazônica.** Orientadora: Thiago Gechel Kloss. Coorientadores: Tatiana Garabini Cornelissen e Cleberson Ribeiro.

Nascimento, Gabriele F, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. Efeito da adição de fósforo na herbivoria de plantas do sub-bosque em uma floresta amazônica. Orientador: Dr. Thiago Gechel Kloss. Coorientadores: Dra. Tatiana Garabini Cornelissen e Dr. Cleberson Ribeiro.

A Amazônia desempenha um papel vital no ciclo global de carbono, influenciando diretamente o clima global e a biodiversidade. Porém, os solos dessa floresta apresentam escassez de alguns nutrientes, especialmente o fósforo, diminuindo a produtividade primária da floresta. Além disso, a escassez desse nutriente pode alterar o balanço energético das plantas e diminuir a capacidade de investimento em defesa e crescimento. A principal forma de avaliar o efeito da restrição natural de macronutrientes sobre os ecossistemas é por meio de experimentos de fertilização. No caso do fósforo, a adição desse nutriente em solos limitados pode resultar em maior atratividade e consumo das folhas por insetos herbívoros. Por outro lado, plantas que receberam esse aporte nutricional podem obter mais energia para investir em defesas. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito da adição de fósforo sobre a herbivoria em plantas de sub-bosque da floresta amazônica. A pesquisa foi conduzida no projeto Amazon Fertilisation Experiment (AFEX), desenvolvido em colaboração com o Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF) e o Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) em uma floresta Amazônica de terra firme. Amostramos 16 parcelas que são manipuladas com a fertilização de N, P e Cátions. Em cada parcela, amostramos 5 indivíduos de 5 espécies de plantas abundantes. Em cada indivíduo, coletamos dez folhas expandidas para medir a herbivoria e 3 folhas expandidas e intactas para avaliar indiretamente a qualidade das folhas por meio do índice SPAD, e características físicas, como espessura, área foliar total e área foliar específica (SLA). Calculamos a área foliar total e a área foliar consumida com o software ImageJ. . A adição de fósforo ao solo aumentou a herbivoria em plantas de sub-bosque na Amazônia, provavelmente devido a alterações nas defesas químicas e no balanço nutricional, sem afetar defesas estruturais como espessura ou área foliar específica.

Em

contraste, nitrogênio e cálcio não alteraram a herbivoria, mas influenciaram características funcionais, como maior espessura foliar. Sugerimos que o aumento da herbivoria tem o potencial de impactar a dinâmica ecológica, indicando que, além de reduzir a produtividade primária, a limitação de fósforo influencia as interações nesse ecossistema. Assim, ressaltamos a importância de considerar a limitação natural desse nutriente em modelos climáticos que preveem impactos futuros na Amazônia.

Palavras-chave: Palavras-chave: Amazônia; Floresta tropical; Insetos; Interação inseto-planta; Teia trófica.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Gabriele França do, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Effect of phosphorus addition on understory plant herbivory in an amazonian forest.** Adviser: Thiago Gechel Kloss. Co-advisers: Tatiana Garabini Cornelissen and Cleberson Ribeiro.

Nascimento, Gabriele F, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025.

Efeito da adição de fósforo sobre a herbivoria em uma floresta amazônica. Adviser: Thiago Gechel Kloss. Co-adviser: Tatiana Garabini Cornelissen and Cleberson Ribeiro.

The Amazon is vital role in the global carbon cycle, directly influencing global climate and biodiversity. However, the soils of this forest are deficient in specific nutrients, especially phosphorus, which affects the primary productivity of the forest. Additionally, the scarcity of this nutrient can alter the energy balance of plants and affect their ability to invest in defense and growth. The primary way to assess the effect of natural macronutrient limitations on ecosystems is through fertilization experiments. In the case of phosphorus, adding this nutrient to nutrient-poor soils can result in increased attractiveness and consumption of leaves by herbivorous insects. On the other hand, plants that receive this nutritional input may gain more energy to invest in defenses. Thus, this study aimed to investigate the effect of phosphorus addition on herbivory in understory plants of the Amazon rainforest. The research was conducted in the Amazon Fertilisation Experiment (AFEX) project, developed in collaboration with the Biological Dynamics of Forest Fragments Project (PDBFF) and the National Institute for Amazon Research (INPA) in a Amazon forest. We sampled 16 plots that are manipulated with the fertilization of N, P, and cations. In each plot, we sampled 5 individuals from 5 abundant plant species. For each individual, we collected ten expanded leaves to measure herbivory and 3 expanded, intact leaves to indirectly assess leaf quality using the SPAD index and physical characteristics such as thickness, total leaf area, and specific leaf area (SLA). We calculated total leaf area and consumed leaf area using ImageJ software. The addition of phosphorus to the soil increased herbivory in understory plants in the Amazon, likely due to changes in chemical defenses and nutritional balance, without affecting structural defenses such as thickness or specific leaf area. In contrast, nitrogen and calcium did not alter herbivory but influenced functional traits, such as increased leaf thickness. We suggest that the increase in herbivory has the potential to impact ecological dynamics, indicating that, beyond reducing primary

productivity, phosphorus limitation influences interactions in this ecosystem. Thus, we emphasize the importance of considering the natural limitation of this nutrient in climate models that predict future impacts in the Amazon.

Keywords: Key-words: Amazon; Tropical Forest; Insects; Insect-plant interaction; Trophic web.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mapa da Área de Relevante Interesse Ecológico do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais. Área em amarelo indica a localização do AFEX.....	15
Figura 2 – Mapa de localização dos blocos e parcelas do AFEX.....	17
Figura 3 – a) Medições em campo de clorofila total das plantas utilizando equipamento SPAD. b) Medições de espessura foliar utilizando um micrômetro digital.....	18
Figura 4– Ilustração do <i>Software ImageJ</i> . utilizado para realizar as medições da área foliar total e área foliar removida.....	20
Figura 5– Gráfico da porcentagem de área foliar consumida na presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions.....	22
Figura 6– Gráfico da relação da área foliar específica (SLA) na presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio e cátions.....	23
Figura 7– Gráfico da relação do Índice SPAD em função da presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions.....	24
Figura 8– Gráfico da relação da área foliar total (cm ²) em da presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions.....	25
Figura 9– Gráfico da relação da espessura foliar (mm) em função da presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Abundância das espécies de plantas do sub-bosque coletadas nas 16 parcelas experimentais.....	34
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MÉTODOS.....	15
3. RESULTADOS	22
4. DISCUSSÃO.....	27
REFERÊNCIAS	30
ANEXO 1- Abundância das espécies de plantas do sub-bosque coletadas nas 16 parcelas experimentais.....	34

1. INTRODUÇÃO

As florestas tropicais são responsáveis pela maior produtividade primária do mundo, sendo fundamentais para o ciclo do carbono (CRAMER *et al.*, 2004). A floresta amazônica, por exemplo, é responsável por 25% da produtividade primária líquida global (LE QUÉRÉE *et al.*, 2018). No entanto, a capacidade produtiva das plantas pode ser influenciada negativamente pela ação de herbívoros, que consomem cerca de 20% da biomassa vegetal em florestas tropicais (METCALFE *et al.*, 2014). Os insetos ao consumirem a massa foliar promovem reduções significativas na fotossíntese e consequentemente, alteraram os padrões de produtividade e alocação de carbono nestes ambientes (BLUMENTHAL e AUGUSTINE, 2009; FEELEY e TERBORGH, 2005; METCALFE *et al.*, 2014; ZVEREVA *et al.*, 2014).

A ação dos herbívoros em florestas tropicais está diretamente relacionada com as características de defesa da planta (WERNER *et al.*, 2015). As estratégias de defesas das plantas podem ser físicas, como espinhos, tricomas e cutículas espessas, ou químicas, como a produção de taninos, alcaloides e outras substâncias tóxicas (MOSTAFA *et al.*, 2022). Os tipos de defesa podem influenciar diretamente no processo de seleção de plantas pelos herbívoros, reduzindo o consumo ou alterando suas preferências alimentares (COLEY, 1985). Assim, apesar dos herbívoros apresentarem alta capacidade de alterar a produtividade das florestas, o investimento das plantas em defesas ou atributos funcionais específicos pode modular significativamente a ação deles. Além disso, esse investimento é energeticamente custoso para as plantas, com gastos elevados de nutrientes, como por exemplo o fósforo.

O investimento das plantas em defesa está relacionado com a qualidade nutricional dos solos onde as plantas adquirem os seus recursos (VITOUSEK *et al.*, 2010). Plantas que crescem em ambiente com maior quantidade de nutrientes, priorizam crescimento rápido e reprodução, investindo em estruturas de defesas menos custosas, enquanto plantas de solos pobres, desenvolvem estratégias de sobrevivência mais custosas e possuem maior eficiência no uso de recursos (Coley *et al.*, 1985). Dessa forma, a disponibilidade de nutriente no solo pode modular o investimento em tipos de defesas das plantas contra herbívoros e afetar a susceptibilidade à herbivoria (RAUBENHEIMER e SIMPSON 1997; ROEDER e BEHMER, 2014). Isso pode ocorrer porque em ambientes com maior disponibilidade de recursos nutricionais, as plantas tornam-se mais nutritivas, com maior teor de proteínas, açúcares e compostos que atraem herbívoros (BARROS, 2022). Além disso, o processo de reposição de tecidos vegetais removidos pode ser feito

mais facilmente devido a quantidade de recurso disponível. Isso pode levar as plantas a priorizarem o investimento em crescimento e reprodução, em detrimento das defesas. Assim, compreender os efeitos da nutrição do solo sobre a herbivoria é crucial, pois a disponibilidade de nutrientes influencia diretamente o balanço entre crescimento e defesa das plantas, modulando sua resistência a herbívoros e influenciando na produtividade primária dessas florestas.

Solos da floresta amazônica apresentam baixas quantidades de fósforo, que variam em um gradiente de oeste a leste, e está relacionada com baixa disponibilidade de nutrientes de derivação rochosa no solo, devido à sua idade avançada e composição geológica (QUESADA e LLOYD, 2016; LAMBERS *et al.*, 2008). Além disso, o intenso processo de lixiviação remove minerais solúveis, reduzindo a disponibilidade desse nutriente (QUESADA *et al.* 2010; 2011). O fósforo é o principal nutriente limitante da produtividade primária líquida na Amazônia (CUNHA *et al.*, 2022; QUESADA e LLOYD, 2016). Em uma área de floresta de solos antigos da Amazônia central, a adição de fósforo foi capaz de aumentar a produção de raízes finas e de folhas (CUNHA *et al.*, 2022). Portanto, a disponibilidade de fósforo no solo pode aumentar a disponibilidade de biomassa de tecidos vegetais para insetos herbívoros e promover uma maior exploração do solo pelas plantas por meio da busca de nutrientes e água.

No entanto, a carência de fósforo pode afetar o investimento em defesa dessas plantas, influenciando o consumo dos tecidos vegetais por insetos herbívoros (WILLIS e RICHARD, 1995). Apesar desse efeito ser pouco compreendido nas florestas amazônicas, é conhecido que o fósforo atua em processos que contribuem para defesas contra herbívoros, como a facilitação de defesas induzidas localizadas (AGRAWAL, 1998). Essas defesas são ativadas ou intensificadas apenas quando há ataque de herbívoros, patógenos ou danos mecânicos, sendo consideradas com menor custo energético para a planta (FERRY *et al.*, 2004), o que pode indicar que a restrição natural desse nutriente pode afetar a defesa de plantas em ambientes amazônicos. Além disso, o fósforo é o componente essencial do ATP (adenosina trifosfato), molécula de armazenamento e transferência de energia em processos como fotossíntese, respiração celular e transporte de nutrientes em plantas, além de ser um facilitador em processos metabólicos que sustentam a produção e a funcionalidade da clorofila. Dessa forma, a disponibilidade desse nutriente no solo pode influenciar no crescimento geral da planta, aumentando o número e o tamanho de folhas, assim como promover um metabolismo energético eficiente para a síntese de compostos estruturais como folhas mais espessas e

densas, fatores que podem influenciar a ação dos herbívoros (BRADY e WEIL, 2008; PLAXTON e LAMBERS, 2015, VITOUSEK *et al.*, 2010).

Em um cenário de alterações climáticas globais, compreender como características nutricionais do solo podem alterar processos capazes de afetar padrões de produtividade e alocação de carbono em florestas tropicais são essenciais. Dessa forma, investigamos neste estudo, como a adição de fósforo afeta a herbivoria em plantas de sub-bosque em uma floresta de terra firme na Amazônia Central. Além disso, investigamos como a adição desse macronutriente afeta atributos fisiológicos das plantas do sub-bosque que podem influenciar na intensidade de ação de insetos herbívoros. Nesse contexto, avaliamos como a adição de fósforo pode influenciar o investimento das plantas em defesas primárias estruturais, como a espessura foliar e a área foliar específica (SLA). Folhas mais espessas apresentam maior resistência mecânica, dificultando a mastigação por herbívoros. Além disso, folhas com baixo SLA (mais densas e com menor área) tendem a ser mais difíceis de consumir, devido à maior densidade tecidual. Assim, a redução da área foliar específica (SLA), está associada a maior investimento em defesas estruturais ou a condições ambientais estressantes (LARCHER, 2000). Em contraste, folhas com alto SLA (finas e de grande área) estão geralmente associadas a plantas que priorizam o crescimento rápido e que são mais suscetíveis ao consumo por insetos herbívoros. Por fim, buscamos compreender como fatores que aumentam a qualidade do recurso foliar para insetos herbívoros podem ser afetados pela adição de fósforo. Para isso, avaliamos mudanças nos índices relacionados a intensidade da cor verde das folhas, medida considerada como o índice SPAD e à área foliar total em plantas do sub-bosque. Dessa forma, o estudo permitiu compreender o impacto da restrição de fósforo na ação de insetos herbívoros em uma floresta amazônica. Além disso, avaliar se essa limitação está associada a alterações na atratividade das plantas ou nas defesas estruturais, fator essencial para entender o papel desse nutriente na dinâmica ecológica da floresta.

2. MÉTODOS

2.1. Área de estudo

A investigação foi desenvolvida na Área de Relevante Interesse Ecológico - Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (ARIE-PDBFF), sítio Km 41, que fica localizada na Amazônia Central, a aproximadamente 80km do norte da cidade de Manaus, Amazonas. A ARIE-PDBFF compreende mais de 3.180,05 hectares de floresta nativa, em um alto grau de preservação biológica. O clima da região é quente e úmido, com temperatura média anual de 26,7°C (RADAMBRASIL, 1978). O pico de chuvas ocorre entre os meses de março a abril, e seca entre julho e setembro (LOVEJOY e BIERREGAARD, 1990). A vegetação da área é caracterizada como florestas ombrófila densa de terra firme (LAURANCE *et al.*, 2018) (Fig. 1).

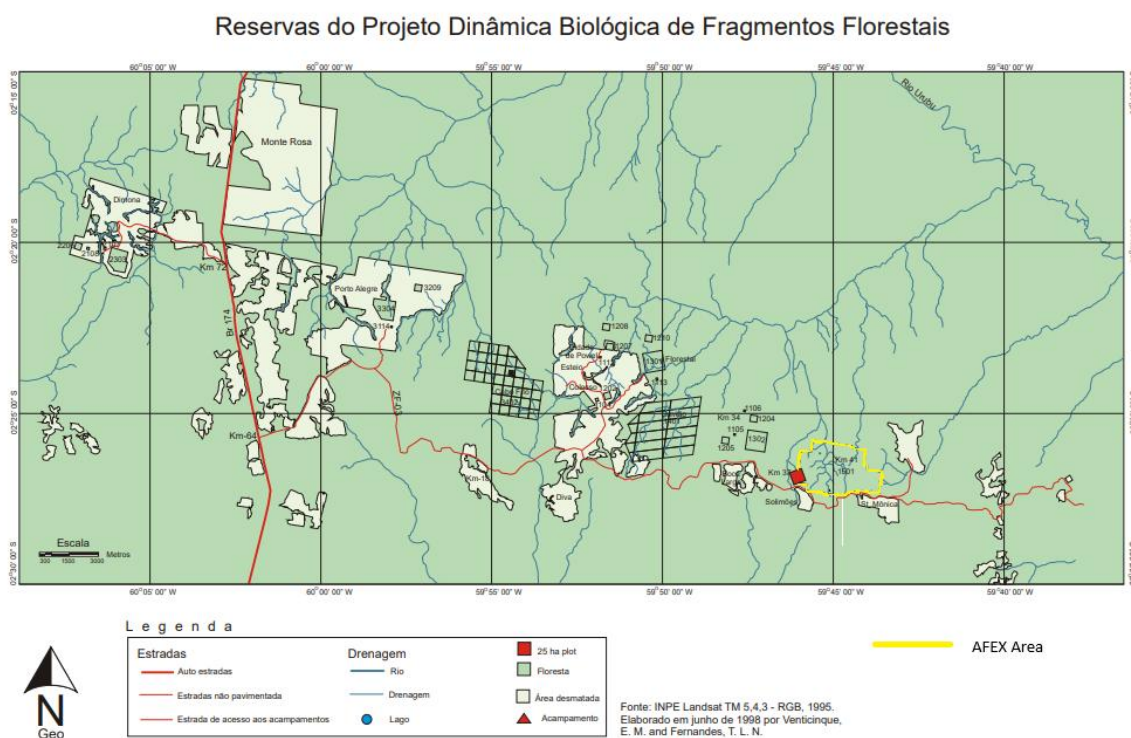


Figura 1. Mapa da Área de Relevante Interesse Ecológico do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais, Rio Preto da Eva, Amazonas. Área em amarelo indica a localização do Amazon Fertilisation Experiment. Fonte: *E.M e Fernandes T.L.N.*

2.2. Delineamento experimental

As coletas de dados foram realizadas nas parcelas experimentais do projeto *Amazon Fertilisation Experiment* (AFEX), desenvolvido em colaboração com o PDBFF e o Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA). O desenho experimental do projeto AFEX (Fig. 2), consiste em 32 parcelas de 50x50m, distribuídas em quatro blocos, que estão separados por uma distância mínima de aproximadamente 300m. Cada bloco é formado por oito parcelas, sendo estas separadas a uma distância mínima de 50m. Em cada bloco, sete parcelas recebem a fertilização de nutrientes, enquanto uma (controle) permanece sem fertilização. Os tratamentos de fertilização consistem na aplicação de: 1 - Nitrogênio (N); 2 - Fósforo (P); 3 – Cátions (Ca, Mg e K); 4 - N+P; 5 - N+Cátions; 6 - P+Cátions; 7 - N+P+Cátions; 8 - Controle (ausência de fertilização). As proporções dos nutrientes que são adicionados nas parcelas, são: N: 125 kg ha⁻¹ yr⁻¹ em forma de ureia; P: 50 kg ha⁻¹ yr⁻¹ como superfosfato triplo; cátions: 160 kg ha⁻¹ yr⁻¹ de calcário dolomítico para Ca e Mg, mais 50 kg ha⁻¹ yr⁻¹ de potássio clorídrico como K (LUGLI *et al.*, 2021). No entanto, para a realização desse estudo, utilizamos as parcelas sem interações entre os nutrientes, totalizando a amostragem de plantas presentes em 16 parcelas. O procedimento de fertilização nas parcelas experimentais foi realizado anualmente, no período de 2017-2023, durante a estação chuvosa, com as mesmas proporções sendo aplicadas em todas as parcelas. Em cada etapa de fertilização, os fertilizantes foram adicionados especificamente na área de 30x30m das parcelas e distribuídos por meio de lanço a mão durante uma caminhada sistemática dentro de cada parcela.

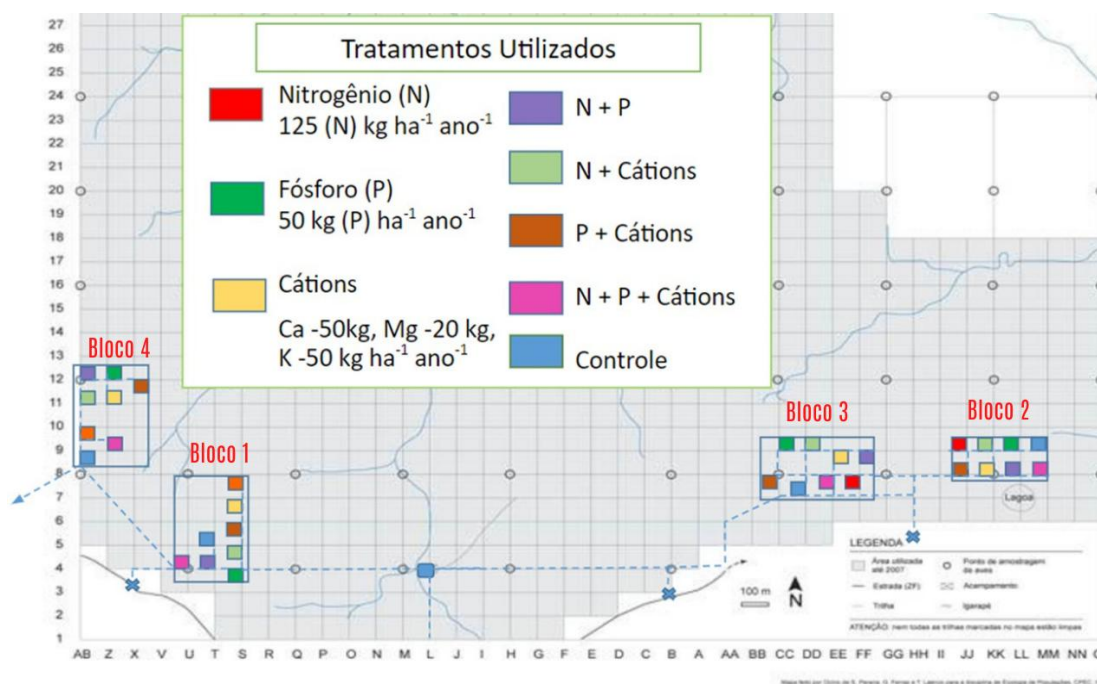


Figura 2. Mapa de localização dos blocos e parcelas do Amazon Fertilisation Experiment no sítio Km41, da ARIE PDBFF, Rio Preto da Eva, Amazonas

2.3. Critério de seleção das plantas

Amostramos em cada parcela, cinco indivíduos, de cinco espécies abundantes de plantas, seguindo o protocolo adaptado da rede Herbivory and Florivory (CORNELISSEN, *et al.* 2022). Todos os indivíduos selecionados estavam a uma distância mínima de 1 m entre si.

Em cada indivíduo, selecionamos folhas presentes em um ramo intermediário da planta. Para isso, ficamos posicionados a uma distância de 2m da planta, e selecionamos um ramo na posição central da planta, o que evitou a seleção de ramos apicais muito recentes ou de ramos muito antigos, que geralmente refletem um grande histórico de herbivoria. Em cada ramo, coletamos dez folhas maduras e totalmente expandidas para as análises de herbivoria, a partir da base de cada ramo. Além disso, em cada indivíduo, selecionamos três folhas intactas para as análises de espessura foliar, área foliar total, intensidade da cor verde nas folhas (índice SPAD) e área foliar específica (SLA). A seleção de folhas sem danos para a mensuração dos efeitos da adição de nutrientes foi realizada para que danos físicos não comprometessem a representatividade da folha por completo. Além disso, perfurações ou rasgos podem representar alterações estruturais ou perda de tecido, gerando valores inconsistentes, que podem influenciar na área foliar

específica, SLA, espessura e no índice SPAD. Quando três folhas intactas não estavam presentes no ramo selecionado, coletamos folhas intactas dos ramos mais próximos, em direção ao ápice da planta, até atingir o número necessário.

Avaliamos apenas plantas de sub-bosque, excluindo plântulas menores que 0,5m e árvores maiores de 3m. Além disso, excluímos todas as espécies que tinham associações mutualísticas com formigas, o que constitui uma defesa biótica frequente na Amazônia, capaz de alterar a ação de insetos herbívoros. Em alguns casos, foram selecionadas espécies com folhas compostas que apresentavam grandes folíolos, como ramos com folhas paripenadas e imparipenadas. Entretanto, nenhuma espécie de planta com folhas recompostas ou compostas digitadas esteve presente entre as espécies mais abundantes de cada parcela. No caso da seleção de espécies com folhas compostas, a unidade foliar considerada foi o folíolo. Por fim, um ramo de cada espécie selecionada foi coletado para identificação, que foi realizada por um parataxonomista especializado na flora amazônica.

2.4. Avaliação de espessura foliar e índice SPAD

Para avaliar a espessura das folhas, utilizamos um micrômetro digital, que mede a menor dimensão entre duas superfícies paralelas, com resolução em mm. A intensidade de cor verde das folhas foi avaliada pelo SPAD (Soil Plant Analysis Development). Ele fornece um índice, chamado índice CCI que está relacionado com os teores relativos de clorofila presente na folha, e indiretamente, ao estado nutricional da planta (SALLA; RODRIGUES; MARENCO, 2007). As medidas de espessura e do índice de clorofila foram realizadas em três pontos de cada uma das três folhas intactas (ápice, meio e base), desconsiderando a nervura central. Assim, para cada folha ou folíolo, obtivemos o valor médio dessas variáveis (Fig. 3).

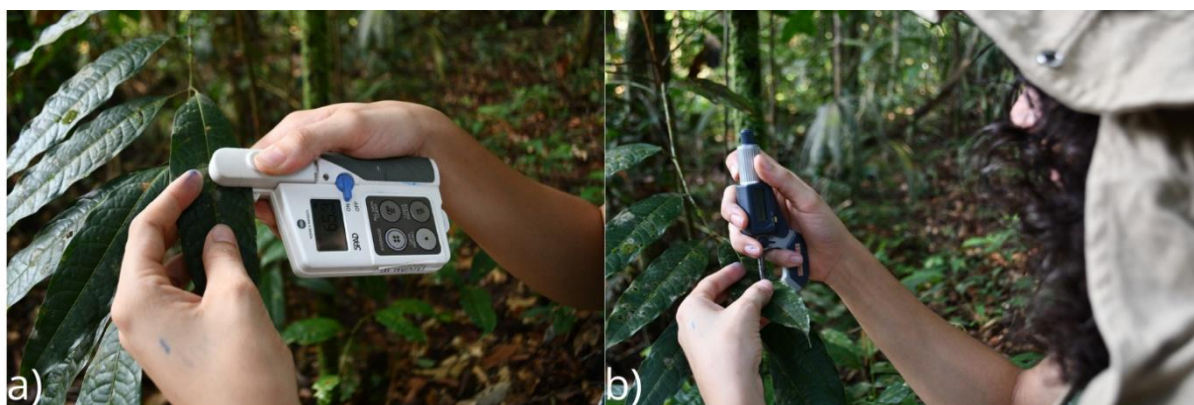


Figura 3. a) Medições em campo de clorofila total das plantas utilizando equipamento SPAD. b) Medições de espessura foliar utilizando um micrômetro digital.

2.5. Avaliação da área foliar específica (SLA) e área foliar total.

Para avaliar a área foliar específica (SLA) e área foliar total, as folhas intactas de cada planta foram coletadas, prensadas e conservadas em sílica durante a expedição de coleta. Em seguida, as folhas foram conduzidas ao laboratório de Ecologia e Comportamento da UFV (LABECOM-UFV), onde foram secas em estufas por um período de 72h, a 45°C. Para calcular o SLA, digitalizamos as folhas intactas e secas com o auxílio de um scanner. Com base nas imagens de cada folha, calculamos a área total de cada folha (cm²), utilizando *software ImageJ*. A biomassa seca de cada folha foi mensurada em balança digital, com precisão de 0,0001g. Com base nos valores da área foliar e biomassa seca de cada folha, calculamos a área foliar específica (SLA), constituída pela razão entre a área foliar e a biomassa seca de cada folha.

2.6. Avaliação da herbivoria

Para avaliar o efeito da adição de nutrientes sobre a herbivoria de plantas de sub-bosque, secamos todas as 10 folhas coletadas de cada indivíduo em estufa, por 72h, a 45°C. Na sequência, digitalizamos todas as folhas com um scanner. Com base nas imagens de cada folha ou folíolo, calculamos a área foliar total e a área foliar consumida com o *software ImageJ* (Fig. 4). Em seguida, determinamos a porcentagem de área consumida, constituída pela razão entre área perdida e área total multiplicado por 100. Consideramos apenas as perdas causadas por insetos herbívoros mastigadores (METCALFE *et al.*, 2014). Para cada indivíduo, calculamos a média da porcentagem de área foliar consumida.



Figura 4. Ilustração do *software ImageJ*. utilizado para realizar as medições da área foliar total e área foliar removida.

2.7. Análises estatísticas

Utilizamos modelos lineares generalizados de efeitos mistos para avaliar os efeitos da adição de nutrientes, sobre a porcentagem de área foliar consumida, assim como as características de espessura, SLA, área foliar total e índice SPAD. Para isso, a presença e a ausência de cada nutriente foram consideradas como variáveis preditoras, enquanto a média observada em cada indivíduo para a porcentagem de área foliar consumida, dureza, SLA, área foliar total e índice SPAD foram consideradas como variáveis resposta. A identidade dos blocos e da família de cada planta foram consideradas como fatores aleatórios e independentes nos modelos. Ajustamos os modelos utilizando o pacote *glmTMB* (BROOKS *et al.*, 2017). Para avaliar o efeito dos nutrientes sobre a herbivoria, ajustamos o modelo com distribuição beta binomial. Para avaliar os efeitos dos nutrientes sobre o índice SPAD (clorofila total), transformamos a variável resposta em logaritmo natural e avaliamos os efeitos por meio da construção de um modelo com distribuição gaussiana e função de ligação “*identity*”. Por fim, para avaliar os efeitos dos nutrientes sobre o SLA, área foliar total e espessura foliar, ajustamos modelos com distribuição

Gamma, com a função de ligação “*log*”. Os efeitos em cada modelo foram avaliados por meio da função *ANOVA* (tipo 3), utilizando o pacote *car* (FOX e WEISBERG, 2019). As análises foram realizadas no programa R (R Development Core Team 2024). A distribuição dos resíduos de cada modelo e os parâmetros de variância foram verificados com o auxílio do pacote DHARMA (HARTIG, 2023).

3. RESULTADOS

Nas 16 parcelas amostradas, coletamos dados de 400 plantas, pertencentes a 22 espécies distribuídas em oito famílias. As espécies mais frequentes foram *Duguetia echinophora* e *Protium sp.* e as famílias com maior representatividade foram Rubiaceae e Sapotaceae (ver Anexo 1). Para calcular os efeitos dos nutrientes sobre a herbivoria, avaliamos os danos proporcionados por insetos mastigadores em 4000 folhas. Já para as análises de área foliar específica (SLA), índice SPAD, espessura e área foliar total, analisamos 1199 folhas.

Herbivoria

Observamos que a herbivoria nas parcelas fertilizadas por fósforo apresentaram uma variação de 0,06% a 42,89%, ($8,02 \pm 7,53\%$, média $\pm$ erro padrão). Nas parcelas fertilizadas por nitrogênio, a variação de herbivoria observada foi de 0,02% a 33,37% ($6,44 \pm 5,99\%$) e nas parcelas fertilizadas por cátion, a herbivoria variou de 0% a 28,51% ($5,94 \pm 5,68\%$). A adição de fósforo no ambiente resultou em um aumento de 1,66% de área foliar consumida por insetos herbívoros mastigadores em relação às parcelas onde esse nutriente estava ausente ($\chi^2 = 6,49$; $p = 0,01$). Entretanto, não observamos diferença na herbivoria em parcelas onde houve a adição de nitrogênio ($\chi^2 = 0,46$; $p = 0,49$) e cátion ($\chi^2 = 0,34$; $p = 0,55$) (Fig. 5).

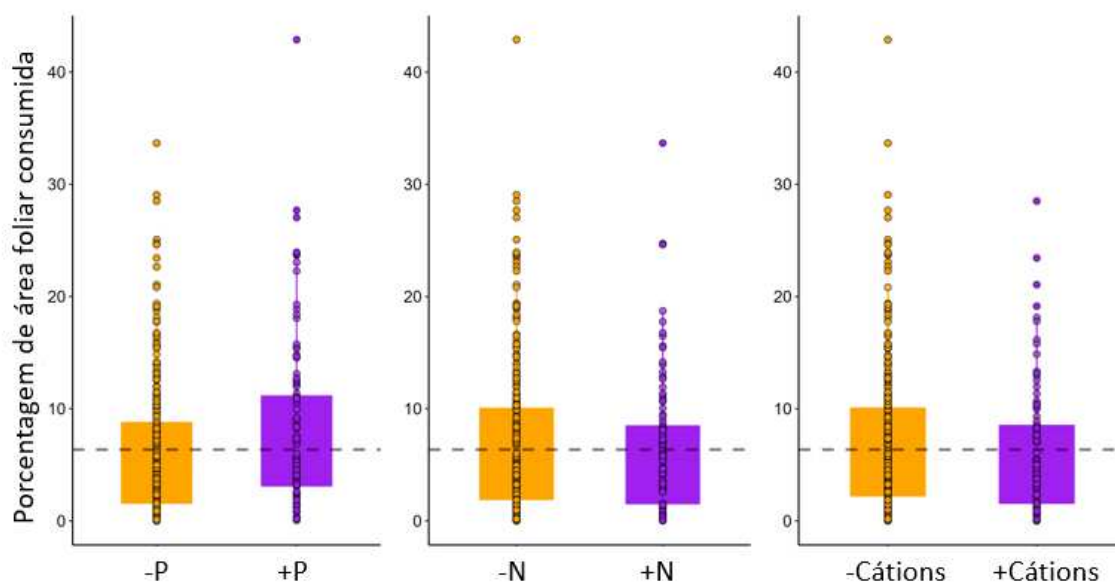


Figura 5. Relação da porcentagem de área foliar consumida na presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions. As barras laranja indicam a ausência de cada nutriente, enquanto as barras roxas representam sua presença. Cada ponto no gráfico representa a média da porcentagem de área foliar consumida para cada planta. A linha tracejada indica a média observada no grupo controle (ausência de fertilização).

Área foliar específica (SLA)

Nas parcelas fertilizadas por fósforo, observamos uma variação da área foliar específica (SLA) de $48,81 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ a $382,75 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ($143,08 \pm 53,6 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, média $\pm$ erro padrão). Observamos que, a área foliar específica em parcelas fertilizadas por nitrogênio apresentaram uma variação de $52,77 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ a $338,44 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ($134,48 \pm 45,7 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), e nas parcelas fertilizadas por cátions variou de $62,66 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ a $287,56 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ($141 \pm 42,2 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Dessa forma percebemos a adição de nitrogênio ($\chi^2=6,40$; $p=0,01$) e cátion ($\chi^2=4,02$; $p=0,04$) reduziu a área foliar específica das plantas, mas não observamos diferença no SLA em parcelas onde houve a adição de fósforo ($\chi^2=0,008$; $p=0,92$) (Fig. 6).

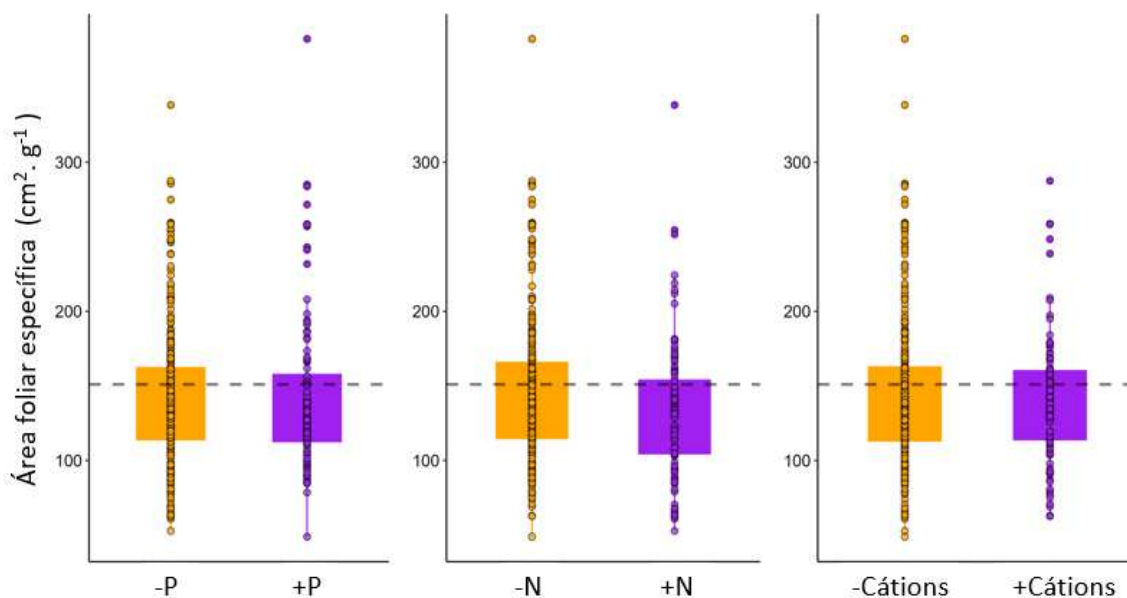


Figura 6. Relação da área foliar específica (SLA) na presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions. As barras laranja indicam a ausência do nutriente, enquanto as barras roxas representam sua presença. Os pontos representam a média da área foliar específica (SLA) para cada planta. A linha tracejada indica a média da área foliar específica (SLA) observada no grupo controle (ausência de fertilização).

Índice SPAD

Observamos que o índice SPAD nas parcelas fertilizadas por fósforo variou de 35,42 a 69,94 ($51,9 \pm 7,12$, média $\pm$ erro padrão). Nas parcelas fertilizadas por nitrogênio o índice SPAD variou de 38,57 a 71,6 ($53,5 \pm 6,82$) e nas parcelas fertilizadas por cátion apresentaram uma variação de 32,61 a 67,89 ($50,6 \pm 7,10$). Dessa forma percebemos que a adição de nitrogênio no ambiente aumentou o índice SPAD ($\chi^2 = 14,83$; $p = 0,001$), mas não houve diferença significativa no índice SPAD em parcelas com a adição de fósforo ($\chi^2 = 2,91$; $p = 0,08$) e cátion ($\chi^2 = 0,15$; $p = 0,69$) (Fig. 7).

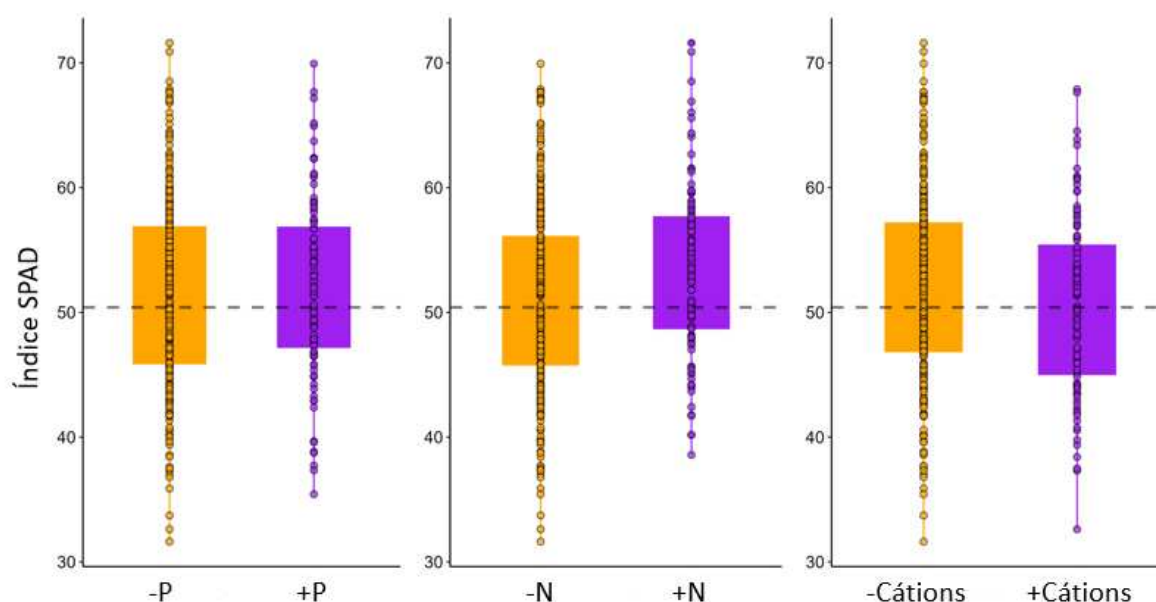


Figura 7. Relação do Índice SPAD em função da presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions. As barras laranja indicam a ausência do nutriente, enquanto as barras roxas representam sua presença. Os pontos representam a média o índice SPAD para cada planta. A linha tracejada indica a média do índice SPAD observada no grupo controle (ausência de fertilização).

Área foliar total

Observamos que a área foliar total nas parcelas fertilizadas por fósforo variou de 10,1 cm^2 a 210,23 cm^2 ($51,1 \pm 44,4 \text{ cm}^2$, média $\pm$ erro padrão). Nas parcelas fertilizadas por

nitrogênio a área foliar total variou de 4,32 cm² a 149,56 cm² ($43,7 \pm 30,4$ cm²) e nas parcelas fertilizadas por cátion apresentaram uma variação de 7,05 cm² a 134,03 cm² ($39,3 \pm 29,9$ cm²). Observamos que a área foliar total não foi afetada pela adição de fósforo no ambiente ($\chi^2 = 0,96$ $p=0,32$), assim como não foi afetada pela adição de nitrogênio ($\chi^2 = 0,54$; $p=0,46$) e cátion ($\chi^2 = 0,95$; $p=0,32$) (Fig. 8).

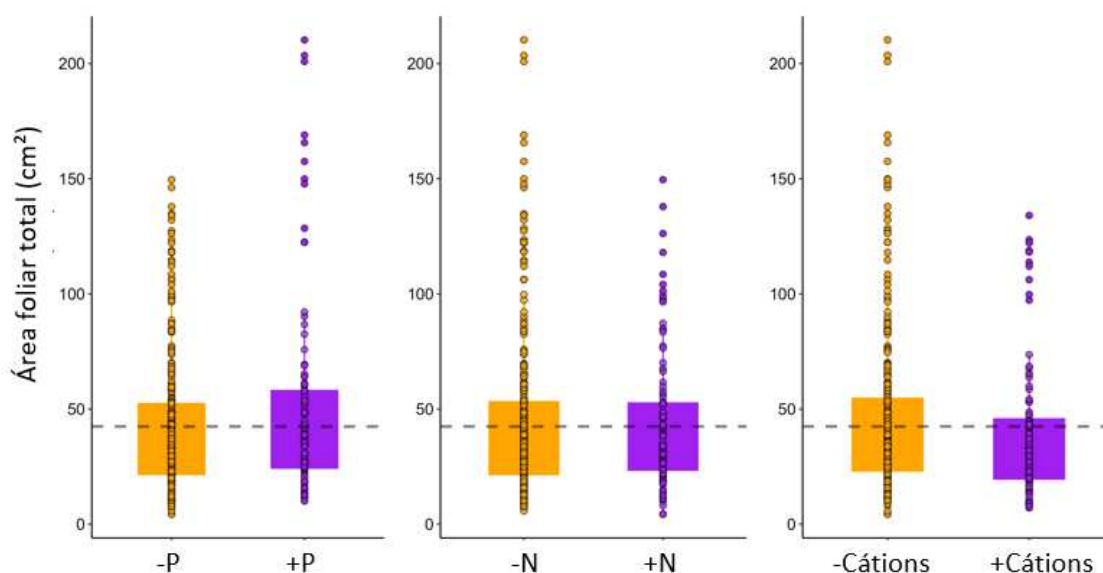


Figura 8. Relação da área foliar total (cm²) em da presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions. As barras laranja indicam a ausência do nutriente, enquanto as barras roxas representam sua presença. Os pontos representam a média da área foliar total para cada planta. A linha tracejada indica a média da área foliar total observada no grupo controle (ausência de fertilização).

Espessura foliar

Observamos que a espessura foliar nas parcelas fertilizadas por fósforo variou de 0,11 mm a 0,27 mm ($0,17 \pm 0,03$ mm, média $\pm$ erro padrão). Nas parcelas fertilizadas por nitrogênio a espessura foliar variou de 0,08 mm a 0,32 mm ($0,19 \pm 0,05$ mm), e nas parcelas fertilizadas por cátion apresentaram uma variação de 0,1 mm a 0,34 mm ($0,18 \pm 0,04$ mm). Dessa forma, percebemos que a adição de nitrogênio no ambiente aumentou a espessura foliar ($\chi^2 = 9,78$; $p=0,001$), assim como a adição de cátion ($\chi^2 = 4,64$; $p=0,03$), mas não diferiu em parcelas onde houve a adição de fósforo ($\chi^2 = 1,02$; $p=0,31$) (Fig. 9).

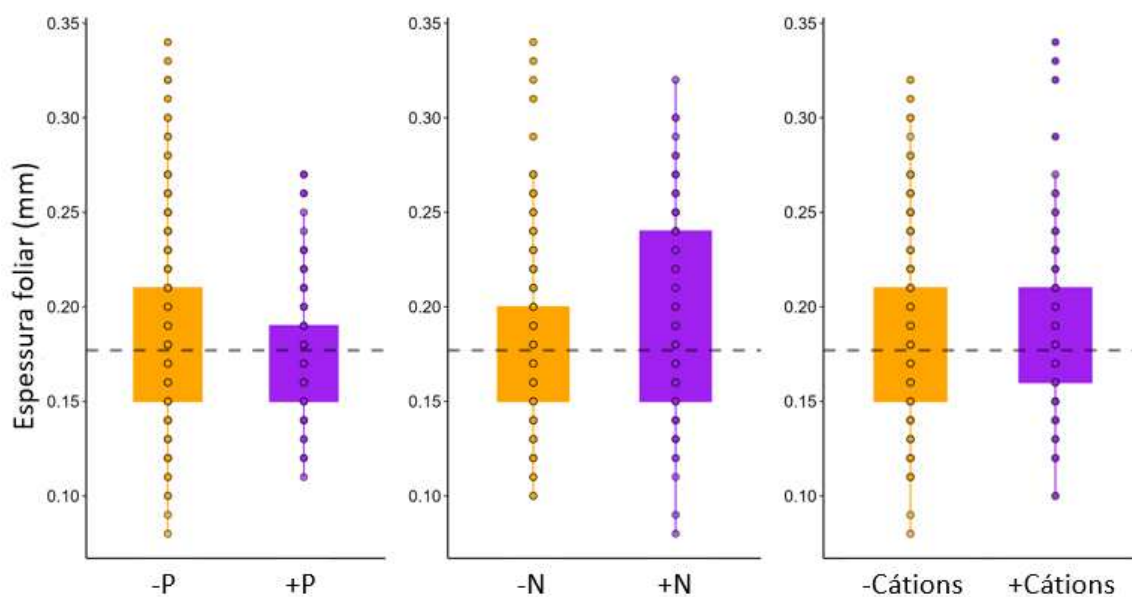


Figura 9. Relação da espessura foliar (mm) em função da presença ou ausência de fósforo (P), nitrogênio (N) e cátions. As barras laranja indicam a ausência do nutriente, enquanto as barras roxas representam sua presença. Os pontos representam a média de espessura foliar para cada planta. A linha tracejada indica a média da espessura foliar observada no grupo controle (ausência de fertilização).

4. DISCUSSÃO

Observamos que a adição de fósforo ao solo resultou em um aumento na porcentagem de área foliar consumida, sugerindo que a limitação desse nutriente restringe a ação de insetos herbívoros em plantas do sub-bosque de florestas de terra firme da Amazônia. No entanto, esse aumento na herbivoria não foi promovido por alterações nos traços funcionais das plantas que podem indicar maior investimento em defesas estruturais, como espessura foliar e área foliar específica (SLA). Além disso, a área foliar total e a intensidade de cor verde das folhas (índice SPAD), que podem representar maior disponibilidade e qualidade do recurso foliar, permaneceram inalteradas com a adição de fósforo. Esse resultado sugere que a adição de fósforo no solo pode estar modulando negativamente as estratégias de defesas químicas das plantas de sub-bosque, ou atuando em alterações no balanço nutricional das plantas, fatores que podem alterar o consumo de insetos herbívoros. Assim, além de restringir a produtividade total do ecossistema amazônico (CUNHA *et al.*, 2022), sugerimos que a limitação natural de fósforo nesse ambiente altera a ação de consumidores primários da cadeia trófica.

Em contraste, a adição de N e Cátions, nutrientes que não são limitados fortemente no ambiente amazônico, não afetou o consumo das plantas por insetos herbívoros. Entretanto, a adição de nitrogênio promoveu um aumento na espessura foliar e na intensidade de cor verde das folhas. Além disso, a adição de nitrogênio reduziu a área foliar específica (SLA), devido a uma maior proporção de biomassa seca por área foliar, indicando potenciais ajustes na alocação de recursos das plantas em relação à maior disponibilidade desse nutriente. A espessura foliar, por exemplo, é influenciada pela quantidade de água disponível da folha e por fatores que determinam o desenvolvimento das camadas celulares, como o parênquima paliçádico e esponjoso. Dessa forma, o nitrogênio tem papel mais direto nesse traço, pois ele é necessário para síntese de proteínas estruturais e para a formação de cloroplastos (FIELD e MOONEY, 1986; WRIGHT *et al.*, 2004). Além disso, é conhecido que plantas com maiores concentrações de nitrogênio e qualidade e quantidade de pigmentos cloroplastídicos, são mais eficientes em suas taxas fotossintéticas, ou seja, indivíduos com maior área foliar e menor espessura (REICH *et al.*, 1999; LAMBERS *et al.*, 1998; POORTER e ROB DE JONG, 1999; EVANS e POORTER, 2001). A adição de cátions ao solo também contribuiu para o aumento da espessura foliar, indicando que diferentes nutrientes modulam características funcionais das plantas de maneira distinta. Isso sugere que embora a adição de N e Cátions

tenham promovido uma maior espessura foliar, e uma redução no SLA, essas mudanças que podem refletir maior defesa estrutural e qualidade potencial do tecido foliar, não foram suficientes para alterar a ação de insetos herbívoros no consumo de plantas, o que reforça a possibilidade do aumento no consumo observado com a adição de P ter sido gerado por alterações no balanço de defesa química das plantas.

Plantas que crescem em ambientes ricos em nutrientes podem alocar menos recursos para defesas químicas energeticamente mais custosas, optando por defesas induzidas, tornando-se mais vulneráveis a herbivoria (MARTINS *et al.*, 2020). Assim, adição de fósforo ao solo pode ter contribuído para a produção de defesas induzidas localizadas (AGRAWAL, 1998). Isso ocorre como uma vantagem da planta em economizar recursos, ativando mecanismos de defesa apenas no local onde ocorre o ataque. Embora sejam energeticamente menos custosas, as defesas induzidas não evitam o dano inicial causado pelos herbívoros, sendo ativadas após a detecção do ataque (por sinais químicos ou físicos), o que resulta na produção dos compostos químicos de defesa que atuam na defesa dessas plantas contra ataques futuros (CHESSIN e ZIPF, 1990). Dessa forma, o fósforo pode provocar um desbalanço nas estratégias de defesa, que gera um ciclo de plantas produtivas, mas menos protegidas, intensificando a pressão de herbivoria na vegetação (HERMS e MATTSON, 1992).

O aumento da herbivoria com a adição de fósforo pode ainda ser explicada por meio da redução da qualidade nutricional das folhas. Ao adicionar fósforo ao solo, ele pode estimular um crescimento acelerado da planta, especialmente em solos onde o fósforo é limitante (PLAXTON e LAMBERS, 2015). O aumento da biomassa vegetal pode promover uma diluição do nutriente, ou seja, a massa fresca aumenta, contudo, a concentração do elemento permanece igual. Essa mudança pode diminuir o valor nutricional da biomassa das folhas consumidas por insetos herbívoros. Dessa forma, ao consumir folhas de menor qualidade nutricional, os insetos herbívoros precisam ingerir uma quantidade maior de biomassa para atender suas necessidades metabólicas (SILVA e BATALHA, 2011; SILVA *et al.*, 2015). Como consequência, essa maior ingestão de tecido vegetal resulta em um aumento geral na quantidade de folhas consumidas, elevando as taxas de herbivoria.

Como a redução da limitação de fósforo na Amazônia aumenta a produtividade primária (CUNHA *et al.*, 2022), é possível que esse aumento da disponibilidade de energia no sistema possa afetar o crescimento das populações de insetos herbívoros. O consequente aumento no número desses insetos poderia explicar também os maiores

níveis de herbivoria observados neste estudo com a adição desse nutriente limitante. Dessa forma, os nossos resultados podem indicar que a limitação natural de fósforo regula a densidade das populações de herbívoros no ambiente amazônico.

O aumento de 1,66% observado na herbivoria em plantas de sub-bosque com a adição de fósforo, representa uma mudança substancial nesse compartimento da floresta amazônica, o que pode resultar em um fator importante para alterar a produtividade do ambiente. Além disso, é importante ressaltar que esse efeito foi observado a nível de comunidade, independentemente da filogenia das plantas. Dessa forma, o trabalho evidencia a importância em considerar a limitação naturais de nutrientes, especialmente do fósforo, nos modelos de mudanças climáticas que projetam impactos futuros sobre a floresta amazônica. Embora frequentemente se discuta o papel da Amazônia na absorção de CO₂ e no balanço geral do carbono, a limitação de fósforo tem se destacado cada vez mais como um fator crítico para compreender os efeitos do aumento do CO₂ nesse ecossistema. Assim, demonstramos que o fósforo é um elemento crucial nesse ecossistema, uma vez que sua limitação influencia não só diretamente na produtividade primária líquida, como também nas interações ecológicas em níveis tróficos superiores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF) ao acesso a área de estudo, assim como ao Amazon Fertilisation Experiment (AFEX). Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

- AFEX, 2022. (Amazon Fertilisation Experiment). Disponível em: <https://amazonfertilisationexperiment.wordpress.com/home/>. Acesso em: 23/07/2023
- AGRAWAL, A.A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science*, New York, v. 279, n. 5354, p. 1201-1202, 1998.
- BARROS, J. F.C. Fertilidade do solo e Nutrição das plantas. Universidade Federal de Évora, p. 1-33, 2022.
- BROOKS, M., KRISTENSEN, K., VAN BENTHEM, K., et al.** *glmtmb: Generalized Linear Models using Template Model Builder*. R package version 0.2.3. <https://CRAN.R-project.org/package=glmtmb>, 2017
- BLUMENTHAL, D; AUGUSTINE, D. Plant Interactions with Herbivores. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley, 2009.
- BRADY, N.C; WEIL, R.R. The nature and properties of soils. 14 ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2008.
- COLEY, P.D; BRYANT, J.P; CHAPIN, F.S. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, p. 895–899, 1985.
- CORNELISSEN, T.G. TropHerb Network: herbivory and florivory patterns in tropical plants, p. 1-7, 2022.
- CUNHA, H.F.V; ANDERSEN, K.M. et al. Direct evidence for phosphorus limitation on Amazon Forest productivity. *Nature*, v. 608, p. 558-562, 2022.
- CHESSIN, M, e ZIPF, A.E. Alarm systems in higher plants. *The botanical review*, p. 193-235, 1990.
- CRAMER, W; BONDEAU, A; SCHAPHOFF, S; LUCHT, W; SMITH, B; SITCH, S. Tropical forests and the global carbon cycle: impacts of atmospheric CO₂, climate change and rate of deforestation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 359, p. 331-343, 2004.
- FEELEY, K; TERBORGH, J. The effects of herbivore density on soil nutrients and tree growth in tropical forest fragments. *Ecology*, v. 86, p. 116-124, 2005.
- FERRY, N; EDWARDS, M.G; GATEHOUSE, J.A; GATEHOUSE, A.R. Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. *Current opinion in biotechnology*, London, v. 15, n.2. p. 155-161, 2004.
- FIELD, C.H; MOONEY, H.A. Photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: *On the Economy of Plant Form and Function: Proceedings of the Sixth Maria Moors Cabot*

Symposium, Evolutionary Constraints on Primary Productivity, Adaptive Patterns of Energy Capture in Plants, Harvard Forest, August. Cambridge [Cambridgeshire]: Cambridge University Press, 1986.

FOX, J., e WEISBERG, S. *An R Companion to Applied Regression (3rd ed.)*. Sage Publications. <https://cran.r-project.org/web/packages/car/index.html>, 2019.

HARTIG, F. DHARMA: Residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>, 2023.

HERMS, D.A e MATTSON, W.J. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review in Biology*, p. 283-335, 1992.

LAMBERS, H. e POORTER, H. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research*, p. 187-26, 1998.

LAMBERS, H., RAVEN, J.A., SHAVER, G.R. e SMITH, S.E. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends Ecol. Evol.* 23, p. 95–103, 2008.

LAURANCE, W.F., CAMARGO, J.L.C., FEARNSIDE, P.M., LOVEJOY, T.E., WILLIAMSON, G.B., MESQUITA, R.C.G., LAURANCE, S.G.W. An Amazonian rainforest and its fragments as a laboratory of global change. *Biological Reviews*, 93, p. 223- 247, 2018.

LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. Editora Rima, São Carlos, 2000.

LE QUÉRÉ, C; ANDREW, R.M; FRIEDLINGSTEIN, P; SITCH, S; HAUCK, J; PONGRATZ, J. *et al.* Global carbono budget. *Earth System Science Data*, v. 10, p. 2141-2194, 2018.

LOVEJOY, T.E. e BIERREGAARD, R.O. Central Amazonian Forest and the minimal critical size of ecosystems project. In: Four Neotropical Rainforest, A.H. Gentry (ed). Yale University Press, New Haven, 1990.

MARTINS, J.K.D.; OLIVEIRA, A.F.M.; ALMEIDA, J.S. Variação sazonal das redes de interações planta-artrópodes em Floresta Tropical Sazonalmente Seca. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 13, p. 2671-2713, 2020.

METCALFE, D.B; ASNER, G.P; MARTIN, R.E; ESPEJO, J.E.S; HUASCO, W.H; AMÉZQUITA, F.F; CARRANZA, J.L; CABRERA, D.F.G; BACA, L.D; SINCA, F. *et al.* Herbivory makes major contributions to ecosystem carbon and nutrient cycling in tropical forests. *Ecology Letters*, v.17, p. 324-332, 2014.

MOSTAFA, S; WANG, Y; ZENG, W; JIN, B. Plant Responses to Herbivory, Wounding, and Infection. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, 2022.

POORTER, L. Growth responses of 15 rain forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology*, p. 394-410, 1999.

POORTER, L. Light-dependence changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Functional Ecology*, v. 1, p. 13- 123, 2001.

PLAXTON, W; LAMBERS, H. Phosphorus Metabolism in Plants. *Annual Plant Reviews*, v.48, 2015.

QUESADA, C.A.; LLOYD, J.; SCHWARZ, M.; PATIÑO, S.; BAKER, T.R.; CZIMCZIK, C; PAIVA, R. Variations in chemical and physical properties of Amazon Forest soils in relation to their genesis. *Biogeosciences*, 7, p. 1515–1541, 2010.

QUESADA, C.A; LLOYD, J.; ANDERSON, L.O; FYLLAS, N.M.; SCHWARZ, M.; CZIMCZIK, C. I. Soils of Amazonia with particular reference to the RAINFOR sites. *Biogeosciences*. v.8. p. 1415-1440, 2011.

QUESADA, C.A., e LLOYD, J. Soil-Vegetation Interactions in Amazonia In Nagy L., Forsberg B. R., e Artaxo P. (Eds.), Interactions between biosphere, atmosphere and human land use in the Amazon Basin, ecological studies. Berlin Heidelberg: *Springer* 2016.

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2022. URL: <https://www.R-project.org/>.

RAUBENHEIMER, D; SIMPSON, S.J. Integrative models of nutrient balancing: application to insects and vertebrates. *Nutrition Research Reviews*, v.10, p. 1-29, 1997.

RADAMBRASIL. Levantamento de recursos naturais. FolhaSA20. Ministério de Minas e Energia. Departamento Nacional de Produção Mineral. Rio de Janeiro, Brasil, 1978

REICH, P.B; ELLSWORTH, D.S; WALTERS, M.B; VOSE, J.M; GRESHAM, C; VOLIN, J.C. e BOWMAN, W. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology*, p. 1955- 1969, 1999.

ROEDER, K.A; BEHMER, S.T. Lifetime consequences of food protein carbohydrate content for an insect herbivore. *Functional Ecology*, v. 28, p. 1135-1143, 2014.

SILVA, D.M.; BATALHA, M.A. Defense syndromes against herbivory in a cerrado plant community. *Plant Ecology*, 212: p. 181-193, 2014.

SILVA, J. de O.; ESPIRITO-SANTO, M.M.; MORAIS, H.C. Leaf traits and herbivory on deciduous and evergreen plants in a tropical dry Forest. *Basic and Applied Ecology*, 16: p. 210-219, 2015.

VITOUSEK, P.M; PORDER, S; HOULTON, B.Z; CHADWICK, O.A. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen phosphorus interactions. *Ecological applications*, v.20, p. 5-15, 2010.

WILLIS, A.J.; RICHARD, H. The Effects of Herbivory by a Mite, *Aculus hyperici*, and Nutrient Deficiency on Growth in *Hypericum* Species. 1995.

WERNER, F.A; HOMEIER, J. Is tropical montane forest heterogeneity promoted by a resource-driven feedback cycle? Evidence from nutrient relations, herbivory and litter decomposition along a topographical gradient. *Functional ecology*. v.29, p. 430-440, 2015.

WRIGHT, I.J. *et al.* The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, v. 428, n. 6985, p. 821-827, 2004.

ZVEREVA, E.L; ZVEREV V; KOZLOV M. High densities of leaf-tiers in open habitats are explained by host plant architecture. *Ecological Entomology*, v. 39, p. 470-479, 2014.

ANEXO 1- Abundância das espécies de plantas do sub-bosque coletadas nas 16 parcelas experimentais.

Família	Espécie	Número de indivíduos amostrados
Annonaceae	<i>Duguetia echinophora</i>	80
Burseraceae	<i>Protium sp.</i>	80
Myrtaceae	<i>Calyptranthes macrophylla</i>	35
Rubiaceae	<i>Psychotria polycephala</i>	20
Sapotaceae	<i>Manilkora sp.</i>	20
Rubiaceae	<i>Psychotria sciaphila</i>	20
Rubiaceae	<i>Psychotria cincta</i>	15
Melastomataceae	<i>Mouriri sp</i>	15
Rubiaceae	<i>Psychotria barbiflora</i>	15
Lauraceae	<i>Ocotea percurrents</i>	10
Melastomataceae	<i>Miconia gratissima</i>	10
Annonaceae	<i>Pseudoxandra sp.</i>	10
Lecythidaceae	<i>Eschweilera amazoniciformis</i>	10
Sapotaceae	<i>Pouteria filipes</i>	10
Euphorbiaceae	<i>Pausandra trianae</i>	10
Clusiaceae	<i>Symphonia globulifera</i>	10
Rubiaceae	<i>Faramea capillipes</i>	5
Lauraceae	<i>Endlicheria bracteata</i>	5
Lauraceae	<i>Aniba terminalis</i>	5

Sapotaceae	<i>Pouteria reticulada</i>	5
Moraceae	<i>Naucleopsis caloneura</i>	5
Sapotaceae	<i>Pouteria anomala</i>	5